

УДК: 616.441- 008.64- 053.1:616.833.58:57.012.4:57.084.1

© Стеченко Л.О., Чухрай С.М., Довгань Р.С., Стороженко К.В., Кульгінський Є.А., Бабаскин Ю.І., 2011

**УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ У СІДНИЧОМУ НЕРВІ ЩУРІВ В ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ ВРОДЖЕНОГО ГІПОТИРЕОЗУ****Стеченко Л.О., Чухрай С.М., Довгань Р.С., Стороженко К.В.\*, Кульгінський Є.А.\*, Бабаскин Ю.І.\****Національний медичний університет імені О.О. Богомольця; \*Київський медичний інститут УАНМ*

**Стеченко Л.О., Чухрай С.М., Довгань Р.С., Стороженко К.В., Кульгінський Є.А., Бабаскин Ю.І.** Ультраструктурні зміни у сідничому нерві щурів в динаміці розвитку вродженого гіпотиреозу // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 4. – С. 95-98.

Методом електронної мікроскопії проведений порівняльний аналіз змін структурних компонентів сідничого нерву 7-ми, 45-ти та 100 добових щурів з вродженим гіпотиреозом, який моделювали шляхом введення тиреостатика – мерказоліла. Встановлено, що вже на ранніх стадіях формування гіпотиреозу у ювенільних щурів збільшена кількість ушкоджених клітин Шванна та мієлінових волокон у порівнянні з віковим контролем. У 45-ти добових щурів з вродженим гіпотиреозом значно поширеність набувають безповоротно ушкоджені волокна. Вони характеризуються зменшенням розмірів, ексцентричним розташуванням і ущільненням цитоплазми осьових циліндрів та вакуолізацією, потовщенням, деструкцією мієлінових оболонок. При довготривалому вродженому гіпотиреозі (100 діб) виражені адаптаційні процеси, що проявляються зменшенням числа мієлінових волокон на фоні кількісного збільшення безмієлінових.

**Ключові слова:** гіпотиреоз, сідничий нерв, щури, постнатальний онтогенез, електронна мікроскопія

**Стеченко Л.А., Чухрай С.Н., Довгань Р.С., Стороженко К.В., Кульгінський Е.А., Бабаскин Ю.И.** Ультраструктурные изменения в седалищном нерве крыс в динамике развития врожденного гипотиреоза // Украинский морфологический альманах. – 2011. – Том 9, № 4. – С. 95-98.

Методом электронной микроскопии проведен сравнительный анализ изменений структурных компонентов седалищного нерва 7-ми, 45-ти и 100 суточных крыс с врожденным гипотиреозом, который моделировали путем введения тиреостатика - мерказолила. Установлено, что уже на ранних стадиях формирования гипотиреоза у ювенильных крыс увеличено количество поврежденных клеток Шванна и миелиновых волокон по сравнению с возрастным контролем. У 45-ти суточных крыс с врожденным гипотиреозом значительную распространенность приобретают безвозвратно поврежденные волокна. Они характеризуются уменьшением размеров, эксцентричным расположением и уплотнением цитоплазмы осевых цилиндров, вакуолизацией, утолщением, деструкцией миелиновых оболочек. При длительном врожденном гипотиреозе (100 суток) выражены адаптационные процессы, что проявляется уменьшением числа миелиновых волокон на фоне количественного увеличения безмиелиновых.

**Ключевые слова:** гипотиреоз, седалищный нерв, крысы, постнатальный онтогенез, электронная микроскопия.

**Stechenko L., Chukhrai S., Dovgan R., Storozhenko K., Kulhynskyy E., Babaskyn Y.** Ultrastructural sciatic nerve changes in rats in the dynamics of congenital Hypothyroidism // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 4. – С. 95-98.

A comparative analysis of changes in structural components of the sciatic nerve 7, 45 and 100 day-rats with congenital hypothyroidism, which is modeled by introducing tyreostatyk – merkazolil, carried out by the method of electron microscopy. Found that the number of damaged Shvann cells and myelin fibers increased in the early stages of formation of hypothyroidism in juvenile rats, if to compare with age control. Damaged fibers prevailed in 45- day- rats with congenital hypothyroidism. They have a reduced size, eccentric compression of cytoplasm of axial cylinders, vacuolation, thickening, destruction of myelin membranes. Congenital hypothyroidism during long-term (100 days) expressed adaptive processes. They show in a decrease in the number of myelin fibers with quantitative increase in amyelinate fibers.

**Key words:** hypothyroidism, sciatic nerve, rats, postnatal ontogeny, electron microscopy.

**Вступ.** Дефіцит гормонів щитоподібної залози викликає порушення периферичної нервової системи, які проявляються стійкою гіпо- або арефлексією, невралгіями різної локалізації (радикулоневрити, плексити) [1, 2]. На сьогоденні час невідомі механізми розвитку цих патологічних станів. Визначення структурних основ розладу передачі імпульсів в нервових провідниках буде сприяти пошуку нових схем лікування, тому що існуюча замісна терапія недостатньо ефективна у профілактиці та лікуванні неврологічних проявів гіпотиреозу [3].

У зв'язку з цим метою дослідження був порівняльний аналіз ультроструктурних змін у сідничому нерві щурів з вродженим гіпотиреозом (ВГТ) у віковому аспекті.

**Матеріали та методи дослідження.** Методом електронної мікроскопії досліджено сідничий нерв інтактних щурів та щурів з ВГТ у віковому аспекті. Вивчалися 7-ми, 45-ти та 100 добові щури. Усього 30 тварин.

Моделювання ВГТ проводили шляхом пригнічення функції щитоподібної залози введенням тиреостатика – мерказоліла. Мерказоліл вводили вагітним

самкам, починаючи з 14 доби перинатального розвитку, потім піддослідні тварини отримували його з молоком матері, а в подальшому – при самостійному харчуванні. Розчинником була вода, препарат вводили перорально на протязі усього експерименту щоденно у дозі 20 мг/кг.

Контроль рівня вільного тироксину в плазмі крові щурів проводили імуноферментним методом на приборі «Sunrise RC» фірми ТЕКАН при виведенні їх з експерименту.

Матеріал фіксували у 2,5% розчині глютарового альдегіду на какодилатному буфері з дофіксацією в 1% розчині чотирьохокисні осмію. Зневоднювали у спиртах 70%, 80%, 90%, 100% концентрації та ацетоні. Заливали в суміш епон–аралдиг, згідно загальноприйнятій методиці [4]. Напівтонкі та ультратонкі зрізи з блоків отримували на ультратомі LKB III (Швеція). Ультратонкі зрізи контрастували насиченим розчином 2% ураніацетату та цитрату свинцю. Препарати досліджували під електронним мікроскопом ПЕМ – 125К.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Контроль рівня вільного тироксину в плазмі крові

шурів з ВГТ показав, що, починаючи вже з 7 діб постнатального періоду онтогенезу, він значуще, більш ніж у два рази знижується у порівнянні з контролем і залишається приблизно на тому ж рівні на протязі усього терміну експерименту. Найменший показник спостерігається у 100 добових шурів (табл.).

**Таблиця .** Вміст вільного тироксину в плазмі крові інтактних шурів (К), шурів з ВГТ у віковому аспекті

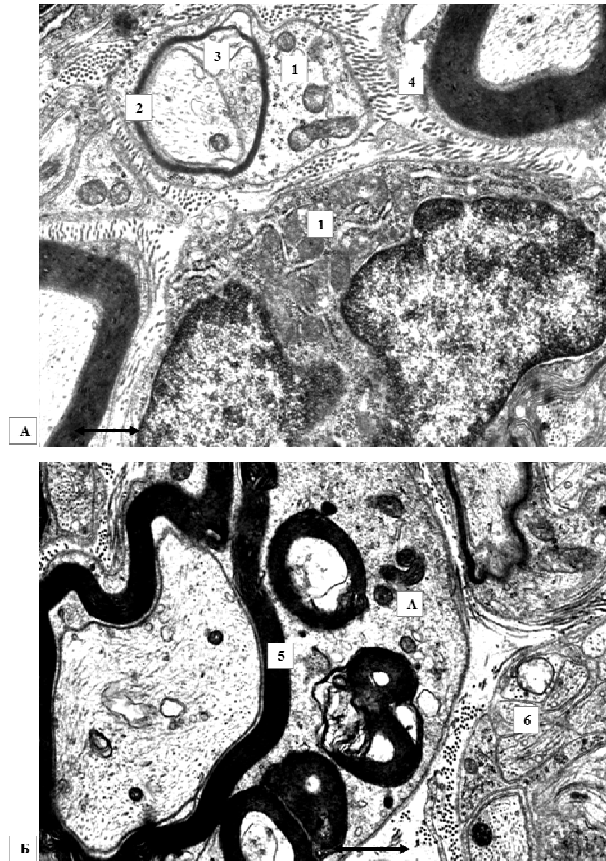
Групи тварини	Тироксин, пмоль/л
7-ми добові інтактні	7,98 ± 0,71
7-ми добові з ВГТ	3,44 ± 0,49 *
45-ти добові інтактні	7,63 ± 0,99
45-ти добові з ВГТ	3,96 ± 0,46 *
100 добові інтактні	8,58 ± 0,72
100 добові з ВГТ	2,77 ± 0,76 *

**Примітка:** \* - значуща різниця порівняно з контролем (P < 0,05)

У 7-ми добових інтактних шурів сідничий нерв ще не повністю сформований, про що свідчить незавершеність процесів мієлінізації нервових волокон. Характерною особливістю в цей віковий період підвищена функціональна активність лейкоцитів (клітин Шванна). Вони мають велике за розмірами ядро з рівномірно розподіленим хроматином, спостерігаються двоядерні клітини (рис. 1 А). Мітохондрії, каналці ЕПС та комплекс Гольджі в значній кількості розташовуються як в навкоядерних ділянках, так і у відростках лейкоцитів. Останні широкою смужкою оточують вже сформовані мієлінові волокна, осеві циліндри яких містять видовжені або округлі МХ, нейрофібрили, пухирці (рис. 1 А, Б). Останні у вигляді оточених мембраною мультивезикулярних тілець спостерігаються у периаksonальному просторі (рис. 1 А).

Суттєвою відмінністю ультраструктури сідничого нерву ювенільних шурів від дорослих є наявність клітин Шванна, в цитоплазмі яких спостерігається занурення двох і більше мієлінових волокон. Ці волокна варіюють за розмірами та мають різного ступеню пошкодження, хоча подекуди відмічаються зовнішньо незмінні структури. Слід відмітити, що в першу чергу страждають мієлінова оболонка, що проявляється локальним розходження мезаксонів, їх розпаруванням на значних ділянках, випинання ущільнених ділянок мієліну як у периаksonальний, так і інтерстиціальний простір. Зазнають змін і осеві циліндри, які зменшуються у розмірах, відокремлюються від мезаксонів, утворюючи локально або повністю розширений периаksonальний простір, а їх цитоплазма просвітається по мірі зникнення нейрофібрил та мітохондрій (рис. 1 Б). Присутність в деяких з таких комплексів «лейкоцит-мієлінові волокна» значної кількості лізосом та фагосом і навіть залишкових тілець, подібних овоїдам дегенерації, дає підставу припустити, що вони виконують притаманну їм роль макрофагів для видалення аберантних волокон, кількість яких в період формування мієлінових волокон збільшена у порівнянні із зрілими нервами.

Клітини Шванна, куди занурені безмієлінові волокна, також мають ознаки підвищеної функціональної активності, про що свідчать значні ділянки цитоплазми з органелами та ядра поблизу нервових волокон, які вони оточують (рис. 1 Б). Це може бути ознакою незавершеності формування і безмієлінових волокон.

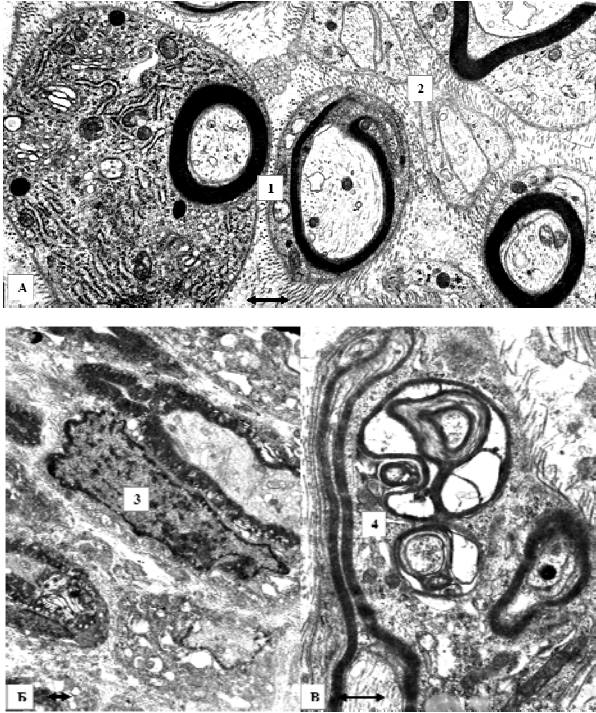


**Рис. 1.** Сідничий нерв 7 добового інтактного шура. Клітини Шванна (1). Осевий циліндр (2), мультивезикулярний комплекс (3), мієлінова оболонка (4) в мієлінових волокнах. Мієлінові волокна з різним ступенем пошкодження мієлінової оболонки та осевого циліндру в клітині Шванна (5). Безмієлінові волокна (6). Електронно-мікроскопічне фото.

Мієлінові та безмієлінові волокна знаходяться в оточенні колагенових волокон.

У 7-ми добових шурів із ВГТ частина мієлінових волокон має добре структуровану мієлінову оболонку, осевий циліндр заповнений нейрофібрилами, мітохондріями та секреторними пухирцями. Вони оточені лейкоцитами з ознаками функціональної активності і не відрізняються від контролю. Інші волокна мають ознаки ультраструктурних пошкоджень різного ступеню. Це проявляється в першу чергу змінами, яких зазнають клітини Шванна, які різняться за ультраструктурою. Частина з них містять мітохондрії з матриксом підвищеної електронної щільності, короткі каналці ЕПС, рибосоми та полісоми. В цілому кількість органел в таких лейкоцитах зменшена у порівнянні з контролем. Інші клітини мають темну цитоплазму за рахунок накопичення дрібнодисперсного електронноущільненого матеріалу та розширені каналці ЕПС. Подекуди ці розширення набувають такого ступеню, що у вигляді вакуолоподібних утворень заповнюють значну частину цитоплазми (рис. 2 Б). При цьому, слід відмітити, що зміни в клітинах Шванна корелюють із змінами у мієлінових волокнах, які вони оточують. Саме з пошкодженнями ушкоджених лейкоцитів, очевидно, пов'язана збільшена кількість аберантних мієлінових волокон. І якщо у інтактних шурів цього віку ушкоджені мієлінові волокна розташовуються, як правило, по декілька в функціонально активних лейкоцитах, то у тварин

з дефіцитом гормонів щитоподібної залози спостерігаються також і поодинокі змінені мієлінові волокна, в яких дистрофічно змінюються, як мієлінова оболонка, так і осьовий циліндр (рис. 2 Б). Мієлінові волокна, які утворюють скупчення в лемоцитах, зазнають більш виразних деструктивних змін, ніж такі ж комплекси у контролі. Ці зміни стосуються і мієлінової оболонки, і осьового циліндру (рис. 2 В).

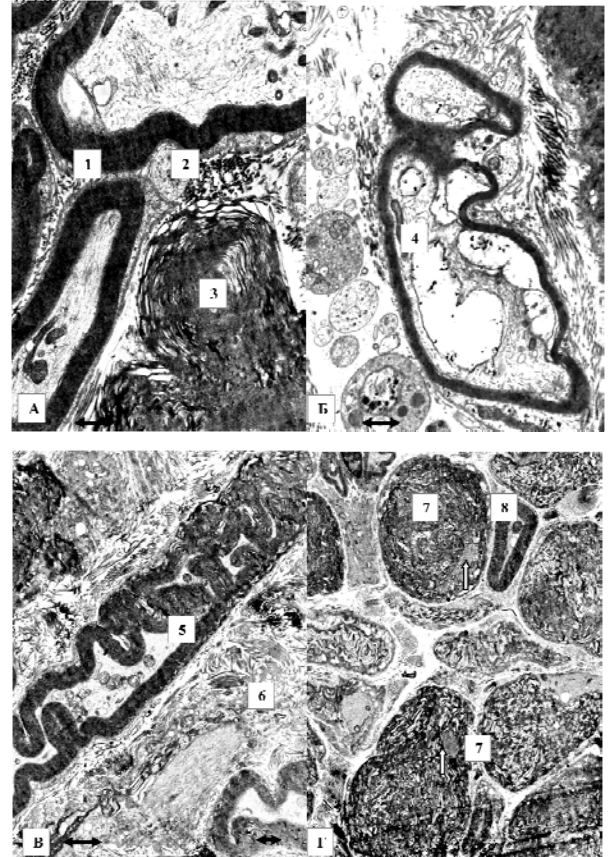


**Рис. 2.** Сідничий нерв 7 добового щура з ВГТ. А – Функціонально активні лемоцити, які оточуюють добре збережені мієлінові волокна (1). Безмієлінові волокна (2). Б – Лемоцити з вакуолеподібними утвореннями, які оточують мієлінові волокна з розходженнями мезаксонів мієлінової оболонки (3). В – Лемоцит як макрофаг (4). Електронно-мікроскопічне фото.

Ще однією особливістю ультраструктури не повністю сформованого сідничого нерву при нестачі гормонів щитоподібної залози є наявність в ньому мієлінових волокон, типових для зрілого нерву, тобто таких, що вже приймають участь у передачі сигналів, але з ознаками ушкодження мієліну – локального розширення його пластин, які поширюються на значну довжину волокна. Біля цих волокон розташовуються деструктивно-дистрофічно змінені клітини Шванна (рис. 2 Б). Елімінація аберантних волокон відбувається через клітини Шванна, які виконують роль макрофагів. Загибель лемоцитів відбувається, скоріш усього, через некроз, про що свідчать наявність плазматичних клітин – ознак запалення.

У 45 добових щурів з ВГТ ультраструктура сідничого нерву суттєво відрізняється від того, що характерно для вікового контролю. Лише частина мієлінових волокон, в основному, невеликого діаметру, не мають виразних пошкоджень (рис. 3 А), тоді як в більшості волокон спостерігається цілий спектр змін. В одних зміни відмічаються, головним чином, в осьовому циліндрі, що проявляється, як правило, вакуолізацією нейроплазми, набряком та лізисом мітохондрій (рис. 3 Б). В інших – пошкодження більш виражені в мієліновій оболонці, де спостері-

гаються локальні розходження пластин мієліну, вип'ячування ушкоджених фрагментів оболонки в периаksonальний простір. Розповсюджені волокна з глибокими інвазіями мієлінової оболонки, які майже повністю перекривають осьовий циліндр (рис. 3 В), перешкоджаючи току речовин по ньому. Відмічаються також волокна з вакуолізованою мієліновою оболонкою, фрагментованими мезаксонами. В деяких волокнах зміни в мієліновій оболонці відбуваються нерівномірно уздовж периметру: з одного боку мієлін розширюється, вакуолізується, а з іншого – руйнується, що призводить до зсуву осьового циліндру, його ексцентричного розташування і безпосереднього контакту з ендоневрієм (рис. 3 Г). Найбільш змінені волокна мають потовщену розширену мієлінову оболонку, яка займає майже весь об'єм волокна при стисненому осьовому циліндрі або його відсутності (рис. 3 Г). Такі структури розташовуються, як правило, клас-



**Рис. 3.** Сідничий нерв 45 добового щура з ВГТ. А – Мієлінові волокна без виразних змін (1). Лемоцит (2). Дегенеративно змінена мієлінова оболонка (3). Б – Мієлінове волокно з вакуолізованою аксоплазмою (4). В – Мієлінове волокно з глибокими інвазіями оболонки (5). Мієлінове волокно з вакуолізованою оболонкою (6). Г – Мієлінові волокна з дегенеративно зміненою оболонкою (7) та залишками осьового циліндру (↑). Мієлінове волокно без виразних змін (8). Електронно-мікроскопічне фото.

Щодо лемоцитів, то необхідно відмітити, що стан цих клітин корелює із станом мієлінових волокон, які вони оточують. Навколо неушкоджених, чи незначно ушкоджених волокон розташовуються тонкі пропарки клітин Шванна (рис. 3 А), які характерні і для норми. Навколо змінених волокон спостерігаються вакуолізовані лемоцити. Подекуди зу-

стрічаються і гіпертрофовані форми цих клітин із значною кількістю каналців ендоплазматичної сітки з різним ступенем розширення. Це може бути ознакою підвищеної функціональної активності, спрямованої на необхідність підтримання мієлінізації нових відростків замість тих, що безповоротно змінені. Разом з тим, не зрозуміло, яким чином відбувається видалення таких волокон, тому що в цей віковий період розвитку ВГТ в сідничому нерві практично не спостерігаються ні типові макрофаги, ні лейкоцити, які б мали ознаки макрофагів, ні овоїди дегенерації, які утворюються при дегенерації ушкоджених нервів.

Відсутні також ознаки запальних процесів. Можна припустити, що така форма змін мієлінових волокон є проявом апоптозу нейронів, від яких вони відходять, і руйнування цих відростків починається із деструкції тіла нейрону.

У 100 добових щурів із ВГТ різко зменшена кількість мієлінових волокон загалом і в першу чергу крупних за діаметром. Це обумовлено, на нашу думку, елімінацією змінених мієлінових волокон, значне число яких спостерігалось у 45 добових щурів. Внаслідок того, що загибель мієлінових волокон відбувається, скоріш усього, разом з загибеллю їх нейрона, то і регенерація волокон, якщо і відбувається, недостатньо.

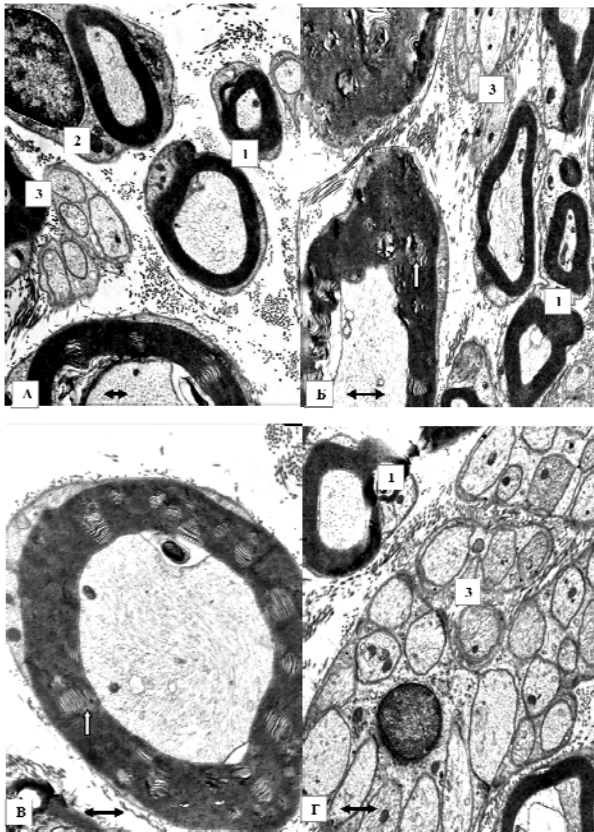


Рис. 4. Сідничий нерв 100 добового щура з ВГТ

Мієлінові волокна без виразних змін (1). Лейкоцити (2). Ділянки розшарування мезаксонів в мієліновій оболонці (†). Безмієлінові волокна (3). Електронно-мікроскопічне фото.

Мієлінові волокна у сідничому нерві в цей віковий період розвитку гіпотиреозу представлені переважно невеликими за діаметром формами, розташовуються розріджено. Значна їх частина мають осьовий циліндр, заповнений нейрофібрилами, пооди-

нокими мітохондріями та пухирцями, добре збережену мієлінову оболонку і оточені відростками клітин Шванна. Останні невеликі за розмірами і містять помірну кількість органел (рис. 4 А-В). В деяких волокнах спостерігаються локальні розшарування мезаксонів, які все ж таки не набувають значної поширеності (рис. 4 Б, В). Зміни в осьовому циліндрі проявляються, головним чином, відходженням його мембрани від мезаксонів з утворенням невеликих за розмірами вакуолеподібних структур (рис. 4 А, Б). Іноді в цих розширеннях розташовуються ділянки відшарованого мієліну (рис. 4 В).

Необхідно відмітити, що у 100 добових гіпотиреодних щурів у сідничому нерві збільшена, у порівнянні з віковим контролем, кількість безмієлінових волокон, ультраструктурна організація яких суттєво не відрізняється від таких же волокон у інтактних тварин, як і ультраструктура клітин Шванна, що їх обслуговують (рис. 4 Г).

**Висновки:** В сідничому нерві ювенільних щурів з вродженим гіпотиреозом збільшена кількість ушкоджених клітин Шванна та мієлінових волокон у порівнянні з віковим контролем. Аберантні волокна елімуються клітинами Шванна, загибель яких відбувається, скоріш усього, некрозом. У 45-ти добових щурів з вродженим гіпотиреозом значну поширеність набувають безповоротно ушкоджені волокна. Вони характеризуються зменшенням розмірів, ексцентричним розташуванням, електронною ущільненістю цитоплазми осьових циліндрів. Мієлінова оболонка вакуолізується, потовщується, деструктується. Відсутність типових макрофагів, клітин Шванна з ознаками макрофагів, овоїдів дегенерації, які утворюються при дегенерації ушкоджених нервів, а також лімфоцитів, лейкоцитів, плазмодитів - клітин запалення, дає підстави вважати, що така форма змін мієлінових волокон є проявом апоптозу нейронів, від яких вони відходять, і руйнування цих відростків починається із деструкції тіла нейрону. Відсутність значно змінених мієлінових волокон в сідничому нерві 100 добових щурів, які спостерігалися у 45 добових гіпотиреодних щурів, пов'язана, скоріш усього, з тим, що разом з загибеллю апоптозно змінених нейронів відбувається елімінація їх відростків. Зникнення частини мієлінових волокон при недостатній їх регенерації призводить до того, що у сідничому нерві на пізніх етапах розвитку вродженого гіпотиреозу переважають безмієлінові волокна.

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. Филимонова И. С. Неврологические нарушения при гипотиреозе. – 2006. – Т. 11, № 1. – С. 13-18.
2. Khedr E M; Khedr T; el-Oteify M A; Hassan H A Peripheral neuropathy in burn patients / Khedr E.M; Khedr T; el-Oteify MA; Hassan HA//J.Internat. Soc. Burn Injuries.- 1997.- V.23.- N 7-8.- P. 579-83.
3. Мельник Т.М. Центральна гемодинаміка та функціональний стан головного мозку у хворих на гіпотиреоз (удосконалення діагностики і лікування): Авторефер. дис... к.м.н.- Київ, 2006.- 18 с.
4. Карупу В.Я. Электронная микроскопия. – Киев: Вища школа. Головное издательство, 1984. – 208 с.

Надійшла 07.10.2011 р.  
Рецензент: проф. В.І.Лузін