

УДК: 616.833-003.93:57.012.4:616.441-008.64

© Рудюк Т.Я., Чайковський Ю.Б., Куфтирева Т.П., Раскалей В.Б., Довгань Р.С., 2012

ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ УШКОДЖЕНОГО СІДНИЧОГО НЕРВА НА РАННІХ ЕТАПАХ РЕГЕНЕРАЦІЇ

Рудюк Т.Я., Чайковський Ю.Б., Куфтирева Т.П., Раскалей В.Б., Довгань Р.С.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

Рудюк Т.Я., Чайковський Ю.Б., Куфтирева Т.П., Раскалей В.Б., Довгань Р.С. Особливості структурної організації ушкодженого сідничого нерва на ранніх етапах регенерації // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 4. – С. 98-101.

Робота присвячена вивченню ультраструктурних змін у сідничому нерві щурів через 2 і 3 тижні після стандартного його перетину. Встановлено, що після нанесення стандартної травми через 2 тижні у сідничому нерві на фоні активних дегенераційних розвиваються регенераційні процеси, у здійсненні яких беруть участь, крім нейролемоцитів, які проросли із проксимальної ділянки нерва, і ті, що виступали як макрофаги. Через 3 тижні після травми у нерві регенераційні процеси співіснують з процесами дегенерації. Наявність останньої пов'язана із значним числом мієлінових волокон з ознаками альтерації, обумовлених збоєм у функціонуванні нейролемоцитів при формуванні мієлінової оболонки.

Ключові слова: перетин, ретроградна дегенерація, овоїди дегенерації, електронна мікроскопія.

Рудюк Т.Я., Чайковський Ю.Б., Куфтирева Т.П., Раскалей В.Б., Довгань Р.С. Особенности структурной организации поврежденного седалищного нерва на ранних этапах регенерации // Украинский морфологический альманах. – 2012. – Том 10, № 4. – С. 98-101.

Работа посвящена изучению ультраструктурных изменений в седалищном нерве крыс через 2 и 3 недели после его стандартной перерезки. Установлено, что после нанесения стандартной травмы через 2 недели в седалищном нерве на фоне активных дегенерационных развиваются регенерационные процессы, в осуществлении которых принимают участие, кроме нейролемоцитов, которые проросли из проксимального отрезка нерва, и те, которые функционировали как макрофаги. Через 3 недели после травмы в нерве сосуществуют регенерационные процессы с процессами дегенерации.

Ключевые слова: гипотиреоз, ретроградная дегенерация, овоиды дегенерации, электронная микроскопия.

Rudiuk T.Ya., Chaykovskiy Yu.B., Kuftyreva T.P., Raskaley V.B., Dovgan R.S. Peculiarities of ultrastructural organisation of injured sciatic nerve in early stages of regeneration // Украинский морфологический альманах. – 2012. – Том 10, № 4. – С. 98-101.

This study deals with the ultrastructural changes in the sciatic nerve in 2 and 3 weeks after injury. Processes of of secondary degeneration as well as regeneration appeared in distal stump of the transected sciatic nerve 2 weeks after injury. The first manifestation of regeneration was formation of Bungner bands. Ovoids of degeneration are formed in distal stump.

Key words: hypothyroidism, retrograd degeneration, degeneration ovoids, electron microscopy.

Робота є фрагментом держбюджетної теми Інституту проблем патології НМУ імені О.О.Богомольця: "Вплив вродженого та набутого гіпотиреозу на стан центральної та периферійної нервової системи щурів та можливість його фармакологічної корекції", № державної реєстрації 0109U001804.

Вступ. За умов стрімкого технічного розвитку суспільства і прогресуючої концентрації населення у великих містах помічено значне зростання побутового, промислового, вуличного травматизму населення. Основний об'єм травматичних уражень організму складають політравми, значна частина яких припадає на пошкодження кінцівок, які в свою чергу призводять до травмування периферичних відділів нервової системи [1]. Згідно даних літератури, в загальному об'ємі випадків травматизму ушкодження периферійних нервів складають до 6%, проте займають чільне місце серед причин втрати працездатності населенням, сягаючи 60% випадків [2].

На тлі високої спеціалізації та організації нервова тканина має низьку здатність до регенерації. Цій проблемі присвячені чисельні дослідження [3, 4, 5, 6], але до цього часу не існує єдиної думки щодо перебігу і результатів реакції нейрона на перетин його відростків.

Процес поступового відновлення ушкодженого нерва поділяють на два етапи: дегенерація і регенерація. Дегенерацію в свою чергу

розрізняють висхідну (первинну): зміни відбуваються у проксимальному відрізку пошкодженого нерва [7, 8] у вигляді розпаду мієлінової оболонки, набряку перикаріона, маргінації ядра і розпаду хроматофільної субстанції; і нисхідну (вторинну, уолерівську): зміни відбуваються у дистальному відрізку пошкодженого нерва у вигляді повного розпаду аксонів, фрагментації мієліну і утворення овоїдів дегенерації [9,10].

Морфологічні зміни у нервових волокнах дистальніше місця перетину розпочинаються вже протягом перших годин після пошкодження. Значна частина осьових циліндрів та їх мієлінових оболонок фрагментується вже протягом першого тижня після перетину нерва.

Нейролемоцити, які оточують нервово волокно, зберігають свою життєздатність, набувають високої фагоцитарної активності і беруть активну участь у резорбції продуктів розпаду осьових циліндрів і мієліну. Під світловим мікроскопом цей етап проявляється великою кількістю овоїдів дегенерації і символізує розквіт дегенерації у травмованому нерві. На місці дегенерованих нервових волокон залишаються тяжі нейролемоцитів, які отримали назву "бюнгеровські стрічки", оточені фуґлярями колагенових волокон [11, 12, 13].

Проблема регенерації нервової системи посідає одне з чільних місць серед нейрогістологічних досліджень останнього десятиріччя [14,

15]. Це пов'язано з розширенням можливостей моделювання регенераторних процесів нервової системи, з новими методологічними варіантами оцінювання експериментальних результатів, теоретичною і практичною значимістю. Вивчення регенерації нервів і відновлення втрачених функцій кінцівок слід вважати однією з найважливіших медико-біологічних проблем.

Матеріали та методи. У дослідженні використано 10 статевозрілих щурів лінії Вістар, вагою 140 грамів, які утримувалися за стандартних умов виварію. Вивчали 2 групи тварин: I група - тварини, яким проводилось пошкодження сідничного нерва за стандартною методикою, виведення з експерименту відбувалось через 2 тижні після пошкодження; II група - тварини, яким проводилось пошкодження сідничного нерва за стандартною методикою, виведення з експерименту відбувалось через 3 тижні після пошкодження.

Досліджувалися дистальні ділянки сідничного нерва, який фіксували розчином 2,5% глутарового альдегіду на фосфатному буфері з дофіксацією 1% розчином чотирьохокису осмію та обробляли за загальноприйнятою методикою. Напівтонкі та ультратонкі зрізи виготовляли на ультратомі LKB III. Напівтонкі зрізи забарвлювали метиленовим синім, толуїдиновим синім, основним фуксином за методом Nayat. Ультратонкі зрізи контрастували 2% розчином ураніл ацетату та цитратом свинцю, продівлялися та фотографували під електронним мікроскопом ПЕМ-125К.

Морфометричні дослідження проводилися на напівтонких зрізах за допомогою програми "Image Tool". Визначалися об'ємна щільність нервових волокон та «овоїдів» дегенерації. Статистична обробка цифрових даних проводилася за допомогою програми Statistica for Windows 6.0 (Microsoft Corporation, USA).

Результати та їх обговорення. Через 2 тижні після перетину нерва в сідничному нерві щільність розташовування нервових волокон зменшена у порівнянні з контролем і дорівнює $20,75 \pm 1,32$ %, що обумовлено загибеллю частини з них. Руйнування нервових відростків відбувається не рівномірно, про що свідчить їх розподіл у нерві. Як видно на рис. 1, частина об'єму зайнята незначним об'ємом волокон (< 20%), на іншій вони зберігаються у більшому об'ємі (до 35%).

На відміну від контролю, де мієлінові волокна розташовуються паралельно одне до одного, в ушкодженому нерві волокна, що залишилися, втрачають паралельну ходу, орієнтовані під різними кутами, фрагментовані. Повсюдно спостерігаються овоїди дегенерації, які займають в середньому $2,01 \pm 0,14$ % об'єму стовбура.

В нервових волокнах мієлінова оболонка не завжди візуалізується або набуває хвилястого вигляду, осьові циліндри здебільшого заповнені речовиною різної електронної щільності. Все це свідчить про те, що через 2 тижні після операції в дистальному відрізку ушкодженого нерва виражені дегенераційні процеси.

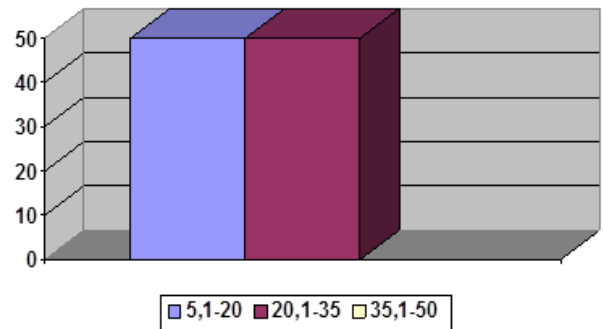


Рис. 1. Розподіл мієлінових волокон за об'ємною щільністю в нервовому стовбурі сідничного нерву щурів через 2 тижні після нанесення стандартної травми. По осі абсцис – об'ємна щільність. По осі ординат – кількість ділянок нервового стовбура (%).

На електронно-мікроскопічному рівні практично не спостерігаються структуровані нервові волокна, мієлін розпарований, подекуди фрагментований. Ділянки деструкції мієліну виглядають як плямисті багатопарові округлі утворення, округлі плями в яких – це фрагменти мієліну на різних етапах руйнування, які знаходяться у цитоплазмі нейролемоцитів. В цитоплазмі деяких нейролемоцитів, окрім залишків фагоцитованого мієліну, відмічається велика кількість жирових включень, що може бути ознакою більш пізніх стадій дегенерації. Спостерігаються також нейролемоцити, які одночасно виступають і як макрофаги, і мієлінутворючі. В таких клітинах містяться поодинокі залишки фрагментованого мієліну та незначне число жирових включень. Вміст останніх депо відрізняється за електронною щільністю, і відповідно за складом, від нейролемоцитів, в яких яскраво виражені літні процеси. В той же час ці клітини оточують осьові циліндри, утворюючи навколо них мієлінову оболонку. Товщина останньої значно менша, у порівнянні з діаметром осьового циліндру, що свідчить про початкові стадії мієлінізації (рис. 2).

Слід відмітити, що нейролемоцити, які беруть участь у новоутворенні нервових волокон, розташовуються в місцях, вільних від дегенеруючих структур і заповнених фібробластами та пучками колагенових волокон, які не мають певної орієнтації, про що свідчить розташування поруч волокон, зрізаних і повздожньо, і перпендикулярно. Там же спостерігаються нейролемоцити, ультраструктурна організація яких відображає активні біосинтетичні процеси. Вони мають потовщену цитоплазму, містять значну кількість рибосом та полісом, каналця ендоплазматичної сітки, комплексу Гольджі, мітохондрії при відсутності лізосом – органел аутолітичного плану. Така ультраструктура дає підставу вважати, що ці клітини мігрували із проксимальної ділянки ушкодженого нерву. В деяких випадках новоутворені нейролемоцити контактують із осьовими циліндрами з одного боку, тобто тільки починають процес формування мезаксонів. В інших – осьові циліндри повністю занурені у цитоплазму, але ще не мають мієлінового обго-

рення. Відмічаються також осьові циліндри, оточені тонким шаром мієліну. В усіх новоутворених осьових циліндрах аксоплазма заповнена нейрофібрилами та добре розвинутими, чітко структурованими органелами. Мітохондрії, як правило, збільшені у розмірах, мають витягнуту форму, матрикс середньої електронної щільності. Поширені рибосоми, каналця ендоплазматичної сітки, секреторні пухирці.



Рис. 2. Фрагмент дистального відрізка сіничного нерва щура через 2 тижні після нанесення стандартної травми. Фрагментований мієлін (1), нервово волокно, що формується (2), в цитоплазмі нейролемоцита . колагенові волокна (3). Електронномікроскопічне фото. Зб. – 12000.

Поруч з мієліновими волокнами спостерігаються і безмієлінові, аксоплазма яких містить ті ж органи, що і мієлінові, але в меншій кількості.

Через 3 тижні після операції в дистальному відрізку збільшується інтерстиційний простір, вільний від нервових волокон, що відбувається внаслідок зникнення частини волокон. Це підтверджується морфометричними даними. Значуще зменшується, у порівнянні з попереднім терміном спостережень, об'єм, який займають нервові волокна у нерві, він дорівнює $9,71 \pm 0,65\%$. При цьому розподіл волокон, що залишилися, по стовбуру стає більш рівномірним, а об'єм ділянок, заповнених нервовими волокнами не перевищує 20%. Про завершальні стадії вторинної дегенерації (руйнування й утилізація пошкоджених структур нервового волокна) свідчить відсутність дегенеративно змінених мієлінових волокон, які були розповсюджені через 2 тижні експерименту, і які перетворилися на овоїди дегенерації – фрагменти нейролемоцитів з фагоцитованим мієліном. Збільшене число овоїдів дегенерації одночасно із зменшенням числа волокон підтверджується значущим зростанням показника їх об'ємної щільності до $3,85 \pm 0,96\%$. При цьому розподіляються вони по нерву менш рівномірно, ніж через 2 тижні експерименту (рис. 3).

На ультраструктурному рівні розрізняються два типи овоїдів дегенерації. Перший – це фрагменти нейролемоцитів, в цитоплазмі яких розміщуються фрагментовані волокна, товщина мієлінової оболонки яких корелює із діаметром осьових циліндрів, що дає підставу віднести ці структури до вторинної дегенерації. Інші нейролемоцити містять залишки декількох волокон з дуже тонкою мієліновою оболонкою (рис. 4).

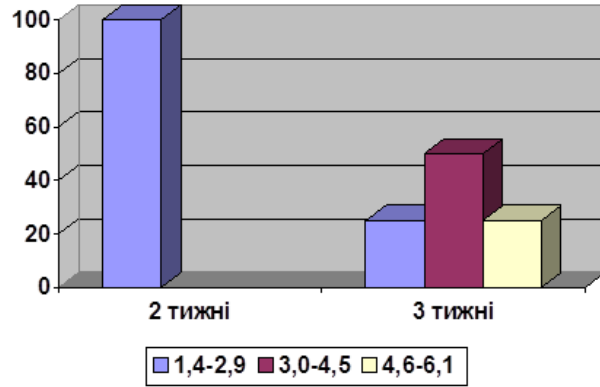


Рис. 3. Розподіл «овоїдів» дегенерації за об'ємною щільністю в нервовому стовбурі сіничного нерва щура після нанесення стандартної травми. По осі абсцис – об'ємна щільність. По осі ординат – кількість ділянок нервового стовбура (%).

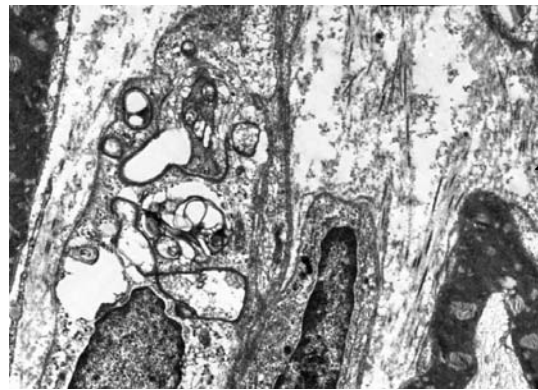


Рис. 4. Фрагмент дистального відрізка сіничного нерва щура через 3 тижні після нанесення стандартної травми. Новоутворені аберантні мієлінові волокна (1) в цитоплазмі нейролемоцитів. Електронномікроскопічне фото. Зб. – 12000

Ці структури, скоріш усього, можна віднести до дегенерації, яку зазнають новоутворені нервові волокна, внаслідок того, що частина з них є неповноцінною вже на етапі формування. На користь цього припущення свідчить розповсюдженість новоутворених мієлінових волокон з різним ступенем деструктивних змін. В таких волокнах - переважно великого калібру - відмічаються ділянки локального відходження аксолеми від мезаксонів з утворенням пухирчастих структур. В мієлінових оболонках утворюються точкові розходження мезаксонів, формуються глибокі інвагінації в бік осьового циліндру та випинання назовні, які разом з ділянками мікроклазматозних виростів мієліну значно перекривають просвіт осьового циліндру.

Мієлінова оболонка волокон невеликого калібру більш збережена, ділянки розшарування мезаксонів спостерігаються в незначній кількості. Аксоплазма щільно заповнена нейрофібрилами та нейротрубочками. До стінок останніх часто прикріплені рибосоми. Мітохондрії та секреторні пухирці представлені в незначній кількості. Матрикс більшості мітохондрій електроннопрозорий. Майже не спостерігаються каналця ендоплазматичної сітки. Все це відрізняє їх від мієлінових волокон у

травмованому нерві через 2 тижні, які знаходилися на самих початкових стадіях формування. Нейролемоцити, які оточують ці волокна, органи містять, в основному, в навколядерній зоні, яка в цей термін експерименту досить велика. Там розташовуються мітохондрії, рибосоми, полісоми і значне число дещо розширених каналців ендоплазматичної сітки. Про активні біосинтетичні процеси в цих клітинах свідчать також структура їх ядер, в яких переважає еухроматин, та ядерце.

Безмієлінові волокна спостерігаються в меншій кількості, ніж мієлінові. Разом з тим, серед них майже не спостерігається аберантних, тобто неповноцінних, структур. Їх аксоплазма заповнена нейрофібрилами, мітохондріями, секреторними гранулами.

Висновки:

1. Через 2 тижні після перетину в дистальному відрізуку відмічається загибель частини нервових волокон, місце яких заміщено колагеновими волокнами. Нервові волокна, що залишилися, знаходяться на різних стадіях руйнування, в здійсненні якого активну участь беруть нейролемоцити. Процеси дегенерації супроводжуються процесами відновлення нервових провідників – як мієлінових, так безмієлінових. При цьому, в новоутворенні мієлінових волокон крім нейролемоцитів, що мігрували із проксимальної ділянки, участь беруть і так звані «старі» нейролемоцити, які завершують виконання макрофагальної функції.

2. Через 3 тижні після нанесення стандартної травми в дистальному відділі сідничого нерва процеси дегенерації знаходяться на завершальних стадіях, внаслідок чого збільшується об'єм інтерстиціального простору, вільного від волокон. В то же час набувають виразності регенераційні процеси, при цьому серед новоутворених нервових волокон переважають мієлінові, частина з яких є ознаки альтераційних змін. В першу чергу ці зміни поширюються на мієлін і обумовлені, скоріш усього, порушеннями у функціонуванні нейролемоцитів, плазматичні мембрани яких, нащаруючись, утворюють мієлінову оболонку. Поява неповноцінних новоутворених мієлінових волокон призводить до розвитку дегенерації, яка в цей термін спостережень ще не набуває значної поширеності, та співіснує з овоїдами вторинної дегенерації.

Перспективи. Результати проведених досліджень надалі будуть використані в якості контрольних значень для порівняння із показниками, отриманими за умов впливу різноманітних зовнішніх та внутрішніх чинників на перебіг процесів відновлення периферичного нерва та при використанні корекції негативних наслідків цих впливів.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Геращенко С.Б. Периферійний нерв (нейросудинно-десмальні взаємовідношення в нормі та патології): Монографія / Геращенко С.Б., Дельцова О.І., Коломійцев А.К., Чайковський Ю.Б. - Тернопіль: Укрмедкнига, 2005. – 342 с.

2. McCaig C. D. Electrical fields, nerve growth and nerve regeneration / C. D. McCaig, F. M. Rajnicsek // *Experimental Physiology*. – 1991. – V. 76. – P. 473–494.

3. Акоев Г.Н. Исследование регенерации поврежденного седалищного нерва кролика и крысы после применения различных методов хирургического и фармакологического вмешательства / Г.Н. Акоев, Г.С. Коккин, А.И. Колосова, А.И. Покровская, О.Г. Трофимова, Е.И. Чумасов // *Диагност. и лечение поражений перифер. нервн. системы*. – Л., 1989. – С. 82–86.

4. Фаллин А.И. Некоторые спорные вопросы морфологии и физиологии вторичной дегенерации периферических нервов. – Медгиз, 1954.-100 с.

5. Dagum A. B. Peripheral nerve regeneration, repair, and grafting // *J. Hand. Ther.* – 1998. – V. 11. – № 2. – P. 111–117.

6. Waller A. Experiments on the section of glossopharyngeal and hypoglossal their primitive fibres // *Philosoph. Trans.* – London, 1850. – V. 140. – P.423–429.

7. Луцик О.Д. Гістологія людини: Навч. посіб. / О.Д. Луцик, А.Й. Іванова, К.С. Кабак, Ю.Б. Чайковський. – К.: Книга плюс, 2003. – 592 с.

8. Чельшев Ю.А. Выживание и фенотипическая характеристика аксотомированных нейронов спинальных ганглиев // *Морфология*.- 2004.- т.125 № 3.- С.45-49.

9. Чайковский Ю. Б. Регенерация периферического нерва в условиях его ауто- и аллопластики: Автореф. дис. ... докт. мед. наук: 14.00.02/ НМУ им. А.А.Богомольца – К., 1988. – 350 с.

10. Александровская О.В. Электронно-микроскопическое и гистохимическое исследование де- и регенерации периферических нервов / О.В. Александровская // *Материалы VII Всесоюзного съезда АГЭ*. – Тбилиси: Медицина, 1969. – С. 996–998.

11. Чайковский Ю.Б. Гемомикроциркуляторное русло травмированного седалищного нерва // *Архив анатомии*. - 1982. - т. 83, вып. 10. - С. 42-45.

12. Шевелев И.Н. Двигательные нарушения при травме периферических нервов // *Нейротравматология*.– М.: ИПЦ Вазар-Ферро, 1994. – С. 309–310.

13. Григорович К.А. Об оценке результатов хирургического лечения повреждения нервов // *Вестн. хир.* - 1977. - № 10. -С. 131-133.

14. Сокурченко Л. М. Регенерация периферийного нерва в условиях нейропластики, проведеної в різні терміни після пошкодження, та стимуляції мієліногенезу: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.03.09 / НМУ ім. О.О. Богомольца – К., 2003. – 175 с.

15. Aebischer P. Blend-ended semipermeable guidance channels support peripheral nerve regeneration in the absence of a distal nerve stump / P. Aebischer, V. Guenard, S. R. Winn // *Brain Research*. – 1988. – V. 454, № 1–2. - P. 179–187.

Надійшла 11.09.2012 р.

Рецензент: проф. А.Д.Савенко