

**УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ СІДНИЧНОГО НЕРВА ПРИ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ТРАВМАТИЧНОМУ ПОШКОДЖЕННІ ТА
ОСОБЛИВОСТІ РЕПАРАЦІЇ ПІД ВПЛИВОМ ПРЯМОЇ ДОВГОТРИВАЛОЇ
ЕЛЕКТРОСТИМУЛЯЦІЇ**

ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова НАМН України» (м. Київ)

Робота виконана в межах науково-дослідної теми ДУ «Інститут нейрохірургії імені академіка А. П. Ромоданова НАМН України» «Вивчити вплив довготривалої електростимуляції на відновлення функції нервів», № держ. реєстрації 0113U000291 (2013 – 2015 рр.).

Вступ. Для моделювання травматичного ушкодження нерва найчастіше використовують сідничний нерв дослідних тварин (мишей, щурів, кролів), що зумовлено великим регенераторним потенціалом нерва, яке дорівнює такому у приматів [2,4]. Лише окремі експериментальні та клінічні дослідження присвячені ефектам електростимуляції на процеси відновлення функцій при травмі периферійних нервів [6,7,10].

Загальновідомо, що для нервової системи процес поділу нейронів в постнатальному онтогенезі не характерний, а отже діапазон коливань структурної перебудови для забезпечення функціональної активності відбувається за рахунок «резервного» фонду поліпотентних мезенхімальних клітин й реактивно – пристосувальних процесів строми (ендо- і периневрію). Регенерація периферійного нерва спрямована на забезпечення фізіологічної спроможності (відновлення будови рухової одиниці) у спрямованості нервових волокон, співвідношенні і компенсаторній реакції клітин Шванна, судинних і сполучнотканинних елементів. Питання окремих ланок патогенезу регенераторно – компенсаторних змін за умови впливу електростимуляції (а саме строків, характеру і спрямованості цих змін) в різні терміни після невротізу, вивчені недостатньо.

Враховуючи гістофізіологію нервової тканини, нами оцінено структурні зміни, враховуючи цілість нервового стовбура як функціональної одиниці із співставлень окремих структурно-функціональних одиниць єдиної нервово-глію-судинної одиниці. Передусім це стосується клітинного, провідникового і нервово – м'язового апарату забезпечення функції рефлекторної дуги, з'ясування особливостей будови нервових волокон, їх співвідношень з гліальними елементами і мікроциркуляторним руслом периферійного нерву.

Метою дослідження стало вивчення ультраструктурних змін елементів нервово-м'язового апарату після нейрорафії та під дією електростимуляції у різні терміни.

Об'єкт і методи дослідження. Експеримент проведений на статевозрілих кролях-самцях породи «шиншила» масою тіла у середньому 3 кг. Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Тварини розподілені на дві групи: перша група (основна група) – пересічення сідничного нерва та нейрорафія на рівні середньої третини лівого стегна з імплантацією електродів для довготривалої електростимуляції (10 тварин); друга група (група порівняння) – аналогічне пересічення сідничного нерва та його зшивання без імплантації електродів для довготривалої електростимуляції (10 тварин). Мікрохірургічні маніпуляції виконували з застосуванням операційного мікроскопа (Zeiss, Jena). Після пересічення сідничного нерва та припинення кровотечі виконували епіневральний шов нитками умовного номеру 8,0 з атравматичною голкою «Оптикс» (у другій групі) та імплантації двох пар (+ та –) електродів для довготривалої електростимуляції (у першій групі). В післяопераційному періоді тваринам першої (основної) групи проводили довготривалу електростимуляцію лівого сідничного нерва за допомогою імплантованих електродів та нейростимулятора НейСі – 3М (НПП ВЕЛ, Київ) вітчизняного виробництва.

Принцип роботи НейСі – 3М: імпульси напруги від генератора апарату на приймальну антену, яку імплантовано в тіло тварини передаються через передавальну антену, що розміщена на поверхні шкіри над приймальною антеною. Імпульси напруги від приймальної антени через тонкий кабель подаються на електроди, які зафіксовані до епіневрію сідничного нерва. Довготривалу електростимуляцію проводили щоденно після загоєння післяопераційної рани. Тривалість одного сеансу електростимуляції була 5 хвилин у п'ятому режимі стимуляції – модуляції

частот по обом каналам, протягом одного та двох місяців відповідно термінам спостереження.

Через один та два місяці тварин виводили з експерименту, тварин знеболювали з використанням суміші розчинів ксилазину й кетаміну (відповідно 15 і 75 мг/кг маси тіла тварини), виділяли зону шва сідничного нерва в середній третині лівого стегна та проводили електронейроміографічне дослідження функції сідничного нерва на комп'ютерному електроміографі "Нейро-МВП" виробництва Росії (Нейрософт, Іваново).

Для електронно-мікроскопічного дослідження фрагменти тканини сідничного нерва, гомілкового м'яза та спинного мозку на рівні поперекового потовщення експериментальних тварин розміром 1x1 мм³ забиралися відразу після забою тварин, фіксувалися в суміші 4% параформальдегіда, 2,5% глутаральдегіда і 4% сахарози на 0,1 молярному фосфатному буфері pH = 7,4 з наступною дофіксацією в 1% розчині чотирьохокисю осмію [8], зневоднювалися в зростаючих концентраціях етанолу і оксіпропілена і заливалися в суміш епоксидних смол (епон-аралдит) за стандартними методиками електронної мікроскопії [1]. Ультратонкі зрізи товщиною 60-70 нм виготовлялись на ультратомах LKB [Швеція] і Reichardt-Jung [Австрія]. Для підвищення контрасту забарвлювалися за Reynolds [1963] і продивлялися в електронному мікроскопі EM-400T фірми "PHILIPS" [Нідерланди] за прискорювальної напруги 80 кВ [9]. Для прицільного ультратомування і поглибленої оцінки одержаних даних з епоксидних блоків виготовлялись напівтонкі зрізи товщиною 1 мкм, забарвлювалися метиленовим синім-піронином і продивлялися в світлооптичному мікроскопі AxioPhot фірми «OPTON» [Німеччина].

Ідентифікація процесів, що спостерігалась в реіннервованих нервових волокнах дослідних тварин (n = 10 в кожній групі дослідження), проводилась за допомогою морфометричної обробки поперечних напівтонких зрізів на комп'ютерному аналізаторі зображень CAI-01ABH фірми „SELMI” (Україна) з використанням програмного забезпечення «Карра орто-electronics GmbH» (Німеччина) при однаковому збільшенні (x 800). Коефіцієнт відношення ширини мієлінової оболонки (МО) до діаметра осьового циліндра (ОЦ) визначався з розрахунку довільно взятих 30 мієлінізованих аксонів на 1 випадок за формулою: МО/ОЦ [5]. Оскільки розподіл одержаних даних статистично значуще не відрізнявся від нормального, для статистичної обробки отриманих даних застосовували параметричний метод варіаційної статистики – t-критерій Стьюдента, двохвибірковий t-тест з різними дисперсіями з використанням пакету програми MS Excel 2003 [3] та STATISTICA 6. 1. Нормальність розподілення даних визначали критерієм Шапіро-Уїлка. Відмінності вважали статистично значущими при p < 0,05.

Результати досліджень та їх обговорення. Проведене комплексне електронно-мікроскопічне дослідження особливостей ультраструктурних змін, що спостерігались в реіннервованих нервових,

м'язових волокнах та спинному мозку експериментальних тварин засвідчило гіперплазію і високу проліферативну активність клітин Шванна, котра найбільше виражена в дистальній ділянці та в зоні шва нерва тварин експериментальної групи вже на 30 добу від початку експерименту і є важливим показником відновлення пошкодженого нерва. Вздовж нервових волокон спостерігалися гіпертрофовані клітини Шванна з досить великим ядром, а в цитоплазмі таких клітин містилася значна кількість внутрішньоклітинних органел, зокрема новоутворених мітохондрій малого діаметру з ущільненими кристами (**рис. 1б**). У тварин групи порівняння гіперпластичні та гіпертрофічні процеси з боку клітин Шванна були виражені в значно меншому обсязі.

В усіх вивчених відділах ушкодженого нерва спостерігалися різного ступеня вираженості регенераційні процеси з боку мієлінової оболонки з формуванням молодих мієлінових волокон, особливо в зоні шва та в дистальному відрізьку ушкодженого нерва. При цьому у групі порівняння ці процеси протікали повільніше, зокрема щільність розташування новоутворених аксонів та діаметр осьових циліндрів були меншими, ніж в експериментальній групі під впливом електростимуляції. В групі порівняння на тлі вираженого набухання аксонів з просвітленою внаслідок втрати частини нейрофіламентів і мікротрубочок аксоплазмою, спостерігалися деструктивні зміни частини мієлінових оболонок із ознаками міжклемлярного і периаksonального набряку, що утримувалися аж до 60 доби. Відмічені дистрофічні зміни фіброblastів ендоневрію (**рис. 1а**). В експериментальній групі дослідження наявне помірне набухання аксонів при збереженні спрямованості нейротрубочок і нейрофіламентів (**рис. 1б**). Ознаки деструкції мітохондрій не виявлені, видно багато дрібних молодих мітохондрій. Аксолема мієлінових нервових волокон без вогнищ деструкції, з явищами помірно вираженого периаksonального набряку. В експериментальних групах, починаючи з 30 доби експерименту, відмічені численні фігури мієлінізації регенеруючих аксонів відростками клітин Шванна (**рис. 1в**), в групі порівняння такі фігури зустрічаються в значно меншому обсязі.

Проаналізовано відношення товщини мієлінової оболонки до діаметру осьового циліндра (МО/ОЦ). Цей показник в умовах патології, на нашу думку, може опосередковано характеризувати динаміку протікання процесу демієлінізації в мієлінізованих аксонах, оскільки при демієлінізації щільність розміщення витків мієліну порушується, що призводить до збільшення, як ширини мієлінової оболонки, так і показника в цілому.

Зміни показника співвідношення діаметра осьового циліндра і мієліну нервового волокна представлені на **графіку 1**.

Згідно морфометричним даним (**графік 1**) співвідношення діаметра осьових циліндрів і мієлінової оболонки в групах порівняння склали відповідно 1,34 ± 0,02 і 0,65 ± 0,01, а в основних групах (дія електростимуляції один і два місяці) – 0,62 ± 0,009 і

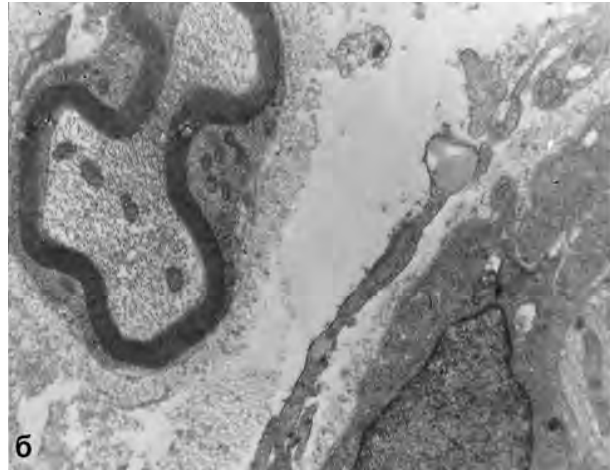


Рис. 1. Периферійний нерв а. Група порівняння 60 діб. Жирова дистрофія фібробластів ендоневрію. Активне колагеноутворення в розширених ендоневральних просторах. б. Експериментальна група 60 діб. Активні проліферуючі молоді форми клітин Шванна. Поява молодих форм мітохондрій в аксоплазмі цитоплазми клітини Шванна. в. Мієлінізація аксона відростком клітини Шванна. Електронні мікрофотографії. Зб.: а. 6 000, б. 13 000, в. 36 000.

від експериментальної групи спостерігалось посилення реакції сполучнотканинного оточення, що виражалось в розростанні щільної сполучної тканини, що містить різнонаправлені колагенові волокна неупорядкованої структури і велику кількість активно функціонуючих фібробластів з численними ультраструктурними органелами і гіпертрофованим ендоплазматичним ретикуломом, та утворенні грубого сполучнотканинного рубця в зоні шва нерва. В експериментальних групах, навпаки, синтез колагена фібробластами був помірним, а колагенові волокна вирізнялися впорядкованою будовою. У тварин експериментальної групи в динаміці розвитку процесів репаративного гістогенезу периферійних нервів відбувається часткова нормалізація мікроциркуляторного судинного русла. Зокрема, не було відмічено судин з явищами пристінкового тромбозу, а в більшій частині капілярів спостерігалися явища компенсаторної гіпертрофії ендотеліальних клітин, особливо в маргінальній частині ендотеліоцитів при наявності значної мікропіноцитозної активності (рис. 2в). Незважаючи на наявність залишкового периваскулярного набряку в зоні шва, слід зазначити, що

$0,42 \pm 0,006$, тобто знижуються відповідно в 2,2 і 1,5 рази, що свідчить про нормалізацію структури мієлінової оболонки під впливом електростимуляції.

У тварин групи порівняння морфо-функціональний стан мікроциркуляторного судинного русла периферійного нерва навіть у віддалений період дослідження не повертається до норми. Зокрема, стінки загальної маси мікросудин дистрофічно змінені. У просвітку деяких судин спостерігаються пристінкові тромби, а також відмічається виразний набряк і потовщення ендотеліального прошарку з явищами плазмощитозу та порушенням цілості внутрішньоклітинних органел з одночасним потовщенням і розволокненням базальної мембрани (рис. 2а). У всіх оболонках нерва присутня велика кількість нейтрофілів, макрофагів, лімфоцитів і молодих форм інших клітин мезенхімального диферону (рис. 2б). У тварин групи порівняння, на відміну



Графік 1. Зміни співвідношень товщини мієлінової оболонки та діаметру осевого циліндра (МО/ОЦ).

Примітка: * – статистично значуще відносно відповідної групи порівняння, $p < 0,05$.

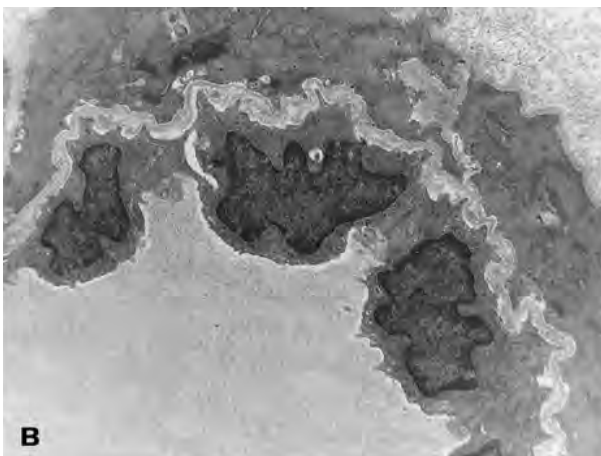
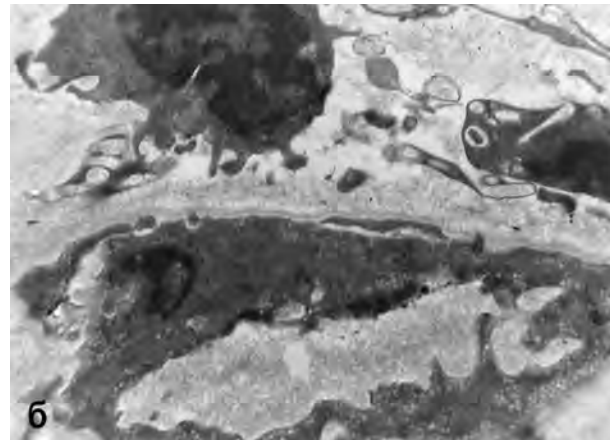
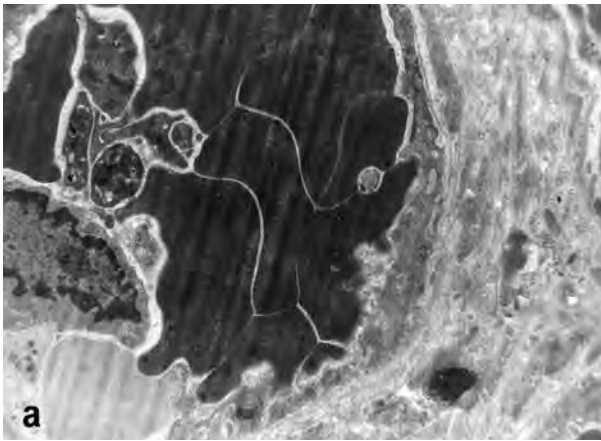


Рис. 2. Периферійний нерв. Група порівняння 60 діб.
а. Пристінкові тромбоцити та еритроцитаз в просвіті деструктивно зміненої мікросудини з наявністю потовщення і розволокнення базальної мембрани.
б. Активованій лімфоцит та численні колагенові волокна в розширеному ендоневральному просторі на тлі деструктивно зміненої мікросудини.
в. Експериментальна група 30 діб. Реактивно змінена мікросудина. Електронні мікрофотографії. Зб.: а. 4 600, б. 8 000, в. 6 000.

його вираженість була значно меншою, ніж в групі порівняння.

Зміни з боку олігодендроцитів поперекового потовщення спинного мозку носять поліморфний характер, проте, в усі терміни спостереження у тварин групи порівняння відмічено значну кількість осміофільних олігодендроцитів на стадії деструктивних змін з деформацією ядра та дизкомплексацією в ньому хроматину, різким розширенням ендоплазматичного ретикулула і появою в цитоплазмі значних порожнин і вакуолізованих форм мітохондрій. В експериментальних групах дослідження переважають, реактивно змінені і гіпертрофовані олігодендроцити, що характеризуються перегрупуванням і збільшенням кількості хроматину в каріоплазмі, гіперплазією цитоплазматичних ультраструктур – ендоплазматичного ретикулула і комплексу Гольджі рибосом і полісом, набуханням мітохондрій з просвітленням матриксу і втратою частини крист

внаслідок функціонального напруження клітини. Олігодендроцити експериментальних груп дослідження часто формують кластери з 2-4 клітин (**рис. 3б**).

В групі порівняння в сірій речовині поперекового потовщення спинного мозку на тлі атрофічних змін дендритів і деяких аксонів, що супроводжувались редукцією структурних елементів цитоскелета (мікрофіламентів, нейрофіламентів, мікротрубочок), набуханням, просвітленням матрикса і деструкцією крист в мітохондріях, щільність синапсів в нейропілі та синаптичних везикул в пресинаптичних терміналях, відносно групи з електростимуляцією була візуально нижчою (**рис. 4а**). Цікаво, що в цей термін після електростимуляції візуально в значно більшій кількості зустрічаються складні аксондендритні синапси як з конвергентним (кілька пре-і одна постсинаптична частина) (рис. 4б), так і з дивергентним (одна пре-і кілька постсинаптичних частин) типом ускладнення просторової організації.

Складається враження, що у віддаленому періоді після нейрорафії на тлі електростимуляції в результаті активації механізмів компенсації синаптичної пластичності відбувається локальна реорганізація міжнейронних синаптичних зв'язків в бік ускладнення їх просторової організації, що здатне призводити до підвищення ефективності останніх.

Зміни з боку **м'язових волокон** у тварин групи порівняння в терміни дослідження як 1 так і 2 місяці різняться незначно і характеризуються порушенням цитоархітекτονіки міосимпласту з наявністю вогнищ міжміофібрилярного набухання, розволокненням міофібрил, набуханням саркоплазматичного ретикулула та мітохондрій з частковою деструкцією крист і, подекуди, утворенням патологічних мембранних комплексів (**рис. 5а**).

На відміну від цього м'язові волокна тварин групи з електростимуляцією характеризуються майже незміненою будовою і вже на 30 добу виявляють ознаки гіпертрофії мітохондрій (рис. 5б), що вказує на стимуляцію енергетичних процесів у м'язовому симпласті.

Ендотелій прилеглих до м'язового волокна мікросудин незалежно від групи дослідження, як

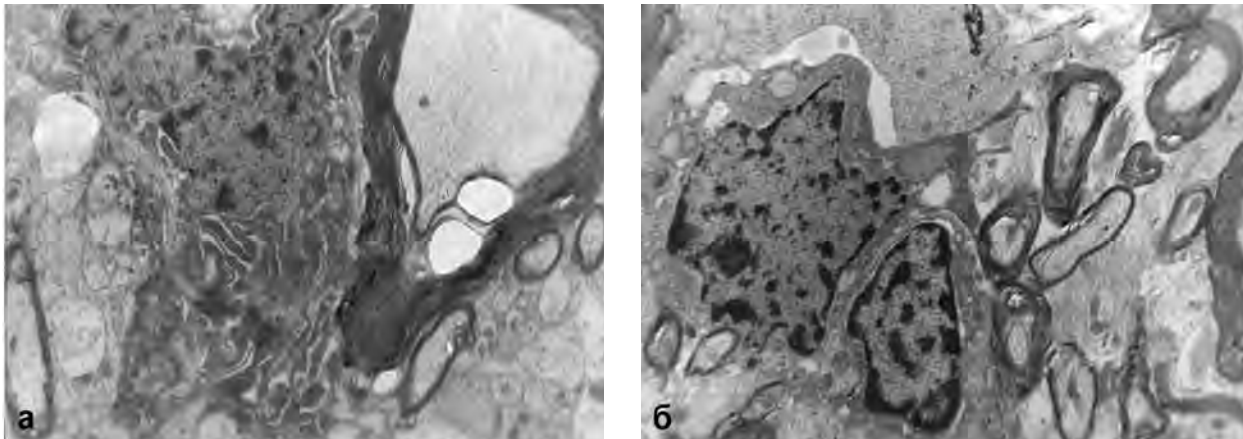


Рис. 3. Поперекове потовщення спинного мозку. а. Група порівняння 60 дiб. Деструктивні зміни олігодендрогліюцита і мієлінової оболонки прилягаючого аксона. б. Експериментальна група 60 дiб. Кластер з 2 олігодендрогліюцитів. Електронні мікрофотографії. Зб.: x 6 000

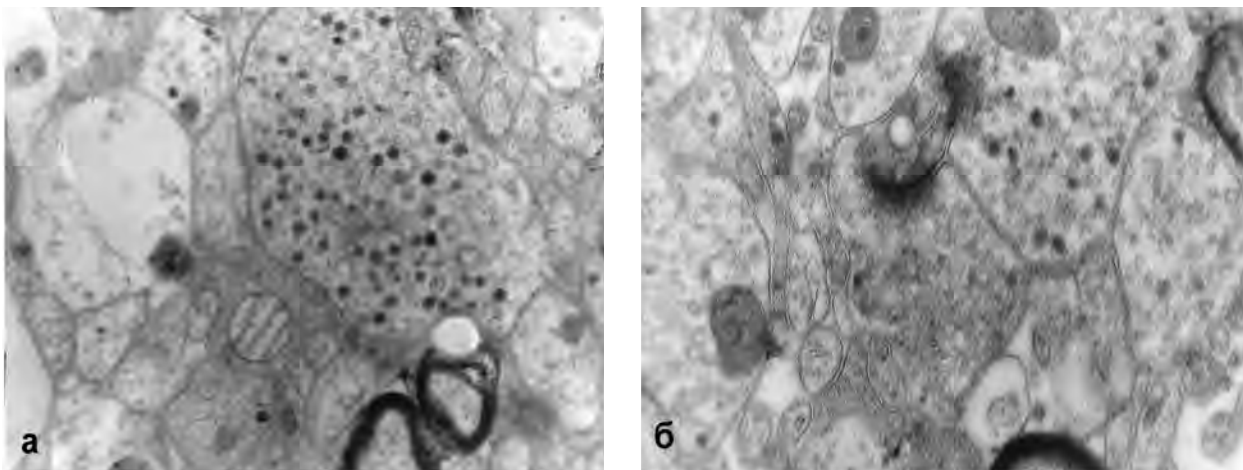


Рис. 4. Біла речовина поперекового потовщення спинного мозку. а. Група порівняння 60 дiб. Редукція структурних елементів цитоскелета кінцевих відростків аксонів, набухання і деструкція мітохондріальних крист. б. Експериментальна група 60 дiб. Аксошпиковий складний синапс з конвергентним типом ускладнення просторової організації (2 пре-і одна постсинаптична терміналь). Електронні мікрофотографії. Зб.: x 22 000

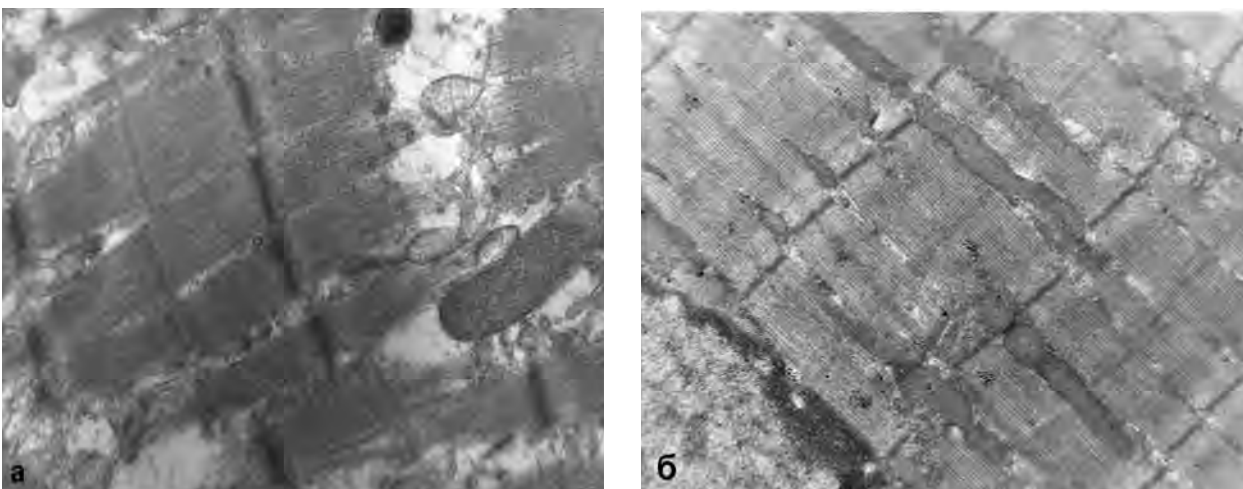


Рис. 5. М'язове волокно. а. Група порівняння 60 дiб. Порушення цитоархітекτονіки міосимпласту з наявністю вогнищ міжміофібрилярного набухання і фрагментацією мітохондріальних крист. б. Експериментальна група 30 дiб. М'язовий симпласт. Відновлення спрямованості і посмогваності міобластів. Гіпертрофія мітохондрій. Електронні мікрофотографії. Зб.: а. x 17 000, б. x 13 000.

правило характеризується мікроевезикуляцією на тлі потовщення і розволокнення базальної мембрани.

Висновки. Вивчення впливу прямої довготривалої електростимуляції на регенерацію нервів і стан нервово-м'язового апарату після нейрорафії (у кролів) в експерименті виявило ультраструктурні зміни, які вказують на збільшення швидкості відновлення фізіологічної регенерації нервових волокон під впливом електростимуляції. Позитивний вплив тривалої електростимуляції на репаративний гістогенез ушкоджених периферійних нервів проявляється в покращенні стану мікроциркуляторного судинного русла та пригніченні явищ запалення в зоні ушкодження нерва, що сприяє утворенню менш щільного сполучно-тканинного рубця, активації механізмів компенсаторної синаптичної пластичності та гіперплазії олігодендроцитів в спинному мозку, збільшенні щільності розташування аксонів,

що проростають через ділянку регенераційної нервоми, підвищенні проліферативної активності клітин Шванна, покращенні якості та прискоренні процесу мієлінізації нервових волокон в процесі їх регенерації.

Лікування травм периферійних нервів в клініці для забезпечення високої якості життя пацієнтів у найкоротші терміни потребує застосування різноманітних методів стимуляції. Проведені нами дослідження доводять і об'єктивізують спроможність репаративно – пристосувальних процесів й доцільність застосування електростимуляції в післяопераційному періоді.

Перспективи подальших досліджень. В подальшому плануються дослідження ефективності використання методики довготривалої електростимуляції в комплексному лікуванні хворих з наслідками ушкодження периферійних нервів.

Література

1. Гайер Г. Электронная гистохимия / Г. Гайер; пер. с нем. И. Б. Бухвалова; под. ред. и с предисл. Н. Г. Райхмина. – М.: Мир, 1974. – 448 с.
2. Горшков Р. П. Реабилитация больных с повреждением стволов плечевого сплетения (клинико – экспериментальное исследование) : автореф. дис. на соискание ученой степени доктора мед. наук : спец. 14. 00. 22 «Травматология и ортопедия»; 14. 00. 13 «Нервные болезни» / Р. П. Горшков. – Саратов, 2009. – 44 с.
3. Лапач С. Н. Статистические методы в медико – биологических исследованиях с использованием Excel. Экспериментальные исследования. Клинические испытания. Анализ фармацевтического рынка / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К.: МОРИОН, 2000. – 319, [1] с. – (Медицина и статистика).
4. Серяков В. И. Регенерация периферического нерва после микрохирургического шва под влиянием D,L – карнитина (экспериментальное исследование) : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук : спец. 14. 00. 27 «Хирургия»; 03. 00. 25 «Гистология, цитология, клеточная биология» / В. И. Серяков. – Новосибирск, 2009. – 23 с.
5. Патент України 17499 МПК: G01N23/02. Спосіб оцінки ступеня демієлінізації аксонів при експериментальному алергічному енцефаломієліті / Цимбалюк В. І., Маркова О. В., Пічкур Л. Д., Васлович В. В., Касьяненко Ю. А. – № 17499; заявл. 24. 05. 2006; опубл. 15. 09. 2006. – Бюл. № 9, 2006.
6. Электротерапия и электропунктура в медицинской реабилитации, физиотерапии и курортологии / И. З. Самосюк, Н. В. Чухраев, Н. И. Самосюк, Е. Н. Чухраева. – К., 2012. – 291 с.
7. Alrashdan M. S. Thirty minutes of low intensity electrical stimulation promotes nerve regeneration after sciatic nerve crush injury in a rat model / M. S. Alrashdan, J. C. Park, M. A. Sung // Acta Neurol. Belg. – 2010. – Vol. 110, № 2. – P. 168–179.
8. Palade G. A. A study of fixation for electron microscopy / G. A. Palade // J. Exp. Med. – 1957. – Vol. 95. – P. 285–298.
9. Reynolds E. S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy / E. S. Reynolds // J. Cell Biol. – 1963. – Vol. 17. – P. 208–212.
10. Wan L. D. Electrical stimulation enhanced remyelination of injured sciatic nerves by increasing neurotrophins / L. D. Wan, R. Xia, W. L. Ding // Neuroscience. – 2010. – Vol. 169, № 3. – P. 1029–1038.

УДК 616. 833. 58-001-092. 9-089:615. 84:612. 015. 36

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ СІДНИЧНОГО НЕРВА ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ТРАВМАТИЧНОМУ УШКОДЖЕННІ ТА ОСОБЛИВОСТІ РЕПАРАЦІЇ ПІД ВПЛИВОМ ПРЯМОЇ ДОВГОТРИВАЛОЇ ЕЛЕКТРОСТИМУЛЯЦІЇ

Цимбалюк Ю. В., Малишева Т. А., Васлович В. В.

Резюме. Експеримент проведений на статевозрілих кролях-самцях породи «шиншила» масою тіла у середньому 3 кг. Тварини розподілені на дві групи: перша група (основна група) – пересічення сідничного нерва та нейрорафія на рівні середньої третини лівого стегна з імплантацією електродів для довготривалої електростимуляції; друга група (група порівняння) – аналогічне пересічення сідничного нерва та його зшивання без імплантації електродів для довготривалої електростимуляції. В післяопераційному періоді тваринам першої (основної) групи проводили довготривалу електростимуляцію лівого сідничного нерва за допомогою імплантованих електродів та нейростимулятора НейСі – 3М. Вивчення впливу прямої довготривалої електростимуляції на регенерацію нервів і стан нервово-м'язового апарату після нейрорафії (у кролів) в експерименті виявило ультраструктурні зміни, які вказують на збільшення швидкості відновлення фізіологічної регенерації нервових волокон під впливом електростимуляції.

Ключові слова: периферійні нерви, морфологічні зміни, електростимуляція, нейрорафія.

УДК 616. 833. 58-001-092. 9-089:615. 84:612. 015. 36

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТРАВМАТИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ И ОСОБЕННОСТИ РЕПАРАЦИИ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ПРЯМОЙ ДЛИТЕЛЬНОЙ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ

Цымбалиук Ю. В., Малышева Т. А., Васлович В. В.

Резюме. Эксперимент проведен на половозрелых кроликах-самцах породы «шиншилла» массой тела в среднем 3 кг. Животные были распределены на две группы: первая (основная) группа – пересечение седалищного нерва и нейрорафия на уровне средней трети левого бедра с имплантацией электродов для длительной электростимуляции; вторая (группа сравнения) группа – аналогичное пересечение седалищного нерва и его шов без имплантации электродов для длительной электростимуляции. В послеоперационном периоде животным первой (основной) группы проводили длительную электростимуляцию левого седалищного нерва с помощью имплантированных электродов и нейростимулятора НейСи – 3М. Изучение влияния прямой длительной электростимуляции на регенерацию нервов и состояние нервно-мышечного аппарата после нейрорафии (у кроликов) в эксперименте выявило ультраструктурные изменения, которые указывают на увеличение скорости восстановления физиологической регенерации нервных волокон под воздействием электростимуляции.

Ключевые слова: периферические нервы, морфологические изменения, электростимуляция, нейрорафия.

UDC 616. 833. 58-001-092. 9-089:615. 84:612. 015. 36

Ultrastructural Changes of Sciatic Nerve after Experimental Traumatic Damage and Features of Reparation under Influence of Direct Long-Term Electrical Stimulation

Tsybaliuk Y. V., Malysheva T. A., Vaslovych V. V.

Abstract. *The goal:* is to study ultrastructural changes of elements of neuromuscular system after nerve suture and under the influence of electrical stimulation in different time periods.

Material and methods. The experiment was conducted on sexually mature male rabbits of «chinchilla» breed with average weight of 3 kg. Animals are divided into two groups: first group (study group) – sciatic nerve transection and nerve suture at the middle third of the left thigh with implantation of electrodes for long-term electrical stimulation; second group (comparison group) – similar sciatic nerve transection and nerve suture without implantation of electrodes for long-term electrical stimulation. Animals of first (primary) group were conducted with long-term electrical stimulation of the left sciatic nerve using implanted electrodes and neurostimulator НейСи – 3М in post-operative period. Sciatic nerve, ankle muscles and the spinal cord at the level of lumbar enlargement were taken for electron microscopic study of tissue fragments from experimental animals immediately after slaughter and fixed according to standard methods.

Results. An integrated electron microscopic study of features of ultrastructural changes that have taken place in reinnervated nerve, muscle fibers and spinal cord of experimental animals has shown hyperplasia and high proliferative activity of Schwann cells, which are most pronounced in the distal region and in the area of nerve suture of animals of the experimental group on the 30th day from the start of the experiment and is an important indicator of the recovery of the damaged nerve. Hypertrophic Schwann cells with a rather large nucleus were observed along nerve fibers, and a significant number of intracellular organelles were observed in the cytoplasm of these cells, including newly formed mitochondria of small diameter with condensed cristae. In animals, of the comparison group hyperplastic and hypertrophic processes conducted by Schwann cells were expressed to a much lesser extent. Varying degree of regenerative processes by the myelin sheath with formation of young myelinated fibers, especially in the suture area and in the distal segment of the damaged nerve were observed in all studied sections of damaged nerve. These processes proceeded more slowly within the comparison group, particularly the density of newly formed axon and diameter of axial cylinders were smaller than in the experimental group under the influence of electrical stimulation. In the comparison group on the peak of pronounced swelling of axons with enlightened due to partial loss of neurofilaments and microtubules from axoplasm destructive changes of the myelin sheaths with signs of interlamellar and periaxonal edema, which was held up to 60 days were observed. Degenerative changes of fibroblasts of endoneurium were marked. Moderate swelling of axons, with maintaining of focus of neurotubules and neurofilaments exists in the experimental study group.

Conclusions. Learning to direct long-term electrical stimulation on the regeneration of nerves and state of the neuromuscular system after nerve suture (in rabbits) in the experiment revealed ultrastructural changes that indicate an increase in the rate of recovery of physiological regeneration of nerve fibers under the influence of electrical stimulation. The positive effect of prolonged electrical stimulation on reparative histogenesis of damaged peripheral nerves evident in improvement of the microcirculatory vascular bed and inhibition of effects of inflammation in the area of nerve damage, which contributes to the formation of less dense connective tissue scar, activation of compensatory mechanisms of synaptic plasticity and oligodendroglia hyperplasia in spinal chord, increasing the density arrangement of axons that grow through the area of regenerative neuroma, increased proliferative activity of Schwann cells, improve quality and accelerate the process of myelination of nerve fibers in process of their regeneration.

Key words: peripheral nerves, morphological changes, electrical stimulation, nerve suture.

Рецензент – проф. Шепітько В. І.

Стаття надійшла 25. 11. 2013 р.