

УДК 616.833-003.93:57.012.4:616.441-008.46

Т.Я. Рудюк, В.Б. Раскалей, Л.О. Стеченко, С.М. Чухрай
Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ

ОСОБЛИВОСТІ МОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН УШКОДЖЕНОГО СІДНИЧОГО НЕРВА У ТИРЕОЇДЕКТОМОВАНИХ ЩУРІВ ЗА УМОВ КОМБІНОВАНОЇ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ ГІПОТИРЕОЗУ

Робота присвячена вивченню ультраструктурних змін у сідничому нерві через 2, 3, 6 та 12 тижнів після його перетину у тиреоїдектомованих щурів за умов комбінованої фармакологічної корекції. Встановлено, що після перетину сідничого нерва морфологічна картина його дистального відрізка вирізнялася відсутністю овоїдів дегенерації в усі терміни спостереження і розподілом нервових волокон на типові й атипові. Комбінована медикаментозна корекція позитивно впливає на процес мієлінізації новоутворених волокон пошкодженого сідничого нерва гіпотиреоїдних щурів і на енергетичне забезпечення нервових волокон, про що свідчить велика кількість мітохондрій в аксоплазмі і цитоплазмі нейролемоцитів.

Ключові слова: *гіпотиреоз, ретроградна дегенерація, овоїди дегенерації, електронна мікроскопія.*

Гіпотиреоз має свої вікові особливості і різноманітні клінічні прояви, приховані за масками інших хвороб. Серед проявів гіпотиреозу є різні ураження нервової системи, що проявляються невротичними розладами і ініціюють порушення функціонування інших органів і систем [1].

Механізми процесів ураження нервової системи при гіпотиреозі, згідно даних літератури, вивчені недостатньо [2, 3]. Відомо, що зменшення рівня тиреоїдних гормонів в організмі неодмінно призводить до порушень мієлінізації нервових волокон, яка є особливо важливим чинником для повноцінного відновлення пошкоджених нервів. Зазначене свідчить про актуальність вивчення особливостей ультраструктурних змін в периферичних нервах за умов гіпотиреозу та його медикаментозної корекції [4, 5]. Невирішеним залишається питання регенерації периферичної нервової системи в умовах гіпотиреозу при застосуванні замісної фармакологічної корекції. Виходячи з цього, доцільно продовжити наукові дослідження з розробки методів стимуляції регенерації периферичного нерва в умовах гіпотиреозу за допомогою детального вивчення мікроскопічних і субмікроскопічних змін.

Метою роботи було вивчення особливостей процесів де- та регенерації нервового стовбура тиреоїдектомованих щурів за умов комбінованої фармакологічної корекції.

Матеріал і методи. Експеримент виконано на 15 білих щурах масою 150–200 г. Тварин утримували в стандартних умовах віварію (в одному приміщенні, на стандартному брикетованому харчуванні) [6]. Маніпуляції над ними проводили відповідно до положень з питань біоетики.

Тварини були розподілені на п'ять груп: I – «псевдооперовані» тварини, показники яких використовувалися в якості контролю, тваринам II, III, IV, V груп була проведена тиреоїдектомія [7]. Через три доби всі щурі почали отримувати L-тироксин (Фармак, Україна) в дозі 10 мкг/кг per os щоденно та міакальцік (Novartis, Швейцарія) в дозі 1,0 МО/кг маси внутрішньом'язово через одну добу. Через 100 діб усім тваринам відтворили модель травми сідничого нерва. Матеріалом для дослідження були дистальні відрізки (дистальніше післяопераційної невромі) пошкодженого сідничого нерва через 2, 3, 6, 12 тижнів після відтворення моделі травми периферичного нерва. Для електронно-мікроскопічного дослідження препарати готували за загальноприйнятою

© Т.Я. Рудюк, В.Б. Раскалей, Л.О. Стеченко, С.М. Чухрай, 2014

методикою [8]. Потім їх вивчали та фотографували в електронному мікроскопі ЕМВ 125К.

Результати та їх обговорення. У дистальному відділі сідничого нерва щурів із набутим гіпотиреозом через 2 тижні після стандартного його травмування та за умов комбінованої медикаментозної корекції електронномікроскопічно процеси дегенерації проявлялися наявністю ознак набряку і розволокнення мієлінових, фагоцитованих залишків мієлінових оболонок у цитоплазмі нейролемоцитів без ознак фрагментації та з великою кількістю лізосом у макрофагах.

Залишки мієлінової оболонки мали вигляд тонких, нерівномірно забарвлених пластин, подекуди щільно прилеглих одна до одної, а подекуди розмежованих великими за об'ємом проміжками. Одночасно в цитоплазмі нейролемоцита виявлялись і великі за розмірами залишки зруйнованого мієлінового волокна і новоутворене мієлінове волокно з ознаками порушення його мієлінізації у вигляді збільшення періаксонального простору і розходження пластин мієлінової оболонки (рис. 1, *a*).

рофага (рис. 1, *б*). Це свідчило про фагоцитарну готовність нейролемоцитів і макрофагів, але фрагментація мієлінових оболонок і утворення овоїдів дегенерації ще не розпочалися.

Інтерстиційний простір був розширеним, але не містив грубих пучків колагену. На тлі повного розквіту дегенеративних процесів розпочата регенерація, яка дещо відстає від регенерації пошкодженого нерва у групі контролю, судячи з кількості новоутворених волокон і якості мієлінової оболонки.

Через 3 тижні після травми нерва за умов гіпотиреозу та його фармакологічної корекції в дистальному його відрізку на електронномікроскопічному рівні подекуди виявлялися зруйновані (атипові) мієлінові волокна з розшарованою мієліновою оболонкою у вигляді тонких пластин, розмежованих широкими проміжками, без осьових циліндрів і ознак фрагментації.

У полі зору виявлялася значно менша кількість мієлінових волокон, ніж у попередньому терміні, і діаметр їх був меншим.

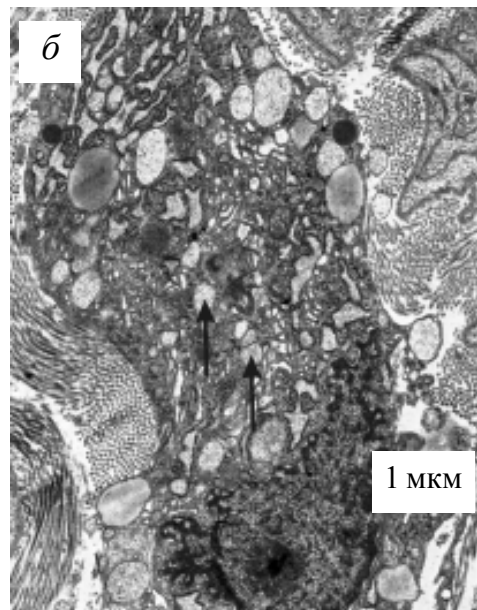
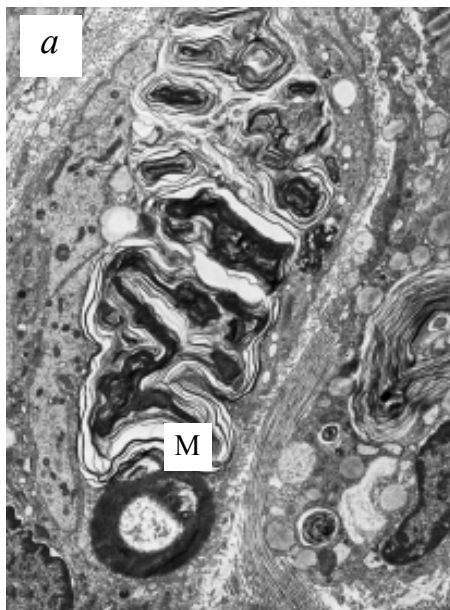


Рис. 1. Дистальний відрізок сідничого нерва щура після відтворення експериментальної моделі травми периферичного нерва за умов гіпотиреозу та його фармакологічної корекції, 2 тижні після пошкодження:

a – дегенеративно змінене мієлінове волокно М; *б* – вакуолі в цитоплазмі макрофага ↑.

Електронна мікрофотографія, $\times 8\,000$

Цитоплазма нейролемоцита містила велику кількість вакуоль і повноцінних мітохондрій. Особливо насиченою вакуолями була цитоплазма виявленого в полі зору мак-

Відмічено покращення структури мієлінових оболонок. Вони в переважній більшості мали невелику товщину, чіткі контури, однорідну структуру і забарвлення (рис. 2, *a*).

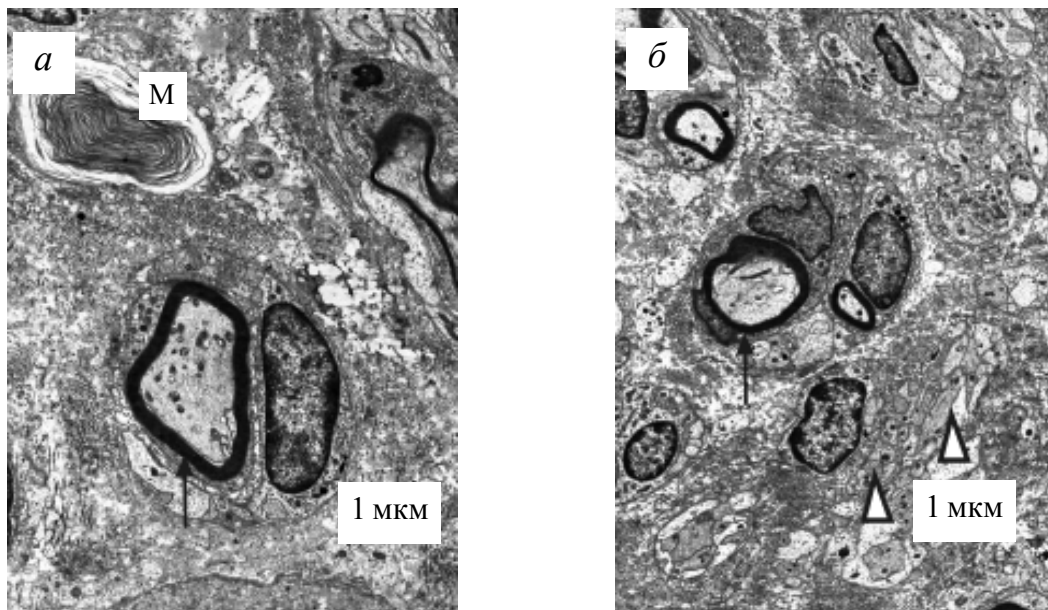


Рис. 2. Дистальний відрізок сідничого нерва щура після відтворення експериментальної моделі травми периферичного нерва за умов гіпотиреозу та його фармакологічної корекції, 3 тижні після пошкодження:

a – дегенеративно змінене мієлінове волокно М. Електронна мікрофотографія, $\times 4 150$;

б – новоутворені мієлінові Δ і безмієлінові \uparrow волокна. Електронна мікрофотографія, $\times 3 800$

Новоутворена мієлінова оболонка була структурно більш повноцінною, ніж у неліктованих гіпотиреодних щурів. Крайній стан мієлінових волокон відмічений у щурів із гіпотиреозом і корекцією через 3 тижні після перетину, ніж у щурів через 2 тижні, пов'язаний з більшою мієліноутворюючою активністю шванноцитів. Фагоцитарна функція нейроремієлінових клітин значно нижча, ніж у щурів контрольної групи, про що свідчить відсутність у полі зору овоїдів дегенерації. Періаксональний простір подекуди розширений. Інтерстиційний простір розширений, заповнений колагеновими волокнами і клітинним детритом, проте не містить грубих пучків колагену (рис. 2, б).

Ультрасмікроскопічно в дистальному відрітку пошкодженого сідничого нерва за умов гіпотиреозу та його фармакологічної корекції через 6 тижнів після пошкодження спостерігали велику кількість кластерно розташованих безмієлінових волокон, які мали нерівні контури і містили в аксоплазмі велику кількість вакуоль і електронно-щільних включень (рис. 3, а). Подекуди в аксоплазмі траплялися набряклі, електронно-ущільнені мітохондрії зі зруйнованими кристами.

Новоутворені мієлінові волокна, переважно великого калібру, мали неповноцінну мієлінову оболонку, локально розшаровану

або ущільнену, подекуди набряклу, із збільшеним періаксональним простором і місцями відходження мієлінової оболонки в аксоплазму (рис. 3, б). Ділянки розшарування мали вигляд стоншених ламел, розмежованих великими проміжками.

Товщина мієлінової оболонки великих за діаметром волокон була невеликою, форма на поперечному зрізі – неправильною, деформованою. В аксоплазмі мієлінових волокон виявлені гіпертрофовані мітохондрії, нейрофіламенти, лізосоми і включення (рис. 4, а).

Виявлялися мієлінові волокна малого калібру з тонкою, проте якісною структурованою мієліновою оболонкою, яка подекуди мала інвагінації, а волокна на поперечному зрізі були неправильної форми. Виявлялися також невеликі ділянки збільшення періаксонального простору. В аксоплазмі цих волокон спостерігалася значна кількість мітохондрій. У полі зору виявлялися зруйновані (атипові) мієлінові волокна з розшарованою, набряклою мієліновою оболонкою, мозаїчно забарвленою, подекуди без осьових циліндрів, проте без ознак фрагментації, що було характерним для стану гіпотиреозу (рис. 4, б).

Інтерстиційний простір був розширеним, містив колагенові волокна, які не утворювали грубих пучків.

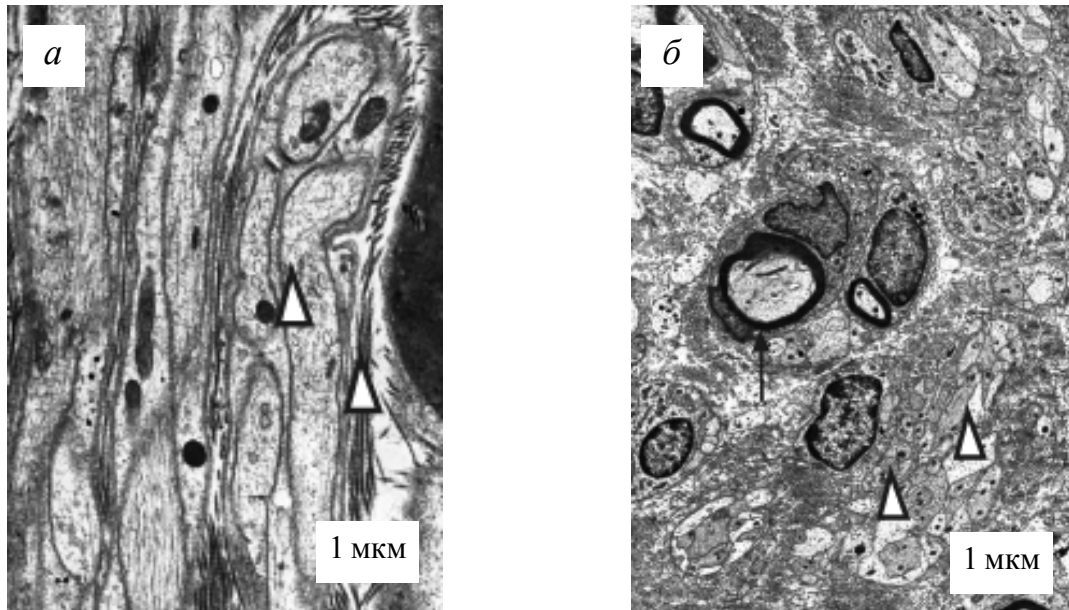


Рис. 3. Дистальний відрізок сідничого нерва щура після відтворення стандартної моделі травми периферичного нерва за умов гіпотиреозу та його фармакологічної корекції, 6 тижнів після пошкодження.

Новоутворені мієлінові волокна ↑ і безмієлінові Δ.
Електронна мікрофотографія: *a* – ×14 000; *б* – ×10 000

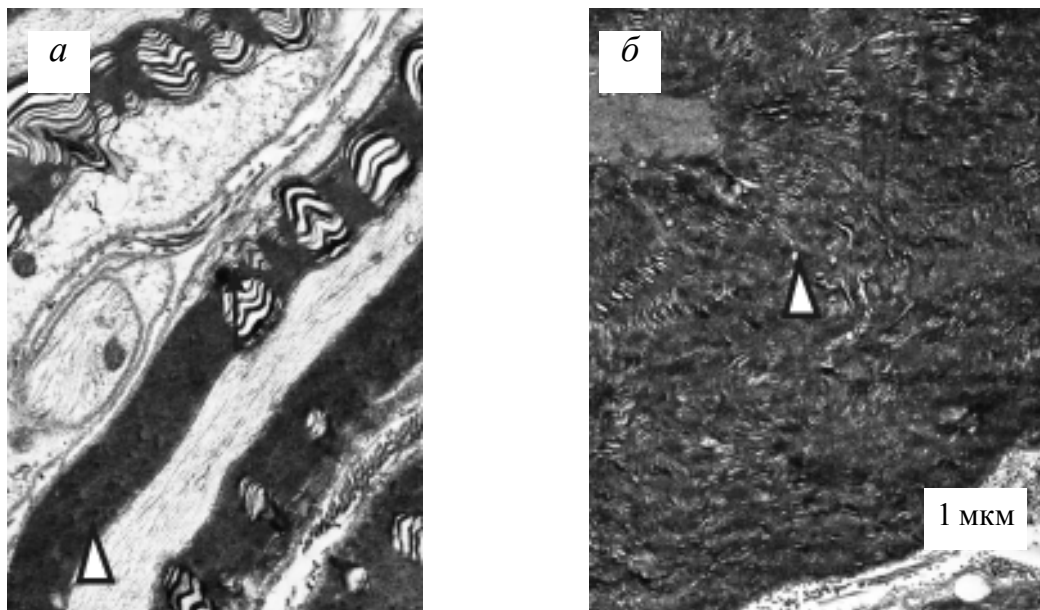


Рис. 4. Дистальний відрізок сідничого нерва щура після відтворення експериментальної моделі травми периферичного нерва за умов гіпотиреозу та його фармакологічної корекції, 6 тижнів після пошкодження:

a – новоутворені мієлінові волокна; локальні розшарування мієлінової оболонки ↑, збільшення періаксонального простору Δ.

Електронна мікрофотографія, ×10 000;
б – атипові мієлінові волокна. Тотальне розшарування мієлінової оболонки в дистальному відрізку сідничого нерва. Електронна мікрофотографія, ×12 000

Ультрамiкроскопiчно в дистальному вiдрiзку пошкодженого сiдничого нерва за умов гiпотиреозу та його фармакологiчної корекцiї через 12 тижнiв пiсля пошкодження виявленi новоутворенi безмiєліновi волокна, розташованi кластерами (рис. 5, *a*). Вони мали чiткi контури аксолеми, рiзний дiаметр (вiд зовсiм малого до досить великого, що за рiзмирами наближався до дiаметра середнього мiєлінового волокна) i мiстили в аксоплазми електронно-щiльні включення i вакуолi.

Новоутворенi мiєліновi волокна були рiзного дiаметра i мали однорiдну за структурою i забарвленням тонку мiєлінову оболонку без дiлянок набряку, розволокнення, ущiльнення, як у попереднiх термiнах. Аксоплазма мiстила секреторнi пухирцi, нейрофiламенти, видовженi новоутворенi або округлi набряклi зi зруйнованими кристами мiтохондрiї. Подекуди мiєліновi волокна мали неправильну форму поперечного зрiзу, з iнвагiнацiями i вiдходженнями фрагментiв оболонки в аксоплазму (рис. 5, *б*).

У полi зору траплялися новоутворенi мiєліновi волокна рiзного дiаметра в цитоплазми одного нейролемоцита (рис. 6). Вони мали ознаки неповноцiнностi: перiаксональний простiр був розширеним, мiєлінова оболонка набрякла. Товщина мiєлінової оболонки була не постiйною i змiнювалася. Функцiонально активнi нейролемоцити мали розвинену ЕПС, округлi набряклi зi зруйнованими кристами мiтохондрiї.

У цитоплазми деяких нейролемоцитiв i аксолеми, особливо в дiлянках формування перехватiв Ранв'є, виявлена велика кiлькiсть мiтохондрiї видовженої форми, без ознак патологiчних змiн.

Інтерстиційний простiр був розширеним i рiвномiрно заповненим колагеновими волокнами, якi не утворювали грубих пучкiв.

Висновки

Структурнi змiни, яких зазнає дистальний вiдрiзок ушкодженого сiдничого нерва пiсля тиреоїдектомiї та комбiнованої медикаментозної корекцiї L-тироксином i мiакальциком,

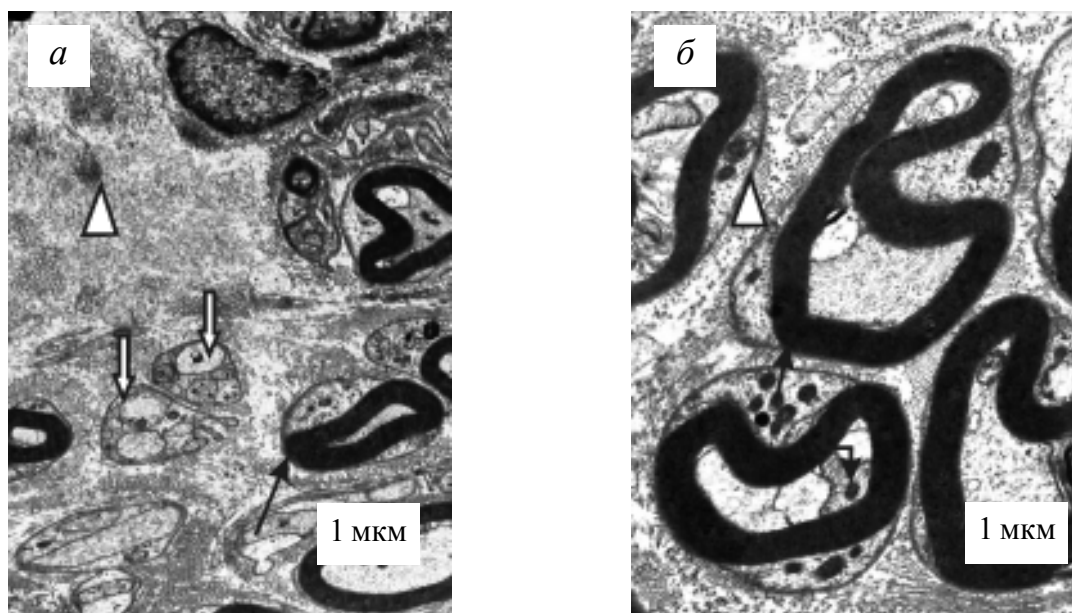


Рис. 5. Дистальний вiдрiзок сiдничого нерва щура пiсля вiдтворення експериментальної моделi травми периферичного нерва за умов гiпотиреозу та його фармакологiчної корекцiї, 12 тижнiв пiсля пошкодження:

- a* – новоутворенi мiєліновi \uparrow волокна i без мiєліновi \downarrow . Пучки колагенових волокон в iнтерстиційному просторi Δ . Електронна мiкрофотографiя, $\times 4\ 400$;
б – новоутворенi мiєліновi волокна \uparrow . Мiтохондрiї в аксоплазми \downarrow . Пучки колагенових волокон в iнтерстиційному просторi Δ . Електронна мiкрофотографiя, $\times 11\ 500$

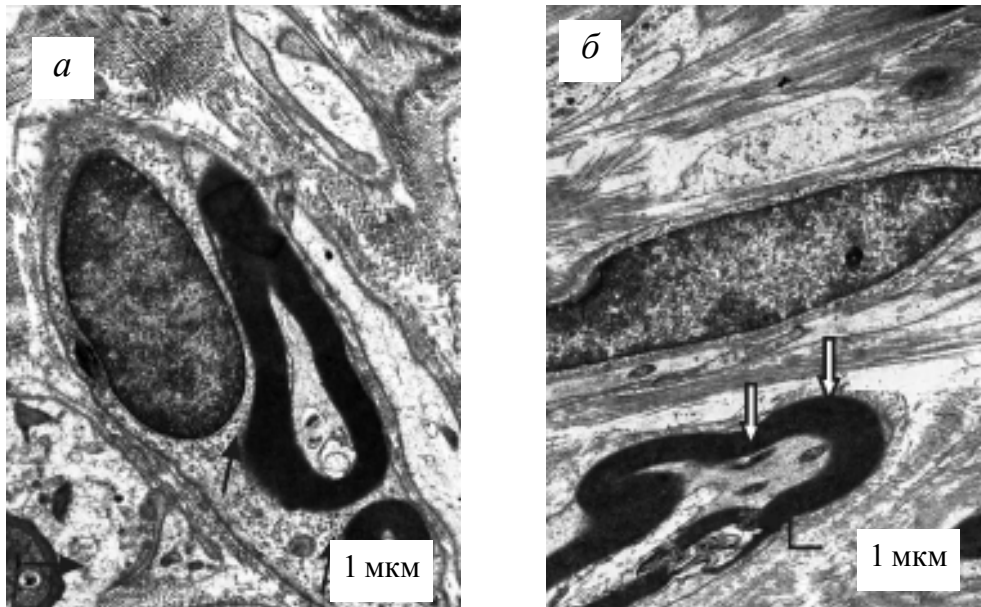


Рис. 6. Дистальний відрізок сідничого нерва щура після відтворення експериментальної моделі травми периферичного нерва за умов гіпотиреозу та його фармакологічної корекції.

12 тижнів після пошкодження:

a – новоутворені мієлінові волокна ↑. Електронна мікрофотографія, ×6 400;

б – перехват Ранв'є ↓. Мітохондри ↓ і в аксоплазмі. Електронна мікрофотографія, ×4 800

стану гіпотиреозу, вирізнялися відсутністю овоїдів дегенерації в усі терміни спостереження і розподілом нервових волокон на типові й атипові. Комбінована медикаментозна корек-

ція позитивно впливає на процес мієлінізації новоутворених волокон пошкодженого сідничого нерва гіпотиреодних щурів і на енергетичне забезпечення нервових волокон.

Література

1. *Войчунене Ю.С.* Епідеміологічне дослідження захворюваності на хвороби щитоподібної залози в учасників ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Буковинський державний медичний університет. – Чернівці, 2009. – 35 с.
2. Основной белок миелина: строение, свойства, функции, роль в диагностике демиелинизирующих заболеваний / В.П. Чехонин, О.И. Гурина, Т.Б. Дмитриева [и др.] // Вопросы медицинской химии. – 2000. – № 6. – С. 56–61.
3. *Facci P.* A continuous sheet of glial cell membrane / P. Facci, P. Cavatorta, L. Cristofolini // *Biophys J.* – 2000. – № 78 (3). – P. 1413–1419.
4. Корекція порушень кальцієвого обміну та мінеральної щільності кісткової тканини у хворих на гіпотиреоз, які проживають в йододефіцитній місцевості / М.І. Швед, Н.В. Пасечко, Л.П. Мартинюк, С.М. Геряк // *Международный эндокринологический журнал.* – 2006. – № 2. – С. 12–17.
5. *Holton T.* Vertebrate myelin / T. Holton, T.R. Ioerger // *D Biol. Crystallogr.* – 2000. – № 56 (Pt 6). – P. 722–734.
6. *Западнюк И.П.* Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте // И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария. – К.: Вища шк., 1974. – 304 с.
7. Патент на винахід № 27821 Держпатент України. Спосіб моделювання гіпотиреозу у щурів / Стеченко Л.О., Петренко В.А., Бик П.Л., Кузян В.Р., Куфтирева. Заявл. 12.11.2007; опубл. 14.12.2007. Бюл. № 2. – С. 7.
8. *Мінцер О.П.* Оброблення клінічних і експериментальних даних у медицині: Навч. посібник / О.П. Мінцер, Ю.В. Вороненко, В.В. Власов. – К.: Вища шк., 2003. – 350 с.

Т.Я. Рудюк, В.Б. Раскалей, Л.А. Стеченко, С.Н. Чухрай

ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ПОВРЕЖДЕННОГО СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА ТИРЕОИДЭКТОМИРОВАННЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ КОМБИНИРОВАННОЙ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ ГИПОТИРЕОЗА

Работа посвящена изучению ультраструктурных изменений в седалищном нерве гипотиреодных крыс через 2, 3, 6 и 12 недель после его перерезания у тиреоидэктомированных крыс в условиях комбинированной фармакологической коррекции гипотиреоза. Установлено, что после перерезания седалищного нерва тиреоидэктомированным крысам морфологическая картина дистального отрезка нерва отличалась отсутствием овоидов дегенерации во все сроки исследования и распределением массы нервных волокон на типичные и атипичные. Комбинированная фармакологическая коррекция позитивно влияет на процессы миелинизации новообразованных волокон поврежденного седалищного нерва и на энергетическое обеспечение, о чем свидетельствует значительное количество митохондрий в аксоплазме и цитоплазме нейролеммоцитов.

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

T.Ya. Rudiuk, V.B. Raskaley, L.A. Stechenko, S.M. Chukhray

PECULIARITIES OF ULTRASTRUCTURAL ORGANISATION OF INJURED SCIATIC NERVE IN HYPOTHYROIDISM AND PHARMACOLOGICAL CORRECTION

This study deals with the ultrastructural changes in the sciatic nerve of rats with hypothyroidism and pharmacological correction in 2, 3, 6 and 12 weeks after injury. As the objective of a damaged nerve regeneration is recanalization and a new growth of non-myelinated and myelinic fibers of various diameters, including large diameter fibers, the findings of our studies reveal a significant impediment in termination of degeneration and launch of regeneration because of nerve fiber myelination malfunction. Degeneration ovules absent in distal segments of the damaged sciatic nerve of rats after the thyroidectomy and its combined pharmacological correction having simulated the peripheral nerve damage model. All myelin fibers were divided on two sets: typical and atypical (aberrant) fibers. All typical fibers have got many mitochondria in axoplasm. Pharmacological correction positively affects the myelination of nerve fibers and their energy supply and reduces the lag in the development of degeneration, which leads to delay the onset of regeneration.

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

Поступила 21.04.14