

Корсак А.В., Стеченко Л.О., Куфтирева Т.П., Козак Г.І.
МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ПЕРИФЕРІЙНОГО НЕРВА ЩУРА ЗА УМОВ ЙОГО ПОШКОДЖЕННЯ ТА
ЗАСТОСУВАННЯ ОМЕГА-3-ПОЛІЕНАСИЧЕНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ

Національний медичний університет ім.О.О.Богомольця

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ПЕРИФЕРІЙНОГО НЕРВА ЩУРА ЗА УМОВ ЙОГО ПОШКОДЖЕННЯ ТА ЗАСТОСУВАННЯ ОМЕГА-3-ПОЛІЕНАСИЧЕНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ – Дослідження проведене на білих щурах, які були поділені на дві групи. Тваринам I та II груп відтворили експериментальну модель травми сідничого нерва. У післяопераційному періоді щурам першої групи фармакотерапія не проводилась. В другій групі в післяопераційному періоді ентально вводили щоденно протягом 3 тижнів масляний розчин омега-3-поліенасичених жирних кислот у дозі 0,04 г/кг. Досліджували ультраструктуру та морфометричну характеристику периферійного відрізка сідничого нерва через 6 тижнів після пошкодження в обох групах тварин. Проведене дослідження свідчить, що у групи тварин, яким проводили фармакологічну корекцію омега-3-поліенасиченими жирними кислотами, активується процес регенерації сідничого нерва за умов його пошкодження.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО НЕРВА КРЫСЫ В УСЛОВИЯХ ЕГО ПОВРЕЖДЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ ОМЕГА-3-ПОЛИЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ – Исследование проведено на белых крысах, которые были разделены на две группы. Животным I и II групп воспроизвели экспериментальную модель травмы седалищного нерва. В послеоперационном периоде крысам первой группы фармакотерапия не проводилась. Крысам второй группы в послеоперационном периоде вводились омега-3-полиенасыщенные жирные кислоты ежедневно на протяжении 3 недель в дозе 0,04 г/кг. Изучали ультраструктуру и морфометрическую характеристику периферического отрезка седалищного нерва через 6 недель после повреждения в обеих группах животных. Проведенное исследование свидетельствует, что в группе животных, которым проводилась фармакологическая коррекция при помощи омега-3-полиенасыщенных жирных кислот, процесс регенерации травмированного периферического нерва активизировался.

MORPHOLOGICAL CHANGES OF RAT PERIPHERAL NERVE AFTER INJURY AND USE OF OMEGA-3-POLYUNSATURATED FATTY ACIDS – Experiment was carried out on white rats, which were divided into 2 groups. Experimental trauma of the sciatic nerve was carried out in 2 groups. Drug correction was not applied in the first group. Omega-3-polyunsaturated fatty acids applied during 3 weeks in a dose 0,04 g/kg in a day in the second group of animals. Ultrastructural and morphometrical characteristics of the peripheral stumps of sciatic nerve in 6 weeks after the injury in both group of animals were studied. The results obtained testify, that in the groups of rats with pharmacological correction by omega-3-polyunsaturated fatty acids process of regeneration was activated.

Ключові слова: периферійний нерв, ультраструктура, регенерація, омега-3-поліенасичені жирні кислоти.

Ключевые слова: периферический нерв, ультраструктура, регенерация, омега-3-полиенасыщенные жирные кислоты.

Key words: peripheral nerve, ultrastructure, regeneration, omega-3-polyunsaturated fatty acids.

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМЫ. Проблема комплексного лікування пошкоджених периферійних нервів залишається актуальною, оскільки травми периферійних нервів призводять до втрати працездатності та до тяжкої інвалідизації хворих переважно молодого віку. Середній вік постраждалих становить 31,2 року (Хонда О.М., 1998).

Аналіз останніх досліджень. Незважаючи на використання сучасних методів мікрохірургічної техніки не всі постраждали досягають повного видужання і відновлення функцій, тому важливу ланку в комплексному лікуванні пошкоджених периферійних нервів займає використання фармакологічних засобів (Миронов С.П., 2005). Таким чином є доцільним продовжувати пошук фармакологічних засобів, що ефективно впливали б на ключові процеси регенерації травмованих периферійних нервів.

Оскільки омега-3-поліенасичені жирні кислоти мають вплив на стан ліпідного обміну, показники гемостазу, імунної системи та перебіг запального процесу (Фещенко Ю.І., 1996) нами було вирішено вивчити механізми впливу даного фармакологічного засобу на процеси регенерації ушкодженого периферійного нерва.

Метою даного дослідження було: провести порівняльний ультраструктурний та морфометричний аналіз периферійного нерва щура за умов застосування омега-3-поліенасичених жирних кислот та без фармакотерапії через 6 тижнів після його ушкодження.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ Дослідження проводили на білих рандомбредних щурах самцях. Відповідно до завдань дослідження тварини були розподілені на дві групи. Тваринам I та II групи під гексеналовим наркозом після мобілізації правий сідничий нерв в ділянці середньої його третини спочатку розчавлювали, в цьому ж місці перев'язували ниткою кетгут №1, а потім перетинали вище місця перев'язки. Центральний та периферійний відрізки фіксували епіневральними швами ниткою поліамід 6/0 на атравматичній голці на відстані 2-3мм. Тваринам I групи (контроль) у післяопераційному періоді вводили щоденно протягом 3 тижнів фізіологічний розчин у дозі 0,04 г/кг ентально. Тваринам II групи (експериментальна група) у післяопераційному періоді вводили щоденно протягом 3 тижнів масляний розчин омега-3-поліенасичених у дозі 0,04 г/кг всередину. Досліджували периферійний відрізок сідничого нерва в обох групах тварин через 6 тижнів після пошкодження. Перед забором матеріалу тваринам вводили надлишкову дозу гексеналу. Матеріал фіксували 2,5% глутаровим альдегідом на фосфатному буфері та обробляли за загальноприйнятою електронно-мікроскопічною методикою. Зрізи нервів були виготовлені на ультрамікромі LKB-III. Частина зрізів було забарвлено толуїдиновим синім, інша частина зрізів нервів контрастною уранілацетатом та азотнокислим свинцем. Морфометричні дослідження, в основі яких лежать принципи стереометрії, проводили на пристрої обробки графічних зображень. В даному дослідженні визначали такі показники: об'єм та кількість овоїдів дегенерації в одиниці об'єму нерва, площу та периметри овоїдів дегенерації. Результати обробляли статистично. Ультратонкі зрізи продивлялись та фотографувались в електронному мікроскопі ПЕМ- 125К.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Морфометричний та статистичний аналіз периферійного відрізка сідничого нерва щура при застосуванні омега-3-поліенасичених жирних кислот через 6 тижнів після пошкодження (експериментальна група) показали наявність овоїдів дегенерації в одиниці об'єму (1,17±0,19) %, що статистично достовірно менше контрольних даних (5,67±0,08)% відповідно ($p < 0,05$), де фармакотерапія була відсутня. Кількість овоїдів дегенерації в одиниці об'єму в експериментальній групі тварин складає (2,38±0,37) $\times 10^{-2}$ /мкм³, що статистично ймовірно відрізняється від контролю (4,2±0,53) $\times 10^{-2}$ /мкм³ ($p < 0,05$), де кількість овоїдів значно більша.

Аналіз овоїдів дегенерації за розміром свідчить, що периметр переважної їх кількості статистично достовірно менший у тварин експериментальної групи при застосуванні омега-3-поліенасичених жирних кислот (113,92±3,63) мкм на відміну від контролю (163,67±3,19) мкм відповідно ($p < 0,05$). Статистично ймовірно зменшення площі овоїдів дегенерації при застосуванні омега-3-поліенасичених жирних кислот і становить (787,62±47,2) мкм² на відміну від контролю (1512,70±49,88) мкм² відповідно ($p < 0,05$), де препарат не вводився (таблиця).

Таким чином при застосуванні фармакотерапії спостерігається зменшення об'єму овоїдів дегенерації в одиниці об'єму нерва, зменшення кількості овоїдів дегенерації в одиниці об'єму нерва і зменшення їх розміру, а саме площі

Таблиця. Стереологічні показники змін овоїдів дегенерації нервових волокон щурів в динаміці експерименту

Група	Об'єм овоїдів волокон в одиниці об'єму нерва, %	Кількість овоїдів волокон в одиниці об'єму нерва, $\times 10^{-2}$ мкм ³	Середній периметр, мкм	Середня площа, мкм ²
I	5,67 \pm 0,088	4,24 \pm 0,53	163,67 \pm 3,19	1512,70 \pm 49,88
II	1,173 \pm 0,19*	2,38 \pm 0,37*	113,92 \pm 3,63*	787,62 \pm 47,2*

Примітка. Різниця достовірна ($p < 0,05$): * - відносно попередньої групи спостережень аналогічного терміну.

та периметра, що свідчить про прискорення процесів регенерації у тварин експериментальної групи.

В результаті проведеного ультраструктурного аналізу було встановлено, що через 6 тижнів після пошкодження сідничного нерва без застосування фармакотерапії спостерігається наявність дегенеративних мієлінових нервових волокон у вигляді електроннощільного скупчення мієлінових пластинок, які втратили впорядкованість, що представлено явищем ущільнення та в деяких місцях розволокнення мієлінової оболонки; осьовий циліндр відсутній; простір між базальною мембраною та мієліновою оболонкою розширений. В таких мієлінових нервових волокнах, клітини Шванна зруйновані, внаслідок цього волокна оточені клітинним детритом нейролеммоцитів (рис.1).

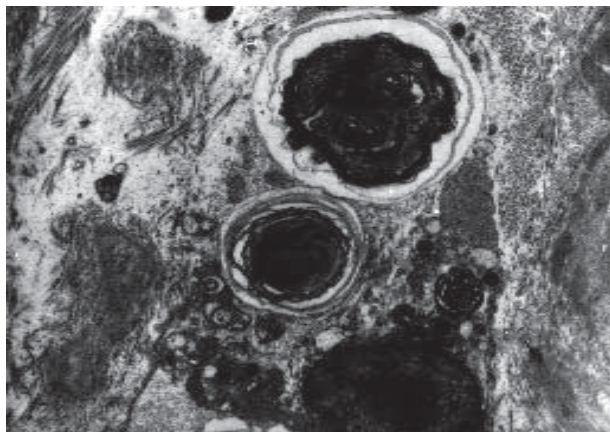


Рис.1 Відрізок сідничного нерва щура через 6 тижнів після пошкодження.

На деяких зрізах спостерігаються локальні ділянки набряку сполучної тканини. Виявлені гіперосмовані сполучнотканинні клітини, що свідчить про порушення синтезу колагену, окрім цього порушується і структура колагену, на що вказує зміна звичайної періодичності чергування темних та світлих ділянок в бік переваги темних. Також виявлені фрагменти макрофагів, що містять рідину набряку, ліпідні краплі, лізосоми. У периневрії спостерігається клітинний детрит у вигляді залишків клітин Шванна, макрофагів, фібробластів. В цей же термін після пошкодження сідничного нерва в нервовому волокні виявляються кровоносні судини, переважно пре – та посткапіляри. Ендотелій цих судин, як правило, електроннощільний та має велику кількість мікрворсинок, що є проявом реактивності ендотелію. Крім цього, виявляються розходження міжендотеліальних контактів з утворенням так званих локусів витоку, що свідчить про порушення проникності судинної стінки, підтвердженням цьому може бути також розшарування базальної мембрани.

Транспортні структури: мікропіноцитозні пухирці та вакуолі переважно локалізовані поблизу базальної плазмолемної мембрани ендотеліальних клітин

В безмієлінових нервових волокнах спостерігається набряк аксоплазми у вигляді її просвітлення.

Разом з тим, на тлі зруйнованих нервових волокон, спостерігається явище регенерації у формі появи новоутворених, молодих мієлінових нервових волокон. В таких волокнах мієлінова оболонка вузька з чітко впорядкованою ламелярною організацією, а в аксоплазмі осьових циліндрів в невеликій кількості представлені нейротрубочки, нейрофіламенти та мітохондрії. З одного боку клітини Шванна знаходяться в активному стані: гарно розвинена ендоплазматична сітка, численні рибосоми та мітохондрії з чіткими контурами та великою кількістю крист. З іншого боку в деяких нейролеммоцитах відмічено підвищену кількість лізосом, особливо в тих, які мають пошкоджені мієлінові волокна (рис.2).

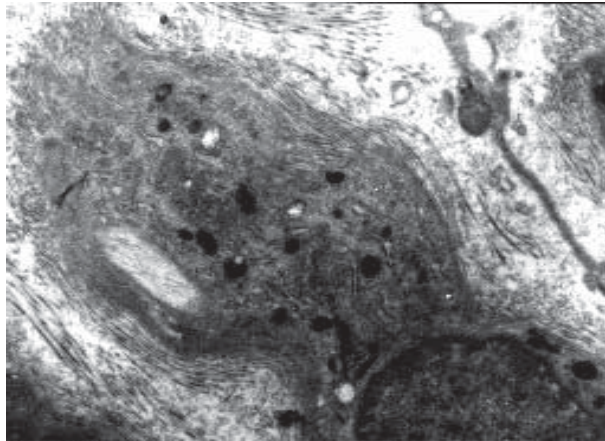


Рис.2. Відрізок сідничного нерва щура через 6 тижнів після пошкодження.

виявлені мієліноподібні структури, які свідчать про мієлінову дегенерацію мембранних органел, що могло статися внаслідок порушення фосфоліпідного обміну.

Через 6 тижнів після пошкодження сідничного нерва при умові застосування омега-3-поліненасичених жирних кислот спостерігається на тлі поодиноких дегенеративно змінених нервових волокон наявність великої кількості знов утворених молодих безмієлінових та мієлінових нервових волокон різного діаметра (рис.3).

Клітини Шванна знаходяться в активному стані, про що свідчить гарно розвинена цитоплазма з органелами метаболічного плану. В нейролеммоцитах виявлені виражена гранлярна ендоплазматична сітка; вільні рибосоми; в значній кількості впорядковані цистерни та міхурці апарату Гольджі; мітохондрії округлої або витягнутої форми, контури їх рівні. Вони мають численні кристи та електроннощільний матрикс. В аксоплазмі клітин Шванна виявляється помірна кількість нейротрубочок, нейрофіламентів та молодих мітохондрій невеликих розмірів (рис.3).

В сполучній тканині в цей термін після пошкодження сідничного нерва при умові застосування омега-3-поліненасичених жирних кислот виявляється велика

кількість ліпідних гранул в цитоплазмі фібробластів та клітин Шванна. Практично не виявлено змінених сполучотканинних елементів: гіперосомованих фібробластів, макрофагів. Колагенових волокон в порівнянні з

іншою групою (контрольною) виявлено менше, вони оточені дисперсним електронно-щільним матеріалом який, очевидно є залишками зруйнованих колагенових волокон (рис. 4).

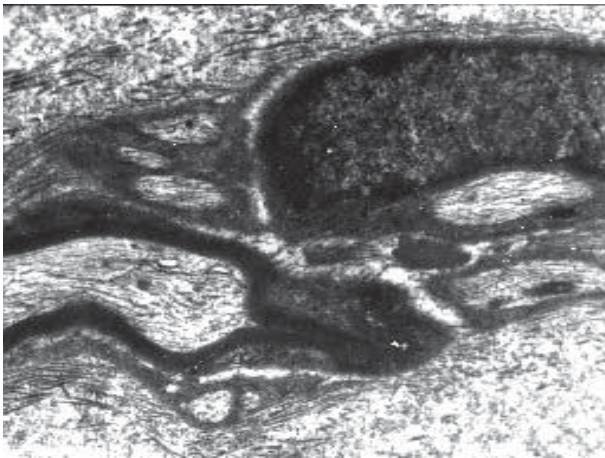


Рис.3. Відрізок сідничного нерва щура через 6 тижнів після пошкодження за умов застосування омега-3-поліненасичених жирних кислот.

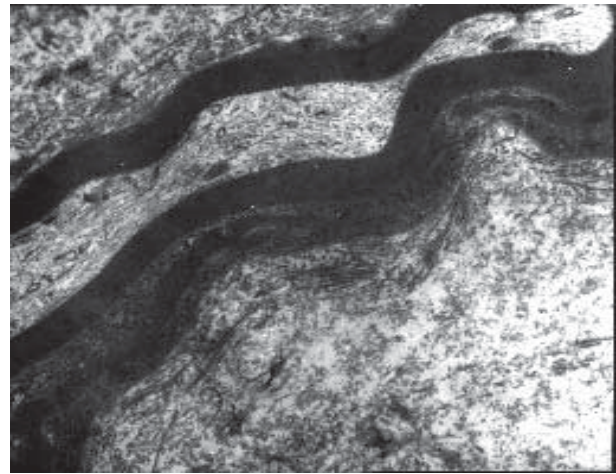


Рис.4. Відрізок сідничного нерва щура через 6 тижнів після пошкодження за умов застосування омега-3-поліненасичених жирних кислот.

Про зниження реактивності ендотелію можна судити за зменшенням кількості мікроблестів плазматичної мембрани ендотеліоцитів, а витончення ендотеліальної вистілки судин є свідченням покращення мікроциркуляції, що вказує на підсилення компенсаторно-приспосувальних процесів в групі експериментальних тварин.

ВИСНОВКИ. Проведене дослідження свідчить, що застосування омега-3-поліненасичених жирних кислот при умові пошкодження периферійного нерва активує біосинтетичні процеси в клітинах Шванна, що прискорює темп регенерації у вигляді появи більшої кількості активних нейролеммоцитів, що містять новоутворені нервові волокна. Про прискорення процесу регенерації свідчить також зменшення кількості та розміру овоїдів дегенерації в разі застосування фармакотерапії. За результатами дослідження можна також припустити, що в експериментальній групі знижена фібробластична реакція, що також може сприяти прискоренню проростання більшої кількості новоутворених нервових волокон. Отримані дані вказують на те, що омега-3-поліненасичені жирні кислоти в даному випадку також покращують мікроциркуляцію, що підсилює компенсаторно-приспосувальні процеси регенеруючих нервових волокон.

Перспективи подальших досліджень. Перспективи подальших досліджень полягають у поглибленому вивченні впливу омега-3-поліненасичених жирних кислот на процес мієлінізації новоутворених нервових волокон, та вплив даного препарату на стан імунної системи за умов пошкодження периферійних нервів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г., Яблучанский Н.И., Губенко В.Г. Системная стереометрия в изучении патологического процесса. - М.: Медицина, 1981. - 192 с.
2. Карупу В.Я. Электронная микроскопия. - К.: Вища школа. Головное изд-во, 1984. -С.-208.
3. Мионов С.П. Диагностика и выбор тактики лечения при повреждении периферических нервов / С.П. Мионов, А.И. Курапаткин, К.Г. Голубев, Д.Е. Попов// Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова.-М, 2005.-№2.-С.33-39.
4. Фещенко Ю.И. Омега-3 ПНЖК. Новый лекарственный препарат Теком/ Под ред. Ю.И.Фещенко и В.К.Гаврисюка. - К., 1996. - 124 с.
5. Хонда О.М. Микрочирургия периферических нервов с функциональным принципом выполнения восстановительной операции. Бюллетень УАН, 1998, №6.С.28-29.
6. Чайковский Ю.Б. Регенерационная неврома.// Морфология. -1999.- №1-С.55-67.

Гульков Ю.К.

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РАКУ ШЛУНКА ДИФУЗНОГО ТИПУ

Донецький державний медичний університет

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РАКУ ШЛУНКА ДИФУЗНОГО ТИПУ – Проведено гістотопографічне дослідження 125 випадків раку шлунка дифузного типу. Встановлена висока частота гістологічної гетерогенності його (80,0 % випадків), коли крім дрібноклітинного, поліморфноклітинного та перспеподібноклітинного зустрічались вогнища аденокарциноми, солідного та слизового раку. Часто виявлена цитологічна гетерогенність (73,6 % випадків) та висока частота пухлинних клітин з високо-вираженою секрецією муцину (69,6 %), але у 92,8 % випадків було порушення полярного диференціювання пухлинних клітин. Ендокринне диференціювання виявлено у 77,6 % випадків раку шлунка та у 73,5 % пухлинних клітин емболів.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАКА ЖЕЛУДКА ДИФУЗНОГО ТИПА – Проведено гистотопографическое исследование 125 случаев рака желудка дифузного типа. Установлена высокая частота гистологической гетерогенности его (80,0 % случаев), когда кроме мелкоклеточного, полиморфноклеточного и перспеподибноклеточного рака встречались очаги аденокарциномы, солидного и слизистого рака. Часто выявлялась клеточная гетерогенность (73,6 % случаев) и высокая частота опухолевых клеток с высокой секрецией муцина (69,6 %), однако в 92,8 % случаев было нарушение полярной дифференцировки опухолевых клеток. Эндокринная дифференцировка выявлена у 77,6 % случаев рака желудка и в 73,5 % опухолевых клеток эмболів.