

УДК 616.833–003.93:57.012.4:616.441–008.64

© Колектив авторів, 2013

СТРУКТУРНІ ОСОБЛИВОСТІ РЕГЕНЕРАЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ В СІДНИЧОМУ НЕРВІ НА ПІЗНІХ ЕТАПАХ ПІСЛЯ ТРАВМУВАННЯ

Т. Я. Рудюк, Л. О. Стеченко, Р. С. Довгань, С. М. Чухрай, Д. В. Раскалей*Кафедра гістології та ембріології (зав. – член-кор. НАМН України, проф. Чайковський Ю. Б.) Національного медичного університету імені О. О. Богомольця. 01069 Україна, м. Київ, бул. Шевченко 13. E-mail: t_darmogray@ukr.net*

PECULIARITIES OF ULTRASTRUCTURAL ORGANISATION OF INJURED SCIATIC NERVE IN LATE STAGES SINCE INJURY

T. Ya. Rudiuk, L. O. Stechenko, R. S. Dovgan, S. N. Chuhray, D. V. Raskaley

SUMMARY

This study deals with the ultrastructural changes in the sciatic nerve in 6 and 12 weeks after injury. The processes of secondary degeneration were replaced by recurring degeneration in the distal stump of the transected sciatic nerve in 6 weeks after injury. The manifestations of recurring degeneration were formation of new degeneration ovoids. New defective myelin fibres were forming in 6 weeks after injury. Schwann cells destroyed defective myelin fibres and formed ovoids of degeneration in 6 and 12 weeks after injury.

СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ В СЕДАЛИЩНОМ НЕРВЕ НА ПОЗДНИХ ЭТАПАХ ПОСЛЕ ТРАВМИРОВАНИЯ

Т. Я. Рудюк, Л. А. Стеченко, р. с. Довгань, С. Н. Чухрай, Д. В. Раскалей

РЕЗЮМЕ

Работа посвящена изучению ультраструктурных изменений в седалищном нерве крыс через 6 и 12 недель после его стандартной перерезки. Установлено, что через 6 недель после операции в дистальном отрезке седалищного нерва на фоне активных регенерационных процессов наблюдается значительное количество овоидов дегенерации. Это обусловлено всплеском фагоцитарной активности, которая направлена на удаление новообразованных неполноценных миелиновых волокон. Через 12 недель после повреждения нервный ствол равномерно заполнен хорошо сохранными миелиновыми волокнами, плотность которых пока еще не достигает контрольных показателей. Повторная дегенерация в этом сроке, хоть и затихает, но не исчезает. Овоиды дегенерации занимают, главным образом, центральную часть ствола. Это вероятно связано с тем, что в местах, где регенерационные процессы проходили с задержкой, позже активизируется и повторная дегенерация.

Ключові слова: регенерація, сідничий нерв, світлова та електронна мікроскопія.

Широке коло патологічних станів периферійної нервової системи супроводжується дегенеративними та регенераційними процесами в нервових клітинах та нервових волокнах. [1, 2, 5, 6, 7]. Успіх відновлення порушених функцій багато в чому залежить від строків, за які відбувається регенерація нервових провідників. Для повного відновлення функції пошкодженого нерва аксони, які регенерують, повинні відновити зв'язки із своїми первинними мішенями. Функцію провідників для аксонів у стані росту до місця розташування їх мішеней виконують нейролемоцити [11, 12, 13]. Плазмолема нейролемоцита є структурною основою мієлінової оболонки – мультиламелярної структури, яка функціонує як єдине монолітне утворення, завдяки тонкому збалансованню біохімічних процесів, і надзвичайно мінлива та чутлива до впливу зовнішніх і внутрішніх чинників [2, 3, 4, 8, 9, 10].

Метою нашого дослідження було вивчити особливості будови сідничого нерву щурів на пізніх етапах його регенерації.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Експериментальні спостереження були проведе-

ні на 15 білих щурах вагою 150–200 г. Всіх тварин, які були використані в роботі, утримували у стандартних умовах віварію (в одному приміщенні, на стандартному брикетованому харчуванні) [14].

Експериментальні тварини були розподілені на 3 групи. Перша група (I) – „псевдооперовані” тварини (5 щурів). Показники морфоогічної будови їх сідничих нервів (контроль) були використані для оцінки відновлення травмованих нервів. Тваринам II і III груп була відтворена експериментальна модель стандартної травми сідничого нерва.

Матеріалом для дослідження були дистальні відрізки (дистальніше післяопераційної невромі) ушкодженого сідничого нерва через 6 і 12 тижнів після відтворення моделі травми периферичного нерва.

Для світлооптичної мікроскопії препарати готували згідно стандартної методики. Для аналізу результатів світлооптичної мікроскопії за допомогою морфометрії використовували комп'ютерну програму UTHSCSA Image Tool for Windows (version 2.00) та стандартну окулярну вставку. Був визначений такий показник, як щільність розподілу нервових волокон в дистальній ділянці відносно місця пошкодження.

Для аналізу результатів використовували також напівтонкі поперечні та поздовжні зрізи нервів, виготовлені на ультратомі LKB і забарвлені толуїдиновим синім. Морфометричні дослідження [15], проводили за допомогою напівавтоматичного пристрою для обробки графічних зображень. У даному дослідженні визначали такі величини: кількість овоїдів дегенерації нервових волокон в одиниці об'єму нерва, об'єм овоїдів дегенерації нервових волокон в одиниці об'єму нерва та розміри овоїдів дегенерації нервових волокон.

Для електронномікроскопічного дослідження препарати готували за загальноприйнятою методикою [16]. Потім їх вивчали та фотографували в електронному мікроскопі ЭМВ 125 К.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У дистальному відрізку сідничого нерва щурів через 6 тижнів після його перетину мієлінові волокна досить упорядковано розташовуються уздовж поздовжньої осі нервового стовбура. Вони орієнтовані, в основному, паралельно одне до одного, але подекуди мають вигинання. Це призводить до того, що волокна утворюють кути, втрачаючи пряму ходу. Мієлінові волокна розташовуються у вигляді пучків переважно по периферії, а в центрі розрізняються лише окремі їх представники (рис. 1а). Об'ємна щільність нервових волокон дорівнює $13,35 \pm 0,24\%$, овоїдів дегенерації – $3,91 \pm 0,87\%$.

Особливістю цього періоду є те, що фагоцитарна активність нейролемоцитів, в цитоплазмі яких трапляються фрагменти зруйнованої мієлінової оболонки, пов'язана в основному із повторною дегенерацією. Це є результатом руйнування новоутворених

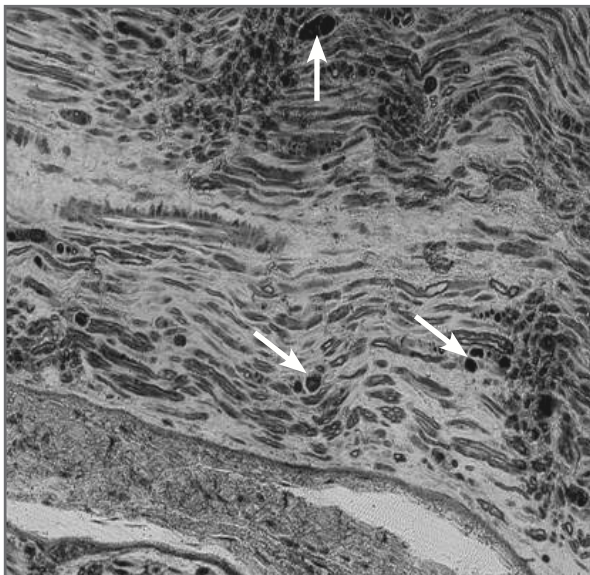
мієлінових волокон, переважно великого калібру, які були аберантними і тому викликали активацію фагоцитарної активності нейролемоцитів з наступним утворенням вторинних овоїдів дегенерації (рис. 1а).

Через 12 тижнів після ушкодження мієлінові волокна більш рівномірно розподіляються по стовбуру сідничого нерва, заповнюючи, на відміну від попереднього терміну спостережень, і центральні ділянки. Разом з тим, щільність розташування волокон менша і, відповідно відстань між ними більша, ніж у контролі. Вони займають $20,4 \pm 1,7\%$ об'єму нерва.

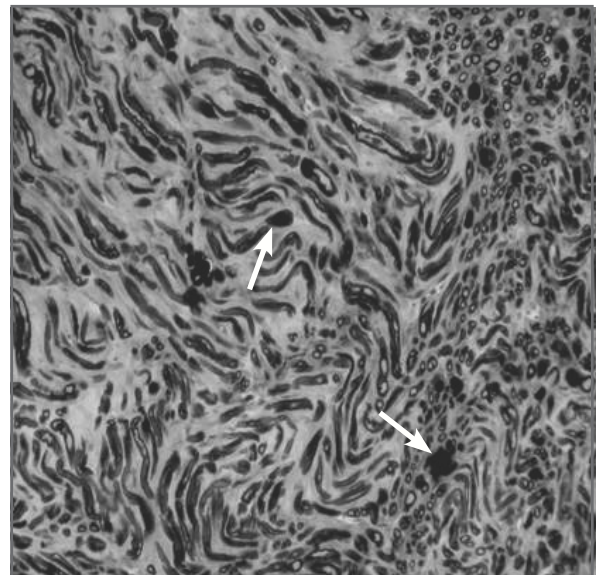
Більшість з мієлінових волокон мають паралельну орієнтацію, але на своєму протязі вони часто утворюють вигинання, що надає їх пучкам хвилястого вигляду. Серед волокон переважають структури приблизно однакового, середнього діаметру з електронно-прозорим вмістом.

Як і через 6 тижнів експерименту, спостерігаються овоїди дегенерації, які займають $2,27 \pm 0,56\%$ об'єму нерву, що значно менше від попереднього терміну експерименту. Це може бути ознакою затухання дегенераційних процесів. Розташовуються овоїди дегенерації, головним чином, в центральній частині (рис. 1б). Тобто, в ділянках, де регенераційні процеси проходили пізніше, пізніше активізується і повторна дегенерація.

На електронномікроскопічному рівні через 6 тижнів після пошкодження у дистальному відрізку новоутворені мієлінові волокна дрібного калібру мають досить збережену структуру мієлінової оболонки і осьових циліндрів, без розходження периаksonального простору. Аксоплазма просвітлена, містить нейрофіламенти, секреторні пухирці, що



а



б

Рис. 1. Дистальний відрізок сідничого нерва щура після відтворення стандартної моделі травми периферичного нерва. Овоїди дегенерації нервових волокон (→): а – 6 тижнів після пошкодження; б – 12 тижнів після пошкодження. Мікрофотографія. Напівтонкі зрізи. Забарвлення толуїдиновим синім. Збільшення: об. 20, ок. 10

свідчить про функціональну спроможність нервового волокна, гіпертрофовані видовжені мітохондрії (рис. 2а).

Мієлінові волокна, які знаходяться на самих початкових стадіях формування оболонки, розташовуються здебільшого в центрі нервового стовбура. Вони оточені нейролемоцитами з функціонально активними ядрами, про що свідчать рівномірно розподілений хроматин та великі ядра. Досить широкі за товщиною периферичні ділянки цих клітин містять значну кількість каналців ендоплазматичної сітки, полісом (рис. 2б). Наявність у цитоплазмі клітинних центрів є ознакою активних проліферативних процесів.

Інтерстиційний простір розширений, заповнений колагеновими волокнами.

Через 12 тижнів на електронно-мікроскопічному рівні мієлінові волокна оточені пучками колагенових волокон, мають чітко структуровану мієлінову оболонку, в якій розрізняються мезаксони. Осьові циліндри рівномірно заповнюють аксоплазму, де розміщуються гіпертрофовані мітохондрії, вакуолі, нейрофіламенти (рис. 3а). Їх оточують нейролемоцити, периферичні ділянки яких стоншені. Основна частина добре збережених мієлінових волокон з'єднується перехватами Ранв'є без ознак патологічних відхилень. Це дає підставу вважати, що більшість нейролемоцитів функціонує без збоїв. Інші клітини Шванна, які виступають як макрофаги, містять залишки фрагментованих мієлінових волокон і мають типову будову овоїдів дегенерації. Наявність певної, але незначної кількості мієлінових волокон з ознаками

деструкції, а саме: локально розширеною мієліновою оболонкою, збільшеним периаксональним простором, ущільненим осьовим циліндром, інвагінаціями мієлінової оболонки у аксоплазму, свідчить про те, що повторна дегенерація в цей термін не зникає, хоча і затухає, у порівнянні з 6-ти тижневим терміном спостережень (рис. 3б).

Цікавим, з нашої точки зору, є наявність декількох (іноді до 3-х) мієлінових волокон із повноцінною мієліновою оболонкою, занурених у цитоплазму одного нейролемоцита (рис. 4). Така взаємодія нейролемоцита та мієлінових волокон відмічається в період формування периферичних нервів у ювенільних тварин [17].

Безмієлінові волокна представлені у помірній кількості і за ультраструктурою суттєво не відрізняються від контролю.

Інтерстиційний простір містить значну кількість волокон, переважно колагенових, надлишкове утворення яких обумовлено поширеністю фіброblastів або їх відростків.

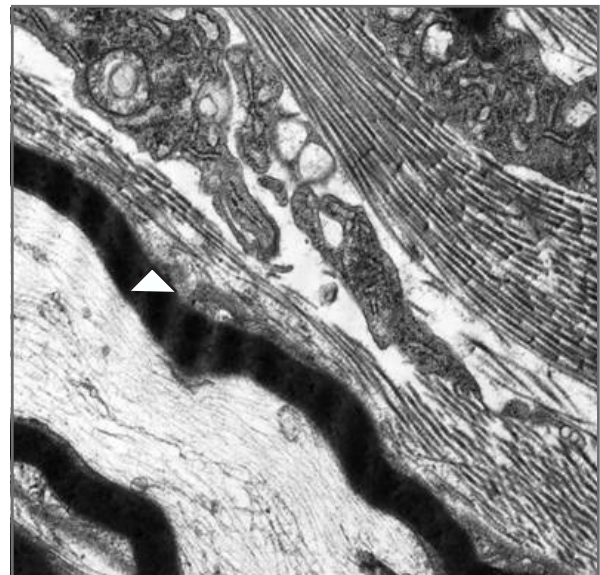
ВИСНОВКИ

Через 6 тижнів після операції в ушкодженому сідничому нерві на фоні активних регенераційних процесів спостерігається значна кількість овоїдів дегенерації, внаслідок сплеску фагоцитарної активності, яка спрямована на видалення новоутворених аберантних мієлінових волокон.

Через 12 тижнів після операції нервовий стовбур рівномірно заповнений мієліновими волокнами, щільність яких все ще не досягає контрольних показників. Серед мієлінових волокон переважають



а



б

Рис. 2. Дистальний відрізок сідничого нерва щура через 6 тижнів після відтворення стандартної моделі травми периферичного нерва: а – новоутворене мієлінове волокно (➔) в цитоплазмі функціонально активного нейролемоцита із залишками зруйнованої мієлінової оболонки (➔); б – повноцінне новоутворене мієлінове волокно без ознак руйнування мієлінової оболонки (▲). Електронна мікрофотографія. Збільшення: x16000

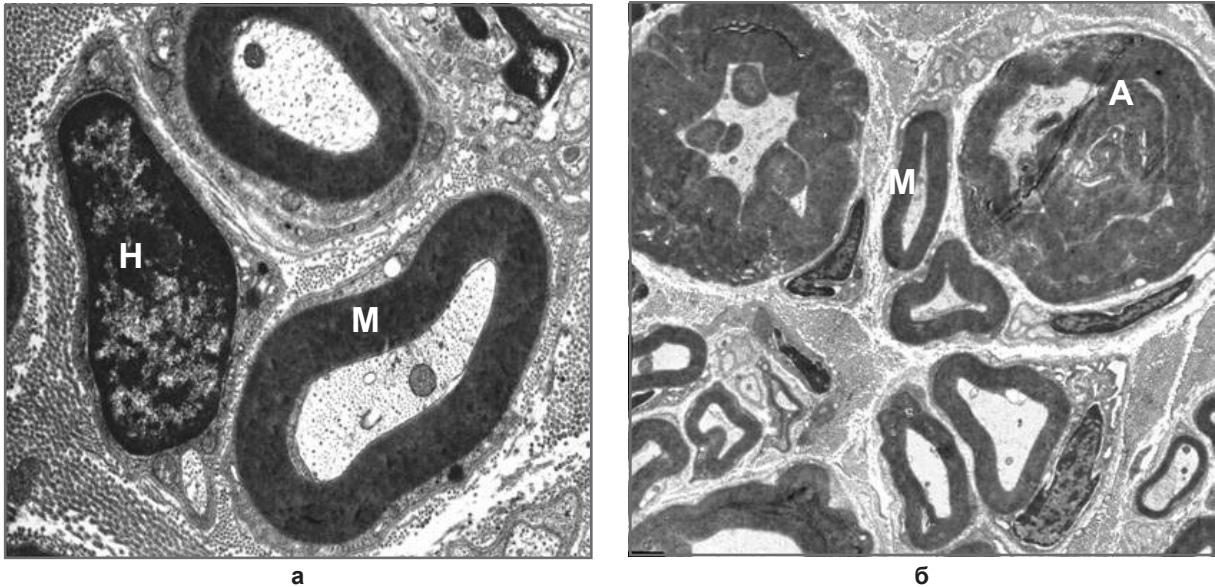


Рис. 3 – Дистальний відрізок сідничого нерва щура через 12 тижнів після відтворення стандартної моделі травми периферичного нерва: а – повноцінні новоутворені мієлінові волокна без ознак руйнування мієлінової оболонки М. Функціональноактивний нейролемоцит Н; б – повноцінні новоутворені мієлінові волокна без ознак руйнування мієлінової оболонки М і аберантні мієлінові волокна А із ознаками руйнування. Електронна мікрофотографія. Збільшення: x16000

структури середнього та малого діаметру із добре збереженою мієліною оболонкою та осьовими циліндрами. Повторна дегенерація в цей термін, хоча і затухає, у порівнянні з 6-ти тижневим терміном спостережень, але не зникає. Овоїди дегенерації розташовуються, головним чином, в центральній частині стовбура. Це може бути пов'язано з тим, що

в ділянках, де регенераційні процеси проходили пізніше, пізніше активізується і вторинна дегенерація.

ЛІТЕРАТУРА

1. Tobler A. R. Three forms of myelin basic protein.//J. Neurosci. – 1999. -№ 19. – P. 2027–2036.
2. Neuman, R. The molecular building blocks for myelin.//J. Exp. Biol. – 1987. – № 132. P.133–150.
3. Bleuel, A., Ultrastructural study of nerve regeneration.//J. Neurosci. – 1995. № 15. P. 759–761.
4. Smith, P. J. The target-organ-specific immunotherapy of myelin-reactive T cells/P.J. Smith, E. A. Howes, J.E. Treherne//J. Exp. Biol. – 1987. – № 132. – P. 59–78.
5. Рагинов И. С. Чувствительные нейроны и шванновские клетки при фармакологической стимуляции регенерации нерва/И. С. Рагинов, Ю. А. Чельшев//Морфология. - 2000. - т. 118. - 36–40 с.
6. Рагинов, И. С. Взаимодействие чувствительных нейронов и клеток-сателлитов при стимуляции регенерации нерва/И. С. Рагинов, Ю. А. Чельшев, Т. Ф. Шагидуллин//Морфология. - 2002. - т. 122, № 4. - 37–39 с.
7. Сокуренько Л. М. Регенерація периферійного нерва в умовах нейропластики, проведеної в різні терміни після пошкодження, та стимуляції мієліногенезу: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.03.09/НМУ ім. О. О. Богомольця – К., 2003. – 175 с.
8. Умовист М. Н. Современные представления о строении и функции оболочек нерва/М. Н. Умовист, Ю. Б. Чайковский//Архив анатомии, 1987.- т. 92, № 1.- С. 89–96.

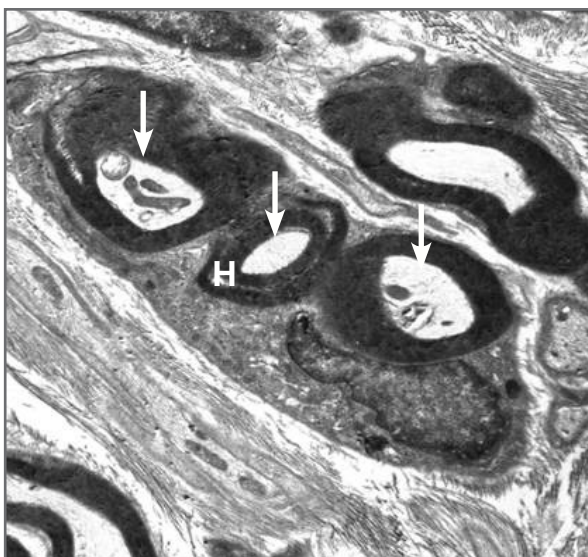


Рис. 4. Дистальний відрізок сідничого нерва щура через 12 тижнів після відтворення стандартної моделі травми периферичного нерва. Новоутворені мієлінові волокна (➔) в цитоплазмі спільного нейролемоцита Н. Електронна мікрофотографія. Збільшення: x16000

9. Цимбалюк В. І. Результати хірургічного лікування пошкоджень периферичних нервів нижніх кінцівок в умовах, несприятливих для регенерації нерва/В.І. Цимбалюк, О. О. Гончарук//Укр. нейрохірург. журн. – 2004. – № 4. – С. 59–64.

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

11. Чайковский, Ю. Б. Некоторые ультраструктурные особенности нервных клеток спинальных ганглиев/Ю. Б. Чайковский, Б. В. Втюрин//Архив анатомии. – 1973. - Т. 64, № 4. - С. 5–9.

12. Чайковский Ю. Б. Двухэтапная микрохирургическая аутонейропластика в условиях фармакологического воздействия//Вопросы нейрохирургии. – М.: Медицина, 1988. – № 5. – С. 18–21.

13. Чайковський Ю. Б. Вплив нейромедіаторів, ліпіну та лазеротерапії на регенераторні про-

цеси в нервовій системі в умовах демієлінізації та травми/Ю. Б. Чайковський, Н. О. Мельник, Л. М. Сокурєнко, Н. Я. Моніна, О. М. Грабовий//Український медичний альманах. – Івано–Франківськ, 2000. – Т. 3. – № 3. – С. 175–177.

14. Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захария Е. А. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. – Киев: Вища школа, 1974. – 304 с.

15. Мінцер О.П., Вороненко Ю.В., Власов В.В. Оброблення клінічних і експериментальних даних у медицині: Навч. посіб. – К.: Вища школа, 2003. – 350 с.

16. Карупу В. Я. Электронная микроскопия. – К.: Вища школа. Головное изд-во, 1984. – 208 с.

17. Звіт про НДР (Закл.) Національний медичний університет імені О. О. Богомольця МОЗ України; керівник П. І. Серєда; виконавці Т. П. Куфтирева [та ін.] – К., 2011. - 104 с. – Інв № 0211U009764.