

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
«ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО»**

КОЛІНКО ЯРОСЛАВ ОРЕСТОВИЧ

УДК: 611.018.83+611.1+ 616.833.5+ 616-001.18

**МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРОВІДНИКОВОГО АПАРАТУ ТА
КРОВОНОСНОГО РУСЛА СІДНИЧОГО НЕРВА ЩУРА В НОРМІ ТА ПІСЛЯ ВПЛИВУ
ЗАГАЛЬНОЇ ГЛИБОКОЇ ГІПОТЕРМІЇ**

14.03.01 – нормальна анатомія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата медичних наук

Тернопіль – 2011

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у Державному вищому навчальному закладі «Івано-Франківський державний медичний університет» МОЗ України.

Науковий керівник: заслужений діяч науки і техніки України, доктор медичних наук, професор **Левицький Володимир Андрійович**, ДВНЗ “Івано-Франківський національний медичний університет” МОЗ України, завідувач кафедри анатомії людини.

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, професор **Масловський Сергій Юрійович**, Харківський національний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології;

доктор медичних наук, професор **Макар Богдан Григорович**, Буковинський державний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри анатомії людини.

Захист відбудеться 28 квітня 2011 року о 12 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 58.601.01 у Державному вищому навчальному закладі «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського» МОЗ України (46001, м. Тернопіль, майдан Волі, 1).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Державного вищого навчального закладу «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського» МОЗ України (46001, м. Тернопіль, вул. Січових Стрільців, 8).

Автореферат розісланий 23 березня 2011 року.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради,

доктор біологічних наук, професор

І.М. Кліщ

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Інтерес до всебічного вивчення структурно-функціональної організації периферичної нервової системи невинно зростає, оскільки в живих організмах немає жодної тканини, жодного органа, які б не перебували під її контролем (Геращенко С.Б., 2007; Левицький В.А., 2009).

У системі медико-біологічних проблем все більшого значення набувають питання адаптації організму до умов навколишнього середовища (Бабийчук В.Г., 2007; Сердюк А.В., 2007; Yung E. 2009). В останні роки в експериментальних дослідженнях і в клінічній практиці все ширше використовуються методи штучної гіпотермії, в основі лікувальної і захисної дії якої лежать ефекти зворотної залежності швидкості хімічних і біохімічних реакцій від температурних умов (Cassese M., 2006). Аналізуючи літературні дані, можна зауважити не тільки розширення сфери використання гіпотермії у клінічній практиці (Гончарук О.О., 2004; Миронов С.П., 2005; DeKosky S.T. et al., 2004) та в експериментальних дослідженнях (Целуйко С.С., 2005), але й недостатність морфологічних досліджень периферичної нервової системи при цьому. Тільки поодинокі роботи висвітлюють вплив локального охолодження на нерви (Попель С.Л., 2003), а робіт з вивчення змін провідникового апарату та кровоносних судин периферичних нервів за умов впливу загальної глибокої гіпотермії взагалі немає. Відсутня інформація також про реакцію та регенерацію периферичних нервів після впливу ушкоджуючого фактору на фоні загальної глибокої гіпотермії. Поряд з цим, вивчення реактивності провідникового апарату і ланок гемомікроциркуляторного русла периферичних нервів має безсумнівний інтерес, оскільки дозволяє розкрити механізми їх тимчасової та довготривалої адаптації і реабілітації після впливу холодного фактора. Таким чином, стає очевидною необхідність всебічного вивчення впливу загальної глибокої гіпотермії на структурні компоненти периферичного нерва. Зокрема, для проведення запланованого дослідження ми вибрали його об'єктом один із найбільших нервів у ссавців – сідничий.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт державного вищого навчального закладу «Івано-Франківський національний медичний університет» і є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри анатомії людини “Морфофункціональний стан мікроциркуляторного русла (МЦР) і клітинних елементів органів і тканин після дії загальної глибокої гіпотермії” (номер держреєстрації 0101U0075503). У рамках даної тематики автором проведено дослідження стану провідникового апарату та кровоносних судин сідничого нерва після впливу загальної глибокої гіпотермії. Тема дисертації затверджена Проблемною комісією МОЗ і АМН України “Морфологія людини” (протокол № 83 від 12 лютого 2008 р.).

Мета роботи: встановити морфофункціональні особливості провідникового апарату та кровоносного русла сідничого нерва щурів у нормі та після впливу загальної глибокої гіпотермії.

Завдання дослідження:

1. Вивчити пучкову будову й дати якісну і кількісну характеристику провідникового апарату сідничого нерва щурів в ділянці середньої третини стегна в нормі.
2. Дослідити джерела кровопостачання сідничого нерва щурів та особливості внутрішньостовбурового розгалуження його кровоносних судин із розрахунком їх взаємовідношення із нервовими волокнами.
3. Визначити особливості структурних змін нервових волокон сідничого нерва щурів у різні терміни після впливу загальної глибокої гіпотермії.
4. Дослідити особливості змін кровоносного русла цієї ділянки сідничого нерва щурів у різні терміни після впливу загальної глибокої гіпотермії.
5. Встановити основні показники електронейроміографії литкового м'яза в нормі та після впливу загальної глибокої гіпотермії.

Об'єкт дослідження: сідничий нерв білих статевозрілих щурів-самців на рівні середньої третини стегна.

Предмет дослідження: пучкова будова, нервові волокна, кровоносні судини, включаючи ланки гемомікроциркуляторного русла сідничого нерва статевозрілих щурів-самців в нормі та після впливу загальної глибокої гіпотермії.

Методи дослідження: гістологічні (виявлення нервових волокон за Кульчицьким, Масоном, Рансоном та на напівтонких зрізах при забарвленні їх метиленовим синім), ін'єкційний та безін'єкційний методи виявлення кровоносних судин, електронномікроскопічний, морфометричний, електрофізіологічний, статистичний.

Наукова новизна одержаних результатів. На основі системного підходу з використанням сучасних морфологічних методів вперше представлено якісну і кількісну характеристику провідникового апарату та кровоносного русла сідничого нерва щура в ділянці середньої третини стегна після впливу загальної глибокої гіпотермії. Уточнено кількість та співвідношення мієлінових нервових волокон у вказаній ділянці стовбура нерва. Вперше встановлено кількісні співвідношення між безмієліновими і мієліновими нервовими волокнами як у нормі, так і в експерименті. Для цього використані не тільки звичайні кількісні показники, а й показники структурного інформаційного аналізу, глибокий комп'ютерно-математичний аналіз площі поперечного перерізу нервових волокон та співвідношення між площею аксона і всього нервового волокна. Суттєво доповнено дані про кровоносне русло сідничого нерва, включаючи його гемомікроциркуляторний компонент. Новими є цифрові показники електронейроміографії

литкового м'яза, які характеризують провідність і збудливість сідничого нерва не тільки в нормі, а й після впливу загальної глибокої гіпотермії.

Новими є дані про якісні та кількісні зміни нервових волокон та ланок кровоносного русла сідничого нерва після впливу загальної глибокої гіпотермії. Вперше відмічено хронологічні та хронометричні особливості таких морфологічних змін, які згруповані у три основних стадії: 1) реактивно-набрякових; 2) деструктивно-компенсаторних і 3) компенсаторно-відновних процесів.

Перша стадія охоплює ранній постгіпотермічний період (7 доба включно) і характеризується набряком, дисхромією і розшаруванням мієлінових оболонок нервових волокон, сполучнотканинних оболонок нерва, потовщенням стінки кровоносних судин, частковим руйнуванням їх структурних компонентів, збільшенням та деструкцією внутрішньоклітинних органел. Для другої стадії (14-30 доби) характерними є часткове або повне руйнування мієлінових оболонок окремих, переважно великих, нервових волокон, патологічні зміни частини аксонів та леммоцитів, клітинних компонентів стінки кровоносних судин. Поряд з цим, в окремих аксонах, леммоцитах і ендотеліоцитах судин виявляються морфологічні ознаки активації внутрішньоклітинних регенераторних процесів (поява молодих, невеликих розмірів мітохондрій зі щільним матриксом та чітко орієнтованими кристами, збільшення кількості і упорядкування цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки, збільшення кількості рибосом), початковими ознаками мієлінізації ушкоджених нервових волокон. Третя стадія (90 доба) характеризується відновленням структури переважної більшості ушкоджених нервових волокон і стінки кровоносних судин. Поряд з цим, виявляються поодинокі змінені мієлінові волокна, збільшення кількості сполучнотканинних елементів як поміж нервовими волокнами, так і в стінці великих артеріальних судин нерва.

Упродовж постгіпотермічного періоду представлено динаміку змін показників електронейроміографії литкового м'яза.

Практичне значення одержаних результатів. Результати даного дослідження розширюють і поглиблюють знання про будову та кровопостачання сідничого нерва щура в нормі. Практичне значення мають дані про якісні і кількісні зміни нервових волокон та різних ланок кровоносного русла цього нерва під впливом загальної глибокої гіпотермії. Відмічено, що такі зміни значно превалюють в наближених до шкіри ділянках нерва. Діагностичною ознакою ушкодження провідникового апарату сідничого нерва після впливу гіпотермії можуть стати дані електронейроміографії литкового м'яза. Такі знання аргументують умови нашкірного використання з лікувальною метою різноманітних фармакологічних середників та фізіотерапевтичних процедур.

Основні положення дисертації використовуються у навчальному процесі на кафедрах анатомії людини ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»,

Дніпропетровської державної медичної академії, Буковинського державного медичного університету, Ужгородського національного університету, Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, Запорізького державного медичного університету, Сумського державного університету, Кримського державного медичного університету ім. С.І. Георгієвського, ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського», Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, Луганського державного медичного університету, Донецького державного медичного університету ім. М. Горького та Харківського національного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Представлені у роботі матеріали є особистим внеском здобувача. Автором особисто проведено аналіз літературних джерел з даної проблеми, здійснено патентно-інформаційний пошук, визначено мету і завдання. Самостійно виконано експериментальне дослідження; проведено статистичну обробку отриманих цифрових даних, оформлено розділи дисертації. Висновки та практичні рекомендації сформульовано разом із науковим керівником. Підготовка до друку наукових праць проведена здобувачем самостійно.

Апробація результатів дисертації. Результати дисертаційної роботи оприлюднено на науково-практичних конференціях: «Молодь – медицині майбутнього» (Одеса, 2008, 2009), «Медична наука – 2008» (Полтава, 2008), «Актуальні проблеми функціональної та інтегративної антропології» (Вінниця, 2009), «Бабенківські читання» (Івано-Франківськ, 2009), II Міжнародному науковому міждисциплінарному конгресі студентів-медиків і молодих лікарів (Харків, 2009), «Теоретические и практические аспекты современной медицины» (Сімферополь, 2009, 2010), «Актуальні проблеми морфології», присвяченій 70-річчю заслуженого діяча науки і техніки України, професора Я.І. Федонюка (Тернопіль, 2010), «Працюємо, творимо, презентуємо» (Івано-Франківськ, 2010), «Науковий потенціал молоді – прогрес медичного майбутнього» (Ужгород, 2010), «Актуальні проблеми клінічної, профілактичної медицини, стоматології та фармації» (Донецьк, 2010).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 20 наукових праць, з них 7 – у фахових виданнях, які рекомендовано ВАК України, 12 – у матеріалах конференцій, один патент на винахід.

Об'єм і структура дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 221 сторінці друкованого тексту (основний обсяг становить 155 сторінок) і складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, двох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел та додатків. Список джерел містить 295 праць, із них 157 – кирилицею і 138 – латиницею. Робота ілюстрована 73 рисунками і 16 таблицями.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи. Дослідження проводили на 133 білих щурах-самцях, масою 180-220 г, які були розподілені на контрольну (19 тварин) і дослідну (114 тварин) групи. Утримання, догляд за тваринами і всі маніпуляції на них проводилися згідно із “Загальними етичними принципами експериментів на тваринах” (ухвалені Першим Національним конгресом з біоетики, Київ, 2001 р.). Комісією з біоетики ДВНЗ “Івано-Франківський національний медичний університет” порушень біоетичних норм при проведенні досліджень не виявлено (протокол засідання № 46/10 від 25.03.2010 року).

Експериментальну групу поміщали в холодову камеру до досягнення їх ректальної температури $+12\text{--}+14^{\circ}\text{C}$, що відповідає температурним режимам загальної глибокої гіпотермії (ЗГГ) (Шутка Б.В. та ін., 2004). Евтаназію проводили відразу після дії холоду, на 3-ю, 7-му, 14-ту, 30-ту та 90-ту доби після одноразового впливу ЗГГ шляхом передозування ефірного наркозу. В частини тварин проводили ін’єкцію кровоносних судин ефірною сумішшю паризької синьої.

Для гістологічного дослідження шматочки сідничого нерва (СН) фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну, в 96 % спирті не менше 10 діб або в 2 % розчині чотириокису осмію. Після цього їх проводили до блоків за загальноприйнятими методиками. Зрізи фарбували за методом Кульчицького або виготовляли напівтонкі зрізи, зафарбовані метиленовим синім — для виявлення мієлінової оболонки (МО), для забарвлення безмієлінових нервових волокон (БНВ) використовували методи Рансона та Масона. Препарати вивчали та фотографували за допомогою світлового мікроскопа “Micros 3000” при різних збільшеннях (окуляр 7, об’єктив 4-10-20-40). Ультрамiкроскопічні зрізи вивчали на електронному мікроскопі ПЭМ-125К при прискорюючій напрузі 75 кВ з наступним фотографуванням при збільшеннях від 1600 до 45000 разів.

Електроміографію (ЕМГ) виконували у відповідні терміни експерименту за допомогою апаратного комплексу ЕМГСТ-01. При цьому використовували стандартний електрод, який накладали на шкіру та проводили ритмічне подразнення СН. Визначали амплітуду та частоту потенціалів, час біоелектричної активності і спокою, коефіцієнт К (відношення часу біоелектричної активності до часу біоелектричного спокою).

Для формування висновків підраховували загальну кількість нервових волокон (НВ) та розподіл мієлінових волокон (МНВ) за групами: дрібні (до 4,0 мкм), середні (4,1-7,0 мкм) та великі ($> 7,0$ мкм), на площі 1 мм^2 поперечного перерізу нерва. Серед великих МНВ виділяли: I – волокна з товстою МО і II – з тонкою МО. Крім того, для МНВ вираховували індекс « g_s », який відображає співвідношення між площами аксона та цілого НВ. Всі вимірювання проводили за допомогою програми “Bio Vision 4”. Для аналізу і порівняння отриманих цифрових даних використали програму “Statistica-7”.

Результати дослідження та їх обговорення. За нашими даними число дрібних НВ в досліджуваній ділянці складає в середньому 18,40 %, середніх – 32,77 % і великих – 48,45 %, що вказує на його переважно рухову природу (Junqueira L.K., 2008), а також в його складі нараховується близько 80 % МНВ. Середня площа МНВ становить $20,95 \pm 1,13$ мкм², а їх аксонів – $8,83 \pm 0,48$ мкм². Показник індексу “g_s” у МНВ дрібного та середнього діаметру, складає в середньому $0,41 \pm 0,02$, а у великих волокон — $0,44 \pm 0,03$. Про прямопропорційний зв’язок між діаметром аксона і товщиною МО вказують й інші автори (Герашенко С.Б., 2001).

При аналізі показників ЕМГ за нормальних умов середня амплітуда біопотенціалів дії становить $57,2 \pm 5,93$ мВ, а їх частота – $145,4 \pm 7,3$ Гц. Час біоелектричних активності і спокою литкових м’язів становить відповідно $0,33 \pm 0,02$ мс та $0,26 \pm 0,02$ мс, коефіцієнт К – $12,69 \pm 0,20$ %, що збігається із результатами інших дослідників (Герасимова М.М., 2008).

Досліджуючи стан провідникового апарату СН відразу після дії ЗГГ, відмітили ущільнене розташування НВ, а також їх груповий перерозподіл, при якому збільшується частка великих волокон із тонкою МО ($P < 0,01$). Враховуючи думку ряду авторів (Автандилов Г. Г., 2002; Казаков В. Н., 2002; Sunderland S., 1990), механізм цих змін можна пояснити наступним: завдяки сильному переохолодженню нерва відбувається зближення молекул води, що міститься в його сполучнотканинних прошарках та МО. Вода ж, що міститься в осьових циліндрах, є більш «захищеною» базальними мембранами та білковими структурами аксону. Зміна середніх площ осьових циліндрів різних груп волокон пов’язана із «переходом» більших волокон в меншу метричну групу через стоншення МО.

Відразу після дії ЗГГ спостерігається спазм артерій всіх калібрів при розширенні венозної ланки ГМЦР. Зміна морфометричних параметрів цих судин зумовлена порушеннями структурних компонентів їх стінок, які є аналогічними з судинами інших органів організму, що зазнав впливу ЗГГ (Попадинець О.Г., 2003; Elmezugi F.M., 2008).

Параметри ЕМГ порівняно з нормою практично не змінюються.

На 3-ю добу після дії ЗГГ кількість НВ є на $22,97 \pm 5,92$ % менша, ніж у контрольній групі. Серед МНВ домінують середні та великі з товстою МО. Спостерігається виражений набряк МО, особливо тих волокон, що розміщуються у найбільш наближеній до шкірних покривів ділянці нерва. У цій же зоні визначаються поодинокі великі МНВ із ознаками анізохромії, розволокнення, варикозних розширень та частковою деструкцією їх МО. На $69,75 \pm 2,74$ % статистично значуще зростає середній показник площі НВ. Порівняно з контролем у всіх розмірних групах МНВ зменшується індекс «g_s», що є також свідченням набряку МО, виникнення якого ми пов’язуємо як із реакцією морфологічних елементів клітин Шванна, так і з порушенням гемодинаміки нерва, що підтверджується іншими авторами (Демидчук А.В. та ін., 2010).

При електронній мікроскопії у значній частині леммоцитів, виявляються цитоплазматичні випинання, особливо в ділянці внутрішнього мезаксона. Помітно збільшуються проміжки між сусідніми ламелями МО, окремі із них мають хвилястий контур. Ядра нейролеммоцитів підвищеної електронної щільності, нуклеоплазма розпадається на окремі грудки, набрякають органели цих клітин. В аксонах МНВ і БНВ різко зменшується кількість мікротрубочок, тоді як число нейрофіламентів зростає, з'являється велика кількість вакуоль, просвітлюється матрикс мітохондрій, втрачається орієнтація їх крист, збільшуються за розмірами каналці і цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки. Вище перераховані зміни інтерпретуються іншими авторами як порушення аксотому за хоому НВ (Schmidt A.P. et al., 2009), яке може бути спровоковане набряком МО. У НВ, розташованих в ділянці СН, наближеній до шкірних покривів, описані вище ультраструктурні зміни МО, леммоцитів, аксонів МНВ і БНВ є більш вираженими.

При ЕМГ дослідженні литкових м'язів виявляється зниження амплітуди та частоти коливань біопотенціалів, а також час біоелектричної активності і спокою литкових м'язів, що, в свою чергу, приводить до збільшення коефіцієнта $K = 14,10 \pm 0,50$ % ($P < 0,05$).

У ГМЦР руслі СН спостерігаються більш виражене звуження просвіту артеріальної ланки та розширення венозної, що є свідченням венозного застою в гемомікроциркуляторному руслі (Sunderland S., 1990). Посилюється набряк внутрішньоклітинних компонентів судинної стінки, що супроводжується деструктивними процесами в них.

На 7 добу в МНВ спостерігаються набряк осьових циліндрів та периаksonальних структур, анізохромія та сегментарне руйнування МО і центральної зони нерва. Частка великих МНВ у даний період досягає 70,35 %, з яких більше як 63 % складають волокна з товстою МО ($P < 0,01$), що пояснюється вираженим набряком МО та аксонів усіх груп НВ (Stecker M.M., 2009). Кількість НВ на одиниці площі зменшується на 24,10 % порівняно з контролем. Спостерігається зростання кількості БНВ на 4,07 % ($P < 0,05$), яке пояснюється повною демієлінізацією окремих НВ (Ostrý S. et al., 2007). Середня площа аксонів усіх груп МНВ збільшується вдвічі порівняно з контролем. Середнє значення показника індексу « g_s » МНВ перевищує контрольне значення на 9,52 % ($P < 0,001$). Зростає також і середня площа БНВ.

При електронній мікроскопії в значній кількості МНВ СН виявляється виражене розшарування ламелів мієліну, конур яких стає хвилястим, частково зруйнованим. Аксони мають нерівномірні контури, містять просвітлену, вакуолізовану аксоплазму, частину зруйнованих органел, невелику кількість мікротрубочок і збільшене число згрупованих нейрофіламентів. Такими ж набряково-деструктивними ознаками характеризується цитоплазма леммоцитів. Окремі із них містять велику кількість лізосом і фагосоми, заповнені продуктами розпаду мієліну.

На ЕМГ спостерігається зменшення амплітуди на 21,20 %. Знижується також частота ЕМГ (на 35,9 %). У свою чергу час біоелектричної активності та біоелектричного спокою литкових

м'язів становить відповідно $0,37 \pm 0,03$ мс і $0,23 \pm 0,02$ мс та збільшенням коефіцієнту К до $16,10 \pm 0,50$ % ($P < 0,05$).

У ГМЦР були виявлені оголення внутрішньої еластичної мембрани та вихід за межі судин формених елементів крові, дезорієнтація гладких міоцитів на фоні значної дилатації складових компонентів ГМЦР, що відбувається у результаті складної реакції вазомоторних нервових закінчень із послідовною зміною фази збудження та парезу аж до повного паралічу м'язової оболонки судин (Шлопов В.Г., 2004).

На 14 добу експерименту набряк ендоневрію зменшується, залишаючись найбільш вираженим у субпериневральній ділянці та довкола мікрогемосудин. В окремих МНВ спостерігаються деструктивно-дегенеративні зміни їх МО.

Кількість МНВ порівняно із попереднім терміном дослідження зростає на 11,21 % ($P < 0,01$), проте є на 15,59 % ($P < 0,01$) меншою від контрольної, що пояснюється не тільки зменшенням набряку ендоневрію та МО, а й зменшенням абсолютної кількості НВ, що є наслідком ретроградної деструкції МНВ через ушкодження їх гангліональних клітин (Іванов К.П., 2005).

Частка великих волокон з тонкою МО зростає до 40,38 %, що статистично значуще перевищує аналогічні показники всіх попередніх термінів дослідження та контролю. Середні показники площі НВ зменшуються порівняно з подібними показниками попереднього терміну дослідження, хоча спостерігається незначне збільшення площі їх осевих циліндрів.

Статистично значуще збільшується середня площа БНВ, що зумовлено збільшенням частки БНВ, середній діаметр яких перевищує один мікромметр, до 35,42 %.

Електронномікроскопічна картина НВ у даному періоді свідчить про зменшення набряку структурних компонентів МНВ і БНВ, але поглиблення їх деструктивних змін. Спостерігається втрата ламелярної будови МО, її гомогенізація або повне руйнування в окремих міжвузлових сегментах. У таких ділянках демієлінізовані аксони утворюють звуження і варикозоподібні розширення, аксолема потовщується, аксоплазма містить частково або повністю зруйновані мітохондрії, цистерни гладкої ендоплазматичної сітки, мікротрубочки. Цитоплазма леммоцитів навколо таких волокон містить переповнені продуктами розпаду мієліну фагосоми. Аналогічні зміни виявляються і в аксонах БНВ, які оточуються дегенеративно зміненими леммоцитами із ознаками пікнозу, фрагментації або лізису ядра, вакуолізації цитоплазми, руйнування мембранних органел. Поряд з цим, в окремих аксонах виявляються морфологічні ознаки активації внутрішньоклітинних регенераторних процесів: відновлення електронної щільності аксоплазми, поява в ній молодих, видовжених мітохондрій із щільним матриксом та чітко орієнтованими кристами, відновлення структури і збільшення кількості мікротрубочок, зменшення числа мікрофіламентів, відновлення в їх леммоцитах мітохондрій та цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки із збільшенням кількості рибосом.

При ЕМГ спостерігаються наступні зміни: амплітуда ЕМГ литкових м'язів, порівняно з попереднім терміном, не змінюється. Частота ЕМГ підвищується до $86,20 \pm 4,50$ Гц ($P > 0,05$). Коефіцієнт К зменшується до $15,00 \pm 0,40$ % ($P < 0,05$).

При дослідженні ГМЦР відмічається змінами, які є проявами внутрішньоклітинних пристосувально-компенсаторних реакцій із наближенням до норми їх морфометричних показників.

На 30 добу після дії ЗГГ загальна кількість НВ складає $50675,40 \pm 894,23$. Частка БНВ зменшується до 71,18 % ($P < 0,01$). Спостерігається також зростання частки дрібних МНВ на 3,49 % порівняно з контролем ($P < 0,02$). Відсоток великих волокон з товстою МО статистично не відрізняється від контролю, проте частка великих із тонкою МО перевищує норму на 6,5 %. Такі дані морфометричного аналізу можуть свідчити про значну активність ремієлінізуючих процесів, на це вказують й інші авторів (Матейчук В., 2003).

На електронномікроскопічному рівні виявляються МНВ, оболонка яких складається тільки із декількох ламелів мієліну, які є чітко упорядкованими. В органелах аксонів та леммоцитів визначаються морфологічні ознаки, що свідчать про активні відновлюючі процеси, що відбуваються в леммоцитах (Mahan V.L. et al., 2005). Прошарки сполучної тканини значно потовщуються і ущільнюються. У них зустрічаються поодинокі фібрилярні включення, що є наслідком фібробластної активності в більш ранні терміни постгіпотермічного періоду (Ельмезугі Ф.М., 2007). Спостерігається статистично вірогідне підвищення всіх ЕМГ показників.

90-та доба характеризується відновленням ультраструктури провідникового апарату СН щурів, оскільки переважна більшість НВ має характерну для норми будову та метричні показники. Поряд з цим, виявляються МНВ із початковими ознаками мієлінізації та поодинокі НВ із деструктивно зміненими аксонами та леммоцитами.

Кількість НВ статистично незначуще зменшується порівняно з контролем на $9,94 \pm 1,04$ %. Такі втрати НВ, на нашу думку, в основному спровоковані загибеллю під дією ЗГГ гангліонарних клітин (Mahan V.L. et al., 2005). Не зважаючи на відновлення будови СН за даними ЕМГ функціональні розлади залишаються. При цьому, порівняно з нормою, амплітуда ЕМГ знижена на 12,10 %. Її частота залишається зниженою на 14,1 % ($P < 0,05$). При цьому, час біоелектричної активності зменшується на 8,70 %, а час біоелектричного спокою підвищується на 9,20 % і становить відповідно $0,31 \pm 0,03$ мс і $0,26 \pm 0,03$ мс, що обумовлює зменшення коефіцієнту К до $11,90 \pm 0,40$ %.

ВИСНОВКИ

У роботі вирішене актуальне наукове завдання: встановлено морфофункціональні особливості провідникового апарату сідничого нерва щурів та організацію його кровоносного русла в нормі, а також закономірності їх структурно-функціональної перебудови після впливу на організм загальної глибокої гіпотермії, що можна використати для обґрунтування заходів, спрямованих на обмеження ушкоджуючого впливу цього чинника та реабілітацію периферійної нервової системи після його дії.

1. Сідничий нерв щура в ділянці середньої третини стегна має переважно поліфасцикулярну будову і характеризується значною індивідуальною мінливістю. У його структурі на цьому рівні постійно визначаються велико- та малогомілковий, шкірний і м'язовий пучки. Кількість нервових волокон, яку вони містять, перебуває в прямопропорційній залежності від величини площі їх поперечного перерізу. При цьому, кількість безмієлінових нервових волокон коливається від 34978 до 42687 і переважає чисельність мієлінових (7553 – 9063), які розподіляються за унімодальним типом: дрібні – 18,7 %; середні – 32,9 %; великі – 48,4 %, серед яких з тонкою мієліною оболонкою – 14,69 % та з товстою мієліною оболонкою – 33,77 %.

2. Кровопостачання сідничого нерва щура здійснюється в основному за рахунок каудальної сідничої артерії, латеральної обхідної артерії стегна і м'язових гілочок, що відходять від стегнової артерії та глибокої артерії стегна. Занурюючись у стовбур нерва, вони послідовно діляться і дають початок двом геометрично різним модулям гемомікроциркуляторного русла: епіневральному та внутрішньостовбуровому. Кількість капілярів на площі 1мм^2 поперечника нерва в ділянці середньої третини стегна коливається в межах від 67 до 98 (в середньому $82,60 \pm 1,90$). Кожен з них забезпечує живлення групи нервових волокон в радіусі $61,88 \pm 14,50$ мкм. При цьому площа “зони кровопостачання” кожного капіляра складає $12021,5 \pm 659,73$ мкм², на якій розміщується $745,5 \pm 99$ нервових волокон.

3. За нормальних умов середня амплітуда біопотенціалів литкових м'язів при електростимуляції в проекції сідничого нерва на шкіру щура становить $57,20 \pm 5,93$ мВ, а їх частота – $145,40 \pm 7,30$ Гц. Час біоелектричної активності і біоелектричного спокою литкових м'язів становить відповідно $0,33 \pm 0,02$ мс та $0,26 \pm 0,02$ мс, а коефіцієнт К складає $12,69 \pm 0,20$ %.

4. Під впливом загальної глибокої гіпотермії у провідниковому апараті сідничого нерва спостерігаються неспецифічні периаksonальні дистрофічно-деструктивні явища, які проявляються кількісними змінами та груповим перерозподілом мієлінових нервових волокон і розвиваються в декілька етапів: 1-й (відразу після дії загальної глибокої гіпотермії) – характеризується незначними периаksonальними змінами; 2-й (3-7 доби післягіпотермічного періоду) – проявляється вираженими набряково-деструктивними змінами нервових волокон; у 3-му (14-30

доби після впливу холодового фактора) – поєднуються деструктивні та відновні зміни у нервових волокнах; 4-й (90 доба післягіпотермічного періоду) – характеризується відновленням структури сідничого нерва із поодинокими залишковими явищами. У цілому, після дії загальної глибокої гіпотермії кількість нервових волокон сідничого нерва зменшується приблизно на 10 %.

5. У кровоносному руслі сідничого нерва після впливу загальної глибокої гіпотермії спостерігаються динамічні зміни, які за основними ознаками можна розділити на 3 стадії: реактивно-набрякова, деструктивно-компенсаторна і компенсаторно-відновна. Стадія реактивно-набрякових змін характеризується спазмом артеріальної і дилатацією венозної частини кровоносного русла, набряком складових компонентів стінки судин, змінами їх метричних параметрів. Такі ознаки спостерігаються відразу після дії холоду. Стадія деструктивно-компенсаторних змін характеризує третю та сьому доби постгіпотермічного періоду і проявляється дистрофічними змінами і частковим руйнуванням клітинних компонентів оболонки судинної стінки, змінами їх метричних та морфологічних ознак. Компенсаторно-відновні зміни характеризують 14-90 доби післягіпотермічного періоду і проявляються вираженими морфологічними ознаками активації внутрішньоклітинних регенераторних процесів, відновленням ангіоархітекτονіки, гісто- та ультраструктури стінки судин.

6. Біоелектрична активність литкових м'язів відразу після дії загальної глибокої гіпотермії практично не змінюється (амплітуда – $56,50 \pm 2,20$ мВ, частота – $130,10 \pm 6,20$ Гц, коефіцієнт К – $11,50 \pm 0,40$ %). Вона різко зменшується протягом першого тижня після переохолодження із максимальними проявами на 14 добу експерименту (амплітуда – $44,90 \pm 2,80$ мВ, частота – $86,20 \pm 4,50$ Гц, коефіцієнт К – $15,00 \pm 0,40$ %). Впродовж наступного періоду (30-90 доби) досліджувані біоелектричні показники починають відновлюватися, але і на 90 добу вони не досягають величин, характерних для норми (амплітуда – $50,50 \pm 5,20$ мВ, частота – $124,80 \pm 15,10$ Гц, коефіцієнт К – $11,90 \pm 0,40$ %).

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Колінко Я. О. Морфометричні показники мієлінових волокон сідничого нерва (СН) щура в нормі / Я. О. Колінко // Галицький лікарський вісник. — 2009. — № 1. — С. 42—43.
2. Колінко Я. О. Гісто- та ультраструктурні зміни провідникового апарату сідничого нерва щура після впливу загальної глибокої гіпотермії / Я. О. Колінко // Вісник Української медичної стоматологічної академії. — 2009. — № 4. — С. 53—56.
3. Колінко Я. О. Стан провідникового апарату та мікроциркуляторного русла сідничого нерва щура відразу після впливу загальної глибокої гіпотермії / Я. О. Колінко // Галицький лікарський вісник. — 2009. — № 4. — С. 55—58.

4. Левицький В. А. Ультраструктурні зміни нервових волокон сідничого нерва щура після дії загальної глибокої гіпотермії / В. А. Левицький, Я. О. Колінко // Вісник морфології. — 2010. — Т. 16, № 1. — С. 139—142. *(Здобувачем самостійно здійснені дослідження, статистична обробка отриманих даних та підготовка матеріалів до друку).*
5. Колінко Я. О. Стан провідникового апарату та мікроциркуляторного русла сідничого нерва щура на сьому добу після дії загальної глибокої гіпотермії / Я. О. Колінко // Морфологічний альманах. — 2010. — № 2. — С. 91—93.
6. Колінко Я. О. Ультраструктурна будова провідникового апарату сідничого нерва щура в нормі та в ранні терміни після впливу загальної глибокої гіпотермії / Я. О. Колінко // Галицький лікарський вісник. — 2010. — Т. 17, № 2, ч. 1. — С. 43—46.
7. Левицький В. А. Вплив загальної глибокої гіпотермії на провідність сідничого нерва щура / В. А. Левицький, Я. О. Колінко // Клінічна та експериментальна патологія. — 2010. — Т. 9, № 2. — С. 53—55. *(Здобувачем самостійно здійснені дослідження, статистична обробка отриманих даних та підготовка матеріалів до друку).*
8. Пат. 91377 Україна, МПК А 61 В 10/00, G 01 N 1/30. Спосіб поєданого виявлення гемомікроциркуляторного русла та паренхіми тканин шляхом ін'єкції судин та фарбування гематоксиліном і еозином / Левицький В. А., Попадинець О. Г., Князевич-Чорна Т. В., Колінко Я. О. ; заявник і патентовласник Івано-Франківський держ. мед. ун-т. — № а200804032 ; заявл. 31.03.2008 ; опубл. 26.07.2010, Бюл. № 14. *(Здобувачем здійснено експеримент та підготовка матеріалів до друку).*
9. Колінко Я. О. Зміни міелоархітектоніки сідничого нерва щура у пост-гіпотермічному періоді / Я. О. Колінко // Молодь – медицині майбутнього : міжнародна конф. студентів та молодих вчених, 24-25 квітня 2008 р. : матеріали конф. — Одеса, 2008. — С. 55—56.
10. Колінко Я. О. Міелоархітектоніка сідничого нерва щура в нормі / Я. О. Колінко // Медична наука – 2008 : Всеукраїнська науково-практична конф. молодих вчених, 10-11 грудня 2008 р. : тези доповіді. — Полтава, 2008. — С. 166—167.
11. Kolinko Y. Morphometrical grade mieloarchitectonic sciatic nerve of a rat in active animals / Y. Kolinko, I. Kaban // 2nd international scientific interdisciplinary congress for medical students and young doctors, 8th-10th April 2009 : abstract. — Kharkiv, 2009. — P. 33. *(Здобувачем самостійно здійснені дослідження, статистична обробка отриманих даних та підготовка матеріалів до друку).*
12. Колінко Я. О. Морфологічна оцінка змін мієлінових нервових волокон сідничого нерва щура на чотирнадцяту добу після впливу загальної глибокої гіпотермії / Я. О. Колінко // Молодь – медицині майбутнього : міжнародна конф. студентів та молодих вчених, 23-24 квітня 2009 р. : матеріали конф. — Одеса, 2009. — С. 37.

13. Колінко Я. О. Морфометрична характеристика безмієлінових нервових волокон сідничого нерва щура / Я. О. Колінко, С. В. Паламарчук, А. О. Шевчук // Теоретические и практические аспекты современной медицины : 81-я международная научно-практическая конф. студентов и молодых ученых, 23-24 апреля 2009 р. : материалы конф. — Симферополь, 2009. — С. 131. *(Здобувачем самостійно здійснені статистична обробка отриманих даних та підготовка матеріалів до друку).*

14. Колінко Я. О. Окремі кількісні показники мієлоархітетоніки сідничого нерва щура в ділянці середньої третини стегна / Я. О. Колінко // “Актуальні проблеми функціональної та інтегративної антропології” та “Прикладні аспекти морфології” : науково-практична конф., 20-21 травня 2009 р. : матеріали конф. — Вінниця, 2009. — С. 148—150.

15. Колінко Я. О. Гістоструктура провідникового апарату та мікроциркуляторного русла сідничого нерва щура відразу після впливу загальної глибокої гіпотермії / Я. О. Колінко // Бабенківські читання : науково-практична конф. з міжнародною участю, 29-30 жовтня 2009 р. : матеріали конф. — Івано-Франківськ, 2009. — С. 35—36.

16. Колінко Я. О. Особливості мікроскопічних змін інтраневральних судин на 7 добу після дії загальної глибокої гіпотермії / Я. О. Колінко // Науковий потенціал молоді – прогрес медичного майбутнього : VIII науково-практична конференція з міжнародною участю студентів та молодих вчених, 14-16 квітня 2010 р. : матеріали конф. — Ужгород, 2010. — С. 39.

17. Колінко Я. О. Мікроскопічні зміни нервових волокон на 3 добу після дії загальної глибокої гіпотермії / Я. О. Колінко // Актуальні проблеми клінічної, профілактичної медицини, стоматології та фармації : 72-а міжнародна науково-практична конференція молодих вчених, 14-16 квітня 2010 р. : матеріали конф. — Донецьк, 2010. — С. 14.

18. Колінко Я. О. Кількісні якісні зміни провідникового апарату сідничого нерва щура на 14 добу після дії загальної глибокої гіпотермії / Я. О. Колінко // Актуальні проблеми морфології : науково-практична конференція, присвячена 70-річчю заслуженого діяча науки і техніки України, професора Я.І. Федонюка, 16-17 квітня 2010 р. : матеріали конф. — Тернопіль, 2010. — С. 73—75.

19. Колінко Я. О. Субмікроскопічні зміни нервових волокон на 30 добу після дії загальної глибокої гіпотермії / Я. О. Колінко // Працюємо, творимо, презентуємо : 79-а міжвузівська наукова конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю, 25-27 квітня 2010 р. : матеріали конф. — Івано-Франківськ, 2010. — С. 229—230.

20. Колінко Я. О. Зміни провідності сідничого нерва щура в ранньому постгіпотермічному періоді / Я. О. Колінко // Теоретические и практические аспекты современной медицины : 82-я международная научно-практическая конф. студентов и молодых ученых, 28-30 апреля 2010 г. : материалы конф. — Симферополь, 2010. — С. 179.

АНОТАЦІЯ

Колінко Я.О. Морфофункціональні особливості провідникового апарату та кровоносного руслу сідничого нерва щура в нормі та після впливу загальної глибокої гіпотермії. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.01 – нормальна анатомія. Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського" МОЗ України, Тернопіль, 2011.

Дисертація присвячена вивченню загальних закономірностей структурної організації сідничого нерва в щура у нормі та особливостей його морфофункціональних змін на висоті дії загальної глибокої гіпотермії та в різні терміни (3, 7, 14, 30 та 90 доби) постгіпотермічного періоду.

Після впливу загальної глибокої гіпотермії у структурних компонентах нервового стовбура відбуваються послідовні стадійні зміни: у перші 7 діб переважають реактивні та набряково-деструктивні явища, обумовлені безпосереднім негативним впливом холоду на нервові провідники та розвитком стрес-реакції, у наступні терміни (14-90 діб) – компенсаторно-відновні зміни, основою яких є активація внутрішньоклітинних регенераторних процесів.

Ключові слова: сідничий нерв, загальна глибока гіпотермія, нервове волокно, нейропатія.

АННОТАЦИЯ

Колинко Я.О. Морфофункциональные особенности проводящего аппарата и кровоносного русла седалищного нерва крысы в норме и после воздействия общей глубокой гипотермии. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.01 – нормальная анатомия. Государственное высшее учебное заведение «Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского» МЗ Украины, Тернополь, 2011.

Диссертация посвящена изучению у крыс общих закономерностей структурной организации седалищного нерва в норме и особенности его морфофункциональных изменений на высоте действия общей глубокой гипотермии в разные сроки (3, 7, 14, 30 и 90-е сутки) постгипотермического периода.

Сразу после воздействия гипотермии на нервный ствол установлено уплотнённое расположение нервных волокон. Соотношение безмиелиновых и миелиновых нервных волокон остаётся неизменным, однако происходит их перекалибровка, при которой увеличивается часть

больших волокон с тонкой миелиновой оболочкой. Индекс « g_s » миелиновых волокон незначительно растёт. Средняя площадь безмиелиновых и аксонов миелиновых волокон не испытывает статистически достоверных изменений. В кровеносном русле наблюдается уменьшение просвета артериальной и расширение его венозной частей. Электронномикроскопически отмечается просветление цитоплазмы эндотелиоцитов, микроклаттоз, адвентиционная оболочка разрушается. Такие изменения, по нашему мнению, носят реактивный характер.

На 3 сутки постгипотермического периода общее количество нервных волокон уменьшилось на 29,97 % в сравнении с контролем, это происходит благодаря выраженному отеку соединительнотканых элементов нерва и миелиновых оболочек. Выраженный отек наблюдается в приближенной к кожным покровам части нерва. В этой же зоне определяются одиночные большие миелиновые волокна с признаками варикозных расширений и частичной деструкции их миелиновых оболочек. У значительной части нейролеммоцитов, которые находятся в толще нервного пучка, оказываются цитоплазматические выпячивания в участке внутреннего мезаксона. Ядра нейролеммоцитов повышенной электронной плотности, их нуклеотин фрагментирован. Количество микротрубочек в аксоплазме резко уменьшается, визуализируется значительное количество нейрофиламента, в аксоплазме осевых цилиндров незначительно растёт количество митохондрий. Волокна приобретают более округлую форму, расстояние между ламелями миелина увеличивается. Во всех размерных группах МНВ уменьшается показатель индекса « g_s », что является также свидетельством отека миелиновых оболочек. Спазм артериальных сосудов уменьшается, тогда как дилатация венозного звена остается.

На 7 сутки постгипотермического периода нами обнаружен отек, расслоение и частичное разрушение миелиновых оболочек, которое проявляется увеличением количества безмиелиновых и уменьшением числа миелиновых нервных волокон, в составе которых происходит перегруппировка с уменьшением частицы мелких и увеличением частицы больших из них. Просвет составных звеньев кровеносного русла нерва при этом расширяется, стенки утончаются, хотя отдельные их составные части имеют отёчный вид.

На 14 сутки эксперимента отёк эндоневрия наиболее выраженный в субпериневральных участках и вокруг микрогемососудов. Миелиновая оболочка образует выпячивание и инвагинации, которые имеют вид ветвистых образований, а также веерообразных структур. Волокна приобретают неправильную полигональную или звездчатую форму. Нередко встречаются патологически изменённые аксоны. Наблюдаются участки волокон с частично или полностью разрушенной миелиновой оболочкой. В отдельных волокнах определяются фрагменты миелина, которые сжимают аксоны.

Происходит уменьшение количества волокон на 15,59 %. Значительно растет группа больших волокон с тонкой миелиновой оболочкой (до 40,38 %). Средние показатели суммарной площади нервных волокон уменьшаются, хотя наблюдается незначительное увеличение суммарной площади их аксонов. Такие изменения связываются нами с отеком осевых цилиндров и дегенеративными изменениями миелиновой оболочки, которая ведет к увеличению количество безмиелиновых нервных волокон, поперечный диаметр которых превышает 1 мкм (с 21,96 % до 35,42 %).

30 сутки характеризуются наличием активных восстановительных процессов при наличии угасающих патологических изменений нервных волокон. Морфометрические параметры составных компонентов гемомикроциркуляторного русла практически не отличаются от контрольных.

На 90 сутки после влияния общей глубокой гипотермии наблюдается возобновление ультраструктуры проводникового аппарата седалищного нерва крыс, поскольку подавляющее большинство нервных волокон, как миелиновых, так и безмиелиновых, имеет характерное для нормы строение. Одновременно определяются волокна с начальными признаками миелинизации и одиночные волокна, в которых наблюдаются деструктивно измененные аксоны, миелиновые оболочки и лейкоциты.

Ключевые слова: седалищный нерв, общая глубокая гипотермия, нервное волокно, нейропатия.

ANNOTATION

Kolinko Y.O. Morphofunctional features of explorer vehicle and of the hemomicrocirculatory system bed of sciatic nerve of rat in a norm and after influence of general deep hypothermia. – The manuscript.

Dissertation for the scientific degree of Candidate of Medical Science by speciality 14.03.01 – normal anatomy. State higher educational institution “I.Ya. Horbachevskiy Ternopil State Medical University” of the Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, 2011.

Dissertation is devoted to the study of general conformities of structural organization of sciatic nerve of a rat in normal state and special features of its morphofunctional changes at different stages (3, 7, 14, 30 and 90 days) of the posthypothermical period. After influence of general deep hypothermia there are successive phasic changes in the structural components of nervous barrel: the reactive and oedematous-destructive phenomena, conditioned direct negative influence of cold on nervous explorers and by development of reaction of stress, prevail on the first 7 days, and next terms (14-90 days) – scray-restoration changes basis of which is activating of intracellular regenerator processes.

Key words: sciatic nerve, general deep hypothermia, nervous fibre, neuropathy.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

СН – сідничий нерв

ЗГГ – загальна глибока гіпотермія

НВ – нервові волокна

МНВ – мієлінові нервові волокна

МО – мієлінова оболонка

БНВ – безмієлінові нервові волокна

ГМЦР – гемомікроциркуляторне русло

ЕМГ – електроміографія