КИЇВСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

На правах рукопису

ЄРЬОМІНА НІНА ФЕДОРІВНА

ОСОБЛИВОСТІ ВІДНОВЛЕННЯ СТРУКТУРИ ПЕРИФЕРІЙНИХ НЕРВІВ В УМОВАХ ВПЛИВУ НА ОРГАНІЗМ ІОНІЗУЮЧОГО ТА ЛАЗЕРНОГО ОПРОМІНЕННЯ

03.00.11 - ембріологія, гістологія і цитологія

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук

Київ - 1996

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі гістології, цитології та ембріології Української медичної стоматологічної академії, м. Полтава.

Науковий керівник:

доктор біологічних наук, професор САМОЙЛОВ М.Г.

Офіційні опоненти:

академік Української Академії Наук національного прогресу, доктор біологічних наук, професор КОНОНСЬКИЙ О.І.

кандидат медичних наук, доцент КОСТИНСЬКИЙ Г.Б.

Провідна установа:

Український медичний університет ім.О.О.БОГОМОЛЬЦЯ

Захист дисертації відбудеться 27 лютого 1996 року о 14 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д. 01.01.13 при Київському університеті імені Тараса Шевченка

АДРЕСА: 252022, Київ-22, пр.Глушкова, 2, Інститут фізіології КУ

Відгуки на автореферат дисертації надсилати на адресу: 252033, Київ, вул.Володимирська 60, Київський університет ім.Тараса Шевченко

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Київського університету ім. Тараса Шевченка.

Автореферат розісланий " ___ "_____

Вчений секретар спеціалізованої ради,
кандидат біологічних наук, доцент ДАНИЛОВА О.В.

В С Т У П

АКТУАЛЬНІСТЬ ПРОБЛЕМИ. Основи сучасних уявлень про регенерацію периферійних нервів після їх механічного пошкодження закладені роботами Валлера /Waller A., 1850-1852/. Але інтерес до цієї проблеми не тільки не послаблюється з часом, а навіть посилюється, про що свідчить ріст публікацій по цій темі /M. Pollock et al., 1981; Ю.Б.Чайковский, 1982; В.Л.Зеляк и соавт., 1987; Е.П.Мельман, 1988; Ide Chisuka et al., 1990; О.С.Сотников и соавт., 1993/. Це зумовлено як новими можливостями, які відкриваються перед вченими в зв'язку з розвитком науки і техніки, так і запитами клінічної медицини. Розробка нових методів хірургічного втручання для лікування хворих з травматичними пошкодженнями нервів /Д.М.Голуб и соавт.,1981; К.А.Григорович,1981; К.Я.Оглезнев., 1983/, вивчення впливу різних факторів на репаративну регенерацію та можливостей її стимуляції /В.А.Левицкий и соавт., 1984; В.Н.Радлинская и соавт., 1985; Л.В.Васько, 1987; Н.Г.Самойлов, 1989/ ставлять нові завдання перед дослідниками.

В останній час в зв'язку з бурхливим розвитком атомної енергетики та широким використанням радіоактивних речовин в різних сферах людської діяльності проблема впливу іонізуючого випромінювання на організм людини стає ще більш актуальною. З новою силою вивчення цього питання активізувалось після подій 1986 року в Чорнобилі /Ю.И.Москалев, 1991; Б.И.Давыдов и соавт., 1991; Н.В.Родионова и соавт., 1995; В.П.Яценко и соавт., 1995/.

Оскільки по цей час, незважаючи на зусилля невропатологів та нейрохірургів, не завжди вдається досягти повноцінної регенерації нервів, перед вченими стоїть завдання теоретичної розробки та експериментального підтвердження проблеми стимуляції репаративної регенерації в нервових стовбурах. Пошук засобів, стимулюючих регенерацію нервів серед лікувальних препаратів не привів до бажа-

них результатів, так як їх використання давало незначне покращання їх відновлення. В теперішній час, в зв'зку з інтенсивним вивченням проблеми загальнобіологічної ролі лазерного опромінення, його впливу на різні процеси, і особливо, на фізіологічну та репаративну регенерацію /М.Ф.Попова и соавт., 1983; Б.В.Шутка и соавт.,1991; И.М.Байбеков и соавт., 1991; Н.Г.Самойлов, 1992/ відкриваються нові можливості для пошуку засобів стимуляції післятравматичної регенерації периферійних нервів. Відомо, що низькоінтенсивне лазерне опромінення підвищує активність ферментів клітин, підсилює біоенергетичні та біосинтетичні процеси, стимулює поділ клітин, забезпечуючи тим самим покращання регенераторних властивостей тканин /А.С.Крюк и соавт., 1986; Б.Ш.Усулбекова, 1987; А.Р.Рахишев и соавт., 1987; Muller W. et al., 1988; А.И.Колесникова и соавт., 1990/.

Цілеспрямоване управління процесами в живих об'єктах можливе тільки в тому разі, якщо відомі причини та механізми виникнення патологічних порушень і особливості розвитку цих процесів. Проблема відновлення периферійних нервових стовбурів, як при неускладненій механічній травмі так і при поєднанні її з пошкоджуючою дією іонізуючої радіації, є однією з не вирішених актуальних проблем сучасної нейрохірургії. Дослідження, присвячені вивченню цього питання, мають переважно феноменологічний характер. Вплив лазерного опромінення, як фактора стимулюючого процеси репаративної регенерації в нервах, вивчено недостатньо. Морфологічні дослідження дії лазеропунктури на регенерацію периферійних нервів, яка зараз активно застосовується клініцистами як немедикаментозний метод лікування цілого ряду захворювань, в тому числі і в невропатології, практично відсутні. Все вищезгадане привело до постановки проблеми вивчення морфологічних змін, які виникають в нервових стовбурах після їх механічної травми, ус-

кладненої пошкоджуючою дією гамма-випромінення в поєднанні з опроміненням біологічно активних точок низькоінтенсивним терапевтичним лазером.

МЕТА РОБОТИ. Вивчити структурну організацію сідничних нервів після невротомії та в умовах іонізуючого опромінення та лазеропунктури. Для реалізації цієї мети необхідно вирішити слідуючі завдання.

ЗАВДАННЯ ДОСЛІДЖЕННЯ:

1. Вивчити особливості регенерації сідничних нервів експериментальних тварин в різні строки після невротомії.

2. Дослідити вплив місцевого гамма-опромінення на структуру сідничних нервів в умовах їх регенерації.

3. Вивчити вплив лазеропунктури на післятравматичну регенерацію сідничних нервів після їх променевого пошкодження.

НАУКОВА НОВИЗНА РОБОТИ. В роботі вперше представлені об'єктивні дані, отримані за допомогою комплекса морфологічних, електронномікроскопічних та морфомертичних досліджень, про кінетику структурних перетворень в регенеруючих нервах після їх механічної травми в умовах впливу на організм різних видів опромінення.

Встановлено, що місцеве гамма-опромінення сідничних нервів в дозі 20 Гр приводить до пошкодження мембранних структур та фібрілярно-тубулярного комплекса аксоплазми і клітин нервових волокон, в результаті чого спостерігається гальмування новоутворення та росту регенеруючих аксонів. Зниження проліферативної активності нейролемоцитів і фібробластів, а також сповільнення їх

диференціювання затримує мієлінізацію осьових циліндрів.

В роботі вперше показано, що лазеропунктура точок загальноенергетичної дії після гамма-опромінення нервів експериментальних тварин забезпечує інтенсивне гальмування деструктивних процесів в пошкоджених нервових волокнах, клітинах глії та сполучної тканини. При режимі опромінення лазером, який використовувався в наших експериментах, спостерігається: 1/ зменшення зони ретроградної дегенерації, 2 /активне формування нових та збереження функціонуючих органел, 3/ активація утворення і росту осьових циліндрів, 4/ прискорення процесів валерівської дегенерації, 5/більш рання мієлінізація аксонів.

Вперше встановлено, що зміни в структурі регенеруючих нервів, викликані дією різних фізичних факторів, мають однакову направленість у різних видів тварин, що дає підстави для екстраполяції результатів експериментів на людину.

НАУКОВО-ПРАКТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ РОБОТИ. Встановлені особливості відновлення нервових стовбурів після невротомії в умовах впливу іонізуючої радіації та при поєднанні її з лазеропунктурою важливі і цікаві як біологам так і медикам , які займаються проблемою регенерації периферійної нервової системи.

Використані дози іонізуючого опромінення і режими лазеропунктури можуть бути враховані при постановці експериментів в радіобіології та в експериментальній медицині.

Факти пригнічення репаративного процесу в нервових стовбурах при місцевій дії гамма-опромінення і стимулюючий ефект лазеропунктури можуть використовувати нейрохірурги та невропатологи при виникненні необхідності проводити корекцію відновлення периферійних нервів при тій чи іншій патології.

Більш повна та швидка регенерація периферійних нервів при

лазерному опроміненні біологічно активних точок дає можливість клініцистам і рефлексотерапевтам використовувати лазеропунктуру як ефективний немедикаментозний спосіб лікування пошкоджень нервів.

НА ЗАХИСТ ВИНОСЯТЬСЯ ТАКІ ПОЛОЖЕННЯ:

1. Одноразове гамма-опромінення задніх кінцівок експериментальних тварин в дозі 20 Гр за одну добу до невротомії сідничних нервів викликає значні деструктивні зміни в усіх структурних елементах нервових стовбурів, які призводять до гальмування процесів репаративної регенерації.

2. Спільна дія гамма-опромінення та лазеропунктури забезпечує збереження ультраструктурних елементів нервових волокон, сприяючи більш повному та швидкому їх відновленню в процесі післятравматичної регенерації.

АПРОБАЦІЯ РОБОТИ. Основні результати дисертаційної роботи доповідались і були обговорені на II з'їзді анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів УРСР /м.Полтава, 1985/; X Всесоюзному з'їзді анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів /м.Вінниця,1986/; II Всесоюзній конференції "Биоантиоксидант" /м.Чорноголовка, 1986/; I Національному конгресі анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України /м.Івано-Франківськ, 1994/; Республіканській науково-практичній конференції "Фундаментальні та прикладні аспекти реабілітації" /м.Полтава, 1995/; засіданнях Полтавського відділення товариства анатомів, гістологів та ембріологів України /1990-1994/; I Міжнародному конгресі з інтегративної антропології /м.Тернопіль, 1995/.

ПУБЛІКАЦІЇ: По темі дисертації опубліковано 9 робіт.

ОБ'ЄМ І СТРУКТУРА ДИСЕРТАЦІЇ. Робота викладена на 144 сторінках машинопису, складається з вступу, огляду літератури, розділу матеріал і методи досліджень, розділу власних досліджень, висновків та списку літератури. Робота ілюстрована 62 рисунками, 4 таблицями. Список літератури містить 228 джерел, з них 163 вітчизняних і 65 зарубіжних авторів.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Експерименти були проведені на двох видах тварин різної статі - 48 морських свинках 12-місячного віку та 46 білих лабораторних щурах 6-місячного віку. Відомості про кількість тварин в різних серіях дослідів відображені в таблиці 1.

Таблиця 1.

МАТЕРІАЛ ДОСЛІДЖЕННЯ

ВИД ТВАРИН	Строки забору матеріалу (діб) / Експериментальні впливи		3	7	20	60
МОРСЬКІ СВИНКИ	Інтактні		5			
	Операція	Стандартна перерізка	4	5	5	4
		Гамма-опромінення	4	4	4	4
		Гамма-опромінення+лазеропунктура			5	4
ЩУРИ	Інтактні		5			
	Операція	Стандартна перерізка	4	5	4	4
		Гамма-опромінення	4	4	4	3
		Гамма-опромінення+лазеропунктура			4	5

Місцеве гамма-опромінення досліджуваного нерва в області його механічної травми здійснювалось за 1 добу до операції на терапевтичній установці "Луч-1" з джерелом ^{60}Co при шкірно-фокусній відстані 45 см, поле 3х4 см, потужність дози $4,3 \times 10^{-2}$ Гр/с. Поглинена доза в усіх серіях дослідів складала 20 Гр.

В експериментах застосовувався низькоенергетичний гелій-неоновий лазер ЛГ-75, який працював в безперервному режимі. Використовувалась робоча довжина хвилі 632,8 нм, щільність потужності 25мВт/см^2, що відповідали оптимальним параметрам по дії на живі тканини /Е.М.Юрах, 1982; Schwartz M., 1987/.

Опромінювались точки акупунктури 4G1 і 36E, котрі застосовуються в рефлексотерапії та в експериментах на тваринах /Г.О.Тальфельд и соавт., 1981; В.Н.Залесский и соавт., 1982; М.И.Шапиро, 1983; Н.А.Николаев и соавт., 1989/. Відстань до опромінюваних точок була 30 см, експозиція - 15 с /Н.Г.Самойлов, Л.А.Перелыгина, 1987/. Лазеропунктуру проводили кожного дня до виведення тварин з досліду. Тваринам, яких виводили з досліду через 60 діб після операції, лазеропунктуру проводили через день.

Всім тваринам на обох кінцівках гострим лезом безпечної бритви під ефірним наркозом в асептичних умовах перерізали сідничні нерви на рівні середньої третини стегна. Кінці розрізаних нервів не зшивали, на шкіру накладали безперервний шов шовковими нитками. Тварин виводили з досліду шляхом передозування ефірного наркозу через 3, 7, 20 та 60 діб після операції. Об'єктом дослідження були центральні та периферійні відрізки нервів, а також з'єднуючі їх рубці. Для забарвлення загальногістологічними методиками, фіксований в 12% нейтральному формаліні матеріал, заливали в парафін. Зрізи товщиною 5-7мкм забарвлювали гематоксиліном-еозином, по Новелі, по Малорі. Для проведення нейрогістологічних методик із замороженных шматочків

нервів на кріостаті МК-2 виготовляли поздовжні зрізи товщиною 15-20 мкм. Скельця зі зрізами підсушували на повітрі, фіксували в кальцій-формолі по Беккеру на протязі 1-2 діб. Потім імпрегнували азотнокислим сріблом по методу Рассказової та по Кампосу, золотили і частину зрізів дофарбовували карміном по Гренахеру. Для виявлення мієлінових оболонок застосовували методику Шпільмайера-Соколянського /Г.А.Меркулов, 1969/.

Виявлення мікроциркуляторного русла проводили шляхом наливки судин задніх кінцівок тварин через черевну аорту 30% сумішшю чорної туші в 5% розчині желатини. Після відмивки проводили дегідратацію в спиртах зростаючої концентрації, поступову заміну спирту ацетоном, просочення в епоксидній смолі. З просочених в смолі нервів виготовляли тотальні плоскі препарати. Для цього з поліетиленової плівки вирізали дві пластини, відповідні за розмірами предметному склу і одну прокладку, яку розміщували між ними. В прокладці вирізали вікно, капали свіжу смолу і розміщували в ньому матеріал. Препарат накривали ще одним предметним склом, здавлювали його до зближення поліетиленових плівок і витримували в термостаті протягом 3 діб для полімеризації.

Отримані тотальні препарати вивчали під світловим мікроскопом. Це дозволяло вибрати ділянку, яка нас цікавить, і використовувати її для отримання напівтонких зрізів. Для цього, обраний нами сегмент препарата вирізали і наклеювали на торець або в вертикальну прорізь епоксидного блока.

Для електронної мікроскопії та напівтонких зрізів шматочки нервів занурювали в 4% розчин глютарового альдегіду на фосфатному буфері і залишали в холодильнику на 24 години. Після промивки матеріалу від глютарового альдегіду в 0,1 М фосфатному буфері піддавали його додатковій фіксації в осмієвому фіксаторі по Millonig G. /1962/. Перед просочуванням шматочків нервів в водо-

нерозчинних смолах проводили їх дегідратацію в спиртах зростаючої концентрації з поступовим переходом до ацетону. Для ущільнення матеріалу використовували епоксидні смоли. Полімеризацію проводили ступінчато – при температурі 35°С – 24 години, 45°С – 24 години, 56°С – 24 години.

По описаній раніше методиці з просочених в епоксидній смолі нервів виготовляли тотальні плоскі препарати.

Напівтонкі та ультратонкі зрізи отримували на ультрамікротомах УМТП-4, УМТП-7. Забарвлення напівтонких зрізів проводили 0,5% розчином толуїдинового синього на фосфатному буфері і по Крутиай. Ультратонкі зрізи контрастували уранілацетатом та цитратом свинцю по Reynolds E.R. /1963/. Отримані препарати проглядали та фотографували в трансмісійному мікроскопі ПЕМ-100.

Морфометричні методи застосовувалися для оцінки інтенсивності новоутворення і росту нервових волокон та ступіня їх мієлінізації. Щільність мієлінових нервових волокон в невромі та в периферійному відрізку регенеруючих нервів визначали на кріостатних зрізах, пофарбованих по Шпільмайеру-Соколянському по кількості перетинів молодих новоутворених волокон з перпендикулярним їм відрізком прямої лінії стандартної довжини /В.И.Євсюков, 1965/. Діаметри регенеруючих мієлінових волокон вимірювали окуляр-мікрометром МОВ-1-15х при збільшенні мікроскопу 40х на напівтонких зрізах, пофарбованих толуїдиновим синім.

Всі кількісні дані, отримані в експериментах, оброблені методами варіаційної статистики /О.П.Минцер и соавт., 1982/. Будь-який показник та різниця між ними розцінювались як достовірні, якщо імовірність була меншою 5%, тобто $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

1. Морфологічні прояви порушень регенерації опромінених нервів

Регенерація периферійних нервів після їх механічної травми досить добре вивчена і постановка експериментів з "чистою" невротомією була необхідна як контроль для порівняльного аналізу її даних з даними регенерації після невротомії та гамма-опромінення, а також сумісного впливу гамма-опромінення і лазеропунктури на регенераційний процес в нервових стовбурах.

В ранні строки після невротомії /через 3 і 7 діб/ в опромінених нервах спостерігається затримка утворення сполучної тканини на кінцях перерізаних нервів в порівнянні з неопроміненим контролем. Вона складається з клітин крові - лімфоцитів, нейтрофілів,- і кров'яногр ексудату. Фібрілярні структури сполучної тканини в невеликій кількості виявляються через 7 діб після операції.

Безпосередня дія гамма-опромінення на нервові волокна проявляється появою реактивних і деструктивних змін в старих волокнах центральних відрізків. Вони набувають вигляду широких стрічок, в них виникають потовщення, локальні розволокніння нейрофібрил, спостерігається зернистий розпад і некроз волокон. Все це приводить до збільшення зони ретроградної дегенерації і формування слабких або нежиттєздатних осьових циліндрів. Новоутворені аксони дуже тонкі, їх мало, в рубці розміщуються хаотично, часто закінчуються затриманими або відторгнутими колбами росту.

Деструктивні зміни, які спостерігаються на світлооптичному рівні, підтверджуються електронномікроскопічними дослідженнями. В нервових волокнах центральних відрізків нервів відмічаються розшарування мембран мієлінових оболонок, утворення мієлінопо-

подібних фігур, дезорієнтація структур фібрілярно-тубулярного комплеку аксонів. Переважна більшість мітохондрій нейролемоцитів і аксоплазми повністю або частково зруйновані. В зернистій ендоплазматичній сітці спостерігається набрякання цистерн, їх розпад з утворенням вакуолей, зменшення числа рибосом. Більш резистентними до дії іонізуючої радіації є апарат Гольджі та лізосоми. Подібні зміни в нервових волокнах головного мозку при дії високих доз радіації відмічали в своїх дослідженнях Б.І.Давидов та співавт. /1991/. Безперечно, що руйнування мітохондрій та деструктивні зміни білоксинтезуючих органел приводять до гальмування новоутворення і росту молодих регенеруючих аксонів, в зв'язку з чим зменшується їх кількість та глибина вростання в рубець, що в цей час формується.

Невротомія веде до порушення транспорту речовин по аксонам, швидкість якого, як відомо, залежить від кількості в них нейрофібрил та мікротрубочок /R.I.Lasek, 1982; M.Schwalb, 1987/. В дослідах з опроміненням нервів ми відмічали не тільки зменшення фібрілярно-тубулярних структур в аксоплазмі, а і їх дезорієнтацію, що являється ще однією причиною гальмування росту аксонів. Крім того, в умовах впливу іонізуючої радіації збільшується частота виникнення варікозних потовщень в аксонах. Це зумовлено як перерозподілом аксоплазми в результаті її застою на кінцях регенеруючих аксонів, так і хаотичністю розміщення мікротрубочок і нейрофібрил /В.П.Бабминдра, 1983/.

На 20 добу досліду у всіх тварин спостерігається гарне сумішення відрізків регенеруючих нервів. Сполучна тканина оболонок центрального та периферійного відрізків нервів переходить в рубець, особливість якого є більш хаотичне, ніж у неопромінених тварин розміщення колагенових волокон, менша щільність клітинних елементів, серед яких багато клітин гематогенного походження. Но-

воутворені аксони рубця характеризуються різнокаліберністю, але переважають тонкі волокна. Вони часто мають звивистий хід, місцеві потовщення та великі затримані колби росту. Характерною ознакою регенеруючих опромінених нервів є утворення "радіаційних шпуль" та "стрічковидних комплексів", які описані раніше І.О.Жутаєвим /1984/. Обидва ці феномени спостерігаються у щурів, у морських свинок виявляються тільки "радіаційні шпулі". По морфологічним ознакам вони нагадують спіралі Перончито, але відрізняються від останніх тим, що намотка утворена тонкими волокнами дуже густа і формує декілька шарів. Ці утворення за розмірами більші звичайних спіралей Перончито і часто містять затримані колби росту. "Стрічковидні комплекси" на відміну від нервових стволиків, утворені настільки близько розташованими осьовими циліндрами, що індивідуальний хід їх прослідкувати неможливо.

В невромі опромінених тварин, як щурів так і морських свинок, на відміну від контрольних груп, відмічається відсутність мієлінових оболонок, що вказує на порушення процесів диференціювання нервових волокон. Такий висновок базується на вивченні препаратів пофарбованих по Шпільмайеру-Соколянському. Але електронномікроскопічний аналіз ультратонких поперечних зрізів дає можливість фіксувати початкові стадії формування мієлінових оболонок, коли мембрани мезаксона ще не щільно прилягають одна до одної, або утворюють дуже тонкий шар мієліну, який на світлооптичному рівні не виявляється. Кількість ламел в таких волокнах не більше 4-5. Необхідно відмітити, що мієлінові оболонки деяких новоутворених нервових волокон зазнають деструкції. Найчастіше деструктивні зміни спостерігаються в вузлах нервових волокон. Що до безмієлінових волокон, то вони мають меншу кількість осьових циліндрів, ніж такого типу волокна контрольних тварин.

В периферійних відрізках нервів опромінених тварин в цей

строк експерименту виявляється велика кількість нерезорбованих продуктів розпаду мієліну у вигляді шарів та овоїдів, наявність яких надалі перешкоджає вростанню в нього осьових циліндрів.

Порівняння щільності капілярної сітки та її архітектоніки в неврому гамма-опромінених та контрольних тварин, на тотальних препаратах налитих тушшю, свідчить про зменшення кількості капілярів на одиницю площі, яке веде до порушення трофіки новоутворених структур, пригнічення процесів біосинтезу в аксонах та клітинах глії, що надалі приводить до зниження темпів морфотворчих процесів. Руйнування і зменшення кількості мітохондрій та інших мембранних органел, які виявлені в наших експериментах, являються об'єктивними умовами для розвитку деструктивних процесів в нервових волокнах /H.Puski, 1980; Ф.З.Меерсон, 1981/.

Через 60 діб після невротомії периферійні відрізки нервів мають пучкову будову, але пучки в нервах опромінених тварин тонші, так як містять менше волокон. Візуальні спостереження підтверджуються кількісними та морфометричними дослідженнями. Щільність розміщення мієлінових нервових волокон в периферійних відрізках сідничних нервів морських свинок складає 8,03±0,09, а у контрольних тварин цей показник досягає 13,83±0,22 умовних одиниць, що на 42% більше, ніж в нервах опромінених тварин /P<0,05/. Цікаво відмітити, що в неврому цей показник відрізняється тільки на 25%. Це говорить про те, що значна частина волокон, не досягаючи периферійних відрізків, зазнає деструкції. Середній діаметр мієлінових нервових волокон в опромінених гамма-радіацією нервах морських свинок також знижується і становить 2,54±0,07 мкм, а у неопромінених - 3,76± 0,05 мкм /P<0,05/. Вивчення складу нервових волокон в периферійних відрізках нервів щурів та морських свинок і їх розподіл по групах /тонкі, середні та товсті/ показало, що при опроміненні переважають волокна тон-

кого калібру /87,5±0,77 і 90,1±1,47%/. Тут і далі: перший показник для щурів, другий – для морських свинок. У неопромінених тварин їх в середньому на 20% менше – 66,5±0,94% і 69,2±1,17% /P<0,05/. Товсті волокна зовсім відсутні в регенеруючих нервах опромінених тварин і складають приблизно однакову кількість у щурів і морських свинок контрольних груп тварин /3,4±0,05% і 3,2±0,06%/. Якщо врахувати, що в нервах інтактних тварин тонкі волокна складають 23,3±0,37% і 25,2±0,4%, середні 38,5±0,4% і 40,4±0,76%, товсті 38,2±0,36% і 34,3±0,18%, то стає зрозумілим, що в цей строк післятравматична регенерація нервів при "чистій" невротомії, і тим більше при невротомії після гамма-опромінення ще не закінчена. Навіть в цей термін експерименту в аксоплазмі виявляються вакуолізовані з пошкодженими кристами мітохондрії, мієлінові оболонки тонкі, часто утворюють бокові вирости або розшаровуються. В цитоплазмі багатьох нейролемоцитів зустрічаються мієліноподібні фігури, органели розвинуті слабо, більшість з них знаходиться в стані деструкції.

Отже, морфологічні та морфометричні дані свідчать про глибокі деструктивні зміни структур нервових стовбурів після їх місцевого гамма-опромінення та невротомії, які ведуть до затримки їх репаративної регенерації.

2. Вплив лазеропунктури на післятравматичну регенерацію опромінених нервів

Застосування лазеропунктури забезпечує прискорення всіх ланцюгів регенераторного процесу в периферійних нервах після їх гамма-опромінення. Реактивні явища в тканинних структурах нервів, які завжди виникають поблизу місця травми, до 20 доби досліду майже повністю зникають. Про це свідчить відсутність в центральних відрізках нервів волокон, які знаходяться в стані рет-

роградної дегенерації, а також продуктів розпаду мієлінових оболонок. Волокна центральних відрізків нервів шляхом термінальної та колатеральної регенерації утворюють численні нервові гілочки, які в області травми ідуть в різних напрямках, але потім швидко орієнтуються на периферійний відрізок і вростають в нього на досить значну відстань. Новоутворені аксони в невромі мають гладкі контури, рівномірну імпрегнацію, на всьому протязі однаковий діаметр і дуже рідко утворюють реккурентні гілочки. Реактивно змінених волокон набагато менше, ніж в нервах опромінених гамма-квантами тварин, а волокна з глибокими патологічними змінами майже не зустрічаються. Порушень морфогенезу аксонів у вигляді "радіаційних шпуль" та "стрічковидних комплексів" практично не спостерігається.

При фербуванні препаратів по Шпільмайеру-Соколянському мієлінові волокна виявляються не тільки в невромі, а і в периферійних відрізках, тобто процес мієлінізації у тварин цієї серії дослідів починається раніше і охоплює більшу кількість волокон ніж у тварин, які не підлягали лазеропунктурі. Валерівська регенерація в цей строк ще не закінчена, але кількість крапель жиру та овоїдів в периферійних відрізках нервів значно менша ніж у тварин, які підлягали тільки гамма-опроміненню.

Численні клітинні елементи невроми - фібробласти, нейролемоцити,- в достатній мірі диференційовані. В цитоплазмі фібробластів добре розвинута ендоплазматична сітка та комплекс Гольджі, клітинна поверхня має численні вирости. В усіх структурних елементах нервових волокон, поряд з деструктивно зміненими мітохондріями, виявляється велика кількість мітохондрій з нормальною будовою крист. Багато авторів відмічають, що найбільш загальним феноменом, який виникає в тканинах після лазерного опромінення, являється інтенсифікація тканинного дихання /А. Т. Пикулев, 1986:

Н. Д. Девятков и соавт., 1987; Н. Г. Самойлов, 1991/. Крім того, в аксоплазмі підвищується вміст нейрофібрил та мікротрубочок, розміщення яких характеризується більшою упорядкованістю. На активацію генетичного апарату клітин вказує збільшення долі еухроматину, кількості пор в каріотеці, розширення перинуклеарного простору.

В умовах сумісної дії на організм гамма-опромінення та лазеропунктури відбувається підвищення регенераторної здібності структур, які руйнуються, підсилюється внутрішньоклітинна регенерація, котра є необхідною умовою структурного гомеостазу /Д. А. Саркисов, 1987/. Підвищення пластичного та енергетичного обміну в клітинах, прискорення транспорту речовин в аксонах приводить до активації процесів регенерації нервів. Уже в цей строк виявляються волокна середнього калібру, а іноді навіть товсті волокна. Більшість з них покриті добре організованими мієліновими оболонками. Безмієлінові волокна, як правило, мають велику кількість осьових циліндрів.

В усіх досліджених ділянках регенеруючих нервів обох видів тварин спостерігається багато кровоносних судин. В місцях травми нервів новоутворені капіляри формують густу сітку, в невромі набирають поздовжньої орієнтації і утворюють капілярну сітку подібну по структурі до мікроциркуляторної сітки контрольної групи тварин. В ендотеліоцитах виявляються численні мікропіноцитозні пухирці, наявність яких вказує на активацію транспорту речовин. Відмічені вище позитивні зміни, приводять до збільшення кількості аксонів, росту їх діаметрів та товщини мієлінових оболонок.

Через 60 діб після операції в цій серії дослідів щільність мієлінових нервових волокон в периферійних відрізках сідничних нервів морських свинок складала 12,6±0,25 умовних одиниць, що дуже близько до показників контрольної групи тварин. Підрахунок

процентного вмісту мієлінових нервових волокон по групах свідчить про те, що при сумісній дії гамма-опромінення та лазеропунктури активно збільшується кількість волокон середнього калібру в порівнянні з тваринами, які підлягали тільки дії іонізуючої радіації. У щурів вони складали 25.6±0.47%, а у морських свинок 23.8±0.38%, це в 2 рази більше, ніж при гамма-опроміненні /P<0.05/. З'являються товсті волокна /4.3±0.06% і 2.9±0.07%/, 2.9±0.07%/, але як і в двох попередніх серіях дослідів, переважають тонкі волокна - їх 70.1±1.21% у щурів і 73.3±2.3% у морських свинок.

На ультраструктурному рівні відмічається щільне прилягання мембран мієлінових оболонок, збільшення числа осьових циліндрів в безмієлінових нервових волокнах. В аксоплазмі росте число структур фібрілярно-тубулярного комплексу, дрібних мітохондрій з щільно упакованими кристами та інших мембранних органел. Утворення нових структур підсилюється також і в клітинах глії та сполучної тканини.

Обговорюючи механізми впливу низькоінтенсивного лазерного опромінення на тканини організму, необхідно відмітити, що багато авторів відмічають інтенсифікацію роботи генетичного апарату клітин /Sesti H. et al., 1982; T.I.Karu, 1985/, активацію ферментних систем /А.С.Крюк, 1986; А.Т.Пикулев и соавт., 1991/ і що дуже важливо в нашому випадку, зниження перекисного окислення ліпідів та активацію антиоксидантних систем /С.М.Зубкова, 1981; В.И.Рузов, 1991/. Активація відновлюючих процесів, яку ми спостерігаємо в регенеруючих після гамма-опромінення та лазеропунктури нервах експериментальних тварин, ймовірно і являється результатом цих впливів. Про підсилення репаративної регенерації в скелетних м'язах в умовах сумісної дії гіпо- та гіперкінезії з лазеропунктурою є вказівки в роботах В.І.Козлова та М.Г.Самойло-

ва /1989/, а після їх пошкодження іонізуючою радіацією в роботах Ш.Г.Ільясової та співавт. /1983/. Автори вважають, що можливим механізмом підвищення здатності клітин відновлюватися від радіаційного пошкодження є активація дихання в клітинах та синтезу АТФ, яка приймає безпосередню участь в післярадіаційній репарації мембран та органел пошкоджених клітин..

Результати особистих досліджень вказують на те, що лазерне опромінення точок акупунктури, при роботі генератора у вибраному нами режимі, впливає перш за все на первинні ланцюги регенераторного процесу - інтенсивність синтезу білків та репродукцію субклітинних структур. І якщо в відростах нейронів активація цих процесів ними ж і обмежується, забезпечуючи новоутворення та ріст аксонів, то в інших елементах нервових стовбурів - нейролемоцитах та клітинах сполучної тканини,- цей же фактор викликає гіперплазію і гіпертрофію, внутрішньоклітинні процеси в яких забезпечують диференціювання нервових волокон і тим самим остаточне формування нервових провідників. Морфологічні та морфометричні дані наших експериментів однозначно свідчать про те, що використання лазеропунктури біологічно активних точок тіла після дії такого сильного пошкоджуючого фактора як іонізуюче опромінення сприяє збереженню структур та стимулює морфотворчі процеси в пошкоджених нервах, що в результаті забезпечує більш повну та швидку їх регенерацію.

ВИСНОВКИ

1. Одноразове місцеве гамма-опромінення сідничних нервів тварин в дозі 20 Гр за одну добу до операції викликає порушення перебігу репаративної регенерації, яке проявляється гальмуванням новоутворення, росту та мієлінізації аксонів. Затримка репаратив-

ної регенерації, обумовлена пошкоджуючою дією іонізуючої радіації як на сполучнотканинні структури нервових стовбурів, так і на нервові волокна. Післярадіаційні зміни формування сполучнотканинного рубця пов'язані зі зниженням проліферативної активності клітин та затримкою їх диференціювання. В нервових волокнах, крім реактивних змін спостерігаються деструктивні процеси - вакуолізація, фрагментація та некроз нервових волокон.

2. Найбільш чутливими структурами нервових волокон до пошкоджуючої дії іонізуючої радіації є мітохондрії та зерниста ендоплазматична сітка аксонів та нейролемоцитів. Під дією гамма-опромінення вони набрякають і руйнуються з утворенням мієліноподібних тілець, що приводить до локального порушення енергетичного та пластичного обмінів. Інтенсивне руйнування ультраструктурних елементів нервових стовбурів спостерігається до 20 доби експериментів, після чого починається поступова нормалізація їх структурної організації.

3. В периферійних відрізках регенеруючих після гамма-опромінення сідничних нервів обох видів тварин через 60 діб після операції переважають тонкі мієлінові волокна. Їх в середньому на 20% більше ніж в контролі. Цей факт, а також відсутність товстих волокон свідчать про порушення їх диференціювання.

4. Встановлена відсутність видових відмінностей в спрямованості змін, які викликає іонізуюча радіація. Але відновлення нервових стовбурів у морських свинок проходить повільніше, що обумовлено більш складною будовою нервів у цього виду тварин.

5. Застосування лазеропунктури біологічно активних точок гальмує руйнування структур нервових стовбурів після їх гамма-опромінення і стимулює морфотворчі процеси. Сильний розвиток судин мікроциркуляторного русла, гіперемія, підвищення мітотичної активності клітин забезпечує швидке утворення рубця, активне і пов-

не очищення периферійних відрізків регенеруючих нервів від продуктів розпаду мієліну та глибоке вростання новоутворених волокон на периферію.

6. Лазерне опромінення біологічно активних точок сприяє більш ранньому диференціюванню нервових волокон після їх невротомії та гамма-опромінення. Через 20 діб досліду в периферійних відрізках регенеруючих сідничних нервів тварин, спостерігаються волокна середнього калібру, які мають добре розвинуті мієлінові оболонки.

7. Морфометричні показники діаметрів нервових волокон та їх розподіл по групах /тонкі, середні та товсті/ в регенеруючих сідничних нервах експериментальних тварин, які підлягали гамма-опроміненню та лазеропунктурі, через 60 діб після операції наближаються до показників контрольної групи тварин.

8. Режим роботи генератора, який використовувався в наших експериментах /довжина хвилі 638.2 нм, щільність потужності 25мВт/см , експозиція на одну точку 15 с/ забезпечує інтенсифікацію обмінних процесів та мікроциркуляції в регенеруючих нервах, що приводить до скорочення строків їх регенерації.

9. Отримані дані можуть бути використані в радіобіології, неврології, нейрохірургії, рефлексотерапії та інших галузях медицини при виборі тактики лікування пошкоджень периферійних нервів.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Влияние ионизирующего облучения на восстановление поврежденного нервного ствола //Вестник проблем современной медицины.- 1994.- №.- С. 32-34.

2. Посттравматическая регенерация периферического нерва в условиях лазеропунктуры //Вестник проблем современной медици-

ны.-Харьков,1995.-N6.-С.21-23.

3. Морфологічні прояви дії іонізуючої радіації та лазеропунктури в регенеруючому периферійному нерві //Український радіологічний журнал.-1996.-N1.-С.36-39.

4. Разработка автоматизированной системы оценки состояния клеточных элементов нервного ствола //Тезисы докл. II съезда анатомов, гистологов, эмбриологов и топографоанатомов УССР.- Полтава, 1985.-С.68, /в соавтор./.

5. Влияние ионола /дибунола/ на элиминацию лучевых нарушений регенераторных свойств нервного ствола //Тезисы докл. II съезда анатомов, гистологов и топографоанатомов УССР.- Полтава, 1985.-С.69, /в соавтор./.

6. Влияние антиоксидантов на рост и дифференцировку регенерирующих нервных волокон //Тезисы докл. X Всесоюзного съезда анатомов, гистологов, эмбриологов и топографоанатомов.- Винница, 1986.- С.125-126, /в соавтор./.

7. Зависимость течения репаративного процесса в периферическом нервном стволе от антиоксидантной обеспеченности организма //Тезисы докл.II Всесоюзной конференции "Биоантиоксидант".-Черноголовка, 1986.-Т.1.- С.122-123, /в соавтор./.

8. Структурная перестройка микроциркуляторного русла регенерирующего седалищного нерва крыс /Тези доповідей I Національного конгресу анатомів, гістологів та топографоанатомів України.-Івано-Франківськ, 1994.- С.63,/в соавтор./.

9. Особенности сочетанного влияния разных видов излучений на организм //Материалы I Международного конгресса по интегративной антропологии 23-25 сентября, Украина.-Тернополь,1995.-С.293.

Еремина Н.Ф. Особенности восстановления структуры периферических нервов в условиях влияния на организм иснизирующ[illegible] и

лазерного облучения.

Рукопись. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.11 - эмбриология, гистология и цитология, Киевский университет имени Тараса Шевченко, Киев, 1995.

Защищается диссертация и 9 опубликованных научных работ, которые содержат результаты изучения влияния местного гамма-облучения и сочетанного действия гамма-облучения и лазеропунктуры на репаративную регенерацию периферических нервов. Установлено, что ионизирующая радиация нарушает восстановительные процессы в периферических нервах. В основе этих нарушений лежит повреждение мембранных органелл аксонов, клеток глии и соединительной ткани. Лазеропунктура оказывает на регенерирующие после гамма-облучения нервы структуросохраняющее и стимулирующее морфообразовательные процессы действие. Полученные результаты позволяют рекомендовать использовать лазерную рефлексотерапию для стимуляции посттравматической регенерации периферических нервов.

Yeryomina N.F. Peculiarities of structure restoration of peripheral nerves in the condition of influence of ionising and laser irradiation.

Manuscript. Thesis for a candidat degree in biology on speciality 03.00.11. - embryology, histology and cytology. Kiev University named after Taras Shevchenko, Kiev, 1995.

Thesis and 9 published scientific works, which contain the results of the studies of the influence of local gamma-irradiation and combined action of gamma-irradiation and laserpunctura on reparative regeneration of peripheral nerves were ascertain. It was also determined that ionising irradiation disturbs restorative processes in peripheral nerves. Damage of

membrane organellas axones, glial cells and connective tissues lie in the basis of breach. Laserpunctura influences on regenerating after gamma-irradiation nerves structure preserving and stimulating morphoforming processes of action. The reseived data allow to use laser reflexotherapy for stimulation of posttraumatic regeneration of peripheral nerves.

Ключові слова: морфологія, сідничні нерви, регенерація, іонізуюче опромінення, лазеропунктура.

Підписано до друку 25.01.96р. Формат 60х84 1/16. Папір друкарський.
Друк офсетний. Умовн. друк. арк. 1. Замовлення 87 . Тираж 100.
Безкоштовно. Дільниця оперативного друку статистичного управління
Полтавської області . м. Полтава, вул. Пушкіна, 103.