

УДК:611.835.8-57.086.13:576.2:616-092.41.9

Морфология седалищного нерва после локального криовоздействия

А.И. Продан, Л.М. Бенгус, А.А. Сиренко

ГУ «Институт патологии позвоночника и суставов им. проф. М.И. Ситенко АМН Украины», Харьков

A disturbance in the structural organization of the sciatic nerve in conditions of local cryotherapy is accompanied by a pronounced fragmentation of nerve fascicles and fibres, and a mass destruction of axis cylinders with a rather high preservation of the myelin coating. The expressiveness of the destruction, which passes like Waller's degeneration, increases by day 10 after cryotherapy. Following 1 month after the above therapy, the sciatic nerve revealed a local manifestation of reparative processes, which increased by the 6th month of the observation. The regeneration morphologically manifested itself by the presence of a large number of axons and their collaterals, which grew into the distal nerve. The newly formed nerve fibres had a thin myelin coating. Destructive changes in the sciatic nerve were also registered 6 months after the cryotherapy.

Порушення структурної організації сідничого нерва в умовах локального кріовпливу супроводжується вираженою фрагментацією нервових пучків і волокон, масовим руйнуванням осьових циліндрів з досить високим збереженням мієлінового покриття. Вираженість деструкції, що перебігає за типом Уоллерівської дегенерації, зростає до 10-ї доби після кріовпливу. У сідничому нерві через 1 місяць після кріовпливу відзначено локальний прояв репаративних процесів, що підсилюються до 6 міс спостереження. Морфологічно регенерація виявляється наявністю великої кількості аксонів і їх колатералей, що проростають у дистальний відділ нерва. Новоутворені нервові волокна мають тонку мієлінову оболонку. Деструктивні зміни в сідничому нерві зафіксовано і через 6 міс після кріовпливу.

Ключевые слова: седалищный нерв, криовоздействие, морфология

Введение

Одним из эффективных современных малоинвазивных способов устранения болевого синдрома при дистрофически-деструктивных заболеваниях позвоночника является денервация дугоотростчатых суставов [1–3]. Однако спустя несколько месяцев после подобной операции часть пациентов снова начинают испытывать боль. Предполагают, что рецидивы спондилоартралгии связаны с восстановлением нервной проводимости в результате регенерации нервных волокон медиальных веточек задних ветвей спинномозговых нервов [4] или с образованием невром [1, 2]. Возможно, что применяемые способы денервации, будь то радиочастотное воздействие, лазерная [5] либо электрокоагуляционная денервация [1, 2, 6, 7], не являются достаточными для обеспечения надежной деструкции нерва.

Известно также, что продуцируемые дегенерирующими клетками дугоотростчатых суставов

цитокины, в том числе фактор роста нервов, способны не только сенсibiliзировать существующие нервные окончания и веточки, но и стимулировать их прорастание [8]. Экспериментальных же работ, касающихся причин рецидивов спондилоартралгии после денервации дугоотростчатых суставов, в настоящее время не имеется. В единственном экспериментальном исследовании R.Podhajsky et al. [9] были представлены гистологические изменения в седалищных нервах и поясничных спинномозговых узлах спустя 2, 7 и 21 день после термального или радиочастотного воздействия. В связи с этим актуальной проблемой современной ортопедии и травматологии являются поиск и разработка путей и способов, препятствующих регенерации нервных волокон после их денервации и формированию невром.

С этой целью нами была разработана экспериментальная модель денервации нервного ствола

седалищного нерва белых лабораторных крыс, позволяющая оценить разносторонние, в том числе и морфологические, аспекты реактивного ответа нервной ткани на разных сроках после криовоздействия, включая отдаленные. В плане адекватности данной модели следует отметить, что действительно существует определенная аналогия в функциональных свойствах седалищного и спинномозгового нервов, так как оба они являются периферическими нервами смешанного типа [10–12].

Цель настоящего исследования — на основе морфологического анализа изучить в динамике (через 6 часов, 1, 3, 10 суток, 1, 3 и 6 мес) особенности структурной организации седалищного нерва белых крыс после его травматического повреждения путем локального криовоздействия.

Материал и методы

Работа выполнена на 28 белых лабораторных крысах популяции экспериментально-биологической клиники ГУ «ИППС им. проф. М.И. Ситенко АМН Украины». После обработки операционного поля раствором 3% йода выполняли линейный разрез кожи длиной 0,7 см, ниже и латеральнее крестцово-подвздошного сочленения и тазобедренного сустава. Фасцию и большую ягодичную мышцу не рассекали. Повреждение седалищного нерва было закрытого типа. Его осуществляли аппаратом «Мороз–ММ-1» и криодеструктором, разработанным в ИППС им. проф. М.И. Ситенко [13, 14]. Рабочую часть криодеструктора помещали в рану в проекции ствола седалищного нерва, плотно прижимали к костно-мышечным структурам с последующей экспозицией хладагента (паров жидкого азота) в течение 30 секунд. При этом на конце криодеструктора образуется сфера намораживания диаметром 3 мм. Температура воздействия составляла -160° – -180° С.

Из эксперимента животных выводили поэтапно — через 6 час (3 крысы), через 1, 3 и 10 суток (4 крысы), через 1 мес (3 крысы), через 3 мес (7 крысы) и спустя 6 мес (3 крысы) после криовоздействия. При работе с животными руководствовались международными стандартами по биоэтике [15].

Отпрепарированный седалищный нерв использовали для морфологического исследования. Материал фиксировали в 10% нейтральном формалине. После дегидратации в серии спиртов возрастающей концентрации материал заключали в целлоидин. Гистологические срезы, толщиной 5–7 мкм, окрашивали, используя специальную методику импрегнации нервных волокон серебром по Большовскому [16].

Микроскопическое исследование материала осуществляли с помощью бинокулярной лупы «МБС-9» (ув. 16) и светового микроскопа «Micros» (ув. 40, 100, 400, 1000). Фотоотпечатки препаратов изготавливали с помощью цифровой фотокамеры «Canon EOS-300 D».

Результаты и их обсуждение

6 часов после криовоздействия. Деструктивные изменения максимально выражены в центральной области нервного ствола. Нервные волокна имеют переменную ширину на своем протяжении, на участках отмечено наличие варикозных утолщений аксонов. Большинство нервных волокон покрыто миелиновой оболочкой. Однако нередко имеют место оголенные участки аксонов. Осевые цилиндры часто набухшие, отечные, на участках — переменные по ширине.

Неравномерная импрегнация аксонов и варикозные их утолщения особенно отмечены в нервных пучках, расположенных поверхностно. Встречаются участки вакуолизации аксонов. В большинстве волокон структура миелина нарушена. В значительной части нервных волокон миелиновая оболочка локально гиперхроматична. Перехваты Ранье определяются нерегулярно, часто отсутствуют вовсе.

Вблизи перехватов Ранье встречаются большие шарообразные или овальные включения интенсивной окраски. Толщина миелинового покрытия в одном и том же волокне переменна — от истонченного до утолщенного (результат набухания сегментов миелиновой оболочки). Ячеистая структура миелина нарушена — от нечеткости насечек Шмидта-Лантермана до полного их исчезновения /«расплавление» миелина и утрата его ячеистой структуры/ (рис. 1 а).

Нервный ствол имеет неравномерную ширину — на участках он истончен, местами прерывистый. На большей протяженности нерва определяются выраженные деструктивные изменения, а в центральной части локализована обширная полость деструкции, заполненная отечной жидкостью (рис. 1 б).

1 сутки после криовоздействия. Пучки нервных волокон седалищного нерва находятся в состоянии контракции, что является ответом нерва на криовоздействие. Сами пучки извитые, имеют спиралевидную форму. Нейрофибриллы разобщены, фрагментированы, часть из них имеет хаотичное неупорядоченное расположение (рис. 1 в).

Нервные волокна в области перехватов Ранье булавовидно утолщены. Аксоны на участках сплетения волокон набухшие, утолщенные, имеют

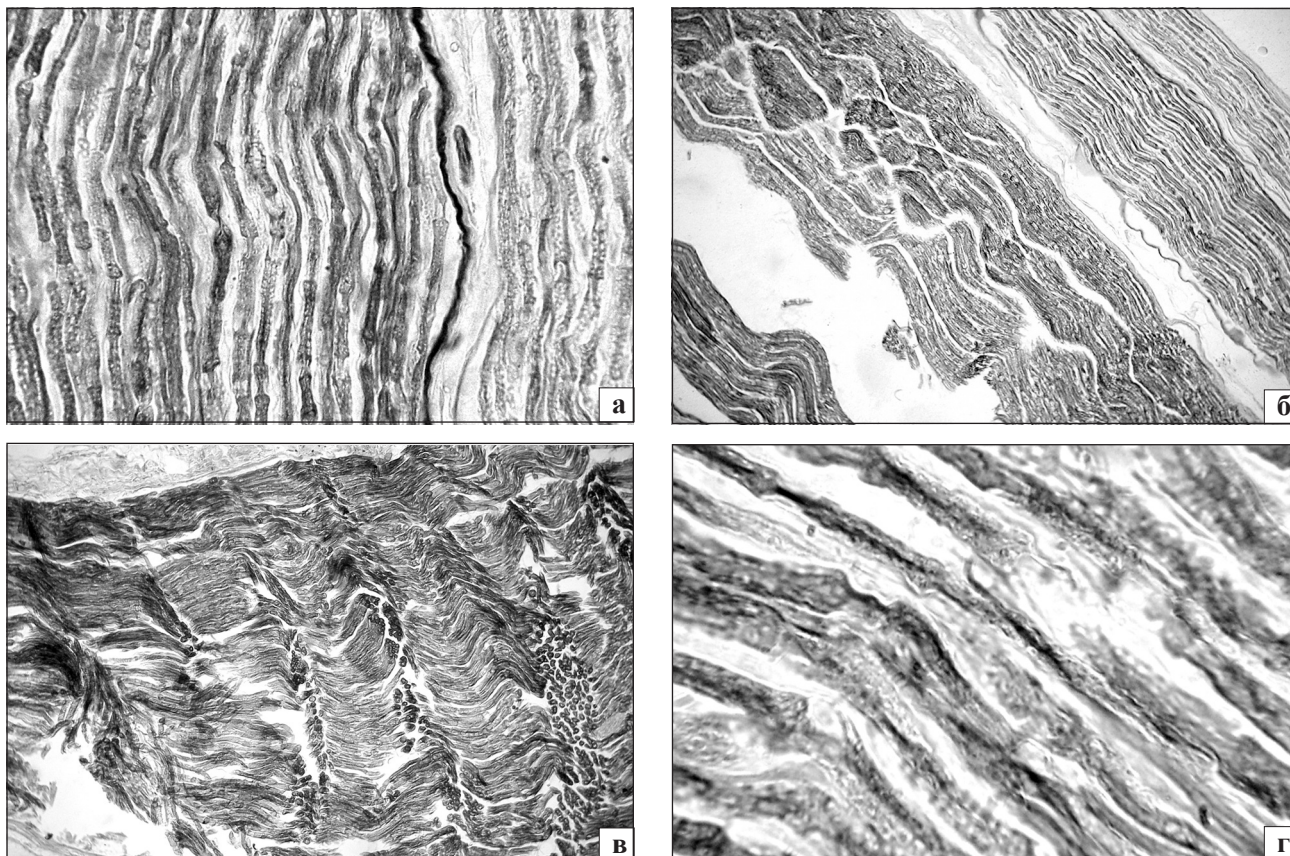


Рис. 1. Микрофото седалищного нерва крысы: а) нечеткость контуров нервных волокон. Нерегулярность протяженности миелинового покрытия между перехватами Ранвье. “Расплавление” миелина. Фрагментация и утолщение осевых цилиндров. Импрегнация серебром по Большовскому. Ув. 400; б) выраженная фрагментация нервных пучков и волокон. Обширная полость деструкции в центральной части нерва. Явления отека в области эпи-, периневрия. Импрегнация серебром по Большовскому. Ув. 100; в) контрактильные изменения нервных пучков. Спиралевидная форма нервных волокон. Области хаотичного расположения нервных волокон. Импрегнация серебром по Большовскому. Ув. 100; г) вариабельность толщины и смазанность контуров нервных волокон. Булавовидные утолщения нервных волокон в областях, прилежащих к перехватам Ранвье. Импрегнация серебром по Большовскому. Ув. 1000

вариабельную ширину. Протяженность миелинового покрытия между перехватами Ранвье вариабельна. Структура мягкотной оболочки в значительной части волокон нарушена, ячеистое строение не определяется, аргирофилия миелина повышена (рис. 1 г). Сходные морфологические изменения были отмечены авторами [17, 18] при изучении вторичной дегенерации периферических нервов.

В более глубоко расположенных слоях нервного ствола в миелиновых волокнах встречаются короткие фрагменты аксонов. Однако преобладающее большинство нервных волокон не содержит осевых цилиндров. Наблюдается вакуолизация нервных волокон. Толщина миелинового покрытия неравномерна, изредка встречаются эллипсообразные фрагменты миелина.

3 суток после криовоздействия. Отмечено прогрессирование явлений деструкции нерва, протекающей по типу Уоллеровской дегенерации. Деструктивные изменения максимально выраже-

ны в нервных волокнах, прилежащих к области криовоздействия. Их интенсивность усиливается по мере приближения к зоне воздействия. Большинство толстых и средних аксонов фрагментировано, остальные имеют вариабельную толщину и деформированные контуры. На значительном протяжении нервные волокна не содержат аксонов.

В миелиновых оболочках имеет место значительная выраженность деструктивных изменений. Определяется нарушение четкости тонкой ячеистой структуры миелина. Локально отмечены овальные глыбки миелина (рис. 2 а).

Местами обнаруживаются волокна с мало измененной структурой. Выраженность явлений дегенерации нерва снижается в проксимальном и дистальном направлениях от места криовоздействия.

10 суток после криовоздействия. Через 10 суток после криовоздействия на фоне значительного отека эпи-, пери- и эндоневрия имеют место вы-

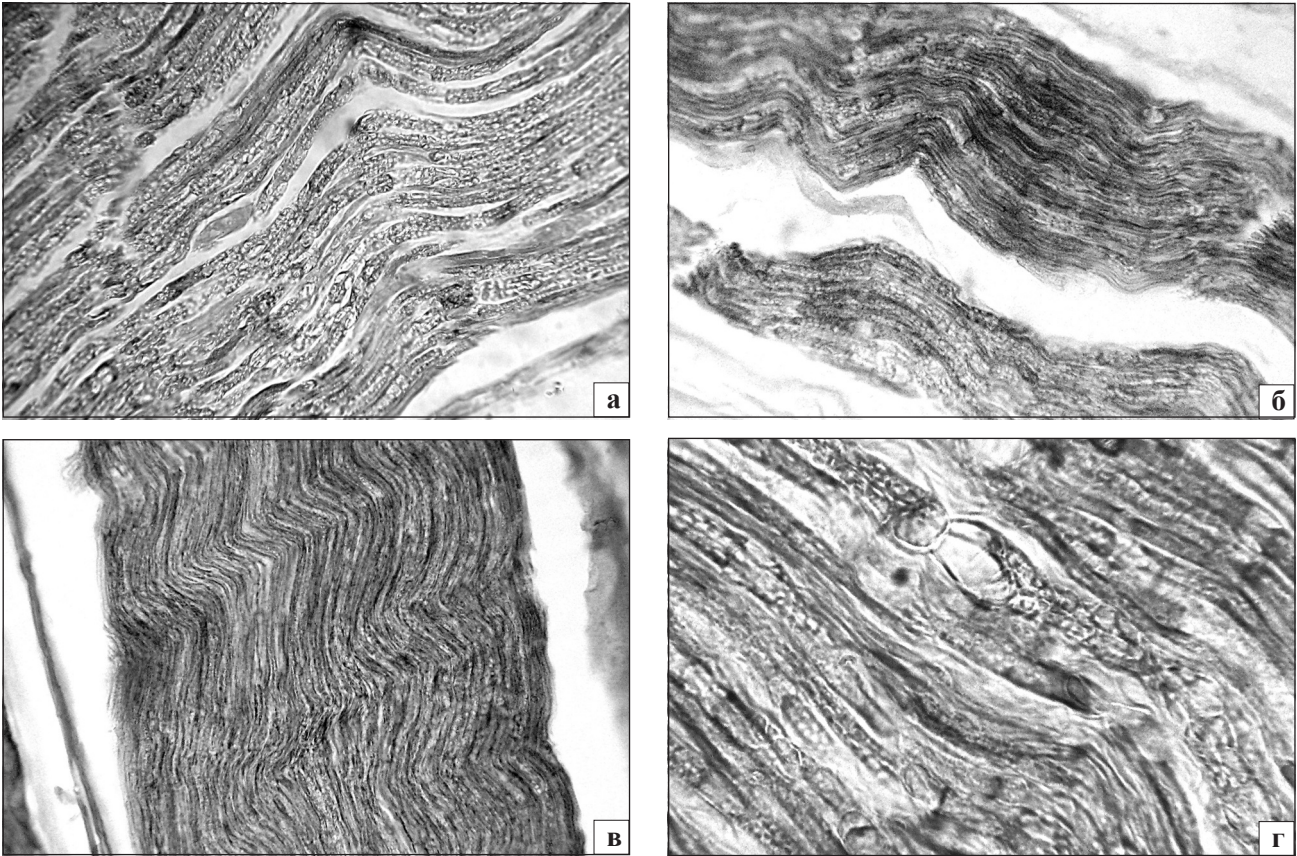


Рис. 2. Микрофото седалищного нерва крысы: а) утолщенные полихроматичные аксоны и их фрагменты. Пустые футляры миелина с нарушением четкости ячеистой структуры. Глыбчатый распад миелина. Импрегнация серебром по Большовскому. Ув. 1000; б) значительная плотность аксонов и их коллатералей в наружном пучке нервного ствола. Вариабельность длины, толщины и аргирофилии новообразованных аксонов. Импрегнация серебром по Большовскому. Ув. 400; в) высокая плотность новообразованных миелинизированных нервных волокон в центральной части нерва. Осевые цилиндры — в виде тонких и утолщенных аксонов. Миелиновая оболочка тонкая. Импрегнация серебром по Большовскому. Ув. 400; г) терминальный отдел дистальной части нервного ствола. Фрагментация, интенсивная гиперхроматизация, расплавление миелина, овоиды и эллипсоиды. Импрегнация серебром по Большовскому. Ув. 1000

раженные деструктивные изменения нервных волокон, протекающие по типу нисходящей Уоллеровской дегенерации с максимальным проявлением в дистальной части нерва. В проксимальной части нерва отмечено наличие большого количества миелиновых оболочек без осевых цилиндров.

1 месяц после криовоздействия. В седалищном нерве белых крыс через 1 месяц после локального криовоздействия преобладают деструктивные процессы с их манифестацией в центральной и дистальной областях (фрагментация пучков нервных волокон, обширные зоны лизиса нейрофибрилл, заполненные тканевой жидкостью, вакуолизация миелина, образование овоидов и эллипсоидов, значительный отек эпи- и периневрия). В центральном и периферическом отделах нервного ствола отмечены локальные проявления репаративных процессов нерва /ветвление аксонов и их коллатералей в поверхностно расположенных отделах нерва, локусы миелина на осевых цилиндрах/ (рис. 2 б).

В проксимальном отделе нервного ствола массово присутствуют миелиновые футляры без осевых цилиндров.

3 месяца после криовоздействия. В периферическом отделе нервного ствола отмечена высокая плотность извитых аксонов разного калибра. Встречаются также миелинизированные нервные волокна, однако слой миелина на них тонкий.

В проксимальной и центральной части нерва обнаруживается большое количество новообразованных миелинизированных нервных волокон. Осевые цилиндры таких волокон представлены тонкими и утолщенными аксонами (рис. 2 в). Миелиновая оболочка тонкая. Между нервными волокнами обнаруживаются соединительнотканые прослойки эндоневрия.

Многочисленные тяжи толстых хорошо импрегнированных и тонких ветвящихся аксонов прорастают из центральной части нервного ствола в проксимальную и дистальную область нерва.

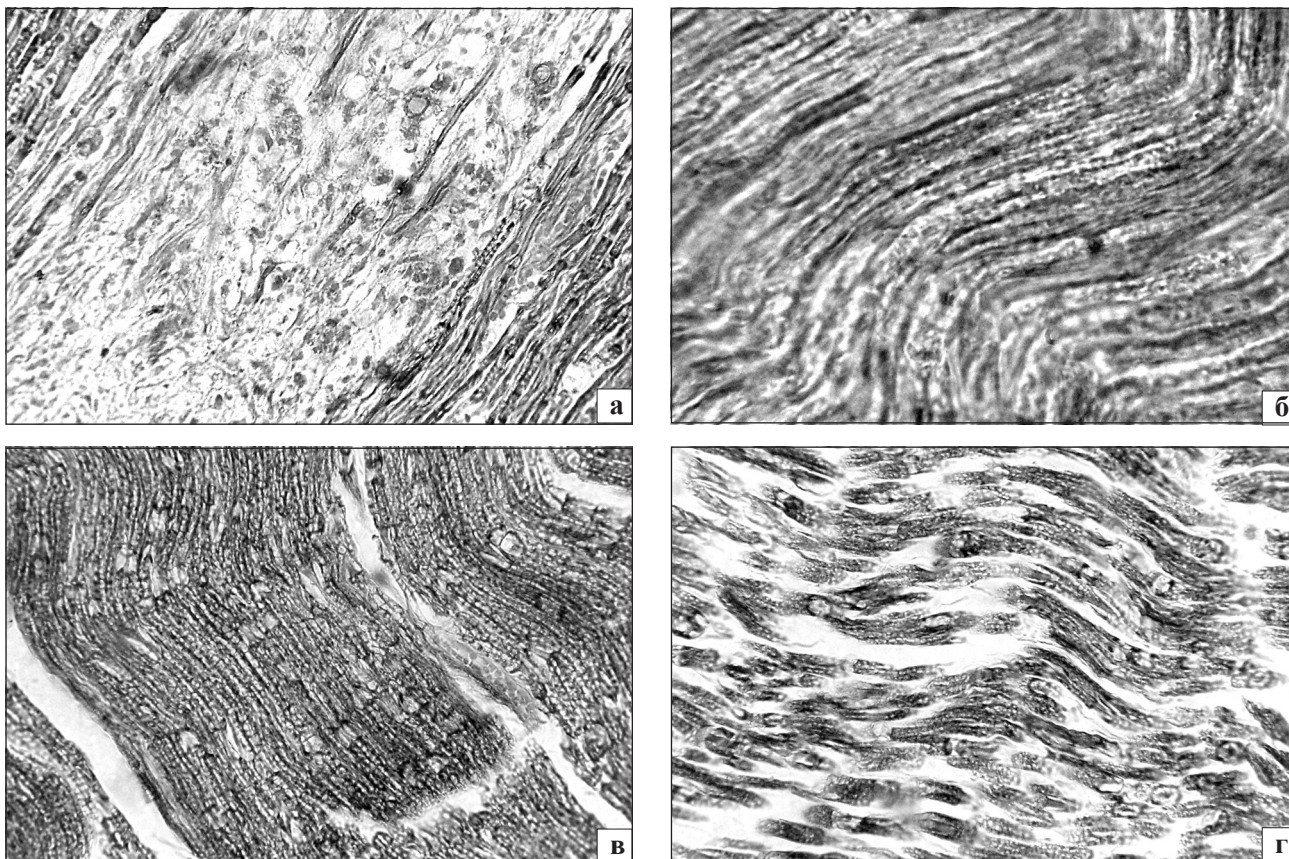


Рис. 3. Микрофото седалищного нерва крысы: а) область соединительнотканной метаплазии нервного ствола. Единичные фрагменты миелиновых волокон без осевых цилиндров. Импрегнация серебром по Большовскому. Ув. 1000; б) высокая плотность новообразованных аксонов переменной толщины и импрегнации в центральном отделе нервного ствола. Импрегнация серебром по Большовскому. Ув. 1000; в) новообразованные миелиновые волокна с тонким слоем миелина. Капилляр периневрия с эритроцитами. Импрегнация серебром по Большовскому. Ув. 400; г) выраженные деструктивные изменения нервных волокон в терминальном отделе нервного ствола. Импрегнация серебром по Большовскому. Ув. 400

Наиболее высокая плотность аксонов и их коллатералей переменной толщины и миелинизации определяется в наружных пучках нервного ствола, где имеет место интенсивная аргирофилия осевых цилиндров. Аксоны крупного калибра, как правило, содержат тонкую миелиновую оболочку.

Однако на данный срок исследования значительная часть нервных волокон имеет нарушения структурной организации миелина: фрагментация и вакуолизация. В большинстве миелиновых волокон, не содержащих аксоны, насечки Шмидта-Лантермана не имеют четкости и регулярности расположения или же не определяются. Дистальная часть нервного ствола (терминальный отдел) содержит наиболее выраженные деструктивные изменения: фрагментация миелина с интенсивной его гиперхромазией, расплавление миелина, овоиды и эллипсоиды (рис. 2 г). Встречаются области, где нервные волокна замещены соединительной тканью (гиперплазия эндо- и периневрия). На таких участках кое-где располагаются фрагменты миелиновых волокон без осевых цилиндров (рис. 3 а).

6 месяцев после криовоздействия. Через 6 мес после локального криовоздействия на преобладающей территории седалищного нерва белых крыс (проксимальный, центральный и значительная часть дистального отдела) отмечены признаки активизации репаративных процессов в виде высокой плотности аксонов и их коллатералей, а также молодых новообразованных нервных волокон различной степени миелинизации (рис. 3 б).

На большей части нервного ствола отмечена его выраженная невротизация (обильное плотное прорастание аксонов) с образованием молодых нервных волокон, интенсивно импрегнированных серебром. Определяются ветвящиеся прорастающие аксоны и нервные волокна, имеющие различную степень миелинизации. В поверхностно расположенных пучках нервных волокон присутствует большое количество аксонов разной толщины и новообразованные миелиновые волокна, преимущественно с тонким слоем миелина (рис. 3 в).

Более глубокие слои нервного ствола содержат фрагментированные нервные волокна и пучки, при-

сутствуют тяжи миелина с явлениями деструкции. В терминальных окончаниях дистального отдела нерва имеют место значительные деструктивные изменения (рис. 3 г).

Следует отметить, что после применения криовоздействия, которое осуществляли на область седалищного нерва, процессы дегенерации нерва не имеют четкой локализации. Преимущественно они диффузно распределены на протяжении нервного ствола. Поэтому и регенерация имеет место не на каком-то определенном участке, а повсеместно — от перехватов Ранвье отходят новообразованные ветвящиеся аксоны и их коллатерали. Поскольку характерной особенностью дегенерации при криовоздействии является высокая сохранность миелиновых оболочек, то именно они выступают в роли направляющих путей для регенерирующих аксонов.

При локальном криовоздействии на седалищный нерв, в отличие от ранее представленных данных по его электрокоагуляции [19,20], не образуется соединительнотканый рубец в зоне травматического воздействия. В связи с этим вероятность образования невром, являющихся источником спондилоартралгии у больных с дегенеративными заболеваниями позвоночника [1,2], крайне низкая, что и подтвердило настоящее исследование.

Обнаруженная нами регенерация аксонов в нервном стволе через 3 и 6 месяцев после криовоздействия имеет направление от поверхностных отделов седалищного нерва к глубоким. Это можно объяснить тем, что из эпинеурия и соединительной ткани вокруг периферических нервов в участки деструкции нерва прорастают кровеносные сосуды, являющиеся источником недифференцированных клеток (перипитов и адвентициальных клеток), которые затем могут дифференцироваться в нейрореммоциты, пролиферация которых обеспечивает в дальнейшем регенерацию аксонов. Известно, что стимуляция процесса миелинизации новообразованных аксонов включает активизацию синтетической и пролиферативной деятельности шванновских клеток [21]. Следует заметить, что о достоинствах локального криовоздействия на пролонгирование сроков и оптимизацию регенерации седалищного нерва (с возможностью дальнейшей частичной экстраполяции экспериментальных данных в клинику) можно будет говорить лишь в том случае, когда мы научимся четко прогнозировать сроки его денервации и активность процессов регенерации. В настоящее же время авторы не могут рекомендовать локальное криовоздействие для стойкой денервации дугоотростчатых суставов.

Криовоздействие может быть использовано лишь в качестве способа пролонгирования денервации. Однако для клинического применения метода необходимы дальнейшие исследования.

Выводы

Нарушения структурной организации седалищного нерва в условиях локального криовоздействия сопровождаются выраженной фрагментацией нервных пучков и волокон в области повреждения, массовым разрушением осевых цилиндров с достаточно высокой сохранностью миелиновых оболочек. Выраженность деструкции, протекающей по типу Уоллеровской дегенерации, нарастает к 10 суткам после криовоздействия.

В седалищном нерве через 1 месяц после криовоздействия отмечено локальное проявление репаративных процессов, усиливающихся к 6 мес наблюдения. Явления регенерации проявляются в обилии ветвящихся аксонов и их коллатералей, прорастающих в дистальную часть нерва. Новообразованные нервные волокна имеют тонкую миелиновую оболочку. Однако деструктивные изменения в седалищном нерве зафиксированы и через 6 мес после криовоздействия.

Перспективы дальнейших исследований

Представляет научный интерес изучение не только динамики нарушений структурной организации седалищного нерва после локального криовоздействия, но и особенностей реактивного ответа денервированных тканей, что, в свою очередь, позволит глубже проникнуть в сущность процесса.

Литература

1. Радченко В. А. Диагностика и лечение артроза дугоотростчатых суставов при поясничном остеохондрозе [Текст]: автореф. дис... канд. мед. наук: 14.00.22 / Владимир Александрович Радченко; ХНИИОТ им. проф. М.И. Ситенко. — Х., 1988. — 27 с.
2. Радченко В. А. Диагностика и лечение артроза дугоотростчатых суставов при поясничном остеохондрозе [Текст]: дис... канд. мед. наук / В.А. Радченко; ХНИИОТ им. проф. М.И. Ситенко. — Х., 1988. — 211 с.
3. Поясничный спондилоартроз [Текст] / А.И. Продан, В.А. Радченко, Г.Х. Грунтовский, А.Ю. Пашук. — Харьков: Основа, 1992. — 107 с.
4. Schofferman J. Effectiveness of repeated radiofrequency neurotomy for lumbar facet pain [Text] / J. Schofferman, G. Kine // Spine. — 2004. — Vol. 29, № 21. — P. 2471–2473.
5. Сак Л.Д. Фасетный синдром позвоночника: клинико-диагностическая структура и малоинвазивные методики лечения [Текст] / Л.Д. Сак, Е.Х. Зубарев, М.В. Шеметова. — Магнитогорск, 2001. — 100 с.
6. Радченко В.А. Лечебные блокады при деструктивно-дистрофических заболеваниях поясничного отдела позвоночника с использованием кортикостероидов [Текст] / В.А. Радченко // Ортопед. травматол. — 2000. — № 3. — С. 116–120.
7. Радченко В. А. Оптимизация хирургической тактики и

- техники операций при дистрофических заболеваниях поясничного отдела позвоночника [Текст]: автореф. дис... докт. мед. наук: 14.01.21 / Владимир Александрович Радченко; ХНИИОТ им. проф. М.И. Ситенко. — Х., 1996. — 44 с.
8. **Characterization of sensory DRG neurons innervating the lumbar facet joints in rats** [Text] / T. Ishikawa, M. Miyagi, S. Ohtori et al. // *Eur. Spine J.* — 2005. — Vol. 14. — P. 559–564.
 9. The histologic effects of pulsed and continuous radiofrequency lesions at 42 (degrees) C to rat dorsal root ganglion and sciatic nerve [Text] / R. Podhajsky, Y. Sekiguchi, S. Kikuchi, R. Meyers // *Spine.* — 2005. — Vol. 30, № 9. — P. 1008–1013.
 10. Антонен Е.Г. Спинальный мозг (анатомо-физиологические и неврологические аспекты): учебное пособие. — [Электронный ресурс]. — Режим доступа: www.karelia.ru.
 11. Сапин М.Р. Анатомия человека. Т. 3 [Текст] / М.Р. Сапин, Д.Б. Никитюк. — М., 1998.
 12. Материалы сайта medicininform.net
 13. Пат. 57576 (А) Україна, МПК⁷ А 61 В 18/02. Кріодеструктор [Текст] / Продан О.І., Сіренко О.А.; заявник і патентовласник ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М.І Ситенка АМН України». — № 2002097148; заявл. 03.09.2002; опубл. 16.06.2003, Бюл. №6.
 14. Пат. 57652 (А) Україна, МПК⁷ А 61В 18/02. Пристрій для кріодеструкції [Текст] / Продан О.І., Сіренко О.А.; заявник і патентовласник ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М.І Ситенка АМН України». — № 2002097149; заявл. 03.09.2002; опубл. 16.06.2003, Бюл. №6.
 15. European convention for protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose [Text]: Council of Europe, 18.03.1986. — Strasbourg, 1986. — 52 p.
 16. Саркисов Д.С. Микроскопическая техника для врачей и лаборантов [Текст] / Д.С. Саркисов, Ю.Л. Перова // М., Медицина, 1996. — 542 с.
 17. Боровский М.Л. Регенерация нерва и трофика [Текст] / М.Л. Боровский. — Изд-во Акад. мед. наук. — М., 1952. — 224 с.
 18. Фалин Л.И. Некоторые спорные вопросы морфологии и физиологии вторичной дегенерации периферических нервов [Текст] / Л.И. Фалин; Гос. изд-во мед. л-ры. — М., Медгиз, 1954. — С. 98.
 19. Морфологічні зміни сідничного нерва після його ушкодження шляхом електрокоагуляції (експериментальне дослідження) [Текст] / О.І. Продан, Л.М. Бенгус, О.А. Сіренко, А.І. Попов // *Наук. вісн. Ужгородського ун-ту.* — 2007. — Вип. 32. — С. 149–152: (Серія “Медицина”).
 20. Бенгус Л.М. Характеристика морфологических изменений седалищного нерва при его повреждении путем электрокоагуляции и криовоздействия [Текст] / Л.М. Бенгус, А.И. Продан, А.А. Сіренко // *Проблеми остеології.* — 2008. — Т. 10, №1–2. — С. 59–62.
 21. Морфологічна характеристика регенераційної невромії периферійного нерва за умов його пошкодження та застосування омега-3-поліненасичених жирних кислот [Текст] / А.В. Корсак, Ю.Б. Чайковський, О.М. Грабовий, Т.Р. Скибінська // *Морфологія.* — 2007. — Т. 1, №3. — С. 50–53.

Статья поступила в редакцию 15.12.2009 г.