

На правах рукописи

**Архипова Елана Геннадиевна**

**РЕПАРАТИВНАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ НЕРВОВ  
КРЫС ПОСЛЕ МЕХАНИЧЕСКОЙ АЛЬТЕРАЦИИ И  
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ МОДИФИКАЦИИ**

**03.00.13-физиология**

**Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук**

**Нижний Новгород  
2007**

Работа выполнена в Нижегородском государственном университете им. Н.И. Лобачевского и в Нижегородской государственной медицинской академии

**Научные руководители:**

Заслуженный деятель науки РФ, доктор биологических наук, профессор **Крылов Василий Николаевич**

Доктор медицинских наук, профессор **Гретен Александр Гугович**

**Официальные оппоненты:**

Доктор биологических наук, профессор  
Гелашвили Давид Бежанович

Доктор медицинских наук, профессор  
Смирнов Владимир Павлович

**Ведущая организация:** ФГУ «Нижегородский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии Росмедтехнологий»

Защита состоится «18» октября 2007 г. в 15 час на заседании диссертационного совета Д212.166.15 при Нижегородском Государственного университете им. Н.И. Лобачевского по адресу: 603950, Нижний Новгород, пр.Гагарина, 23, корп.1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ННГУ им. Н.И. Лобачевского  
Автореферат разослан «17» сентября 2007 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета, к.б.н., доц.

Корягин А.С.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Проблема восстановления функций при повреждении периферических нервов в клинической медицине определяется стойким характером расстройства движений, чувствительности и вегетативно-трофических нарушений, развивающихся вслед за поражением нервного ствола, длительными сроками и не всегда удовлетворительными результатами лечения больных (Рагинов, 2006; Fugleholm, Schmalburg, Krarup, 2000). Наиболее частыми формами травматического повреждения нервов, возникающими вследствие техногенного травматизма на производстве, при дорожно-транспортных происшествиях, в ходе военных действий, являются разрыв, ушиб, растяжение, а также сдавление с наличием или отсутствием разрыва нервного ствола. Однако, эффективность репарации структуры и функции поврежденной ткани с применением лечебных мероприятий и лекарственных средств остается относительно низкой. Это во многом связано с малой изученностью динамики регенерации нервов после травмы. Для исследования воздействия модулирующих средств на посттравматический процесс необходимы более полные данные о динамике репаративной регенерации поврежденного нерва. Клиницистов интересует полнота морфологического и функционального восстановления нервов (Сотников, 1995). Количественные параметры регенеративных и дегенеративных процессов, происходящих в периферических нервах после альтерации пережатием, представленные в литературе, весьма противоречивы (Hamilton, Fredman, 1998; Swett, Hong, Miller, 1995; Olivera, Mazzer, Barbieri et al., 2001; Kamijo, Kojama, Oikawa et al., 2003; Рагинов, 2006; и др.). Это может быть связано с различием в условиях осуществления альтерации нерва (время воздействия на нерв, площадь травмы, сила пережатия, вызывающая разрыв всех осевых цилиндров нервных волокон – полное пережатие или только части – неполное пережатие). Актуальным является вопрос о темпах и характере репаративной регенерации периферических нервов в зависимости от степени тяжести травмы.

Учитывая важность проблемы, в современной медицине ведется активный поиск эффективных терапевтических средств для стимуляции регенеративных процессов после травмы. Среди различных классов физиологически активных веществ в этом плане представляют интерес природные соединения. Широко известны терапевтические эффекты пчелиного яда в отношении нервной, сердечно-сосудистой и иммунной систем (Крылов, 1995; Кривцов и др., 2004). При этом вводимая доза яда во многом может определять физиологический эффект. Так, нейротропные эффекты яда могут проявляться не только поражением миелиновой оболочки от токсических доз (Орлов, 1972), но и, наоборот, в малых дозах стимулировать миелинизацию нервных волокон мозга крыс в модельных опытах с их демиелинизацией (Кочеткова, 1998; Кривопапов, 1998).

При травмировании нерва его регенерация осложняется развитием ишемии и гипоксии из-за повреждения мелких сосудов в месте травмы. Известно, что гипоксические состояния сопутствуют практически любой патологии (Лукьянова, 1991). В последнее время экспериментально и клинически обоснована возможность использования в качестве антигипоксического средства при ишемических состояниях организма компонента дыхательной цепи митохондрий – убихинона-10 (CoQ) (Донченко, 1988; Лукьянова, 1997; Крылов, Лукьянова, 2004). Таким образом, применение пчелиного яда и убихинона-10 в качестве терапевтических средств при травме периферических нервов может способствовать процессу регенерации.

**Цель и задачи исследования.** Целью работы было исследование динамики репаративной регенерации периферических нервов: кожного (n. saphenus) и седалищного (n. ischiadicus) у крыс при неполном пережатии и полном пережатии на участках длиной 2 мм или 4 мм, и ее модификации пчелиным ядом и убихиноном-10.

В задачи работы входило:

1. Исследовать восстановление характеристик вызванных потенциалов (скорости, амплитуды, формы ВП) в седалищном нерве у крыс и лягушек после неполного пережатия нерва.
2. Изучить восстановление характеристик вызванных потенциалов (скорости, амплитуды, формы) кожного нерва крыс после полного пережатия на участках различной длины, и восстановление активности нерва при раздражении механорецепторов кожи.
3. Исследовать динамику изменения количества нервных волокон в дистальном участке кожного нерва крыс после альтерации на участках различной длины.
4. Дать количественную и качественную характеристику нейронов спинномозговых узлов (СМУ) L3 и L4 крыс после полного пережатия кожного нерва на участках различной длины в динамике регенерации.
5. Изучить модифицирующее воздействие пчелиного яда и убихинона на репаративную регенерацию кожного нерва крыс.

**Научная новизна.** Впервые проведено исследование деструктивных и регенеративных процессов, происходящих в периферических нервах и СМУ у крыс после альтерации нервов полным пережатием на участках различной длины. Обнаружено влияние степени тяжести травмы на восстановление миелиновых оболочек в период до 30 суток после травмы и отсутствие различий в динамике деструктивных процессов в СМУ L3 и L4, восстановления количества нервных волокон в альтерированном нерве после травм различной степени тяжести. Показано уменьшение количества нейронов СМУ L3 и L4 до 10 суток после альтерации нерва и отсутствие изменения количества нейронов в последующий период до 50 суток после травмы. Установлено стимулирующее воздействие пчелиного яда и убихинона-10 на восстановление миелиновых оболочек регенерирующих волокон.

**Научно-практическая значимость.** Выявленные закономерности протекания регенеративных и деструктивных процессов в кожном нерве и СМУ L3 и L4 после полного пережатия нерва на участках различной длины в дальнейшем могут быть применены для моделирования травм периферических нервов в исследовательских работах медико-биологических отраслей науки, а также в учебной работе - при изучении соответствующих разделов учебных дисциплин физиологии человека и животных, патофизиологии, гистологии, в учебных программах биологических, сельскохозяйственных и медицинских вузов. Используемая модель репаративной регенерации кожного нерва, выполненная в стандартизированных условиях, может быть применена для оценки эффективности репаративного процесса с помощью различных терапевтических воздействий.

Полученные результаты позволяют обосновать применение пчелиного яда и убихинона-10 в медицинской практике при терапии травм периферических нервов.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Механическое пережатие седалищного нерва крыс и лягушек и кожного нерва крыс, вызывающее полный разрыв осевых цилиндров нервных волокон на участке альтерации, приводит к дегенеративным изменениям в нейронах и спинномозговых узлах, выражающихся на 10-е сутки после альтерации в максимальном снижении количества миелиновых волокон дистального участка травмированного нерва, а также снижением амплитуды и скорости вызванных потенциалов в нерве.

2. При полном пережатии различной степени тяжести (на участках различной длины) кожного нерва крыс различия в регенеративных процессах обнаружены в динамике восстановления миелиновых оболочек нервных волокон до 30 суток после травмы.

3. Увеличение количества миелинизированных волокон в участке нерва, расположенном дистальнее места травмы, скорости прорастания поврежденных нервных волокон к коже после альтерации нерва на участках различной длины, регистрируемые в период 10-50 суток, не зависят от степени тяжести травмы (2 или 4 мм).

4. Применение пчелиного яда и убихинона-10 стимулирует процесс миелинизации травмированных волокон кожного нерва крыс.

**Апробация работы.** Материалы, представленные в диссертации, доложены на XIII Международном совещании и VI школе по эволюционной физиологии, посвященным памяти академика Л.А. Орбели и 50-летию Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова (Санкт-Петербург, 2006); на Научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы эволюционной, возрастной и экологической морфологии» (Белгород, 2006); на расширенном заседании кафедры физиологии и биохимии человека и животных, 2007.

**Структура и объем диссертации.** Материалы диссертации изложены на 101 страницах машинописного текста, иллюстрированы 2 таблицами и 29 рисунками. Работа состоит из введения, обзора литературы, характеристики материалов и методов исследования, результатов исследований и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы, содержащего 165 источника, из них 77 на иностранных языках.

### **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.**

Работа выполнена на 185 беспородных белых крысах обоего пола, массой 200-300 г, и лягушках. У крыс под нембуталовым наркозом (40 мг/кг, внутривенно) выделяли седалищный или кожный нерв и на уровне средней трети бедра пережимали хирургическим зажимом. Затем рану обрабатывали раствором пенициллина натрия (100000 ЕД/мл) и зашивали послойно.

Электрофизиологические эксперименты на крысах проводили под уретановым наркозом (83 мг/100 г массы тела). При заборе материала животных умерщвляли парами эфира, в случае забора СМУ производили декапитацию. У лягушек седалищный нерв отпрепаровывали на уровне бедра, помещали в камеру, участки, свободные от электродов, покрывали вазелином, среднее расстояние между электродами составляло 34 мм.

В ходе работы было проведено 3 серии экспериментов. В первой серии рассматривалось восстановление вызванных потенциалов (ВП) седалищного нерва крыс и лягушек в течение 2 часов после пережатия хирургическим зажимом на участке 2,5 мм в течение 10 сек. Во второй серии, для стандартизации условий эксперимента при моделировании травмы нерва полным пережатием, вызывающим разрыв всех миелинизированных нервных волокон периферического нерва, были использованы модифицированные зажимы, повреждающие нерв на участках длиной 2 мм или 4 мм, воздействующие на нерв с силой  $5 \cdot 10^6$  Па. Пережатие производилось в течение 10 с. В этой серии были рассмотрены регенеративные и деструктивные процессы, происходящие в стволе кожного нерва и СМУ L3 и L4 после пережатия на ранних сроках после травмы (до 50 суток). В третьей серии изучалось терапевтическое воздействие пчелиного яда и убихинона-10 на динамику репаративной регенерации, в период до 10 суток после травмы кожного нерва после полного пережатия на участке длиной 2 мм.

ВП с седалищного нерва крыс и лягушек регистрировались в течение 2 часов после пережатия. ВП с кожного нерва крыс регистрировались на 10, 20, 30, 40, 50 сутки после пережатия. На седалищном и кожном нервах крыс раздражающие электроды располагались на 10 мм проксимальнее места травмы, отводящие – на 13 мм дистальнее места травмы. Измерялись скорости проведения и амплитуда вызванных потенциалов. Фиксировалось также наличие афферентной импульсации в участке кожного нерва, расположенном дистальнее места травмы.



При этом отводящие электроды располагались на 2 мм дистальнее места травмы, кожу стопы травмированной лапы раздражали с помощью кисточки.

Для регистрации ВП нерв раздражали прямоугольными электрическими импульсами амплитудой 200 mV и длительностью 0,1-0,2 мс, при этом регистрировали потенциал А-волокон. Для генерации вызванных потенциалов использовали электрический стимулятор типа ЭСУ-1. ВП нерва отводили одной парой биполярных платиновых электродов и через один канал усилителя типа УБФ4-03 подавали на 12-битовый 16-ти канальный АЦП компьютера IBM PC486DX2. Для регистрации вызванных потенциалов выбирали режим с полосой пропускания частот усилителя 10 Гц-10 кГц. Параллельно, для визуального контроля, вызванные потенциалы подавали на двулучевой осциллограф С1-18. Квантование вызванных потенциалов производили с частотой 40 кГц. Поэтому вызванные потенциалы регистрировались точками, временное расстояние между которыми равно 0,000025 с.

На 10, 20, 30, 40, 50 сутки после травмы кожного нерва у крыс были забраны СМУ L3 и L4 и участки нерва, расположенные дистальнее места травмы. Из СМУ были изготовлены препараты, которые окрашивались по Ниссля. Под оптическим микроскопом был произведен подсчет нейронов средней, малой и большой популяций. Клетки относили к популяции больших нейронов при диаметре перикариона  $d > 30$  мкм, средних  $20 < d < 30$  мкм, малых  $d < 20$  мкм.

Приготовление серийных срезов производилось на санном микротоме фирмы «Reichert» (Austria). Подсчет нейронов производился тотально по следующему принципу: на каждом из срезов считались все нервные клетки, где четко обрисовывались ядро с ядрышком. Для подсчета использовалась линейка окуляр-микрометра с окуляром X 15. Увеличение объектива (X 20) было подобрано таким образом, чтобы при перемещении линейки по продольной оси ганглия в поле зрения всегда находились края среза, и были четко видны ядра с ядрышками.

Участок нерва длиной 2 мм, расположенный на 5 мм дистальнее места травмы, фиксировали в глутаральдегиде и в 2% растворе четырехокси осмия на фосфатном буфере, обезвоживали и заключали в эпон-аралдит, поперечные полутонкие срезы нерва окрашивали метиленовым синим. Затем на срезах был произведен подсчет миелинизированных волокон. Просмотр материала осуществлялся на световом микроскопе «Micros» (Austria).

При выполнении экспериментов третьей серии первой опытной группе животных вводили раствор пчелиного яда в объеме 0,2 мл внутривентриально, в дозе 0,5 мг/кг, в течение 9 дней после травмы, ежедневно. Выбор дозы был обусловлен данными литературы об ее эффективности при терапии и профилактике модельных патологических процессов у животных (Артемов, 1969; Орлов, Гелашвили, 1992; Крылов, 1995). Животным контрольной группы вводили соответствующий растворитель пчелиного яда – физиологический раствор. Животным второй опытной группы скармливали убихинон-10 в течение 9 дней после травмы, ежедневно, в дозе 25 мг/кг, растворяя его в оливковом масле и вводя в желудок через зонд в объеме 0,5 мл. Животным контрольной группы вводили оливковое масло. В работе был использован препарат убихинона-10, полученный методом микробиологического синтеза на заводе БВК (г. Кстово) по технологии, разработанной в НИИ «Синтезбелок» АН РФ и НПО «Витамины».

В третьей серии экспериментов на 10 сутки после травмы у животных опытной и контрольной групп были забраны СМУ L3 и L4, участки кожного нерва, расположенные дистальнее места травмы, с травмированного нерва были сняты ВП.

Статистический анализ полученных результатов проведен с помощью компьютерной программы Statistica 6.0. Для статистической оценки полученных результатов использовался Mann-Whitney test. Различия считали достоверными при уровне значимости  $P < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении электрофизиологических экспериментов на седалищном нерве крыс и лягушек ВП нерва исчезал сразу после пережатия, через 20 минут происходило восстановление вызванного потенциала он отличался от нормального большой задержкой времени проведения возбуждения, (что видно по увеличению времени его регистрации), уменьшением амплитуды потенциала (рис.1).

Через 40 минут характеристики потенциала еще больше приближались к норме. Позднее, с течением времени характеристики потенциала не менялись.

После травмы изменялась форма потенциала, на нейрограммах, сделанных через 20 и 40 минут после пережатия отсутствуют пики, имеющиеся на нейрограммах, сделанных до пережатия. По-видимому, в нерве при нарушении целостности миелиновых оболочек и осевых цилиндров в месте травмы происходит передача возбуждения типа эфаптической с одного волокна на другое. В месте травмы потенциалы более толстых волокон возбуждают более тонкие, и к отводящим электродам потенциалы от разных групп волокон приходят с меньшей задержкой по времени, чем в не травмированном нерве.

Это предположение подтверждается данными Вилфрида (Wilfrid,1988), согласно которым в поврежденном участке возникают электрические взаимодействия между нервными волокнами в связи с тесным примыканием аксонов, не разделенных шванновскими клетками и миелиновыми оболочками, что создает условия для умножения активности.

Таким образом, можно сделать вывод, что при пережатии нарушилось проведение возбуждения в части волокон седалищного нерва, осевые цилиндры которых в результате пережатия оказались разорванными. В последующее время в течение 40 минут происходит восстановление способности волокон, осевые цилиндры которых не разорвались, проводить возбуждение.

Возможно, временное прекращение проведения возбуждения в этих случаях вызвано сжатием нервных волокон в месте пережатия без нарушения целостности мембраны и выталкиванием аксоплазмы из травмированного участка. В последующее время, по-видимому, происходит частичное заполнение волокон аксоплазмой и восстановление возбудимости мембраны. Задержку времени проведения возбуждения можно объяснить нарушением миелиновых оболочек в области пережатия нерва.

Ни в одном из экспериментов не происходило полного восстановления формы потенциала, что свидетельствует о полном разрыве части миелинизированных нервных волокон.

Так как при пережатии седалищного нерва крыс и лягушек хирургическим зажимом оказывалась разорванной только часть осевых цилиндров нервных волокон, то есть пережатие оказывалось неполным, для полного пережатия был изготовлен модифицированный зажим.

После альтерации седалищного нерва крыс и лягушек и кожного нерва крыс модифицированным хирургическим зажимом все нервные волокна оказывались разорванными, об этом свидетельствовало отсутствие ВП сразу после пережатия и через 2 часа после травмы.

После альтерации кожного нерва полным пережатием для определения реиннервации кожи стопы травмированной лапы фиксировалась афферентная импульсация нерва. При раздражении кисточкой внутренней части стопы и всей поверхности кожи пальцев крысы в интактном кожном нерве была зарегистрирована стандартная афферентная импульсация в виде высокочастотного шума. На 10 и 20 сутки после травмы афферентная импульсация в нерве при раздражении кожи стопы и пальцев отсутствовала. На 30 сутки была зафиксирована афферентная импульсация только с кожи внутренней части стопы. На 40 сутки наблюдалась афферентная импульсация при раздражении кожи стопы и основания пальцев. На 50 сутки зафиксирована афферентная импульсация при

раздражении кожи всей поверхности пальцев и внутренней части стопы, что свидетельствует о проращении значительной части волокон травмированного нерва к коже.

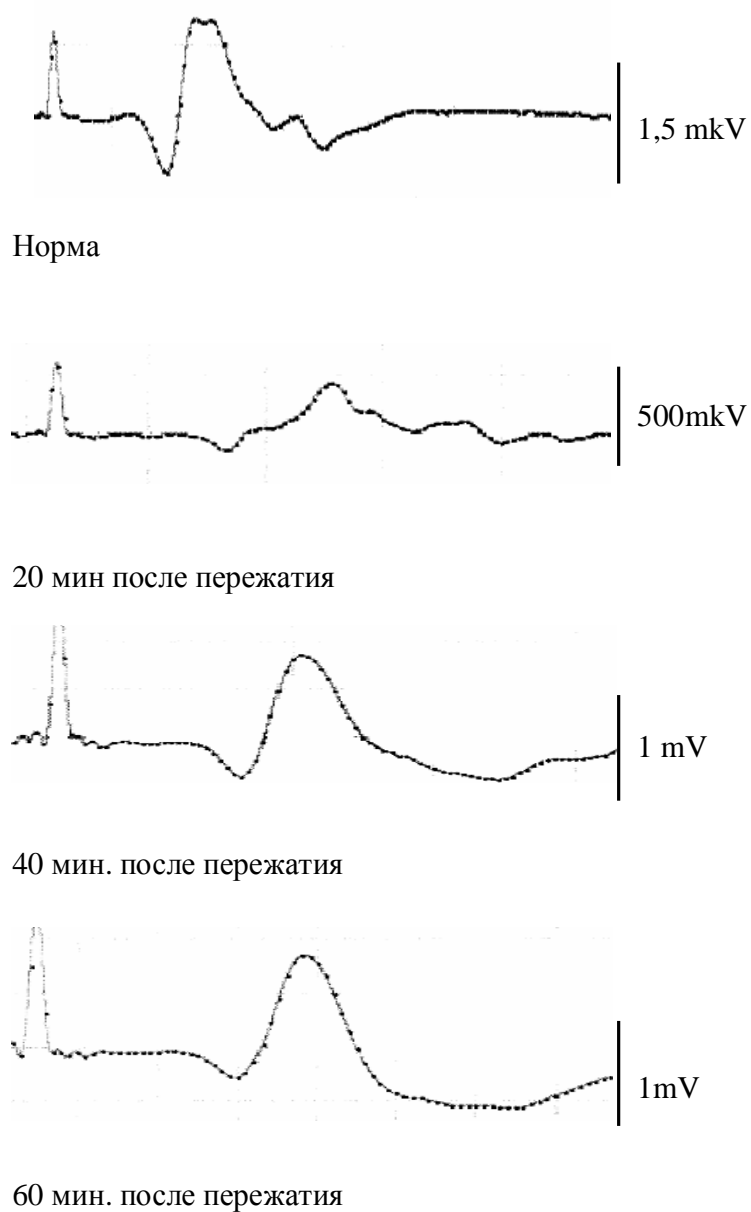


Рис.1. Нейрограммы ВП седалищного нерва крыс, альтерированного неполным пережатием, зарегистрированные в течение часа после травмы.

Полученный ВП интактного кожного нерва имеет компактную форму, группа Аβ-волокон, имеющих близкую скорость, образует крупный пик, Аδ-

волокна имеют меньшую скорость и амплитуду и их пики на нейрограмме располагаются правее. На 10 сутки после полного пережатия ВП кожного нерва имел сглаженную растянутую форму, так как образован проросшими волокнами с близкой скоростью проведения и амплитудой. Вероятно, ВП состоял из суммарных потенциалов как Аβ-, так и Аδ-волокон, но скорости проведения в них одинаковы из-за неполной миелинизации. У ВП, полученных на 20 сутки форма оставалась сглаженной, дифференциации ВП нервных волокон по скоростям не наблюдалось. К 40 суткам после травмы была зафиксирована дифференциация на группы Аδ-волокон, образующих на нейрограмме пики. На 50 сутки дифференцируются группы волокон близких по скорости, которые проявляются на нейрограммах в виде компактных пиков (рис.2).

По нейрограммам ВП, снятым с кожного нерва крыс после полного передавливания была определена скорость проведения вызванных потенциалов на 10, 20, 30, 40, 50 сутки после травмы (рис.3). Поскольку скорость проведения вызванных потенциалов зависит от степени миелинизации прорастающих нервных волокон (Fugleholm, Schmalbruch, Kragup, 2000), можно заключить, что этот процесс в течение 30 суток после травмы шел активнее в нервах, травмированных на участке длиной в 2 мм. Однако, в более поздние сроки темп миелинизации не зависел от длины травмированного участка.

Известно, что амплитуда ВП зависит от количества нервных волокон в нерве. В проведенных экспериментах амплитуда одинаково возрастала после обоих видов травмы к 30 суткам и далее до 50 оставалась неизменной (рис.4). Следовательно, количество прорастающих нервных волокон в опытах восстанавливалось только до 30 суток.

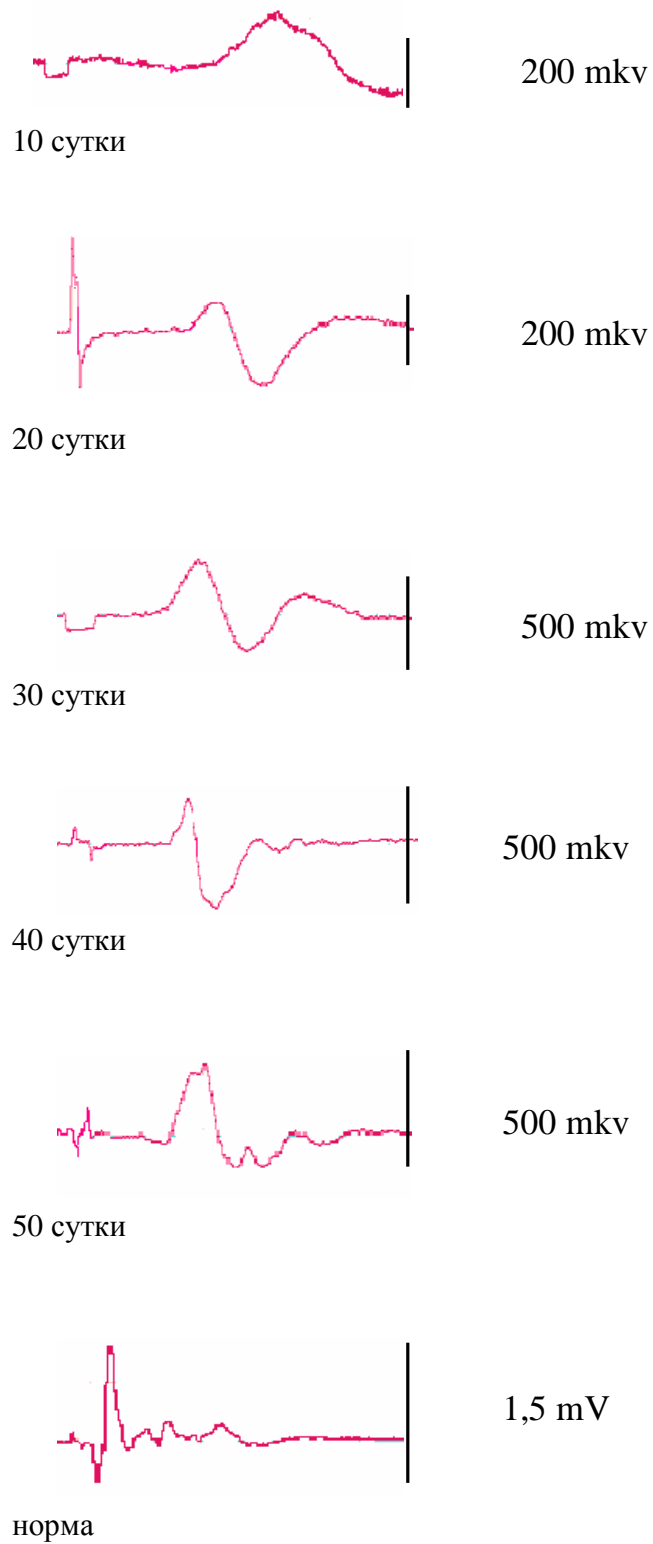


Рис.2. Восстановление ВП кожного нерва крыс, альтерированного полным пережатием.

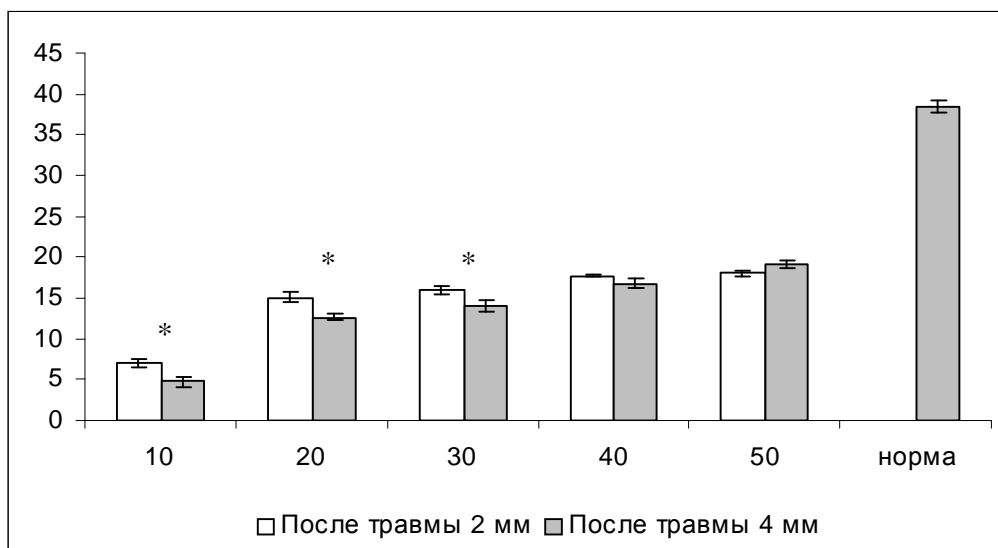


Рис.3. Изменение скорости проведения ВП регенерирующих миелинизированных нервных волокон в кожном нерве крысы. По оси абсцисс – сроки после операции (сут.); по оси ординат – скорость ВП (м/с). \* - Различия травмы 2 мм по сравнению с травмой 4 мм значимы при  $P < 0,05$ .

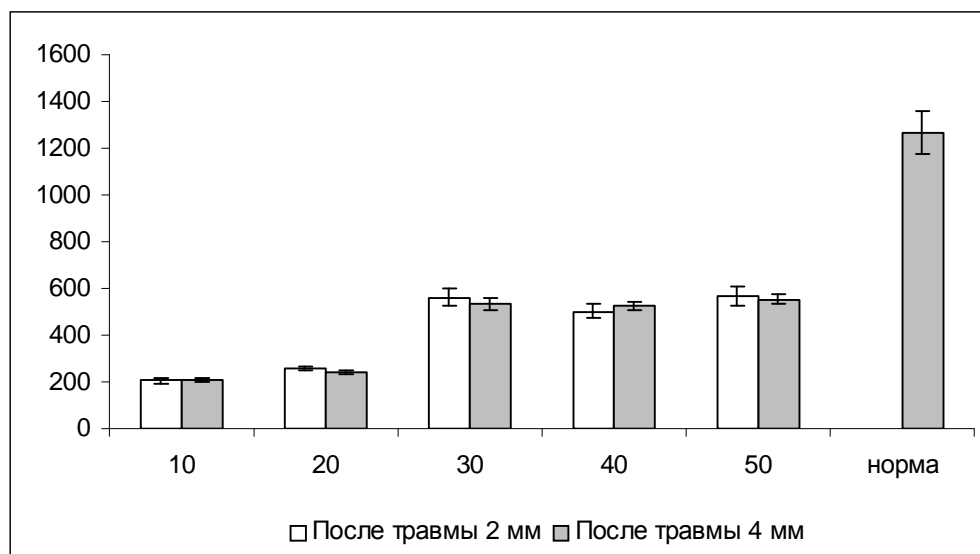


Рис.4. Изменение амплитуды ВП регенерирующих миелинизированных нервных волокон в кожном нерве крысы. По оси абсцисс – сроки после операции (сут.); по оси ординат – амплитуда ВП (мкV).

В кожном нерве присутствуют как миелиновые, так и безмиелиновые нервные волокна. В ходе электрофизиологических экспериментов потенциал безмиелиновых волокон зафиксирован не был, поэтому в данной работе, для сопоставления данных, полученных при использовании гистологических и



электрофизиологических методик, из кожного нерва изготавливались препараты на которых возможно изучение только миелинизированных волокон.

Подсчет миелинизированных нервных волокон показал, что общее среднее количество, входящих в состав интактного кожного нерва крыс волокон составляет  $718,33 \pm 18,78$ . На 10 сутки после полного пережатия кожного нерва в участке, расположенном дистальнее места травмы количество нервных волокон составило около 36% от нормы после 2 мм пережатия и 32% от нормы после 4 мм пережатия (рис.5). Далее до 30 суток после альтерации наблюдалось постепенное увеличение количества миелинизированных нервных волокон, статистически достоверной разницы данных между количеством волокон после обоих видов травм не обнаружено.

На 30 сутки после обоих видов травм количество миелинизированных волокон в исследуемом участке нерва достигло 70% от нормы и далее до 50 суток не изменялось.

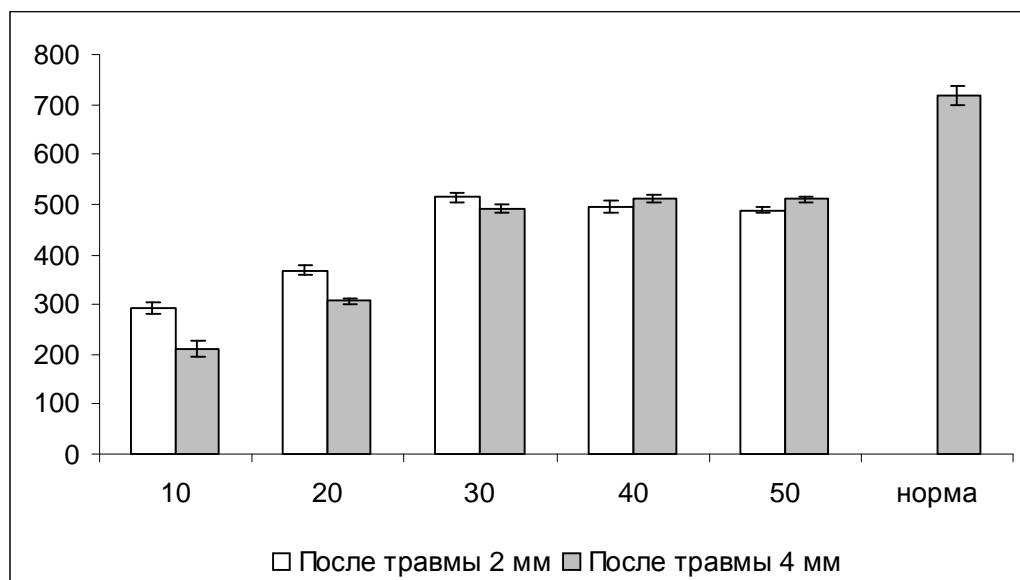


Рис.5. Изменение количества миелинизированных нервных волокон в кожном нерве крысы. По оси абсцисс – сроки после операции (сут.); по оси ординат – количество волокон.

Согласно современным представлениям нейроны СМУ делятся на популяции согласно функциональным и морфологическим признакам. Нейроны различных популяций по-разному реагируют на травму их отростков. В связи с

противоречивостью литературных данных о динамике деструктивных и регенеративных процессов в СМУ после пережата периферических нервов в данной работе были рассмотрены изменения произошедшие в нейронах СМУ L3 и L4 после полного пережата кожного нерва на различных по длине участках.

В интактном ганглии L3 количество больших нейронов составило  $537,25 \pm 58,85$ , количество средних нейронов  $3297,6 \pm 250,34$  количество малых  $1592,75 \pm 85,54$ . В интактном ганглии L4 количество больших нейронов составило  $808,75 \pm 53,88$ , количество средних нейронов  $4252,3 \pm 339,22$ , количество малых  $3188,25 \pm 293,6$ .

Световая микроскопия выявила, что в течение всего наблюдаемого периода (от 19 до 50 суток после травмы) после полного пережата нерва на участке длиной 2 мм или 4 мм во всех популяциях есть нейроны с аксональной реакцией, то есть с центральным хроматолизом и эктопией ядра. Встречаются нервные клетки имеющие гомогенизацию, вакуолизацию или фрагментацию цитоплазмы. Обнаружены нервные клетки цитоплазма которых имеет гиперхромную окраску, хромотофильная субстанция зернисто-пылевидной формы.

Подсчет нейронов большой, средней и малой популяций СМУ L3 и L4 после полного пережата кожного нерва на разных по длине участках показал, что их количество сократилось по отношению к количеству нейронов в интактных СМУ к 10 суткам после травмы (рис.6). Причем наибольшее сокращение численности наблюдалось в популяции малых нейронов.

При подсчете количества нейронов большой, средней и малой популяций не была установлена статистически достоверная разница в количестве нейронов на 10, 20, 30, 40 и 50 сутки после травмы.

Исходя из полученных данных можно заключить, что различие в степени тяжести травмы не повлияло на степень и динамику дегенеративных процессов СМУ.

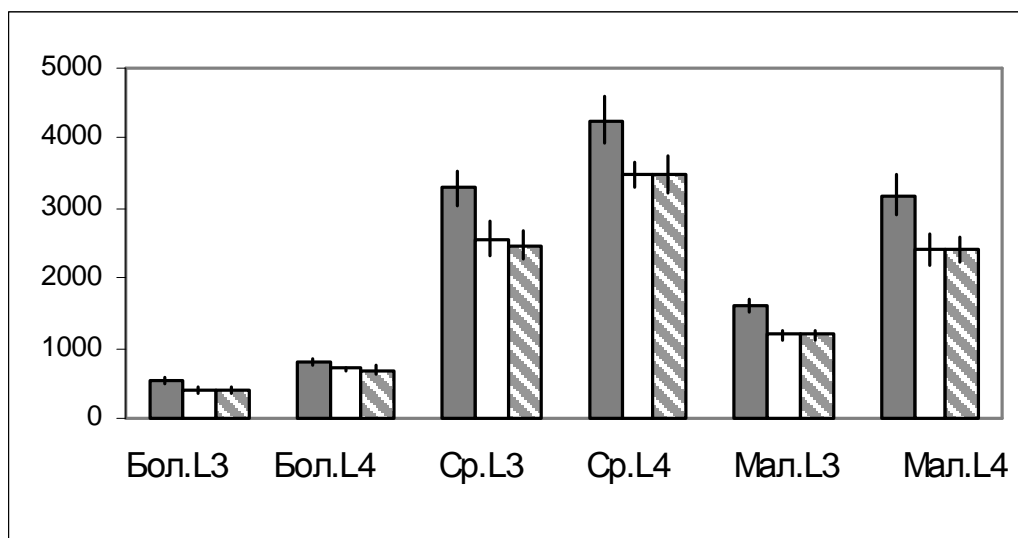


Рис. 6. Изменение количества (по оси ординат) больших (бол.), средних (ср.) и малых (мал.) нейронов в ганглиях L3 и L4 крыс на 10-е сутки после пережатия.

Обозначения: темные – норма, светлые – пережатие 2 мм, полосатые – 4 мм.

В ходе проведения электрофизиологических опытов с травмированными крысами, подвергшимися терапевтическому воздействию пчелиным ядом и убихиноном-10 ОЭ располагались на 13 мм дистальнее места травмы. ВП, снятые с нерва крыс, получавших пчелиный яд и убихинон имели более компактную форму по сравнению с контролем, что указывает на большую скорость проведения ВП. При перемещении ОЭ еще на 3 мм дистальнее ВП исчезал. Это может быть объяснено тем, что волокна в данном случае прорастают единым массивом и активно миелинизируются.

Согласно полученным данным, скорость проведения ВП на 10 сутки после травмы в контрольных группах составляла 30-35% от уровня скорости проведения по нерву у интактных крыс. В отличие от контроля, скорость проведения ВП в альтерированном нерве после введения пчелиного яда и убихинона уменьшалась менее значительно и составляла 90-92% от уровня интактных животных после

введения пчелиного яда и 75-78% после введения убихинона (рис. 7). Так как скорость проведения ВП определяется степенью миелинизации нервных волокон можно сделать вывод, что применение пчелиного яда и убихинона стимулировало миелинизацию волокон травмированного нерва.

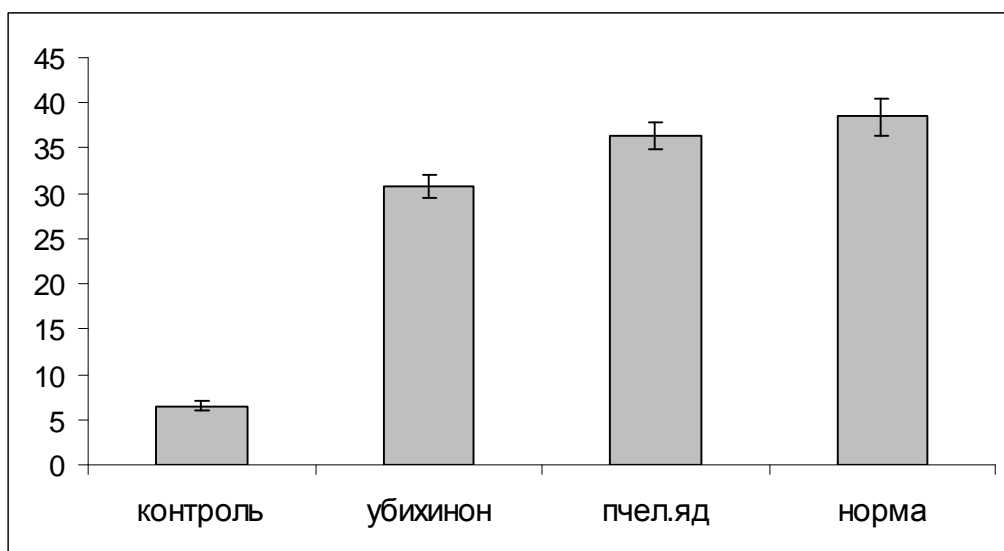


Рис. 7. Скорость проведения ВП в миелинизированных нервных волокнах кожного нерва крысы. По оси ординат – скорость ВП (м/с).

Модифицирующего воздействия пчелиного яда и убихинона-10 на посттравматический процесс в СМУ не обнаружено.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

После альтерации периферических нервов крыс и лягушек неполным и полным пережатием проведение ВП по миелинизированным нервным волокнам через травмированный участок прекращается. После неполного пережатия проведение ВП восстанавливается в течение часа, так как в травмированном нерве разрывается только часть осевых цилиндров нервных волокон; после полного пережатия проведение ВП отсутствует до 5 суток после травмы и восстанавливается к 10 суткам, когда регенерирующие нервные волокна прорастают через место травмы в дистальный участок нерва.

Было установлено, что после полного пережатия кожного нерва на участках различной длины степень тяжести травмы не повлияла на динамику элиминации нейронов в СМУ L3 и L4 (к 10 суткам после травмы количество тел нейронов сократилось и далее в период до 50 суток не изменялось). Из-за элиминации части нейронов СМУ полного восстановления количества нервных волокон в травмированном нерве не происходит. На 30 сутки после травмы количество нервных волокон в исследуемом участке нерва достигало максимума (70% от нормы), без дальнейших изменений. Использование пчелиного яда и убихинона-10 в качестве терапевтических средств после альтерации нерва пережатием способствовало ускорению миелинизации нервных волокон. Модификация регенерации оказалась более эффективной при применении пчелиного яда и менее эффективной при применении убихинона.

## **ВЫВОДЫ**

1. Механическое пережатие седалищного нерва крыс и лягушек и кожного нерва крыс с силой  $5 \cdot 10^6$  Па вызывает полный разрыв всех осевых цилиндров нервных волокон на участке альтерации.
2. Альтерация кожного нерва крыс путем его пережатия приводит к дегенеративным изменениям в нейронах, выражающимся на 10-е сутки после альтерации в максимальном снижении количества миелиновых волокон дистального участка травмированного нерва и тел нейронов в ганглиях L3 и L4, а также снижением амплитуды и скорости вызванных потенциалов в нерве.
3. Репаративная регенерация миелиновых оболочек нервных волокон после альтерации пережатием наиболее активно протекает до 30-х суток после альтерации и выражается относительным восстановлением скорости проведения вызванных потенциалов по кожному нерву. Скорость миелинизации регенерирующих волокон после пережатия нерва на участке длиной 2 мм выше, чем после пережатия на участке 4 мм только в период до 30 суток после травмы.

4. Увеличение количества миелинизированных волокон в участке нерва, расположенном дистальнее места травмы, скорости прорастания поврежденных нервных волокон к коже после альтерации нерва на участках различной длины, регистрируемые в период 10-50 суток, не зависят от степени тяжести травмы (2 или 4 мм).

5. Терапевтическое введение пчелиного яда или убихинона-10 повышало скорость репаративной регенерации альтерированных нервов крыс, приводя на 10-е сутки к восстановлению скорости проведения ВП в них до 92% (пчелиный яд) и 78% (убихинон-10) от уровня скорости ВП интактных животных.

**СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Архипова Е.Г., Гретен А.Г., Зевеке А.В., Крылов В.Н. Репаративная регенерация периферических нервов при травме нервного ствола крыс. «Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского». Н.Новгород: Изд-во ННГУ, 2005. Серия биология, вып.2 (10). С.163-168.
2. Архипова Е.Г., Гретен А.Г., Крылов В.Н. Динамика повреждения ганглионарных нейронов после травмирования периферических нервов //Тез. XIII Международного совещания и VI школы по эволюционной физиологии, посвященных памяти академика Л.А. Орбели и 50-летию Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова. Санкт-Петербург, 2006. С.11.
3. Архипова Е.Г., Крылов В.Н. Динамика репаративной регенерации волокон кожного нерва крыс после альтерации передавливанием // Тез. научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы эволюционной, возрастной и экологической морфологии»: сб. науч. работ.- Белгород, 2006.- С.9.
4. Крылов В.Н., Архипова Е.Г., Регенерация нервов крыс под влиянием пчелиного яда // Пчеловодство, 2007. № 4. С. 50.
5. Архипова Е.Г., Гретен А.Г., Крылов В.Н. Динамика репаративной регенерации при разной степени травмирования кожного нерва крыс // Морфология, 2007. Т. 131., № 3. С. 30-32.