

© Т. Н. Варсегова, 2017  
УДК 611.835.84:636.7

*Т. Н. Варсегова*

## МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОВЕРХНОСТНОГО МАЛОБЕРЦОВОГО НЕРВА У СОБАК

Лаборатория морфологии (зав. — канд. биол. наук Т. А. Силантьева), «Российский научный центр „Восстановительная травматология и ортопедия” им. акад. Г. А. Илизарова», г. Курган

У взрослых (1–3 года) клинически здоровых беспородных собак ( $n=5$ ) методами сканирующей электронной микроскопии и морфометрии на тотальных полутонких (толщиной 1 мкм) аралдитовых срезах исследован поверхностный малоберцовый нерв. Обнаружено, что нервные стволы — многопучковые, имеют скудное кровоснабжение — 1–2 эпинеуральные магистральные артерии малого калибра. Численная плотность артериол, венул и капилляров в эндоневральном микроциркуляторном русле составляет  $141,8 \pm 8,7$  в  $1 \text{ мм}^2$ , большинство из них (71%) имеют открытые просветы, 29% — щелевидные. Средний диаметр миелиновых волокон составляет  $6,46 \pm 0,007$  мкм, их аксонов —  $4,50 \pm 0,08$  мкм, толщина миелинового слоя —  $1,04 \pm 0,004$  мкм. Преобладают (77%) миелиновые волокна, имеющие средний и большой диаметр, что обуславливает высокие значения энтропии по Шеннону (3,243 бит).

**Ключевые слова:** *поверхностный малоберцовый нерв, морфометрия, информационный анализ*

Еще в начале XX в. было отмечено, что практически не существует экзо- и эндогенных патологических факторов, которые с большим или с меньшим постоянством не вызывали бы поражения малоберцового нерва [1]. Так, по наблюдениям Ф. А. Хабилова [9], нейропатии малоберцового нерва выявляются у 61% больных травматологических и ортопедических отделений, перенесших лечение гипсовыми повязками и шинами, оперативные вмешательства, в том числе удлинение голени [2, 14]. При экспериментальной апробации новых режимов дистракционного остеосинтеза в качестве опытных животных наиболее часто используются взрослые беспородные собаки [6, 10]. Для формирования представлений об этиопатогенезе нейропатии малоберцового нерва при ортопедическом удлинении голени, определения степени отклонения его морфологических и морфометрических характеристик от нормы возникает необходимость сравнения с параметрами аналогичных нервов у интактных собак. В немногочисленных работах приводятся данные о возрастной динамике внутривольного строения и кровоснабжении общего малоберцового нерва у взрослых людей [7, 13, 15] и породистых собак, имеющих патологию нервной системы [12]. Сведений о гистоморфометрических исследованиях поверхностного малоберцового нерва у взрослых беспородных клинически здоровых собак в доступной литературе найти не удалось.

Цель настоящей работы — качественная и количественная характеристика поверхностного малоберцового нерва у собак.

**Материал и методы.** Исследовали поверхностные малоберцовые нервы у 5 интактных взрослых беспородных собак (1–3 года, масса 18–23 кг, длина голени 19–20 см). Эвтаназию животных осуществляли передозировкой барбитуратов в соответствии с требованиями Министерства здравоохранения Российской Федерации к работе экспериментально-биологических клиник, а также «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (г. Страсбург, 1986). Участок поверхностного малоберцового нерва от начала отхождения данной ветви от общего малоберцового нерва до начала его деления на более мелкие ветви закрепляли на твердой основе (с целью предотвращения деформации) и резецировали. Материал фиксировали в течение 1 нед в смеси равных объемов 2% растворов глутарина и параформальдегида на фосфатном буфере (рН 7,4) с добавлением 0,1% пикриновой кислоты, дополнительно фиксировали в 1% растворе тетраоксида осмия с 1,5% красной кровяной солью, дегидратировали в этаноле и заливали в аралдит. Поперечные тотальные полутонкие (толщина 1,0 мкм) срезы получали на ультратоме Nova (LKB, Швеция), окрашивали метиленовым синим и основным фуксином. Полноцветные изображения оцифровывали с помощью стереомикроскопа «AxioScope.A1» и цифровой камеры «AxioCam» (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Германия) — 30–40 полей зрения (об. 100, масляная иммерсия), содержащих не менее 500 профилей миелиновых нервных волокон (МВ). С помощью тестовой решетки равноудаленных точек [11] рассчитывали стереологические параметры: объемную плотность нервных волокон и эндоневрия. Используя программу ВидеоТест Мастер-Морфология 4.0, определяли площади ( $\text{мм}^2$ ) попереч-

### Сведения об авторе:

Варсегова Татьяна Николаевна (e-mail: [varstn@mail.ru](mailto:varstn@mail.ru)), лаборатория морфологии, «Российский научный центр „Восстановительная травматология и ортопедия” им. акад. Г. А. Илизарова», 640014, г. Курган, ул. М. Ульяновой, 6

ного среза нервного ствола, пучков нервных волокон (ПНВ), эпиневральной жировой ткани, средние диаметры (мкм) адипоцитов, эндоневральных артериол, венул и капилляров, МВ ( $D_{mf}$ ) и их аксонов ( $D_{ax}$ ), коэффициент  $G$  ( $D_{ax}/D_{mf}$ ), толщину миелиновой оболочки, фактор формы круга МВ их аксонов, средние площади (мкм<sup>2</sup>) эндоневральных артериол, венул и капилляров. Рассчитывали площадь эпиневрия и долю в нем жировой ткани. Подсчитывали количество эпиневральных сосудистых пучков, численную плотность микрососудов эндоневрия (количество сечений артериол и капилляров), численную плотность МВ и безмиелиновых волокон на 1 мм<sup>2</sup> площади. Строили гистограммы распределения МВ по диаметрам с шагом 1 мкм. Рассчитывали долю (%) реактивно-деструктивно измененных МВ и долю (%) ядродержащих профилей (ядерный индекс) в популяции крупных МВ (диаметром более 7 мкм).

Ультроструктуру исследовали при помощи сканирующего электронного микроскопа JSM-840 (Jeol, Япония). Фрагменты нервов, фиксированных в альдегидной смеси, промывали в воде, обезвоживали в этаноле, пропитывали «Камфеном» (3,3 диметил-2-метиленибциклогептаном) при температуре 51 °С, высушивали на воздухе при комнатной температуре до полной взгонки «Камфена» [8].

Информационный анализ на основании распределения МВ по диаметрам с вычислением энтропии по Шеннону (H, бит), относительной энтропии (h), избыточности (R, %) и организации (бит) проводили с использованием программы AtteStat версия 1.0 [5] в электронных таблицах Microsoft Excel.

**Результаты исследования.** Поверхностный малоберцовый нерв собаки является смешанным многопучковым нервом (рис. 1, а). Площадь поперечного сечения нервного ствола составляет  $0,955 \pm 0,116$  мм<sup>2</sup>. Внутривольное строение индивидуально изменчиво: в большинстве случаев на уровне средней трети голени состоит из 4–6 ПНВ (см. рис. 1), реже — из 2–3, объединенных в нервный ствол эпиневрием. Суммарная площадь ПНВ составляет  $0,325 \pm 0,027$  мм<sup>2</sup>, эпиневрия —  $0,6 \pm 0,1$  мм<sup>2</sup>, что соответствует 26,35 и 73,65% от общей площади поперечного сечения нерва. Глубокий эпиневрив, заполняющий все промежутки между отдельными ПНВ, и поверхностный эпиневрив, окружающий нервный ствол в целом (см. рис. 1, б), представлены рыхлой волокнистой соединительной тканью. Ее клеточный состав малочислен: встречаются клетки фибробластического ряда, главным образом фиброциты, периваскулярные клетки, реже макрофаги и тучные клетки.

В эпиневриве содержится белая жировая ткань, на долю которой приходится  $30,4 \pm 0,9\%$  его площади. Диаметр адипоцитов составляет  $39,5 \pm 1,4$  мкм, они имеют типичное строение (см. рис. 1, в).

Каждый ПНВ покрыт периневрием, внутренний слой которого представлен уплощенными периневральными клетками с цитоплазматическими отростками, расположенными концентрическими слоями (4–5 в крупных ПНВ), разделёнными тонкими прослойками коллагеновых волокон.

Клеточный состав внутри ПНВ отличается от эпиневривы главным образом благодаря присутствию шванновских клеток. Встречаются фибробласты, крайне редко — макрофаги и тучные клетки.

ПНВ малоберцового нерва различаются по соотношению количества миелиновых и безмиелиновых нервных волокон, что нужно учитывать при сравнительных гистоморфометрических исследованиях. В самом крупном ПНВ и пучках средней величины преобладают МВ (см. рис. 1, г). Среди МВ нормального строения выявляются единичные измененные волокна, составляющие  $1,92 \pm 0,31\%$  (см. рис. 1, г), с признаками расслоения, вакуолизацией, неровными контурами, неравномерной толщиной миелинового слоя и деформацией аксона.

Объемная плотность нейральных элементов составляет  $78,5 \pm 0,6\%$ , а эндоневрия —  $21,5 \pm 0,6\%$ . Численная плотность МВ —  $21\,335 \pm 505$  волокон, а безмиелиновых —  $16\,479 \pm 869$  волокон на 1 мм<sup>2</sup> площади пучка. Средний диаметр МВ —  $6,46 \pm 0,07$  мкм, аксонов —  $4,49 \pm 0,08$  мкм, толщина миелинового слоя —  $1,04 \pm 0,04$  мкм,  $G$  —  $0,679 \pm 0,010$ . Ядерный индекс составляет  $2,63 \pm 0,18\%$ , фактор формы МВ —  $0,788 \pm 0,020$ , их аксонов —  $0,65 \pm 0,03$ .

МВ имеют диаметр от 2 до 13 мкм (волокна диаметром менее 2 мкм и более 13 мкм единичны, их доля менее 1%). Гистограмма распределения МВ по диаметрам имеет бимодальный характер: первая мода находится в диапазоне 3,1–5,0 мкм, вторая — 8,1–10,0 мкм (рис. 2), и левый пик гистограммы превышает правый на 5%. Доля мелких (диаметр 2,0–4,0 мкм) волокон составляет  $23,3 \pm 1,9\%$ , средних (4,1–7,0 мкм) —  $36,5 \pm 2,5\%$ , крупных (более 7,1 мкм) —  $40,2 \pm 1,1\%$ .

Анализ распределения МВ по спектру диаметра обнаружил следующие значения интегральных критериев: H составила 3,243 бит, h — 0,937, R — 6,259% и организация — 0,217 бит. Большие значения энтропии по Шеннону обусловлены гетероморфностью популяции МВ, а также значительным количеством (77%) средних и крупных МВ.

Сосудистая сеть поверхностного малоберцового нерва представлена продольно расположенными магистральными сосудами (см. рис. 1, в), циркулярно ориентированными сегментарными сосудами и двумя — эпи- и эндоневральным микроциркуляторными руслами. На поперечных срезах сосудистые модули, включающие артерию и вену малого калибра, обнаруживаются в местах перехода поверхностного эпиневрива в глубокий, их насчитывается, в среднем, всего  $1,5 \pm 0,3$ .

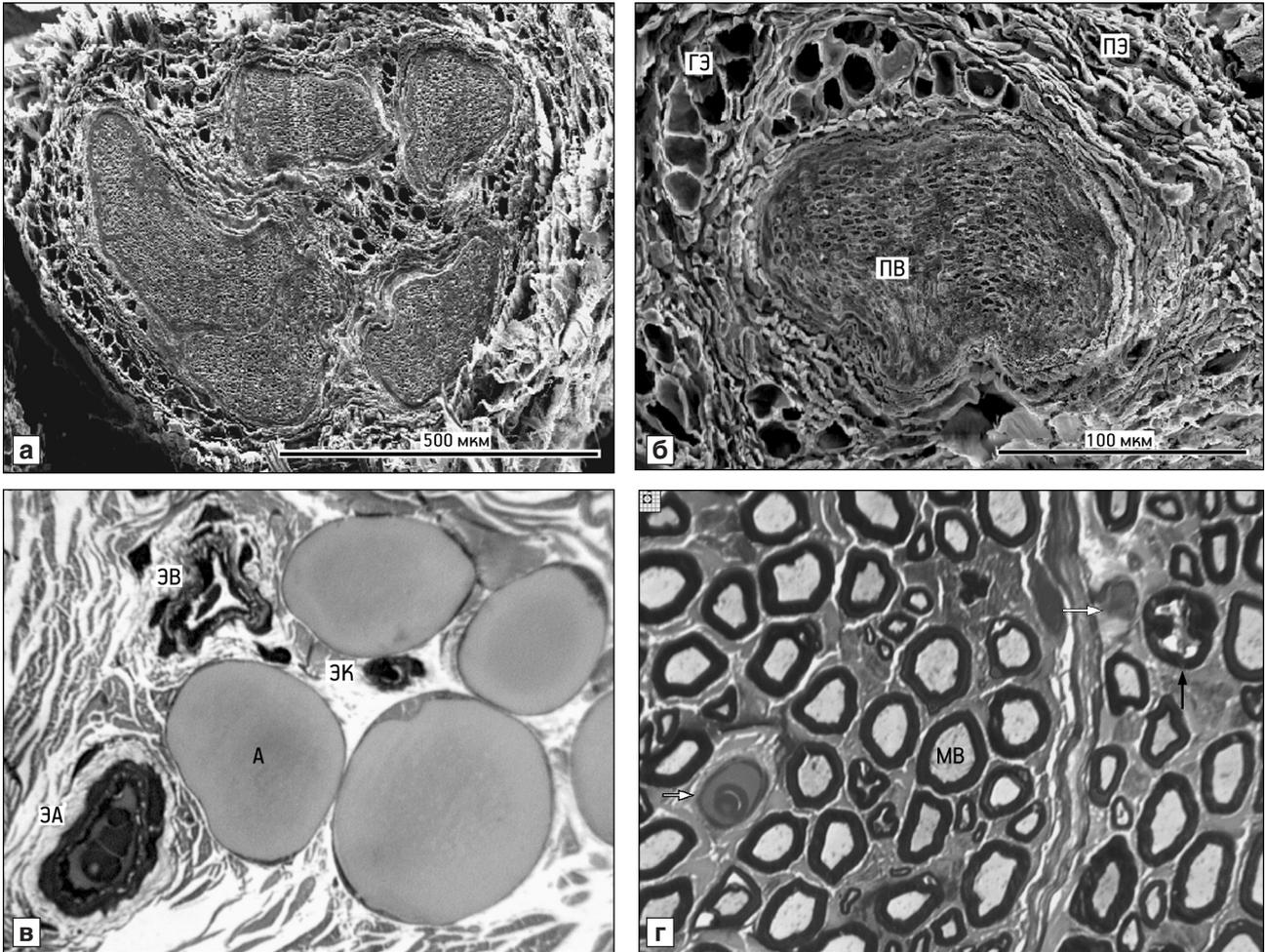


Рис. 1. Поверхностные малоберцовые нервы взрослых (1 год) собак.

а — тотальный поперечный срез; б — пучок нервных волокон (ПВ); поверхностный эпиневрй (ПЭ); глубокий эпиневрй (ГЭ); в — эпиневрй: эпиневральная артерия (ЭА), эпиневральная вена (ЭВ), эпиневральный капилляр (ЭК), адипоцит (А); г — фрагмент пучка нервных волокон. МВ — миелиновое нервное волокно; черная стрелка — деструктивно измененное МВ; белые стрелки — эндоневральные микрососуды. а, б — сканирующая электронная микроскопия; в, г — окраска метиленовым синим и основным фуксином. Ув.: в, г — об. 40, ок. 12,5

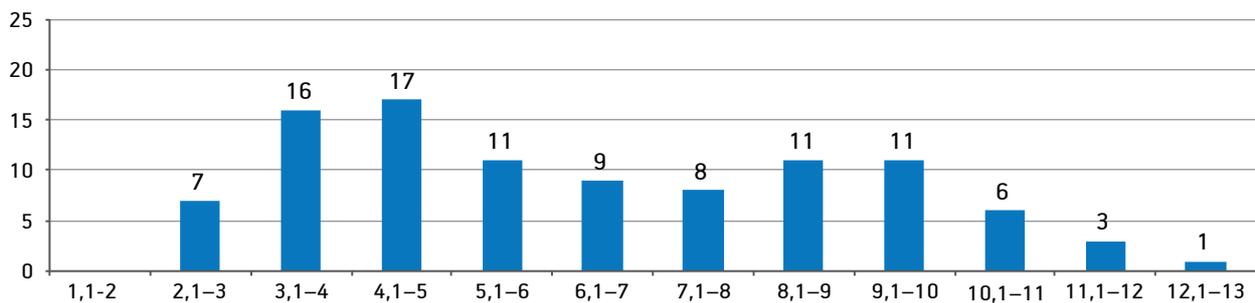


Рис. 2. Гистограмма распределения миелиновых нервных волокон по диаметрам в поверхностном малоберцовом нерве собак. По оси абсцисс — размерные классы волокон (мкм); по оси ординат — доля волокон каждого класса (%)

Периневрй малоберцового нерва не имеет сосудов обменного типа, его лишь прободают идущие в эндоневрий ветви магистральных и циркулярных артерий и вен. Морфометрическое исследование микроциркуляторного русла эндоневрия показало, что численная плотность артериол, венул и капилляров составляет  $142 \pm 9$  в  $1 \text{ мм}^2$ ,

средний диаметр —  $8,8 \pm 1,8$  мкм, площадь —  $30 \pm 7$  мкм<sup>2</sup>. Из них  $29 \pm 5\%$  имеют щелевидные просветы,  $71 \pm 5\%$  — открытые просветы.

Обсуждение полученных данных. Исследование показало, что поверхностный малоберцовый нерв, как и большеберцовый нерв собаки [3, 4], является смешанным многопучковым

нервом. ПНВ различаются по соотношению количества миелиновых и безмиелиновых нервных волокон, что необходимо учитывать при сравнительных гистоморфометрических исследованиях. Популяция МВ гетероморфна, со значительным количеством (более 77%) волокон среднего и крупного размера, что обуславливает высокие значения энтропии по Шеннону.

Результаты изучения эпинеуральной васкуляризации поверхностного малоберцового нерва у интактных беспородных собак свидетельствуют о его скудном кровоснабжении — 1–2 эпинеуральных сосудистых модуля, представленных артериями и венами малого калибра. Эти данные согласуются с исследованиями кровоснабжения периферических нервов седалищно-берцового комплекса у людей [13, 15]: общий малоберцовый нерв чаще всего питает одна продольная ветвь подколенной артерии, а седалищный и большеберцовый — многочисленные артериальные ветви различного происхождения, обеспечивающие им коллатеральное кровообращение. Разреженной природой внутреннего кровоснабжения объясняется повышенная уязвимость и восприимчивость малоберцового нерва и его ветвей к различным патологическим воздействиям, перерастяжению и сжатию [13, 15].

Полученные морфологические и морфометрические показатели поверхностного малоберцового нерва у интактных взрослых беспородных собак могут служить показателями нормы при изучении патологических изменений нервной системы и различного рода экспериментальных воздействий.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Акимов Г.А., Одинак М.М. Дифференциальная диагностика нервных болезней: Руководство для врачей. СПб.: Гиппократ, 2001.
- Аранович А.М., Диндиберя Е.В., Климов О.В., Новиков К.И. Ошибки и осложнения при удлинении голени у больных ахондроплазией // Травматол. и ортопед. России. 2005. Т. 34, № 1. С. 36–38.
- Варсегова Т.Н. Морфологическая и морфометрическая характеристика большеберцового нерва собак // Вет. пат. 2010. Т. 33, № 2. С. 29–35.
- Варсегова Т.Н. Возрастная динамика морфометрических показателей большеберцового нерва собак // Морфология. 2012. Т. 42, вып. 6. С. 36–40.
- Гайдышев И.П. Анализ и обработка данных: специальный справочник. СПб.: Питер, 2001.
- Горбач Е.Н., Ступина Т.А., Варсегова Т.Н., Еманов А.А. Изучение динамики костеобразования, состояния суставного хряща и большеберцового нерва при повышенном темпе удлинения голени автодистрактором в эксперименте // Успехи современного естествознания. 2013. № 7. С. 42–47.
- Калмин О.В., Паткина И.В. Сравнительная характеристика внутривольного строения большеберцового и общего мало-

берцового нервов в зрелом возрасте // Вестн. новых мед. технол. 2007. Т. 14, № 3. С. 38–40.

- Патент РФ № 2397472. Способ подготовки образцов биологических тканей для исследования в сканирующем электронном микроскопе. Изобретения. Полезные модели / Т.А. Силантьева, Е.Н. Горбач, Ю.М. Ирьянов, Т.А. Ступина, Т.Н. Варсегова // Официальный бюллетень Федеральной службы по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам. 2008. № 23. С. 1–5.
- Хабиров Ф.А. Клинические варианты перонеальной невропатии // Практическая медицина. 2014. Т. 78, № 2. С. 7–17.
- Шевцов В.И., Ступина Т.А., Щудло М.М., Ерофеев С.А. Морфофункциональная характеристика суставного хряща наружного мыщелка бедра при удлинении голени собак // Гений ортопедии. 2004. № 1. С. 39–44.
- Щудло М.М., Ступина Т.А., Щудло Н.А. Количественный анализ метахромазии суставного хряща в телепатологии // Известия Челябинского НЦ (УРО РАН), спец. вып. 2004. 25. С. 17–22.
- Braund K.G., McGuire J.A., Lincoln C.E. Age-related changes in peripheral nerves of the dog. I. A morphologic and morphometric study of single-teased fibers // Vet. Pathol. 1982. Vol. 19, № 4. P. 365–378.
- Kadiyala R.K., Ramirez A., Taylor A.E. et al. The blood supply of the common peroneal nerve in the popliteal fossa // J. Bone Joint Surg Br. 2005. Vol. 87, № 3. P. 337–342.
- Simpson A.H.R.W., Halliday J., Hamilton D.F. et al. Limb lengthening and peripheral nerve function-factors associated with deterioration of conduction // J. Acta Orthopaed. 2013. Vol. 84, № 6. P. 579–584.
- Ugrenovic S.Z., Jovanovic I.D., Kovacevic P. et al. Similarities and dissimilarities of the blood supplies of the human sciatic, tibial, and common peroneal nerves // Clin. Anat. 2013. Vol. 26, № 7. P. 875–882.

Поступила в редакцию 24.08.2016

Получена после доработки 24.12.2016

#### MORPHOLOGICAL AND MORPHOMETRIC CHARACTERISTICS OF SUPERFICIAL PERONEAL NERVE IN DOGS

*T.N. Varsegova*

Superficial peroneal nerve was studied in adult (1–3 years old) clinically normal mongrel dogs (n=5) using the methods of scanning electron microscopy and morphometry on total semi-thin (1  $\mu\text{m}$ ) araldite sections. Nerve trunks were found to be formed by many bundles; they had scant blood supply by 1–2 epineural magistral small-caliber arteries. The numerical density of arterioles, venules and capillaries in the endoneural microcirculatory bed endoneurium was equal to  $141.8 \pm 8.7$  in  $1 \text{ mm}^2$ . Major part of these vessels (71%) had open lumina, while in 29% it was slit-shaped. The mean diameter of myelin fibers was  $6.46 \pm 0.07 \mu\text{m}$ , that of their axons —  $4.50 \pm 0.08 \mu\text{m}$ , the thickness of the myelin layer was  $1.04 \pm 0.04 \mu\text{m}$ . Medium and large caliber myelinated fibers prevailed (77%), resulting in high values of Shannon entropy (3.243 bits).

**Key words:** *superficial peroneal nerve, morphometry, information analysis*

Laboratory of Morphology, Russian Ilizarov Scientific Center Restorative Traumatology and Orthopedics, Kurgan