

А.С.Карапетян, Т.А.Румянцева и П.В.Лебедев

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ НЕРВОВ ПО АКТИВНОСТИ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ

Кафедра анатомии человека (зав. — проф. Т. А. Румянцева), Ярославская государственная медицинская академия

Целью исследования явилось установление возможности оценки состояния периферического нерва по активности ацетилхолинэстеразы (АХЭ). В результате серии экспериментов на крысах удалось модифицировать способ выявления активности АХЭ на срезах периферических нервов (приоритетная справка № 2013157128 от 23.12.2013 г.) и показать, что интенсивность реакции зависит от состояния волокон. При атрофических процессах активность фермента снижается, а при прорастании волокон — резко возрастает. Доказано, что используя в качестве критерия интенсивность реакции на АХЭ, можно оценить состояние нерва в течение 1–2 ч, что может быть использовано в дальнейшем во время реконструктивных операций (интраоперационно).

Ключевые слова: периферические нервы, нервные волокна, ацетилхолинэстераза, реконструктивные операции

Проблема лечения травматических повреждений периферических нервов сохраняет свою актуальность, поскольку травмы периферических нервов составляют 1,5–6% в структуре всех травм верхних конечностей [1, 4, 5]. Для восстановления функции поврежденных нервов существуют большое количество реконструктивных операций, выполнение которых зачастую требует контроля регенерации нерва [1, 3]. Для этого пользуются исследованием электропроводимости по нерву или перкуссионной по ходу нерва (признак Тиннеля), что не всегда является информативным. Для того чтобы в минимально короткое время интраоперационно точно определить состояние нерва, необходимо использовать морфологический экспресс-метод. Разработка таких методов является актуальной проблемой современной реконструктивной хирургии.

Целью исследования явилось установление возможности оценки состояния периферического нерва по активности ацетилхолинэстеразы (АХЭ).

Работа выполнена на 15 крысах-самцах линии Вистар массой 220–350 г. Активность АХЭ определяли на продольных и поперечных криостатных срезах нервов толщиной 40 мкм авторским методом (приоритетная справка № 2013157128 от 23.12.2013), представляющим собой модификацию метода Карновского—Рутса [2] с измененным составом инкубационной среды, адаптированного к поставленной задаче — оценке состояния травмированного или банкированного на предыдущих этапах операции нерва путем биопсии во время выполнения реконструктивной операции (в течение 1–2 ч).

Крысы были разделены на 3 группы: интактные (n=5), крысы через 1 мес после перерезки седалищного нерва (n=5), крысы через 3 мес после сшивания нерва «конец в бок» (n=5). У интактных животных оценивали активность АХЭ на срезах седалищного нерва (рисунки, а). У крыс 2-й группы был удален участок седалищного нерва длиной 5–7 мм. Спустя 1 мес у крыс брали на исследование дис-

тальный и проксимальный по отношению к зоне перерезки фрагменты нерва. У крыс 3-й группы выделяли большеберцовый и малоберцовый нервы, после чего малоберцовый нерв перерезали и производили микрохирургический шов малоберцового нерва к большеберцовому по типу «конец в бок» нитками Нейлон 10/0 [3, 5]. Спустя 3 мес у крыс под уретановым наркозом брали на исследование проксимальный и дистальный участки нервов в месте шва. При взятии материала, манипуляциях с животными, операциях соблюдали «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных».

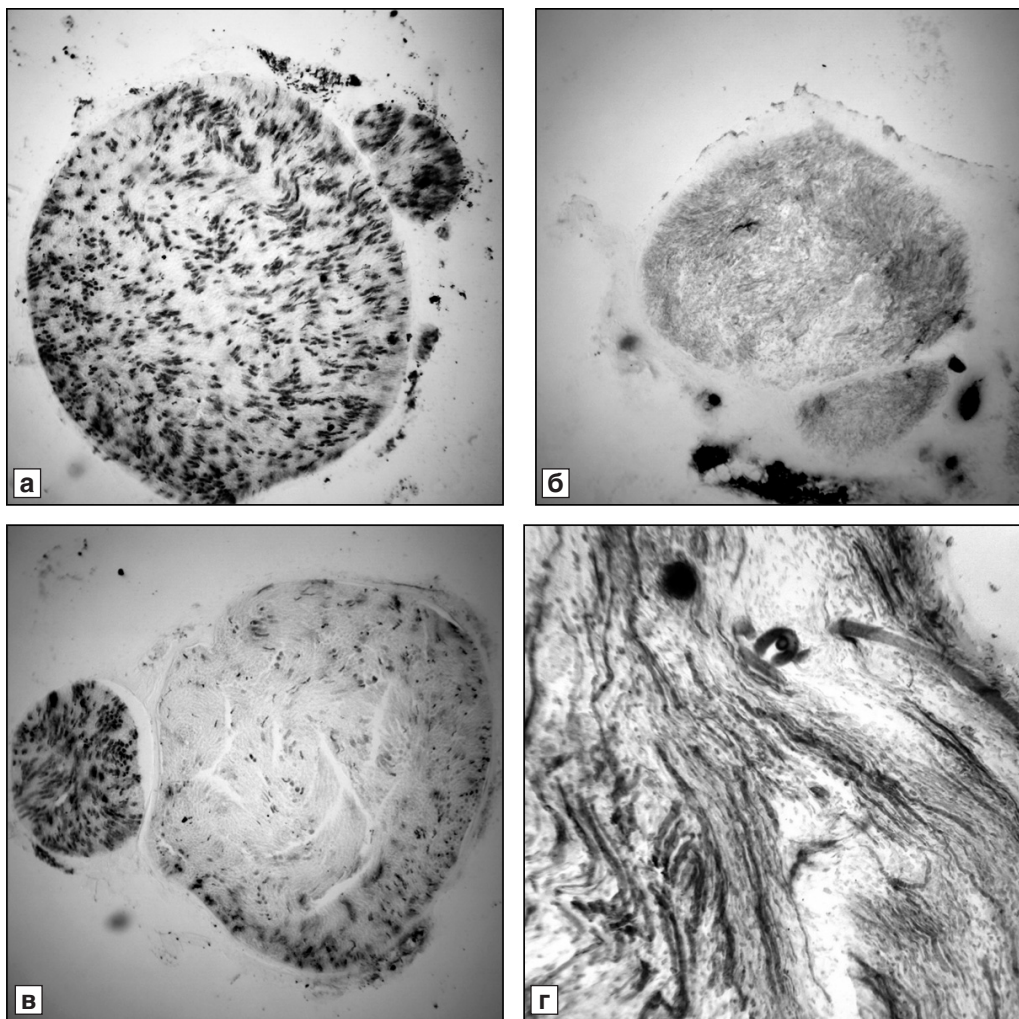
Конечный продукт реакции на АХЭ в интактном нерве определялся в осевых цилиндрах волокон (см. рисунок, г). Миелиновые оболочки не обладают активностью АХЭ. При исследовании нервов у крыс 2-й группы дистальные (см. рисунок, б) и проксимальные (см. рисунок, в) фрагменты перерезанного нерва имели отличия в уровне реакции. Количество АХЭ-позитивных осевых цилиндров (для простоты изложения в дальнейшем — волокон) в дистальном фрагменте нерва было снижено по сравнению с проксимальным и интактными нервами, отражая, по-видимому, атрофические изменения в дистальном отрезке, наблюдаемые при повреждениях.

В 3-й группе крыс на срезах фрагмента нерва в месте шва наблюдалось прорастание АХЭ-позитивных волокон (см. рисунок, г), для которых характерно повышение уровня обменных процессов, что проявляется и увеличением активности АХЭ.

Таким образом, в результате серии экспериментов удалось показать, что интенсивность реакции на АХЭ в нерве зависит от состояния волокон в нем. При атрофических процессах активность фермента снижается, а при прорастании волокон — резко возрастает. Используя гистохимические критерии оценки состояния нерва по интенсивности реакции, поставленной по авторской прописи, можно оценивать

Сведения об авторах:

Румянцева Татьяна Анатольевна (e-mail: rum-yar@mail.ru), кафедра анатомии человека;
Карапетян Армен Славикович (e-mail: a2311@inbox.ru), Лебедев Павел Владимирович (e-mail: paw.lebedeff2011@yandex.ru), педиатрический факультет, Ярославская государственная медицинская академия, 150000, г. Ярославль, ул. Революционная, 5



Ацетилхолин (АХЭ)-позитивные волокна в седалищном нерве крысы.

а — высокая активность АХЭ в волокнах интактного нерва; б — дистальный фрагмент нерва на 30-е сутки после его перерезки, почти полное отсутствие реакции на АХЭ; в — проксимальный фрагмент нерва на 30-е сутки после его перерезки, снижение количества АХЭ - позитивных волокон; г — высокая активность АХЭ в прорастающих нервных волокнах на 30-е сутки в зоне шва нерва. а-в — поперечные срезы; г — продольный срез через место шва. Модифицированный метод выявления АХЭ. а-в — об.10, ок.8; г — об.40, ок.8

состояние нерва во время реконструктивных операций в течение 1–2 ч.

ЛИТЕРАТУРА

1. Куринный И. Н. Хирургическое лечение застарелой сочетанной травмы срединного и локтевого нервов: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Киев, 1991.
2. Луппа Х. Основы гистохимии. М., Мир, 1980.
3. Bontioti E., Kanje M., Lundborg G. and Dahlin LB. End-to-side nerve repair in the upper extremity of rat. *J. Peripher. Nerv. Syst.*, 2005, v. 10, № 1, p. 58–68.
4. Portincasa A., Gozzo G., Parisi D. et al. Microsurgical treatment of injury to peripheral nerves in upper and lower limbs: a critical review of the last 8 years. *Microsurgery*, 2007, v. 27, № 5, p. 455–462.
5. Terzis J. K. An Exciting New Concept in Facial Reanimation. *The Facial Nerve*. Amsterdam, Kugler & Ghedini Publications, 1988.

Поступила в редакцию 21.05.2014
Получена после доработки 16.07.2014

ASSESSMENT OF PERIPHERAL NERVE STATE BASED ON ACETYLCHOLINESTERASE ACTIVITY

A.S.Karapetyan, T.A.Rumyantseva and P.V.Lebedev

The aim of the study was to establish the possibility of assessment of the state of peripheral nerve based on acetylcholinesterase (AChE) activity. In a series of experiments on rats, the method for demonstration the of AChE activity on the sections of the peripheral nerves was modified (priority reference № 2013157128 of 23.12.13) and it was shown that the reaction intensity depended upon the state of the nerve fibers. During the atrophic processes, the enzyme activity decreased, while it was dramatically increased during fiber sprouting. It was shown that by using the intensity of AChE reaction as a criterion, the state of the nerve could be evaluated within 1–2 hours, which may be used later during the reconstructive operations (intraoperatively).

Key words: *peripheral nerves, nerve fibers, acetylcholinesterase, reconstructive surgery*

Department of Human Anatomy, Yaroslavl' State Medical Academy