

© Г.Д. Сафонова, С.В. Панасенко, 2011
УДК 611.827:636.7

Г.Д. Сафонова и С.В. Панасенко

ДИНАМИКА СТРУКТУРНЫХ ПРЕОБРАЗОВАНИЙ В ДОРСАЛЬНЫХ КОРЕШКАХ СПИННОМОЗГОВЫХ НЕРВОВ У РАСТУЩИХ СОБАК

Лаборатория морфологии (зав. — проф. Ю.М. Ирьянов), Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова, г. Курган, e-mail: galdm@mail.ru

Выполнены морфологические и морфометрические исследования дорсальных корешков спинномозговых нервов (сегмент S_1) 9 беспородных собак в возрасте 2, 5 и 10 мес. Использованы продольные парафиновые срезы, импрегнированные нитратом серебра, и полутонкие поперечные срезы, окрашенные метиленовым синим — основным фуксином. Выявлены общие закономерности структурной организации, особенности расположения нервных волокон в обозначенные возрастные периоды. С возрастом прослеживается утолщение дорсальных корешков (наиболее выраженное до 5 мес) наряду с увеличением диаметра и изменениями в соотношении малых, средних и крупных миелиновых нервных волокон, уменьшением их количества на единице площади среза.

Ключевые слова: *корешки спинномозговых нервов, миелиновые нервные волокна, морфометрия, собака*

Дорсальные корешки спинномозговых нервов являются уникальным объектом исследований и представляют значительный интерес при изучении афферентного звена двигательного анализатора, поскольку в основном состоят из центральных отростков нейронов чувствительных узлов спинномозговых нервов. Экспериментальные и клинические исследования, касающиеся данного анатомического объекта, посвящены преимущественно вопросам выживания чувствительных нейронов или регенерации их отростков после центральной аксотомии, изучения болевой чувствительности [2, 3, 7, 8].

Актуальность данной работы обусловлена тем, что существует необходимость выполнения экспериментальных исследований на крупных животных, в частности, при удлинении конечности методом чрескостного дистракционного остеосинтеза используются беспородные собаки. В доступной литературе не обнаружено информации, касающейся формирования корешков спинномозговых нервов в процессе роста собак, изменения их количественных и размерных характеристик.

Цель настоящего исследования — изучение строения дорсальных корешков спинномозговых нервов растущих беспородных собак, морфометрических характеристик миелиновых нервных волокон в составе корешков, анализ распределения данных волокон по их диаметру.

Материал и методы. Исследовали дорсальные корешки спинномозговых нервов (сегмент S_1) 9 собак в возрасте 2, 5 и 10 мес. Содержание, уход и эвтаназия животных

выполнены в соответствии с приказом МЗ СССР «О гуманном обращении с экспериментальными животными» №755 от 12.08.1977 г. и «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приказ Минвуза от 13.11.1984 г. № 724).

Материал фиксировали в 12 % растворе нейтрального формалина для изготовления парафиновых блоков и продольных, импрегнированных нитратом серебра, гистологических препаратов толщиной 10 мкм. Часть материала фиксировали в смеси глутаральдегида и параформальдегида, дополнительно фиксировали в четырехокиси осмия и заключали в аралдит. Поперечные полутонкие срезы корешков окрашивали метиленовым синим — основным фуксином.

Изучение строения дорсальных корешков и их гистоморфометрические исследования проводили с помощью светового микроскопа фирмы «Ортон» (Германия), оцифровку изображений — с использованием АПК «DiaMorph» (Россия). На оцифрованных изображениях поперечных полутонких срезов с использованием программы «ВидеоТест 4.0 Мастер Морфология» (Россия) при увеличении 31,25 измеряли площадь поперечного сечения дорсальных корешков (в мм^2), а также при увеличении 1250 — диаметры (в микрометрах) не менее 500 миелиновых нервных волокон у каждого животного, определяли фактор формы, толщину миелиновой оболочки, подсчитывали количество волокон на стандартной площади среза. Для получения информации о форме и размерных характеристиках исследуемых объектов использовали рекомендуемые в руководстве к обозначенной программе параметры: фактор формы круга (фактор формы круга равен 1, при увеличении изрезанности периметра его значение уменьшается), диаметры Фере (для характеристики размеров элементов любой формы), а также вычисляли диаметр круга, эквивалентного по площади измеряемому элементу (размеры по моделям). На основе полученных количественных данных, строили гистограммы распределения миелиновых нервных волокон по диаметрам с шагом 1,0 мкм [1]. Статистическую обработку данных выполняли, используя программу Microsoft Excel.

Результаты исследования. На поперечных срезах дорсальные корешки спинномозговых нервов имели овальную или круглую форму, несколько больший размер, чем прилежащие к ним вентральные корешки. Наиболее крупные кровеносные сосуды расположены вдоль корешка в волокнистой соединительной ткани — в участках перехода поверхностного эпинеурия в глубокий. В прослойках эндоневрия наблюдались множество мелких кровеносных сосудов.

Для поперечного сечения дорсальных корешков спинномозговых нервов сегмента S_I у щенков в возрасте 2 мес характерна овальная форма (таблица). Площадь поперечного сечения составила 0,220±0,023 мм². В изученных корешках определялись несколько сегментов различной формы, разделенных прослойками соединительной ткани. Нервные волокна в составе пучков располагались продольно, наблюдалась их умеренная волнообразность, более выраженная в средней части корешков (рис. 1, а). На поперечных срезах выявлялось значительное количество волокон малого диаметра.

В результате морфометрического анализа препаратов дорсальных корешков обнаружена вариабельность диаметров миелиновых нервных волокон в диапазоне от 1,0 до 13,0 мкм (лишь единичные волокна имели диаметр более 13 мкм). Для гистограмм распределения данного признака у щенков в возрасте 2 мес характерна нечетко выраженная бимодальность (рис. 2, а). Значительнее представлена популяция миелиновых нервных волокон диаметром от 2 до 4 мкм (38,53%). Толщина миелиновой оболочки исследованных нервных волокон варьировала от 0,11 до 2,58 мкм (0,970±0,0021 мкм), фактор формы составил 0,730±0,003.

Для щенков в возрасте 5 мес более характерна круглая форма дорсальных корешков (см. таблицу), при этом площадь их поперечного сечения составила 0,459±0,026 мм². В составе данных анатомических образований имелись 2–3 пучка, в которых определялись несколько сегментов различной формы и величины, разделенных тонкими соединительнотканными прослойками. Один из пучков был наиболее крупным на поперечном сечении, овальной формы, его площадь составляла 53,57–84,45% от площади всего корешка. Более мелкие пучки (обычно треугольной формы) прилежали друг к другу довольно плотно, в отдельных участках можно было наблюдать небольшие периневральные пространства. Большинство нервных волокон в составе пучков ориентированы параллельно оси корешков, при этом волнообраз-

Характеристика дорсальных корешков спинномозговых нервов сегмента S_I у собак различного возраста ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Использованный показатель	Возраст собак, мес		
	2	5	10
Диаметр поперечного сечения дорсальных корешков, мм:			
минимальный	0,415±0,021	0,710±0,020	0,613±0,011
максимальный	0,689±0,010	0,86±0,04	1,003±0,021
средний	0,57±0,03	0,79±0,03	0,834±0,010
Доля нервных волокон различного диаметра, %:			
1,0–5,0 мкм	52,42	55,63	32,87
5,1–9,0 мкм	39,90	28,14	39,37
9,1–16,0 мкм	7,68	16,23	27,79

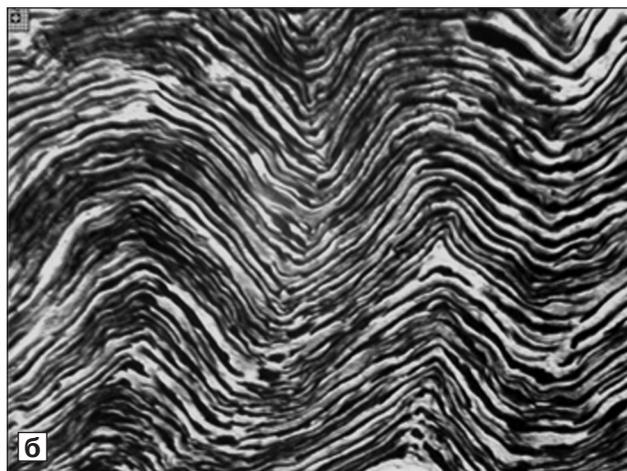
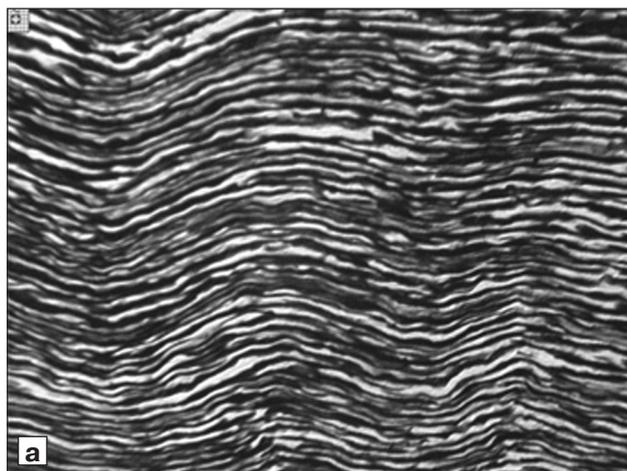


Рис. 1. Расположение нервных волокон в дорсальных корешках спинномозговых нервов щенков в возрасте 2 мес (а) и 5 мес (б).

Импregnация нитратом серебра по Е.И. Рассказовой. Ув. 200.

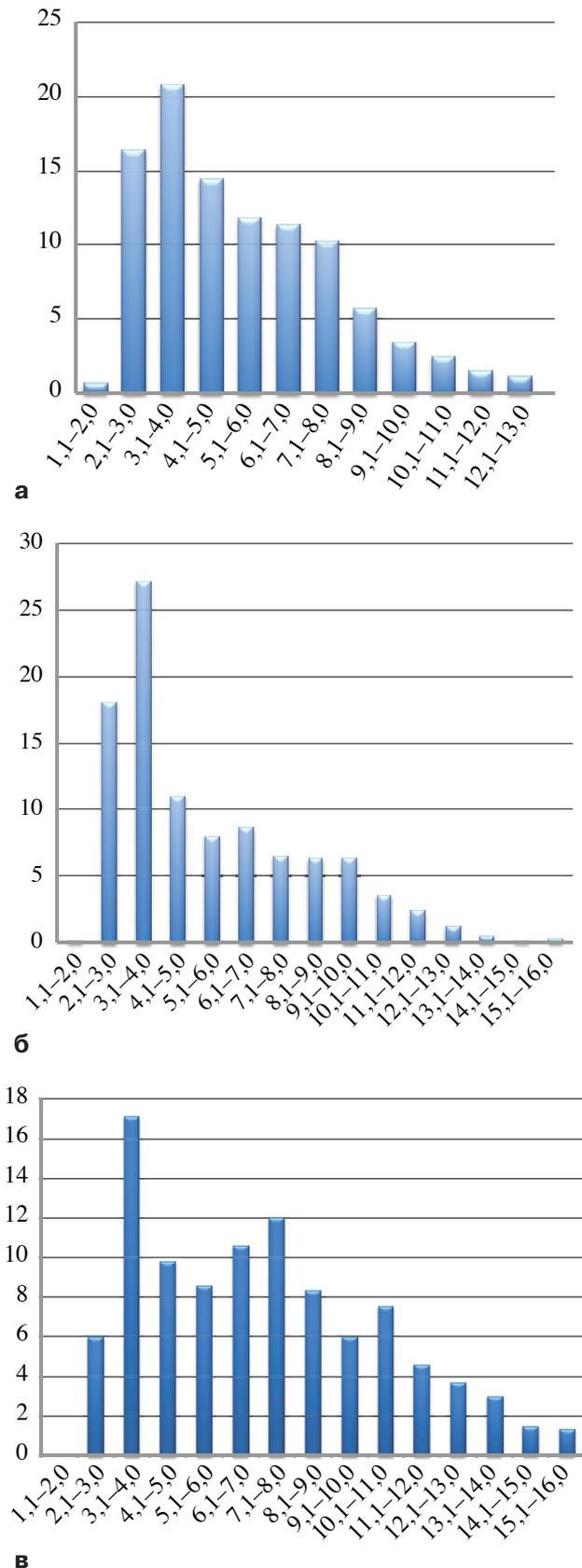


Рис. 2. Распределение нервных волокон по диаметрам в дорсальных корешках спинномозговых нервов сегмента S_1 у собак в возрасте 2 мес (а), 5 мес (б) и 10 мес (в). По оси абсцисс — диаметр волокон (мкм); по оси ординат — доля нервных волокон соответствующего диаметра (%).

ность нервных проводников у собак в возрасте 5 мес была более выражена — увеличена высота и уменьшена длина волн, в отдельных участках прослеживалась гофрированность (см. рис. 1, б). Диаметры подавляющего большинства миелиновых нервных волокон (96%) варьировали от 2 до 13 мкм (волокна, имеющие диаметр от 1 до 2 мкм и достигающие 14–16 мкм, были единичны). Гистограммы распределения миелиновых нервных волокон по диаметрам бимодальны, при этом наиболее выражен пик, соответствующий доле волокон диаметром от 2 до 4 мкм, которые составили 46% от общего количества волокон (см. рис. 2, б). Толщина миелиновой оболочки нервных волокон у щенков в возрасте 5 мес варьировала от 0,27 до 2,86 мкм ($0,910 \pm 0,0011$ мкм), фактор формы равен $0,830 \pm 0,0020$.

У щенков в возрасте 10 мес на поперечном срезе дорсальные корешки спинномозговых нервов имели овальную форму (см. таблицу), практически не различались по толщине у отдельных животных. В составе данных анатомических образований прослеживалось не менее двух нервных пучков, в которых, в свою очередь, определялись несколько сегментов. На протяжении корешка изменялись форма, размеры, взаиморасположение указанных структурных компонентов, а также наличие и выраженность периневральных пространств. Площадь поперечного сечения исследованных корешков составила $0,468 \pm 0,009$ мм². Нервные волокна также располагались вдоль корешков, волнообразность была выражена в меньшей степени.

У собак этого возраста дорсальные корешки содержали миелиновые нервные волокна преимущественно диаметром от 2 до 16 мкм (волокна, имеющие диаметр от 1 до 2 мкм и достигающие 17 мкм, были единичны). В гистограмме распределения определялись три отчетливо выраженных пика. При этом первому пику гистограммы соответствовали миелиновые нервные волокна диаметром от 3 до 4 мкм, которые составили 17,08%, второму — от 7 до 8 мкм (11,98%), третьему — от 10 до 11 мкм (7,53%). Первый пик гистограммы был островершинным, 2 последующие — имели более сглаженные контуры (см. рис. 2, в). Ширина и форма индивидуальных и усредненной гистограмм распределения миелиновых нервных волокон по диаметрам практически не различались. Толщина миелиновой оболочки нервных волокон у животных данной возрастной группы варьировала от 0,33 до 2,8 мкм ($1,150 \pm 0,011$ мкм), фактор формы составил $0,770 \pm 0,003$.

В соответствии с выявленным распределением по диаметру доля мелких, средних и крупных нервных волокон в дорсальных корешках у собак различного возраста представлена в таблице.

У животных в возрасте 5 мес прослежено увеличение доли крупных миелиновых нервных волокон по сравнению с таковой в возрасте 2 мес в 2 раза, к 10 мес их доля увеличилась в 3,7 раза от общего числа исследованных нервных проводников. В группе средних миелиновых нервных волокон существенных различий не прослеживалось, однако доля мелких миелиновых нервных волокон к 10 мес уменьшена в 1,6 раза по сравнению с показателями у животных в возрасте 2 и 5 мес (см. таблицу).

Обсуждение полученных данных. В процессе внутриутробного и постнатального периодов онтогенеза закономерно происходит последовательное увеличение размеров различных анатомических объектов, в частности, позвоночника и прилежащих нервных структур [4–6]. В нашем исследовании прослежен рост дорсальных корешков спинномозговых нервов, при этом увеличение площади их поперечного сечения в период от 2 до 5 мес происходит более чем в 2 раза, тогда как в период от 5 до 10 мес данный параметр изменяется незначительно. В указанные периоды изменяется форма исследуемых объектов (овальная — округлая — овальная), о чем свидетельствует соотношение минимальных и максимальных диаметров корешков. Возможно, это объясняется, помимо естественного роста их структурных составляющих, особенностями расположения нервных волокон в пучках — более выраженной волнообразностью в возрасте 5 мес и их распрямлением в последующем.

В частности, постепенное увеличение представительства более крупных проводников в составе дорсальных корешков также соотносимо с естественными процессами роста. Проведенный их морфометрический анализ показал, что диаметры миелиновых нервных волокон в группах щенков 2 и 5 мес представлены в меньшем диапазоне — от 1,0 до 13,0 мкм. В процессе постнатального онтогенеза наблюдается увеличение диаметров нервных волокон: в возрасте 10 мес гистограмма распределения нервных волокон по их диаметрам представлена показателями в диапазоне от 2,0 до 16,0 мкм, т.е. сдвинута вправо и увеличена на 3 разряда, при этом появляется третий пик, что свидетельствует о более явных структурных различиях, разделении афферентных проводников на 3 группы в соответствии с их размерами. Известно, что нейроны чувствительных узлов

спинномозговых нервов, центральные отростки которых формируют дорсальные корешки, по размерным характеристикам подразделяются на малые, средние и крупные, а также на субпопуляции в соответствии с функциональными и фенотипическими особенностями [7, 9, 10].

В процессе постнатального развития укрупнение афферентных проводников сопровождалось соответствующим увеличением толщины миелиновой оболочки, при этом характерно последовательное возрастание минимальных размеров — от 0,11 мкм в возрасте 2 мес до 0,33 мкм в 10 мес.

Количество миелиновых нервных волокон на единице площади поперечного среза дорсальных корешков у собак к 10 мес снижено на 41,60% по сравнению с аналогичными показателями у щенков в возрасте 2 мес и на 38,20% — 5 мес, что свидетельствует о постепенном неравномерном укрупнении нервных проводников в рассматриваемые периоды постнатального развития.

Таким образом, проведенное исследование позволило выявить общие закономерности структурной организации и особенности строения дорсальных корешков спинномозговых нервов сегмента S_1 у собак в период от 2 до 10 мес, получить основные морфометрические характеристики. Установлено, что увеличение поперечных размеров дорсальных корешков наиболее выражено в период до 5 мес, укрупнение миелиновых нервных волокон происходит неравномерно в течение всего изученного времени постнатального развития, сопровождается уменьшением их количества на единице площади поперечного среза и изменением соотношения малых, средних и крупных волокон.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М., Практика, 1998.
2. Древаль О.Н., Кривицкая Г.Н. и Акатов О.В. Морфологическое обоснование патогенетических предпосылок к противоболевым операциям в области входных зон задних корешков. *Вопр. нейрохир.*, 1996, № 4, с. 22–25.
3. Колосова Л.И., Ноздрачев А.Д., Моисеева А.Б. и др. Восстановление механорецепции на начальной стадии регенерации поврежденного седалищного нерва крысы в условиях центральной аксотомии сенсорных нейронов. *Рос. физиол. журн.*, 2003, т. 89, № 5, с. 579–584.
4. Кравчук Е.И. Количественный анализ нейроцитов поясничных спинномозговых узлов человека во второй половине внутриутробной жизни. *Морфол. ведомости*, 2006, № 1–2, приложение № 1, с. 144–145.
5. Маслюков П.М., Фатеев М.М. и Шилкин В.В. Асимметрия нейронной организации звездчатого (шейно-грудного) узла кошки в постнатальном периоде онтогенеза. *Морфология*, 1999, т. 115, вып. 3, с. 65–67.

6. Сергеев А.И., Калиниченко В.М. и Смирнова Л.А. Развитие позвоночного столба, спинного мозга и корешков спинномозговых нервов у плодов человека. Морфология, 2008, т. 131, вып. 2, с. 121.
7. Чельшев Ю.А., Рагинов И.С., Гусева Д.С. и Масгутов Р.Ф. Выживание и фенотипическая характеристика аксотомированных нейронов спинальных ганглиев. Морфология, 2004, т. 125, вып. 3, с. 45–49.
8. Darian-Smith Corinna. Primary afferent terminal sprouting after a cervical dorsal rootlet section in the macaque monkey. J. Comp. Neurol., 2004, v. 470, № 2, p. 134–150.
9. Ma Q. Vanilloid receptor homologue, VRL1, is expressed by both A- and C-fiber sensory neurons. Neuroreport, 2001, v. 12, № 17, p. 3693–3695.
10. Ramer M., Priestley J. and McMahon S. Functional regeneration of sensory axons into adult spinal cord. Nature, 2000, v. 403, p. 312–316.

Поступила в редакцию 27.07.10
Получена после доработки 14.11.10

DYNAMICS OF STRUCTURAL CHANGES IN THE DORSAL ROOTS OF SPINAL NERVES IN GROWING DOGS

G.D. Safonova and S.V. Panasenko

Dorsal roots of spinal nerves (S1 segment) were studied in 9 growing mongrel dogs aged 2, 5 and 10 months using morphologic and morphometric methods. Longitudinal paraffin sections, impregnated with silver nitrate, and semithin transverse sections, stained with methylene blue–basic fuchsin, were used. The general regularities of structural organization, as well as the patterns of nerve fiber arrangement in the studied age periods have been determined. In the process of growth, the thickening of the dorsal roots was found (which was most pronounced until 5 months together with the increase of the diameter and the changes in the proportions of small, medium and large myelinated nerve fibers, the decrease of their number per unit section area.

Key words: *roots of spinal nerves, myelinated nerve fibers, morphometry, dog*

Laboratory of Morphology, G.A. Ilizarov Russian Scientific Center «Restorative Traumatology and Orthopedics», Kurgan