

© Т. Н. Варсегова, 2012
УДК 611.835.87:612.65:636.7

Т. Н. Варсегова

ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ БОЛЬШЕБЕРЦОВОГО НЕРВА СОБАК

Лаборатория морфологии (зав. — проф. Ю. М. Ирьянов), Российский научный Центр «Восстановительная травматология и ортопедия им. акад. Г. А. Илизарова», г. Курган

Морфометрическое исследование большеберцового нерва 10 беспородных щенков 2, 4, 10–11 мес и 7 взрослых собак в возрасте 1–3 года показало, что по мере роста животных происходит снижение численной плотности нервных волокон (НВ) и микрососудов эндоневрия при значимом увеличении доли соединительнотканного компонента, а также повышение значений всех размерных характеристик миелиновых НВ. Процессы дифференцировки миелиновых НВ и появление в возрасте 10 мес зрелых крупных НВ приводят к повышению гетерогенности системы, что сопровождается ростом энтропии. У взрослых собак популяция миелиновых НВ характеризуется высокими значениями организации и избыточности, следовательно, является более детерминированной и стабильной, с большей надежностью передачи информации по нервным стволам, как каналам связи.

Ключевые слова: большеберцовый нерв, нервные волокна, эндоневрий, морфометрия, информационный анализ

Изучение структуры периферических нервов в различные возрастные периоды является одним из актуальных направлений нейроморфологии, отвечая запросам теоретической и практической неврологии. В экспериментальных исследованиях в качестве подопытных животных наиболее часто используются беспородные собаки разных возрастных групп. Для определения степени отклонения гистоморфометрических характеристик периферических нервов собак с различными патологическими состояниями от нормы возникает необходимость сравнения с аналогичными параметрами нервов интактных животных. В немногочисленных работах приводятся сведения о возрастной динамике становления миелинового компонента общего малоберцового и локтевого нервов собак [5, 6]. Единичные работы содержат данные о миелоархитектонике глазного и подглазничного [10], блуждающего и возвратного гортанного [8], лицевого [7], локтевого, срединного, мышечно-кожного, лучевого и седалищного [3] нервов клинически здоровых молодых взрослых собак. Сведений о возрастной динамике количественных показателей большеберцового нерва беспородных собак в доступной современной литературе найти не удалось.

Цель данной работы — изучить возрастные изменения численности миелиновых и безмиелиновых нервных волокон, размерных характери-

стик и аксомиелиновых отношений миелиновых волокон, информационных показателей большеберцового нерва беспородных собак.

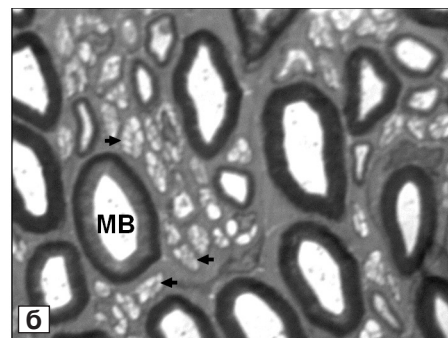
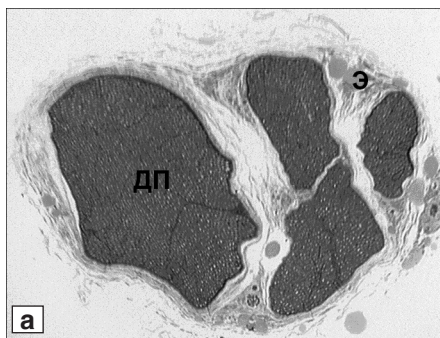
Материал и методы. Исследовали большеберцовые нервы 17 собак различного возраста. Эвтаназию животных осуществляли передозировкой барбитуратов в соответствии с требованиями Министерства здравоохранения Российской Федерации к работе экспериментально-биологических клиник, а также «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (г. Страсбург, 1986). Большеберцовые нервы беспородных щенков в возрасте 2 (n=4), 4 (n=3), 10–11 (n=3) мес и взрослых собак в возрасте от 1 года до 3 лет (n=7) закрепляли на твердой основе и резецировали. Материал фиксировали в смеси 2% растворов глутарового и параформальдегидов на фосфатном буфере (pH 7,4) с добавлением 0,1% пикриновой кислоты, дополнительно фиксировали в 1% растворе тетраоксида осмия с 1,5% красной кровяной солью, дегидратировали в этаноле возрастающей концентрации и заливали в аралдит. Поперечные тотальные полутонкие (0,5–1,0 мкм) срезы получали на ультратоме Nova (LKB, Швеция), окрашивали метиленовым синим и основным фуксином. В каждом препарате с помощью аппаратно-программного комплекса (DiaMorph, Россия) оцифровывали полноцветные изображения доминирующего по площади (с целью повышения значимости результатов количественных исследований) пучка большеберцового нерва, содержащего не менее 500 миелиновых нервных волокон (30–40 полей зрения при об. 100). Методом точечного счёта с помощью тестовой решетки равноудаленных точек [1] с использованием программы Adobe Photoshop 3,0 рассчитывали стереологические параметры [4]: объемную плотность нервных волокон ($V_{V_{np}}$) и эндоневрия (V_{V_e}). Используя программу ВидеоТест

Сведения об авторе:

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

Рис. 1. Большеберцовый нерв взрослой (1 год) собаки.

Э — эпиневрй; ДП — доминирующий пучок нервных волокон; МВ — миелиновые волокна; стрелки — безмиелиновые волокна. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим, основным фуксином. а — об. 2,5, ок. 12,5; б — об. 100, ок. 12,5



Мастер-Морфология, 4.0, измеряли диаметры миелиновых нервных волокон и строили гистограммы их распределения с шагом 1 мкм. Рассчитывали средние диаметры миелиновых волокон (D_{mnf}), их аксонов (D_{ax}), число G (отношение D_{ax}/D_{mnf}), а также среднюю толщину миелиновой оболочки (L_{myel}). Определяли численную плотность миелиновых и безмиелиновых нервных волокон, микрососудов эндоневрия в 1 мм² площади пучка, долю деструктивно измененных форм миелиновых нервных волокон ($Deg\%$).

Информационный анализ на основании распределения миелиновых нервных волокон по диаметрам с вычислением энтропии по Шеннону (H , бит), относительной энтропии (h), избыточности (R , %) и организации (бит), анализ цифрового материала методами непараметрической статистики по критерию Вилкоксона для независимых выборок был проведен с использованием программы AtteStat (тесты запрограммированы И. П. Гайдышевым [2], результаты помещены в динамически подключаемую библиотеку программы Microsoft Excel 97).

Результаты исследования. Большеберцовый нерв собаки относится к смешанным многопучковым нервам. Хорошо выраженный эпиневрй покрывает ствол нерва снаружи, объединяя все его пучки и отграничивая их от окружающих тканей. Группы нервных пучков, окруженные общим периневрием, представляют собой пучки первого порядка, а более мелкие их составляющие — пучки второго порядка. Внутривольное строение индивидуально изменчиво: у одной и той же собаки в правой и левой конечностях на уровне средней трети голени нерв может содержать разное количество пучков (от 2 до 8). Они различаются между собой по соотношению количества миелиновых и безмиелиновых проводников, а также по содержанию эндоневрия.

По мере уменьшения диаметра пучков первого порядка в них снижается доля миелиновых и возрастает доля безмиелиновых волокон. Исходя из этого, важно проводить сравнительные количественные исследования волокон аналогичных пучков. Наиболее удобными для таких целей являются доминантные (самые крупные) пучки первого порядка, значительно отличающиеся от других по размерам (рис. 1).

Гистоморфометрическое исследование показало, что у щенков в возрасте 2 мес на 1 мм² площади самого крупного пучка приходится в среднем $39\,875 \pm 978$ миелиновых и $17\,353 \pm 1435$ безмиелиновых нервных волокон, 551 ± 34 микрососудов эндоневрия. Показатели V_{vf} и V_{ve} составляют $88,0 \pm 0,5$ и $2,0 \pm 0,5\%$ соответственно.

Среди волокон нормального строения встречаются единичные проводники с признаками расслоения, вакуолизации миелина, с неравномерной толщиной и неровными контурами миелиновой оболочки. Отдельные волокна имеют признаки аксональной дегенерации. Волокна с признаками валлеровской дегенерации встречаются редко. $Deg\%$ составляет $2,07 \pm 0,07\%$.

В популяции миелиновых волокон преобладают мелкие (менее 4,0 мкм) и средние (4,1–7,0 мкм) проводники, на долю которых приходится 86,9% (рис. 2). Размерные характеристики миелиновых волокон приведены в таблице.

Основание гистограммы распределения миелиновых нервных волокон по диаметру у щенков в возрасте 2 мес состоит из 9 разрядов. Проводники имеют калибр от 1,0 до 10,0 мкм

Морфометрические показатели миелиновых нервных волокон большеберцовых нервов беспородных собак в разные возрастные периоды ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Возраст животных	D_{mnf} (мкм)	D_{ax} (мкм)	L_{myel} (мкм)	$G (D_{ax}/D_{mnf})$
2 мес	$5,01 \pm 0,04$	$3,270 \pm 0,026$	$0,866 \pm 0,012$	$0,650 \pm 0,001$
4 мес	$4,99 \pm 0,05$	$3,30 \pm 0,04$	$0,849 \pm 0,012$	$0,661 \pm 0,002^*$
10–11 мес	$6,70 \pm 0,08^*$	$4,50 \pm 0,05^*$	$1,097 \pm 0,014^*$	$0,671 \pm 0,002^*$
1–3 года	$6,751 \pm 0,013$	$4,631 \pm 0,134^*$	$1,057 \pm 0,019$	$0,686 \pm 0,016^*$

* Различия по сравнению с показателями в предыдущий возрастной период значимы по критерию Вилкоксона для независимых выборок при $P < 0,05$.

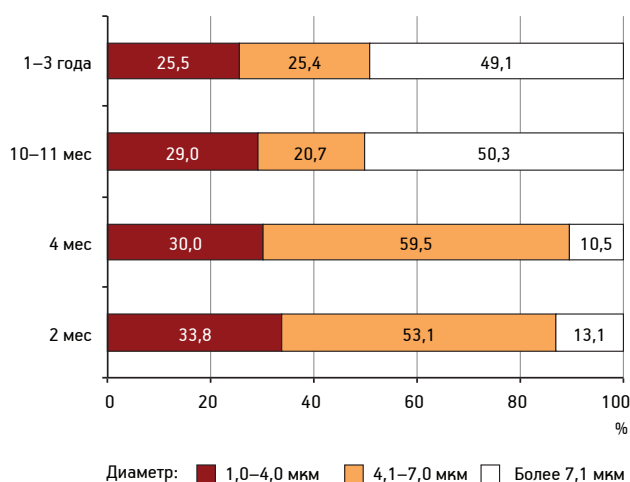


Рис. 2. Гистограмма процентного соотношения мелких (диаметр 1,0–4,0 мкм), средних (диаметр 4,1–7,0 мкм) и крупных (диаметр более 7,1 мкм) миелиновых нервных волокон в большеберцовом нерве собак в разные возрастные периоды.

По оси абсцисс — доли волокон каждой размерной группы (%); по оси ординат — возраст собак

(рис. 3). Распределение волокон бимодально, моды находятся в следующих диапазонах: первая — 2,1–3,0 мкм (16%); вторая — 5,1–6,0 мкм (21%). Правый пик гистограммы выше левого на 5%.

Результаты информационного анализа распределения миелиновых волокон большеберцового нерва щенков по спектру калибров в виде значений интегральных критериев приведены на рис. 4.

В возрасте 4 мес численная плотность миелиновых, безмиелиновых нервных волокон и микрососудов эндоневрия не имеет значимых различий по сравнению с таковой предыдущего срока и составляет $43\ 600 \pm 1900$, $16\ 959 \pm 591$ и

542 ± 42 на 1 мм^2 соответственно. $V_{v_{nf}}$ снижается ($P < 0,05$) по сравнению с аналогичным значением у 2-месячных щенков до $84,1 \pm 0,8\%$, а V_{v_e} возрастает ($P < 0,05$) до $15,9 \pm 0,8\%$. $Deg\%$ не изменяется и составляет $2,10 \pm 0,05\%$.

В популяции миелиновых волокон продолжают преобладать мелкие и среднего размера проводники, на долю которых приходится 89,5% (см. рис. 2). D_{ax} возрастает, а L_{myel} снижается незначительно, в результате чего коэффициент G увеличивается ($P < 0,05$) (см. таблицу).

Ширина основания гистограммы распределения миелиновых волокон по диаметрам, форма, диапазон мод сохраняются (см. рис. 2). Правый пик гистограммы выше левого на 11%. Быстропроводящие нервные проводники диаметром более 10 мкм, как и в 2 мес, отсутствуют.

Значения H и h , по данным информационного анализа, снижаются, а R и организации — возрастают (см. рис. 4).

В 10–11 мес численные плотности миелиновых, безмиелиновых волокон и микрососудов эндоневрия уменьшаются ($P < 0,05$) в 2 раза по сравнению с таковыми в предыдущий срок и составляют $20\ 233 \pm 2146$, 9389 ± 1579 и 231 ± 46 на 1 мм^2 соответственно. $V_{v_{nf}}$ продолжает снижаться ($P < 0,05$) и составляет $79,5 \pm 1,7\%$, а V_{v_e} возрастает ($P < 0,05$) до $20,5 \pm 1,7\%$. $Deg\%$ составляет $1,6 \pm 0,4\%$.

Соотношение нервных проводников в размерных группах существенно изменяется: при постоянной доле мелких миелиновых волокон доля средних — снижается в 3 раза, крупных — повышается в 5 раз (см. рис. 2). Все размерные характеристики миелиновых волокон возрастают

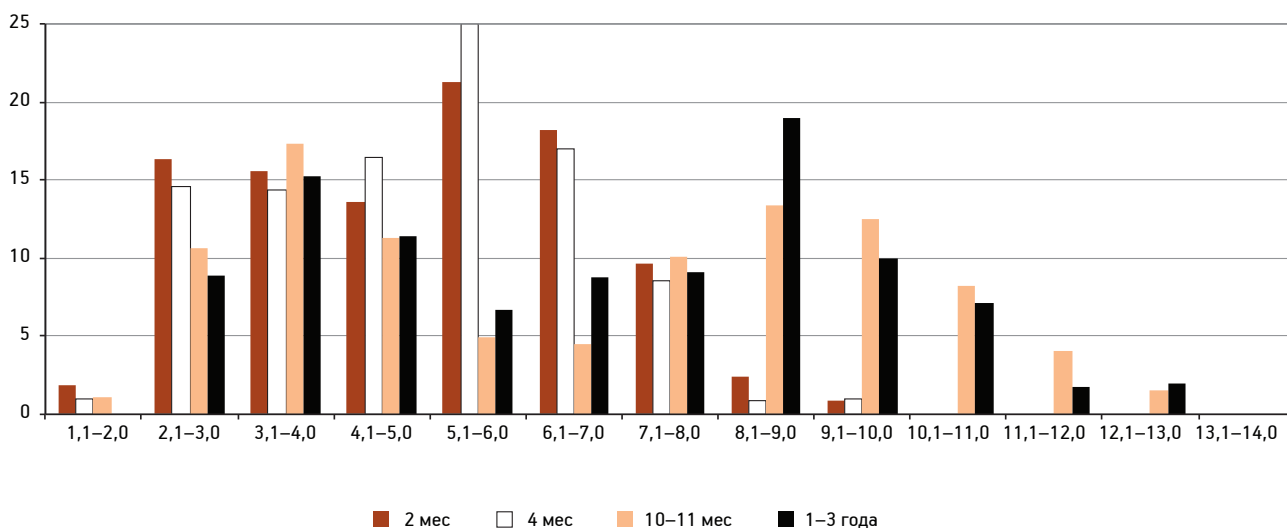
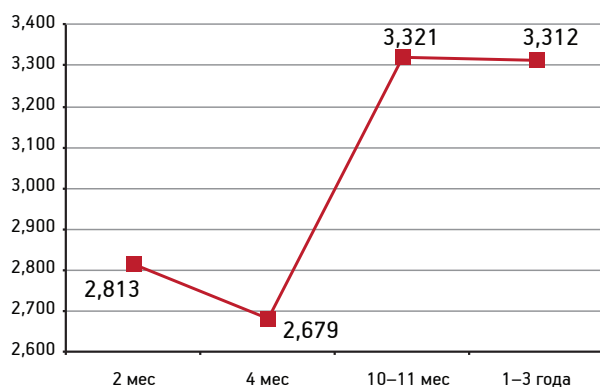
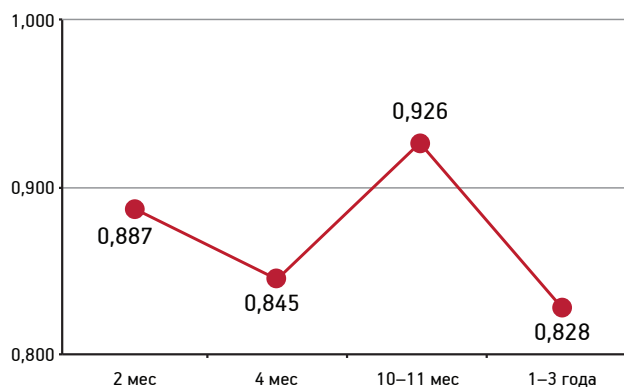


Рис. 3. Гистограмма распределения миелиновых нервных волокон по диаметрам в большеберцовом нерве собак в разные возрастные периоды.

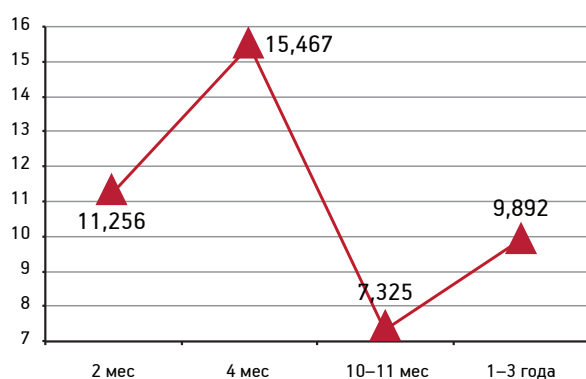
По оси абсцисс — размерные классы волокон (мкм); по оси ординат — доля волокон каждого класса (%)



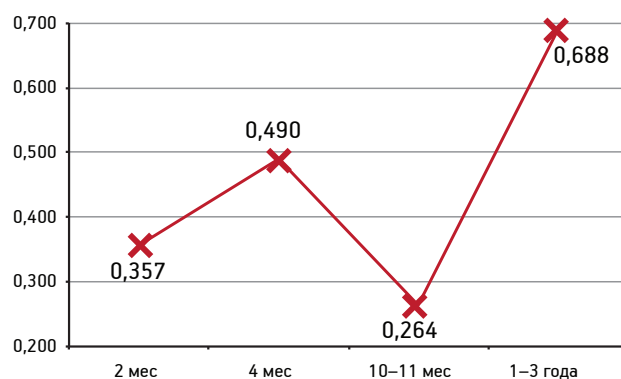
а



б



в



г

Рис. 4. Возрастная динамика информационных характеристик большеберцового нерва собак.

По оси абсцисс — возраст животных; по оси ординат: а — энтропия по Шеннону (бит); б — относительная энтропия; в — избыточность (%); г — организация (бит)

($P < 0,05$) по сравнению с аналогичными параметрами у 4-месячных щенков (см. таблицу).

Основание гистограммы распределения миелиновых волокон по диаметру увеличивается справа на 3 разряда: появляются проводники диаметром 10,1–13,0 мкм, составляющие $14 \pm 4\%$. Гистограмма сохраняет бимодальность, обе моды смещаются вправо и находятся в диапазонах 3,1–4,0 (17%) и 8,1–10,0 (13%) мкм соответственно. Правый пик гистограммы становится ниже левого на 4% (см. рис. 3). Значения H и h повышаются, а R и организации — снижаются (см. рис. 4).

У взрослых собак в возрасте 1–3 года численные плотности миелиновых, безмиелиновых волокон и $V_{v_{nf}}$ снижаются не значимо по сравнению с аналогичными параметрами 10–11-месячных щенков и составляют в среднем $19\,364 \pm 461$, 8985 ± 273 и $78,2 \pm 0,6\%$ соответственно. Доля соединительнотканного компонента (V_{v_c}) повышается до $21,8 \pm 0,6\%$. Численная плотность микрососудов эндоневрия уменьшается ($P < 0,05$) в 1,4 раза. $Deg\%$ составляет $1,64 \pm 0,20\%$.

Соотношение крупных, средних и мелких миелиновых волокон изменяется по сравнению с таковым в предыдущий срок следующим образом: доля крупных проводников сопоставима с аналогичным параметром у щенков 10–11 мес; доля средних — возрастает на 4,7%, а мелких — снижается на 3,5%. На долю миелиновых волокон диаметром более 10 мкм приходится $10 \pm 4\%$.

Различия по параметрам D_{mnf} и L_{myel} у щенков 10–11 мес и собак в возрасте 1–3 года незначимы, а D_{ax} возрастает ($P < 0,05$), в результате чего повышается ($P < 0,05$) и значение коэффициента G (см. таблицу).

Диаметр миелиновых проводников колеблется от 2,1 до 13,0 мкм (отдельных — достигает 14–17 мкм, их доля меньше 1%). Основание гистограммы распределения волокон по диаметру уменьшается слева на 1 разряд (проводники диаметром менее 2 мкм единичны, их доля меньше 1%). Распределение сохраняет бимодальность, первая мода находится в том же диапазоне, что и у щенков 10–11 мес — 3,1–4,0 мкм (15%), а вто-

рая — 8,1–9,0 мкм (17%). Значения Н и h снижаются по сравнению с аналогичными параметрами у 10–11-месячных щенков, а значения R и организации повышаются (см. рис. 3).

Обсуждение полученных данных. Гистоморфометрическое исследование большеберцового нерва собак показало, что к 10–11 мес жизни щенков численные плотности миелиновых, безмиелиновых нервных волокон и микрососудов эндоневрия на 1 мм² площади пучка сокращаются в 2 раза по сравнению с аналогичными параметрами у 2–4-месячных щенков при значимом увеличении доли эндоневрия. По мере роста животных наблюдается значимое повышение значений всех размерных характеристик нервных проводников, в результате чего популяция миелиновых волокон у взрослых собак гетероморфна, со значительным количеством (более 70%) высокодифференцированных быстропроводящих проводников среднего и крупного диаметра. Аналогичная возрастная динамика количественных показателей обнаружена при изучении большеберцовых нервов у мышей [9].

Описанная возрастная динамика миелоархитектоники большеберцового нерва собак сопровождается изменением его информационных характеристик. У щенков 2–4 мес нерв, как система, хранит в себе значительный потенциал развития, характеризуется меньшим разнообразием и максимальными значениями организации и R, что является признаком его большей лабильности и меньшей экономичности. Процессы дифференцировки миелиновых волокон и появление зрелых крупных проводников (диаметром более 10 мкм) у растущих животных в возрасте 10–11 мес приводят к повышению гетерогенности системы, что сопровождается увеличением энтропии. Более высокие значения организации и избыточности у собак в возрасте 1–3 года свидетельствуют о том, что популяция миелиновых волокон становится более детерминированной и стабильной и характеризуется большей надежностью передачи информации по нервным стволам, как каналам связи.

Полученные морфометрические показатели большеберцового нерва растущих и взрослых клинически здоровых беспородных собак послужат показателями нормы при изучении патологических изменений нервной системы и различного рода экспериментальных воздействий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия. М., Медицина, 1990.

2. Гайдышев И. П. Анализ и обработка данных: специальный справочник. СПб., Питер, 2001.
3. Мельман Е. П., Левицкий В. А. и Павлович В. Г. Биометрическая характеристика коррелятивных внутривольных нейровазальных соотношений периферических нервов собаки. Арх. анат., 1981, т. 80, вып. 5, с. 57–66.
4. Непомнящих Л. М., Лушникова Е. Л. и Непомнящих Г. И. Морфометрия и стереология гипертрофии сердца. Новосибирск, Наука, 1986.
5. Braund K. G., McGuire J. A. and 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, v. 19, № 4, p. 365–378.
6. Braund K. G., McGuire J. A. and Lincoln C. E. Age-related changes in peripheral nerves of the dog. II. A morphologic and morphometric study of cross-sectional nerve. Vet. Pathol., 1982, v. 19, № 4, p. 379–398.
7. Braund K. G., Mehta J. R., Amling K. A. and Toivio-Kinnucan M. Morphologic and morphometric study of the facial nerve in clinically normal adult dogs. Am. J. Vet. Res., 1991, v. 52, № 11, p. 1879–1882.
8. Braund K. G., Steiss J. E., Marshall A. E. et al. Morphologic and morphometric studies of the vagus and recurrent laryngeal nerves in clinically normal adult dogs. Am. J. Vet. Res., 1988, v. 49, № 12, p. 2111–2116.
9. Ceballos D., Cuadras J., Navarro E. V. and Navarro X. Morphometric and structural changes with ageing in mouse peripheral nerve. J. Anat., 1999, v. 195, p. 563–576.
10. Whalen L. R. and Carsten R. E. Conduction velocities and myelinated fiber diameter spectra of the infraorbital and palpebral nerves of the dog. Am. J. Vet. Res., 1986, v. 47, № 3, p. 581–586.

Поступила в редакцию 08.08.2012

AGE-RELATED DYNAMICS OF MORPHOMETRIC PARAMETERS OF TIBIAL NERVE IN DOGS

T. N. Varsegova

The morphometric study of the tibial nerve was performed in 10 mongrel puppies aged 2, 4 and 10–11 months and of 7 adult dogs aged 1–3 years. It was demonstrated that during the process of growth of the animals the numerical density of nerve fibers (NF) and endoneurial microvessels decreased, while the proportion of soft-tissue component and the values of all the dimensional characteristics of myelin NF significantly increased. Both the processes of myelin NF differentiation and the appearance of mature large-caliber NF at the age of 10 months resulted in the increase of system heterogeneity accompanied by an increment of entropy. The myelin NF population in adult dogs was characterized by high values of organization and redundancy, and, therefore, it is more deterministic and stable, with greater reliability of information transmission along the nerve trunks as communication channels.

Key words: tibial nerve, nerve fibers, endoneurium, morphometry, information analysis

Laboratory of Morphology, G. I. Ilisarov Russian Scientific Center for Restorative Traumatology and Orthopedics, Kurgan