

ВЛИЯНИЕ ТРАВМЫ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ НЕЙРО-МОТОРНОГО АППАРАТА ТРЕХГЛAVОЙ МЫШЦЫ ГОЛЕНИ КРЫСЫ

А.А. Еремеев, А.М. Еремеев, Т.В. Балтина, И.И. Шайхутдинов

ФГАОУ ВПО "Казанский (Приволжский) федеральный университет"

ГАУЗ «Республиканская клиническая больница МЗ Республики Татарстан»

ВВЕДЕНИЕ

До настоящего времени, наиболее важной и актуальной проблемой медицины и физиологии, требующей особого внимания, является изучение природы двигательных патологий и разработка систем их профилактики.

Известно, что травма соматического нерва приводит к значительным функциональным изменениям во всех звеньях поврежденной нейро-моторной системы. В этих случаях происходит мобилизация целого ряда физиологических механизмов, к числу которых относятся: способность сохранившихся мотонейронов к восприятию сигнала о наличии денервированных мышечных волокон; ветвление аксонов (спраутинг); способность вновь образованных нервных терминалей находить денервированные волокна, вступать с ними в контакт, создавать нервно-мышечный синапс и затем подчинять генетический и биохимический аппараты мышечной клетки своему контролю [1.; 2 и др.]. Однако функциональное состояние двигательной системы на разных уровнях организации в условиях развивающейся компенсаторной иннервации остается недостаточно изученным.

Целью настоящей работы являлось изучение влияния пережатия седалищного нерва крысы на состояние нервно-мышечного аппарата трехглавой мышцы голени.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводили на 35 нелинейных лабораторных крысах массой 130 - 150 г. Травму нерва осуществляли путем его пережатия по методике С. De Angelis et al., [5].

Анализ электрофизиологических характеристик.

Регистрировали электромиографические показатели икроножной мышцы (ИМ) через 1, 5, 10, 20 и 30 суток после предварительной операции. Перед снятием показателей, животным производили перерезку спинного мозга между 2 и 3 грудными позвонками под общим эфирным наркозом. Опыт начинали через 2 часа после спинализации. Оценивали максимальную амплитуду и порог возникновения рефлекторного (Н-) ответа ипсилатеральной (денервированной) ИМ, вызванного раздражением седалищного нерва проксимальнее места повреждения. Стимуляцию осуществляли одиночными прямоугольными импульсами длительностью 0.3 мс с частотой 1 стимул в 30 секунд. Сила

10 суток она составила $57\pm 3\%$ по сравнению с контролем ($p < 0.05$); через 20 – $70\pm 4\%$ ($p < 0.05$), через стимулов варьировала от 0,5 до 25 В. Также регистрировали моторный (М-) ответ и определяли значение отношения максимальных амплитуд Н- и М-ответов (H_{max}/M_{max}).

Для нанесения стимула, усиления и регистрации ответов использовали оригинальную экспериментальную установку на базе электромиографа MG-42 фирмы «Медикор» и процессора Pentium.

Анализ качественного состава миозинов.

Иммуногистохимически (авидин - биотиновый метод) при помощи моноклональных антител (АТ) к тяжелым цепям быстрого миозина осуществляли идентификацию качественного состава миозинов камбаловидной мышцы (КМ). Для этого КМ выделяли и фиксировали жидким азотом, затем на криостате при температуре -20°C готовили срезы толщиной 7 мкм. Перед окрашиванием срезы фиксировали в ацетоне при комнатной температуре в течение 10 мин, затем высушивали на воздухе.

На препаратах мышц после иммуногистохимического окрашивания визуально под микроскопом (объектив - 20, окуляр - 7) производили подсчет относительного содержания мышечных волокон разных типов.

Контрольной служила группа интактных животных ($n=7$). Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ "Origin". Достоверность результатов определяли по t - критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Экспериментальная травма седалищного нерва не приводила к полному прекращению проведения по нему, однако, изменения амплитуды и порога, регистрируемых вызванных электрических ответов ИМ свидетельствовали о безусловном воздействии пережатия на функциональное состояние ипсилатеральной нейро-моторной системы.

Через сутки после денервации Н-ответ ипсилатеральной ИМ не регистрировался. Через 5 суток - его максимальная амплитуда составила $25\pm 3\%$ от уровня контроля ($p < 0.001$). Затем амплитуда Н-ответа увеличивалась: через 30 – $90\pm 7\%$ ($p > 0.05$) (рис. 1.А).

Значение порога Н-ответа ипсилатеральной ИМ снижалось в интервале от 5-х суток после денервации - к 30-м (рис. 1.Б). Так, через 5 суток после пережатия седалищного нерва значение порога составило $241\pm 4\%$ по сравнению с контролем ($p < 0.001$), через 10 суток – $173\pm 4\%$ ($p < 0.05$); через 20 – $126\pm 3\%$ ($p < 0.05$); через 30 – $103\pm 3\%$ ($p > 0.05$). Величина максимальной амплитуды Н-ответа ипсилатеральной ИМ, выраженная в процентах от максимального М-ответа, увеличивалась на протяжении от 5-х суток после пережатия седалищного нерва к 30-м.

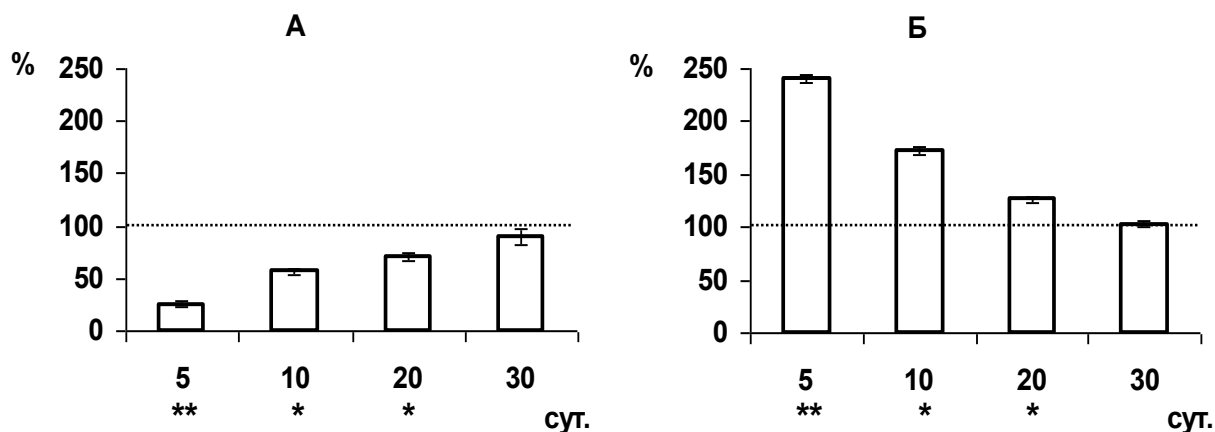


Рис. 1. Значения параметров рефлекторного ответа ипсилатеральной икроножной мышцы крысы на разных сроках после пережатия седалищного нерва.

По оси абсцисс обозначены сутки после операции, по оси ординат: А - значения амплитуды рефлекторного ответа, Б - значения порога рефлекторного ответа, выраженные в процентах по отношению к контролю. Прерывистой линией обозначены контрольные значения, принятые за 100%.

*- достоверность, $p < 0.05$; ** - $p < 0.001$

Через 5 суток после операции отношение максимальных амплитуд составило $28 \pm 3\%$; через 10 - $34 \pm 5\%$; через 20 - $32 \pm 6\%$; через 30 - $28 \pm 6\%$. Статистически достоверным ($p < 0.05$) было увеличение N_{max}/M_{max} , определяемое для групп экспериментальных животных, обследованных через 5, 10 и 20 суток после травмы нерва. Усредненные результаты исследований для каждой группы животных представлены на рис. 2.

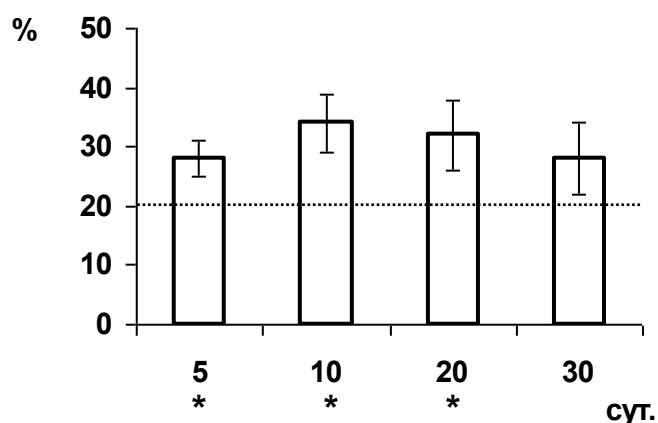


Рис. 2. Отношение максимальных амплитуд рефлекторного и моторного ответов ипсилатеральной икроножной мышцы крысы на разных сроках после пережатия седалищного нерва.

По оси абсцисс обозначены сутки после операции, по оси ординат - $(H_{\max}/M_{\max}) \cdot 100\%$. Прерывистой линией обозначены контрольные значения. * - достоверность, $p < 0.05$.

Показано, что развитие патологического процесса в различных участках нервной системы сопровождается преобразованием функционального состояния сегментарного аппарата в виде изменения рефлекторной возбудимости, что и отражается на различных параметрах Н-ответа [4; 5 и др.]. При посттравматической дегенерации аксонов и их терминалей денервированная часть клеток - мишеней может становиться увеличено чувствительной к оставшемуся афферентному входу. Подобное явление известно, как «закон денервации» [6]. Денервационная суперчувствительность может вести к увеличению рефлекторной активности [7]. Сходные результаты были получены и в наших исследованиях: увеличение значения H_{\max}/M_{\max} ИМ (5, 10, 20 сут. после денервации) свидетельствовало о повышении рефлекторной возбудимости соответствующего двигательного центра и расширении мотонейронного пула реагирующего на стимуляцию. В то же время, порог Н-ответа ИМ после пережатия седалищного нерва был увеличен, максимальная амплитуда снижена. Такие регистрируемые преобразования, на наш взгляд, не могут быть обусловлены состоянием спинальных мотонейронов, т.к., вероятнее всего, являются следствием нарушения проведения по нервному волокну в результате повреждения.

При оценке качественного состава ипсилатеральной КМ через 1 сут. после денервации достоверных различий от данных, полученных в контрольной серии экспериментов, не наблюдалось. На следующих этапах исследования определяли снижение количества быстрых мышечных волокон и увеличение медленных. Так, через 5 суток после денервации количество быстрых мышечных волокон составило $24 \pm 3\%$, медленных – $76 \pm 2\%$; через 10 суток - $26 \pm 3\%$ и $74 \pm 2\%$; через 20 суток – $16 \pm 2\%$ и $83 \pm 2\%$; через 30 суток – $19 \pm 2\%$ и $81 \pm 2\%$ соответственно. Полученные в экспериментальных сериях результаты достоверно отличались от контрольных значений, $p < 0.05$ (рис. 3).

В экспериментах на крысах показано, что аппликация колхицина на седалищный нерв крысы приводит к денервационным изменениям [8]; в этих условиях наблюдается увеличение относительного содержания медленных мышечных волокон в КМ [9]. Возможной причиной изменения качественного состава денервированной мышцы предполагается воздействие травмы нерва на геном мышечных волокон [10]. Такие эффекты могут быть опосредованы влияниями со стороны двигательных центров. Существуют данные о преимущественной реиннервации медленных мотонейронов [11] и увеличении количества мышечных волокон, иннервируемых ими [12]. U. Slawinska et al., [13] предполагают, что трансформация мышечных волокон от быстрого типа к медленному,

наблюдаемая после частичной денервации, индуцируется увеличенной активностью неповрежденных мотонейронов. Такое заключение полностью согласуется с результатами нашего электрофизиологического тестирования.

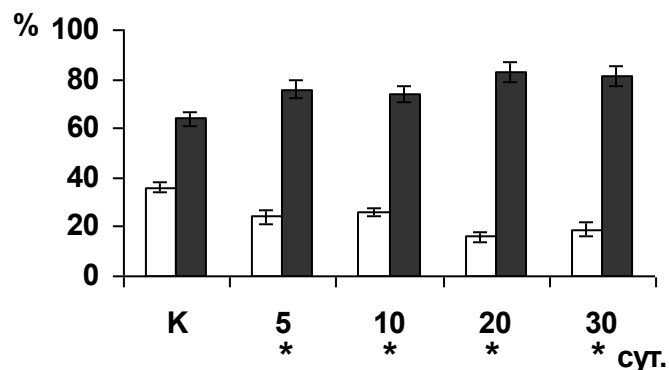


Рис. 3. Качественный состав миозинов ипсилатеральной камбаловидной мышцы крысы на разных сроках после пережатия седалищного нерва.

По оси абсцисс обозначены сутки после операции, по оси ординат – количество быстрых (светлые столбцы) и медленных (темные столбцы) мышечных волокон, выраженное в процентах к общему количеству принятому за 100%. К – соотношение двух типов волокон определенное для камбаловидной мышцы интактных животных.

*- достоверность, $p < 0.05$.

Таким образом, в условиях компенсаторной реорганизации двигательной активности, имеющей место после травмы периферического аксона, изменяется состояние двигательных центров денервированной мышцы, что, вероятно, определяет свойства периферических звеньев нервно-мышечного аппарата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zhang Z., Soucacos P.N., Beris A.E., Bo J., Ioachim E., Johnson E.O. Long-term evaluation of rat peripheral nerve repair with end-to-side neurotaphy // *Microsurg.*- 2000.- V. 16, № 4.- P. 303-311.
2. Koob J.W., Moradzadeh A., Tong A., Hayashi A., Myckatyn T.M., Tung T.H., Mackinnon S.E. Induction of regional collateral sprouting following muscle denervation // *Laryngoscope* – 2007. - V. 117, N 10. – P. 1735-1740.
3. De Angelis C., Scarfo C., Falcinelli M. et al. Acetyl-L-carnitine prevents agedependent structural alterations in rat peripheral nerves and promotes regeneration following sciatic nerve injury in young and senescent rats // *Exp. Neurol.*- 1994.- V. 128.- P. 103-114.
4. Гехт Б.Н. Теоретическая и клиническая электромиография / Л.: Наука, 1990.- 229 с.

5. Lagerquist O., Collins D.F. Stimulus pulse-width influences H-reflex recruitment but not H(max)/M(max) ratio // Muscle Nerve. – 2008. – V. 37, № 4. – P. 483-489.
6. Cannon W.B., Rosenblueth A. The supersensitivity of denervated structures / N. Y. : “The Macmillan Company”, 1949. – 156 p.
7. Goldberger M.E. Motor recovery after lesions // Trends Neurosci.- 1980. – V. 3, № 11. – P.288-291.
8. Волков Е.М., Фросин В.Н. Неквантовый выход ацетилхолина из двигательных нервных окончаний и денервационные изменения мембраны мышечных волокон крысы после блокады аксонного транспорта // Нейрофизиология.- 1984.- Т.16.- № 2.- С. 46-47.
9. Резвяков Н.П. Общие закономерности дифференцировки и пластичности скелетных мышц: Автореф. дис. ... д-ра мед.наук.- Казань, 1982.- 23 с.
10. Валиуллин В.В., Исламов Р.Р. Нейротрофический контроль синтеза миозинов медленной мышцы морской свинки // Бюлл. exper. биол. и мед.- 1991.- Т.111.- № 2.- С. 201-203.
11. Bishop D.L., Milton R.L. Nimodipine suppresses preferential reinnervation of mouse soleus muscles by slow alpha-motoneurons // Exp Neurol.- 1998.- V. 154.-№ 2.- P. 366-370.
12. Desypris G., Parry D.J. Relative efficacy of slow and fast alpha-motoneurons to reinnervate mouse soleus muscle // Am J Physiol.- 1990.- V. 258 (1 Pt 1).- P. 62-70.
13. Slawinska U., Tyc F., Kasicki S. et al. Time course of changes in EMG activity of fast muscles after partial denervation // Exp. Brain Res.- 1998.- V. 120.- № 2.- P. 193-201.

РЕЗЮМЕ

ВЛИЯНИЕ ТРАВМЫ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ НЕЙРО-МОТОРНОГО АППАРАТА ТРЕХГЛАВОЙ МЫШЦЫ ГОЛЕНИ КРЫСЫ

А.А. Еремеев, А.М. Еремеев, Т.В. Балтина, И.И. Шайхутдинов

ФГАОУ ВПО "Казанский (Приволжский) федеральный университет"

ГАУЗ «Республиканская клиническая больница МЗ Республики Татарстан»

Изучали влияние пережатия седалищного нерва крысы на состояние нервно-мышечного аппарата трехглавой мышцы голени. Через 1, 5, 10, 20 и 30 суток после предварительной операции регистрировали электромиографические показатели икроножной мышцы, а также иммуногистохимически осуществляли идентификацию качественного состава миозинов камбаловидной мышцы. Показано, что в условиях компенсаторной реорганизации двигательной активности, имеющей место после травмы периферического аксона, изменяется состояние двигательных центров денервированной мышцы, что,

вероятно, и обуславливает, также регистрируемые в экспериментах, преобразования качественного состава мышцы.