

Режим доступа: http://oncology-association.ru/docs/rak_legkogo.pdf (дата обращения: 12.03.2019)

3. Шапиро Н. А. Цитологическая диагностика заболеваний легких : цветной атлас / Н. А. Шапиро. - Москва: Репроцентр М, 2005. – 205 с.

4. World Health Organization Classification of Tumours : WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart / Edited by W. D. Travis, E. Brambilla, Allen P. Burke [et. al.]. – Lyon : IARC Press, 2015. – P. 412.

УДК 616-092.9

**Тверитин Е.А., Коротких А.Г.
МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
РЕГЕНЕРИРУЮЩИХ МИЕЛИНОВЫХ НЕРВНЫХ ВОЛОКОН ПОД
ДЕЙСТВИЕМ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК. ЭЛЕКТРОННАЯ
МИКРОСКОПИЯ**

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии
Уральский государственный медицинский университет
Екатеринбург, Российская Федерация

**Tveritin E.A., Korotkich A.G.
MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF REGENERATING
MYELIN NERVE FIBERS UNDER INFLUENCE OF CARBON NANOTUBES.
ELECTRON MICROSCOPY**

Department of histology, cytology and embryology
Ural state medical university
Yekaterinburg, Russian Federation

E-mail: tveritinevgeniy@gmail.com

Аннотация. В статье рассмотрено влияние углеродных нанотрубок на регенерацию периферических нервов на модели седалищного нерва кролика. Представлены результаты измерений диаметра миелиновых нервных волокон контрольных и опытных конечностей. Дополнительно была выполнена электронная микроскопия с целью интерпретации результатов. Выявлены достоверные отличия в диаметре миелиновых нервных волокон контрольной и опытной конечностей. Установлено, что в контрольной конечности преобладает дистрофия нервных волокон по типу «луковой шелухи»; в опытной конечности наблюдается активная пролиферация шванновских клеток. Предположен механизм действия углеродных нанотрубок.

Annotation. The article deals the effect of carbon nanotubes on the regeneration of peripheral nerves on the rabbit sciatic nerve model. The results of measuring the diameter of the myelin nerve fibers of the control and experimental limbs are presented. Additionally, electron microscopy was performed to interpret the

results. Revealed significant differences in the diameter of the myelin nerve fibers of the control and experimental limbs. It was established that in the control limb the dystrophy of the nerve fibers of the “onion peel” type prevails; active proliferation of Schwann cells is observed in the experimental limb. The mechanism of action of carbon nanotubes is suggested.

Ключевые слова: регенерация, периферический нерв, одностенные углеродные трубки, электронная микроскопия.

Key words: regeneration, peripheral nerve, one-wall carbon nanotubes, electron microscopy.

Введение

На долю поражений периферической нервной системы приходится 5-10% общей заболеваемости населения. В структуре нервных болезней, патология периферической нервной системы составляет 48-52%, занимая при этом первое место по степени потери трудоспособности среди пациентов [1].

Травматические поражения периферических нервов верхних конечностей составляют более 70% всех травм нервных стволов, из них чаще всего повреждаются срединный и локтевой нервы. Наиболее неблагоприятными из этих поражений являются проксимальные поражения в связи с большой протяженностью внутринеуральных изменений, а также поражения нервов со значительными диастозами.

Ежегодно в России в проведении операций по поводу травм периферических нервов нуждается от 4 до 7 тысяч человек. При этом около 45% повреждений нервов приходится на наиболее активную возрастную группу от 21 до 35 лет. Такие травмы практически в 65% случаев приводят к длительной потере трудоспособности с высокой частотой инвалидизации пострадавших.

Эпинеуральный шов «конец-в-конец» или техника аутологических нервных трансплантатов остается золотым стандартом восстановления целостности нервного ствола [4]. При больших диастозах нерва (меньше 3 сантиметров) применяется техника наложения кондуита. Данные методики не обладают максимальной эффективностью, что приводит к нежелательным для пациента последствиям.

По этим причинам необходимо разрабатывать новые методы и материалы в лечении повреждений периферических нервов, например, недавно открытый и перспективный материал одностенные углеродные нанотрубки.

Одностенные углеродные нанотрубки – это длинный цилиндр из гексагональной углеродной сетки. Углеродные нанотрубки обладают очень разнообразными, как химическими, так и физическими свойствами [3]. В ряде работ, показано взаимодействие углеродных нанотрубок и нервной ткани [2, 6, 7].

Цель исследования – оценить влияние одностенных углеродных нанотрубок на процесс регенерации миелиновых нервных волокон периферических нервов при помощи оптической и электронной микроскопии *in vivo*.

Материалы и методы исследования

Травму нерва наносили 15 лабораторным кроликам. На левой (опыт) и правой (контроль) выделяли и пересекали седалищный нерв. На оба конца поврежденных нерва накладывали конduit (тефлоновый сосудистый протез). В конduit левой конечности добавляли одностенные углеродные нанотрубки (Carbonnanotube, single-walled, carboxylicacidfunctionalized, Sigma-Aldrich, Германия). Правая конечность служила в качестве контрольной, в конduit которой ничего не помещали.

Через 6 месяцев, животных вывели из эксперимента. Из седалищных нервов изготавливали полутонкие гистологические срезы, окрашивали гематоксилином и эозином. Морфометрические измерения проводились при помощи программы CellSensStandart (Olympus Corporation, Япония) ув. 20×100. Измеряли диаметр миелиновых нервных волокон опытной и контрольной конечностей в дистальном и проксимальном участке нерва по двум осям все поля зрения. Результаты подсчетов обрабатывали по Стьюденту. При проверке статистических гипотез использовался уровень значимости не менее 95% ($p < 0,05$).

Параллельно для гистологического исследования производился забор образцов для электронномикроскопического исследования. После предварительной подготовки, ультратонкие срезы получали на ультратоме «Leika EM UC6», контрастировали цитратом свинца и исследовали в электронном микроскопе «Morgagni 268D». Всего было проведено исследование 18 образцов, взятых от трех животных.

Статистический анализ материала проводился с помощью программы Microsoft Exel 2019.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты морфометрических исследований представлены в (табл. 1).

Таблица 1

Морфометрическая характеристика миелиновых нервных волокон

Конечность	Измерения	Ср. знач. (мкм)	Ст. отклон.	Доверительный интервал
ПП	2800	32,63	15,15	32,63 ± 0,57
ПД	2812	18,73	5,35	18,73 ± 0,20
ЛП	3002	43,16	16,83	43,16 ± 0,61
ЛД	3008	37,50	15,41	37,50 ± 0,56

Примечание: ПП, ЛП, ЛП, ЛД – правый и левый проксимальный, правый и левый дистальный отделы нерва соответственно.

Проведя анализ средних величин по t-критерию Стьюдента, было выявлено достоверное различие диаметров миелиновых нервных волокон контрольной и опытной конечности ($p < 0,05$). По сравнению с проксимальным участком контрольной конечности, диаметр миелиновых нервных волокон при использовании нанотрубок увеличился на 32 процента и 14 процентов для проксимального и дистального участка контрольной конечности соответственно.

Результаты электронной микроскопии представлены на (рис.1).

Наличие пролиферирующих шванновских клеток и небольшие дистрофические изменения нервных волокон опытной конечности (рис.1. А) говорят о том, что в нервной ткани происходят процессы регенерации. Напротив, в контрольной конечности, помимо меньшего диаметра миелиновых нервных волокон, наблюдаются процессы дистрофии миелина и единичное присутствие шванновских клеток (рис.1. В), говорит о том, что в нервной ткани преобладают дистрофические изменения над процессами регенерации

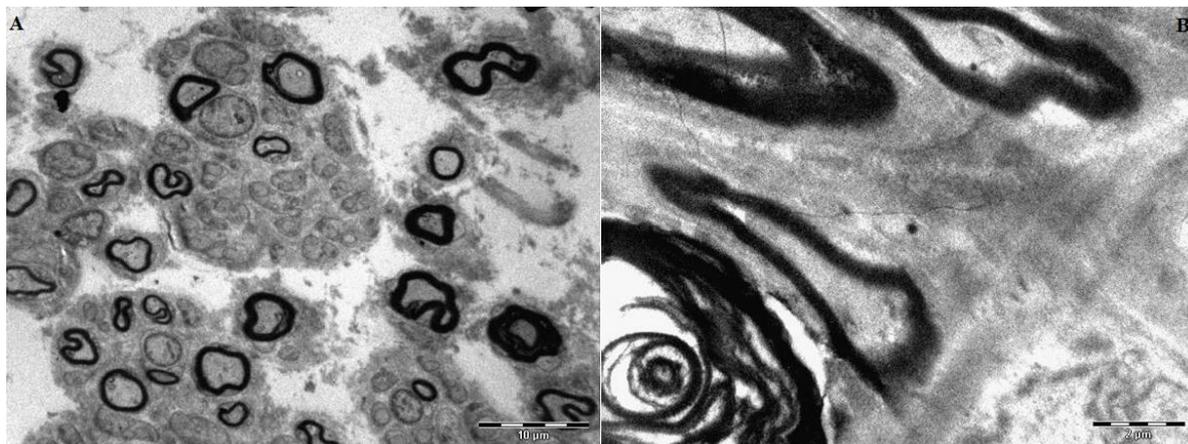


Рис. 1. Электронная фотография нервных волокон. Пул пролиферирующих шванновских клеток, окружающих безмиелиновые и миелинизированные волокна. Левый проксимальный отдел. X 1800. (А); Дистрофия миелина по типу «луковичной шелухи». Правый дистальный отдел. X 7100. (В).

По данным литературы [5, 6, 7], нами был предложен механизм воздействия углеродных нанотрубок на нервную ткань. В зависимости от профиля поверхности, на клетку действуют различные по величине и направлению силы, которые воздействуя на нее, определяют дальнейший характер деятельности клетки: это может быть пролиферация, адгезия или дальнейшая дифференцировка. В литературе данное явление получило название «топографический эффект». По данному принципу функционируют базальные мембраны в организме, осуществляющие помимо трофики клеток, также стимулирующие дифференциацию, пролиферацию и миграцию клеток.

При использовании одностенных углеродных нанотрубок, они выступают в качестве индукторов пролиферации шванновских клеток, функция которых в

процессе регенерации нервной ткани заключается в фагоцитозе (совместно с макрофагами) поврежденных частиц миелина и образовании бунгеровских лент, которые направляют и стимулируют прорастающий аксон. Тем самым повышается жизнеспособность нейронов, снижается количество провоспалительных цитокинов и, как следствие, уменьшение дистрофических изменений и воспалительных реакций в нерве. Стоит отметить, что нейроны способны образовывать связи между собой при помощи углеродных нанотрубок, что может привести к усилению электрической активности.

Выводы:

1. Выявлены достоверные различия в диаметре миелиновых волокон контрольной и опытной конечности. При использовании одностенных углеродных нанотрубок средний диаметр миелиновых волокон увеличивается.

2. С использованием нанотрубок наблюдается более активная пролиферация шванновских клеток и меньшая степень дистрофических изменений нервных волокон.

3. Предположен механизм действия углеродных нанотрубок, заключающийся в создании определенной поверхности для шванновских клеток, на которой они начинают пролиферировать, что увеличивает скорость регенерации нервных волокон. Также при помощи нанотрубок нервные клетки могут устанавливать связи между собой.

Список литературы:

1. Древаль, О.Н. Клинические рекомендации по диагностике и хирургическому лечению повреждений и заболеваний периферической нервной системы. / О.Н. Древаль, А.В. Кузнецов, Р.С. Джинджихадзе, В.Л. Пучков, В.П. Берснев // Ассоциация нейрохирургов России. – Москва, 2015. – 34 с.

2. Влияние углеродных нанотрубок на строение миелиновых нервных волокон при резекции седалищного нерва / А.Г. Коротких., С.В. Сазонов, С.Н. Тупоногов, С.Л. Леонтьев // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2016. - №1. – С. 44 – 48.

3. Сидоров, М.А. Фуллерены / М.А. Сидоров, Л.Н. Юровская и др. – М., 2005. – 688 с.

4. Стимуляция регенерации периферического нерва: современное состояние, проблемы и перспективы / И. Н. Щаницын, А.Н. Иванов, С.П. Бажанов, В.Г. Нинель, Д.М. Пучиньян, И.А. Норкин // Успехи физиологических наук. – 2017. Том 48, №3, с. 92-112.

5. Наноструктуры в биомедицине / К.Гонсалвес, К.Хальберштадт, К.Лоренсин, Л. Наир; пер. с англ. – М., 2015. – 519 с.

6. Biocompatibility of nativefunctionalized single-walled carbon nanotubes for neuronal interface / A.V. Liopo, M.P. Stewart, J. Hudson, J.M. Tour, T.C. Pappas // Nanosci Nanotechnol. – 2006. - № 6. – P. 1365–1374.

7. Malarkey E.B. Carbon nanotubes in neuroscience / Malarkey E.B., Parpura V. // Acta neurochirurgica. – 2010. – Supplement Vol. 106. – P.337-341.