

ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНИХ ЗМІН ЗАДНІХ РОГІВ СПИННОГО МОЗКУ ЩУРІВ ВИЩЕ ТА НИЖЧЕ МІСЦЯ НАНЕСЕННЯ ТУПОЇ ТРАВМИ

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця (м. Київ, Україна)

Анотація: Травма спинного мозку за своїм патогенезом і наслідками займає одне з чільних місць в переліку важких патологій травматичного походження. Вона є не ізольованою проблемою окремо взятого органу, а супроводжується, як правило, патологічними змінами хребтового стовпа і індукує патологічні процеси в органах, які отримують іннервацію від травмованої ділянки спинного мозку. Вразливість спинного мозку і низька регенеративна здатність високоспеціалізованої нервової тканини спонукають вчених до пошуку нових способів стимуляції регенерації, поглиблюючи знання про морфологію центральної нервової системи за умов дії різноманітних патологічних чинників. Відновлення нейротрофічного контролю спинного мозку на організм залежить від регенеративної спроможності нервової тканини. Доведено важливе значення гліоцитів, клітин крові і фібробластів у процесі нейрорегенерації. Перспективним є питання гальмування процесу рубцювання у нервовій системі після патологічного впливу, як один із методів її відновлення. Отже, безумовно є актуальність і необхідність досліджень регенеративної здатності спинного мозку за будь-яких умов для впровадження досягнень в практичну медицину.

Ключові слова: спинномозкова травма, регенерація, морфологія, нервова система, сіра речовина, задні роги, передні роги.

Abstract. According to its pathogenesis and consequences, spinal cord injury occupies one of the leading places in the list of severe pathologies of traumatic origin. It is not an isolated problem of a single organ, but is accompanied, as a rule, by pathological changes in the spinal cord and induces pathological processes in the organs that receive innervation from the injured area of the spinal cord. The vulnerability of the spinal cord and the low regenerative capacity of highly specialized nervous tissue prompt scientists to search for new ways to stimulate regeneration, deepening knowledge about the morphology of the central nervous system under the influence of various pathological factors. The restoration of neurotrophic control of the spinal cord over the body depends on the regenerative capacity of nervous tissue. The importance of gliocytes, blood cells and fibroblasts in the process of neuroregeneration has been proven. The issue of inhibition of the scarring process in the nervous system after pathological exposure is promising, as one of the methods of recovery. Therefore, the relevance and necessity of research into the regenerative ability of the spinal cord under any conditions for the implementation of achievements in practical medicine is unquestionable.

Key words: spinal cord injury, regeneration, morphology, nervous system, gray matter, posterior horns, anterior horns.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Дана наукова робота проводиться в рамках планової науково-дослідної роботи кафедри гістології та ембріології НМУ імені О.О. Богомольця «Тканинні реакції різних відділів нервової системи та внутрішніх органів на ураження різного ґенезу, та їх модуляція. Педагогічні аспекти викладання гістології», державний реєстраційний номер: 0123U101216.

Вступ.

Морфологічні зміни при травмі спинного мозку різного ступеня важкості виникають не лише суто в нервовій тканині, але запускають реактивні ланцюги реакцій в судинній, імунній і ендокринній системах. Цікавим є процес місцевої клітинної реакції із залученням нейронів, гліоцитів, фібробластів, нейтрофілів тощо. Тривалий час однією з головних проблем регенерації нервової тканини після травмування вважався процес утворення рубця, який на думку багатьох вчених має гліальну і сполучнотканинну складові. Аби уникнути рубцювання та зменшити ризик колагеноутворення в нервовій тканині проводилась низка досліджень щодо першості в переліку реактивних клітин, які власне ініціюють цей процес. Перспективними напрацюваннями в цьому напрямку є вивчення реактивності фібробластів. Відомо, що

після механічного впливу на ділянку спинного мозку безпосередньо в місці пошкодження формується фіброзний рубець, який згодом огортається гліальним рубцем [1]. Головну формуючу функцію в утворенні фіброзного осередку майбутнього рубцевого комплексу відіграють фібробласти. В гострому періоді спинномозкової травми відбувається переважно міграція фібробластів до місця травми, фібросинтез розпочинається у підгострому періоді, приблизно після 7-ї доби травмування, це момент найбільшого накопичення фібробластів в центрі травмування.

Паралельно доформовуючись в підгострому періоді травми, фіброзний рубець вже на 14-ту добу обростає гліальним, продуцентами якого є астроцити та мікрогліоцити [2].

Фібробласти в центральній нервовій системі (ЦНС) присутні в нормі в мозкових оболонках. Проте після експериментального травмування вони були виявлені як формувачі фіброзного рубця в осередку травми. Виникло питання їх походження. Проводились дослідження із пошкодженням мозкових оболонок і без нього. В обох випадках формування фіброзного рубця фібробластами було підтверджено. Крім того, колагенову складову виявили при рубцюванні в ЦНС під час прогресування розсіяного склерозу і навіть після нанесення тупих контузійних травм спин-

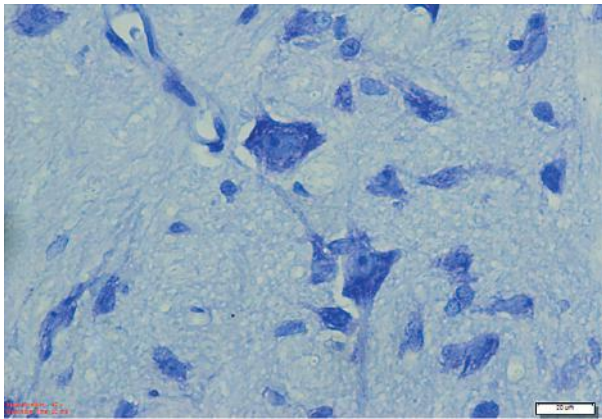


Рисунок 1 – Задні роги сірої речовини спинного мозку нижче зони травмування, через 3 доби. Забарвлення за методом Ніссля. Збільшення: x40.

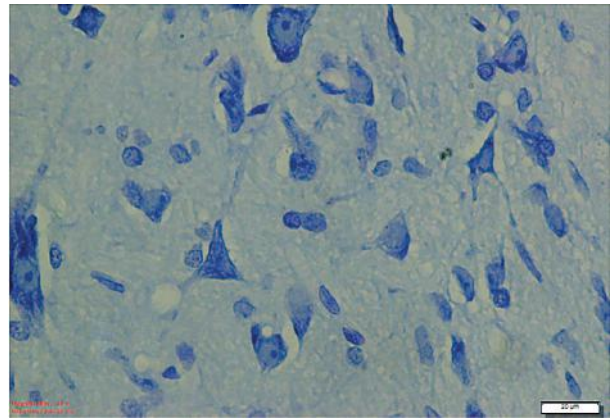


Рисунок 2 – Задні роги сірої речовини спинного мозку вище зони травмування, через 3 доби. Забарвлення за методом Ніссля. Збільшення: x40.

ного мозку у щурів в експерименті [3]. Проте, було виявлено морфологічні відмінності між фібробластами мозкових оболонок і тими, що формували фіброзні рубці в експерименті без пошкодження оболонок [4]. Так вчені висунули гіпотезу про альтернативне джерело фібробластів у травмованій ЦНС – периваскулярні фібробласти, які є радше фібробластоподібними клітинами, що походять із перичитів [5], циркулюючи в крові фіброцити або ендотеліоцити, які перетворюються на фібробластоподібні клітини шляхом своєрідної ретрансформації через перехід в стадію мезенхімальних клітин [6]. Ця гіпотеза була підтверджена результатами імуногістохімічних досліджень на підставі виявлення експресії відповідних маркерів. Надважливим є те, що знаючи «мішень», клітину, яка ініціює фіброз, можна шляхом терапевтичного впливу коригувати фіброз у ЦНС, що було продемонстровано на прикладі перичитів типу А [7].

Мета дослідження.

Визначити патологічні зміни в сірій речовині задніх рогів спинного мозку щурів після тупої травми вище і нижче місця безпосереднього механічного впливу і порівняти. Особливу увагу було приділено порівняльному дослідженню гліальних клітин в різні терміни після травмування. Акцентним моментом в дослідженні було виявлення міграції клітин в ділянці безпосереднього механічного впливу через прилеглі ділянки спинного мозку.

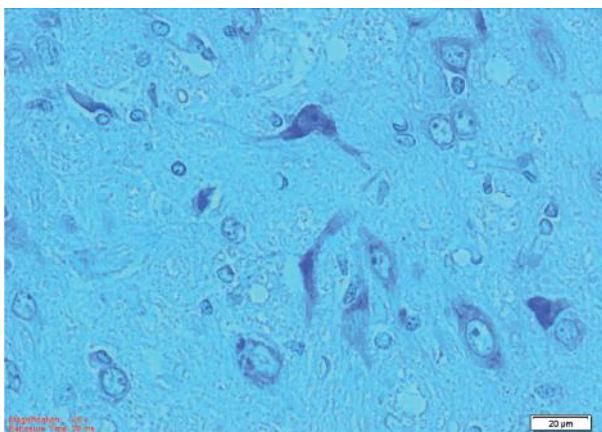


Рисунок 3 – Задні роги сірої речовини спинного мозку нижче зони травмування, через 14 діб. Забарвлення за методом Ніссля. Збільшення: x40.

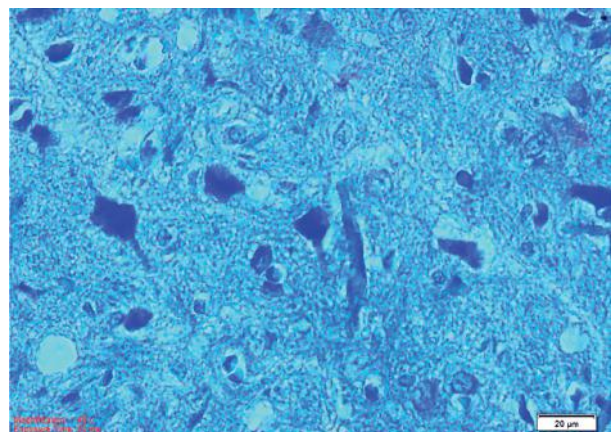


Рисунок 4 – Задні роги сірої речовини спинного мозку вище зони травмування, через 14 діб. Забарвлення за методом Ніссля. Збільшення: x40.

Об'єкт і методи дослідження.

Дослідження проводилось в експерименті на білих щурах, які утримувались за умов віварія з дотриманням вимог Європейської конвенції із захисту хребетних тварин (Страсбург, 1986). Щури були розподілені на 4 групи, по 10 в кожній: 1-ша – контрольна, 2-га – 1 година після нанесення травми, 3-я група – 3 доби після нанесення травми, 4-та група – 14 діб. Травмуванню підлягала ділянка спинного мозку на рівні сегментів Т1Х-Л1. Через певний термін часу після травмування спинний мозок вилучали з хребтового каналу, обробляли за стандартною методикою і готували зрізи сегментів на 2 вище і нижче Т1Х-Л1 з наступним забарвленням тулоїдиновим синім за Нісслем. Для даного дослідження брали зрізи на 2 сегменти вище і нижче місця безпосереднього механічного впливу аби дослідити міграцію клітин, які не були нейронами в ділянках спинного мозку, прилеглих до зони травмування.

Результати дослідження та їх обговорення.

Змодельований в експерименті на щурах забій спинного мозку давав клінічну картину з легким перебігом. Порушення функцій задніх кінцівок було незначним, у вигляді відставання у рухах задніх кінцівок від передніх і в'ялість м'язового тону протягом перших 2-х діб. Проте мікроскопічно в сірій речовині задніх рогів спинного мозку нижче місця нанесення травми було виявлено патологічні зміни у перикаріонах у вигляді дегрануляції нейронів, яка

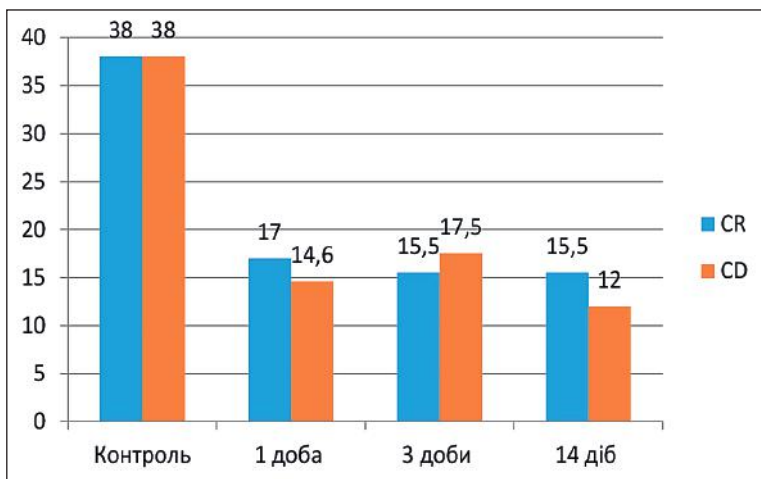


Рисунок 5 – Динаміка об'ємної щільності перикаріонів (%) задніх рогів спинного мозку в терміни 1 доба, 3 доби, 14 діб після травмування в ділянках, що розташовані на 2 сегменти вище (CR) і нижче (CD) місця безпосереднього впливу.

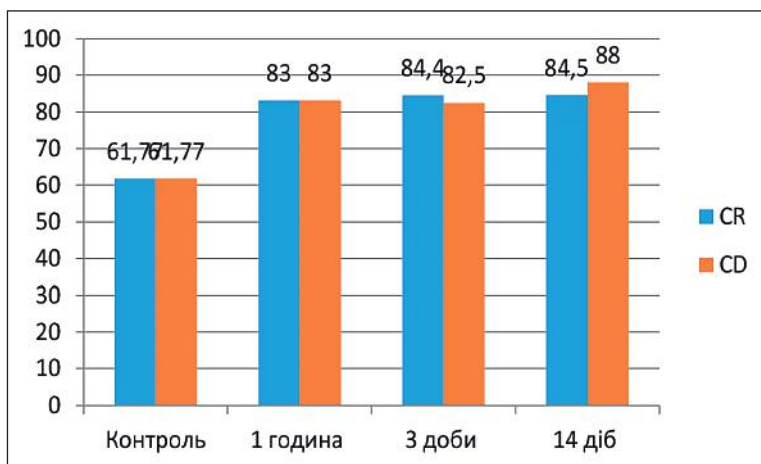


Рисунок 6 – Динаміка об'ємної щільності клітин (%) задніх рогів спинного мозку, які не є нейронами, в терміни 1 доба, 3 доби, 14 діб після травмування в ділянках, що розташовані на 2 сегменти вище (CR) і нижче (CD) місця безпосереднього впливу.

тривала протягом всіх термінів дослідження; починаючи з 3-ї доби після нанесення травми в полі зору виявлені поодинокі кавеоли навколо перикаріонів, втрата структурованості нейрофібрил в різні терміни травмування, у порівнянні з групами контролю відмічено збільшення об'ємної щільності клітин, які не є нейронами, починаючи з 1 доби після травмування. Каріолема нейронів втратила чіткість і структурність, починаючи з 3 доби спостереження (рис. 1). При дослідженні нейронів задніх рогів спинного мозку вище місця безпосереднього нанесення травми відмічено наступні морфологічні зміни: дегрануляція протягом всіх термінів дослідження, порушення структури нейрофібрил, набряк каріолеми і нейролеми (рис. 2), які були менш виражені у порівнянні з процесами, що відбуваються в задніх рогах нижче місця травми; утворення кавеола навколо перикаріонів у нейропі-

лі було більше виражене по кількості й розмірах у порівнянні із зразками задніх рогів нижче місця травмування (рис. 3), що особливо помітно в терміні 14 діб після травмування (рис. 4). Збільшення об'ємної щільності клітин (%), які не були нейронами, у задніх рогах вище і нижче місця травми не мало між собою особливої різниці, проте в динаміці відмічено зростання показників об'ємної щільності клітин, які не були нейронами на тлі зниження показників об'ємної щільності перикаріонів від терміну 1 година до терміну 14 діб після травми.

На підставі порівняльного аналізу морфологічних змін у задніх рогах сірої речовини спинного мозку в ділянці нижче і вище місця травмування в різні терміни після нанесення травми, було виявлено патологічні зміни в перикаріонах інтернейронів, які посилювались від терміну 1 доба після травми до терміну 14 діб і мали яскравіші прояви в задніх рогах нижче місця травмування. Відмічено зменшення об'ємної щільності перикаріонів у досліджуваній ділянці спинного мозку у порівнянні з групою контролю (рис. 5), що логічно komponується з інформацією про патоморфологічні зміни в перикаріонах і може свідчити на користь версії про загибель частини з них. Водночас зростання об'ємної щільності клітин, які не були нейронами в терміні 1 година після травми свідчить на користь реактивної міграції клітин глії, крові і, ймовірно, попередників фібробластів в зону травмування через досліджувані сегменти

вище і нижче цього місця з обох боків (рис. 6). Виходячи з даних спостереження, оскільки показник об'ємної щільності клітин, які не були нейронами, не зазнавав суттєвих змін, можемо зробити попередній висновок про постійну і тривалу міграцію клітин протягом всіх наведених термінів спостереження.

Висновки.

Клінічно і макроскопічно неважка травма спинного мозку у щурів гістологічно мала прояви тривалого патологічного процесу, який мав різноманітні прояви на рівні нейронів, нейроглії і інших клітин, ймовірна участь яких у процесі планується бути доведеною подальшими дослідженнями, як в ділянках спинного мозку вище місця безпосереднього нанесення травми, так і нижче.

Література

1. Alizadeh A, Dyck SM, Karimi-Abdolrezaee S. Traumatic Spinal Cord Injury: An Overview of Pathophysiology, Models and Acute Injury Mechanisms. *Front Neurol.* 2019;10:282. DOI: [10.3389/fneur.2019.00282](https://doi.org/10.3389/fneur.2019.00282).
2. Bellver-Landete V, Bretheau F, Mailhot B, Vallières N, Lessard M, Janelle ME, et al. Microglia are an essential component of the neuroprotective scar that forms after spinal cord injury. *Nat Commun.* 2019;10(1):518. DOI: [10.1038/s41467-019-08446-0](https://doi.org/10.1038/s41467-019-08446-0).
3. Ayazi M, Zivkovic S, Hammel G, Stefanovic B, Ren Y. Fibrotic Scar in CNS Injuries: From the Cellular Origins of Fibroblasts to the Molecular Processes of Fibrotic Scar Formation. *Cells.* 2022;11(15):2371. DOI: [10.3390/cells11152371](https://doi.org/10.3390/cells11152371).
4. Soderblom C, Luo X, Blumenthal E, Bray E, Lyapichev K, Ramos J, et al. Perivascular fibroblasts form the fibrotic scar after contusive spinal cord injury. *J Neurosci.* 2013;33(34):13882-7. DOI: [10.1523/JNEUROSCI.2524-13.2013](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2524-13.2013).
5. Dias DO, Kalkitsas J, Kelahmetoglu Y, Estrada CP, Tatarishvili J, Holl D, et al. Pericyte-derived fibrotic scarring is conserved across diverse central nervous system lesions. *Nat Commun.* 2021;12(1):5501. DOI: [10.1038/s41467-021-25585-5](https://doi.org/10.1038/s41467-021-25585-5).
6. Souilhol C, Harmsen MC, Evans PC, Krenning G. Endothelial-mesenchymal transition in atherosclerosis. *Cardiovasc Res.* 2018;114(4):565-577. DOI: [10.1093/cvr/cvx253](https://doi.org/10.1093/cvr/cvx253).
7. Dias DO, Kalkitsas J, Kelahmetoglu Y, Estrada CP, Tatarishvili J, Holl D, et al. Pericyte-derived fibrotic scarring is conserved across diverse central nervous system lesions. *Nat Commun.* 2021;12(1):5501. DOI: [10.1038/s41467-021-25585-5](https://doi.org/10.1038/s41467-021-25585-5).