

## Оригінальна стаття = Original article = Оригінальная статья

УДК 617.731+617.732+617.734 +617.754+617.009+617.7-073.178

### Активация регенераторных процессов при травме зрительного нерва под влиянием высоких доз кортикостероидов

Мойсеенко Н.М.

Кафедра отоларингологии та офтальмології, Івано-Франківський національний медичний університет, Івано-Франківськ, Україна

Надійшла до редакції 01.07.15.  
Прийнята до публікації 28.12.15.

#### Адреса для листування:

Мойсеенко Наталія Миколаївна,  
Кафедра отоларингології та офтальмології, Івано-Франківський національний медичний університет, вул. Галицька, 2, Івано-Франківськ, Україна, 76018,  
e-mail: natalymoyseenko@ukr.net

**Мета.** На підставі аналізу результатів морфологічного дослідження обґрунтувати вплив високих доз кортикостероїдів на регенераторні процеси в зоровому нерві (ЗН) після його травматичного ушкодження в експерименті.

**Матеріали і методи.** В експерименті у 12 статевозрілих кролів моделювали ушкодження ЗН. У 6 з них на 2-гу добу після травми внутрішньом'язово вводили метилпреднізолон.

**Результат.** На 14-ту добу лікування у внутрішньочерепній частині ЗН відзначали покращення мікроциркуляції, що супроводжувалося зменшенням набряку та активацією ремієлінізації нервових волокон. В аксоплазмі виявлені новоутворені мітохондрії, формування структурованих мікротрубочок і нейрофіламентів, що є ранніми ознаками регенеративних процесів ЗН.

**Висновок.** При травматичному ушкодженні ЗН застосування високих доз кортикостероїдів на 14-ту добу сприяло покращенню мікроциркуляції, зменшенню набряку, ремієлінізації та активації процесів регенерації.

**Ключові слова:** травматичне ушкодження зривого нерва; регенераторні процеси; ремієлінізація; високі дози кортикостероїдів; експеримент.

Український нейрохірургічний журнал. — 2016. — №1. — С.40-43.

### Activation of regenerative processes optic nerve in traumatic injury under high doses of corticosteroids

Nataliya Moysyenko

Department of Otolaryngology and Ophthalmology, Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, Ukraine

Received, July 01, 2015.  
Accepted, December 28, 2015.

#### Address for correspondence:

Nataliya Moysyenko, Department of Otolaryngology and Ophthalmology, Ivano-Frankivsk National Medical University, vul. Halytska, 2, Ivano-Frankivsk, Ukraine, 76018, e-mail: natalymoyseenko@ukr.net

**Objective:** Morphologically justify the effect of high doses of corticosteroids on regenerative processes in the optic nerve (ON) after traumatic injury in the experiment.

**Materials and methods:** It has been used 6 mature rabbits (Group injured), which made damage the optic nerve. 6 rabbits (treated group) on the second day after the injury were treated with the use administration of methylprednisolone.

**Results:** The microcirculation of intracranial ON improves observed, accompanied by a decrease in swelling at 14 days after treatment. There was detected remyelination regeneration of these fibers. There are young mitochondria in the axoplasm. There were formed microtubules and structured neurofilaments, which is an early sign of regenerative processes of the ON.

**Conclusion:** Consequently found that for traumatic ON damage high doses of corticosteroids for 14 days results in improvement of microcirculation reduce swelling, remyelination and activation of regeneration.

**Key words:** traumatic injury of the optic nerve; regenerative processes; remyelination; high doses of corticosteroids; experiment.

Ukrainian Neurosurgical Journal. 2016;(1):40-3.

### Активация регенераторных процессов при травме зрительного нерва под влиянием высоких доз кортикостероидов

Мойсеенко Н.М.

Кафедра отоларингологии и офтальмологии, Івано-Франківський національний медичний університет, Івано-Франківськ, Україна

Поступила в редакцию 01.07.15.  
Прийнята к публикации 28.12.15.

**Цель.** На основе анализа результатов морфологических исследований обосновать влияние высоких доз кортикостероидов на регенераторные процессы в зрительном нерве (ЗН) после его травматического повреждения в эксперименте.

**Материалы и методы.** В эксперименте у 12 половозрелых кролей моделировали повреждение ЗН. У 6 кролей на 2-е сутки после травмы внутримышечно вводили метилпреднизолон.

**Результат.** На 14-е сутки лечения во внутричерепной части ЗН отмечено улучшение микроциркуляции, что сопровождалось уменьшением отека и активацией ремиелинизации нервных волокон. В аксоплазме выявлены молодые митохондрии, формирование структурированных микротрубочек

**Адрес для переписки:**

Мойсеенко Наталья Николаевна,  
Кафедра отоларингологии  
и офтальмологии, Ивано-  
Франковский национальный  
медицинский университет, ул.  
Галицкая, 2, Ивано-Франковск,  
Украина, 76018, e-mail:  
natalymoyseenko@ukr.net

и нейрофиламентов, что являлось ранними признаками регенеративных процессов в ЗН.

**Вывод.** При травматическом повреждении ЗН применение высоких доз кортикостероидов на 14-е сутки способствовало улучшению микроциркуляции, уменьшению отека, ремиелинизации и активации процессов регенерации.

**Ключевые слова:** травматическое повреждение зрительного нерва; регенераторные процессы; ремиелинизация; высокие дозы кортикостероидов; эксперимент.

Украинский нейрохирургический журнал. — 2016. — №1. — С.40-43.

**Вступ.** Впродовж багатьох десятиліть досліджуються можливості регенерації структур ЗН (нервових волокон, мієлінової оболонки — МО) і мікроциркуляції. Регенераторні механізми різних частин ЗН (внутрішньоочної, орбітальної та внутрішньочерепної) недостатньо вивчені.

Вважають, що після ушкодження ЗН відбувається загибель гангліонарних клітин сітківки у низхідному напрямку, які у подальшому не здатні регенерувати. При моделюванні травматичного ушкодження ЗН у щурів встановлений дисбаланс між запальними і протизапальними факторами, що продукуються при пошкодженні ЗН і погіршують можливості його відновлення [1].

За даними експериментальних досліджень, зменшення післятравматичної загибелі гангліонарних клітин сітківки у низхідному напрямку після ушкодження ЗН вдавалося досягти у свавців шляхом застосування інгібіторів апоптозу та факторів росту [2].

Стимуляцію регенераторних процесів у гангліонарних клітинах сітківки відзначали при активації внутрішньоочної системи макрофагів [3].

В експериментах у щурів доведено можливість вторинного непрямого ушкодження ЗН внаслідок дегенеративних змін, пов'язаних з впливом нейротоксинів, що секретуються самими гангліонарними клітинами сітківки. Виявлений нейротрофічний фактор мозку (brain-derived neurotrophic factor — BDNF), концентрація якого після ушкодження головного мозку збільшувалася в гангліонарних клітинах сітківки — на боці ураження і зменшувалася на протилежному боці. В той же час самі гангліонарні клітини сітківки виробляли власний захисний фактор, що забезпечувало їх виживання.

Саме цей нейропротекторний ефект стимулюють високі дози глюкокортикоїдів, що забезпечує можливість лікування травматичної оптичної нейропатії (ТОН). Доведена ефективність застосування високих (30 мг/кг маси тіла) доз кортикостероїдів [4].

Застосування високих доз кортикостероїдів вважають стандартом лікування ТОН в багатьох країнах, проте, не вирішено багато питань пов'язаних з вираженими побічними реакціями на ці препарати, неможливістю їх застосування в оптимальні строки (перші 48 год), коли стан пацієнта, як правило, обтяжений супутніми пошкодженнями.

Таким чином, дослідження регенераторних процесів, що виникають у ЗН під впливом кортикостероїдів, потребують детального дослідження, що дозволить оптимізувати способи їх застосування і, по можливості, зменшити їх негативний вплив.

**Мета дослідження:** на підставі аналізу результатів морфологічного дослідження обґрунтувати вплив високих доз кортикостероїдів на регенераторні процеси у ЗН після його травматичного ушкодження в експерименті.

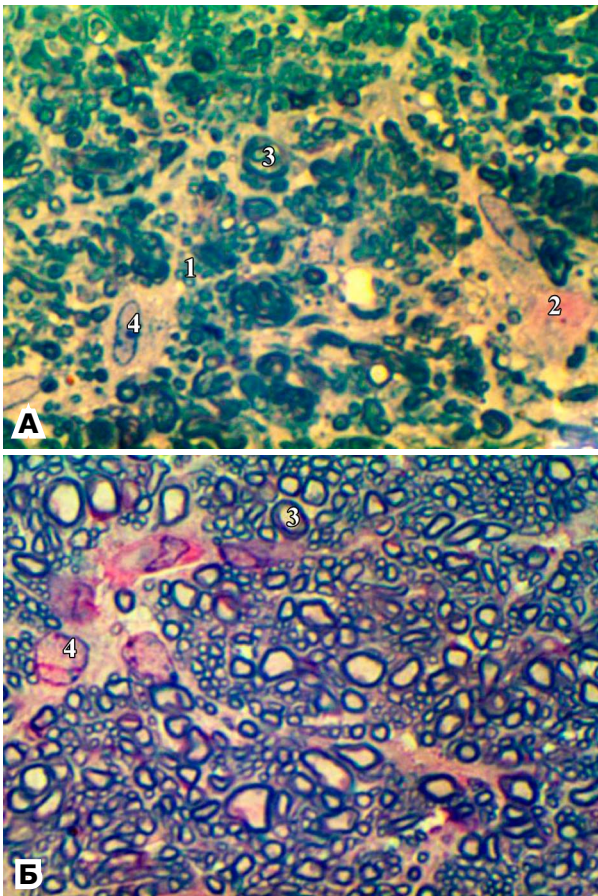
**Матеріали і методи дослідження.** Як експериментальну модель використані 12 статевозрілих кролів-самців масою тіла 3,5–4 кг, породи радянська шиншила. Тварини розподілені на дві групи. У 6 тварин (1-ша група) лікування не проводили; у 6 (2-га група) на 2-у добу після травми внутрішньом'язово вводили метилпреднізолон в дозі 30 мг/кг маси тіла впродовж 3 діб, у подальшому дозу поступово зменшували.

Травматичне пошкодження орбітальної частини правого ЗН моделювали шляхом стиснення і розчавлення в умовах операційної віварію кафедри анатомії людини з дотриманням правил асептики. Тварин утримували і виводили з експерименту відповідно до «Вимог біоетики Хельсинської декларації з етичного регулювання медичних досліджень» [5].

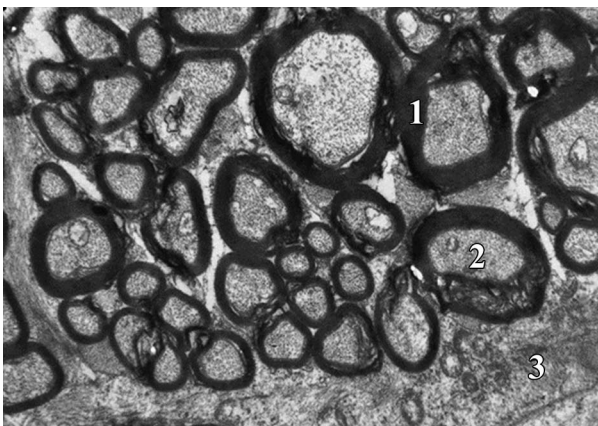
Через 2 тиж тварини обох груп виведені з експерименту шляхом гільйотинування. Для морфологічного дослідження забирали краніальну частину ЗН обох очей. Як контроль використовували відповідні структури тварин контрольної групи (14 інтактних кролів).

Для електронно-мікроскопічного дослідження шматочки матеріалу фіксували у 2% розчині чотириокису осмію, проводили та контрастували за загальноприйнятими методиками. Матеріал вивчали під електронним мікроскопом ПЕМ-125 К, за прискорювальної напруги 75 кВ, з подальшим фотографуванням при збільшенні від  $\times 1200$  до  $\times 25000$ . Напівтонкі зрізи товщиною 1 мкм фарбували 1% розчином метиленового синього, вивчали під світловим мікроскопом МС 300 (ТХР) та фотографували за допомогою Digital camera for microscope DCM 900 з розширенням 1200x1600.

**Результати та їх обговорення.** За даними дослідження, у кролів після моделювання травматичного пошкодження орбітальної частини правого ЗН, на 14-ту добу лікування, на відміну від тварин контрольної групи, виявлене зменшення набряку ендоневральної сполучної тканини, ніж у тварин 1-ї групи. Проте, набряк зберігався в субпериневральній ділянці та навколо мікрогемосудин (**рис. 1**). Мієлінові нервові волокна (МНВ) були округлої або овальної та неправильної зірчастої і полігональної форми. В деяких з них зовнішній і внутрішній контури МО концентричні, в інших — внутрішні шари МО формували випинання



**Рис. 1.** Електронограма. Внутрішньочерепна частина правого (А) та лівого (Б) ЗН кроля на 14-ту добу після правобічного травматичного ушкодження та використання високих доз кортикостероїдів. 1 — новоутворені МНВ; 2 — новоутворені колагенові волокна; 3 — деструктивно змінені МНВ; 4 — ядра фібробластів; 5 — реактивні зміни. Напівтонкі зрізи. Забарвлення поліхромним барвником. 36.х1000.



**Рис. 2.** Електронограма. Відновні процеси в МНВ внутрішньочерепної частини правого ЗН кроля після травматичного ушкодження на 14-ту добу лікування. 1 — МНВ з упорядкованою МО; 2 — новоутворені мікротрубочки і нейрофіламенти в аксоплазмі МНВ; 3 — цитоплазма нейролемоцита з молодими мітохондріями та чітко впорядкованими цистернами гранулярної ендоплазматичної мережі. 36.х6400.

різної форми і висоти, що свідчило про збереження дегенеративних змін цих МНВ.

При дослідженні поперечних зрізів правого ЗН за допомогою електронного мікроскопа у тварин 2-ї групи виявлені МНВ, МО яких складалася тільки з кількох ламелів мієліну, що були чітко впорядковані (**рис. 2**), на відміну від подібних зон у тварин 1-ї групи.

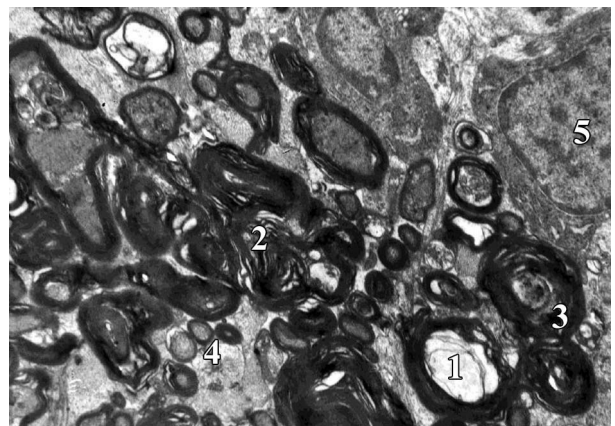
В аксоплазмі таких МНВ містилися новоутворені видовжені мітохондрії з щільним матриксом та упорядкованими кристами, помірна кількість чітко структурованих мікротрубочок і нейрофіламентів, що свідчило про відновлення їх остову та провідності [6]. В цитоплазмі нейролемоцитів виявляли велике ядро з дисперсно розсіяним хроматином та чіткою нуклеолою з неглибокими інвагінаціями, новоутворені мітохондрії та чітко упорядковані цистерни гранулярної ендоплазматичної мережі. Такі морфологічні ознаки є свідченням посилення енергозабезпечуючих та біосинтетичних процесів, що відбуваються в нейролемоцитах [7, 8].

Проте, все ще зберігалися МНВ з розширеною МО. В них ламелярна структура мієліну порушена, між окремими ламелями виявляли вакуолі різних розмірів, мієлін мав вигляд повсті. У таких волокнах спостерігали зморщення осевого циліндра, збільшення періаксонального простору, в якому часто виявляли електроннощільні тільця, рештки мієліну і мультипуччасті структури (**рис. 3**).

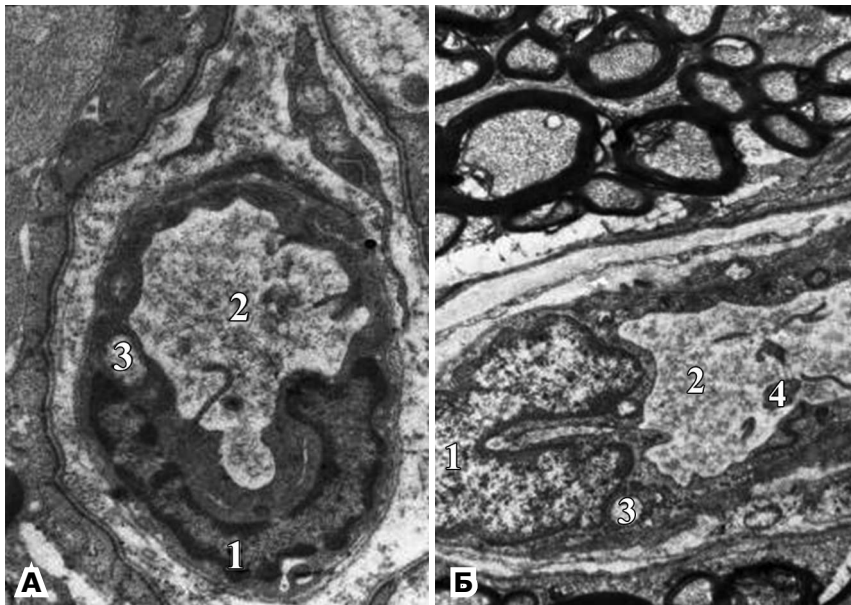
По ходу епі-, пери- та ендоневральних прошарків відзначали поодинокі фібрилярні вclusions, проте, їх значно менше, ніж у тварин 1-ї групи. Ендоневрій, що оточував судини, залишався набряклим.

Такі морфологічні зміни правого ЗН відбувалися на тлі відновлення мікроциркуляції. Капіляри ендоневрію округлої форми, з округлим або овальним просвітом. Ядра ендотеліоцитів видовженої форми, з маргінально розташованим хроматином (**рис. 4**).

В деяких ендотеліоцитах цитоплазма була підвищеної електронно-оптичної щільності, містила новоутворені мітохондрії, поодинокі мікропіноцитозні пухирці. Це є новоутворені ендотеліоцити. У деяких



**Рис. 3.** Електронограма. Деструктивні зміни МНВ внутрішньочерепної частини правого ЗН кроля на 14-ту добу після травматичного ушкодження та застосування високих доз кортикостероїдів. 1 — набряк аксолеми нервового волокна; 2 — розшарування ламел мієліну; 3 — набряк МО; 4 — МНВ з збереженою ультраструктурою; 5 — ядро нейролемоцита. 36.х6400.



**Рис. 4.** Електронограма. Гемодинаміка внутрішньочерепної частини правого ЗН при правобічному травматичному ушкодженні на 14-ту добу лікування. А — капіляр; Б — прекапіляр; 1 — ядра ендотеліоцитів видовженої форми, з маргінально розташованим хроматином; 2 — просвіт капіляра; 3 — вакуолі в цитоплазмі ендотеліоцита; 4 — мікроклазматоз (відокремлення частини цитоплазми, оточеної по периметру плазматичною мембраною). 36.х6400.

ендотеліоцитах цитоплазма помірної та низької щільності, з великими та дрібними вакуолями, великою кількістю мікропіноцитозних пухирців, що свідчило про набряк цих клітин.

Люмінальна поверхня плазмолем ендотеліоцитів з випинаннями різної форми і глибини, що нерідко відшнуровувалися в просвіт капіляра, утворюючи мікроклазматоз.

Таким чином, при травматичному компресійному ушкодженні орбітальної частини ЗН на 14-ту добу при використанні високих доз кортикостероїдів у внутрішньочерепній частині ЗН відзначали покращення мікроциркуляції, про що свідчили утворення молодих ендотеліоцитів та активація обмінних процесів завдяки молодим мітохондріям. МО стає чітко впорядкованою (ознака ремієлінізації). В аксоплазмі містяться молоді видовжені мітохондрії, формуються структуровані мікротрубочки і нейрофіламенти, що свідчить про відновлення їх структури та провідності, а отже, є ранніми ознаками регенераторних процесів у ЗН та можливого відновлення його функціональної активності.

Таким чином, за даними морфологічних досліджень, застосування високих доз кортикостероїдів при травматичному ушкодженні ЗН сприяло покращенню мікроциркуляції, зменшенню набряку, ремієлінізації та активації процесів регенерації.

#### Список літератури

- Ridderstrom M. Brilliant blue G treatment facilitates regeneration after optic nerve injury in the adult rat / M. Ridderstrom, M. Ohlsson // *NeuroReport*. — 2014. — V.25, N17. — P.1405–1410.
- Towards retinal ganglion cell regeneration / H. Gao, H. Zhang, J. Shou, L. Chen, Y. Shen, Q. Tang, J. Huang, J. Zhu // *Regenerat. Med.* — 2012. — V.7, N6. — P.865–875.
- Early events of secondary degeneration after partial optic nerve transection: an immunohistochemical study / M.

Fitzgerald, C.A. Bartlett, A.R. Harvey, S.A. Dunlop // *J. Neurotrauma*. — 2010. — V.27, N2. — P.439–452.

4. Traumatic brain injury induced neuroprotection of retinal ganglion cells to optic nerve crush / G. Ben Simon, D. Hovda, N. Harris, F. Gomez-Pinilla, R. Goldberg // *J. Neurotrauma*. — 2006. — V.23, N7. — P.1072–1082.

5. Мойсеєнко Н.М. Структурні зміни краніальної частини зорового нерва при травматичному пошкодженні його орбітальної частини в експерименті / Н.М. Мойсеєнко, О.Я. Жураківська, Г.М. Леськів // *Офтальмол. журн.* — 2014. — №6. — С.101–105.

6. Standardizing optic nerve crushes with an aneurysm clip / Feng Dong-Fu, Chen Er-Tao, Li Xue-Yuan Liu Yong, Wang Yang // *Neurol. Res.* — 2010. — V.32, N6. — P.476–481.

7. A novel animal model of partial optic nerve transection established using an optic nerve quantitative amputator / X. Wang, Y. Li, Y. He, H. Liang, E. Liu // *PLoS ONE*. — 2012. — V.7, N9. — P.865–875.

8. Full-length axon regeneration in the adult mouse optic nerve and partial recovery of simple visual behaviors / S. de Lima, Y. Koriyama, T. Kurimoto, J. Oliveira, Y. Yin, Y. Li, H. Gilbert, M. Fagiolini, A. Martinez, L. Benowitz // *Proceed. Nat. Acad. Sci.* — 2012. — V.109, N23. — P.9149–9154.

#### References

- Ridderstrom M, Ohlsson M. Brilliant blue G treatment facilitates regeneration after optic nerve injury in the adult rat. *NeuroReport*. 2014;25(17):1405-10. doi:10.1097/wnr.0000000000000286. PMID:25340564.
- Gao H, Zhang H, Shou J, Chen L, Shen Y, Tang Q, Huang J, Zhu J. Towards retinal ganglion cell regeneration. *Regener Med*. 2012;7(6):865-75. doi:10.2217/rme.12.97. PMID:23164085.
- Fitzgerald M, Bartlett C, Harvey A, Dunlop S. Early Events of secondary degeneration after partial optic nerve transection: an immunohistochemical study. *J Neurotrauma*. 2010;27(2):439-52. doi:10.1089/neu.2009.1112. PMID:19852581.
- Ben Simon G, Hovda D, Harris N, Gomez-Pinilla F, Goldberg R. Traumatic brain injury induced neuroprotection of retinal ganglion cells to optic nerve crush. *J Neurotrauma*. 2006;23(7):1072-82. doi:10.1089/neu.2006.23.1072. PMID:16866620.
- Moysyenko NM, Zhurakivsky AY, Leskiv GN. [Structural changes of the cranial part of the optic nerve in traumatic injury of its orbital part in experiment]. *Oftalmologicheskij zhurnal*. 2014;(6):101-5. Ukrainian.
- Feng D, Chen E, Li X, Liu Y, Wang Y. Standardizing optic nerve crushes with an aneurysm clip. *Neurol Res*. 2010;32(5):476-81. doi:10.1179/016164110x12556180206158. PMID:20021737.
- Wang X, Li Y, He Y, Liang H, Liu E. A novel animal model of partial optic nerve transection established using an optic nerve quantitative amputator. *PLoS ONE*. 2012;7(9):865-75. doi:10.1371/journal.pone.0044360. PMID:22973439.
- de Lima S, Koriyama Y, Kurimoto T, Oliveira J, Yin Y, Li Y, Gilbert H, Fagiolini M, Martinez A, Benowitz L. Full-length axon regeneration in the adult mouse optic nerve and partial recovery of simple visual behaviors. *Proceed Nat Acad Sci*. 2012;109(23):9149-54. doi:10.1073/pnas.1119449109. PMID:22615390.