

© Г.А.Илизаров, Н.Р.Карымов, 1995

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ НЕРВНЫХ ВОЛОКОН В ОНТОГЕНЕЗЕ И В УСЛОВИЯХ ДОЗИРОВАННОЙ ДИСТРАКЦИИ

Г.А.Илизаров, Н.Р.Карымов

Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. академика Г.А.Илизарова, г. Курган (Генеральный директор - академик РАМТН, д.м.н., профессор В.И.Шевцов)

Методами электронной микроскопии изучены берцовые и седалищные нервы плода собаки, интактных щенков, взрослых собак, которым удлинняли голень методом distractionного остеосинтеза. Полученные результаты показали, что как в условиях естественного онтогенетического роста у щенков, так и под воздействием искусственно создаваемого напряжения растяжения у взрослых животных в клетках нервов активируются адгезивные соединения, опосредующие механические влияния, существенное развитие получает биосинтетический аппарат, наблюдаются сходные варианты пространственной интеграции синтезирующих и синтезируемых структур. Развертываясь в обратном онтогенезу порядке, ультраструктурные события в условиях дозированной distraction демонстрируют зеркальное его отображение.

Ключевые слова: нерв, дозированная distraction, онтогенез, морфология.

На основе разносторонних фундаментальных исследований, проведенных под руководством Г.А.Илизарова, установлено, что во взрослом организме рост тканей под воздействием искусственно создаваемого в них напряжения растяжения происходит с воспроизведе-

нием ряда признаков естественного онтогенетического роста. Настоящее исследование демонстрирует данное положение на примере нервных волокон проводниковой части магистральных нервов конечности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Методами электронной микроскопии изучены берцовые и седалищные нервы у плода собаки сроком 8,5 недель и у 10 щенков: в 1-е, 7-е, 14-е и 30-е сутки после рождения. Для сравнения у 10 взрослых собак, которым через 5 суток после флекссионной остеоклазии [1] осуществляли удлинение голени по 1 мм в сутки не более чем на 0,25 мм за один прием аппаратом Илизарова, исследованы берцовые нервы. Эксперимент заканчивали на 7, 14, 21, 28 сутки distraction-

ции. Эвтаназию проводили введением летальной дозы барбитуратов. Материал фиксировали смесью 2% растворов глutarового и параформальдегида на фосфатном буфере (pH - 7,4), затем в 1% растворе четырехоксида осмия и после обезжизивания заливали в аралдит. Ультратонкие срезы, контрастированные растворами уранилацетата и цитрата свинца, исследовали в просвечивающем электронном микроскопе.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В 1-е сутки постнатального периода в леммоцитах дифференцирующихся нервных волокон проводниковой части нервов у поверхности цитолеммы, граничащих с эндоневральным пространством, обнаруживалось необычно большое число цитостромальных соединений, подобных полудесмосомам. Характерно, что эндоневральные пространства в этот период еще недостаточно развиты, и леммоциты соседних волокон зачастую контактируют друг с другом посредством базальных мембран. В то же время в леммоцитах отмечалось и необычно много десмосомоподобных соединений (рис. 1). Они локализовались между контактирующими цитолеммами леммоцитарных отростков безмиелиновых волокон, в области наружного мезаксона миелинизирующихся волокон, между цитолеммами отростков наружных слоев цитоплазмы смежных миелиновых сегментов в перехватах Ранвье, между цитолеммами отростков наружного слоя цитоплазмы и ближайшей к перехвату

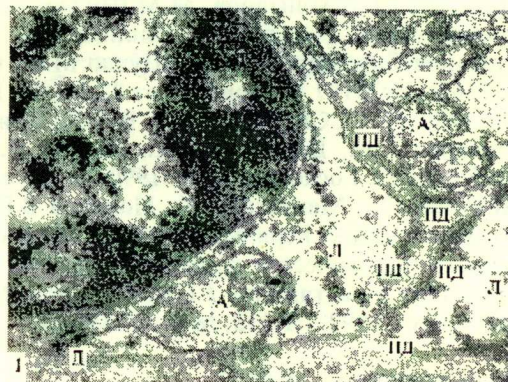


Рис. 1. Безмиелиновые нервные волокна. Щенок. 1-е сутки постнатального периода развития. Л - леммоцит. А - аксон. Д - десмосомоподобное соединение. ПД - соединение, подобное полудесмосоме. Электрограмма. Ув.: 47000.

терминальной паранодальной петли миелиновой оболочки. «Серии», «ленты» этих соединений постоянно встречались между терминаль-

ными петлями миелиновой оболочки в паранодальной области и в зонах насечек Шмидта-Лантермана. Интересно, что ничего подобного не наблюдалось в нервных волокнах проводниковой части магистральных нервов задних конечностей до рождения, на срок 8,5 недель натального периода. Как известно, данные соединения служат для перераспределения механических усилий [2]. И по нашему мнению, массовое появление их в 1-е сутки рождения связано с существенными растягивающими усилиями, перенесенными в момент родов, когда в отсутствие хорошо развитого эндоневрия растяжение воспринималось непосредственно клеточными структурами нервных волокон. Кроме того, определенную роль, по-видимому, играет и переход из условий жидкостной среды обитания в матке к условиям более непосредственного влияния гравитации.

В течение последующего развития эндоневральные пространства заметно расширились. Значительно увеличивалось количество коллагеновых волокон в них, синтез которых обеспечивался появлением в леммоцитах очень крупных, характерных для экзосекреции, цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума (рис. 2).

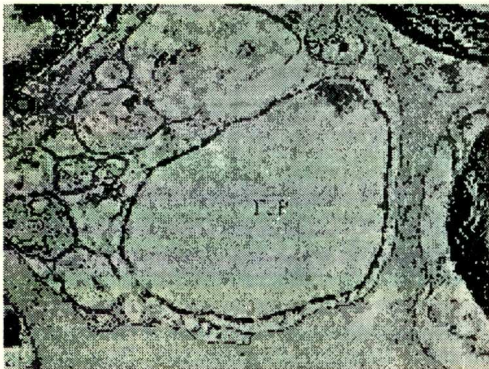


Рис. 2. Безмиелиновое нервное волокно. Щенок. 1-е сутки постнатального периода. Обратите внимание на очень крупную цистерну гранулярного эндоплазматического ретикулума (ГЭР). Электронограмма. Ув.: 41000.

Частота же встречаемости описанных специализированных соединений заметно снижалась. И если на 7-14 дни постнатального периода они встречались довольно регулярно (рис. 3), то на 21-30 дни наблюдать десмосомоподобные соединения нам не удалось. По нашему мнению, это связано с тем, что значительную часть механической нагрузки берет на себя развивающийся эндоневрий.

Как уже отмечалось, в 1-е сутки постнатального периода в леммоцитах безмиелиновых волокон появлялись крупные цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума, характерные для клеток, синтезирующих коллаген. Наряду с этим в леммоцитах миелинизирующихся нервных волокон в 1-е сутки после рождения регулярно обнаруживались рибосомы, ле-

жащие непосредственно на цитоплазматической поверхности мембран миелиновой оболочки (рис. 4). В расслоенной по главной плотной линии миелиновой оболочке они располагались как со стороны наружного слоя цитоплазмы, так и внутри спирали формирующегося миелина. При наблюдении же компактизованного миелина они размещались по окружности миелиновой оболочки со стороны наружного слоя цитоплазмы и на мембранах наружного мезаксона. Реже рибосомы обнаруживались у поверхности цитолеммы, граничащей с эндоневральным пространством. Они присутствовали в леммоцитах независимо от степени миелинизации волокна по всей длине миелинового сегмента. Характерно, что к седьмым суткам постнатального периода подобное явление пространственной интеграции синтезирующего аппарата и синтезируемого объекта наблюдалось крайне редко, а в более поздние сроки нам его обнаружить не удалось. В то же время в период 7-14 суток постнатального развития в леммоцитах миелинизирующихся нервных волокон регулярно наблюдался другой вариант пространственной интеграции синтезирующих и синтезируемых структур (рис. 5). На поперечных срезах очень протяженные, относительно узкие цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума практически повторяли профиль наружной поверхности прилежащей миелиновой оболочки, радиально образуя участками несколько параллельных рядов. В участках же расслоенного миелина цистерны ретикулума прилежали к наружной мембране миелиновой оболочки практически вплотную. Позднее, в возрасте 21 суток и более, такие яркие картины пространственной интеграции синтетического аппарата с миелином наблюдались все реже.

В условиях дозированной дистракции по Илизарову в нервных волокнах проводниковой части берцовых нервов удлиняемой голени также отмечалось массовое появление описанных в онтогенезе десмосомоподобных структур (рис. 6, 8). Впервые они четко наблюдались на 14 сутки, а наибольшего развития достигали к 28 суткам дистракции. Соответственно, они имели ту же, что и в онтогенезе, локализацию: в области перехватов Ранвье между цитолеммами отростков смежных миелиновых сегментов, между паранодальными терминальными петлями и т.д. Активизация биосинтетической активности леммоцитов проявлялась множеством полисом, гипертрофией гранулярного ретикулума. К 14 дню удлинения протяженные, относительно узкие цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума, подобно цистернам в онтогенезе, повторяли профиль поверхности миелиновой оболочки, образуя участками несколько параллельных рядов. В зонах расслоенного миелина формирующихся насечек Шмидта-Лантермана цистерны ретикулума вплотную контактировали с наружной его мембраной (рис. 7). На 28 сутки удлинения, подобно 1-м суткам постнатального развития, в паранодальных областях нервных

волокон обнаруживались рибосомы, лежащие непосредственно на мембранах миелиновой оболочки (рис. 8).

Таким образом, развертываясь в обратном постнатальном онтогенезу порядке, ультраструктурные события в условиях дозированной

дистракции по Илизарову демонстрируют зеркальное его отображение.

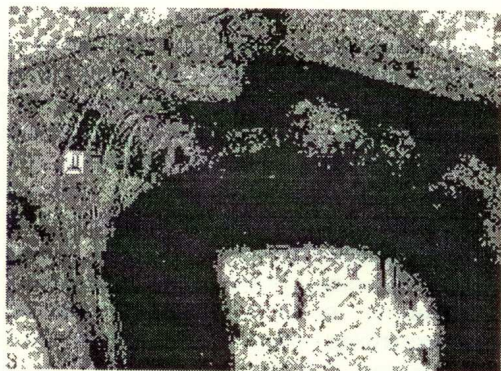


Рис. 3. «Лента» десмосомоподобных соединений в области насечки Шмидта-Лантермана. Щенок. 14-е сутки постнатального периода. Д - десмосомоподобное соединение. Электронограмма. Ув.: 57000.

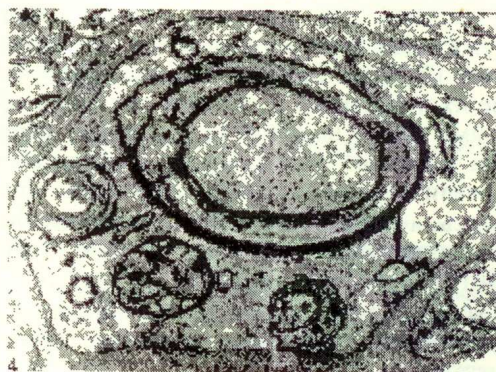


Рис. 4. Миелинизирующееся нервное волокно. Щенок. 1-е сутки постнатального периода. Стрелкой указаны рибосомы. Обратите особое внимание на рибосомы, расположенные на наружной поверхности миелиновой оболочки. Электронограмма. Ув.: 48000.

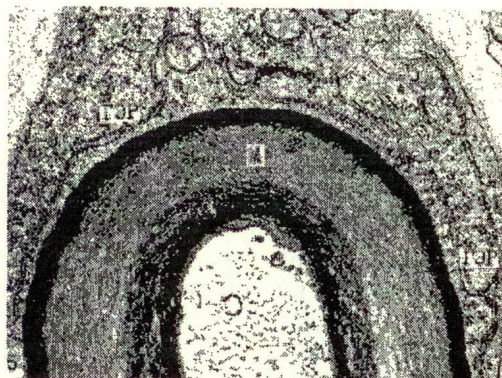


Рис. 5. Миелиновое нервное волокно. Щенок. 14-е сутки постнатального периода. Обратите внимание на протяженные цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума (ГЭР), повторяющие профиль наружной поверхности миелиновой оболочки (М). Электронограмма. Ув.: 41000.

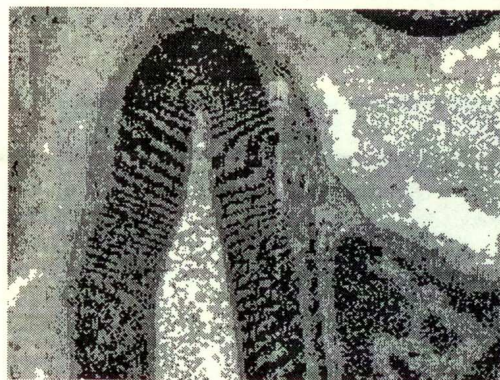


Рис. 6. «Лента» десмосомоподобных соединений в области насечки Шмидта-Лантермана. Взрослая собака. 14 дней дистракции. Д - десмосомоподобное соединение. Электронограмма. Ув.: 32000.



Рис. 7. Цистерна гранулярного эндоплазматического ретикулума, вплотную прилегающая к поверхностной мембране формирующей насечки Шмидта-Лантермана. Взрослая собака. 28 дней дистракции. ГЭР - гранулярный эндоплазматический ретикулум. Н - насечка Шмидта-Лантермана. Ув.: 38000.



Рис. 8. Паранодальная область миелинового нервного волокна. Взрослая собака. 28 дней дистракции. Д - десмосомоподобное соединение. Стрелки указывают на рибосомы. Электронограмма. Ув.: 95 000.

ЛИТЕРАТУРА

1. Илизаров Г.А., Шрейнер А.А. Новый метод закрытой флекссионной остеоклазии // Ортопед. травматол. - 1979. - № 1. - С.9-14.
2. Межклеточная адгезия и внеклеточный матрикс. / Б.Алберте, Д.Брей, Дж.Льюис и др. // Молекулярная биология клетки: В 5-ти т. - Т. 3. - Пер. с англ. - М.: Мир, 1987. - С.201-243.

Рукопись поступила 15.11.92.

© Коллектив авторов, 1995

ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ТЕЧЕНИЯ РЕПАРАТИВНОГО ПРОЦЕССА У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКИМ ОСТЕОМИЕЛИТОМ КОСТЕЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Ю.П.Балдин, К.С.Десятниченко, А.М.Аранович, Л.С.Кузнецова, С.П.Изотова, Н.М.Клюшин

Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. академика Г.А.Илизарова, г. Курган (Генеральный директор - академик РАМТН, д.м.н., профессор В.И.Шевцов)

Предпринята попытка для оценки течения репаративного остеогенеза у больных остеомиелитом, излечиваемых посредством чрескостного остеосинтеза по Илизарову, использовать биотестирование фракции белков сыворотки этих больных на лабораторных животных, заключающееся в оценке изменения гематологических показателей животного - реципиента этой фракции. Результаты биотестирования сравниваются с традиционными биохимическими тестами, применяемыми в лабораторной диагностике нарушений опорно-двигательного аппарата.

Ключевые слова: кость, остеомиелит, лабораторная диагностика, неколлагеновые белки.

Гематология в настоящее время переживает период внедрения новых методов лабораторных и клинических исследований, пересмотра основных положений генеза кроветворных клеток. Наиболее характерной чертой современных исследований является изучение процессов, происходящих в организме на клеточном, субклеточном и молекулярном уровнях.

Тесная взаимосвязь гематологии и биохимии с рядом других наук предоставила возможности для разработки новых способов лабораторного контроля за течением репаративного остеогенеза и его прогноза.

В отличие от используемых в настоящее время методов, где также определяют в крови количество белков костной ткани или их дериватов, предлагаемый способ более информативен и специфичен, так как включает в себя оценку биологической активности выделенных из сыворотки (плазмы) крови полипептидов, обладающих физико-химическими свойствами белков костной ткани [1].

Известно, что в крови больных и экспериментальных животных с активно текущим репаративным остеогенезом появляется фактор, стимулирующий костеобразование у реципиентов при парэнтеральном введении [2,3].

Однако, действующее начало этой сыворотки в чистом виде не было получено, а использование цельной сыворотки крови имеет целый ряд недостатков. Кроме стимулирующего фактора сыворотка может содержать противо-

положно действующие вещества, частично или полностью гасящие его эффект, введение цельной ксеногенной сыворотки вызывает значительную нагрузку на иммунную систему реципиента. Помимо тканеспецифических регуляторов в сыворотке могут быть и другие биологически активные вещества (гормоны, витамины, нейромедиаторы, циклические нуклеотиды и т.д.), оказывающие неспецифическое влияние на пролиферацию и дифференцировку клеток. Нами приведены доказательства возможности идентичности фактора сыворотки неколлагеновому белку костной ткани, обладающему теми же свойствами и поступающему в кровь при повреждении кости и дистракции костного регенерата [4].

В выполненных ВКНЦ «ВТО» в 1979 году исследованиях была показана роль неколлагеновых белков костной ткани в поддержании тканевого гомеостаза кости и крови [4,5,6,7], и установлено, что мишенями действия ингибитора и стимулятора пролиферации являются не только остеогенные клетки, но и кроветворные, что подтверждает положение Г.А.Илизарова о единстве морфогенеза кости и крови на основе общих клеточных источников и общей регуляции [4,5,8].

Учитывая приведенные данные, в 1984 году мы для оценки активности репаративного остеогенеза использовали влияние белковой фракции сыворотки крови, обладающей свойствами эритропоэтинподобного стимулято-