

Зависимость количественных показателей большеберцового нерва от условий и сроков дистракционного остеосинтеза

М.М. Щудло, Т.Н. Варсегова, С.Н. Ваганова, С.А. Ерофеев, Г.Н. Филимонова

The dependence of quantitative indices of the tibial nerve on the conditions and time periods of distraction osteosynthesis

M.M. Chtchoudlo, T.N. Varsegova, S.N. Vaganova, S.A. Yerofeyev, G.N. Filimonova

Государственное учреждение науки

Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" им. академика Г. А. Илизарова, г. Курган (генеральный директор — заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАМН, д.м.н., профессор В.И. Шевцов)

Проведенное сравнительное морфометрическое исследование большеберцового нерва опытной и контрлатеральной конечностей показало, что на стороне удлинения после автоматической дистракции увеличена объемная плотность шванновских клеток. После удлинения в ночное время общая площадь нерва, суммарная площадь пучков выше на контрлатеральной конечности, в дневное время эти показатели достоверно не отличаются. Относительный объем эндоневральной соединительной ткани выше на опытной стороне во всех режимах. Через 30 дней фиксации после автоматического удлинения на дистальном уровне происходит уменьшение общей площади поперечного сечения нерва и суммарной площади пучков, а через месяц после снятия аппарата эти параметры отличаются от контроля в зависимости от времени суток удлинения конечности. После фиксации объемная плотность миелиновых волокон и эндоневрия большеберцового нерва опытной и контрлатеральной конечностей во всех сериях не имеют достоверных отличий. На 30 день после снятия аппарата относительный объем миелиновых волокон выше на опытной конечности а внутripучковой соединительной ткани - на контрольной. На всех сроках эксперимента объемная плотность безмякотных нервных волокон остается более высокой на неоперированной стороне. В конце дистракции в автоматическом режиме отмечено наибольшее расширение капилляров на опытной конечности по сравнению с контрлатеральной, что сохраняется на дистальном уровне и через 30 дней фиксации.

Ключевые слова: нерв, нервные волокна, дистракция, гемокапилляры, стереология.

The comparative morphometry study of the tibial nerve in experimental and contralateral extremities showed increased volume density of the shwann cells on the lengthening side after automatic distraction. The overall nerve area, total area of bundles appeared to be bigger on the contralateral extremity after nighttime lengthening. These characteristics did not reliably differ in the daytime. Relative volume of endoneural connective tissue was higher in the experimental side in all the modes. After 30 days of fixation after automatic lengthening there was a decrease in the overall area of the transverse nerve section and the total area of bundles on the distal level. One month after the fixator removal these parameters differed from the control depending on the time of extremity lengthening. After fixation the volume density of myelin fibers and internal neuria of the tibial nerve in the experimental and contralateral extremities in all the series were not reliably different. On the 30th day after the fixator taken off the relative volume of myelin fibers was higher in the experimental extremity; internal bundle connective tissue - in the control extremity. Volume density of amyelinic nervous fibres remained higher in the non-operated extremity at all the stages of the experiment. The biggest capillary widening in the experimental extremity compared to the contralateral one is noted in the end of automatic distraction. This condition is preserved on the distal level after 30 days.

Keywords : nerve, nerve fibers, distraction, hemocapillaries, stereology.

Изучение репаративной регенерации периферической нервной системы имеет практический интерес. Для клиницистов важны функциональное и морфологическое восстановление нервов [2, 4, 13]. В то же время исследователей привлекает количественное изучение периферических нервов как в норме [8], так и после различных видов повреждений [9, 10]. Морфомет-

рические показатели большеберцового нерва в условиях дробной дистракции определены недостаточно полно [3, 11]. Поэтому представлялось целесообразным провести количественную оценку реакции нервных стволов и эндоневральных гемокапилляров большеберцового нерва на дозированное растяжение.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследовали большеберцовые нервы 17 взрослых беспородных собак, которым через 5 дней после закрытой флекссионной остеоклазии производили удлинение голени в течение 28 дней

с суточным темпом 1 мм в разном режиме: в дневное время (с 8 до 20 часов) за 8 приемов — ручные подкрутки (I серия) и за 60 приемов — автодистракция (II серия); в III серии автодист-

рация осуществлялась ночью (с 20 до 8 часов). Животных выводили из опыта передозировкой барбитуратов в конце distraction, через месяц фиксации и через месяц после снятия аппарата. Большеберцовые нервы иссекали на уровне средней трети голени опытной и контралатеральной конечностей. Отрезки нервов проксимальнее и дистальнее уровня distractionного регенерата замораживали в жидком азоте. Нефиксированный материал разлагали на тотальные поперечные срезы на микротоме-криостате МК-25 ТУ 64-1-856-78. В них кальций-кобальтовым методом [6] выявляли активность миозиновой АТФ-азы для визуализации сосудов (рис. 1а, б). Остальной материал фиксировали в смеси 2% растворов глютарового и параформальдегидов на фосфатном буфере (рН 7,4) с добавлением 0,1% пикриновой кислоты, постфиксировали в 1% растворе четырехоксида осмия, дегидратировали в этаноле возрастающей концентрации и заливали в эпоксидные. На ультратоме - ЛКВ готовили поперечные полутонкие срезы, позволяющие морфометрировать без искажений, связанных с эффектом Холмса, окрашивали смесью растворов метиле-

нового синего и основного фуксина. В оцифрованных с помощью программно-аппаратного комплекса "ДиаМорф" (г. Москва) изображениях гистохимических препаратов в программе "MEDIAS" измеряли общую площадь поперечного сечения нерва, суммарную площадь пучков нервных волокон вместе с окружающим их периневрием, средние диаметры (d_{cap} , мкм), суммарные площади (A_{cap} , мкм²) и периметры (L_{cap} , мкм) профилей эндоневральных гемокапилляров. Рассчитывали поверхностную (Av_{diff} , мкм²/мкм³) и объемную (Vv_{cap} , %) плотности гемокапилляров в единице тестового объема. В качестве условного контроля морфометрировали нервы неоперированной конечности. На оцифрованных изображениях полутонких препаратов с помощью специально разработанной для одновременной сегментации по цвету тестовой решетки в программе "Adobe Fotoshop 3,0" точечной объеметрией определяли относительные объемы миелиновых, безмякотных нервных волокон, эндоневрия и ядер шванновских клеток [1]. Анализ цифрового материала был проведен методами вариационной и непараметрической статистики.

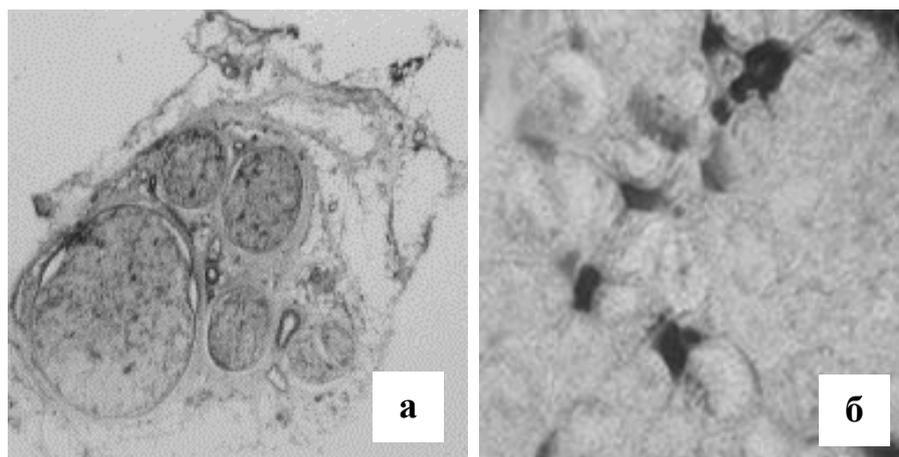


Рис. 1. Большеберцовый нерв. Реакция на миозиновую АТФ-азу: а) общий вид, лупа 10х; б) эндоневральные микрососуды. Об.40, ок. 10.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В конце удлинения в I и II сериях эксперимента общая площадь поперечных срезов большеберцовых нервов и суммарная площадь пучков нервных волокон на проксимальном и дистальном уровнях оперированной и контралатеральной конечностей достоверно не отличаются. В III серии выявлены значимые отличия: на дистальном уровне происходит уменьшение общей площади поперечных срезов в 1,6 раза, суммарной площади пучков - в 1,4 раза ($\alpha < 0,05$). Относительные объемы миелиновых волокон большеберцового нерва опытной и контралатеральной конечностей не имеют значимых отличий в I и III сериях, а во II серии данная величина на удлиненной конечности ниже в 1,2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. В то же

время объемная плотность безмякотных волокон достоверно ($p < 0,001$) выше на неоперированной стороне: в режиме ручной подкрутки - в 2 раза, во II серии - в 2,1 раза, в III - 1,3 раза ($p < 0,05$). Относительный объем внутриволокнистой соединительной ткани во всех сериях больше на стороне удлинения в среднем в 1,4 раза ($p < 0,001$) (рис. 2). В прослойках эндоневрия проходят гемокапилляры. Известно, что диаметр капилляра находится в тесной зависимости от функционального состояния органа [5] и является существенным фактором в регуляции локального кровотока [12]. Так, дозированное удлинение голени в аппарате Илизарова отражается на калибре эндоневральных гемокапилляров большеберцового нерва. На проксималь-

ном уровне большеберцового нерва в I серии диаметр гемокapилляров на опытной стороне меньше контроля на 16%. В конце удлинения в автоматическом режиме значения диаметров капилляров оперированной конечности выше контроля: во II серии разница составляет 21%, в III серии - 45%. Гемокapилляры обеспечивают обмен между кровью и внутренней средой – гемотканевый обмен, который зависит в том числе и от площади диффузии [12]. Av_{diff} опытной стороны достоверно не отличается от контроля во всех сериях (табл. 1).

На дистальном уровне большеберцового нерва диаметры обменных сосудов имеют большую величину на удлиненной конечности

во всех опытах. В I серии данный параметр превышает контроль на 13%, во II серии наблюдается значительное увеличение на 47%, в III серии эта разница составляет 23%. Значения Vv_{cap} и Av_{diff} выше на опытной стороне в III серии (табл. 1). Одним из наиболее ярких проявлений эффекта растяжения нерва является увеличение объемной плотности ядер шванновских клеток на оперированной стороне в 5 раз (I серия), в 11 раз (II серия), в 3 раза (III серия) по сравнению с контралатеральной конечностью ($p < 0,001$), что свидетельствует об укорочении длин интернодальных сегментов в результате происходивших ранее процессов очаговой демиелинизации с последующей ремиелинизацией.

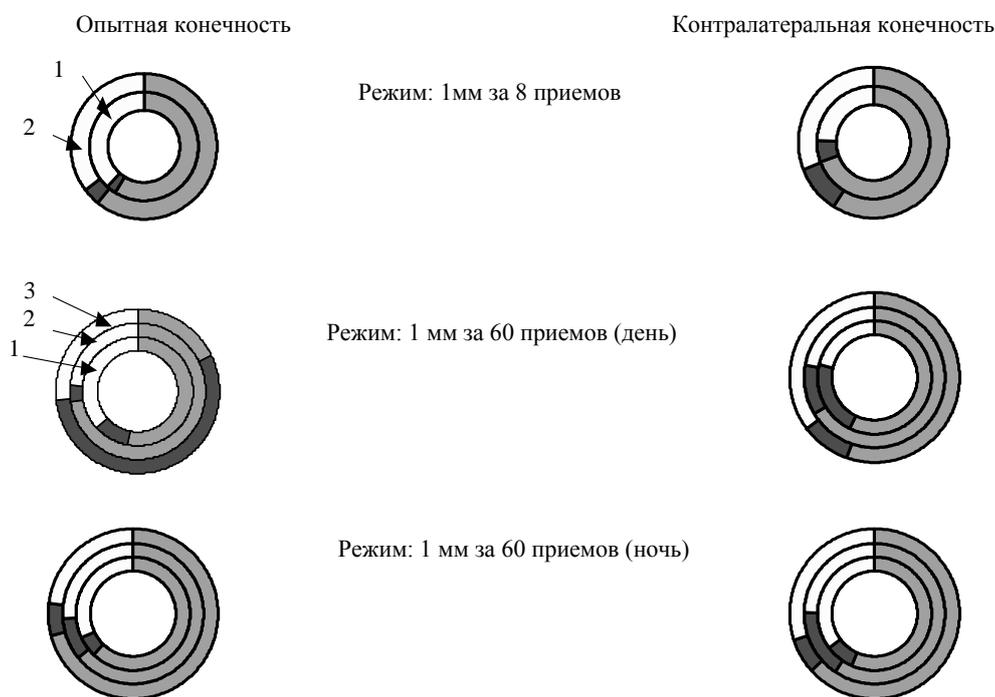


Рис. 2. Изменение относительного объема \square миелиновых волокон, \square безмиелиновых волокон, \square эндоневрия в пучках большеберцовых нервов: в конце удлинения; в конце фиксации; период после снятия аппарата.

Таблица 1.

Динамика изменения параметров гемокapилляров

Сроки	Конечность	1 серия (1/8)			2 серия (1/60 день)			3 серия (1/60 ночь)		
		d_{cap}	Vv_{cap}	Av_{diff}	d_{cap}	Vv_{cap}	Av_{diff}	d_{cap}	Vv_{cap}	Av_{diff}
Д-28 прокс:	опытная	4,25	0,340,	0,0031	8,66	1,260,	0,0068	3,83	0,23	0,0026
	контрольная	*5,05	39	0,0030	7,17	18	0,0105	2,64	0,15	0,0025
Д-28 дист:	опытная	4,76	0,340,	0,0031	8,45	1,160,	0,0093	3,02	0,30	0,0043
	контрольная	4,20	33	0,0030	5,74	83	0,0085	2,45	0,12	0,0022
Ф-30 прокс:	опытная	3,14	0,160,	0,0023	8,02	1,040,	0,0073	2,28	0,10	0,0019
	контрольная	3,24	17	0,0024	6,95	82	0,0064	2,33	0,10	0,0019
Ф-30 дист:	опытная	3,59	0,180,	0,0023	8,23	0,980,	0,0069	2,60	0,300,12	0,0038
	контрольная	3,17	14	0,0019	5,95	58	0,0055	2,18		0,0020
БА-30 прокс:	опытная	-	-	-	5,11	0,530,	0,0054	2,23	0,140,12	0,0028
	контрольная	-	-	-	5,34	55	0,0045	2,31		0,0022
БА-30 дист:	опытная	-	-	-	5,35	0,570,	0,47	2,58	0,180,16	0,0029
	контрольная	-	-	-	5,49	43	0,38	2,54		0,0025

Примечание: жирным шрифтом выделены достоверно отличимые значения ($\alpha < 0,05$ - критерий Манна-Уитни).

В конце фиксации достоверные различия выявлены у животных после автоматического удлинения в разное время суток. Во II серии на дистальном уровне удлиненного большеберцового нерва происходит уменьшение общей площади поперечных срезов в 1,2 раза и суммарной площади пучков нервных волокон – в 1,1 раза ($\alpha < 0,05$) по сравнению с контралатеральным. В III серии данные параметры на проксимальном уровне в 1,2 раза, на дистальном в 1,3 раза ($\alpha < 0,05$) меньше контроля. Объемные плотности миелиновых волокон и эндоневрия большеберцового нерва опытной и контралатеральной конечностей во всех сериях не имеют достоверных отличий. Плотность безмиелиновых волокон на неоперированной стороне остается повышенной в среднем на 64% ($p < 0,001$) в обоих режимах (рис. 2). У животных I серии на проксимальном уровне все три измеряемые величины капилляров большеберцового нерва не имеют достоверных отличий от контроля. На дистальном уровне степень различия диаметров капилляров опытной и неоперированной конечностей сохраняется. При этом Sv_{cap} составляет 0,23%, что в 1,2 раза выше контроля, а Vv_{cap} – 0,18%, что в 1,3 раза выше контроля (табл. 1). Через месяц фиксации после автоматической дистракции также обнаружены достоверные различия на дистальном уровне. Гемокапилляры оперированной конечности расширены, что отражают

результаты измерения. Во II серии диаметр больше контроля на 38%, в III серии – на 19%. Значения Vv_{cap} и Sv_{cap} выше на опытной стороне: во II серии в 1,7 и 1,3 раз, в III серии в 2,5 и 1,9 раз соответственно (табл. 1). В целом полученные данные свидетельствуют о повышении на дистальном уровне удельной плотности поверхности капиллярной диффузии большеберцового нерва на стороне удлинения.

Период после снятия аппарата. Во II серии общая площадь нерва и суммарная площадь пучков на опытной конечности больше в 1,3 раза ($\alpha < 0,05$). В III серии общая площадь нерва достоверно не отличается от контроля, а суммарная площадь пучков меньше в 1,2 раза ($\alpha < 0,05$). Во II серии наблюдается повышение относительного объема миелиновых волокон удлиненного нерва на 23%, в III серии – на 12% ($p < 0,001$) в сравнении с контралатеральным. Значение объемной плотности безмякотных волокон на неоперированной конечности больше на 27% (II серия) и на 12% (III серия) по сравнению с опытом ($p < 0,001$). В результате сравнительного анализа внутripучковой соединительной ткани выявлены значимые различия: во II серии в 1,4 раза ($p < 0,001$), в III серии – в 1,3 раза ($p < 0,05$) ниже контроля (рис. 2). Все три измеряемые величины гемокапилляров не имеют достоверных отличий. Имевшиеся на предшествующих сроках различия нивелируются (табл. 1).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют о том, что к концу дистракции в I и II сериях общая площадь поперечных срезов большеберцовых нервов и суммарная площадь пучков нервных волокон достоверно не отличаются от контроля. После удлинения в ночное время эти показатели выше на контралатеральной конечности. Во всех сериях на стороне удлинения наблюдается увеличенная объемная плотность ядер шванновских клеток. Относительный объем эндоневральной соединительной ткани выше на опытной стороне в обоих режимах. Через 30 дней последующей фиксации на дистальном уровне во II серии происходит уменьшение общей площади поперечного сечения нерва и суммарной площади пучков. В III серии данные параметры меньше контроля на обоих уровнях. Объемная плотность миелиновых волокон и эндоневрия большеберцового нерва опытной и контралатеральной конечностей во всех сериях на этот срок не имеют достоверных отличий. Через месяц после снятия аппарата во II серии общая площадь нерва и суммарная площадь пучков больше, а в III серии – меньше контроля. При этом относительный объем миелиновых волокон выше на опытной конечности, а внутripуч-

ковой соединительной ткани – ниже контроля. На всех сроках эксперимента объемная плотность безмякотных нервных волокон остается более высокой на неоперированной стороне. В конце дистракции в автоматическом режиме отмечено наибольшее расширение капилляров на опытной конечности по сравнению с контралатеральной, что сохраняется на дистальном уровне и через 30 дней фиксации. Данный факт объясняется тем, что большеберцовый нерв, являясь по своему направлению продолжением седалищного, фиксирован в области голеностопного сустава и таким образом испытывает наибольшее напряжение растяжения. Выявленные тенденции являются показателями восстановления морфологической структуры и функции нерва во всех экспериментах, что свидетельствует об адекватности обоих режимов. Однако наиболее приближены к контрольным значениям изученные параметры на всех сроках эксперимента в ночное время. Происходящие реактивные изменения в гемокапиллярах содействуют активации метаболизма, ускорению выведения продуктов распада миелина, что благоприятствует течению процессов адаптации и репарации нервных волокон.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. и др. Системная стереометрия в изучении патологического процесса / Г.Г. Автандилов, Н.И. Яблучинский, В.Г. Губенко. - М.: Медицина, 1981. - 192 с.
2. Григорович Г.А. Хирургическое лечение повреждений нервов. - Л.: Медицина, 1981. - 304 с.
3. Значение ритма distraction для реализации "эффекта Илизарова" в нервах удлиняемого сегмента конечности / Г.А. Илизаров, М.М. Щудло, Н.Р. Карымов и др. // Гений ортопедии. - 1995. - №1. - С. 12-18.
4. Каверина В.В. Регенерация нервов при нейропластических операциях. - Л.: Медицина, 1975. - 199 с.
5. Куприянов В.В. и др. Микроциркуляторное русло / В.В. Куприянов, Я.Л. Караганов, В.И. Козлов. - М.: Медицина, 1975. - 214 с.
6. Лойда З. и др. Гистохимия ферментов: лабораторные методы / З. Лойда, Р. Госсрау, Е. Шиблер. - М.: Мир, 1982. - 270 с.
7. Мельман Е.П. О значении кровеносных сосудов периферических нервов // Врачебное дело. - 1981. - № 6. - С. 58-61.
8. Мельман Е.П., Левицкий В.А., Павлович В.Г. Биометрическая характеристика коррелятивных внутриствольных невровазальных соотношений периферических нервов собаки // Архив анатомии. - 1981. - Т. 80, Вып. 5. - С. 57-66.
9. Мирошникова М.Е., Чумасов Е.И. Регенерация седалищного нерва крысы после его различных экспериментальных повреждений // Архив анатомии. - 1988. - Т. 95, Вып. 10. - С. 30-35.
10. Новохатский А.С., Решетня В.А. Количественная характеристика дегенерации волокон зрительного нерва после его пересечения // Архив анатомии. - 1987. - Т. 93, Вып. 8. - С. 55-58.
11. Уткин В.А., Щудло Н.А., Щудло М.М. Оценка разных способов восстановления поврежденного нерва по проявлениям денервационного синдрома // Гений ортопедии. - 1996. - № 4. - С. 20-24.
12. Чернух А.М. и др. Микроциркуляция / А.М. Чернух, П.Н. Александров, О.В. Алексеев. - М.: Медицина, 1984. - 430 с.
13. Щудло Н.А., Щудло М.М. Метод дозированного растяжения тканей в проблеме возмещения дефектов нервных стволов (результаты экспериментальных исследований, нерешенные проблемы и перспективы) // Гений ортопедии. - 1998. - № 4. - С. 52-58.

Рукопись поступила 06.09.01.

Рекламируемые книги предназначены для травматологов-ортопедов, хирургов, преподавателей и студентов медицинских учебных заведений.

Книги высылаются наложенным платежом.

Заказы направлять Таушкановой Лидии Федоровне – главному библиографу-маркетологу ОНМИ Российского научного центра "Восстановительная травматология и ортопедия" им. акад. Г.А. Илизарова, по адресу:

г. Курган, 640014, ул. М. Ульяновой, 6,

Тел. (35222) 30989

E-mail: gip@rncvto.kurgan.ru

Internet: <http://www.ilizarov.ru>