

Изменения состояния нейроцитов и нейрон-глиальных соотношений в спинномозговых узлах собак после удлинения конечности

Г.Д. Сафонова, А.П. Коваленко, С.А. Ерофеев, Д.А. Попков, А.А. Еманов

Changes in leucocytes conditions and neuron-glia relations of canine spinal ganglia after limb lengthening

G.D. Safonova, A.P. Kovalenko, S.A. Yerofeyev, D.A. Popkov, A.A. Yemanov

Федеральное государственное учреждение науки
«Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" имени академика Г.А. Илизарова
Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», г. Курган
(директор — заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАМН, д.м.н., профессор В.И. Шевцов)

В постдистракционном периоде при удлинении голени собак $\approx$ на 15 % в нейроцитах спинномозговых узлов обнаружены обратимые изменения структуры части клеток в виде гиперхромии нейроплазмы и ядра, периферического хроматолиза, дислокации ядрышка и ядра; увеличение количества пери- и межнейрональных глиоцитов. Изменения наиболее выражены в узлах на стороне удлинения при темпе distraction 3 мм в сутки, минимальны — контралатерально при удлинении с темпом 1 мм в сутки.

Ключевые слова: удлинение голени, спинномозговой узел, нейрон, глиоцит

In the post-distraction period when a canine leg was subjected to about 15% lengthening reversible changes in the neurocytes of the spinal ganglia were noted in the structure of a part of cells as neuroplasm and nucleus hyperchromia, peripheral chromatolysis, nucleolus and nucleus dislocations; increase of peri- and interneuronal gliocytes in number. The changes were the most marked in the spinal ganglia of the lengthening side for the distraction rate of 3 mm per day and they were minimal — contralaterally for the lengthening rate of 1 mm per day.

Keywords: leg lengthening, spinal ganglion, neuron, gliocyte, distraction.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время дистракционный остеосинтез широко используется в клинической практике. Влиянию напряжения растяжения на окружающие кость ткани, в т.ч. периферические нервы, посвящено большое количество работ. Состояние же нейроцитов спинномозговых узлов, воспринимающих информацию от болевых и мышечно-сухожильных рецепторов удлиняемого сегмента конечности, представлено в единичных работах [8]. Поскольку большинство нейроцитов спинномозговых узлов является чувствительными клетками, т.е. частью афферентного звена рефлекторной дуги, они в первую очередь реагируют на происходящие на периферии изменения, а преобразования в теле нервной клетки, ее ядре и нейроплазме отражают состояние иннервируемых мышц и могут служить индикатором силы воздействующего фактора, его предельной величины. Известно, что при повышении функциональной

активности нейроцитов увеличивается количество сателлитной глии, принимающей активное участие в его специфической деятельности [6, 7]. В работах многих авторов также показано увеличение количества перинейрональных глиоцитов в центральной и периферической нервной системе при различных воздействиях в сочетании с изменением либо сохранением структуры нейронов [2, 5, 6, 7, 10 и др.]. Однако количественная характеристика нейрон-глиальных взаимоотношений в условиях distraction в доступной нам литературе не представлена.

Целью настоящего исследования было изучение влияния различных режимов distraction на морфофункциональное состояние нейроцитов спинномозговых узлов и количественная оценка изменения нейрон-глиальных соотношений в данных условиях.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Эксперимент выполнен на 6 взрослых беспородных собаках, которым производили удлинение правой голени на 28-30 мм ($\approx$ 15%) раз-

личными способами дистракционного остеосинтеза: в автоматическом режиме с темпом distraction 3 мм в сутки за 180 приемов ($n = 3$, пе-

риод distraction – 10 суток, фиксации в аппарате – 30 суток); в ручном режиме с использованием интрамедуллярного введения противогнутых спиц с темпом 1 мм в сутки за 4 приема ($n = 3$, период distraction – 28 суток, фиксации – 14-15 суток).

Животных выводили из опыта через 45-48 суток. Их содержание, кормление и эвтаназию осуществляли в соответствии с требованиями инструкции № 12/313 Министерства здравоохранения Российской Федерации «Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментальных биологических клиник» от 06.01.73. После эвтаназии животного (посредством введения предельной дозы барбитуратов) вычленили блок, содержащий поясничный и крестцовый отделы позвоночника, удаляли дужки позвонков и извлекали спинной мозг вместе с соответствующими каждому сегменту корешками и ганглиями (рационализаторское предложение авторов № 55/02). Для нейрогистологических исследований использованы спинномозговые ганглии ($L_6, L_7, S_1, n=36$), нейроны которых получают информацию непосредственно от мышц и сухожилий голени, подвергающихся растяжению. Материал фиксировали в смеси Бродского, обезжировали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в парафин. Продольные серийные срезы ганглиев толщиной 5 мкм окрашивали по методу Ниссля, галлюцианином-хромовыми квасцами по Эйнарсону, амидочерным 10Б-кислым фуксином.

Для количественных исследований использованы окрашенные галлюцианином-хромовыми квасцами по Эйнарсону срезы ганглиев L_7 , в которых производили подсчет ядер глиоцитов, формирующих капсулы крупных ($n \geq 75$) и мелких ($n < 75$) нейронов – перинейрональная глия. Также выполнен подсчет ядер глиоцитов, расположенных в межнейрональных пространствах и не включенных в капсулу нейрона. С этой целью определяли количество ядер на единицу площади с использованием сетки, разработанной авторами (рационализаторское предложение № 70/2001), площадь квадрата которой при увеличении 400 составляет 241,8 мкм². В каждом ганглии количественному анализу подвергнуто не менее 50 полей зрения. Выбор исследуемых групп нейронов был обусловлен тем, что, по данным литературы, крупные нервные клетки ответственны за проприорецепцию, мелкие – связаны с болевой чувствительностью [1, 3]. Как известно, капсулу нейроцитов в спинномозговых узлах формируют клетки олигодендроглии [1], характерным признаком которых на гистопрепаратах является округлая форма ядер, в отличие от ядер других сопутствующих клеток (фибробластов, эндотелиоцитов, шванновских клеток), имеющих на срезе другие профили (вытянутый, палочковидный и пр.) [9].

Статистическую обработку материала осуществляли в программе Microsoft Excel, достоверность различий оценивали с использованием t-критерия Стьюдента [4].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что удлинение тазовой конечности на 28-30 мм приводит к появлению в обозначенных спинномозговых ганглиях нейроцитов с обратимыми изменениями ядра и перикариона и увеличению количества перинейрональных глиоцитов в сроки эксперимента 45-48 суток. Встречались следующие изменения структуры перикариона: периферической хроматолиз, как локальный, так и равномерно выраженный (рис. 1, а, б), умеренная гиперхромия нейроплазмы, иногда в сочетании с изменением формы тела и наличием большого количества сателлитов (рис. 1, а, г). Характерны были дислокация ядра и ядрышка вплоть до эктопии, их сочетанное перемещение (рис. 1, в, г). Иногда эктопия ядра сопровождалась центральным положением ядрышка, в единичных случаях наблюдалось отложение базофильного вещества на ядерной мембране. Подобные изменения структуры нейроцитов были выражены более значительно в ганглиях на стороне операции при distraction с темпом 3 мм в сутки, несколько менее – при удлинении с темпом 1 мм в сутки. В контралатеральных узлах отклонения от нормы в структуре нейронов более умеренны,

особенно при использовании интрамедуллярного введения спиц и более щадящего темпа distraction. В основном они были представлены дислокацией ядрышка и краевым периферическим хроматолизом (рис. 1, а).

Ранее Г.Д. Сафонова и В.И. Калякина (1988), исследуя влияние различных режимов distraction на состояние нервных клеток чувствительных узлов, отмечали, что при удлинении голени до 3 см в различных сериях эксперимента наблюдались умеренные изменения структуры нейроцитов. Авторами выявлено, что в левых (контралатеральных) спинномозговых узлах, наряду с преобладанием нормохромных нейроцитов, встречались гипохромные клетки, как с центральным положением ядра, так и его дислокацией. В правых ганглиях, наряду с нормохромией большинства нейроцитов, определялись более выраженные обратимые изменения структуры нервных клеток с наличием в них периферического хроматолиза, эктопии ядра и ядрышка, прослеживалось усиление глиальной реакции. При удлинении голени свыше 3 см (до 4-5 см) в серии, где использовался более щадящий режим, изменения нейроцитов также преимуще-

ственно носили обратимый характер. В серии с более жестким режимом в спинномозговых узлах значительная часть нейроцитов имела признаки перераздражения, вплоть до появления в небольшой части клеток необратимых структурных изменений, была выраженной глиальная реакция [8].

Физиологическое значение увеличения количества сателлитов состоит в метаболическом обеспечении усиленно функционирующих нервных клеток [7]. Показано, что при кратковременном воздействии не происходит деления глиальных элементов, однако при продолжительном действии раздражающего фактора осуществляется не только за счет миграции глиоцитов из межнейрональных пространств к нейронам, но и за счет их деления [7]. Поскольку в нашем исследовании выявлено увеличение не только пери-, но и межнейрональной глии,

можно предположить, что в данном случае наблюдается деление глиальных клеток с их миграцией к нейроцитам. Увеличение количества межнейрональных глиоцитов прослеживалось в виде образования небольших групп глиоцитов (рис. 1, а), а также обширных скоплений глиальных элементов (рис. 1, г). Формирование капсулы в изученных сериях существенно не различалось и можно было выделить 4 основных варианта увеличения количества сателлитов в ганглиях на стороне удлинения конечности по сравнению с контралатеральной: 1) равномерное увеличение количества глиальных клеток, включенных в однослойную капсулу нейроцита (рис. 1, а); 2) скопление глиальных элементов в области отхождения псевдоуниполярного отростка (рис. 1, б); 3) скопление ядер в области локального периферического хроматолиза (рис. 1, б); 4) образование второго и более слоев капсулы (рис. 1, в, г).

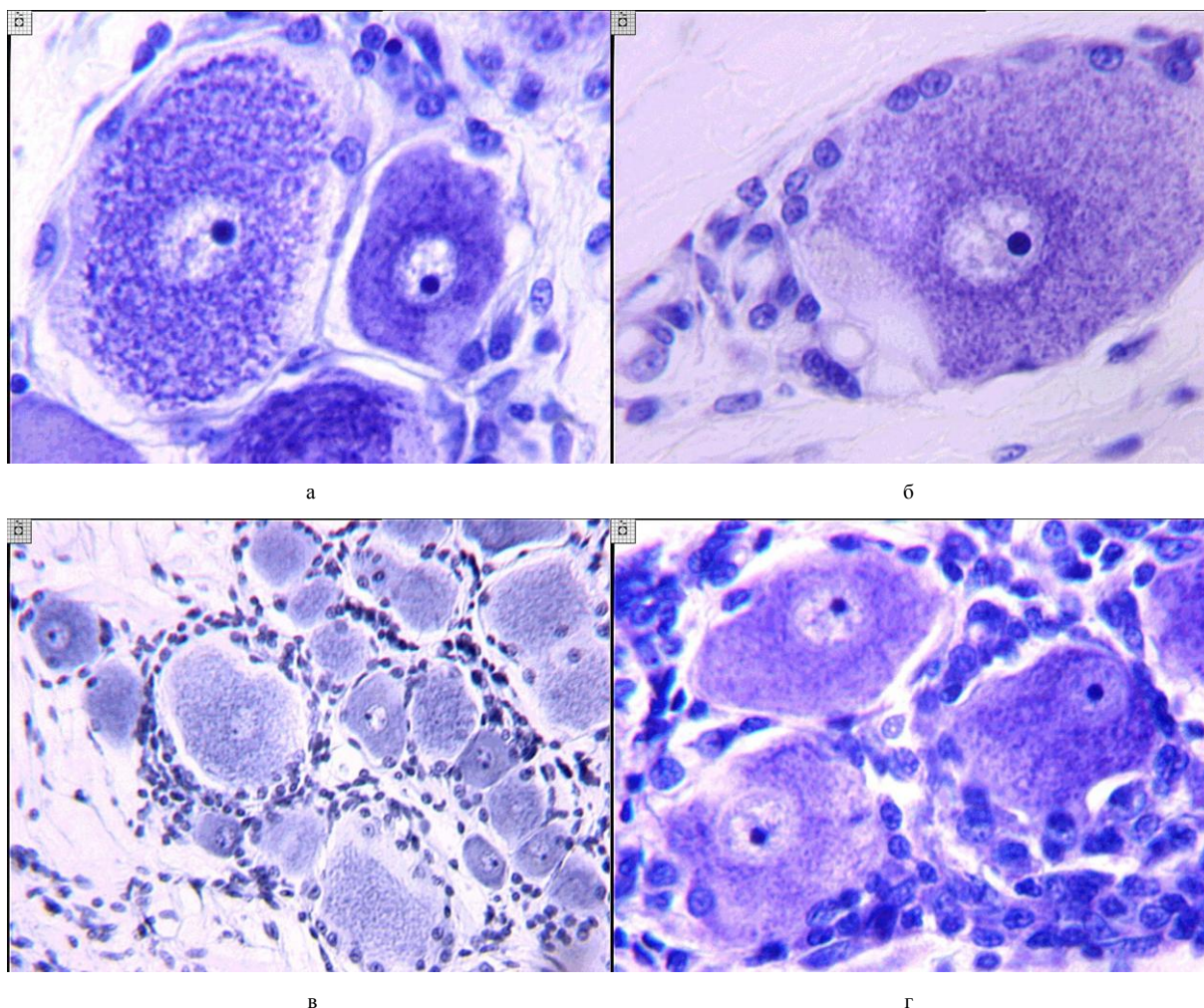


Рис. 1. Сочетание структурных изменений нейронов и увеличения количества глиоцитов: а - равномерно выраженный периферический хроматолиз и дислокация ядрышек при умеренном увеличении количества глиоцитов в капсуле и межнейрональных пространствах; б - сочетание локального периферического хроматолиза и скопления глиоцитов в области отхождения отростка; в - формирование многослойной капсулы крупного нейрона, эктопия ядрышек средних и мелких нейроцитов; г - сочетание выраженной глиальной реакции с изменением формы отдельных нейронов и эктопией ядра. а, б, г - окраска по Нисслю, ув. 400; в - окраска по Эйнарсону, ув. 160

Наиболее распространенным являлся первый вариант усиления глиальной реакции, особенно при удлинении голени с темпом 1 мм в сутки, где структурные изменения нейроцитов встречались реже. Формирование многослойной капсулы более характерно для автодистракции. Второй и третий варианты распределения глиальных элементов часто встречались в сочетании. Увеличение количества сателлитов наблюдалось как вокруг нейронов с измененной, так и сохранной структурой. Учитывая, что в большинстве нервных клеток исследованных ганглиев не прослеживалось необратимых структурных преобразований, изменения нейрон-глиальных взаимоотношений, вероятно, были обусловлены усиленным функционированием нервных клеток, которые, участвуя в иннервации конечности, подобным образом реагировали на перестройки, происходящие в удлиняемом сегменте и после окончания периодов дистракции и фиксации.

Отмечена зависимость количественного проявления глиальной реакции от способа и темпа удлинения. Через 1,5 месяца от начала эксперимента максимальные средние значения количества ядер капсульных глиоцитов наблюдались при автоматическом удлинении голени с темпом 3 мм в сутки. Капсула крупных нейронов в контралатеральном узле состояла из $12,69 \pm 0,24$ сателлитов, мелких – $4,343 \pm 0,1$, на стороне удлинения конечности – $15,18 \pm 0,27$ и $5,286 \pm 0,13$ соответственно ($p < 0,001$). При интрамедуллярном введении спиц с темпом дистракции 1 мм в сутки исследуемые показатели на стороне операции в данный период существенно не отличались от таковых при удлинении с темпом 3 мм в сутки и составили $14,43 \pm 0,34$ сателлитов крупных и $5,0 \pm 0,15$ сателлитов – мелких нейронов. Однако эти же показатели в контралатеральном узле были достоверно ($p < 0,001$) меньше: $10,59 \pm 0,23$ и $3,88 \pm 0,09$ соответственно (табл.). Увеличенное количество ядер капсульных глиоцитов в контралатеральных ганглиях при темпе дистракции 3 мм в сутки по сравнению с темпом 1 мм может быть обусловлено двумя факторами: во-первых, более интенсивным опосредованным влиянием дистракции с высоким

темпом удлинения, во-вторых, увеличением нагрузки на левую тазовую конечность в связи с меньшим использованием правой конечности.

Плотность расположения ядер глиальных элементов в межнейрональных пространствах в изученный срок в зависимости от эксперимента не различалась. Однако сохранялась тенденция к увеличению количества глиоцитов на квадрат сетки площадью $241,8 \text{ мкм}^2$ в ганглиях на стороне операции, по сравнению с контралатеральной ($p < 0,001$). Средние значения этого показателя составили $4,261 \pm 0,081$ на стороне удлинения и $3,377 \pm 0,084$ контралатерально при дистракции с темпом 3 мм в сутки, $4,166 \pm 0,057$ и $3,26 \pm 0,049$ соответственно при дистракции с темпом 1 мм в сутки (табл.). Данный факт свидетельствует о том, что в обозначенный период эксперимента вследствие уменьшения напряжения в системе «нейрон-глия» снижена или отсутствует необходимость пролиферации глиальных элементов и их перемещения к усиленно функционирующим нейронам как при интенсивном воздействии – удлинении с темпом 3 мм в сутки по истечении достаточно длительного периода (1 месяц после окончания дистракции), так и после менее интенсивного воздействия – удлинения голени с темпом 1 мм в сутки при меньшем периоде покоя (2 недели). Это можно объяснить стиханием перестроечных процессов в стадии адаптации реконструктивного нейромиогенеза мягкотканых структур удлиняемого сегмента тазовой конечности [11].

Таким образом, при увеличении длины голени на 28-30 мм, т.е. $\approx$ на 15 % от исходной длины, после окончания периодов дистракции и фиксации в состоянии нейроцитов чувствительных узлов прослеживались изменения преимущественно обратимого характера в сочетании с глиальной реакцией, выраженной в различной степени. Несмотря на то, что постдистракционный период был более продолжительным (более чем в 2 раза) при удлинении с темпом 3 мм в сутки, в исследованных спинномозговых узлах этих животных прослеживались изменения более выраженные, чем при удлинении с темпом 1 мм в сутки.

Таблица

Количественная характеристика нейрон-глиальных соотношений в спинномозговых узлах беспородных собак при удлинении голени различными способами ($M \pm m$)

Серия эксперимента	Количество глиоцитов, образующих капсулу крупных нейронов		Количество глиоцитов, образующих капсулу мелких нейронов		Количество глиоцитов, в межнейрональном пространстве ($S=241,8 \text{ мкм}^2$)	
	контралатерально	ипсилатерально	контралатерально	ипсилатерально	контралатерально	ипсилатерально
Автодистракция с темпом 3 мм в сутки за 180 приемов	$12,69 \pm 0,24^*$	$15,179 \pm 0,267^*$	$4,349 \pm 0,095^*$	$5,286 \pm 0,13^*$	$3,377 \pm 0,084$	$4,261 \pm 0,081^*$
Дистракция с темпом 1 мм в сутки за 4 приема и интрамедуллярным введением спиц	$10,59 \pm 0,23^*$	$14,43 \pm 0,34^*$	$3,88 \pm 0,089^*$	$5,0 \pm 0,147^*$	$3,26 \pm 0,049$	$4,166 \pm 0,057^*$

Примечания: * – различия между контра- и ипсилатеральной сторонами достоверны при $p < 0,001$, • – различия между сравниваемыми сериями эксперимента достоверны при $p < 0,001$.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бородаевская, Г. И. Сравнительное морфометрическое исследование нейронов черепно- и спинномозговых узлов при перерезке их отростков / Г. И. Бородаевская, А. Ф. Никифоров // Архив анат., гист. и эмбриол. – 1976. – Т. 71, № 8. – С. 52-57.
2. Гистология : учеб. для вузов / под ред. Э. Г. Улумбекова, Ю. А. Чельшева. – М. : ГЭОТАР-МЕД, 2001. – 672с.
3. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / пер. с англ. / С. Гланц. – М. : Практика, 1998. – 459 с.
4. Насыров, Н. А. Изменения нейронов спинного мозга и спинномозговых узлов при гипокинезии (нейроморфологическое и гистохимическое исследование) / Н. А. Насыров, Г. В. Коновалов // Архив анат., гист. и эмбриол. – 1982. – Т. 82, № 5. – С. 27-32.
5. Плевинскис, В. П. Анализ глионейрональных взаимоотношений после ультразвукового воздействия / В. П. Плевинскис // Архив анат., гист. и эмбриол. – 1981. – Т. 81, № 11. – С. 43-49.
6. Ройтбак, А. И. Глия и ее роль в нервной деятельности / А. И. Ройтбак. – СПб. : Наука, 1993. – 352 с.
7. Руководство по гистологии : в 2 т. Т. 2 : учеб. пособие для вузов / под ред. Р. К. Данилова, В. Л. Быкова, И. А. Одинцова. – СПб. : СпецЛит, 2001. – 735 с.
8. Сафонова, Г. Д. Влияние разных режимов distraction на состояние нейроцитов чувствительных узлов при больших удлинениях голени в эксперименте по Илизарову / Г. Д. Сафонова, В. И. Калякина // Дистракционный остеосинтез в клинике и эксперименте : материалы науч.-практ. конф. – Курган, 1988. – С. 100-104.
9. Феноменологические аспекты реконструктивного нейромиеогенеза на модели удлинения конечностей / А. П. Шеин [и др.] // Физиология мышц и мышечной деятельности : материалы междунар. конф. – М. : Слово, 2003. – С.109-110.
10. Хэм, А. Гистология. Т.3. / пер. с англ. / А. Хэм, Д. Кормак. – М. : Мир, 1983. – 293 с.
11. Цибикина, Н. М. Строение и биометрические показатели поясничных узлов симпатического ствола кошки в норме и при гормональной стимуляции / Н. М. Цибикина // Архив анат., гист. и эмбриол. – 1979. – Т. 76, № 4. – С. 54-59.

Рукопись поступила 13.01.04.

Предлагаем вашему вниманию



В.И. Шевцов, А.М. Аранович, Р.Д. Бородайкевич

РЕАБИЛИТАЦИЯ БОЛЬНЫХ С НЕПРАВИЛЬНО СРОСШИМИСЯ ПЕРЕЛОМАМИ КОСТЕЙ ГОЛЕНИ

ISBN5-87247-072-X
Курган, 2003 г. – 284 с.

Монография посвящена проблеме лечения больных с неправильно сросшимися переломами костей голени неосложненных и осложненных хроническим остеомиелитом.

В монографии обоснована методика малотравматичной кортикотомии, определены показания и противопоказания к различным методикам чрескостного остеосинтеза.

Разработана классификация больных с неправильно сросшимися переломами костей голени, осложненных хроническим остеомиелитом. С помощью радиологических методов исследованы распространенность остеомиелитического процесса, состояние иммунного фона, свертывающей системы крови у больных с хроническим остеомиелитом.

Описаны особенности ведения больных обеих групп в послеоперационном периоде. Изучены отдаленные анатомо-функциональные результаты лечения, дан подробный анализ встретившихся ошибок и осложнений, описаны способы их лечения и меры профилактики. Монография предназначена для травматологов-ортопедов.