

Реакция нервов на растяжение и их структурная адаптация к удлинению конечности*

М.М. Щудло, Н.А. Щудло, Т.Н. Варсегова, И.В. Борисова

Reaction of nerves to stretching and their structural adaptation to limb lengthening

M.M. Schudlo, N.A. Schudlo, T.N. Varsegova, I.V. Borisova

Федеральное государственное учреждение
«Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" им. академика Г. А. Илизарова Росмедтехнологий», г. Курган
(и.о. генерального директора — д.м.н., профессор А.Т. Худяев)
ПНИЛ "Управляемые гисто- и органогенезы" Курганского филиала Южно-Уральского научного центра РАМН
(руководитель — д.м.н. М.М. Щудло)

По данным литературы и собственных исследований на 89 собаках изложены современные представления о структурной адаптации нервных волокон к удлинению конечностей в онтогенезе и в условиях distractionного остеосинтеза.

Ключевые слова: периферические нервы, конечность, удлинение.

Current conceptions of structural adaptation of nerve fibers to limb lengthening for ontogenesis and distraction osteosynthesis are presented according to literature data and to the authors' own studies of 89 dogs.

Keywords: peripheral nerves, limb, lengthening.

ВВЕДЕНИЕ

Отростки нейронов, составляющие проводниковую часть нервов, подвергаются значительным удлинениям в онтогенезе. Как структуры нервов зрелых особей адаптируются к увеличению дли-

ны конечности? **Цель работы** — анализ этой проблемы на основании собственных и литературных данных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Собственные исследования проведены на 89 взрослых беспородных собаках. Три составили интактную контрольную группу. У 14 удлинены бедренный сегмент тазовой конечности на 15 %; группой сравнения служили 9 собак с нейтральным остеосинтезом остеотомированного бедра (экспериментатор — д.м.н. Н.А. Щудло). У 63 собак удлинляли голень на 15 % (экспериментаторы к.м.н. А.А. Шрейнер, д.м.н. И.И. Мартель, д.м.н. С.А. Ерофеев). В большинстве опытов применяли дробные (0,75 мм в день за 3 приёма, 1 мм в день за 4 приёма — 1/4, 1 мм за 8 приёмов — 1/8) и высокодробные (1 мм в сутки за 60 приёмов — 1/60, 1 мм за 12 часов в течение дня или ночи: 1/60-день, 1/60-ночь) режимы distraction. У 8 собак из 63 суточное удлинение 1 мм осуществляли за 1 приём. Животные выведены из опыта в конце distraction (28 дней), через 30 дней фиксации голени в аппарате и через 30 дней после снятия

аппарата. При проведении экспериментальных исследований руководствовались требованиями приказов № 1179 МЗ СССР от 10.10.1983, № 267 МЗ РФ от 19.06.2003, «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», «Правилами по обращению, содержанию, обезболиванию и умерщвлению экспериментальных животных», утвержденными МЗ СССР (1977) и МЗ РСФСР (1977), принципами Европейской конвенции (Страсбург, 1986) и Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации о гуманном обращении с животными (1996). Седлищные и большеберцовые нервы оперированной и контрлатеральной конечностей исследованы в продольных и поперечных криостатных, парафиновых и полутонких эпиксидных срезах методами световой микроскопии и компьютерной морфометрии, трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Рост аксонов в онтогенезе. Из литературы известно, что на ранних стадиях развития отрастание аксонов от тел нейронов на периферию осуществ-

ляется за счёт продвижения их конусов роста, но имеются также доказательства активного удлинения самого аксона и возможности его индуциро-

* Статья публикуется в авторской редакции.

вания растяжением [17]. Когда конусы роста достигают органов-мишеней, а животное продолжает расти, растяжение зонами роста костей становится решающим механизмом удлинения нервов. После стабилизации конусов роста начинается формирование синапсов и дифференцировка шванновских клеток на безмиелиновый, миелинизирующий и перисинаптический фенотипы [9] под действием регулирующих молекулярных сигналов со стороны аксонов. Миелинизация приводит к формированию быстропроводящих чувствительных и двигательных нервных волокон. Главные характеристики постнатального роста – увеличение толщины и длины сегментов миелина [14]. Более длинные интернодальные сегменты обнаружены в тех нервах, которые в онтогенезе претерпевают большее удлинение [8, 30]. Способность леммоцитов к удлинению регулируется на клеточном уровне: во время роста конечности пассивное растяжение может увеличивать длину интернода; транспорт, осуществляемый микротрубочками шванновских клеток, позволяет им удлиниться в ответ на рост аксона [11].

Изучение влияния растяжения на периферический нерв. Исследование структурно-функциональных характеристик нервов под действием растяжения представляет значительный интерес для хирургов. Тractionные повреждения нервов могут возникать при вывихах, переломах и отрывах конечностей, при скелетном вытяжении, операциях артропластики, некоторых методиках удлинения конечности. Нарушение непрерывности периферического нерва при растяжении имеет более тяжелый клинический прогноз по сравнению с пересечением острым инструментом [25, 27], но патофизиология перерастяжения нерва вплоть до настоящего времени не раскрыта.

Изучена зависимость нарушений кровоснабжения нервов кролика от величины растяжения [23, 24, 28]. Растяжение до 8 % исходной длины приводит к обструкции венозных сосудов, скорость кровотока снижается на 50 %; при последующем растяжении закрываются просветы артериол и капилляров; растяжение до 15 % приводит к прекращению кровотока. Нарушения проводимости по нерву возникают при растяжении на 6 % [34]. Авторы указывают, что данные литературы о минимальной величине растяжения нерва, вызывающей гистологические изменения, многочисленны и разноречивы; указанная величина в разных источниках варьирует от 4 до 50 %. В собственном материале авторы не обнаружили гистологических изменений нервов, подвергавшихся растяжению. M. Tanoue et al. (35) установили, что вытяжение бедра крыс на 20 % приводит к снижению кровотока на 50 %; при этом количество нейронов, меченых пероксидазой хрена, снижалось на 43 %; гистологические изменения нерва в этих условиях указывали на ишемические поврежде-

ния. При 10-процентном вытяжении бедра значимых изменений выявлено не было. Авторы пришли к выводу, что быстрое растяжение нерва индуцирует замедление ретроградного аксонного транспорта вследствие циркуляторных нарушений.

Обстоятельные гистологические исследования повреждений нерва при растяжении провёл J. Naftek [21]. Начальное удлинение нерва, по мнению автора, осуществляется за счёт растяжения эпинеурия, спрямления пучков и нервных волокон, происходит в пределах эластического резерва нерва. Автор считает его физиологическим. После превышения эластического резерва рвётся эпинеурий, но до разрыва эпинеурия в результате сдавления сужающимися периневральными трубками повреждаются нервные волокна (происходит разрушение миелина и передавливание аксонов). Таким образом, разными авторами в опытах *in vivo* изучены физиологические реакции и структурные изменения нервов в ответ на вытяжение конечности. Отсутствие циркуляторных нарушений и расстройств проводимости при растяжении сегмента конечности на 5 % исходной длины свидетельствует о наличии толерантности к умеренным растягивающим нагрузкам. В ответ на умеренное растяжение (до 8 % исходной длины) продемонстрированы компенсаторные реакции сосудистого русла.

Изменения нервов в условиях дистракционного остеосинтеза. Начиная с 70-х годов прошлого столетия публикуется большое количество работ, посвященных методу удлинения конечностей по Г.А. Илизарову. Клинический опыт показал, что наиболее часто при дистракционном остеосинтезе повреждаются малоберцовый и большеберцовый нервы. Эти повреждения часто не связаны с фактором растяжения, а возникают в результате прямой травмы хирургическими инструментами: при сдавлениях крючками [13], открытой кортикотомии [28], проникающих ранениях спицами, при перегреве тканей во время проведения спиц электродрелью, при обматывании тканей вокруг спиц [12].

Поскольку растяжение вызывает нарушения аксоплазматического тока и кровоснабжения нерва, одна из актуальных задач – выявление взаимосвязи между характером и интенсивностью патологических изменений нервных волокон и темпом дистракции. В большинстве исследований применялся темп 1 мм в день, сопоставимый со среднесуточной скоростью аксоплазматического тока.

В течение 70-90 годов прошлого века большинство морфологических работ по изучению изменений нервов конечностей при ортопедическом удлинении проводилось на светоптическом уровне. Несмотря на ограниченные возможности общегистологических и импрегнационных методик, эти исследования позволили

сформировать некоторые концептуальные представления. Л.Н. Кочутина и др. [5], применяя для гистологического исследования нервов удлиняемой голени собак окраску гематоксилином-эозином и импрегнацию серебром, обнаружили, что часть волокон подвергается обрыву и валлеровской дегенерации, другая часть «истончается и испытывает сильную перегрузку при последующем растяжении». Следует обратить внимание, что, по данным авторов, это происходит только через 50 суток distraction при удлинении по 1 мм в день за один приём (для собак с длиной голени 16-22 см, на которых проводили эти эксперименты, относительное удлинение составляет 31-35 %). По данным авторов, при дальнейшем удлинении количество повреждённых волокон увеличивается, перерастяжению подвергаются и новообразованные волокна, большое число регенерирующих волокон длительно находятся в стадии роста и не достигают органов-мишеней. «Хотя в отдалённые сроки и после прекращения distraction процесс регенерации волокон начинает превалировать над деструктивными изменениями, полноты восстановления не происходит».

В РНЦ «ВТО» были проведены ультраструктурные исследования (4), на основании которых установлено, что удлинение голени собак в режиме 1 мм в день за 1 прием приводит к выраженным дегенеративно-деструктивным изменениям нервных волокон и оболочек нервов уже через 14 дней distraction. Процессы репаративной регенерации в этих условиях остаются подавленными на протяжении всего периода distraction и в первые 4-6 недель фиксации, а позже протекают вяло, не обеспечивая структурно-функционального восстановления даже через 6 месяцев после снятия аппарата. Следует отметить, что такие результаты получены при удлинении голени собак всего на 15 %.

Г.А. Илизаров, М.М. Щудло [2] изучили в эксперименте ультраструктуру мало- и большеберцовых нервов на разных стадиях удлинения конечности по 0,5 мм в день за 2 приёма после поперечной остеотомии костей голени. Авторы установили когерентность изменений структурных характеристик периневрального барьера и реактивных изменений нервных волокон. На 5-е сутки после остеосинтеза в нервах голени развивалась реакция периневрии на оперативную травму: возрастало количество микропиноцитозных везикул, связанных с межклеточными контактами, межмембранное пространство простых соединений было расширено, обнаружили локальное расхождение цитолеммы, отек в цитоплазме отдельных клеток. В течение второй недели эксперимента – в процессе distraction – происходили процессы, направленные на восстановление структуры и функции периневрального барьера: в периневрии появлялись новообразованные молодые нервные волокна, нормализовалась пиноцитозная активность в зоне

межклеточных контактов. На протяжении периода distraction наблюдалось интенсивное развитие цитоскелета в периневральных клетках, леммоцитах и эндотелии питающих сосудов, что является «универсальной реакцией тканей на distractionные нагрузки». Возникающее при distraction в нервах напряжение растяжения стимулирует биосинтетическую активность фибробластов и волокнообразование в соединительной ткани эпи- и периневрии, существенно увеличивается объемная плотность волокнистого каркаса, что повышает их прочность [1, 2, 3, 7]. Периневрий приобретает жесткую, пространственно ориентированную эпителио-соединительнотканную структуру, обеспечивающую целостность и функциональную полноценность периневрального барьера при механических нагрузках; на всех этапах удлинения установлена сохранность межклеточных контактов периневрального эпителия [3].

При дробной distraction по 1 мм в день за 4 приёма [1] в волокнах с признаками перерастяжения перехватов Ранвье сохранялось правильное расположение элементов аксоскелета, в цитоплазме леммоцитов повышалось содержание органелл, обеспечивающих биосинтетические процессы, в структуре миелина появлялись характерные для развивающихся нервных волокон секторальные насечки Шмидта-Лантермана. При distraction в режиме 1 мм за 60 приёмов [1] в нервах не обнаруживаются даже ультраструктурные признаки травматизации. В паранодальных областях и зонах насечек Шмидта-Лантермана обнаружена гипертрофия биосинтетического аппарата леммоцитов, обеспечивающая вставочный рост (интеркаляцию) нервных волокон. Средняя длина их интернодальных сегментов к концу distraction возрастала на 20 %. В периоде фиксации средняя длина интернодальных сегментов на 30 % превышала исходные. На 60-90 сутки эксперимента параметры М-ответов мышц голени достигали значений, близких к норме.

J. Gil-Albarova et al. [16] проводили эксперименты по удлинению бедра ягнят. Удлинение на 6 см достигалось distraction по 0,5 мм каждые 12 часов (1 мм в сутки за 2 приёма). Достоверных изменений скорости проведения по нерву и гистологических изменений нервных стволов не выявлено. O. Kalenderer, O. Gore, A. Dulgeroglu [22] проводили distraction бедра у 42 крыс по 0,35 мм 4 раза в день. Через 3 дня удлинение составило 10 % исходной длины, а через 7 дней – 30 %. Изменений морфологии нерва выявлено не было.

Таким образом, большинством авторов отмечена структурная сохранность нервов удлиняемой конечности экспериментальных животных при распределении суточного удлинения на несколько приёмов. Функциональные исследования свидетельствуют, что высокодробный режим (1 мм за 120 приёмов) обеспечивает неизменность кровоснабжения нерва даже на эта-

пе distraction при удлинении сегмента конечности на 10 % и отсутствие изменений проводимости по нерву не только при удлинении на 10, но даже на 20 % [26].

Вместе с тем следует систематизировать представления о характере и этиологии повреждений нервных волокон при distractionном остеосинтезе, а также оценить их функциональное и прогностическое значение.

Виды деструктивных изменений нервных волокон, встречающиеся в удлиняемом нерве. Повреждения нервных волокон, которые выявляются в нервах удлиняемой конечности и представляют собой реакцию на нарушение целостности кости, наложение аппарата, distraction и изменение функциональной нагрузки на конечность, неспецифичны. Они могут быть сведены к двум типам: демиелинизации и аксональной дегенерации. Демиелинизация – первичное повреждение миелинового слоя с относительным сохранением структуры аксона. Этот процесс может носить сегментарный характер, поскольку связан с дисфункцией или деструкцией отдельных шванновских клеток в условиях гипоксии и дефицита нутриентов. Иногда разрушение охватывает не весь сегмент миелина, а его небольшую часть. Аксональная дегенерация включает три разновидности патологических изменений: аксо-миелиновая дегенерация дистальнее уровня повреждения нерва, которая носит название валлеровской по имени впервые описавшего её автора; собственно аксональная дегенерация; аксональная дегенерация при посттравматическом апоптозе нейрона. Валлеровская дегенерация возникает в результате действия локальных причинных факторов, нарушающих аксоплазматический ток и непрерывность аксонов. Аксон и миелиновая оболочка разрушаются дистальнее уровня повреждения. В удлиняемом нерве этот вид дегенерации может быть результатом аксонотмезиса (передавливания или разрыва аксона), травматического васкулита, эмболизации интраневральных сосудов. В большинстве опытов с удлинением бедра и голени собак методом distractionного остеосинтеза валлеровской дегенерации подвергаются буквально единичные волокна. При других видах аксональной дегенерации предполагается существование постепенной метаболической дезорганизации нейрона, что проявляется выраженным центрипетальным распространением патологических изменений. Иногда аксональная дегенерация рассматривается как проявление цитоплазматического апоптоза. Под этим термином подразумевается активность и запрограммированность процесса и вовлечённость в него только части нейрона, без участия ядра и перикариона. В гистологических препаратах валлеровскую и собственно аксональную дегенерацию можно отличить не всегда. Следует учитывать, что при валлеровской дегенерации

аксон и миелин разрушаются практически одновременно. При аксональной дегенерации разрушение миелина отсрочено во времени, поэтому получило название вторичной демиелинизации.

Исходы демиелинизации и аксональной дегенерации различны. Ремиелинизация происходит в той же последовательности, что и при нормальном развитии, но длинный демиелинизированный сегмент не может восстановить миелиновую оболочку за счёт оригинальной (предсуществующей) шванновской клетки. В участках паранодальной демиелинизации появляются шванновские клетки, длина которых едва превышает длину ядра – и тем не менее они могут формировать новые сегменты миелина. Если демиелинизация захватывает более обширные участки, появляющиеся в процессе ремиелинизации короткие сегменты (длиной 15-20 мкм) расположены между нормальными сегментами по два или по нескольку. Часть "вставочных" сегментов миелина с течением времени элиминируется, в то время как другие могут удлиниться.

Нарушения кровоснабжения и метаболизма, дефицит нутриентов могут приводить к повторению эпизодов демиелинизации-ремиелинизации, что приводит к появлению «луковых чешуй» – концентрических структур, сформированных вокруг демиелинизированного или гипомиелинизированного аксона отростками и базальными мембранами шванновских клеток. Они считаются классическим знаком синдрома Шарко-Мари-Туффа, встречаются и при других врождённых нейропатиях (болезни Дежерина-Сотта), при диабетической нейропатии, хронической воспалительной демиелинизирующей нейропатии, у стареющих индивидов. Некоторые авторы [6] полагают, что синдром Шарко-Мари-Туффа развивается при удлинении конечности по Илизарову. Однако его гистологический знак – «луковые чешуи» – в удлиняемом нерве является редкой находкой.

Регенерация нерва после валлеровского повреждения хорошо описана в учебной и научной литературе. Отметим лишь, что аксотомия или аксонотмезис является, по данным разных авторов, причиной гибели до 40 % первичных афферентных нейронов и до 15 % двигательных нейронов путём вторичного посттравматического апоптоза. Регенерация миелинизированных волокон, как правило, приводит к замещению одного крупного волокна пучком мелких. Восстановление структурных параметров быстропроводящих волокон, которые имеют толстый осевой цилиндр (диаметром более 5 мкм), миелиновую оболочку толщиной 2-3 мкм и длинные интернодальные сегменты (до 1500 мкм), происходит очень медленно. Даже при высоких регенераторных потенциях индивида оно растягивается на месяцы и годы, неизбежно сопровождается денервационной атрофией и фиброз-

ным перерождением органов-мишеней. Регенерация после аксональной дегенерации осуществляется теми же механизмами, что и при валле-ровской, но с ещё более медленной скоростью. При нейропатиях регенерация проблематична, при гибели нейрона она не наступает вообще. Поэтому несмотря на то, что травмированные волокна периферических нервов регенерируют, методика ортопедического удлинения конечности должна предусматривать сохранение структуры нервных проводников.

Количественная оценка степени повреждения проводниковой части нерва при удлинении конечности экспериментальных животных. При 15-процентном удлинении голени собак прослеживается обратная зависимость доли деструктивно изменённых волокон в большеберцовом нерве в конце distraction при увеличении её дробности и распределения во времени суток. Доля дегенерирующих безмиелиновых волокон при всех режимах удлинения примерно в три раза ниже, чем миелинизированных. При режиме удлинения «1 мм за 60 приёмов в течение суток» доли деструктивно изменённых миелинизированных и безмиелиновых нервных волокон сопоставимы с показателями интактного нерва. При дробных режимах удлинения и процентная доля, и численная плотность волокон с деструктивными изменениями к концу периода distraction уменьшается вдвое по сравнению со сроком distraction 14 дней и ранним послеоперационным периодом. При этом в удлиняемом нерве выявляются признаки регенерации нервных волокон, которые, судя по стадии регенерации, были повреждены в ближайшем послеоперационном периоде.

Таблица 1

Доли дегенеративно изменённых миелинизированных волокон в конце distraction

Режим distraction	Доля дегенерирующих миелинизированных волокон
1 мм за 1 приём	7-10 %
1 мм за 4 приёма в течение 8-часового рабочего дня	3-5 %
1 мм за 60 приёмов в течение полусуток	2-3 %
1 мм за 60 приёмов в сутки	1-2 %

Морфологические признаки упругой деформации растяжения нервных волокон при удлинении конечности. Рассматривая поверхности нерва в боковом свете под лупой или в операционном микроскопе, можно заметить, что пучки нервных волокон обладают поперечной исчерченностью – более или менее равномерным чередованием светлых и тёмных полос, которые носят название полос Fontana по имени впервые описавшего их автора и обусловлены тем, что коллагеновые фибриллы оболочек нерва и располагающиеся под эпиневрием внутри

перинеуральных футляров нервные волокна имеют волнообразное расположение. В продольных гистологических срезах выявляется синхронный волнообразный ход нервных пучков – извитость первого порядка; кроме того, каждое нервное волокно также обладает синусоидальной волнистостью – извитостью второго порядка. В процессе distraction конечности в аппарате происходит спрямление хода волокон – так же, как при одномоментных или сравнительно постепенных растяжениях отрезков нервов животных, иссечённых для биомеханических исследований. При осмотре в боковом свете макропрепаратов таких нервов можно заметить утрату поперечной исчерченности.

В некоторых спрямлённых в процессе distraction осевых цилиндрах нервных волокон можно выявить «чётки» – чередование участков варикозных расширений и констрикций. На ультраструктурном уровне можно оценить степень обратимости этих изменений в каждом конкретном случае. Конденсация органелл аксоплазмы соответствует констрикции, их разреженное расположение – варикозному расширению аксона. Эти изменения могут носить функциональный характер. Начальные стадии аксональной дегенерации на свето-оптическом уровне репрезентируют те же «чётки», но дезинтеграция аксоскелета и замещение его аморфным материалом, выявляемые на электронограммах, свидетельствуют о необратимости процесса. В то же время следует иметь в виду, что варикозные расширения нервных волокон характерны для растущих нервов – в частности, на определённых стадиях развития плода человека [32]. Наряду с «чётками» в миелинизированных волокнах, подвергавшихся растяжению, можно выявить расширенные насечки миелина и «удлинённые» перехваты Ранвье.

Проявления адаптационного роста нервных волокон при distractionном остеосинтезе. Для нейронов характерно состояние перманентной интенсивной физиологической внутриклеточной регенерации, поэтому неудивительно, что скорость аксонного транспорта у интенсивно растущих и зрелых животных одинакова [21]. Замена изнашивающихся органелл и мембранных структур поддерживается синтетической активностью клеточного тела и реализуется путём аксоплазматического тока, а также микроокружением нервных волокон, в первую очередь периферической глией. Иссечённый из организма участок нерва истощающе характеризуется такими параметрами, как жёсткость, прочность и эластичность. Существует точка зрения, что при растяжении *in vivo* мягкие ткани сначала растягиваются и лишь после превышения эластического резерва начинается истинное удлинение: начинается перераспределение и замедление аксоплазматического тока, поэтому

в срезах, импрегнированных серебром, определяются истончения осевых цилиндров нервных волокон. В отличие от одномоментного растяжения, вызывающего полную облитерацию эндоневральных кровеносных сосудов и прекращение кровотока, при удлинении конечности к концу периода distraction отмечается повышение численной плотности микрососудов в эндоневрии. На электронограммах в удлинённом нерве выявляются нервные волокна с признаками изменений нанотопографии аксоскелета – меняется плотность расположения микротрубочек и нейрофиламентов, характерно распределение их в виде регулярных ансамблей. Замедлением транспорта нейрофиламентных протеинов, перестройка ансамблей цитоскелетных протеинов происходит также в процессе нормального развития [19]. На этапе distraction достоверно уменьшается средний диаметр аксонов во фракциях мелких и особенно крупных миелинизированных волокон. В период фиксации происходит восстановление, а на этапе после снятия аппарата – увеличение этого параметра. Такая динамика отражает замедление и последующую нормализацию транспорта нейрофиламентов, а также увеличение степени их фосфорилирования. По-видимому, регуляцию перераспределений аксоплазматического тока в растягивающихся и затем удлиняющихся нервных волокнах осуществляют шванновские клетки, сами подвергающиеся удлинению. Как было отмечено, начиная с 14 дней distraction в структуре миелиновых оболочек зрелых волокон появляются характерные для растущих животных [31] секторальные насечки Шмидта-Лантермана: в поперечных срезах они занимают менее половины окружности волокна, а в продольных срезах волокон располагаются асимметрично. В цитоплазматических полосах леммоцитов (лентах Кахаля) формируются плотные пучки микротрубочек, которые, как известно, ответственны за постнатальный рост волокон [11]. В цитоплазме леммоцитов возрастает количество рибосом, что приводит к усилению её базофилии. Ещё один признак повышения биосинтетической активности шванновских клеток – «круглые» перикарионы. Гипертрофия перикарионов и цитоплазмы шванновских клеток приводит к приросту их длины. Это происходит и в безмиелиновых, и в миелинизированных волокнах, что можно верифицировать по снижению частоты их ядродержащих профилей в поперечных срезах. Соответственно в препаратах расщипанных волокон регистрируется увеличение средней длины сегментов миелина, но кроме того встречаются аномально короткие одиночные вставочные сегменты. Характерные для репаративной регенерации или ремиелинизации цепочки коротких сегментов в удлинённом нерве являются редкой находкой,

поскольку демиелинизация больших участков интернодальных сегментов или целых сегментов миелина для щадящих режимов distraction нехарактерна. Вставочные сегменты эффективно репарируют участки паранодальной демиелинизации в волокнах с «удлинёнными» узлами Ранвье; последние являются признаком «функциональной» демиелинизации.

Откуда берутся леммоциты, формирующие вставочные сегменты миелина? По нашим данным, шванновские клетки миелинизирующего фенотипа могут вступать в митоз без нарушения целостности миелиновой оболочки. Аналогичный эффект описали F.Court & J.Alvarez [10] при введении в нерв ингибитора транскрипции. Во-вторых, единичные нервные волокна всё-таки подвергаются сегментарной демиелинизации или валлеровской дегенерации, что приводит к пролиферации леммоцитов. Часть их мигрирует в эндоневрий, поэтому на электронограммах обнаруживаются не связанные с аксонами шванновские клетки с признаками подвижности цитолеммы. Вероятно они могут оккупировать «удлинённые» узлы Ранвье и формировать вставочные сегменты миелина.

Удлинение шванновских клеток, увеличение интернодальных расстояний и образование вставочных сегментов миелина являются основными механизмами структурной адаптации зрелых нервных волокон к дозированному растяжению. Длина вставочных сегментов миелина, определяемая в продольных срезах нерва, возрастает от этапа distraction к концу эксперимента. Как было отмечено выше, удлинению подвергаются не только вставочные, но и зрелые сегменты миелина. Прирост интернодальных расстояний в периоде фиксации и после снятия аппарата, а также восстановление извитости нервных волокон свидетельствует о том, что адаптационный рост нерва после прекращения distraction продолжается. На макроскопическом уровне через 1-3 месяца после снятия аппарата прослеживается восстановление поперечной исчерченности нерва – при том, что высота костного регенерата и достигнутое удлинение конечности сохраняется. Гистологически определяется восстановление синусоидальной извитости нервных волокон. Рассматривая в комплексе изменения нервных проводников на этапах удлинения конечности, можно сделать вывод: подвергаясь упругой деформации растяжения (спрямление извитости волокнистых структур и истончение осевых цилиндров нервных волокон) на этапе distraction, нерв сохраняет анатомическую непрерывность и адаптируется к увеличению длины голени, демонстрируя признаки вставочного роста нервных волокон, о чём свидетельствует гипертрофия и гиперплазия леммоцитов, гипертрофия аксонов, типичные для постнатального онтогенетического роста

картины ремоделирования аксоскелета и цитоскелета шванновских клеток, а также сегментов миелина. Структурной основой нарушений функции нервов при щадящих режимах distraction следует считать истончение осевых цилиндров нервных волокон в зоне удлинения, свидетельствующее о замедлении аксотока, конформационные изменения специализированных межклеточных контактов в шванновских оболочках миелинизированных волокон, нарушения аксо-миелиновых отношений и перIODичности миелиновых сегментов.

Изменения численности и фенотипов нервных волокон при нарушении целостности кости и distractionном остеосинтезе. Реакция нервной системы на повреждения костей, структурные проявления её участия в формировании костного сращения или distractionного регенерата прослеживаются при сопоставлении изменений нервов конечностей в опытах с нейтральным и distractionным остеосинтезом. Согласно литературным данным, периферическая нервная система интенсивно вовлекается в развитие костей [15]: при появлении центров ossификации количество конусов роста и нервных волокон, экспрессирующих рост-ассоциированный протеин GAP-43, возрастает. Считается, что в позднем онтогенезе в неповреждённых нервах фенотипы нервных волокон, шванновских клеток и численность нервных проводников не меняются. Однако известны документированные исключения из этого правила: пролиферация шванновских клеток, сегрегация

пучков Ремака и миелинизация безмиелиновых аксонов выявлены в седалищном нерве крысы при интраперитонеальном введении GDNF [20]. Результаты наших исследований показали, что численность миелинизированных и безмиелиновых волокон в нервах конечностей при повреждениях костей в условиях нейтрального остеосинтеза увеличивалась как в ипси-, так и в контрлатеральных нервах конечностей по сравнению с интактными. В опытах с distractionным остеосинтезом отмечены изменения количественных параметров той же направленности, только ещё более выраженные. В отдалённый период эксперимента проследивается тенденция к восстановлению численности нервных волокон. При анализе механизмов этих сдвигов установлено, что леммоциты безмиелинового и миелинизирующего фенотипа могут вступать в митоз. В безмякотных волокнах возрастает количество кластеров пучков Ремака, выявляются признаки их сегрегации, в результате которой возрастает количество безмиелиновых аксонов большого диаметра (1-1,2 мкм), часть последних миелинизируется. В профилях мякотных волокон встречаются картины вступления в митоз шванновских клеток при сохранённой структуре миелиновой оболочки и признаки дихотомической арборизации аксонов. Ответвления миелинизированных аксонов вначале не покрыты миелиновой оболочкой, но затем могут миелинизироваться. Предполагаемое функциональное значение прослеженных изменений – обеспечение регуляции репаративных и distractionных гистогенезов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рост аксонов периферической нервной системы в постнатальном онтогенезе обеспечен способностью шванновских клеток удлиняться в ответ на растяжение, создаваемое зонами роста костей. Эксперименты, выполненные в РНЦ «ВТО», доказали, что аналогичные механизмы удлинения проводниковой части нервов могут быть индуцированы во взрослом организме при distractionном остеосинтезе. Установлено также, что нарушение целостности кости и последующая distraction вызывают интенсивные изменения численности и фенотипов нервных волокон (за счёт арборизации аксонов и изменения аксо-леммоцитарных отношений), что предположительно отражает регулируемую и трофическую

роль нервной системы в distractionных гистогенезах. В отличие от репаративной регенерации индукция вставочного роста ультраструктур нервных волокон не зависит от интенсивности реактивно-деструктивных изменений, но модулируется темпом и ритмом distraction. Поскольку аксональная и валлеровская дегенерация вызывают ретроградные изменения вплоть до гибели клеточных тел нейронов, клинически применимыми должны считаться такие технологии удлинения, при которых процентная доля и численная плотность деструктивно изменённых нервных волокон в послеоперационном периоде незначительно превышают показатели интактного нерва, а в конце distraction приближены к таковым.

ЛИТЕРАТУРА

1. Илизаров Г.А. Рекапитуляция признаков онтогенетического роста в оболочках нервных стволов при экспериментальном удлинении конечности у взрослых собак / Г.А. Илизаров, М.М. Щудло, А.Б. Кузнецова, А.А. Шрейнер // Проблемы чрескостного остеосинтеза в ортопедии и травматологии. Закономерности регенерации и роста тканей под влиянием напряжения растяжения: Сб. науч. трудов КНИИЭКОТ. Вып. 8. Курган, 1982. С. 72-79.
2. Илизаров Г.А., Щудло М.М. Изменения нервов голени при её удлинении в эксперименте // Лечение ортопедо-травматологических больных в стационаре и поликлинике методом чрескостного остеосинтеза, разработанным в КНИИЭКОТ: Материалы Всесоюзной науч.-практ. конф. Курган, 1982, Ч.2. С.198-201.
3. Илизаров Г.А., Щудло М.М. Ультраструктура межклеточных контактов периневрального эпителия нервов голени при её удлинении в эксперименте. // Чрескостный компрессионно-distractionный остеосинтез по Илизарову в травматологии и ортопедии

- дии». Курган, 1985. С.10-17.
4. Илизаров Г.А. Значение ритма дистракции для реализации «эффекта Илизарова» в нервах удлиняемого сегмента конечности. / Г.А. Илизаров, М.М. Щудло, Н.Р. Карымов, М.С. Сайфутдинов // Гений ортопедии. 1995. № 1. С. 12-18.
 5. Кочутина Л.Н. Изменения нервных проводников и их концевых аппаратов в мышцах и коже при больших одноэтапных удлинениях конечности по Г.А. Илизарову / Л.Н. Кочутина, И.П. Кудрявцева, Е.И. Чумасов, К.М. Светикова // Арх. анат., 1990. Т. 98, № 4. С. 24-31.
 6. Чайковский Ю.Б. Регенерационная неврома // Морфология, 1999.Т.15, №1.С.55-67.
 7. Щудло М.М. Рост и дифференцировка структур эпи-периневрия в условиях дозированного растяжения // Вестник РАМН, 2000. №2. С.19-23.
 8. Caruso G. et al. The relationship between electrophysiological findings, upper limb growth and histological features of median and ulnar nerves in man / G. Caruso, R. Massini, C. Crisci, J.Nilsson, A. Catalano, L Santoro, F. Battaglia, F. Crispi, M. Nolano // Brain, 1992.V. 115, № 6. P.1925-1945.
 9. Corfas G. et al. Mechanisms and Roles of Axon-Schwann Cell Interactions / G. Corfas, M.O. Velardes, Ch.-P. Ko, N. Ratner, E. Peles // The Journal of Neuroscience, 2004.V. 24. №42. P.9250-9260.
 10. Court F., Alvarez J. Local regulation of the axonal phenotype, a case of merotrophism // Biol. Res. Santiago 2005. V.38, №4. P. 365-374.
 11. Court F. A. et al. Restricted growth of Schwann cells lacking Cajal bands slows conduction in myelinated nerves / F. A. Court, D. L. Sherman, T. Pratt, E. M. Garry, R. R. Ribchester, D.F. Cottrell, S.M. Fleetwood-Walker, P. J. Brophy // Nature, 2004. V. 431. P. 191-195.
 12. Eldridge J., Deborah B. Problems with substantial limb lengthening // Orthop. Clin of North America. 1991.V. 22, №4. P. 625-631.
 13. Franke J., Simon M., Hein G. Ilizarov-Techniken zur Beinverlängerung // Orthopäde. - 1992. № 21. P. 197-209.
 14. Friede R L, Brzoska J., Hartmann U. Changes in myelin sheath thickness and internode geometry in the rabbit phrenic nerve during growth // J.Anat., 1985.V.143. P.103-113.
 15. Gajda M., Adriaensen D. , Cichocki T. Development of the innervation of long bones: expression of the growth-associated protein 43.//Folia Histochem. Cytophiol., 2001.V.38,№3. P.103-110.
 16. Gil-Albarova J., Melgosa M., Gil-Albarova O. Canadell: Soft tissue behaviour during limb lengthening: An experimental study in lambs // J Pediatr Orthop. , 1997. № B-6. P. 266-273.
 17. Goldberg G.L. How does axon grow?//Genes and development, 2003.V.17, №8. P.941-958.
 18. Haftek J. Stretch injury of peripheral nerve //The J. of Bone and Joint Surg., 1970. V.52B, №2. P. 354-364.
 19. Hoffman P.N., Lasek R.J., Griffin J.W., Price D.L. Slowing of the axonal transport of neurofilament proteins during development. // J. Neurosci. 1983. V.3. P.1694-1700.
 20. Höke A., Ho T., Crawford T. O., LeBel C., Hilt D., Griffin J.W. Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor Alters Axon Schwann Cell Units and Promotes Myelination in Unmyelinated Nerve Fibers.// The J. of Neuroscience, 2003. V. 23, №2. P. 561-567.
 21. Inestrosa N.C., Alvarez J. Axons grow in the aging rat but fast transport and acetylcholinesterase content remain unchanged.// Brain Res., 1988.- V.441 (1-2)Feb16.- P.331-338.
 22. Kalenderer O., Gore O., Dulgeroglu A. Histopathologic and morphometric changes in rat nerve and blood vessels associated with femoral lengthening // Acta Orthop.Traumatol.Turc., 2005. № 39 (1). P. 64-69.
 23. Lundborg G., Rydevik B. Effects of stretching the tibial nerve in the rabbit // J Bone Joint Surg.,1973. № 55B. P. 390.
 24. Lundborg G. et al. Peripheral nerve: the physiology of injury and repair / G. Lundborg, B. Rydevik, M. Manthorpe, S. Varon, J. Lewis // In: Woo SL, Buckwalter JA: Injury and repair of the musculoskeletal soft tissues. American Academy of Orthopaedic Surgeons, Illinois, 1991.
 25. Mackinnon S., Dellon A.S. Surgery of the peripheral nerve. Thieme // New York, 1988.
 26. Mizumoto Y. et al. Tibial nerve function during tibial lengthening. Measurement of nerve conduction and blood flow in rabbits. /Mizumoto Y., Mizuta H., Nakamura E., Takagi K. //Acta Orthop. Scand. 1995.V.66, №2. P.275-277.
 27. Mumenthaler M., Schliack H., Stöhr M. Läsionen peripherer Nerven und radikuläre Syndrome. 7. Auflage // Thieme, Stuttgart. 1998.
 28. Ogata K., Naito M. Blood flow of peripheral nerve effects of dissection, stretching and compression // J. Hand Surg (Br). 1986. № 11. P. 10-14.
 29. Paley D. Problems, Obstacles, and Complications of limb Lengthening by the Ilizarov Technique // Clin Orthop.,1990. № 250. P. 81-104.
 30. Schäfer K, Friede R L The onset and rate of myelination in six peripheral and autonomic nerves of the rat. // J.Anat., 1988.V.159. P. 181-195.
 31. Sotelo J.R. et al. Ribosomes and polyribosomes are present in the squid giant axon: an immunocytochemical study / J.R. Sotelo, A. Kun, J.C. Benech, A. Giuditta, J. Morillas, C.R. Benech // Neuroscience, 1999. V.90. P.705-715.
 32. Tanoue M. et. al. Acute stretching of peripheral nerves inhibits retrograde axonal transport / M. Tanoue, M. Yamaga, J. Yde, K. Takagi // J. Hand Surg.,1996. V.21, №3. P. 358-363.
 33. Tome F.M., Tegner R., Chevally M. Varicosities in human fetal sciatic nerve fibres.//Neuropathol. Appl. Neurobiol., 1988. V. 14, № 6. P.495-504.
 34. Wall E.J. et al. Experimental stretch neuropathy / E.J. Wall, J.B. Massie, M.K. Kwan, B.L. Rydevik, R.R. Myers, S.R. Garfin // J. Bone Joint Surg.,1992. № 74-B. P. 126-129.

Рукопись поступила 27.04.09.

Сведения об авторах:

1. Щудло Михаил Моисеевич – ведущий научный сотрудник научно-медицинского отдела восстановительного лечения, д.м.н.
2. Щудло Наталья Анатольевна – ведущий научный сотрудник лаборатории новых технологий в ортопедии ФГУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова», д.м.н.
3. Борисова Ирина Васильевна – научный сотрудник лаборатории новых технологий в ортопедии ФГУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова», к.б.н.;
4. Варсегова Татьяна Николаевна – научный сотрудник экспериментального отдела травматологии и ортопедии ФГУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова», к.б.н.