

Г.Д. Сафонова, С.А. Ерофеев, М.А. Степанов

**ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ «ВЕЕРНОГО» СПОСОБА УДЛИНЕНИЯ КОНЕЧНОСТИ
НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕРВЫХ ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ
НЕЙРОНОВ ДВИГАТЕЛЬНОГО АНАЛИЗАТОРА
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

**ФГУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад.
Г.А. Илизарова» Минздравсоцразвития РФ (Курган)**

В эксперименте, выполненном на 10 взрослых беспородных собаках, которым выполняли удлинение голени на 14–18 % от исходной длины «веерным» способом, с использованием периодов недельного активного дозированного воздействия на различные группы мышц голени и отдыха, показано, что создаются достаточно благоприятные условия для формирования костного distractionного регенерата и функционирования первых сенсорных нейронов двигательного анализатора.

Ключевые слова: distractionный остеосинтез, чувствительные нейроны

**THE EFFECT OF “FAN” LIMB LENGTHENING TECHNIQUE ON MORPHOFUNCTIONAL
STATE OF THE FIRST SENSITIVE NEURONS OF THE MOTOR ANALYZER
(EXPERIMENTAL MORPHOLOGICAL STUDY)**

G.D. Safonova, S.A. Yerofeyev, M.A. Stepanov

**Russian Scientific Center “Restorative traumatology and orthopedics” named after acad. G.A. Ilizarov,
Kurgan**

The experiment was performed on 10 adult dogs underwent tibial lengthening by 14–18 % from the initial length using a “fan” technique interchanging weekly active periods of dosed lengthening on various muscle groups and their weekly rest. This effect created sufficiently favourable conditions for bone distraction regenerate formation and functioning of the first sensitive neurons of the motor analyzer.

Key words: distraction osteosynthesis, sensitive neurons

Ускорение процесса формирования костного distractionного регенерата и оптимизация условий для полноценного функционирования мышц удлинённого сегмента конечности является актуальной задачей современной травматологии и ортопедии. Проведённые многочисленные исследования посвящены большей частью изучению строения костного distractionного регенерата при различных экспериментальных условиях. Показано также, что при различных режимах distraction изменяется в скелетных мышцах, стволах периферических нервов имеют особенности, определяющие их функционирование [3, 4, 5, 8]. Важной составляющей процесса удлинения конечности являются вопросы регуляции движений в условиях изменённого двигательного режима, однако они не получили достаточной проработки [2].

Известно, что непосредственное участие в иннервации голени принимают нейроны, являющиеся первыми сенсорными клетками в составе двигательного анализатора, тела которых расположены в спинномозговых ганглиях поясничного отдела позвоночника. Отростки обозначенных нервных клеток как формируют самостоятельные проводящие пути (дорсальные корешки спинномозговых нервов, состоящие из центральных отростков), так и находятся в составе смешанных периферических нервов (афферентные нервные волокна). Рецепторы данных волокон располагаются в мышцах, коже, суставах задних конечностей,

воспринимают, в частности, проприо- и ноцицептивную информацию.

Цель данного исследования — выявить влияние условий «веерного» способа distraction на морфофункциональное состояние чувствительных нервных клеток, расположенных в поясничных спинномозговых ганглиях, принимающих участие в иннервации удлинённой голени взрослых беспородных собак.

МЕТОДИКА

Эксперименты выполнены на 10 взрослых беспородных собаках в возрасте 1–3 лет. Содержание, уход и выведение животных из эксперимента (введение предельной дозы барбитуратов) осуществляли в соответствии с требованиями МЗ РФ к работе экспериментально-биологических клиник (приказ № 755, 1977), а также Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных целей.

Методы исследования: клинический, рентгенологический, нейрогистологический, морфометрический.

Для удлинения большеберцовой кости между подсистемами аппарата Илизарова устанавливали резьбовые стержни с шарнирными узлами. Через 5 суток после флекссионной остеоклазии начинали выполнение «веерной» distraction: в течение первой и третьей недель удлинение выполнялось по задней паре шарнирных узлов, в течение второй

и четвертой – по передней паре. Режим distraction: четырехкратная дробность, 2 мм в сутки на стержнях, при этом на стороне используемых для distraction в данный промежуток времени паре шарниров ежесуточная величина удлинения составляла 1,42 мм, на противоположной – 0,57 мм, в центре большеберцовой кости – 1 мм. В результате выполняемого в течение недели удлинения большеберцовая кость в средней трети приобретала рекурвационную деформацию около 10 – 15° (7-е и 21-е сут. эксперимента), на 14-е и 28-е сут. прослеживалось восстановление оси (рис. 1А, Б). Период distraction – 28 сут., фиксации – 30 сут., после снятия аппарата (БА) – 30 сут.

После эктаназии животного вычленили блок, содержащий поясничный и крестцовый отделы позвоночника, удаляли дужки позвонков и извлекали

спинной мозг вместе с соответствующими каждому сегменту корешками и ганглиями.

Для нейростологических исследований использованы спинномозговые ганглии (L6, L7, S1), нейроны которых получают информацию непосредственно от мышц и сухожилий голени, подвергающихся растяжению. Исследованы аналогичные спинномозговые ганглии 3 интактных взрослых беспородных собак (норма). Материал фиксировали в формалине или смеси Бродского, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в парафин. Продольные серийные срезы ганглиев толщиной 5 мкм окрашивали крезил-виолетом и тионином по Нисслю, галлоцианином-хромовыми квасцами по Эйнарсону.

Для количественных исследований использованы срезы ганглиев L7, в которых производили

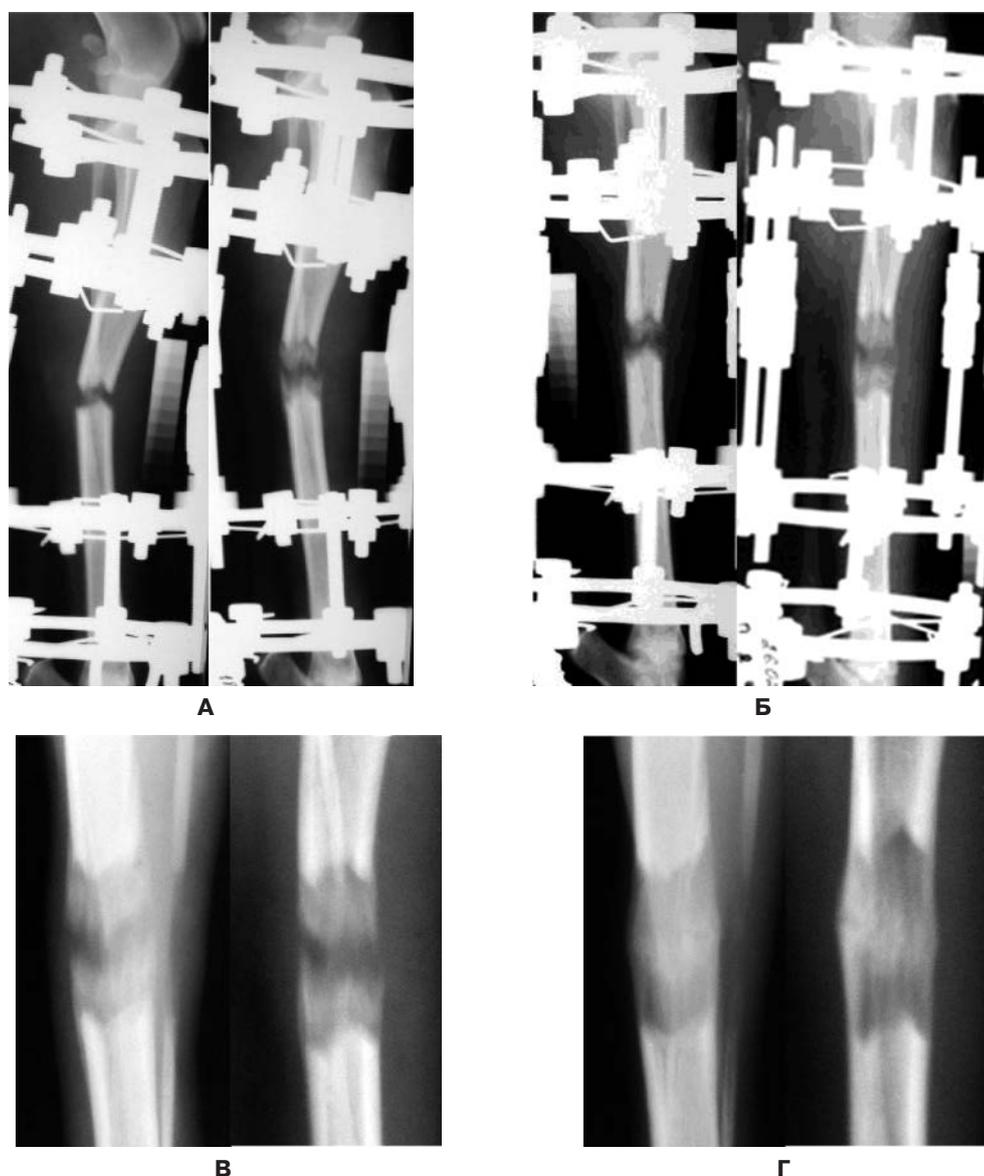


Рис. 1. Особенности и динамика формирования distractionных регенератов костей голени при «веерном» способе удлинения: **А** – формирование рекурвационной деформации в процессе «веерного» удлинения, боковые проекции, distraction в течение 7 и 21 сут.; **Б** – восстановление оси костей голени, боковые проекции, distraction в течение 14 и 28 сут.; **В** – зональное строение регенерата в конце периода distraction, прямая и боковая проекции; **Г** – «бочкообразный» регенерат, 30 сут. фиксации, прямая и боковая проекции.

подсчет клеток ($n \geq 250$) в популяциях крупных, средних и малых нейронов. В каждой популяции выделяли группы нормо- (Нх) и гипохромных клеток (периферический хроматолиз — Пх) с разделением на подгруппы в зависимости от расположения компонентов ядерно-ядрышкового аппарата (ЦЯ — центральное расположение; ДЯ — дислокация). Выполнен также подсчет ядер глиоцитов, формирующих капсулы крупных ($n \geq 75$) и малых ($n \geq 75$) нейронов — перинейрональная глия, сателлиты.

Выбор исследуемых групп нейронов был обусловлен тем, что, по данным литературы, крупные нервные клетки ответственны за проприорецепцию, малые — связаны с болевой чувствительностью [7].

Статистическую обработку материала осуществляли в программе Microsoft Excel, достоверность различий оценивали с использованием t-критерия Стьюдента [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Во всех случаях проведенных опытов по удлинению конечности «веерным» способом мы не наблюдали осложнений, которые могли бы отрицательно повлиять на результаты эксперимента. Наличие умеренно выраженных послеоперационных отеков прослеживалось в течение первой недели distractionного периода. Опорная функция оперированной конечности сохранялась на протяжении всего эксперимента, при этом во второй половине периода distraction большая часть животных использовала удлиняемую конечность только для опоры, подгибая при передвижении. Наблюдалось уменьшение поперечных размеров мышц бедра и голени. Сгибательная контрактура коленного сустава усиливалась, ограничение в разгибании достигало $140 - 160^\circ$. После завершения distractionных воздействий животные нагружали конечность, как при опоре, так и в динамике, наблюдалась перемежающаяся хромота. У всех опытных собак сгибательная контрактура коленного сустава сохранялась до конца эксперимента.

Рентгенологически к концу периода distraction (рис. 1В) высота диастаза составляла 28,0 мм. Поперечные размеры регенерата в большинстве опытов превышали исходные на 1,0–5,0 мм, в одном случае наблюдалось увеличение в прямой проекции на 12,0 мм, в боковой — на 8,0 мм. Костные отделы регенерата имели продольно исчерченную структуру. Протяженность проксимального регенерата составила 10,0–15,0 мм (в среднем — 11,5 мм), дистального — 5,0–15,0 мм (в среднем — 11,1 мм). Высота соединительнотканной прослойки — 3,0 мм, при этом в большинстве опытов ее пересекали тени трабекул, исходящих из костных отделов регенерата, которые сливались в «костные мостики». По периферии регенерата, как правило, с двух сторон на рентгенограммах определялись более плотные тени формирующейся корковой пластинки.

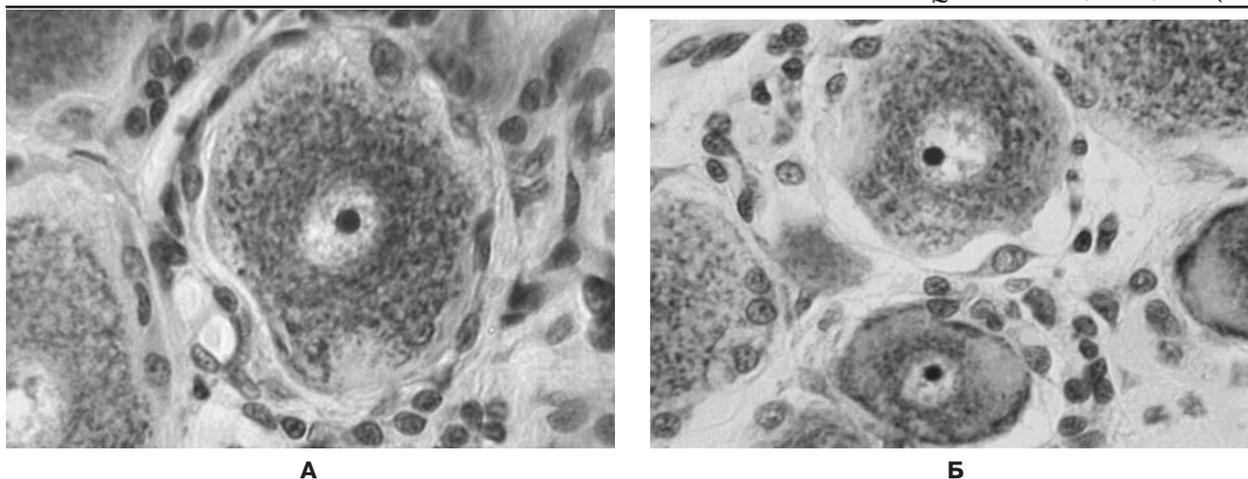
У оснований костных отделов регенерата отмечали дополнительные зоны просветления (начало

формирования костномозговой полости) протяженностью 1,0–6,0 мм (в среднем — 3,15 мм). Периостальная реакция отмечалась на обоих отломках в основном с каудальной и медиальной поверхностей, протяженностью в среднем около 30 мм и толщиной до 5 мм. В трех случаях в костномозговом канале дистального отломка определялись плотные тени протяженностью $15,7 \pm 5,3$ мм. В пяти опытах в дистальном отломке отмечали явления остеопороза. В большинстве наблюдений выявлялась небольшая резорбция костной ткани вокруг спиц.

Через 30 сут. фиксации (рис. 1Г) во всех опытах поперечник регенерата превышал размеры концов отломков. В четырех опытах регенерат утрачивал зональное строение. На месте прослойки отмечалась более плотная тень регенерата. В одном наблюдении прослойка определялась в виде отдельных участков просветления. В этих опытах протяженность костных отделов регенерата в среднем составляла 13,5 мм. В регенерате прослеживались активные перестроечные процессы. Формировалась костномозговая полость в виде дополнительных зон просветления протяженностью 8,0–12,0 мм, в результате чего он приобретал гомогенную структуру. Формирующаяся корковая пластинка регенерата толщиной 0,5–1,0 мм полностью перекрывала диастаз. В трех случаях на отломках сохранялась периостальная реакция, тени становились более плотными. Их протяженность составила 30–40 мм, толщина — 1,0–3,0 мм. В большинстве наблюдений определялся остеопороз дистального отломка большеберцовой кости.

Выполненные нейростатистические и количественные исследования позволили выявить динамику изменений морфофункционального состояния первых чувствительных нейронов двигательного анализатора в процессе удлинения задней конечности вышеобозначенным способом. В исследованных популяциях нейронов наблюдались изменения, демонстрирующие усиление функционирования изученных сенсорных клеток в виде периферического хроматолиза, смещения компонентов ядерно-ядрышкового аппарата, увеличения количества сателлитов (рис. 2А, Б).

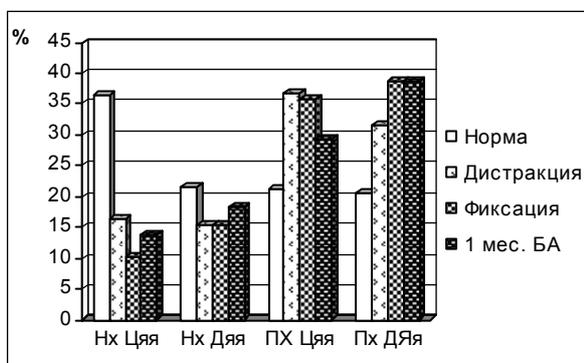
В популяции крупных нейронов, ответственных за восприятие проприоцептивной информации, после выполнения distraction «веерным» способом отмечено значительное уменьшение количества клеток, имеющих нормальную структуру. Так, в подгруппе нормохромных нейронов, имеющих центральное расположение ядерно-ядрышкового аппарата, за период distraction отмечено снижение его более чем в 2 раза (у интактных животных — 36,43 %, после distraction — 16,47 %). За период фиксации в аппарате их количество уменьшилось до 10,14 %, через 1 мес. после снятия аппарата прослежена умеренная тенденция к увеличению (рис. 3А). В подгруппе крупных нормохромных нейронов с дислокацией ядерно-ядрышкового аппарата изменения менее выражены, снижение относительно показателей по интактным животным варьировало от 3 % до 6 %.



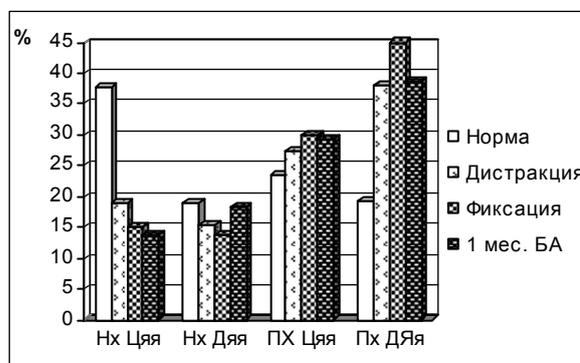
А

Б

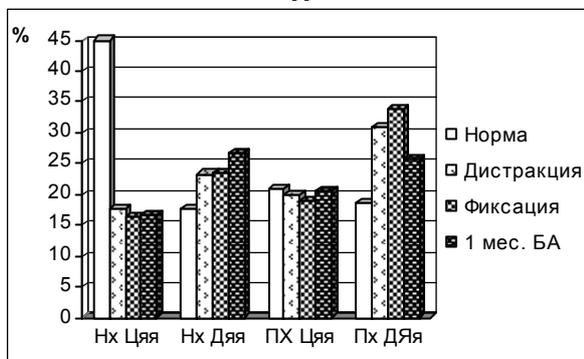
Рис. 2. Нейроны различных популяций поясничных спинномозговых ганглиев взрослых беспородных собак: **А** – крупный (проприоцептивный) нейрон с наличием умеренно выраженного периферического хроматолиза, центрально расположенного ядерно-ядрышкового аппарата, увеличение количества сателлитов; **Б** – малые (ноцицептивные) нейроны с наличием периферического хроматолиза, дислокацией ядрышка, увеличение количества глиоцитов в капсулах и межнейрональных промежутках. Окраска по методу Ниссля, ув. × 500.



А



Б



В

Рис. 3. Динамика структурных изменений в различных популяциях первых сенсорных нейронов (**А** – крупные; **Б** – средние; **В** – малые клетки) двигательного анализатора при «веерном» способе удлинения голени взрослых беспородных собак: Нх – нормохромные нейроны; Пх – периферический хроматолиз (гипохромные); Цяя – центральное расположение ядерно-ядрышкового аппарата; Д – дислокация ядерно-ядрышкового аппарата.

В группе крупных гипохромных нервных клеток наблюдалось существенное увеличение показателей относительно таковых у интактных животных во все периоды эксперимента. В подгруппе нейронов с наличием периферического хроматолиза и центрально расположенного ядерно-ядрышкового аппарата максимально выраженные изменения наблюдались после выполнения дистракции с последующим постепенным уменьшением, особенно после снятия аппарата. В подгруппе нейронов, имеющих наиболее выраженные структурные преобразования в виде сочетания гипохромии и дислокации ядерно-ядрышкового аппарата, прослежено

постепенное нарастание показателей, относительно нормы, в периодах дистракции и фиксации.

В популяции средних нейронов в целом выявлены структурные изменения, характерные для крупных нейронов, что, возможно, объясняется тем, что часть клеток данной популяции также являются проприоцептивными. Прослежены менее существенные, чем в популяции крупных нейронов, изменения в подгруппе гипохромных клеток с центрально расположенным ядерно-ядрышковым аппаратом (рис. 3Б).

В популяции малых нейронов, ответственных за восприятие тактильной и болевой информации,

характерна несколько иная динамика структурных преобразований, исключая подгруппу клеток с нормальной структурой — нормохромных с центральным расположением ядерно-ядрышкового аппарата, в которой также отмечено снижение показателей во все периоды эксперимента более чем в 2 раза. В подгруппе нормохромных клеток с дислокацией ядерно-ядрышкового аппарата наблюдалось увеличение на 5 % в периоде distraction и еще на 4 % — через 1 мес. после снятия аппарата. В подгруппе гипохромных нейронов с дислокацией ядерно-ядрышкового аппарата показатели практически не отличались от таковых у интактных животных во все изученные сроки эксперимента. В подгруппе клеток с наиболее значительными структурными преобразованиями прослежено последовательное увеличение показателей относительно таковых у интактных животных в периодах distraction и фиксации при существенном снижении через 1 месяц после снятия аппарата (рис. 3В).

Исследование нейрон-глиальных соотношений показало умеренное увеличение трофических взаимодействий. Максимальное количество глиальных клеток в капсулах проприоцептивных нейронов выявлено после выполнения distraction — $11,63 \pm 0,083$. Количество сателлитов ноцицептивных нейронов после distraction соответствовало $2,96 \pm 0,056$, при этом их количество за время эксперимента не изменялось.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наблюдения за экспериментальными животными позволили установить, что в целом характерны типичные клинические проявления после выполнения оперативного вмешательства, наложения аппарата на конечность, в процессе длительных distractionных воздействий, а также в периодах фиксации и после снятия аппарата. Выявлялись также некоторые индивидуальные особенности.

Рентгенологические исследования показали, что в формировании костного distractionного регенерата в условиях «веерного» удлинения имеются особенности, заключающиеся в основном в увеличении поперечника вновь сформированного участка кости. Через 14 сут. distraction наблюдалось зональное строение регенерата с наличием срединной прослойки (зоны просветления) высотой 1,5–6 мм. Превышение диаметра регенерата относительно костных отломков в обозначенный срок эксперимента прослеживалось на 1 мм, к концу периода удлинения — до 5 мм. Высота соединительнотканной прослойки достигала 5 мм. В результате данных особенностей формирования через 1 месяц после снятия аппарата регенерат имел «бочкообразную» форму.

Проведенные нейрогистологические и количественные исследования позволили заключить, что при использовании «веерного» способа удлинения голени взрослых беспородных собак прослеживаются определенные структурные преобразования в чувствительных нервных клетках, расположенных в поясничных спинномозговых ганглиях. Наиболее

значительные изменения структуры обозначенных клеток происходят в периоде distraction с уменьшением в 2–3 раза количества клеток всех популяций, имеющих нормальную структуру, при соответствующем увеличении с наиболее выраженными преобразованиями перикариона.

Изменения в подгруппах клеток с наличием умеренных структурных преобразований менее значительны, за исключением подгруппы крупных гипохромных клеток с центрально расположенным ядерно-ядрышковым аппаратом. В данной подгруппе отмечено не только значительное увеличение, относительно интактных животных, количества нейронов с обозначенными структурными характеристиками в процессе длительного дозированного растяжения, но и увеличение количества сателлитов, что обусловлено необходимостью усиления функционирования проприоцептивных нейронов с возрастанием трофического обеспечения.

Поступление ноцицептивной информации также наиболее выражено в периоде distraction, но, в отличие от проприоцептивных нейронов, после снятия аппарата прослеживается уменьшение количества малых нейронов с сочетанными структурными преобразованиями. Количество глиальных клеток в капсулах малых нейронов незначительно отличалось от нормы во все изученные сроки эксперимента, что свидетельствует об умеренных изменениях в системе трофических взаимодействий при «веерном» способе удлинения конечности. Как показали проведенные нами ранее исследования, при удлинении с темпом 1 мм в сутки в сочетании с интрамедулярным армированием спицами прослеживаются более значительные трофические взаимодействия проприоцептивных нейронов после выполнения distraction, а при автоdistraction с темпом 3 мм в сутки — после фиксации [11, 12].

Необходимо отметить, что при использовании различных режимов удлинения голени экспериментальных животных прослеживается однотипная направленность структурных изменений в первых сенсорных нейронах: значительное уменьшение за период distraction количества клеток, имеющих нормальную структуру и увеличение — с наиболее выраженными структурными преобразованиями [9, 11, 12]. Отличительной особенностью морфофункционального состояния проприо- и ноцицептивных нейронов при «веерном» удлинении является умеренность выраженности трофических взаимодействий в системе «нейрон — глия», что свидетельствует о меньшем раздражении рецепторного аппарата обозначенных нервных клеток, и, что особенно важно, о менее выраженной болевой реакции.

Проведенные гистологические и электрофизиологические исследования при «веерном» удлинении позволили сделать вывод о создании достаточно благоприятных условий для мышц удлиненной голени (икроножной и большеберцовой), о положительном влиянии переменного приложения растягивающих усилий с созданием периодов напряжения и расслабления [6].

Выполненные нами ранее исследования структурных составляющих афферентного звена двигательного анализатора при удлинении голени беспородных собак более 20 % от исходной длины также показали преимущества переменного режима distraction относительно постоянного [10].

Таким образом, наблюдаемые изменения морфофункционального состояния первых чувствительных нейронов двигательного анализатора в процессе формирования костного distractionного регенерата «веерным» способом являются адекватным отражением реакции различных анатомических структур удлиненного сегмента конечности на процесс длительного дозированного растяжения, адаптации, изменения двигательного режима экспериментальных животных. Обозначенный режим увеличения длины задней конечности взрослых беспородных собак с чередованием недельных периодов активного дозированного воздействия (растяжения с темпом 2 мм в сутки) и отдыха различных групп мышц голени является достаточно благоприятным для функционирования первых сенсорных нейронов двигательного анализатора.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гранц С. Медико-биологическая статистика; пер. с англ. — М.: Практика, 1998. — 459 с.
2. Гранит Р. Основы регуляции движений; пер. с англ. / Под ред. В.С. Гурфинкеля. — М.: Мир, 1973. — 367 с.
3. Илизаров Г.А., Асонова С.Н. Количественный анализ ростстимулирующего эффекта напряжения растяжения в фасциях скелетных мышц при удлинении голени по Илизарову // Гений ортопедии. — 1996. — № 1. — С. 19–26.
4. Карымов Н.Р. Ультраструктурные аспекты адаптации нервных стволов к дозированному растяжению // Гений ортопедии. — 1996. — № 2–3. — С. 133–134.
5. Кочуткина Л.Н., Кудрявцева И.П. Изменения нервных проводников и их концевых аппаратов в

мышцах и коже при больших одноэтапных удлинении конечности по Илизарову // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. — 1990. — Т. 98, № 4. — С. 24–31.

6. Морфофункциональная характеристика мышц голени экспериментальных животных при «веерном» удлинении конечности в эксперименте / Н.К. Чикорина, М.С. Сайфутдинов, С.А. Ерофеев, Т.В. Сизова // Гений ортопедии. — 2007. — № 4. — С. 5–8.

7. Рагинов И.С., Челышев Ю.А. Посттравматическое выживание чувствительных нейронов различных субпопуляций // Морфология. — 2003. — Т. 124, Вып. 4. — С. 47–50.

8. Сайфутдинов М.С., Ерофеев С.А., Чикорина Н.К. Зависимость динамики вызванной биоэлектрической активности и морфологических характеристик мышц голени от вида оперативного вмешательства при ее удлинении в эксперименте // Гений ортопедии. — 2003. — № 4. — С. 63–66.

9. Сафонова Г.Д. Структурные изменения нейронов чувствительных узлов спинномозговых нервов при удлинении голени взрослых собак // Морфология. — 2011. — Т. 139, Вып. 3. — С. 35–40.

10. Сафонова Г.Д., Калякина В.И. Влияние разных режимов distraction на состояние нейроцитов чувствительных узлов при больших удлинении голени в эксперименте по Илизарову // Distractionный остеосинтез в клинике и эксперименте. — Курган, 1988. — С. 100–104.

11. Сафонова Г.Д., Коваленко А.П. Динамика структурных изменений нейроцитов спинномозговых ганглиев после удлинении конечности собак аппаратом Илизарова с применением интрамедуллярных спиц // Рос. морф. ведомости. — 2006. — № 1–2, Прил. № 1. — С. 258–260.

12. Safonova G.D., Kovalenko A.P. Morphofunctional characteristics of neurons in the spinal ganglia of the dog in the post-distraction period // Neurosci. Behav. Physiol. — 2006. — Vol. 36 (5). — P. 491–494.

Сведения об авторах

Сафонова Галина Дмитриевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории морфологии ФГУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздравсоцразвития РФ (640014, г. Курган, ул. М. Ульяновой, 6; тел.: 8 (3522) 45-47-47)

Ерофеев Сергей Александрович – доктор медицинских наук, заведующий лабораторией экспериментальной травматологии и ортопедии ФГУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздравсоцразвития РФ

Степанов Михаил Александрович – ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальной травматологии и ортопедии ФГУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздравсоцразвития РФ