

© Т. Н. Варсегова, Н. А. Щудло, М. М. Щудло, А. А. Еманов, 2015
УДК 611.835.81:616-089.21:636.7

Т. Н. Варсегова, Н. А. Щудло, М. М. Щудло, А. А. Еманов

ИЗМЕНЕНИЯ ПОВЕРХНОСТНОГО МАЛОБЕРЦОВОГО НЕРВА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЧАСТОТЫ ВЫСОКОДРОБНОЙ АВТОДИСТРАКЦИИ ПРИ ОРТОПЕДИЧЕСКОМ УДЛИНЕНИИ ГОЛЕНИ У СОБАК С СУТОЧНЫМ ТЕМПОМ 3 мм

Клинико-экспериментальная лаборатория реконструктивно-восстановительной микрохирургии и хирургии кисти (зав. — д-р мед. наук Н. А. Щудло), Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г. А. Илизарова, г. Курган

В опытах по удлинению голени у 18 собак в течение 10 сут с помощью аппарата Илизарова с автоматическим приводом с темпом 3 мм/сут за 120 (1-я группа) и 180 (2-я группа) приемов оценено влияние дробности distraction на структуру малоберцового нерва. В 1-й группе выявлены микротравматизация периневрия и деструкция эндоневральных кровеносных сосудов. Во 2-й группе периневрий сохраняет целостность и тонколамеллярную структуру, эндоневральные сосуды сохранены, но более выражено уменьшение суммарной площади пучков нервных волокон. Морфометрический анализ сохранившихся миелиновых нервных волокон через 60 сут после прекращения distraction указывает на менее выраженную аксональную атрофию и лучшую миелинизацию во 2-й группе.

Ключевые слова: удлинение голени, поверхностный малоберцовый нерв

Удлинение конечностей методом distraction-остеосинтеза применяется в мировой ортопедии для решения проблем посттравматического или врожденного укорочения конечностей либо субъективно низкого роста. Одно из перспективных направлений развития метода — поиск оптимального режима высокочастотной автоматической distraction с повышенным суточным темпом. Удлинение голени у собак по 3 мм/сут за 180 включений автодистрактора позволило ускорить процесс формирования distractionного костного регенерата и сократить период пребывания конечности в аппарате по сравнению с темпом 1 мм/сут [4]. Строение периферических нервов в этих условиях было изучено [2, 4], однако задача выяснения влияния дробности distraction на их структурную адаптацию при удлинении с темпом 3 мм/сут не ставилась.

Цель данного исследования — анализ гистологических изменений поверхностного малоберцового нерва в зависимости от частоты высокочастотной автодистракции при ортопедическом удлинении голени собак с суточным темпом 3 мм.

Материал и методы. Эксперименты выполнены на 18 взрослых беспородных собаках, которым через 5 сут после закрытой флекссионной остеоклазии берцовых костей удлинляли голень с помощью аппарата Илизарова с автома-

тическим приводом в течение 10 сут: 9 собакам по 3 мм/сут за 120 приемов (1-я группа, разовое удлинение 0,025 мм); 9 собакам по 3 мм/сут за 180 приемов (2-я группа, разовое удлинение 0,017 мм). Общая величина удлинения голени составила 15–17%.

Содержание, операции и эвтаназию животных осуществляли в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденным приказом МЗ СССР № 755 от 12 августа 1977 г. и Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации о гуманном обращении с животными.

После эвтаназии препарировали седалищный нерв, общий малоберцовый ствол и его ветви с целью макроскопического выявления возможных механических повреждений инъекционными иглами либо элементами чрескостной фиксации. Участки поверхностного малоберцового нерва оперированной и контралатеральной конечностей иссекали на уровне distractionного костного регенерата через 10 сут distraction, через 30 сут фиксации голени в аппарате и через 30 сут после снятия аппарата. Контролем также служили поверхностные малоберцовые нервы 5 интактных собак. Материал фиксировали в смеси 2% растворов глутар- и параформальдегидов на фосфатном буфере (pH 7,4) с добавлением 0,1% пикриновой кислоты, дополнительно фиксировали в 1% растворе тетраоксида осмия с 1,5% красной кровяной солью и заливали в аралдит. Поперечные полутонкие срезы окрашивали метиленовым синим и основным фуксином. Полноцветные изображения (30–40 полей зрения, об. 100) оцифровывали с помощью стереомикроскопа AxioScore. A1 и цифровой камеры AxioCam (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Германия). Методом точечного счёта с помощью

Сведения об авторах:

Варсегова Татьяна Николаевна (e-mail: varstn@mail.ru), Щудло Наталья Анатольевна (e-mail: nshchudlo@mail.ru),

Щудло Михаил Моисеевич (e-mail: m.m.sch@mail.ru), Еманов Андрей Александрович, клинико-экспериментальная лаборатория реконструктивно-восстановительной микрохирургии и хирургии кисти, Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г. А. Илизарова, 640014, г. Курган, ул. М. Ульяновой, 6

Таблица 1

Шкала полуколичественной экспертной оценки сохранности миелиновых волокон (МВ)

Критерии экспертной оценки	Оценка, баллы
Эндоневрий содержит в основном дегенерирующие и регенерирующие волокна (более 50%), денервированные шванновские клетки либо поля с тканевым детритом, крупных МВ нет	0
Состояние эндоневрия, аналогичное «0», но встречаются немногочисленные сохранные крупные МВ	1
Преобладают дифференцированные МВ, многие с признаками аксональной атрофии или гипомиелинизации. Признаки демиелинизации, аксональной, валлеровской дегенерации и регенерирующие волокна в сумме составляют от 20 до 50%	2
Визуально нормальное состояние 80% нервных волокон и более	3

тестовой решетки равноудаленных точек [8], используя программу «Adobe Photoshop 3.0», рассчитывали объемную плотность пучков нервных волокон, сосудов, адипоцитов, коллагеновых волокон эпинеургии и прочих его компонентов. Используя программу «ВидеоТест Мастер-Морфология, 4.0», определяли общую площадь поперечного среза нервного ствола и суммарную площадь пучков нервных волокон, средние диаметры миелиновых нервных волокон — МВ, их аксонов, толщину миелиновой оболочки. Определяли численную плотность эндоневриальных микрососудов на 1 мм² площади пучка и долю реактивно-деструктивно-измененных МВ (%). Сохранность МВ оценивали также полуколичественным методом, используя разработанную авторами шкалу (табл. 1)

Значимость различий оценивали с помощью парного двухвыборочного t-теста, критериев Вилкоксона и Пагуровой для независимых выборок, используя программу AtteStat, версия 1.0 [3] в электронных таблицах Microsoft Excel 97.

Результаты исследования. Признаков механических повреждений седалищного или общего малоберцового нерва инъекционными иглами или элементами чрескостной фиксации ни в одном из опытов выявлено не было. Не обнаружено также и признаков внешнего сдавления

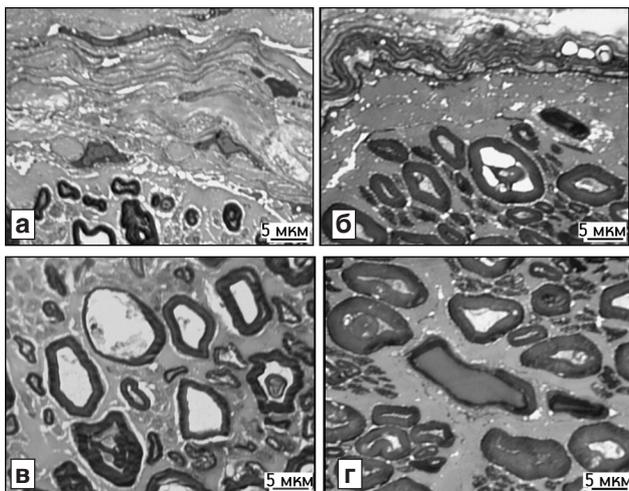


Рис. 1. Малоберцовый нерв собаки через 10 сут distraction голени в аппарате Илизарова по 3 мм/сут за 120 приемов (а, в) и за 180 приемов (б, г).

а, б — периневрий; в, г — нервные волокна. Поперечные полутонкие срезы. Окраска метиленовым синим и основным фуксином

поверхностного малоберцового нерва на протяжении фасциального канала.

В конце distraction в эпинеургии поверхностного малоберцового нерва у животных 1-й и 2-й групп изменения были однотипны: по сравнению с контралатеральным нервом увеличено количество сосудистых пучков, наряду с этим определялась частичная или полная облитерация просветов некоторых артерий. Вблизи жировых долек обнаруживались клетки с многочисленными вакуолями. Частота встречаемости активированных фибробластов и содержание фуксинофильных коллагеновых волокон были увеличены. Для 1-й группы животных были характерны участки утолщения и расслоения периневрия, а также дезинтеграция некоторых (преимущественно внутренних) его клеточных слоёв (рис. 1, а) и деструктивные изменения эндоневриальных кровеносных сосудов. Во 2-й группе, несмотря на вакуольную дистрофию отдельных клеток периневрия, он сохранял целостность и тонколамеллярное строение (см. рис. 1, б). Эндоневрий удлиняемого нерва отличался от интактного повышенным содержанием фибробластов и шванновских клеток, расширенными капиллярами. В последующие сроки опыта содержание коллагеновых волокон, фибробластов и клеток с многочисленными вакуолями в эпинеургии уменьшалось. В течение всего эксперимента у собак как 1-й, так и 2-й группы отмечались индивидуальные различия в выраженности деструктивных изменений МВ (см. рис. 1, в, г).

В конце distraction в нервах оперированных конечностей у животных 1-й группы в эпинеургии значимо ($P < 0,01$) увеличивалась доля коллагеновых волокон и кровеносных сосудов по сравнению с таковой в контралатеральной конечности, а доля адипоцитов уменьшалась (рис. 2, а). У животных 2-й группы изменения доли адипоцитов и коллагеновых волокон в эпинеургии были менее выражены, а доля кровеносных сосудов значимо не менялась.

В конце периода фиксации (см. рис. 2, б) у животных обеих групп доля коллагеновых волокон в эпинеургии оставалась значимо ($P < 0,01$) уве-

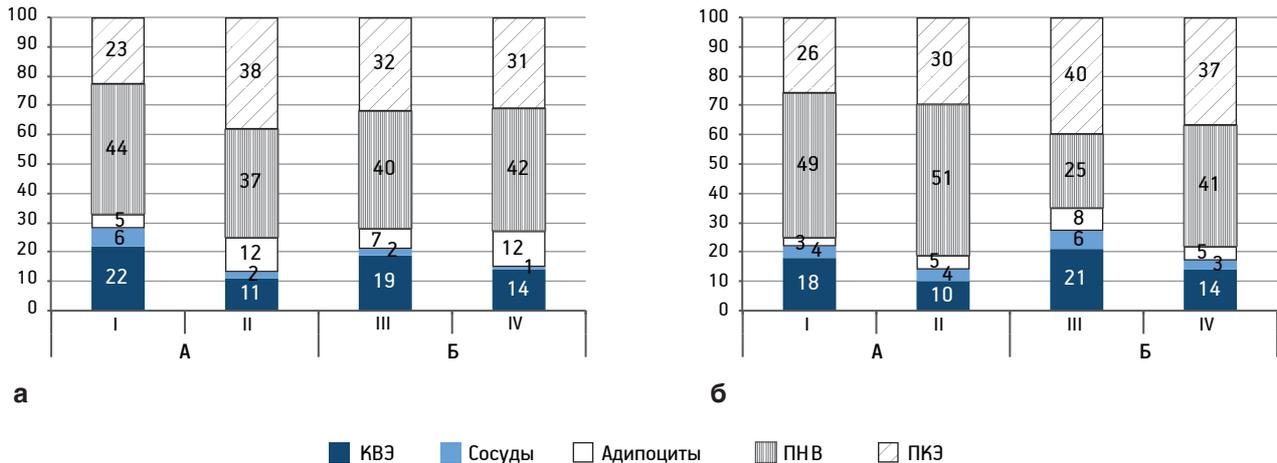


Рис. 2. Объемная плотность компонентов в оперированном (I, III) малоберцовом нерве собаки в конце периода distraction (а) по 3 мм/сут за 120 (А) и 180 (Б) приемов и фиксации (б) голени в аппарате Илизарова, а также в контрольном — контралатеральном нерве (II, IV).

ПНВ — пучки нервных волокон; КВЭ — коллагеновые волокна эндоневрия; ПКЭ — прочие компоненты эндоневрия. По оси ординат — объемная доля компонентов нерва (%)

личенной по сравнению с показателями у интактных животных и в контралатеральных нервах и наблюдалась тенденция к уменьшению доли адипоцитов в нерве оперированной конечности и в контралатеральном нерве по сравнению с таковой у интактных животных. Во 2-й группе была обнаружена тенденция к увеличению доли эпинеуральных кровеносных сосудов, но значимо ($P < 0,01$) была уменьшена объемная доля пучков нервных волокон. После снятия аппарата большинство параметров были сопоставимы с таковыми у интактных животных, но в 1-й группе оставалась значимо сниженной доля адипоцитов.

Относительная разница суммарной площади пучков нервных волокон подопытного и контралатерального нервов у животных 1-й группы в конце distraction составила $-17,3\%$ ($P < 0,05$), в конце периода фиксации в аппарате $-5,1\%$ ($P < 0,05$), после снятия аппарата $+10,1\%$ ($P < 0,05$). У собак 2-й группы аналогичные параметры составили

$-24,9$ ($P < 0,05$), $-30,7$ ($P < 0,05$) и $-0,9\%$ соответственно. Численная плотность эндоневриальных кровеносных сосудов у собак 1-й группы во все сроки опыта значимо не уменьшалась. У собак 2-й группы в конце distraction этот параметр был увеличен ($P < 0,05$) на $40,9\%$, в конце фиксации — уменьшен ($P < 0,05$) на $17,4\%$, а после снятия аппарата значимо не увеличивался.

Частота признаков аксональной и валлеровской дегенерации МВ в исследованных выборках в исследуемые сроки опыта составила 15 ± 7 , 14 ± 4 и $9,8 \pm 2,4\%$ в 1-й группе, а во 2-й группе — 37 ± 17 , более 50 и $9,4 \pm 2,1\%$, однако в 1-й группе встречались чаще леммоциты в виде лент Бюнгнера и поля с тканевым детритом. Результаты полуколичественной оценки сохранности МВ в сравниваемых группах животных представлены в табл. 2.

Средние морфометрические характеристики сохранившихся и регенерирующих МВ в исследуемых экспериментальных группах в конце перио-

Таблица 2

Результаты полуколичественной оценки сохранности нервных волокон в поверхностном малоберцовом нерве у собаки при удлинении голени с помощью аппарата Илизарова

Этапы опыта	Суммарная оценка сохранности волокон (баллы)		Количество животных с деструкцией нервных волокон (с оценками 0 и 1)	
	1-я группа животных	2-я группа животных	1-я группа животных	2-я группа животных
Д10	5	5	1 из 3	1 из 3
Ф30	3	0	2 из 3	3 из 3
БА30	2	5	2 из 3	1 из 3
Всего	10	10	5 из 9	5 из 9

Примечание. Здесь и в табл. 3: Д10 — 10 сут distraction; Ф30 — после 30 сут фиксации голени в аппарате Илизарова; БА30 — через 30 сут после снятия аппарата. 1-я группа животных — при удлинении по 3 мм/сут за 120 приемов; 2-я группа животных — при удлинении по 3 мм/сут за 180 приемов.

Таблица 3

Размерные характеристики миелиновых волокон малоберцовых нервов у собаки ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, мкм)

Группы животных	Этапы опыта	Диаметр миелиновых нервных волокон (МНВ)	Диаметр аксонов МНВ	Толщина миелиновой оболочки
1-я	Д10	5,95±0,20*	3,56±0,10*	1,20±0,05*
	Ф30	4,4±1,0*	2,8±0,6*·+	0,81±0,22*·+
	БА30	4,6±0,6*	2,98±0,29*	0,84±0,15*
2-я»	Д10	5,84±0,29*	3,38±0,08*	1,23±0,10*
	Ф30	2,82±0,04*	2,12±0,04*·+	0,35±0,00*·+
	БА30	5,3±0,8*	3,3±0,4*·+	1,00±0,24+
Интактные	–	6,46±0,07	4,39±0,08	1,04±0,04

* Различия параметров у подопытного и интактного нервов значимы по критерию Вилкоксона при $P < 0,01$; + различия между показателями в подопытных группах по критерию Пагуровой значимы при $P < 0,01$.

да distraction сопоставимы, но значимо отличаются от таковых интактного нерва (табл. 3). В конце периода фиксации средний диаметр МВ, их аксонов и толщина миелиновых оболочек значимо меньше во 2-й группе, однако после снятия аппарата соотношение противоположно.

Обсуждение полученных данных. У пациентов, перенесших операции по удлинению голени в клинике, установлена высокая частота повреждений малоберцового нерва [1, 10, 12]. Предполагается, что наиболее частая их причина — компрессия общего малоберцового нерва на уровне шейки малоберцовой кости, причём с увеличением темпа distraction вероятность её увеличивается. В данном исследовании мы применяли повышенный темп удлинения, но признаков внешнего сдавления общего и поверхностного малоберцового нервов, которые, как известно, верифицируются макроскопически [11], выявлено не было. В ситуациях, не связанных с непосредственным действием механических факторов (например, при быстром похудении), частота невропатических изменений малоберцового нерва также выше, чем других нервов, причём их выраженность и исходы индивидуально переменны [10]. Эти и полученные нами данные по изменению содержания жировой ткани в эпиневррии требуют дальнейших прицельных исследований.

Гистологические изменения передней большеберцовой мышцы [9] и хряща коленного сустава [6] при удлинении голени автодистрактором с суточным темпом 3 мм за 180 и 120 приёмов свидетельствовали о более щадящем характере первого из этих режимов. В большеберцовом нерве при удлинении в режиме 3 мм/сут за 180 приёмов дегенеративным изменениям подвергались не более 5% нервных волокон [2] — аналогично автодистракции в режиме 1 мм/сут за 60 приёмов, при которой в отличие от режима ручной distraction 1 мм/сут за 4 приема пре-

валировали процессы вставочного роста эпи- и периневррии [7], а также нервных волокон [5]. В данном исследовании в малоберцовом нерве при удлинении голени в режимах 3 мм/сут за 120 и 180 приёмов массовая деструкция нервных волокон выявлена у 10 животных из 18 (в каждой из групп — у 5 из 9). Известно, что малоберцовый нерв по сравнению с большеберцовым имеет скудное кровоснабжение [14], а также более тонкие пучки нервных волокон и тонкий периневррий. Анализируя литературу по биомеханике нервов, К. S. Торп и В. S. Бойд [13] указывают, что в отличие от эпиневррии, представленного рыхлой соединительной тканью, периневррий — самая прочная структура, но его внутренний слой на границе с эндоневрием является зоной наименьшего сопротивления; растяжение нерва вызывает не только увеличение его длины, но и уменьшение площади поперечного сечения, названное поперечной контракцией; повреждения аксонов нервных волокон в эндоневрии в условиях растяжения появляются задолго до повреждений эпиневррии, их основная причина — увеличение интрафасцикулярного давления [13]. Полученные нами данные не противоречат этой концепции и раскрывают особенности реагирования структуры малоберцового нерва на постепенное перерастяжение *in vivo* в зависимости от режима высокодетальной distraction голени с повышенным суточным темпом: признаки микротравматизации периневррии обнаружены в 1-й группе (3 мм/сут за 120 приёмов), а 2-я группа (3 мм/сут за 180 приёмов) отличалась более выраженным и стойким истончением пучков нервных волокон.

Таким образом, удлинение голени в режимах 3 мм/сут за 120 приёмов и 3 мм/сут за 180 приёмов создаёт высокую вероятность деструкции миелиновых нервных волокон в поверхностном малоберцовом нерве. В популяции сохранившихся проводников через 30 сут после окончания дис-

тракции преобладали атрофичные гипомиелинизированные аксоны, но через 60 сут после окончания удлинения голени были значимо большими их средний диаметр и показатель миелинизации.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 14-44-00010).

ЛИТЕРАТУРА

1. Аранович А.М., Диндиберя Е.В., Климов О.В., Новиков К.И. Ошибки и осложнения при удлинении голени у больных ахондроплазией // Травматол. и ортопед. России. 2005. № 1. С. 36–38.
2. Варсегова Т.Н. Реактивно-деструктивные изменения большеберцового нерва при удлинении голени дробной и высокодробной distraction в эксперименте // Бюл. Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН. 2011. № 4–1. С. 234–237.
3. Гайдышев И.П. Анализ и обработка данных: специальный справочник. СПб.: Питер, 2001.
4. Горбач Е.Н., Ступина Т.А., Варсегова Т.Н., Еманов А.А. Изучение динамики костеобразования, состояния суставного хряща и большеберцового нерва при повышенном темпе удлинения голени автодистрактором в эксперименте // Успехи соврем. естествозн. 2013, № 7. С. 42–47.
5. Илизаров Г.А., Щудло М.М., Карымов Н.Р., Сайфутдинов М.С. Значение ритма distraction для реализации «эффекта Илизарова» в нервах удлиняемого сегмента конечности // Гений ортопедии. 1995. № 1. С. 12–18.
6. Ступина Т.А., Щудло М.М. Зависимость количественных характеристик суставного хряща от условий удлинения смежного сегмента конечности автодистрактором с повышенным темпом в эксперименте // Украинск. журн. телемедицины и мед. телематики. 2012. Т. 10, № 2. С. 64–68.
7. Щудло М.М. Рост и дифференцировка структур эпипериневрия в условиях дозированного растяжения // Вестн. РАМН. 2000. № 2. С. 19–23.
8. Щудло М.М., Ступина Т.А., Щудло Н.А. Количественный анализ метахромазии суставного хряща в телепатологии // Изв. Челябинск. НЦ (УРО РАН). 2004. Спец. вып. (25). С. 17–22.
9. Щудло Н.А., Щудло М.М., Борисова И.В., Филимонова Г.Н. Гистологические изменения передней большеберцовой мышцы при удлинении голени собак с повышенным суточным темпом distraction различной дробности // Гений ортопедии. 2013. № 3. С. 71–76.
10. Marciniak C. Fibular (Peroneal) neuropathy electrodiagnostic features and clinical correlates // Phys. Med. Rehabil. Clin. N Am. 2013. Vol. 24. P. 121–137.
11. Simpson H., Halliday J., Hamilton D.F. et al. Limb lengthening and peripheral nerve function-factors associated with deterioration of conduction // Acta Orthop. 2013. Vol. 84, № 6. P. 579–584.
12. Styf J., Morberg P. The superficial peroneal tunnel syndrome. Results of treatment by decompression // J. Bone Joint Surg. (Br). 1997. Vol. 79. P. 801–803.
13. Topp K.S., Boyd B.S. Structure and biomechanics of peripheral nerves: nerve responses to physical stresses and implications for physical therapist practice // Phys. Ther. 2006. Vol. 86, № 1. P. 92–109.
14. Ugrenovic S.Z., Jovanovic I.D., Kovacevic P. et al. Similarities and dissimilarities of the blood supplies of the human sciatic, tibial, and common peroneal nerves // J. Clin. Anat. 2013. Vol. 26, № 7. P. 875–882.

Поступила в редакцию 16.03.2015

CHANGES OF THE SUPERFICIAL PERONEAL NERVE IN RELATION TO THE FREQUENCY OF HIGH-FRACTIONAL AUTODISTRACTION IN ORTHOPEDIC LENGTHENING OF THE TIBIA IN DOGS WITH A DAILY RATE OF 3 mm

T.N. Varsegova, N.A. Shchudlo, M.M. Shchudlo, A.A. Yemanov

The experiments on the elongation of the tibia in 18 dogs were performed for 10 days using the Ilizarov apparatus with an automatic drive providing the pace of 3 mm/day for 120 moves (group 1) and 180 moves (group 2). The impact of fractionation of distraction on the structure of the peroneal nerve was estimated. In group 1, perineurium micro-injuries and endoneural blood vessel destruction were detected. In group 2, perineurium preserved its integrity and fine-lamellar structure, endoneural blood vessels were also preserved, however, the decrease in the total area of nerve fiber bundles was more pronounced. Morphometric analysis of the preserved myelinated nerve fibers 60 days after the cessation of distraction indicated less marked axonal atrophy and better myelination in group 2.

Key words: *leg lengthening, superficial peroneal nerve*

Clinical and Experimental Laboratory of Reconstructive and Restorative Microsurgery and Surgery of the Hand, G.A. Ilizarov Russian Scientific Center for Restorative Traumatology and Orthopedics, Kurgan