

© Группа авторов, 2006

Морфофункциональные изменения скелетных мышц голени при стимуляции остеогенеза интрамедуллярным проведением противоизогнутых спиц (экспериментальное исследование)

Н.К. Чикорина, М.С. Сайфутдинов, С.А. Ерофеев, Д.А. Попков

The morphofunctional changes skeletal leg muscles during osteogenesis stimulation by intramedullary insertion of curved wires (an experimental study)

N.K. Chikorina, M.S. Saifoutdinov, S.A. Yerofeyev, D.A. Popkov

Федеральное государственное учреждение науки

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

С целью выяснения возможных влияний разрабатываемых в РНЦ «ВТО» приёмов сокращения сроков лечения на уровень вызванной биоэлектрической активности и гистологическое строение мышц удлиняемой методом distractionного остеосинтеза голени экспериментальных животных получали М-ответы мышц голени до начала эксперимента, каждые 30 дней фиксации и через 30 дней после снятия аппарата. Гистологические исследования проводили в те же сроки. Было показано, что при использовании для интрамедуллярного остеосинтеза как прямых, так и противоизогнутых спиц не наблюдалось существенных различий вызванной биоэлектрической активности и гистоструктуры скелетных мышц голени между группами сравнения и контролем.

Ключевые слова: distractionный остеосинтез, мышцы, электромиография.

M-responses of leg muscles were determined before experiment start, every 30 day of fixation and 30 days after the fixator removal to reveal the possible effects of the techniques for reducing treatment periods, worked out at RISC "RTO", on the level of evoked bioelectrical activity and on the histological structure of the muscles of the leg being lengthened by distraction osteosynthesis method in experimental animals. Histological studies were performed in the same periods. It was demonstrated that when both straight and curved wires were used for intramedullary osteosynthesis, there were no significant differences in the bioelectrical activity evoked and the histostructure of skeletal leg muscles between the groups compared and control ones.

Keywords: distraction osteosynthesis, muscles, electromyography.

В связи с внедрением в практику здравоохранения современных стандартов лечения больных актуальным становится вопрос сокращения времени их пребывания в стационаре. При использовании distractionного остеосинтеза сокращение сроков лечения достигается путем интенсификации процессов созревания distractionного регенерата. Одним из перспективных направлений является его механическое раздражение с помощью дополнительно проведённых спиц. Поскольку ранее проведённые исследования [1-5] показали, что комплекс факторов distractionного остеосинтеза (длительное дозированное растяжение тканей в сочетании с относительной гипокинезией и гиподинамией конечности, а также с хроническим ноцицептивным раздражением интерорецеп-

торов спицами аппарата) приводит к обратимому снижению амплитуды вызванной биоэлектрической активности мышц удлиняемого сегмента, требует уточнения вопрос: не приводит ли к их чрезмерной атрофии дополнительная ноцицептивная стимуляция, неизбежная при введении дополнительных спиц в регенерат, так как известно подобное влияние сильного болевого раздражения на мышечную ткань [6, 7]. В связи с вышесказанным целью настоящего исследования является выяснение возможных негативных влияний разрабатываемых в РНЦ «ВТО» приёмов сокращения сроков лечения на уровень вызванной биоэлектрической активности и гистологическое строение мышц удлиняемого сегмента экспериментальных животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на взрослых беспородных собаках в возрасте 1-3 лет. Для удлинения голени применяли аппарат Илизарова, состоящий из двух дуг и двух колец. У всех живот-

ных осуществлялась закрытая флекссионная остеоклазия берцовых костей в средней трети диафиза. Distraction в ручном режиме 1 мм в сутки за четыре приёма начинали через 5 дней после

операции. В зависимости от видов стимуляции активности регенерации все экспериментальные животные были разделены на три серии: первая – животные без дополнительных приёмов стимуляции (5 животных, 11 наблюдений; контрольная группа); вторая – животные, которым во время операции через регенерат под разными углами проводили одну прямую спицу (11 животных, 26 наблюдений; первая основная группа) и третья – животные, которым во время операции для стимуляции через регенерат проводили две противоизогнутые спицы (9 животных, 20 наблюдений; вторая основная группа). Содержание животных, оперативные вмешательства и эвтаназию осуществляли согласно приказу МЗ СССР № 755, 1977 г. Удлинение продолжалось 4 недели, так что его величина соответствовала 15 % исходной длины сегмента. Длительность фиксации в первой серии была 60 дней, а во второй и третьей – 30 дней. Животных выводили из опыта передозировкой барбитуратов через 30 и 60 дней фиксации и 30 дней после снятия аппарата.

Электрофизиологические исследования проведены с использованием стимуляционной электромиографии (ЭМГ) по общепринятой методике [8] в модификации, предложенной А.П. Шеиным¹, до начала эксперимента, каждые 30 дней фиксации и через 30 дней после снятия аппарата. Вызванную биоэлектрическую активность (М-ответы) икроножной и передней большеберцовой мышц получали в результате раздражения седалищного нерва через игольчатый электрод прямоугольными импульсами

длительностью 1 мс с заведомо супрамаксимальной для М-ответов амплитудой и регистрировали с помощью ЭМГ-системы DISA-1500 (DANTEC, Дания) монополярно электродом с модифицированными отводящими поверхностями в виде игл. Активный полюс электрода вводили в брюшко тестируемой мышцы, а индифферентный – под кожу в области сухожилия. Измеряли амплитуду М-ответа от максимально негативного до максимально позитивного пика. Рассчитывали среднее значение (М) и ошибку средней (m) изучаемого параметра, его вариативность оценивали с помощью коэффициента вариации (KV%), рассчитанного как отношение среднего квадратичного отклонения (σ) к средней арифметической [9].

Из-за малого объёма выборки, не позволяющего определить характер распределения анализируемого параметра, статистическую значимость наблюдаемых изменений оценивали с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни [10, 11].

Морфологические исследования передней большеберцовой и икроножной мышц проводили в сроки выведения животных из эксперимента. Для гистологического исследования парафиновые срезы толщиной 3-5 мкм, изготовленные из кусочков ткани из верхней, средней и нижней трети мышц, окрашивали гематоксилин-эозином и по методу Ван Гизона. Иллюстрации изготовлены с помощью комплекса «ДИАМОРФ» и цифровой компьютерной обработки полноцветных изображений.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты приведены на рисунках 1-6 и в таблице 1. Морфофункциональное состояние мышц удлиняемого сегмента при классическом дистракционном остеосинтезе

(животные контрольной серии) подробно описано в ряде работ [1-5], поэтому мы не будем давать развёрнутого изложения этого материала.

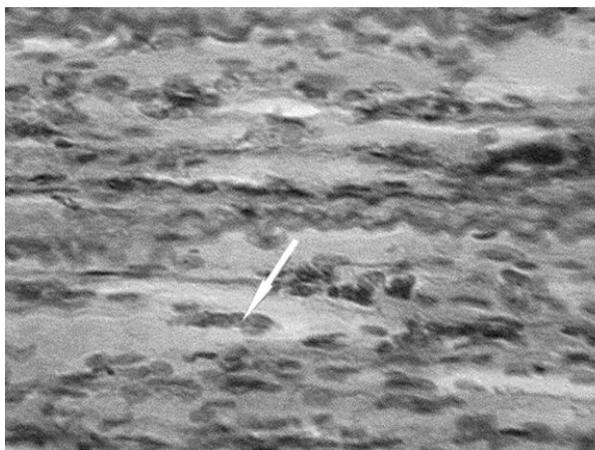


Рис. 1. Гистоструктура брюшка передней большеберцовой мышцы. В саркоплазме мышечных волокон множество ядер, видны мышечные трубочки (стрелка). Продольный срез. Окраска по методу Ван Гизона. Ок. 10, об. 40

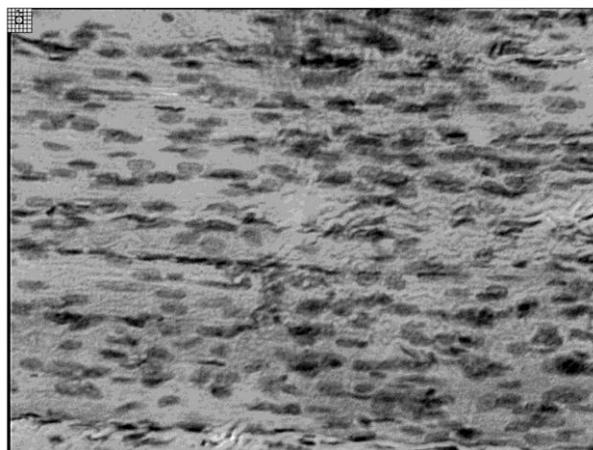


Рис. 2. Гистоструктура брюшка передней большеберцовой мышцы через 14 дней фиксации голени в аппарате. Продольный срез. Окраска гематоксилин-эозином. Ок. 10, об. 16

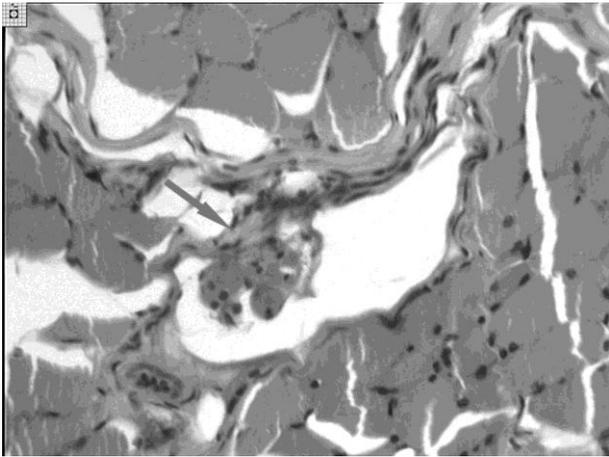


Рис. 3. Гистоструктура брюшка передней большеберцовой мышцы. Сдавление интрафузальных волокон мышечного веретена (стрелка). Поперечный срез. Окраска гематоксилин-эозином. Ок. 10, об. 16

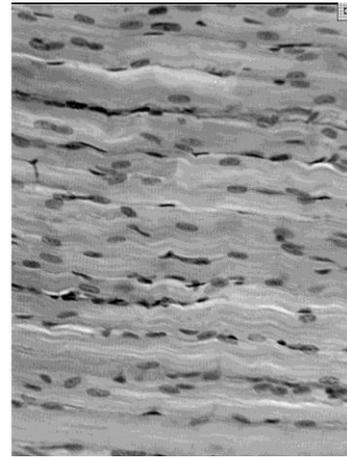


Рис. 4. Гистоструктура брюшка передней большеберцовой мышцы через 30 дней фиксации голени в аппарате. Продольный срез. Окраска по методу Ван Гизона. Ок. 10, об. 40

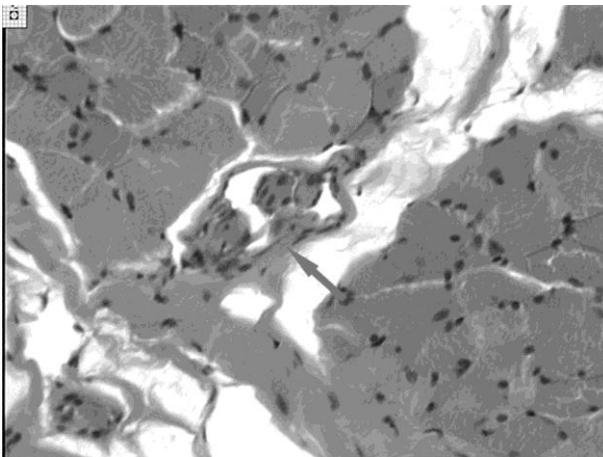


Рис. 5. Гистоструктура брюшка передней большеберцовой мышцы после снятия аппарата. Чувствительное нервное окончание (стрелка). Поперечный срез. Окраска гематоксилин-эозином. Ок. 10, об. 16

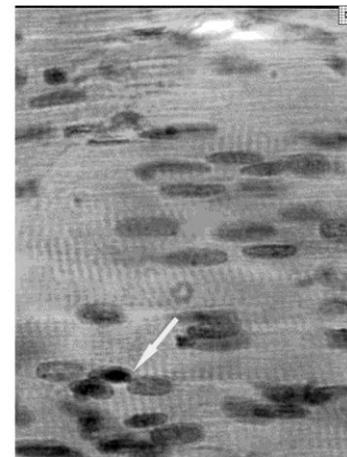


Рис. 6. Гистоструктура брюшка передней большеберцовой мышцы после снятия аппарата. Стрелкой указано внутриклеточное расположение крупных мышечных ядер. Продольный срез. Окраска гематоксилин-эозином. Ок. 10, об. 40

Таблица 1

Изменения средних значений ($M \pm m$) амплитуды (мВ) вызванной биоэлектрической активности мышц голени при ее удлинении на фоне стимуляции костного регенерата интрамедуллярными спицами в эксперименте

Сроки тестирования	m. gastrocnemius			m. tibialis anterior		
	n	$M \pm m$	KV	n	$M \pm m$	KV
До операции	14	$32,0 \pm 2,9$	33,3	14	$22,6 \pm 1,3$	21,7
1 серия (контроль)						
30 дней фиксации	3	$17,7 \pm 1,8$	17,3	3	$9,0 \pm 3,6$	69,4
Конец фиксации (60 дней)	4	$10,6 \pm 1,6$	29,3	4	$8,3 \pm 1,3$	32,5
30 дней без аппарата	3	$16,3 \pm 5,8$	50,0	3	$8,9 \pm 0,1$	1,9
2 серия (основная группа 1)						
Конец фиксации (30 дней)	10	$11,9 \pm 2,5$	29,4	10	$7,2 \pm 2,3$	44,8
30 дней без аппарата	8	$14,5 \pm 3,4$	32,9	8	$11,7 \pm 3,2$	38,7
3 серия (основная группа 2)						
Конец фиксации (30 дней)	7	$11,1 \pm 2,6$	33,4	7	$7,7 \pm 2,2$	41,1
30 дней без аппарата	4	$11,4 \pm 2,1$	26,7	4	$11,3 \pm 1,9$	23,4

Примечание: средние значения амплитуды М-ответа на все сроки эксперимента и во всех сериях отличаются от дооперационных статистически значимо ($P < 0,05$).

¹ Удлинение нервного ствола после образования его дефекта в эксперименте: Отчет о НИР (заключит.) / МЗ РСФСР. КНИИЭКОТ; Научн. рук. Г.А. Илизаров. – № ГР. 01830066812 инв. № 02870018716. - Курган, 1986.

На тридцатые сутки фиксации голени у животных с интрамедуллярным остеосинтезом прямой спицей (вторая серия) амплитуды М-ответов икроножной и передней большеберцовой мышц остаются ниже средних дооперационных значений соответственно на 62,8 % и 68,3 % ($P < 0,05$). Снижение более выраженное, чем в контрольной группе.

Через месяц после снятия аппарата значения амплитуды М-ответов остаются сниженными на 54,6 % и 48,4 % ($P < 0,05$) соответственно. Интересно отметить, что анализируемый параметр для икроножной мышцы меньше, а для передней большеберцовой мышцы больше контрольных значений ($P > 0,05$). При этом у животных этой группы морфологических признаков патологических изменений в мышцах голени не обнаружено. Взаиморасположение пучков и компактизация мышечных волокон в пучках нормальное. Обращает внимание обильная васкуляризация мышечной ткани, о чем свидетельствует наличие множества раскрытых капилляров в эндомизии и артерий замыкающего типа. В препаратах, изготовленных из поверхностного слоя мышцы, в мышечных волокнах отмечена активная пролиферация ядер (рис. 1), что свидетельствует о продолжающейся внутриклеточной регенерации. Идентичные гистологические картины мы наблюдаем в первой серии экспериментов (контроль).

Через 2 недели фиксации голени в аппарате в мышечных волокнах скелетных мышц голени у животных с интрамедуллярным остеосинтезом противозогнутыми спицами (третья серия) определяется значительная вариабельность диаметров, увеличение числа мышечных ядер, их центральное расположение и множество активизированных миосателлитоцитов (рис. 2). Наблюдается обильная васкуляризация стромы. Значительным изменениям подвержены чувствительные нервные окончания, что выражается во внутрикапсулярном отёке и сдавливании интрафузальных мышечных волокон (рис. 3). Полученные данные свидетельствуют о более выраженных реактивных изменениях в мышцах голени, нежели в первых двух сериях эксперимента.

На тридцатые сутки фиксации амплитуда М-ответов мышц голени остается ниже средних дооперационных значений соответственно на 65,3 % и 65,9 % ($P < 0,05$) и контрольных величин ($P > 0,05$), особенно для икроножной мышцы. При этом в мышечных волокнах у животных этой группы уменьшается число мышечных ядер и активизированных миосателлитоцитов под плазмолеммой (рис. 4), что свидетельствует о снижении темпа регенерации миоцитов.

Через месяц после снятия аппарата продолжается постепенное восстановление амплитуды

М-ответов обеих мышц, однако значение параметров остается ниже дооперационного уровня на 64,5 % и 50,2 % ($P < 0,05$) соответственно. Так же, как во второй серии, анализируемый параметр для икроножной мышцы меньше, а для передней большеберцовой мышцы больше контрольных значений ($P > 0,05$).

Морфологически в большинстве мышечных волокон передней большеберцовой и икроножной мышц животных основной группы определяется различный диаметр, умеренное число мышечных ядер и их периферическая локализация в саркоплазме (рис. 5). В отдельных волокнах наблюдаются явления внутриклеточной регенерации, о чём свидетельствует слабая базофилия цитоплазмы и множество крупных прозрачных ядер (рис. 6), и что является признаком физиологической регенерации в условиях физической нагрузки.

Таким образом, проведённые исследования показали, что при использовании для интрамедуллярного остеосинтеза как прямых, так и противозогнутых спиц не наблюдалось существенных различий вызванной биоэлектрической активности и гистоструктуры скелетных мышц голени между группами сравнения и контролем. Обнаруженные изменения чувствительных нервных окончаний и обильная васкуляризация стромы являлись следствием растяжения мышцы при дистракции и цитодифференцировки внутриклеточных структур, продолжающейся и после снятия аппарата. Несмотря на то, что снижение средних значений амплитуды М-ответов мышц голени в обеих основных группах на 30-е сутки фиксации несколько более выражено, чем в контроле, это отличие статистически не значимо ($P > 0,05$). Данная картина сохраняется и для икроножной мышцы. Вариативность анализируемого параметра значительно маскирует тенденции к изменению его средних значений, т.е. можно считать, что биоэлектрическая активность мышц удлиняемой голени во второй и третьей сериях сохранялась в соответствующие сроки эксперимента на уровне, близком к значениям классического дистракционного остеосинтеза (контроль). Применяемые в этих группах средства стимуляции регенерата не способствуют дополнительному угнетению функции мышц голени.

Проведённые нами исследования показали, что разрабатываемые в РНЦ «ВТО» средства возможных сроков сокращения лечения больных при использовании метода дистракционного остеосинтеза не вызывают необратимых изменений функции и структуры двигательных единиц мышц удлиняемого сегмента и могут быть использованы в клинике с соответствующей корректировкой для человеческого организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Значение ритма distraction 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.
2. Морфофункциональная характеристика мышц голени при удлинении ее с высокой дробностью и в разное время суток / Н. К. Чикорина, С. А. Ерофеев, М. С. Сайфутдинов, А. А. Шрейнер // Гений ортопедии. – 2001. - № 4 - С. 13-17.
3. Синапсы и рецепторы мышц удлиняемых конечностей / В. И. Шевцов, А. П. Шеин, Н. К. Чикорина, М. С. Сайфутдинов // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. - 2002. - № 6. – С. 231-236.
4. Шеин, А. П. Влияние электромиостимуляции на вызванную электрическую активность передней большеберцовой мышцы у собак при удлинении голени методом Илизарова / А. П. Шеин, А. Н. Ерохин, С. А. Ерофеев // Гений ортопедии. - № 2. - 1995. - С. 26-29.
5. Электрофизиологические признаки реконструктивных изменений в нервно-мышечных структурах удлиняемой конечности / А. П. Шеин [и др.] // Актуальные вопросы травматологии и ортопедии. – Екатеринбург, 1997. - С. 209-215.
6. Darling, R. S. The physiologic bases for management of disability / R. S. Darling // Arch. Phys. Med. Rehabil. – 1967. - Vol. 48 - No 3. – P. 150-153.
7. Hoyer, A. Alterations in electromyograms due to inactivity-induced atrophy of the human muscle / A. Hoyer, W. Eickhoff, E. Rumberger // Electromyogr. Clin. Neurophysiol. – 2000. – Vol. 40, No 5. – P. 267-274.
8. Байкушев, С. Стимуляционная электромиография и электронейрография в клинике нервных болезней / С. Байкушев, Э. Х. Манович, В. П. Новикова. - М., 1974. - 143 с.
9. Плохинский, Н. А. Биометрия / Н. А. Плохинский. – М. : Изд-во МГУ, 1979. – 367 с.
10. Мюллер П. Таблицы по математической статистике / П. Мюллер, П. Нойман, Р. Шторм - М. : Финансы и статистика, 1982. – 271 с.
11. Рунион, Р. Справочник по непараметрической статистике / Р. Рунион. - М. : Финансы и статистика, 1982. - 198 с.

Рукопись поступила 10.02.05.

Выходит из печати



А.П. Шеин, М.С. Сайфутдинов, Г.А. Криворучко

**ЛОКАЛЬНЫЕ И СИСТЕМНЫЕ РЕАКЦИИ
СЕНСОМОТОРНЫХ СТРУКТУР НА УДЛИНЕНИЕ
И ИШЕМИЮ КОНЕЧНОСТЕЙ**

Курган : ДАММИ, 2006. – 284 с.

Издание осуществляется при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ), проект № 06-04-62019.

В книге отражены результаты многоплановых нейрофизиологических исследований реактивности и адаптации нервов и мышц при удлинении конечностей методом distractionного остеосинтеза по Илизарову, а также анализа характеристик вызванной биоэлектрической активности соматосенсорной коры головного мозга и локальных изометрических моторных тестов, построенных на принципах непрерывного и дискретного зрительно-моторного слежения. Сформулированы и обоснованы концептуальные представления о развитии и фиксации парциальных нарушений в системе взаимодействия периферических сенсомоторных структур с системой "схема тела". Проанализированы механизмы формирования постdistractionной сенсомоторной недостаточности, связанной с глубокими перестройками в периферической части двигательных единиц, т.е. возникновением и развитием несоответствия генетически предопределенных и сформированных в онтогенезе центральных моторных программ исполнительным возможностям эффекторов, а также формирования дефицита адекватного сенсорного обеспечения движений с участием удлинённой конечности. Предложены методы диагностики и коррекции постdistractionных двигательных расстройств, основанные на технологиях электромиографии, регистрации и анализа вызванной биоэлектрической активности соматосенсорной коры головного мозга, электромиостимуляции, функционального биоуправления и гипербарической оксигенации.

Книга рассчитана на нейрофизиологов, психофизиологов, ортопедов-травматологов, невропатологов, реабилитологов.