

Гистологические изменения структур переднего фасциального пространства голени при её удлинении на уровне верхней трети

Н.В. Петровская, Н.А. Щудло, И.В. Борисова, М.А. Степанов

Histological changes in the structures of anterior fascial space of the leg in case of its lengthening at the upper-third level

N.V. Petrovskaya, N.A. Chtchoudlo, I.V. Borisova, M.A. Stepanov

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" им. академика Г. А. Илизарова» Минздравсоцразвития РФ, г. Курган
(директор — д.м.н. А.В. Губин)

В опытах на 7 собаках изучены гистологические изменения передней большеберцовой мышцы, одноимённой артерии и ветвей глубокого малоберцового нерва при удлинении голени на уровне верхней трети с суточным темпом 1 мм за 4 приёма, проведена компьютерная морфометрия мышцы. В 3 опытах из 7 выявлен синдром сдавления передней большеберцовой артерии, во всех опытах в большинстве артерий перимизия выявлена репаративная реакция на повреждение интимы — субинтимальная и миоинтимальная гиперплазия, стенозирование просвета. Вплоть до 30 дней после снятия аппарата выражена гиповаскуляризация и нарушение нейротрофики мионов. В плане возможностей восстановления функции конечности удлинение на уровне верхней трети голени представляется менее выгодным, чем удлинение на уровне средней трети диафиза.

Ключевые слова: удлинение конечности, мышцы, артерии, нервы.

Histological changes of the anterior tibial muscle, the artery of the same name and the branches of the deep peroneal nerve have been studied experimentally in 7 dogs during leg lengthening at the upper-third level by 1 mm for 4 times, computer morphometry of the muscle has been made. The syndrome of the anterior tibial artery compression was revealed in 3 experiments of 7, the reparative reaction to intima injury — subintimal and myointimal hyperplasia, lumen stenosing was observed in most perimysial arteries in all the experiments. Hypovascularization and the disorder of myon neurotrophism was marked for up to 30 days after the fixator removal. Lengthening at the level of leg upper third seems to be less advantageous in comparison with lengthening at the level of shaft middle third.

Keywords: limb lengthening, muscles, arteries, nerves.

ВВЕДЕНИЕ

Большинство экспериментальных исследований, посвящённых удлинению голени методом дистракционного остеосинтеза, решало задачу определения оптимального для остеогенеза и состояния мягких тканей суточного темпа и дробности дистракции, что потребовало разработки стандартной экспериментальной модели, которая предусматривала нарушение целостности кости с сохранением содержимого костно-мозговой полости и формирование дистракционного регенерата на уровне середины диафиза большеберцовой кости [4]. В клинике методом выбора является технология удлинения на уровне верхней трети голени, которая, по мне-

нию клиницистов, позволяет создать оптимальные условия для формирования костного регенерата. Проблема полноценного восстановления функции конечности после удлинения была и остаётся актуальной. Её решение невозможно без изучения закономерностей структурной реорганизации нервов, сосудов и мышц в экспериментальных исследованиях.

Цель работы — выявить особенности структурных изменений передней большеберцовой мышцы, одноимённой артерии и глубокой ветви малоберцового нерва, иннервирующей эту мышцу, при удлинении голени на уровне верхней трети.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент проведен на 7 беспородных собаках обоего пола с массой тела 11-20 кг, в возрасте 3-5 лет. Собаки содержались в виварии, оперативные вмешательства и эвтаназию осуществляли в соответствии требованиями Министерства здравоохранения Российской Федерации к работе экспериментально-

биологических клиник, а также «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей». Все манипуляции, проводимые на животных, были рассмотрены и одобрены этическим комитетом. Оперативные вмешательства проводили в

условиях операционной, под внутривенным комбинированным наркозом долотом производили остеотомию костей голени и осуществляли чрескостный остеосинтез аппаратом Илизарова. Через 5 дней после операции начинали дистракцию костных фрагментов в аппарате Илизарова с суточным темпом 1 мм, разделённом на 4 приёма (по 0,25 мм). После удлинения голени на 15-17 % и фиксации в аппарате в течение 30-35 дней аппарат снимали. Животные выведены из опыта в конце периода дистракции – Д28 (дистракции 28 дней, срок опыта 33 дня) и через 30 дней после снятия аппарата – БА30 (срок опыта 93-98 дней). Для морфологического исследования иссекали участки передней большеберцовой мышцы, одноимённой артерии и глубоких ветвей малоберцового нерва на уровне зоны удлинения. Материал фиксировали в смеси 2 % растворов глутарового и параформальдегидов на фосфатном буфере (pH 7,4) с добавлением 0,1 % пикриновой кислоты, после чего часть материала по стандартной методике заливали в парафин и изготавливали поперечные срезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином, по методу ван Гизона, Харта и Массона в модификации Лилли. Для изготовления полутонких срезов другую

часть материала постфиксировали в 1 % растворе тетраоксида осмия с 1,5 % красной кровяной солью и заливали в аралдит. Полутонкие срезы окрашивали метиленовым синим и основным фуксином. Световую микроскопию гистологических препаратов проводили на большом исследовательском микроскопе Opton, цифровые изображения получали на аппаратно-программном комплексе «Диаморф». По цифровым изображениям полутонких срезов проведены морфометрические исследования передней большеберцовой мышцы. При инструментальном увеличении 500× в выборке полей зрения, содержащей не менее 200 мышечных волокон, определяли численные плотности микрососудов и мышечных волокон, рассчитывали индекс васкуляризации (Iv). Измеряли средний ортогональный диаметр каждого мышечного волокна и строили гистограммы распределения мышечных волокон по диаметрам, в выборке от каждого опыта рассчитывали средний диаметр мышечных волокон (Dmv). Проверку статистических гипотез о различиях осуществляли с помощью параметрических и непараметрических критериев в программе AtteStat, версия 1.0 [1] в электронных таблицах Microsoft Excel 97.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе эксперимента у 2 собак из 7 (№ 5143 и 5128 – табл. 1) произошло запрокидывание проксимального фрагмента остеотомированной большеберцовой кости, нарушавшее формирование костного дистракционного регенерата. Однако при взятии материала для гистологического исследования установлено, что во всех экспериментах передний сосудисто-нервный пучок голени сохранял анатомическую непрерывность.

При микроскопии микропрепаратов от животных, эвтаназированных через 28 дней дистракции, в 1 опыте из 4 выявлен обтурирующий тромбоз артерии на уровне дефекта её стенки (преимущественно адвентиции и меди), замещённого фиброзным рубцом. В зоне дефекта и в прилежащих участках меди имелись очаги регенерационной гиперплазии продольно ориентированных гладких миоцитов (рис. 1). Ещё у 2 собак выявлен синдром сдавления передней большеберцовой артерии, что доказывалось гиперваскуляризацией адвентиции, вращением сосудов в медию и дегенеративными изменениями её мышечных элементов (рис. 2). Только у одной собаки из 4 на этом сроке наблюдения грубых патологических изменений сосудов не было. Определялись лишь микроскопические участки субинтимального фиброза, а также эластолиза и гиперплазии продольно ориентированных гладких миоцитов во внутреннем слое адвентиции.

У всех животных этого срока в поперечных срезах передней большеберцовой мышцы многие артерии перимизия имеют стенозированный или закрытый просвет, окружены отложениями колла-

гена. Степень стенозирования определяется выраженностью повреждений интимы и субинтимального слоя сосуда и репаративной реакцией на эти повреждения. Некоторые артерии в составе интимы имеют небольшое представительство веретёновидных гладкомышечных клеток, непрерывную внутреннюю эластическую мембрану, незначительные очаги фиброза или скопления продольно ориентированных гладкомышечных клеток в составе субинтимального слоя (рис. 3, слева). Это свидетельствует о незначительных повреждениях эндотелия и субэндотелиального слоя. Другие полностью лишены эндотелия (рис. 3, в середине и справа); в участках с сохранившейся эластической мембраной у них сформирована неоинтима, представленная модифицированными гладкомышечными клетками, в участках с разрушенной эластической мембраной формируется миоинтимальное утолщение, частично или полностью закрывающее просвет.

Во многих пучках мышечных волокон выражен фиброз перимизия и отдельных прослоек эндомизия, увеличено количество меж- и интрафасцикулярных скоплений адипоцитов. Мионы имеют атрофичные контуры, встречаются пустые трубки базальных мембран мышечных волокон – следы их гибели. В каждом поле зрения имеются мышечные волокна с «ангулярными» контурами, свидетельствующие о наличии денервационных изменений. Вместе с тем, глубокие веточки малоберцового нерва и даже внутримышечные нервные стволы содержат малоизменённые нервные волокна.

Только в некоторых из них можно выявить признаки умеренно выраженного пенистого субпериневрального отёка (рис. 4, слева) и валлеровской дегенерации единичных нервных волокон. В опытах с признаками сдавления передней большеберцовой артерии мышца содержит участки с массовыми некротическими изменениями мышечных волокон. В двух других опытах доля некротизированных мышечных волокон и ядерных кластеров на месте атрофированных денервированных волокон (рис. 5, справа) не превышает 15 %. На продольных срезах часто встречаются мышечные волокна с нарушением периодичности поперечной исчерченности, частичным или полным её отсутствием, что свидетельствует о дезинтеграции сократительного аппарата.

Через 30 дней после снятия аппарата признаки сдавления передней большеберцовой артерии выявлены в одном опыте из трёх. В передней большеберцовой мышце у всех собак этого срока выражено утолщение и фиброз перимизия, периваскулярный фиброз, в некоторых пучках фиброз эндомизия. Просветы многих артерий перимизия

сужены – либо за счёт гиперплазии меди, либо выражен интралюминальный стеноз в результате значительного развития миоинтимальных бляшек.

У всех собак этого срока большинство мышечных волокон имеют атрофические контуры, встречаются нормотрофические и «ангулярные» волокна, увеличено содержание экстра- и интрафасцикулярных адипоцитов (липоматоз). В большинстве мышечных волокон свойственная интактной мышце поперечная исчерченность восстановлена, но регулярно выявляются волокна с изменёнными тинкториальными свойствами: при окраске гематоксилином-эозином – в виде ослабления окрашивания гематоксилином в центральных участках мышечных волокон (рис. 5 слева), при окраске трёхцветным методом Массона – в виде голубовато-синей центральной части волокна при сохранении нормальной для мышечной ткани красной периферической части (рис. 5, справа). Эти изменения были наиболее выражены в опыте с признаками сдавления передней большеберцовой артерии и свидетельствовали о наличии денервационно-реиннервационного синдрома.

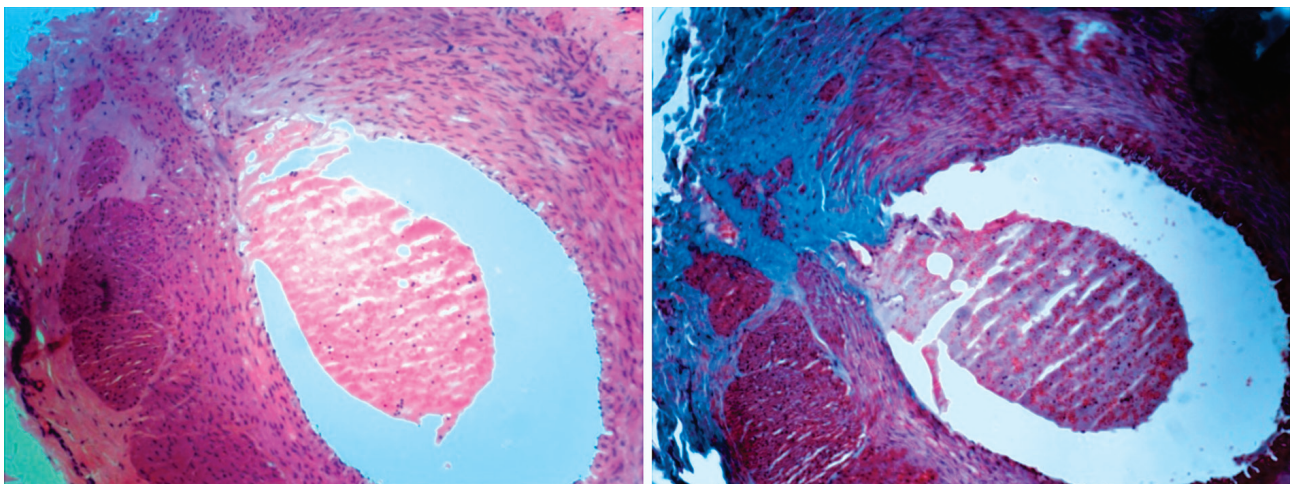


Рис.1. Фрагменты поперечных парафиновых срезов передней большеберцовой артерии собаки № 5027. Слева – гематоксилин-эозин, справа – Массон-трихром. Увеличение 120×

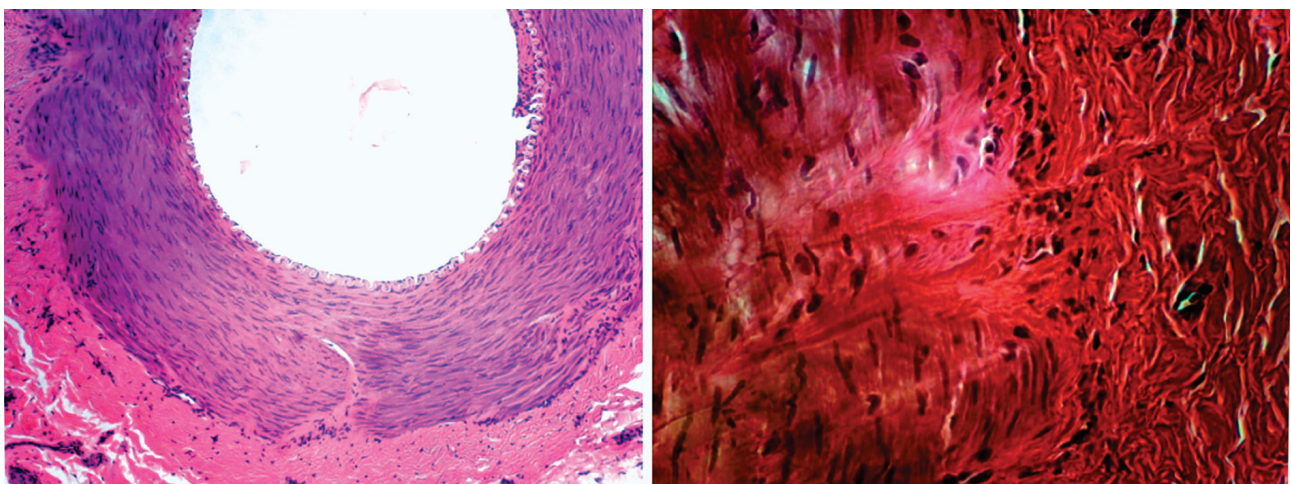


Рис.2. Фрагменты поперечных парафиновых срезов передней большеберцовой артерии собаки № 5128. Слева – гематоксилин-эозин, увеличение 120×, справа – окраска по ван Гизону, увеличение 480×

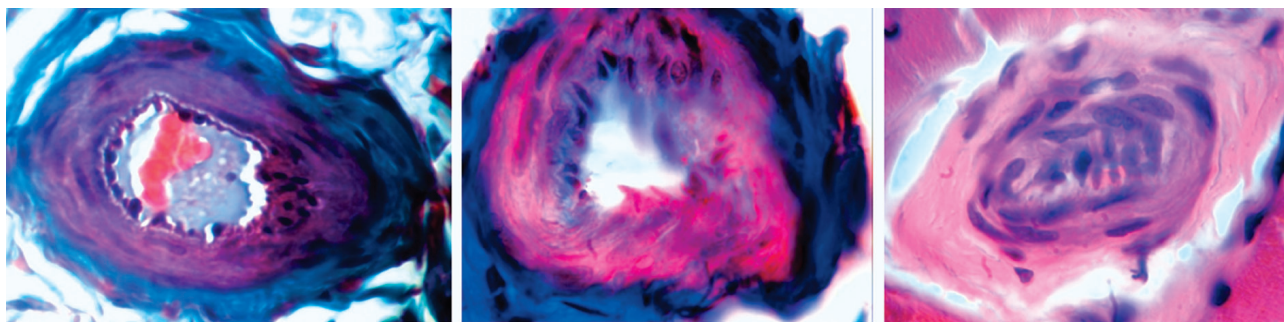


Рис. 3. Фрагменты поперечных парафиновых срезов передней большеберцовой артерии собаки № 5152. Слева и в середине – Массон-трихром, увеличение 120×, справа – гематоксилин-эозин, увеличение 480×

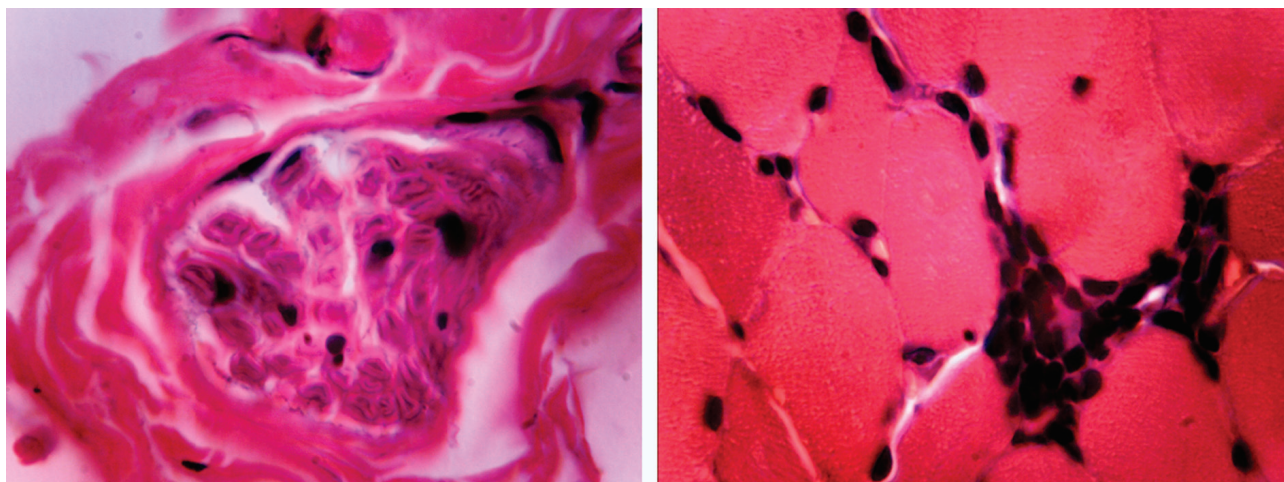


Рис. 4. Фрагменты поперечных парафиновых срезов передней большеберцовой мышцы собаки № 5207. Слева – окраска гематоксилином-эозином, увеличение 120×, справа – окраска по ван Гизону, увеличение 1200×

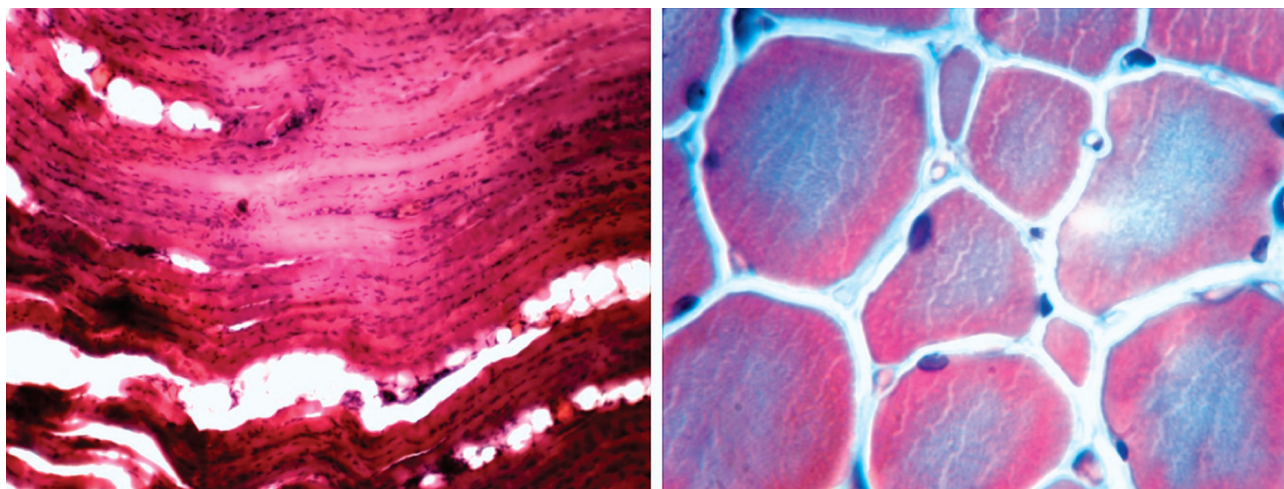


Рис. 5. Фрагменты продольного и поперечного парафиновых срезов передней большеберцовой мышцы собаки № 5151. Слева – окраска гематоксилином-эозином, увеличение 120×, справа – Массон-трихром, увеличение 1200×

По данным морфометрии мышц (табл. 1), в конце периода distraction во всех опытах наблюдается уменьшение среднего диаметра мышечных волокон и снижение индекса васкуляризации мышцы. Последнее более выражено в опытах со сдавлением передней большеберцовой артерии (коэффициент корреляции Пирсона -0,78).

Через 30 дней после снятия аппарата средний диаметр мышечных волокон достоверно увеличивается по сравнению с предыдущим сроком и в одном опыте не отличается от интактной нормы. Однако распределение мышечных волокон по диаметру именно

в этом опыте имеет свойственный денервированным мышцам бимодальный характер. Кроме того, в этом опыте остаётся сниженным индекс васкуляризации, в то время как в двух других васкуляризация мышцы по сравнению с предыдущим сроком существенно возрастает, хотя остаётся достоверно меньшей, чем в интактной мышце. Имеется сильная отрицательная корреляционная связь степени повреждения передней большеберцовой артерии с индексом васкуляризации мышцы, а также выраженности нарушений иннервации с индексом васкуляризации мышцы (коэффициент корреляции Пирсона -0,99).

Таблица 1

Экспертная оценка изменений передней большеберцовой артерии, нарушений иннервации и данные морфометрического анализа передней большеберцовой мышцы в сопоставлении с интактной нормой

Срок/опыт	A.tibialis	Нарушения иннервации	Dmv (M±SD)	Iv (M)
Д28/№ 5152	Без грубых патологических изменений	++	29,91±11,92**	0,74**
Д28/№ 5027	Механическое повреждение, тромбоз	+	25,44±7,54**	0,72**
Д28/№ 5128	Сдавление II	++	31,8±11,05**	0,68**
Д28/№ 5143	Сдавление II	+	19,15±9,09**	0,58**
БА30/№ 5075	Без грубых патологических изменений	+	36,7±12,9**	1,28*
БА30/№ 5076	Без грубых патологических изменений	+	32,2±8,69**	1,21*
БА30/№ 5151	Сдавление II	+++	41,1±8,69	0,76**
Интактная			43,4±6,51	1,40

Примечание: * - статистически значимые отличия от интактной мышцы на уровне значимости 0,05, ** - на уровне значимости 0,01.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Известно, что саркомерогенез, обеспечивающий удлинение и продольный рост мышечных волокон в процессе дистракционного остеосинтеза, не сопровождается признаками повреждения мышечных волокон только при очень низком суточном темпе дистракции – 0,4-0,7 мм [7].

В экспериментах с удлинением голени собак на уровне средней трети диафиза доля деструктивно изменённых мышечных волокон в конце дистракции составила 9,6 % [2], однако была прослежена весьма высокая сохранность проводниковой части большеберцового нерва [6], в том числе при удлинении более 15 % исходной длины голени [3], что определялось адаптационным ростом и дифференцировкой эпи-периневрия и усилением периневрального морфофункционального барьера [5].

Полученные в данном исследовании результаты свидетельствуют, что при удлинении голени собак на уровне верхней трети во всех опытах наблюдаются денервационные изменения мышечных волокон, но сохранное состояние глубоких веточек малоберцового нерва и внутримышечных нервов в совокупности с выраженными изменениями артерий перимизия и

снижением численной плотности микрососудов заставляет предположить, что они носят вторичный характер. По-видимому, главным фактором денервации является ишемизация концевых разветвлений нервов, лишённых периневрия.

В опытах с удлинением голени собак на уровне средней трети при таком же режиме дистракции (1 мм за 4 приёма) развивалась гипертрофия передняя большеберцовой мышцы [2]. В данном исследовании – при удлинении на уровне верхней трети голени – индекс васкуляризации передней большеберцовой мышцы снижался по сравнению с интактной нормой в 2 раза и более. Очевидными причинами явились гемодинамические повреждения и стенозирующее ремоделирование артерий перимизия, а также изменения передней большеберцовой артерии, соответствующие синдрому сдавления II степени по классификации S.J.Nayler, L.J.Levien, K.Cooper [7], который выявлен в трёх опытах из семи (42,9 %). Предполагаемая анатомическая предпосылка этих изменений – особенности топографии передней большеберцовой артерии, а именно, её расположение под углом к оси большеберцовой кости и направлению тяги при дистракции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Удлинение голени на уровне верхней трети повышает вероятность развития ишемических и денервационных изменений мышц, поэтому в плане

возможностей восстановления функции конечности представляется менее выгодным, чем удлинение на уровне средней трети диафиза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гайдышев И. П. Анализ и обработка данных: спец. справ. СПб.: Питер, 2001. С. 752.
2. Структурная адаптивность и пластичность скелетных мышц при удлинении конечности / В. И. Шевцов, Н. А. Щудло, М. М. Щудло, Г. Н. Филимонова // Гений ортопедии. 2009. № 4. С. 39-47.
3. Особенности изменений нервов конечностей при «больших» удлинении по Илизарову в эксперименте / В. И. Шевцов, Н. А. Щудло, М. М. Щудло и др. // Известия Челябин. научного центра (УрО РАН). 2004. Спец. вып. (25). С. 28-33 (русский) URL: [http://www.sci.urfu.ac.ru/news/2001_4/\(coavt.\)](http://www.sci.urfu.ac.ru/news/2001_4/(coavt.)).
4. Теоретические аспекты дистракционного остеосинтеза. Значение режима дистракции / А. А. Шрейнер, С. А. Ерофеев, М. М. Щудло, А. М. Чиркова, Н. Р. Карымов // Гений ортопедии. 1999. № 2. С. 13-17.
5. Щудло М. М. Рост и дифференцировка структур эпи-периневрия в условиях дозированного растяжения // Вестн. РАМН. 2000. № 2. С. 19-23.
6. Реакция нервов на растяжение и их структурная адаптация к удлинению конечности / М. М. Щудло, Н. А. Щудло, Т. Н. Варсегова, И. В. Борисова // Гений ортопедии. 2009. № 4. С. 48-55.
7. Limb lengthening promotes muscle growth / C.S. Day [et al.] // J. Orthop. Res. 1997. Vol. 15, No 2. P. 227-234.
8. Nayler S.J., Levien L.J., Cooper K. Histopathologic features of the popliteal artery entrapment syndrome case reports // Vasc. Endovascular Surg. 2000. Vol. 34, No 6. P. 665-672.

Рукопись поступила 16.06.11.

Сведения об авторах:

1. Петровская Наталья Вилловна – ФГБУ РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова Минздравсоцразвития, г. Курган, лаборатория коррекции деформаций и удлинения, ведущий научный сотрудник, к.м.н.
2. Щудло Наталья Анатольевна – ФГБУ РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова Минздравсоцразвития, г. Курган, клинко-экспериментальная лаборатория реконструктивно-восстановительной микрохирургии и хирургии кисти, заведующая, д.м.н.
3. Борисова Ирина Владимировна – ФГБУ РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова Минздравсоцразвития, г. Курган, клинко-экспериментальная лаборатория реконструктивно-восстановительной микрохирургии и хирургии кисти, научный сотрудник, к.б.н.
4. Степанов Михаил Александрович – ФГБУ РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова Минздравсоцразвития, г. Курган, лаборатория гнойной остеологии и замещения дефектов, ведущий научный сотрудник, к.в.н.