

Структурная реорганизация реиннервируемой скелетной мышцы при низкочастотной электростимуляции

М.М. Щудло, Н.А. Щудло, Г.Н. Филимонова, Г.А. Степанова

The structural reorganization of the skeletal muscle being reinnervized for low-frequency electrical stimulation

M.M. Chtchoudlo, N.A. Chtchoudlo, G.N. Filimonova, G.A. Stepanova

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

В опытах на 7 собаках выполнен гистологический, стереологический и морфометрический анализ структурных изменений реиннервируемой передней большеберцовой мышцы на ранней стадии посттравматической регенерации седалищного нерва собак под влиянием терапии аппаратом «Миоритм», проводимой в период от 4 до 11 недель после перерезки и первичного шва нерва. Установлено, что васкуляризация реиннервируемой мышцы к концу курса стимуляции превышает не только нестимулированный контроль, но даже показатель интактной мышцы, что создаёт условия для выживания мышечных волокон в атрофическом и нормотрофическом статусе и активации вторичного миогенеза.

Ключевые слова: регенерация нерва, реиннервация мышц, электростимуляция.

The histological, stereological and morphometric analysis of structural changes of the anterior tibial muscle subjected to reinnervation has been made experimentally in 7 dogs at an early stage of canine sciatic nerve posttraumatic regeneration under the influence of therapy using «Myoritm» device, which was performed within the period from 4 to 11 weeks after nerve cutting and primary suturing. It has been established that the vascularization of the muscle being reinnervized by the end of stimulation course exceeds not only the non-stimulated control, but even the value of intact muscle, creating the conditions for survival of muscle fibers in atrophic and normotrophic state, as well as for secondary myogenesis activation.

Keywords: nerve regeneration, muscle reinnervation, electrical stimulation.

ВВЕДЕНИЕ

Клиническая практика и экспериментальные исследования свидетельствуют, что восстановление функции скелетных мышц при травматических нейропатиях или заболеваниях, вызывающих нарушение либо снижение нервно-мышечной активности, часто не достигает оптимального уровня. Для решения этой проблемы применяется электротерапия, цель которой состоит в предотвращении либо компенсации атрофии мышечных волокон, стимуляции реиннервации, увеличении силы мышцы. Результаты электростимуляции оцениваются противоречиво: она может улучшить регенерацию нерва, но при несоответствующем режиме применения может навредить [11]. Некоторые авторы располагают 50-летним опытом исследования эффектов нейростимуляции в экспериментах на животных [4]; в последние годы количество пуб-

ликаций этого направления возросло: исследуется влияние разных способов и протоколов электростимуляции на размеры мышечных волокон, экспрессию нейротрофических факторов, механические, электрофизиологические, гистохимические и биохимические характеристики мышцы [5, 6, 7, 8]. Остаётся недостаточно изученным влияние электростимуляции на васкуляризацию мышцы в период де- и реиннервации, неясны возможности модуляции численности мышечных волокон и восстановления свойственного интактной мышце спектра распределения метаболических типов.

Цель работы – исследование эффектов низкочастотной нейромиостимуляции на структурную реорганизацию мышцы в ходе денервационно-реиннервационного процесса.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 7 собаках. Под внутривенным барбитуровым наркозом в асептических условиях ножницами Millesi рассекали седалищный нерв на уровне середины бедра и

сшивали с применением микрохирургической техники (инструментарий фирмы Aesculap, нить фирмы Ethicon калибра 8/0, увеличение 8-16× микроскопа Opton). В послеоперационном перио-

де у трёх собак из 7 не применяли воздействий на регенераторный процесс (нестимулированный контроль – группа 1), у других четырёх собак (опыт – группа 2) в период от 4 до 11 недель после операции проводили нейромюстимуляцию аппаратом «Миоритм». Всего было выполнено по 18 сеансов (3 раза в неделю) длительностью 40 минут каждый. Катод располагали в проекции малоберцового нерва, второй электрод – на двигательных точках мышц стопы. Стимуляция проводилась в режиме 2:2: две секунды – пачка импульсов, две секунды – пауза. Сила тока подбиралась индивидуально, до появления едва заметных видимых сокращений мышц.

Животных выводили из опыта через 11 недель после операции. 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 Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации о гуманном обращении с животными (1996).

После эвтаназии для морфологических исследований забирали фрагменты передней большеберцовой мышцы. Изготавливали поперечные криостатные срезы, в которых выявляли активность миозиновой АТФ-азы, а также продольные

и поперечные эпоксидные полутонкие срезы, окрашенные по М. Ontell. Препараты изучали и фотографировали, используя большие исследовательские микроскопы фирмы «Opton» (ФРГ). Изображения криостатных препаратов оцифровывали на АПК «ДиаМорф» (Россия) при увеличении 200х. Используя тестовую решетку, состоящую из 100 точек, в программе А. Photoshop осуществляли точко-счетную объемометрию, определяли: относительный объем мышечных волокон (VV_{mf}), микрососудов (VV_{mv}), эндомизия (VV_{end}). В каждом поле зрения определяли число мышечных волокон и микрососудов, рассчитывали их численную плотность (NA_{mf} и NA_{mv} соответственно), индекс васкуляризации (I_{vasc}). Результаты стереологического анализа мышц экспериментальных животных сопоставляли с данными, полученными в аналогичных исследованиях мышц 3 интактных собак. По результатам измерений среднего ортогонального диаметра каждого мышечного волокна в выборке из 300 волокон от каждого животного оценивали размерную вариативность мышечных волокон в условиях опыта и контроля в сравнении с интактной мышцей. Методом визуальной экспертной оценки определяли представительство волокон I и II типов в каждой выборке, строили гистограммы их распределения по диаметрам. Статистическую обработку данных осуществляли с использованием программных возможностей М. Excel-2000 – применением описательной статистики и непарного двухвыборочного t-теста.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При микроскопии криостатных срезов передней большеберцовой мышцы оперированных животных установлено, что в некоторых участках мышцы при высокой активности АТФ-азы в стенках сосудов мышечные волокна практически не дают реакции на этот фермент, поэтому дифференцировка их на типы невозможна. Наряду с этим встречаются участки мышцы с четко различимыми типами волокон. Из-за кластерного расположения волокон, являющегося характерным признаком реиннервации мышцы, в одних полях зрения отмечается преобладание волокон типа I, в других – II. В некоторых полях зрения есть отдельные участки со свойственным нормальной мышце (рис. 1) мозаичным расположением волокон, что более характерно для группы «Миоритм».

У животных **контрольной группы** значительно увеличена размерная вариативность мышечных волокон как по сравнению с группой «Миоритм», так и интактной мышцей. Выявляются единичные гипертрофированные волокна – они имеют округлые контуры, диаметр более 80 мкм и в большинстве своём обладают низкой активностью АТФ-азы.

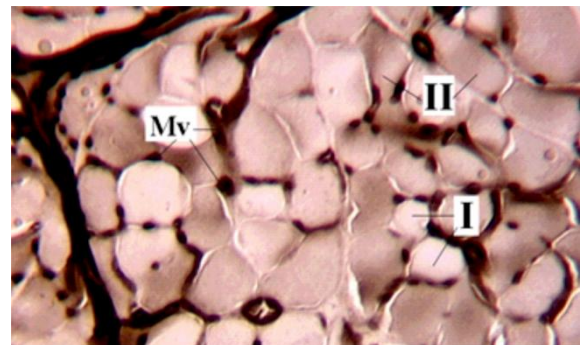


Рис. 1. Фрагмент поперечного криостатного среза передней большеберцовой мышцы животного из группы «Миоритм». Реакция на АТФ-азу. Увеличение 180х. Мv – микрососуды. I – мышечные волокна с низкоинтенсивной реакцией на АТФ-азу, II – мышечные волокна с высокой реакцией на АТФ-азу

В группе «Миоритм» по сравнению с интактными и контролем значительное количество мышечных волокон имеет малое поперечное сечение и ангулярные контуры, что является характерным признаком атрофии. С другой стороны, по сравнению с нестимулированным контролем чаще встречаются волокна, имеющие диаметр менее

10 мкм, но с округлыми контурами и с очень интенсивной реакцией на АТФ-азу, что свойственно миомам, регенерирующим *de novo*. Гипертрофированных мышечных волокон (диаметром более 80 мкм) в группе «Миоритм» нет. Обращает на себя внимание гиперваскуляризация эндомизия: отмечается расширение сосудов артериального звена и увеличение численности микрососудов, прежде всего капилляров.

При исследовании полутонких срезов животных контрольной группы отмечается увеличение количества регенераторных ядер в мышечных волокнах, занимающих преимущественно периферическое расположение и нередко образующих двух-, трёх- или четырёхчленные группы. В интерстициальной ткани увеличено содержание фибробластов, встречаются коллагеновые депозиты и вакуолизированные макрофаги, иногда миобласты – одиночные или в виде малочисленных скоплений, напоминающих миотубы.

При исследовании полутонких срезов передней большеберцовой мышцы собак из группы «Миоритм» в межпучковых соединительнотканых прослойках увеличено содержание адипоцитов; в пучках мышечных волокон встречаются участки жировой дегенерации. В продольных артериях отмечается гиперплазия мышечной оболочки, отдельные гладкие миоциты в состоянии вакуольной дистрофии. Артериолы и многочисленные капилляры имеют дилатированные просветы. Эндомизий содержит боль-

шое количество клеточных элементов: среди них регулярно встречаются тучные клетки с крупными гранулами, располагающиеся в основном периваскулярно; многочисленны активированные макрофаги округлой формы, некоторые имеют форму ракетки, содержат единичные вакуоли; регулярно встречаются клетки, фенотипически напоминающие миобласты, формирующие растущие миотубы (рис. 2, справа). Количество внутримышечных ядер в группе «Миоритм» также увеличено, довольно часто встречаются крупные (переживающие) волокна с центральной их локализацией (рис. 2, слева).

Стереологический анализ (табл. 1) показал, что объёмная и численная плотности мышечных волокон у оперированных животных достоверно превышают интактные показатели, особенно в опыте. При очень незначительно (хотя и достоверно) уменьшенной объёмной плотности мышечных волокон в опытной группе по сравнению с нестимулированным контролем численные плотности мышечных волокон и микрососудов увеличены в 1,7 раза и 2,8 раза соответственно. Объёмные плотности микрососудов в контроле и у интактных собак сопоставимы, а в опыте этот показатель достоверно повышен. Индекс васкуляризации мышцы в контроле на 27,3 % снижен по сравнению с интактной мышцей. В группе «Миоритм» этот показатель превышает контрольный на 38,3 % и даже превышает интактный показатель – на 17,7 %.

Таблица 1

Результаты стереологического анализа передней большеберцовой мышцы оперированных и интактных животных

Группа	Мышечные волокна		Микрососуды			Эндомизий
	$VV_{mf} (мм^3/мм^3)$	$NA_{mf} (мм^{-2})$	$VV_{mv} (мм^3/мм^3)$	$NA_{mv} (мм^{-2})$	I_{vasc}	$VV_{end} (мм^3/мм^3)$
Контроль	$0,936 \pm 0,005^*$	$1001,7 \pm 22,6^{***}$	$0,025 \pm 0,003^{***}$	$1014,9 \pm 36,2^{***}$	1,013	$0,041 \pm 0,003$
Миоритм	$0,920 \pm 0,004$	$1719,5 \pm 50,7$	$0,044 \pm 0,002$	$2822,3 \pm 90,6$	1,641	$0,037 \pm 0,002$
Интактная группа	$0,908 \pm 0,002^{\square\square}$	$504,0 \pm 0,7^{\square\square\square}$	$0,026 \pm 0,001^{\square\square\square}$	$702,8 \pm 2,8^{\square\square\square}$	1,394	$0,066 \pm 0,002^{\square\square\square}$

Различия достоверно значимы: *** – $P < 0,001$, ** – $P < 0,01$, * – $P < 0,05$; *** – Контроль – Миоритм; $\square\square\square$ – Интактная группа – Миоритм.

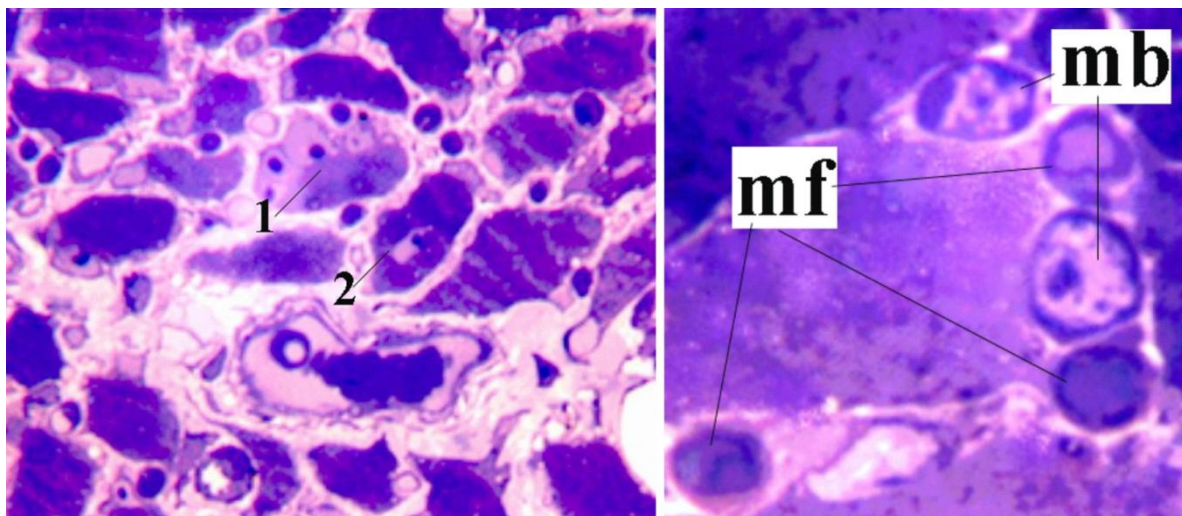


Рис. 2. Фрагменты поперечного полутонкого среза мышцы собаки из группы «Миоритм». Окраска по М. Ontell. Слева – увеличение 500х, справа – 1250х. 1 – мышечное волокно с периферическим расположением регенераторных ядер, 2 – регенерирующее мышечное волокно с центрально расположенным ядром. mf – макрофаги, mb – миобласты в составе конусов роста миотуб

Представляется несколько парадоксальным уменьшенное относительное содержание эндоми- зия в мышцах оперированных животных по срав- нению с интактными. Можно предположить, что денервационная атрофия затрагивает не только мышечные волокна, но и интерстиций.

По данным морфометрии, диаметры мышеч- ных волокон в контроле широко варьируют от 6 до 95 мкм (средний диаметр $40,6 \pm 0,9$ мкм), в опыте – от 5 до 62 мкм (средний диаметр $23,4 \pm 0,6$ мкм), в интактной мышце – от 11 до 80 мкм (средний диаметр $43,4 \pm 0,6$ мкм).

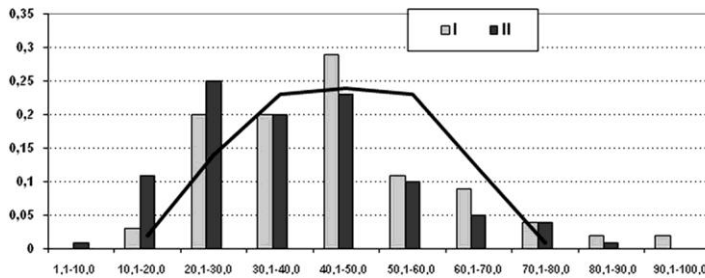


Рис. 3. Гистограмма частотного распределения мышечных волокон I и II типов по диаметрам у животных контрольной группы в сопоставлении с графиком распределения мышечных волокон обоих типов у интактных собак

В контроле гистограммы распределения мышечных волокон I и II типов по диаметрам имеют 9 классов (рис. 3), асимметричны, волокна II типа распределены бимодально (пики в 3 и 5 классах), гистограмма волокон II типа смещена на один класс влево по отношению к гистограмме распределения волокон I типа.

В группе «Миоритм» гистограммы распределения волокон I и II типов (рис. 4) практически идентичны по соотношению высоты пиков, уни- модальны, имеют соответственно 6 и 7 классов.

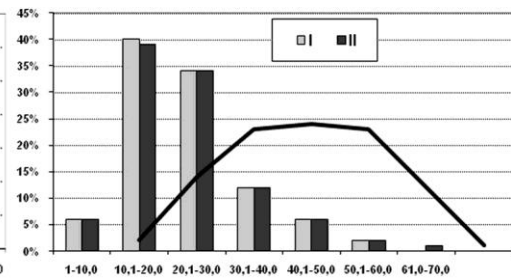


Рис. 4. Гистограмма частотного распределения мышечных волокон I и II типов по диаметрам у животных опытной группы в сопоставлении с графиком распределения мышечных волокон обоих типов у интактных собак

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведённые исследования показали, что через 11 недель после перерезки и первичного шва седалищного нерва в отсутствии каких-либо терапевтических воздействий на регенера- ционный процесс размеры мышечных волокон хорошо восстанавливаются – средний диаметр мышечных волокон уменьшен всего лишь на 6 % по сравнению с интактной мышцей. Однако индекс васкуляризации мышечных волокон снижен на 27,3 % по сравнению с интактным показателем. Характерное для интактной мыш- цы нормальное распределение волокон в этих условиях не восстанавливается, увеличена их размерная вариативность, причём волокна II типа распределены бимодально, а среди воло- кон I типа встречаются гипертрофированные.

Аналогичные изменения у людей с облитери- рующими заболеваниями сосудов выявлены в мышцах, которые оказываются полностью или частично денервированными из-за вызванной ишемией дегенерации нервных окончаний [10]. Известно, что даже в отсутствии повреждений или патологии сосудов денервация снижает васкуля- ризацию мышцы на 80 % и более [2]. По нашим ранее полученным данным [1], восстановление индекса васкуляризации мышцы не происходит даже после успешной реиннервации: через год после восстановительной операции на нерве этот параметр остаётся сниженным на 39,5 % по срав- нению с интактной мышцей, при этом у многих животных сохраняется повышенная размерная вариативность мышечных волокон, а у некоторых

особей – и бимодальный характер их распреде- ления по диаметрам. Эти изменения не являются оптимальными для восстановления функциональ- ных возможностей мышц.

В литературе нам не удалось найти объясне- ний, почему в условиях ишемии и денервации в мышце появляются гипертрофированные воло- на, но известно, что аналогичное явление наблю- дается при удалении части мышцы [12]. Денер- вационная атрофия включает не только умень- шение размеров волокон, но и их гибель. Воз- можно появление гипертрофированных волокон в денервированной мышце связано с компен- сацией утраты численности мионов и вызванной ишемизацией перестройкой метаболизма.

Через 11 недель после восстановительной опе- рации на пересечённом седалищном нерве и курса электростимуляции аппаратом «Миоритм», васку- ляризация мышечных волокон передней больше- берцовой мышцы значительно превышает не только контроль, но даже интактную мышцу; диаметры мышечных волокон I и II типов пропор- ционально уменьшены по сравнению с интактной мышцей. «Простой» вид атрофии, почти в равной степени затрагивающий волокна обоих типов, в большей мере характерен для состояния бездейст- вия мышц, но не денервационных изменений. Следует также отметить, что уменьшение средне- го диаметра мышечных волокон по сравнению с интактной мышцей на 46 %, уменьшение ширины гистограммы распределения мышечных волокон по диаметру и сдвиг её пика влево, обусловлены

не только и не столько атрофией, сколько значимым представительством регенерирующих мионов, образующихся *de novo*.

Долгое время считалось, что численность волокон в мышце остаётся постоянной в течение всей постнатальной жизни индивида. Увеличение объёма мышц при разных видах тренировок объяснялось увеличением размеров мышечных волокон, но не их числа. Мета-анализ экспериментальных исследований [9] показал, что увеличение численности мышечных волокон (гиперплазия) играет существенную роль в адаптации мышцы к нагрузкам у многих видов животных. Гиперплазия мышечных волокон при определённых видах нагрузки выявлена и у взрослых людей; в мышцах бодибилдеров отмечена и небольшая пролиферация жировой ткани [13]. В нашем исследовании увеличение содержания адипоцитов в межпучковых соединительнотканых прослойках и липоидная дегенерация мышечных волокон отмечена в опытах с электростимуляцией; для нестимулированного контроля более характерны фиброзные изменения эндомизия.

Некоторые авторы в опытах на крысах [3] описывали не зависящие от гибели мышечных волокон или реиннервации явления регенерации и вторичного миогенеза в денервированных мышцах.

Полученные нами данные свидетельствуют, что при денервации и последующей реиннервации у собак формирование миотубов *de novo* также происходит, причём в условиях электростимуляции оно более выражено. Наблюдаемое нами появление в интерстиции стимулированной мышцы наряду с миоцитами большого количества активированных макрофагов при электростимуляции мышечных сокращений в процессе де- и реиннервации согласуется с представлениями других авторов о существенной роли макрофагов в адаптации атрофированной от бездействия мышцы к повышению механических нагрузок [14]. Следует иметь в виду, что разные морфо-функциональные популяции макрофагов фагоцитируют повреждённые мышечные волокна, стимулируют их репарацию и промотируют миогенез.

В настоящее время невозможно утверждать, что применённый способ и режим электростимуляции оптимален для восстановления морфо-функциональных характеристик мышцы в процессе де- и реиннервации, но доказанная возможность модулировать васкуляризацию, регенерацию и неогенез мышечных волокон обосновывает перспективность дальнейших экспериментальных исследований этого вида физиотерапии, в том числе в отдалённые сроки реиннервации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведён гистологический, стереологический и морфометрический анализ структурных изменений реиннервируемых скелетных мышц на ранней стадии посттравматической регенерации нерва в условиях терапии аппаратом «Миоритм». Установлено, что под влиянием электротерапии васкуляризация реиннервируемой мышцы усиливается и на ранней стадии регенерационного процесса превышает не только нестимулированный контроль, но даже показатель интактной мышцы, при этом предотвращаются характерные для полной или частичной денервации изменения

численно-размерного состава мышечных волокон. Результаты исследований позволяют предположить, что применение низкочастотной электростимуляции в период денервации и последующей реиннервации создаёт условия для выживания мышечных волокон в атрофическом и нормотрофическом статусе и активации вторичного миогенеза. Вероятные клеточные механизмы обнаруженных эффектов – стимуляция миграции и рост-регулирующей секреторной активности клеток костномозгового происхождения – макрофагов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Влияние электростимуляции на морфометрические характеристики реиннервируемой мышцы / Н. А. Щудло, Г. Н. Филимонова, И. А. Меньщикова, И. А. Голобокова // Гений ортопедии. 2008. № 3. С. 40-43.
2. Borisov A. B., Huang S.-K., Carlson B. M. Remodeling of the vascular bed and progressive loss of capillaries in denervated skeletal muscle // *Anat. Rec.* 1999. Vol. 258, No 3. P. 292-304.
3. Borisov A. B., Dedkov E. I., Carlson B. M. Interrelations of myogenic response, progressive atrophy of muscle fibers, and cell death in denervated skeletal muscle // *Anat. Rec.* 2001. Vol. 264. P. 203-218.
4. Carraro U. Modulation of Trophism and Fiber Type Expression of Denervated Muscle by Different Patterns of Electrical Stimulation // *Basic Appl. Myol.* 2002. Vol. 12, No 6. P. 263-271.
5. Chronic electrostimulation after nerve repair by self-anastomosis : effects on the size, the mechanical, histochemical and biochemical muscle properties / T. Marqueste [et al.] // *Acta Neuropathol.* 2006. Vol. 111, No 6. P. 589-600.
6. Demiryurek S., Babul A. Effects of vitamin e and electrical stimulation on the denervated rat gastrocnemius muscle malondialdehyde and glutathione levels // *Int. J. Neurosci.* 2004. Vol. 114, No 1. P. 45-54.
7. Effect of electrical stimulus on denervated muscle / H. Imagita [et al.] // *Jap. J. Occup. Med. Traumatol.* 2004. Vol. 52, No 3. P. 170-176.
8. Effect of Neuromuscular Electrical Stimulation of Denervated Muscle on the mRNA Expression of IGFs in Rat Skeletal Muscle and Sciatic Nerve / K. Tomori [et al.] // *J. Phys. Ther. Sci.* 2009. Vol. 21, No 3. P. 269-273.
9. Kelley G. Mechanical overload and skeletal muscle fiber hyperplasia : a metaanalysis // *J. Appl. Physiol.* 1996. Vol. 81, No 4. P. 1584-1588.
10. Morphological, histochemical, and interstitial pressure changes in the tibialis anterior muscle before and after aortofemoral bypass in patients with peripheral arterial occlusive disease / M. Albani [et al.] // *BMC Musculoskelet Disord.* 2002. Vol. 3. P. 8.

11. Peripheral nerve regeneration after injury and rehabilitation managements / K. Nishiwaki [et al.] // Jap. J. Reab. Med. 2002. Vol. 39, No 5. P. 257-266.
12. Rowe R. W. D., Goldspink G. Surgically induced hypertrophy in skeletal muscles of the laboratory mouse // Anat. Rec. 2005. Vol. 161, No 1. P. 69-75.
13. Skeletal muscle hypertrophy and structure and function of skeletal muscle fibres in male body builders / G. D'Antona [et al.] // J. Physiology. 2006. Vol. 511, No 3. P. 611-627.
14. Tidball J. G., Wehling-Henricks M. Macrophages promote muscle membrane repair and muscle fibre growth and regeneration during modified muscle loading in mice in vivo // J. Physiol. 2007. Vol. 578. P. 327-336.

Рукопись поступила 16.06.09.

Сведения об авторах:

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

Предлагаем вашему вниманию



Шевцов В.И., Пивень В.В., Худяев А.Т., Муштаева Ю.А.

ПРИМЕНЕНИЕ АППАРАТА ВНЕШНЕЙ ФИКСАЦИИ ПРИ ПАТОЛОГИИ ПОЗВОНОЧНИКА

М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2007. — 112 с.: ил.

ISBN 5-225-04291-0

В монографии представлены исследования, позволившие впервые выявить необходимость использования аппарата внешней фиксации для эффективной коррекции деформации позвоночника. Впервые разработана методика регулирования напряженно-деформированного состояния деталей аппарата с помощью тензоакустического контроля, что обеспечивает безопасный управляемый перевод аппарата из одного пространственного положения в другое и позволяет повысить степень коррекции деформации позвоночника по сравнению с эффектом использования внутренних фиксаторов.

Для хирургов-ортопедов.