

Морфофункциональное состояние мышц голени в условиях последовательного дистракционно-компрессионного остеосинтеза

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

Morphofunctional status of leg muscles in the conditions of the successive distraction-compression osteosynthesis

A.V. Popkov, N.K. Chikorina, S.A. Yerofeyev, M.S. Saifutdinov, D.A. Popkov

Государственное учреждение науки

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

В эксперименте на 17 взрослых беспородных собаках изучалось морфофункциональное состояние мышц голени, удлиняемой в условиях последовательного дистракционно-компрессионного остеосинтеза. Установлено, что при компрессии регенерата на высоту его соединительно-тканной прослойки, после переудлинения конечности на указанную величину, биоэлектрическая активность мышц через 30 дней фиксации свидетельствует об их функциональной активности. Через месяц после снятия аппарата морфологическая структура скелетной мышечной ткани, в целом, восстанавливается. Однако на отдельных участках мышечных волокон определяются массивные скопления межфибриллярных митохондрий и гликогеновых гранул. При еженедельном внутривенном введении орозина в строму мышцы появляется множество функционирующих капилляров.

Ключевые слова: собака, голень, удлинение, чрескостный остеосинтез, мышцы, морфофункциональное состояние.

Morphofunctional status of the muscles of the leg, elongated by the successive distraction-compression osteosynthesis, was studied experimentally, using 17 adult mongrel dogs. It is established, that while the regenerated bone compressing by the height of its connective-tissue interlayer, after the limb overelongation by the mentioned amount, bioelectrical activity of the muscles after 30-day fixation demonstrates their functional activity. In a month after the apparatus removal the morphological structure of the skeletal muscle tissue recovers as a whole. However, massive aggregations of interfibrillar mitochondria and glycogenic granules are noted in some parts of muscular fibers. Multiple functioning capillaries appear in the muscular stroma in case of every week intravenous infusion of orozine.

Keywords: dog, leg, elongation, transosseous osteosynthesis, muscles, morphofunctional status.

В проведенных ранее электронномикроскопических исследованиях экспериментального материала показано, что при дозированном удлинении голени аппаратом Илизарова у взрослых собак происходит рост мышц за счет миофибриллогенеза в подсарколемных участках саркоплазмы мышечных волокон, где на полирибосомах синтезируются актиновые и миозиновые миофиламенты. Процесс миофибриллогенеза тесно связан с образованием новых митохондрий. На поздних этапах дистракции наблюдается и новообразование мышечных волокон, при этом отмечаются этапы, характерные и для эмбрионального миогистогенеза: появление миобластов, последующее их слияние с форми-

рованием первичных и вторичных мышечных трубочек, организация последних в мышечные волокна с активно протекающими процессами миофибриллогенеза [4, 5, 6, 8].

С целью ускорения процесса консолидации дистракционного регенерата во время фиксации РНЦ «ВТО» предложен способ, заключающийся в переудлинении кости с последующим одномоментным сближением костных частей регенерата до их контакта [9, 10]. Для выяснения морфофункционального состояния мышц голени при данной методике удлинения (последовательный дистракционно-компрессионный остеосинтез) нами предпринято настоящее исследование.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на 17 взрослых беспородных собаках в возрасте от 1 до 3 лет. В стерильных условиях под внутривенным барби-

туратовым наркозом на голень животных накладывали аппарат Илизарова из двух дуг и двух колец, с фиксацией проксимального и дис-

тального концов кости двумя парами взаимоперекрещивающихся спиц. Перелом диафиза большеберцовой кости осуществляли с помощью методики закрытой флекссионной остеоклазии [11]. Через 5 дней после операции начинали удлинение голени в режиме 1мм в сутки за 4 раза в день по 0,25мм. Дистракция осуществлялась 35 дней. Затем животных разделили на 2 группы. В первой (7 собак) - по окончании дистракции осуществляли одномоментную компрессию регенерата до соприкосновения проксимального и дистального костных отделов регенерата (на высоту срединной соединительнотканной прослойки); во второй группе (10 собак), кроме компрессии, внутривенно вводили орозин (3,68гр. сухого вещества разводили в 300мм 9% изотонического раствора натрия хлорида) [8] - однократно перед компрессией (2 опыта), многократно в периоде фиксации (4 опыта) и многократно на протяжении всего эксперимента (4 опыта). В 7 случаях, где многократно вводили орозин, компрессию регенерата осуществляли через 1-6 дней фиксации после окончания дистракции.

Собак выводили из опыта через 1 день, 15-27 дней фиксации после компрессии и через 1 месяц после снятия аппарата и также через 2-3 недели фиксации после компрессии с применением орозина.

Электрофизиологические исследования проводили с использованием стимуляционной электромиографии (ЭМГ) по общепринятой методике [1] в модификации, предложенной А.П. Шеиным, под внутривенным барбитуратовым наркозом, до начала эксперимента, в конце дистракции и в процессе фиксации. Вызванную биоэлектрическую активность (М-ответы) мышц голени получали в результате раздражения седалищного нерва через игольчатый электрод прямоугольными импульсами длительностью 1 мс с заведомо супрамаксимальной для М-ответов амплитудой. Регистрировали с помощью ЭМГ-системы «DISA-1500» (фирма «DANTEC», Дания). В качестве контроля использовали результаты тестирования мышц в предоперационном обследовании и на контралатеральной конечности.

Морфологические исследования передней большеберцовой и икроножной мышц проведены на светооптическом и ультраструктурном уровнях. Для гистологического исследования препараты, изготовленные из верхней, средней и нижней третей мышцы окрашивали гематоксилин-эозином и по методу Ван-Гизона. Материал для электронно-микроскопического исследования обрабатывали по общепринятой методике. Образцы исследовали с помощью трансмиссионного электронного микроскопа JEM 100B.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Электрофизиологические исследования показали, что в предоперационном периоде асимметрия средних значений амплитуды М-ответов мышц голени справа и слева отсутствует. При дистракции в течение 28 суток М-ответы передней большеберцовой и икроножной мышц оперированной конечности были соответственно снижены на 61,7% и 49,9% от исходного уровня. На 35 сутки дистракции это снижение продолжалось, соответственно, на 72,9% и 76,6% от исходного уровня. После компрессии регенерата средняя амплитуда М-ответа мышц оперированной голени на 14 сутки фиксации остается сниженной и составляет 24,9% и 45,6% от исходного уровня. Приведенные значения амплитуды М-ответа мышц свидетельствуют о снижении их функциональной активности, наиболее выраженной на 35 день дистракции, и 14 день фиксации голени в аппарате, что объясняется интенсификацией физиологической и активизацией репаративной регенерации мышечных волокон, сопровождаемой отчетливым угнетением их функции. К 30-му дню фиксации голени в аппарате появляется тенденция к восстановлению функциональной активности мышц, о чем свидетельствуют цифровые данные, приведенные в таблице.

Морфологические исследования в первой

группе опытов показали, что через 1 сутки фиксации голени в аппарате структура скелетной мышечной ткани передней большеберцовой и икроножной мышц неоднородна. Наряду с участками плотно упакованных мышечных волокон в пучках встречаются очаги реактивно-деструктивных изменений различной степени выраженности. В части мышечных волокон отсутствует поперечная исчерченность, определяются полосы пересокращения миофибрилл. Мышечные волокна различной толщины. В соседствующих мышечных волокнах увеличивается число мышечных ядер и активизированных клеток-сателлитов (рис. 1а). Обращает внимание наличие множества капилляров в эндо- и перимизии, а также значительная извитость коллагеновых структур стромы органа.

Электронномикроскопические исследования показали в большинстве мышечных волокон упорядоченную структуру саркомеров и саркомерулярной системы. Обращает внимание большое количество гликогеновых гранул, и обилие митохондрий с плотно упакованными кристами, расположенных группами между миофибриллами. На отдельных участках, на уровне дистракционного регенерата, встречаются дегенеративно измененные мышечные волокна, в которых наблюдается дисконкомплексация

А-Г дисков, фрагментация миофибрилл, расширение концевых цистерн саркомерной системы. В таких волокнах митохондрии расположены хаотично по всей саркоплазме, матрикс разрежен, в части из них - полностью отсутствуют кристы. (рис. 1б) В подсарколеммальных участках саркоплазма вакуолизирована. В эндомизии нередко встречаются активизированные макрофаги, а также множество капилляров. В некоторых из последних наблюдается значительный пиноцитоз и очаговые уплотнения цитоплазмы эндотелиоцитов. В части мышечных волокон наблюдаются длинные пальцевидные выросты сарколеммы, содержащие эухроматические ядра неправильной формы (по конфигурации сарколеммы), множество мелких митохондрий, трубочки и цистерны аппарата Гольджи, полисомы и гранулы гликогена.

Через 15–27 суток фиксации в аппарате гисто- и ультраструктура мышц остается неоднородной. Встречаются участки деструктивных изменений с центральным расположением ядер, дискомплексацией саркомеров, дезориентацией Т-трубочек и очаговыми скоплениями межфибрилярного и околоядерного гликогена. Много amitotически делящихся ядер. По бокам и на концах мышечных волокон в подсарколеммальных участках саркоплазмы наблюдается активный миофибриллогенез (рис. 1в). Через 1 месяц после снятия аппарата морфологическая структура скелетной мышечной ткани изучаемых мышц, в целом, восстанавливается. Однако на отдельных участках мышечных волокон определяются массивные скопления межфибрилярных митохондрий и гликогеновых гранул (рис. 1г).

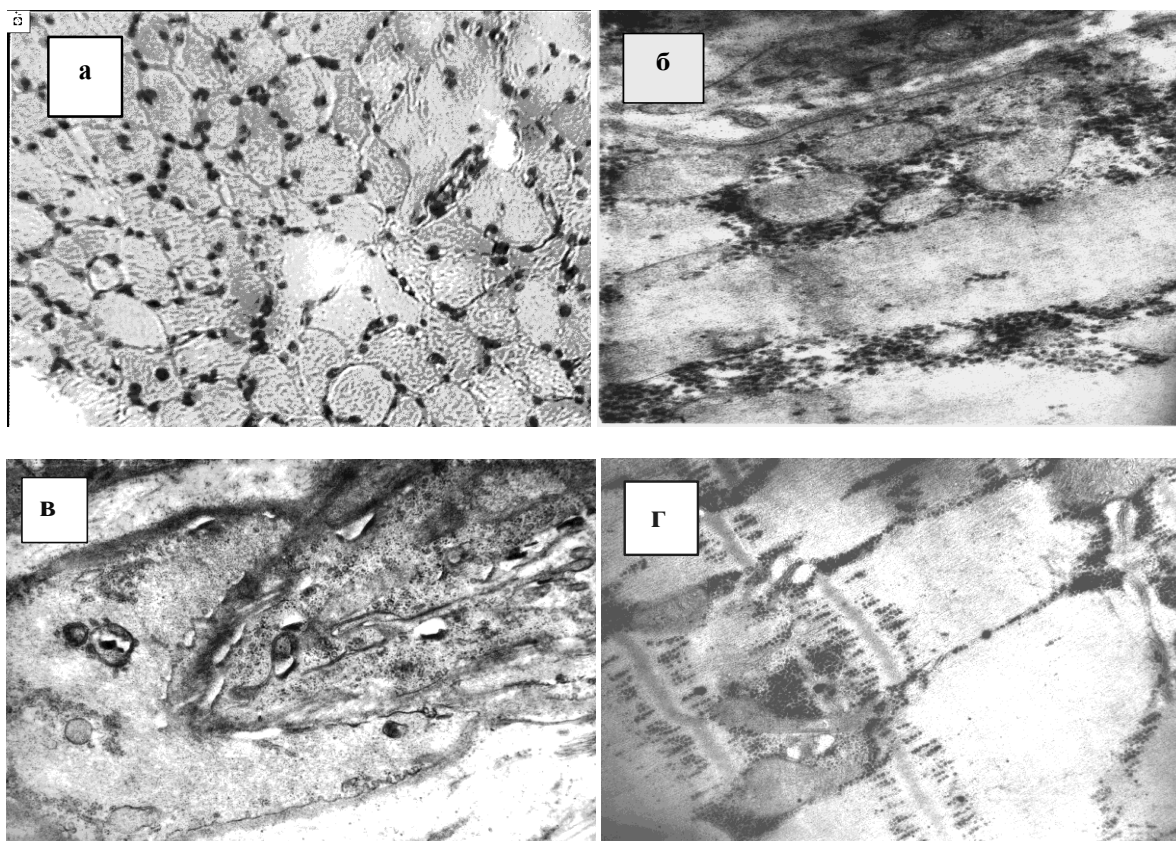


Рис. 1. Динамика морфологических изменений в мышцах голени при дистракции с последующей компрессией костного регенерата.

а – множество активизированных собственных мышечных ядер и клеток сателлитов, обилие капилляров в мышце собаки через 1 день компрессии, ок. 10, об. 6,3;

б – разрежение матрикса митохондрий и обилие гликогеновых гранул в подсарколеммальных и межфибрилярных участках мышечного волокна через 1 день компрессии, х 30 000;

в – множество полирибосом, синтезирующих миофиламенты на конце мышечного волокна, соседствующего с дегенеративно измененным волокном через 15 дней фиксации голени в аппарате, х 30 000;

г – массивные скопления гликогеновых гранул в межфибрилярных пространствах мышечного волокна через 1 месяц после снятия аппарата, х 30 000

Во второй группе опытов при однократном введении орозина в день компрессии, через 2-3 недели фиксации голени в аппарате морфологическая картина строения мышц не отличается от таковой без введения препарата при тех же сроках наблюдения (рис. 2а). В верхней и нижней третях мышцы на отдельных участках отмечается значительная извитость коллагеновых волокон в пучках.

При многократном введении орозина в периоде фиксации, через 2-3 недели фиксации в аппарате, в мышцах наблюдаются умеренно выраженные реактивно-дистрофические изменения мышечных волокон, много пикнотичных ядер, активизированных клеток сателлитов. На отдельных участках отмечается значительное увеличение числа мышечных ядер. В отдельных мышечных волокнах обнаруживаются обширные миосимпласты. Ультраструктура мышечных волокон неоднородная. В большинстве из них отмечается скопление околоядерного гликогена и полирибосом, синтезирующих миофи-

ламенты (рис. 2б). Встречаются отдельные дегенеративно измененные нервно-мышечные синапсы (рис. 2в). В другой части мышечных волокон преобладают регенераторные процессы на концах и по бокам волокон, а также миофибриллогенез внутри волокон (рис. 2г).

При введении орозина на протяжении всего эксперимента через 27 суток фиксации голени в аппарате морфологически структура мышечных волокон приближается к нормальной (рис. 3а). На отдельных участках определяются волокна различной толщины, содержащие множество ядер различной величины и расположения. Внутри отдельных мышечных волокон встречаются миосимпласты. В строме органа наблюдается множество извитых капилляров, заполненных форменными элементами крови (рис. 3б). У многих капилляров просвет расширен. На некоторых участках мышцы усиливается фибробластическая реакция. Определяется значительная извитость коллагеновых волокон в пучках в эндо- и перимизии.

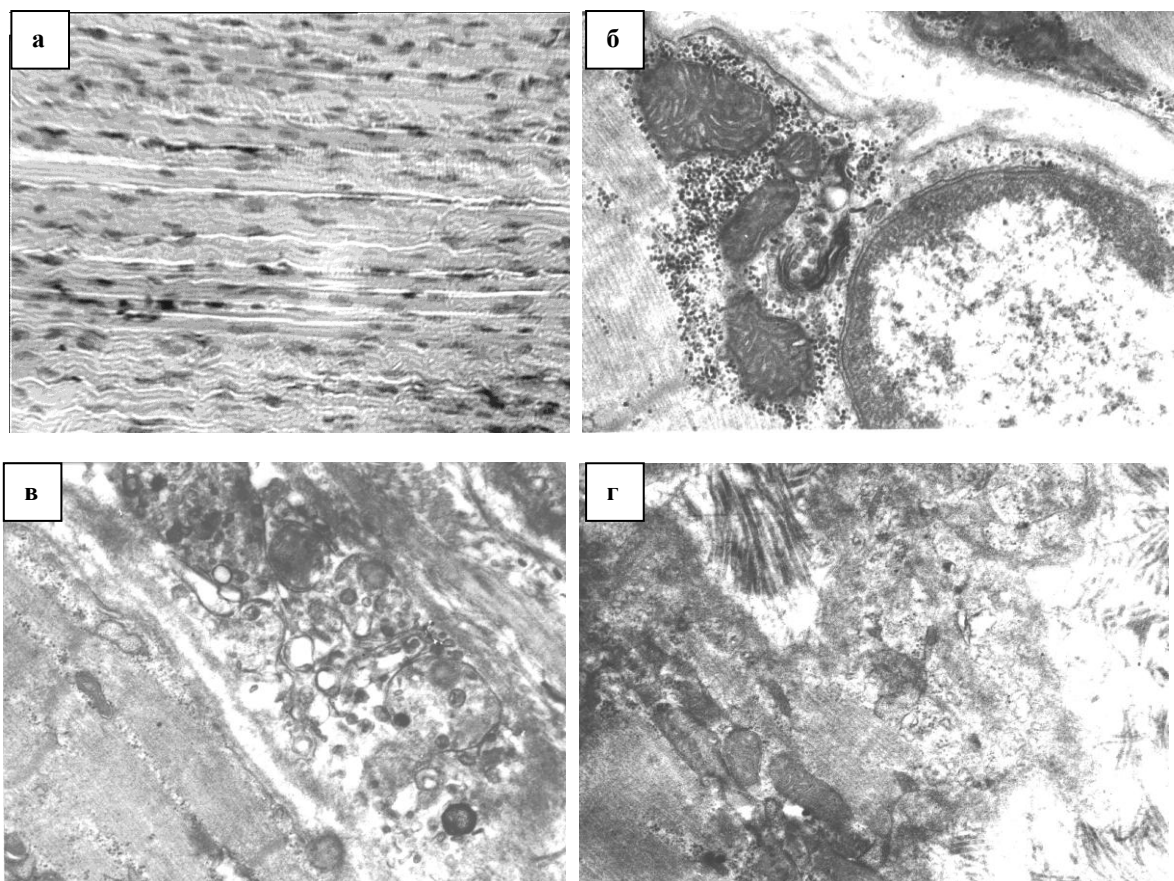


Рис. 2. Динамика морфологических изменений в мышцах голени после компрессии регенерата и введения орозина в периоде фиксации
 а – гистоструктура участка мышечного волокна со множеством ядер., ок.10, об.16;
 б - биосинтез миофиламентов на полисомах в околоядерной зоне мышечного волокна через 3 недели фиксации, х 30 000;
 в - частичная дегенерация свободно лежащего нервно-мышечного соединения через 2 недели фиксации, х 30 000;
 г - активная регенерация на концах двух мышечных волокон через 2 недели фиксации в аппарате, х 30 000

Электронномикроскопические исследования свидетельствуют о значительной гетерогенности структуры мышечных волокон. Встречаются мышечные волокна в гиперфункциональном состоянии: с большими запасами гликогеновых гранул, гиперплазированными митохондриями, активизированными собственными мышечными ядрами, в которых хроматин располагается диффузно или группами по всей кариоплазме, а также с огромными канализированными ядрышками (рис. 3в). По бокам и на концах мышечных волокон появляются длинные интердигитирующие выросты сарколеммы, содержащие активизированные участки саркоплазмы, иногда соединяющие несколько волокон. Часто встречаются дифференцирующиеся молодые мышечные волокна (рис. 3г). В икроножной мышце в

динамике эксперимента описанные морфологические изменения скелетной мышечной ткани были менее выражены, что соответствует динамике амплитуды М-ответов (табл.).

Как было показано ранее, в удлинненной на 20% скелетной мышце к концу периода дистракции имеет неоднородное строение. В ней продолжают процессы репаративной регенерации внутри волокон и новообразование новых мышечных волокон. Такая морфологическая картина меньшей интенсивности сохраняется и через 30 дней фиксации голени в аппарате. Через 3 месяца после снятия аппарата, несмотря на то, что мышца представляется вполне зрелой ультраструктурной организацией, в ней продолжают совершенствоваться элементы сократительного аппарата и проводящей системы.

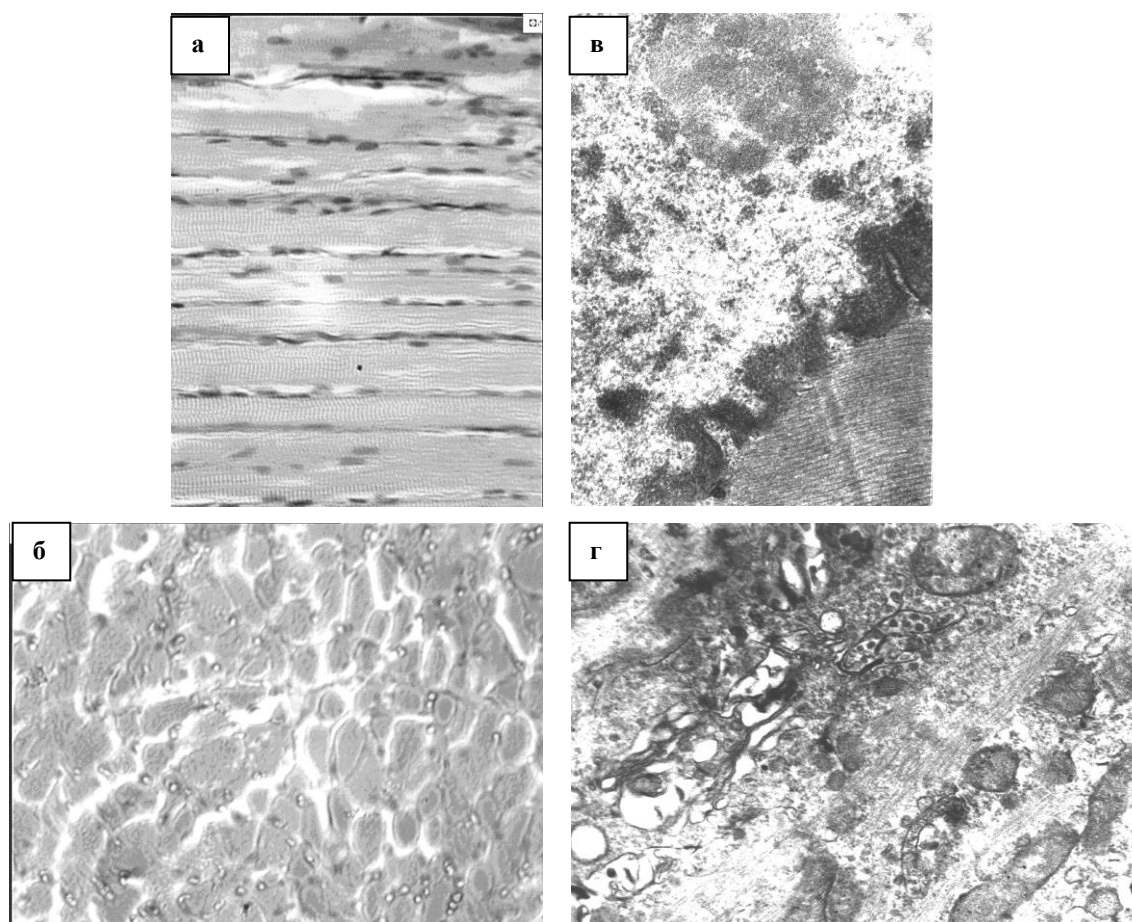


Рис. 3. Динамика морфологических изменений в голени после компрессии регенерата и многократного введения орозина во время удлинения

а - участок нормальной гистоструктуры мышцы через 1 месяц фиксации в аппарате, ок. 10, об. 16;

б - множество капилляров в эндомизии мышечного пучка через 1 месяц фиксации, х 30 000;

в - гофрирование кариолеммы, конденсация гетерохроматина и канализирование ядрышка в ядре мышечного волокна через 1 месяц фиксации, х 30 000;

г - цитодифференцировка новообразованного мышечного волокна: миофибриллогенез и формирование саркотубулярной системы через 1 месяц фиксации голени в аппарате, х 30 000

Таблица.

Динамика средних значений ($M \pm m$) амплитуды М-ответа (мВ) передней большеберцовой и икроножной мышц экспериментальных животных в процессе удлинения голени

Виды эксперимента	До операции		Дистракция (дни)						Фиксация (дни)		
			28		35				14		30
	N	M±m	n	M±m	n	M±m	n	M±m	n	M±m	
M.GASTROCNEMIUS	Оперированная конечность										
Классическое удлинение	7	25,6±2,0	5	12,8±2,5*	4	6,0±0,8* +	3	11,7±1,5* +	3	17,7±1,8* +	
переудлинение с компрессией											
Контралатеральная конечность											
Классическое удлинение	6	24,6±0,9	3	24,7±1,5	4	20,5±2,5	3	25,0±1,5	3	30,0±4,0	
переудлинение с компрессией											
M.TIBIALIS ANTERIOR.	Оперированная конечность										
Классическое удлинение	7	21,4±2,3	5	8,2±2,1* +	4	5,8±1,3* +	3	5,3±1,9* +	3	9,0±3,6* +	
Переудлинение с компрессией											
Контралатеральная конечность											
Классическое удлинение	6	22,5±2,4	5	21,8±2,0	4	24,5±1,9	3	21,7±3,2	3	25,3±4,1	
переудлинение с компрессией											

Примечание: * - различия статистически значимы ($P < 0,05$) по сравнению с исходным уровнем;
+ - различия статистически значимы ($P < 0,05$) по сравнению с контралатеральным значением.

Через 1 сутки после компрессии на уровне дистракционного регенерата в мышцах появляются дегенеративно измененные мышечные волокна, усиливается макрофагальная реакция стромы органа и гибнет часть капилляров микроциркуляторного русла, что, в свою очередь, компенсируется репаративно-регенераторными процессами в виде активного миофибриллогенеза внутри мышечных волокон. В периоде фиксации голени в аппарате и через месяц после снятия аппарата гистологическое строение и ультраструктурная организация мышцы не отличаются от полученных нами ранее данных при дистракционном остеосинтезе [2].

Деформация биологических тканей при дистракции, по мнению ряда авторов, мобилизует в них внутренние силы, мерой которых является возникающее в тканях напряжение растяжения [3]. Одним из основных компонентов морфологического субстрата напряжения растяжения становятся коллагеновые структуры. Активная пролиферация фибробластов, перестройка волоконистых структур и микроциркуляторного русла в фасциях и активизация биосинтетических процессов в теноцитах собственного сухожилия мышцы, находящегося вне зоны дистракции,

свидетельствовали о направленном регенерационном росте коллагеновых структур. Аналогичные явления происходят и в перимизии мышц. Компрессия костного регенерата после удлинения голени вызывает перераспределение напряжения, что проявляется сминанием коллагеновых фибрилл; и архитектура их в строме органа остается измененной до конца периода фиксации голени в аппарате.

Одно и даже трехразовое введение орозина в периоде фиксации не оказывает значительного влияния на морфофункциональное состояние мышц, и морфологическая картина их строения в динамике эксперимента остается такой же, как в первой группе.

При еженедельном применении орозина на протяжении всего эксперимента в строме органа появляется множество функционирующих капилляров. Интенсификация кровообращения в микроциркуляторном русле приводит к активизации репаративных процессов в мышечных волокнах в направлении дифференцировки сухожильных структур, что в свою очередь пролонгирует процессы восстановления органной спецификации мышцы.

ВЫВОДЫ

1. Процессы, происходящие в скелетных мышцах при дистракционно-компрессионном остеосинтезе аппаратом Илизарова, укладываются в наше представление «повреждение ткани – направленный морфогенез тканевых структур; – регенерационный рост». Включаются два механизма регенерации: внутриклеточный (миосимпластический) и клеточный (активизирован-

ные миосателлиты).

2. Одномоментная компрессия дистракционного регенерата обуславливают перераспределение напряжения в тканях мышц, что проявляется гофрированием коллагеновых структур.

3. Парентеральное введение орозина на протяжении периода дистракции и фиксации сглаживает отрицательный эффект гофрирования тканей.

4. Парентеральное введение орозина на протяжении всего эксперимента вызывает значительную интенсификацию кровообращения

микроциркуляторного русла, что активизирует репаративные процессы восстановления органической специфики мышц.

ЛИТЕРАТУРА

1. Байкушев С. и др. Стимуляционная электромиография и электронейрография в клинике нервных болезней / С. Байкушев, Э.Х. Манович, В.П. Новикова. - М., 1974. - 143 с.
2. Шевцов В.И., Чикорина Н.К., Ерофеев С.А. Гистологический анализ морфологических проявлений в скелетных мышцах экспериментальных животных при удлинении голени по Илизарову // Гений ортопедии. - 1999. - №2. - С. 72-75.
3. Илизаров Г.А., Хелимский А.М. Особенности репаративной регенерации при чрескостном компрессионно-дистракционном остеосинтезе // Современные проблемы регенерации. - Йошкар-Ола, 1980. - С. 28-55.
4. Ультроструктурно-стереологический анализ морфогенеза мышц и фасций при удлинении голени по Илизарову / Г.А. Илизаров, Ю.М. Ирьянов, Н.К. Чикорина, С.Н. Асонова // Экспериментально – теоретические и клинические аспекты разрабатываемого в КНИИЭКОТ метода чрескостного остеосинтеза: Тез. докл. Всесоюз. симпозиума. -Курган, 1983. - С. 105-107.
5. Илизаров Г.А., Чикорина Н.К. Электронно-микроскопическое исследование передней большеберцовой мышцы при удлинении голени в эксперименте // Экспериментально – теоретические и клинические аспекты разрабатываемого в КНИИЭКОТ метода чрескостного остеосинтеза: Тез. докл. Всесоюз. симпозиума. - Курган, 1983. - С. 54-56.
6. Илизаров Г.А., Чикорина Н.К., Ирьянов Ю.М. Ультроструктурные особенности регенерации скелетной мышечной ткани при ее дозированном растяжении // Проблемы реактивности и адаптации. - Иркутск, 1984. - С. 40-41.
7. Лютков А.Г., Алешкин В.А., Саломатин В.В. Орозин - препарат для лечения ожогов из крови человека // Производственная трансфузиология в России на рубеже XXI века: Материалы науч.-практ. конф. - М, 1999. - С. 9 –10.
8. Чикорина Н.К. Об источниках роста и регенерации скелетных мышц в условиях дозированного растяжения // Структура и биомеханика скелетно-мышечной и сердечно-сосудистой систем позвоночных: Тез. докл. Республ. конф. - Киев, 1984. - С. 160-161.
9. Шевцов В.И., Попков А.В. Дистракционно-компрессионный остеосинтез при удлинении конечностей аппаратом Илизарова // Травматология и ортопедия России. - 1995. - №1. - С. 35 - 38.
10. Шевцов В.И., Попков А.В. Стимуляция перестройки дистракционного регенерата // Анналы травматологии и ортопедии. -1995. - №2. - С.23-26.
11. Илизаров Г.А., Шрейнер А.А. Новый метод флекссионной остеоклазии (экспериментальное исследование) // Ортопед., травматол. - 1979. - №1. - С. 9-14.

Рукопись поступила 27.03.00.

Предлагаем вашему вниманию



В.И. Шевцов, А.В. Попков
Оперативное удлинение нижних
конечностей
 Москва: Медицина, 1998 – 192с.

В монографии проанализирован мировой опыт по уравниванию укороченных конечностей врожденной и приобретенной этиологии. На основе экспериментальных разработок и клинического опыта Российского научного центра «Восстановительная травматология и ортопедия» имени акад. Г.А. Илизарова расширены современные представления о регенерации тканей конечности в условиях чрескостного дистракционного остеосинтеза. Отражены последние достижения в удлинении конечности, основанные на современных методах исследования. Особый интерес представляют новые клинические данные о состоянии кровоснабжения конечности, обменных процессах и их нейрогуморальном регулировании. Представлены последние методики чрескостного дистракционного остеосинтеза аппаратом Илизарова, классификация, биомеханические основы управления остеосинтезом и регенеративными процессами.