

© Г. А.Илизаров, С. Н. Асонова, 1995

Количественный анализ рост-стимулирующего эффекта напряжения растяжения в фасциях скелетных мышц при удлинении по Илизарову

Г. А. Илизаров, С. Н. Асонова

Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" им. академика Г.А. Илизарова, г.Курган
(Генеральный директор — академик РАМТН, д.м.н., профессор В.И. Шевцов)

Стимулирующее влияние напряжения растяжения на рост соединительнотканых структур показано на примере мышечных фасций удлиняемой конечности у собак. Описаны и количественно оценены изменения в фибробластической популяции и межклеточном матриксе фасций, свидетельствующие об активизации клеточных синтезов и интенсивном процессинге межклеточных структур. Установлено, что в первый месяц distraction преобладают явления роста, а к концу второго месяца distraction — процессы дифференцировки клеток и элементов межклеточного матрикса.

Ключевые слова: напряжение растяжения, рост, мышечные фасции, стереометрия.

Биомеханическими исследованиями установлено, что из мягких тканей конечности, удлиняемой по Илизарову, фасции передней группы мышц испытывают наибольшее влияние растяжения. В периоде distraction это воздействие возрастает, при этом наблюдается равномерное растяжение фасций по их длине [1]. Мышечные фасции, как пленочные соединительнотканые структуры, в условиях дозированного и ориентированного растяжения представляют идеальную модель для из-

учения тонких механизмов стимулирующего эффекта растяжения на рост и формообразование. Ультраструктурные проявления формогенного эффекта напряжения растяжения описаны в нашей предыдущей статье [2]. В данной работе представлены результаты количественного морфологического анализа рост - стимулирующего эффекта напряжения растяжения в мышечных фасциях удлиняемой конечности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследовали собственные фасции передних большеберцовых мышц взрослых собак, которым через 5 дней после закрытой флекссионной остеоклазии производили дозированное удлинение голени по Илизарову с темпом 1 мм в сутки. Материал для электронно - микроскопического изучения фасций брали в средней трети голени по передней поверхности после эктаназии животных, обрабатывали стандартным способом и про-

водили ультраструктурно - стереологический анализ по описанной ранее методике [5]. Количественную оценку реакции основных элементов соединительной ткани фасций — ее фибробластической популяции и структур межклеточного матрикса - производили на материале от 14 животных к концу 1-ой, 2-ой недели, 1-го и 2-го месяца distraction и у взрослых интактных собак.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Рост-стимулирующий эффект напряжения растяжения проявляется в следующих ультраструктурных и количественных изменениях характеристик фибробластической популяции фасций. К концу первой недели distraction объем фибробластов в единице объема ткани фасций увеличивается в 1,7 раза по сравнению с аналогичным параметром у взрослых интактных собак, объем их ядерного и цитоплазматического компартментов в единице объема ткани фасций возрастает соответственно в 3 и 1,4 раза. Отмечается увеличение объемной и поверхностной плотности шероховатого эндоплазматического

ретикулума (ЭПР) (рис. 1).

Изменения в структуре фибробластической популяции фасций к концу 1-ой недели distraction представлены на рис. 2. Они состоят в возрастании объемной доли ее ядерного компартмента в 1,5 раза по сравнению со взрослыми интактными собаками, что свидетельствует об увеличении доли молодых, малодифференцированных клеток с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением, и увеличении объемной доли ЭПР шероховатого типа в 2 раза.

Эти сдвиги в объемных соотношениях цитоплазматических компартментов фиб-

робластической популяции сохраняются и на 14 сутки distraction. К этому сроку наблюдается пик полиморфизма фибробластической популяции фасций в течение всего исследованного периода distraction. Можно выделить следующие типы фибробластов: малодифференцированные и юные фибробласты (располагающиеся, в основном, в периваскулярных зонах микрососудов), умеренно активные и гиперактивные фибробласты (коллагенобласты I и II типов, соответственно [6]) (рис. 3).

На последующие сроки distraction полиморфизм фибробластической популяции фасций несколько снижается. На 28 сутки distraction преобладают активные коллагенобласты I и II типа, а к концу второго месяца distraction основным клеточным типом в фасции является умеренно активный коллагенобласт I типа. Отражением прогрессивной дифференцировки клеток фибробластического ряда после 1-го месяца distraction являются изменения в структуре фибробластической популяции фасций, которые представлены на рис. 2. Они состоят в уменьшении объемной доли ее ядерного компартмента по сравнению с первыми двумя неделями distraction и, следовательно, снижении ядерно-цитоплазматического отношения и числа малодифференцированных клеток. Это сопровождается увеличением объемной доли цитоплазмы и ЭПР - основного цитоплазматического компартмента, определяющего дифференцировку фибробластов в направлении специфических биосинтезов [6].

В исследованном периоде distraction объем фибробластической популяции в единице объема ткани фасций возрастает и достигает своего максимума в 7,5 раз выше, чем значение соответствующего параметра у интактных взрослых собак, на 28 сутки distraction и несколько снижается на 58 сутки distraction (рис. 1). Поверхностная плотность фибробластов постепенно увеличивается в периоде distraction, достигая к концу 2-го месяца максимума, в 5 раз превышающего значение этого параметра у интактных взрослых собак. Поверхностно-объемное отношение фибробластов имеет минимальное значение на 28 сутки distraction и почти в два раза выше к концу 2-го месяца distraction, что количественно подтверждает преобладание крупных гиперактивных клеток на 28 сутки distraction и более дифференцированных фибробластов к концу 2-го месяца удлинения.

Прогрессивное возрастание объема фибробластической популяции в единице объема

ткани фасций в исследованном периоде distraction характеризуется увеличением оценок стереологических параметров основных внутриклеточных компартментов фибробластов - ядерного, цитоплазматического, ЭПР (рис. 1). Динамика объемной, поверхностной плотности и поверхностно-объемного отношения для ядер фибробластов в исследованные сроки distraction аналогична характеру изменений оценок этих же параметров для фибробластов, проходя через пик объемной плотности на 28 сутки distraction (рис. 1).

Возрастание суммарного объема ядерного компартмента фибробластической популяции в единице объема ткани фасций связано как с увеличением объема фибробластов в единице объема ткани, так и с возрастанием относительного объема ядер в единице клеточного объема фибробластов в 2-3 раза, что может быть связано с полиплоидизацией ядерного материала в периоде distraction [7]. В то же время объемная доля ядерного компартмента в структуре фибробластической популяции максимальна в первые две недели distraction и составляет, как уже было показано на рис. 2, 35,68% и 29,74% на 7 и 14 сутки distraction и снижается до 21,96% и 23,07% соответственно на 28 и 58 сутки distraction. Это свидетельствует о преобладании более дифференцированных форм к концу 1-го и 2-го месяца distraction и снижении ядерно-цитоплазматического отношения в процессе этой дифференцировки. На всех исследованных сроках distraction ядерные компартменты фибробластов имеют сходную ультраструктуру, свидетельствующую о высоком уровне ядерных синтезов (рис. 3).

Суммарный объем шероховатого ЭПР — основного биосинтетического органоида цитоплазмы фибробластов — возрастает в единице объема ткани фасций в исследованном периоде distraction (рис. 1), достигая на 28 сутки максимального значения (в 70 раз выше оценок соответствующего параметра у взрослых интактных собак) и несколько снижается к концу 2-го месяца distraction. Увеличение объемной плотности ЭПР в периоде distraction связано как с возрастанием объемной плотности фибробластов, так и с увеличением относительного объема ЭПР в единице клеточного объема фибробластов, также достигающего максимального значения (в 10 раз выше, чем у интактных взрослых собак) на 28 сутки distraction.

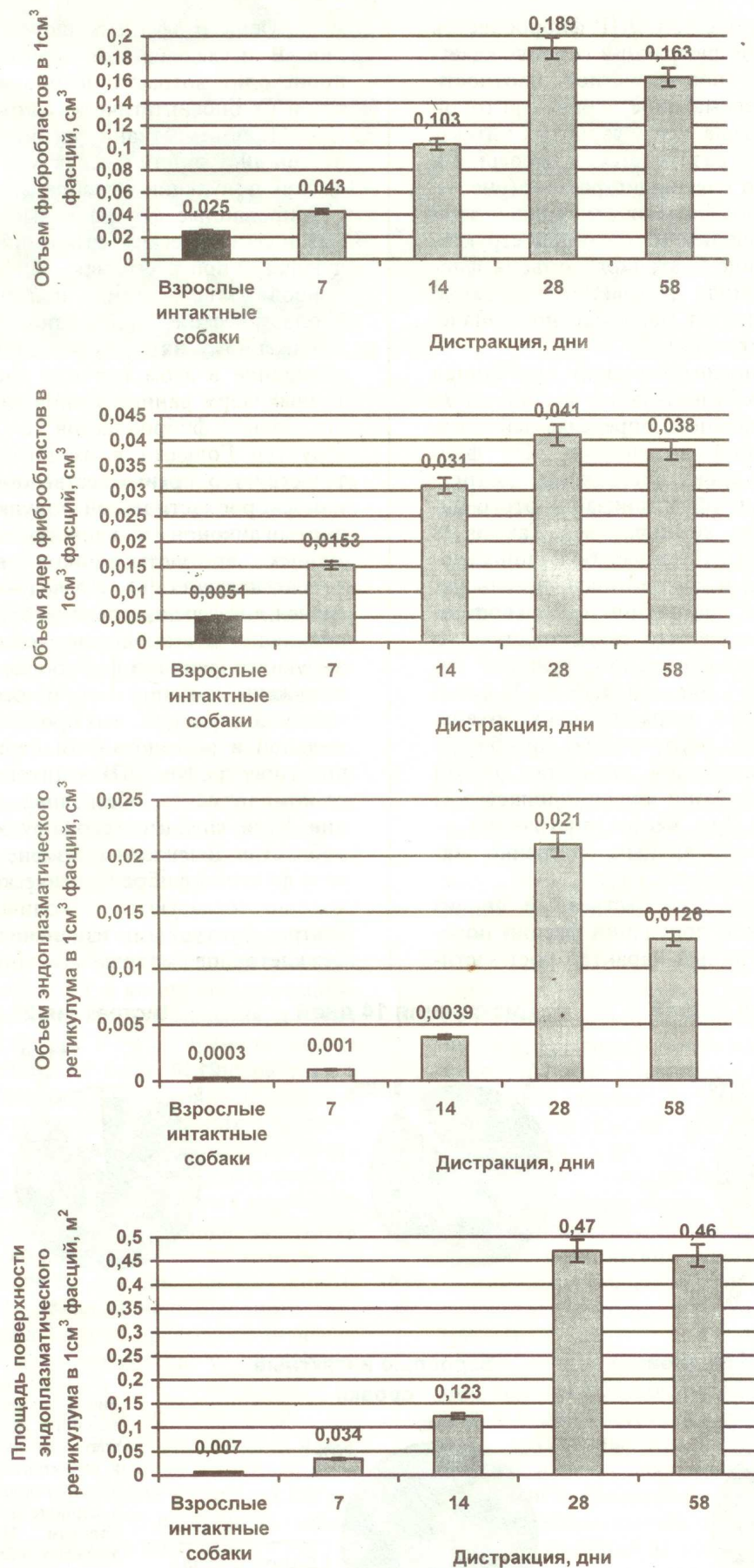


Рис.1. Динамика биосинтетической активности фибробластов фасций в периоде дистракции аппаратом Илизарова у взрослых собак.

Гипертрофия цистерн ЭПР фибробластов фасций в периоде дистракции сопровождается возрастанием поверхностной плотности его мембран, максимальное значение которой почти в 70 раз выше, чем у взрослых интактных собак и не различается достоверно к концу 1-го и 2-го месяца дистракции (рис. 1). При этом относительная площадь этой основной работающей мембранной структуры ЭПР в единице клеточного объема фибробластов в периоде дистракции постоянно нарастает и достигает максимального значения к 58 дню дистракции.

Сходный биосинтетический потенциал фибробластической популяции фасций на 28 и 58 сутки дистракции, определяемый сходной поверхностной плотностью ЭПР фибробластов в эти сроки дистракции, достигается путем различной организации этого цитоплазматического компартмента. Так, на 28 сутки дистракции ЭПР имеет больший относительный объем и соответственно меньшее, чем на 58 сутки дистракции поверхностно-объемное отношение, что свидетельствует о преобладании накопительной функции гипертрофированных цистерн ЭПР на 28 сутки дистракции за счет возрастания их объема. Это количественно подтверждает преобладание в фибробластической популяции фасций на 28 сутки дистракции коллагенобластов II типа, а к концу 2-го месяца дистракции — более дифференцированных, умеренно активных коллагенобластов I типа.

Таким образом, количественный анализ фибробластической популяции фасций показал пролонгированный характер роста - сти-

мулирующего эффекта напряжения растяжения. В исследованном периоде дистракции происходит возрастание объема фибробластов и их биосинтетических компартментов в единице объема ткани фасций. В первые две недели дистракции в структуре фибробластической популяции преобладают малодифференцированные формы с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением. Их последующая прогрессивная дифференцировка приводит к возрастанию полиморфизма фибробластической популяции, максимально выраженному на 14 сутки дистракции. Преобладание в этом периоде дистракции клеточных форм ранних этапов дифференцировки, юных фибробластов с гипертрофией структур Гольджи в их цитоплазме свидетельствует о преимущественной специализации фибробластической популяции в синтезе протеогликонов и гликопротеинов, структурных предшественников внеклеточного коллагеногенеза [6]. Последующая прогрессивная дифференцировка фибробластической популяции и становление коллаген - продуцирующей функции фибробластов отчетливо выражены к концу 1-го и, особенно, 2-го месяца дистракции, что проявляется в максимальной в исследованном периоде дистракции гипертрофии ЭПР - цитоплазматического компартмента, обеспечивающего реализацию этой специфической функции коллагенобластов. Выявленные изменения в структуре и функции фибробластической популяции хорошо согласуются с количественными и ультраструктурными изменениями элементов межклеточного матрикса фасций.



Рис. 2. Изменения относительного объема внутриклеточных компартментов в структуре фибробластической популяции фасций в периоде дистракции аппаратом Илизарова у взрослых собак.

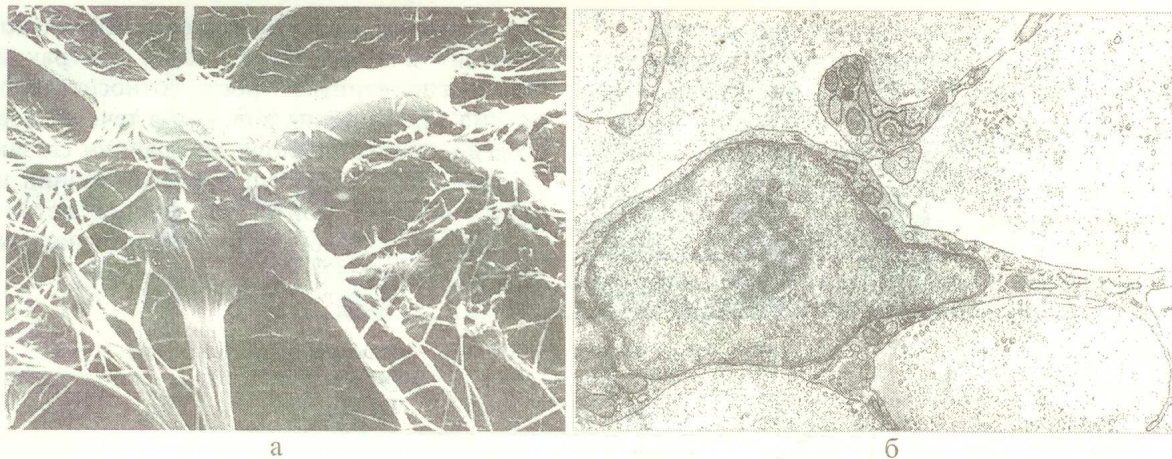


Рис. 3. Цитоархитектоника (а) и ультраструктура (б) активированных фибробластов фасций на 14 сутки дистракции: а) сканограмма, х 13390, б) электронограмма, х 14300.

Под влиянием напряжения растяжения в периоде дистракции наблюдаются изменения в ультраструктуре и количественном содержании элементов межклеточного матрикса, свидетельствующие об их активном новообразовании. На 7 сутки дистракции объемная плотность коллагеновых фибрилл достоверно снижается (рис. 4), а объемные плотности основного вещества и эластических волокон достоверно возрастают, соответственно в 2,9 и 1,6 раза (рис. 5). Эти обратные тенденции в изменении относительного объема основного (коллагеновые фибриллы — КФ) и минорных (основное вещество, эластические волокна — ОВ и ЭВ, соответственно) компонентов межклеточного матрикса отмечаются до 28 суток дистракции.

Объемная плотность коллагеновых фибрилл снижается в течение 1-го месяца дистракции и достигает к концу его минимального в периоде дистракции значения, а затем начинает возрастать. В то же время объемная плотность основного вещества возрастает в течение 1-го месяца дистракции, достигая к концу его максимального значения в периоде дистракции — в 5,3 раза выше значения соответствующего параметра у взрослых интактных собак, и затем резко снижается к концу 2-го месяца дистракции. Объемная плотность эластических волокон растет в течение всего исследованного периода дистракции, достигая к концу 2-го месяца максимального значения, которое в 3,4 раза превышает значение соответствующего параметра у интактных взрослых собак (рис. 5).

Эти количественные данные свидетельствуют о сдвиге в периоде дистракции в новообразовании структур межклеточного матрикса — активная продукция минорных структур (ОВ, ЭВ) предшествует во времени периоду увеличения относительного объема коллагеновых структур.

Отмеченную тенденцию подтверждают и вторичные стереологические параметры,

определяющие отношение объемов основного вещества и эластических волокон к объему коллагеновых фибрилл в единице тестового объема ткани фасций и относительный объем всех компонентов межклеточного матрикса (КФ, ОВ, ЭВ) в единице объема межклеточного вещества фасций.

Так, объем основного вещества, приходящийся на объем коллагеновых фибрилл в 1 см³ фасций, и объем основного вещества, содержащийся в единице объема межклеточного матрикса возрастают в течение 1-го месяца дистракции, достигая максимальных значений на 28 сутки, соответственно в 9,6 и 7,9 раза превышающих значение этого параметра у взрослых интактных собак, и затем к концу 2-го месяца дистракции снижаются (рис. 5).

Объем эластических волокон, приходящийся на объем коллагеновых фибрилл в 1 см³ фасций и содержащийся в единице объема межклеточного матрикса фасций, постоянно нарастает в периоде дистракции, достигая максимальных значений к концу 2-го месяца, соответственно в 4,4 и 4,0 раза превышающих значение этого параметра у взрослых интактных собак (рис. 5).

Объем коллагеновых фибрилл в единице объема межклеточного матрикса снижается в течение 1-го месяца дистракции, достигая минимального значения на 28 сутки, и затем возрастает к концу 2-го месяца дистракции (рис. 4).

Эти данные свидетельствуют о преобладании синтеза протеогликонов и гликопротеинов в первый месяц дистракции. На основе этих структурных предшественников [6] происходит интенсификация внеклеточного фибриллогенеза коллагеновых структур, что проявляется возрастанием объемной доли коллагеновых фибрилл к концу 2-го месяца дистракции.

Таким образом, рост-стимулирующий эффект напряжения растяжения на структуры

межклеточного матрикса фасций проявляется в активном их новообразовании в течение всего исследованного периода дистракции. Причем активная продукция основного вещества, представленного структурными гликопротеинами и протеогликанами [6], предшественниками коллагеногенеза, максимально выражена в течение 1-го месяца дистракции и предшествует во времени периоду увеличения относительного объема коллагено-

вых структур, достигающего максимального значения к концу 2-го месяца дистракции. Пролонгированный рост относительного объема эластических волокон в течение всего исследованного периода дистракции связан с участием этих структур в формировании цитостромальных контактов фибробластов и реализации формогенного эффекта напряжения растяжения [2].

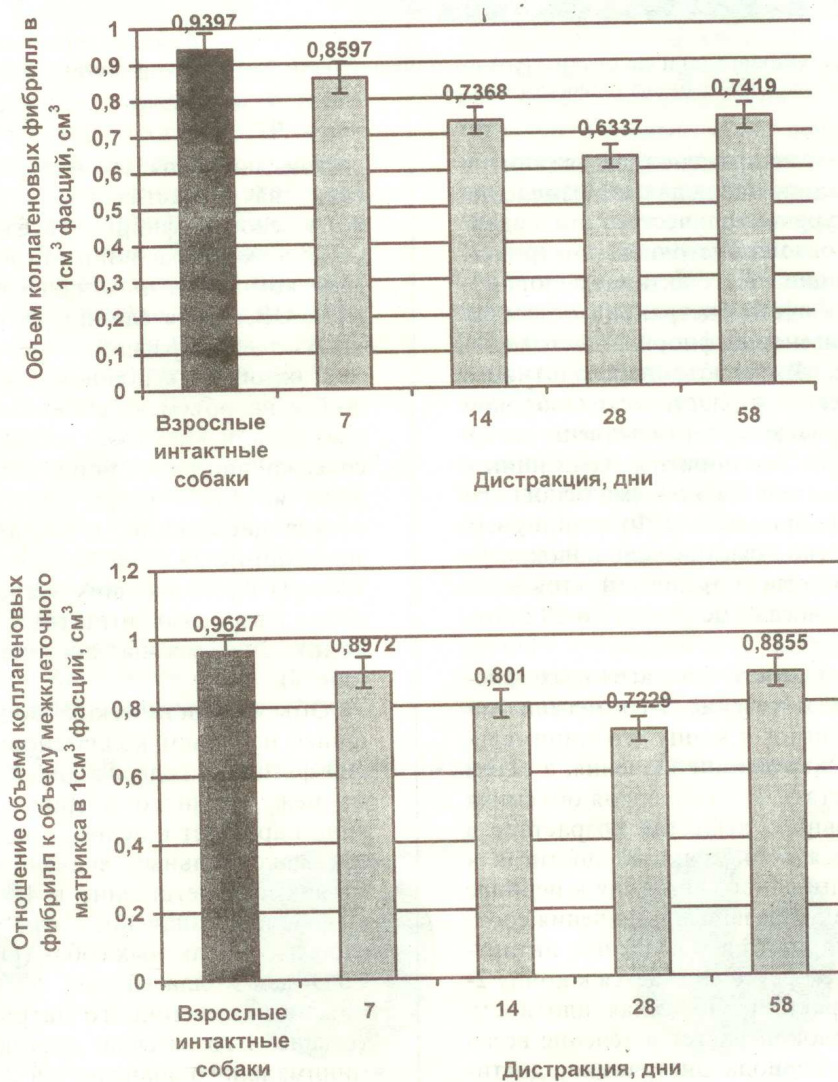


Рис. 4. Динамика относительного объема коллагеновых фибрилл фасции в периоде дистракции аппаратом Илизарова у взрослых собак.

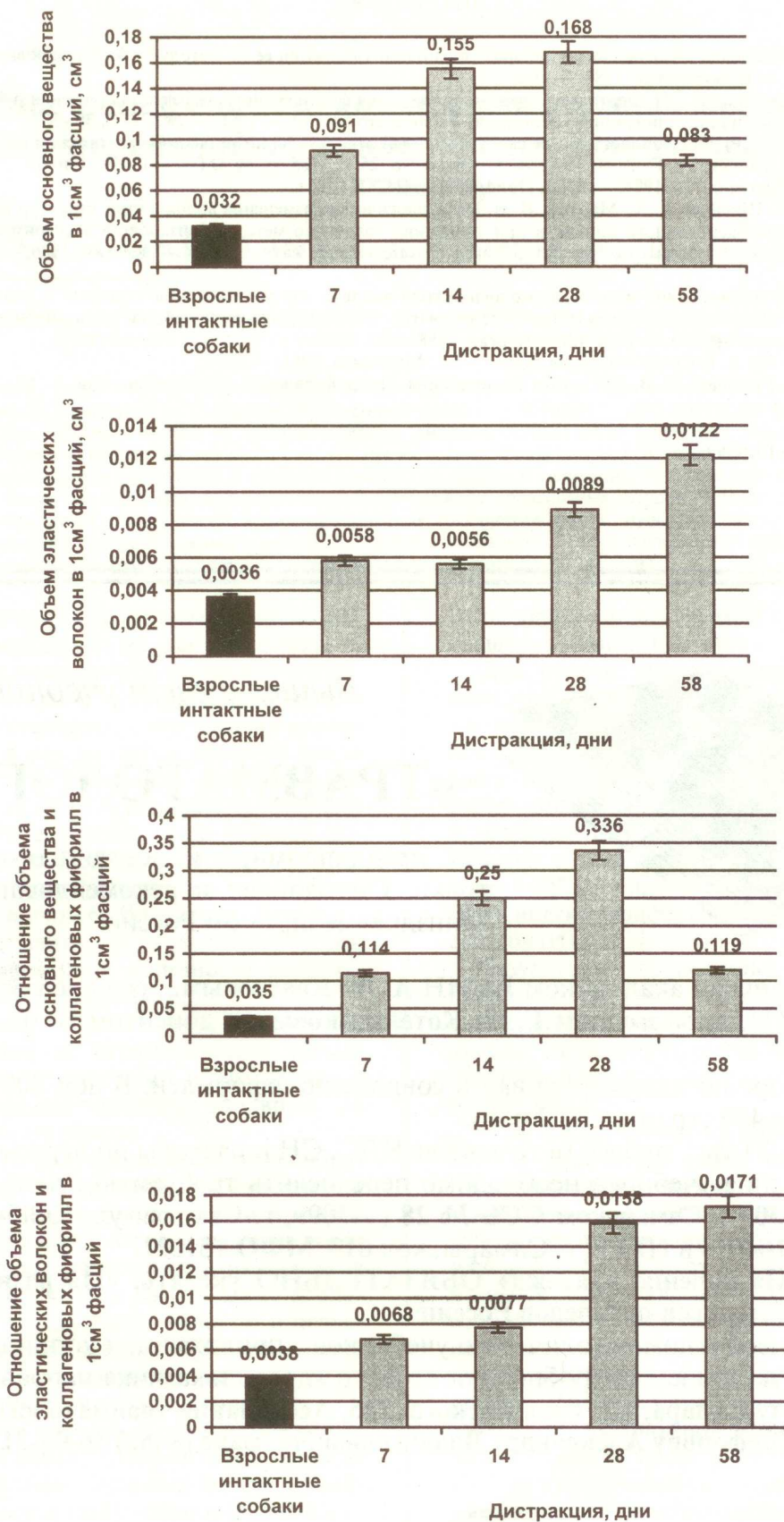
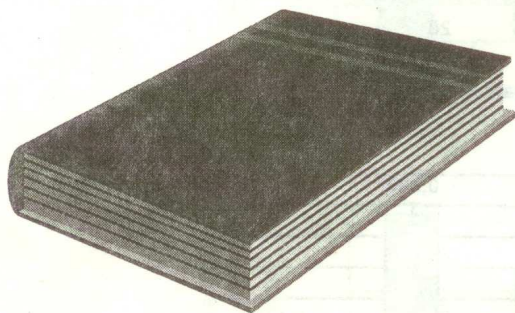


Рис.5. Динамика относительного объема основного вещества и эластических волокон фасций в периоде дистракции аппаратом Илизарова у взрослых собак.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дьячкова Г. В. Мышечно - фасциальный аппарат голени при удлинении ее по методу Г. А. Илизарова: Автореф. дис... канд. мед. наук. — Новосибирск, 1982. — 16 с.
2. Илизаров Г. А., Асонова С. Н. Ультраструктурные проявления формогенного эффекта напряжения растяжения в фасциях скелетных мышц при удлинении по Илизарову // Гений ортопедии. — 1996. — №2. — С. 30 - 37.
3. Диплом № 355 (СССР). Общебиологическое свойство тканей отвечать на дозированное растяжения ростом и регенерацией (эффект Илизарова) / Г. А. Илизаров. — Заявлено 25.12.1985 г. № ОТ. — 11271; Оpubл. 23.IV.1989; Бюл. "Открытия, изобретения." — 1989. — № 15; Приоритет от 24.XI. 1970 г.
4. Шеховцова Н. С., Шрейнер А. А., Мартель И. И. Морфологические изменения волокнистых структур и гемомикроциркуляторного русла фасциального аппарата при удлинении голени по методу Илизарова в эксперименте // Чрескост. компрес. - дистракц. остеосинтез в травматологии и ортопедии: Сб. науч. трудов. — Курган, 1986. — Вып. XI. — С. 138-145.
5. Асонова С. Н. Использование метода стереологического анализа для исследования тканевых и ультраструктурных характеристик соединительной ткани // Значение открытых Г.А.Илизаровым общебиол. закономерностей в регенерации тканей: Сб. науч. трудов. — Вып. 13. — Курган, 1988. — С. 50-55.
6. Серов В. В., Шехтер А. Б. Соединительная ткань. — М.: Медицина, 1981. — 312 с.
7. Бродский В. Я., Урываева И. В. Клеточная полиплоидия. Пролиферация и дифференцировка. — М.: Наука, 1981. — 259 с.

Рукопись поступила 15.10.92 г.



Вышел в свет учебник

«ТРАВМАТОЛОГИЯ»

для преддипломной и постдипломной подготовки. Он одобрен и рекомендован к печати Минздравмедпромом России.

Учебник написан академиком РАМН **А. Ф. Красновым** и его учениками: академиком РАМТН, профессором **Г. П. Котельниковым** и доцентом **В. Ф. Мирошниковым**

Учебник хорошо иллюстрирован и современно оформлен. В нем 200 схем и рисунков, объем 450 страниц (30,2 п.л.).

Стоимость 33 тыс. рублей (в том числе НДС, СН и расходы по пересылке).

Для получения учебника необходимо перечислить требуемую сумму на расчетный счет **367301 в Самарском ОСБ № 28** (443099, г. Самара, ул. Куйбышева, 93), кор. счет **600164013 в ЦРКЦ г. Самары, код 613, МФО 151001**.

В графе «Назначение платежа» ОБЯЗАТЕЛЬНО указать: «На развитие Ассоциации травматологов-ортопедов России».

Заявку на необходимое количество учебников с приложением копии платежного поручения и указанием подробного почтового адреса заказчика направлять по адресу: **443013, г. Самара, ул. Тухачевского, 226, Ассоциация травматологов - ортопедов России, Трифонову Александру Владимировичу, факс (8462) 36-09-31.**