

**Количественный анализ тканевой организации
передней большеберцовой мышцы в условиях
чрескостного остеосинтеза после открытой остеотомии
бедренной кости и микрохирургической реконструкции
пересеченной бедренной артерии у собак**

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

***Quantitative analysis of tissue organization of the anterior tibial
muscle under transosseous osteosynthesis after open femoral
osteotomy and microsurgical reconstruction of canine intersected
femoral artery***

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

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)

Через 70 дней после пересечения и микрохирургического восстановления бедренной артерии собаки в передней большеберцовой мышце выявлено увеличение численной плотности мышечных волокон и микрососудов; объёмные отношения "мышечные волокна/микрососуды/эндомизий" не отличались от нормы. Сочетание травмы артерии с остеотомией бедренной кости приводило к более выраженному увеличению численной плотности микрососудов и мышечных волокон к 70 дню после остеосинтеза бедренной кости и микрохирургической реконструкции артерии. При этом достоверно уменьшалась объёмная доля мышечных волокон и увеличивалась объёмная доля микрососудов и эндомизия. Применение distraction после костно-сосудистой травмы приводило к ещё большему увеличению численной плотности микрососудов и особенно мышечных волокон, но стромально-паренхиматозные отношения через 70 дней после операции менялись в меньшей степени, чем в серии с нейтральным остеосинтезом. Делается вывод о стимуляции прироста численности мышечных волокон в передней большеберцовой мышце при distraction бедра после костно-сосудистой травмы.

Ключевые слова: переломы, ранения артерий, мышцы, морфометрия.

Increase of numerical density of muscular fibers and microvessels was revealed in the anterior tibial muscle 70 days after intersection and microsurgical restoration of canine femoral artery; "muscular fibers / microvessels / endomysium" volumetric ratios didn't differ from the norm. Combination of arterial trauma with femoral osteotomy led to more marked increase of numerical density of microvessels and muscular fibers by 70-th day after femoral osteosynthesis and microsurgical arterial reconstruction. Besides, volumetric part of muscular fibers decreased and that of microvessels and endomysium increased significantly. Distraction use after osteovascular trauma led to still more increase of numerical density of microvessels and particularly muscular fibers, but stroma-parenchyma relations changed to a lesser extent in comparison with the series of neutral osteosynthesis 70 days after surgery. The conclusion is made about increase stimulation of muscular fiber numbering in the anterior tibial muscle during femoral distraction after osteovascular trauma.

Keywords: fractures, injuries of arteries, muscles, morphometry.

ВВЕДЕНИЕ

Повреждения сосудов, сочетающиеся с переломами костей, даже в мирное время дают высокий уровень инвалидности: по данным разных авторов, от 10 до 40% пострадавших подвергаются ампутациям [7]. Высокий процент ампутаций обусловлен несколькими факторами, наиболее значимыми принято считать ошибки в диагностике сосудистых повреждений и тяжесть травмы мягких тканей. Углубление теоретиче-

ских представлений о патогенезе ишемии-реперфузии и компартмент-синдрома, совершенствование организации и развитие лечебно-диагностической помощи, прогресс в лечении сложных переломов и внедрение микрохирургической техники в травматологию способствуют снижению количества ампутаций, но процент осложнений остаётся большим [7, 8, 9]. Высокий уровень хронической болезненности

отмечается у пациентов, которым в результате успешной реваскуляризирующей операции удалось сохранить конечность. По данным М.М.S.Al-Salman et al. [7], наиболее частой проблемой у таких больных является периферический нейросенсорный и моторный дефицит. Клинически выраженная ишемическая нейро- и миопатия чаще всего развивается при повреждениях плечевой, реже – бедренной артерии даже в отсутствие костной травмы [3].

М.Г. Гончарь и Е.П. Мельман [2] исследовали изменения мышечного кровотока и ультраструктуры мышечных волокон и капилляров при пересечении бедренных сосудов, наложении жгута и последующем восстановлении магистрального кровотока у собак, что, по мнению авторов, позволило разработать методы профилактики постишемических расстройств, вызванных синдромом включения. Экспериментальных исследований, раскрывающих специфику костно-сосудистой травмы, в доступной литературе нам встретить не удалось. Повреждение кости, как

известно, вызывает выраженные изменения нейро-гуморального состояния организма, прежде всего – уровня секреции кальцитонина и связанных с его геном вазоактивных пептидов [1]. В этой связи возникает вопрос: одинаковы ли условия морфо-функционального восстановления мышц, кровоснабжаемых повреждёнными и затем анастомозированными артериями, при их изолированных и при сочетающихся с переломами костей травмах. Мы предполагали, что разрешить этот вопрос необходимо в исследовании на такой экспериментальной модели, в которой влияние синдрома ишемии-реперфузии сведено к минимуму.

Цель работы: сравнительное изучение количественных параметров тканевой организации передней большеберцовой мышцы в экспериментах с микрохирургическим восстановлением пересеченной магистральной артерии при её изолированной травме и сочетающейся с нарушением целостности кости, в условиях применения нейтрального и дистракционного остеосинтеза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на 15 взрослых беспородных собаках. Операции выполняли в асептических условиях под внутривенным комбинированным наркозом. В первой серии (n=4) после проекционного доступа к поверхностной бедренной артерии выполняли артериотомию и микрохирургический циркулярный шов. Использовали инструментарий фирмы «Aescular», нити 8/0-10/0 на круглой атрауматической игле диаметром 75-130 мкм фирмы «Ethicon», операционный микроскоп фирмы «Opton» (увеличение от 8х до 32х). Во второй (n=4) и третьей (n=7) сериях пересечение и анастомозирование артерии осуществляли после открытой остеотомии бедренной кости и остеосинтеза спице-стержневым аппаратом. Период окклюзии артерии варьировал от 25 до 40 минут. Срок эксперимента в 1 и 2 сериях составил 70 дней после операции. В третьей серии через 7 дней после операции начинали удлинение бедра дистракцией с суточным темпом 0,5-0,75 мм за 2-3 приёма, которое проводили в течение 35 дней, после чего следовал период фиксации в аппарате – 28 дней. Срок эксперимента в 3 серии у 2 животных составил 42 дня (конец дистракции), а у 5 – 70 дней (28 дней фиксации). Передозировкой барбитуратов животных выводили из опыта.

Максимально быстро (до 15 минут после остановки сердцебиения) лезвием безопасной бритвы из средней трети передней большеберцовой мышцы иссекали кусочки объёмом 1 мм³ и помещали их в жидкий азот. Поперечные срезы толщиной 12-15 мкм получали в криостате. Гистохимически в них выявляли активность миозиновой АТФ-азы по Paducula-Herman в модификации З. Лойда [4]. Условным контролем служили мышцы контрлатеральной конечности. При сравнениях с нормой использовали материал от 3 интактных собак.

Для количественных исследований применяли проекционный микроскоп «Визопан» фирмы «Reichert Jung» (Австрия), на матовый экран которого при увеличении 480х проецировали изображения препаратов, совмещая их с тестовой решёткой коротких отрезков [6]. Проводили точко-счётную объёмометрию мышечных волокон, микрососудов и эндомизия. Оценивали поверхностную плотность мышечных волокон и микрососудов, число профилей микрососудов и мышечных волокон в тестовом поле зрения [5]. После тестирования выборок на характер распределения определяли достоверность различий по t-критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Во всех опытах в препаратах передней большеберцовой мышцы отчётливо выявлялись микрососуды. В препаратах второй и особенно третьей серии было заметно увеличение численности и диаметра микрососудов по сравне-

нию с первой серией (рис. 1).

По интенсивности реакции на АТФ-азу во всех опытах выделялись два основных типа мышечных волокон: тёмно-окрашенные – с высокой активностью фермента и относительно

светлые - с низкой активностью фермента. Отчётливая дифференцировка волокон на типы сама по себе позволяла исключить наличие выраженной ишемии. Вместе с тем обращал на себя внимание тот факт, что в опытах с костно-сосудистой травмой среди волокон с высокой АТФ-азной активностью явно преобладали во-

локна малого диаметра, а волокна с низкой АТФ-азной активностью были в основном крупнее, чем в опытах первой серии, что предположительно можно ассоциировать с пониженной статико-динамической нагрузкой оперированной конечности.

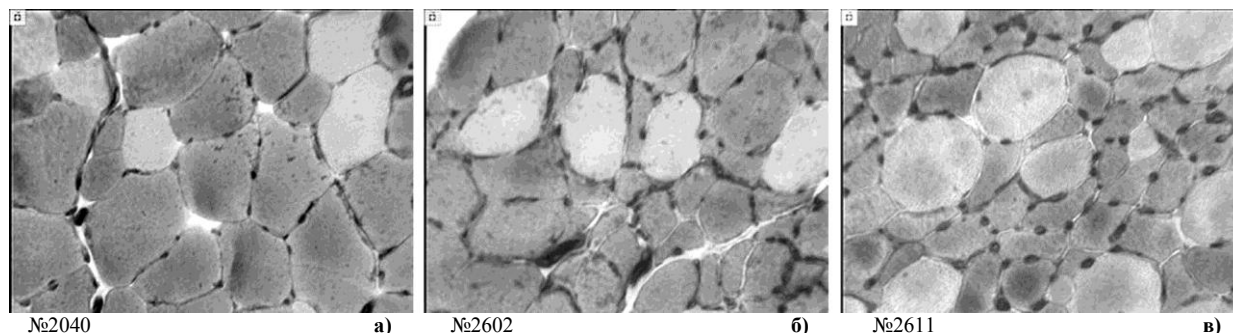


Рис. 1. Активность миозиновой АТФ-азы в передней большеберцовой мышце в эксперименте с моделированием костно-сосудистой травмы: а) контроль 1 – микрососудистый шов бедренной артерии; б) контроль 2 – микрососудистый шов артерии на фоне нейтрального остеосинтеза; в) серия III – дистракционный остеосинтез бедра в сочетании с микрохирургическим швом бедренной артерии.

Таблица 1.

Результаты гистоморфометрии передней большеберцовой мышцы в экспериментах с пересечением и микрохирургическим швом бедренной артерии и при сочетании этого повреждения с нарушением целостности бедренной кости в условиях применения нейтрального и дистракционного остеосинтеза.

Параметры (серия, срок)	Мышечные волокна			Микрососуды			Эндомизий
	Vv (см ³ /см ³)	Sv (см ² /см ³)	NA (см ⁻²)	Vv (см ³ /см ³)	Sv (см ² /см ³)	NA (см ⁻²)	Vv (см ³ /см ³)
Оперированная конечность							
Серия 1 70 дней	0,903±0,004 ***	928,5±37,1 *	854±23 *** ΔΔΔ	0,027±0,004 ***	101,8±15,3	844±26 ΔΔΔ	0,070±0,011 ***
Серия 2 70 дней	0,808±0,008 ΔΔΔ	1044,5±33,8 ΔΔΔ	979,3±29,7 ΔΔΔ	0,052±0,005 ΔΔΔ	126,1±30,1	869±40 ΔΔΔ	0,143±0,008 ΔΔΔ
Серия 3 Дистракция 35 дней	0,864±0,004 ΔΔΔ	1093,3±45,7 ΔΔΔ	1036,0±40 ΔΔΔ	0,037±0,005 ΔΔ	133,5±13,0 ΔΔ	990±52 ΔΔ	0,120±0,006 ΔΔΔ
Серия 3 Фиксация 28 дней	0,887±0,004 □□□ ΔΔΔ	1064,1±37,9 ΔΔΔ	1207,0±42 □□□ ΔΔΔ	0,026±0,004 □□□ ΔΔΔ	107,5±12,1 ΔΔΔ	985±39 □ ΔΔΔ	0,120±0,006 □□□ ΔΔΔ
Интактная серия	0,908±0,002	888,1±11,3	504,0±7,0	0,026±0,001	103,2±4,3	703±8,2	0,066±0,002
Контралатеральная конечность							
Серия 1 70 дней	0,903±0,004	932,3±35,5	838±24	0,029±0,004	119,5±13,6	834±32	0,067±0,005
Серия 2 70 дней	0,867±0,009	927,3±24,0 ¥¥	877,0±24,0 ¥¥¥	0,045±0,005	93,1±13,0	919±35 ¥¥	0,110±0,008 ¥¥
Серия 3 Дистракция 35 дней	0,857±0,008	984,2±39,2	986,0±34,0	0,040±0,005	120,4±12,6	1138±46 ¥	0,104±0,008
Серия 3 Фиксация 28 дней	0,916±0,004 ¥¥¥	914,0±31,4 ¥¥	892,0±29,0 ¥¥¥	0,028±0,003	105,6±11,5	970±41	0,056±0,005 ¥¥¥

* – различия достоверны между: 1 и 2 сериями; □ – 2 и 3 (фиксация 28 дней) сериями; Δ – оперированной конечностью и интактной нормой; ¥ – оперированной и контралатеральной конечностями. Три знака – P<0,001; два знака – P<0,01; один знак – P<0,05.

Как видно из таблицы 1 и рис. 2, объёмная и поверхностная плотности мышечных волокон передней большеберцовой мышцы оперированной конечности в опытах 1 серии достоверно не отличаются от интактной и контралатеральной.

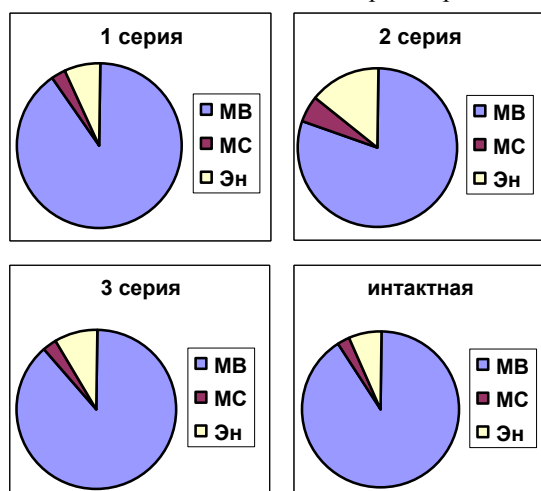


Рис. 2. Диаграммы объёмных отношений мышечных волокон (МВ), микрососудов (МС) и эндомизия (Эн) в передней большеберцовой мышце в экспериментальных и интактной сериях.

Во 2 серии объёмная плотность мышечных волокон в мышце оперированной конечности достоверно ниже, а поверхностная - достоверно выше, чем в интактной серии.

В 3 серии объёмная плотность мышечных волокон достоверно, а поверхностная - незначительно выше, чем во 2 серии. Однако по сравнению с интактной и контралатеральной мышцами объёмная плотность мышечных волокон достоверно ниже; кроме того, в контралатеральной мышце этот параметр недостоверно выше, чем в интактной. Поверхностная плотность мышечных волокон в мышце оперированной конечности достоверно выше, чем в интактной мышце.

Объёмная плотность микрососудов в передней большеберцовой мышце в экспериментах 1 серии не отличается от интактной и контралатеральной.

Во 2 серии объёмная плотность микрососудов почти в 2 раза выше, чем в 1 серии и по сравнению с интактной нормой, однако статистически значимых отличий между оперированной и контралатеральными конечностями по этому параметру нет.

Объёмная плотность микрососудов передней большеберцовой мышцы в 3 серии достоверно ниже, чем во второй и не имеет значимых отличий от интактной нормы и 1 серии; мышцы оперированной и контралатеральной конечностей по этому параметру в экспериментах 3 серии также не различаются.

По объёмной доле эндомизия передняя большеберцовая мышца оперированной конечности в экспериментах 1 серии достоверно не

отличается от контралатеральной и интактной.

Во 2 серии объёмная доля эндомизия в передней большеберцовой мышце значимо выше интактной нормы, достоверно выше на оперированной конечности, чем на контралатеральной и в 3 серии.

В 3 серии через 70 дней после операции объёмная доля эндомизия достоверно ниже, чем во второй, но выше, чем в 1 серии и в интактной мышце. Между опытной и контралатеральными конечностями различия по этому параметру недостоверны. При сравнении сроков 70 и 42 дня после операции можно отметить, что за период фиксации объёмные доли микрососудов и эндомизия уменьшились, а доля мышечных волокон увеличилась.

Таким образом, в условиях 1 серии объёмные отношения мышечных волокон, микрососудов и эндомизия не отличаются от интактной нормы. Во 2 серии в мышце оперированной конечности снижается объёмная доля мышечных волокон и одновременно значимо увеличивается объёмная доля микрососудов и особенно эндомизия. В 3 серии объёмная доля мышечных волокон тоже снижается по сравнению с 1 серией и интактной нормой, но не в такой степени, как во 2 серии.

Численная плотность мышечных волокон и микрососудов в мышцах обеих конечностей в 1 серии достоверно выше по сравнению с интактной нормой. Во 2 серии увеличение этих параметров выражено также в мышцах обеих конечностей и ещё в большей степени, чем в 1 серии, а в 3 серии - в ещё большей степени, чем во второй. По численной плотности мышечных волокон во второй и третьей сериях мышцы оперированной и контралатеральной конечностей различаются достоверно, а по численной плотности микрососудов эти различия статистически значимы только во 2 серии. В 3 серии через 28 дней фиксации численная плотность мышечных волокон была выше, чем в конце distraction, а численная плотность микрососудов практически не изменилась.

Повышение объёмной доли эндомизия, отмеченное во второй и, в меньшей степени, в третьей сериях, связано, по-видимому, не только и не столько с его разрастанием, но и с уменьшением диаметров мышечных волокон. Повышение численной плотности мышечных волокон также свидетельствует прежде всего об уменьшении их диаметров. Однако необходимо заметить, что увеличение относительной численности и поверхностной плотности мышечных волокон весьма значительно, особенно в условиях третьей серии. Сопоставление морфометрических параметров, характеризующих конец distraction и 28 дней фиксации, также заставляет предположить, что наряду с уменьшением диаметров происходит прирост абсолют-

ной численности мышечных волокон. Таким образом, изменения объёмных и численных параметров мышечных волокон отражают следующие явления:

1) снижение тонуса, сократительной активности и трофики передней большеберцовой мышцы;

2) новообразование мышечных волокон.

И те, и другие изменения является основанием для прогнозирования возврата к нормальным отношениям мышечных волокон и стромальных элементов в мышце как органе. По-видимому, более интенсивный прирост мышечных волокон в серии с дистракцией обеспечивает ускоренное, по сравнению с условиями нейтрального остеосинтеза, восстановление тканевой организации

мышцы. Применение дистракции приводит к активации клеточного и тканевого роста даже в тех органах, которые не подвергаются непосредственному воздействию дозированного растяжения, например, в передней большеберцовой мышце голени при дистракции бедра, как показано в данном исследовании. Системный характер выявленной реакции подтверждается признаками аналогичной структурной перестройки в контралатеральной мышце.

Дистракционный остеосинтез, очевидно, следует рассматривать как одно из ткане- и органосохраняющих мероприятий в лечении костно-сосудистых травм, в том числе и по отношению к мышцам дистальных отделов конечности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гистология (введение в патологию) / Под ред. Э.Г. Улумбекова, Ю.А. Челышева. - М.: ГЭОТАР, 1997. - 947 с.
2. Гончарь М.Г., Мельман Е.П. Морфо-функциональные изменения мышц конечности и их микроциркуляторного русла под влиянием острой ишемии // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. - 1990. - Т.98, вып.6. - С.13-18.
3. Дольницкий О.В., Дольницкий Ю.О. Атлас микрохирургических операций на нервах: Практическое руководство. - Киев: Выща школа, 1991. - 182 С.
4. Лойда З. и др. Гистохимия ферментов: Лабораторные методы / З. Лойда, Р. Госсрау, Т. Шиблер. - М.: Мир, 1982. - 270 с.
5. Непомнящих Л.И. и др. Морфометрический и стереологический анализ миокарда. Тканевая и ультраструктурная организация / Л.И. Непомнящих, Е.Л. Лушникова, Л.В. Колесникова и др. - Новосибирск, 1984. - 159 с.
6. Урбах В.Ю. Биометрические методы. - М.: Наука, 1964. - 220 с.
7. Vascular injuries associated with limb fractures / M.M.S. al-Salman, H. al-Khawashki, A. Sindigki et al. // Injury. - 1997. - Vol. 28, N 2. - P. 103-107.
8. Are type III C lower extremity injuries an indication for primary amputation? / Th.E. Quirke, P.K. Sharma, W.K. Boss Jr et al. // J. Trauma. - 1996. - Vol. 40, N 6. - P. 992-996.
9. The management of open fractures associated with arterial injury requiring vascular repair / D. Seligson, P.A. Ostermann, S.L. Henry, T. Wolley // J. Trauma. - 1994. - Vol. 37, N 6. - P. 938-940.

Рукопись поступила 16.10.01.