

Оригинальные статьи

© Группа авторов, 2004

Морфология передней большеберцовой мышцы при удлинении голени после остеотомии берцовых костей и в раннем постнатальном онтогенезе

В.И. Шевцов, Г.Н. Филимонова, С.А. Ерофеев

The morphology of the anterior tibial muscle in the process of leg lengthening after osteotomy of leg bones and during early postnatal ontogenesis

V.I. Shevtsov, G.N. Filimonova, S.A. Yerofeyev

Государственное учреждение

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)

Изучали переднюю большеберцовую мышцу в эксперименте на взрослых беспородных собаках, которым производили дозированное удлинение голени с темпом 1 мм в сутки, по 0,25 мм за 4 приема, после открытой поперечной остеотомии костей голени долотом, и у щенков в раннем периоде постнатального развития. Исследовали морфологические признаки адаптации передней большеберцовой мышцы на дозированное растяжение голени и сопоставляли с признаками одноименной мышцы в периоде постнатального развития. Показано, что деструктивные изменения при дистракции, в том числе контрактуры различной степени, характерны и для мышц щенков в период раннего постнатального онтогенеза. Признаки дистракционного роста, регенерации передней большеберцовой мышцы в эксперименте и при ее естественном развитии имеют сходные черты.

Ключевые слова: эксперимент, взрослые собаки, щенки, голень, удлинение, чрескостный остеосинтез, большеберцовая мышца, морфология, постнатальный онтогенез.

The anterior tibial muscle was studied experimentally in adult mongrel dogs, subjected to graduated leg lengthening by 1 mm per day for four times 0,25 mm each, after open transverse osteotomy of leg bones with a chisel and in puppies during the early period of their postnatal development. The morphological signs of the anterior tibial muscle adaptation to graduated distraction of the leg were studied and compared with the signs of the muscle of the same name during postnatal development. The destructive changes in distraction including contractures of different degree were demonstrated to be characteristic of the muscles of the puppies in the period of their early postnatal ontogenesis. The signs of distraction growth, regeneration of the anterior tibial muscle in experimental conditions and during its natural development have the analogous features.

Keywords: experiment, adult dogs, puppies, leg, lengthening, transosseous osteosynthesis, tibial muscle, morphology, postnatal ontogenesis.

ВВЕДЕНИЕ

Особенности регенерации скелетных мышц при различных воздействиях проанализированы авторами многих работ [1, 5, 14, 18]. Особенности реактивности мышц конечности, удлиняемой методом моно- и билокального дистракционного остеосинтеза, в разных источниках представлены неоднозначно. Так, в публикации 1981 г. утверждается, что при монолокальном остеосинтезе голени длина мышцы увеличивается преимущественно за счет сухожилия, а при билокальном — и брюшко мышцы, и сухожильная часть удлиняются в равной степени, отмечены атрофия мышц, спаечные процессы, разрастание соединительной ткани [19]. В работах Свердловской школы, где

дистракцию производили в режиме 1 мм за 1 прием, считают, что наибольшему растяжению при монолокальном остеосинтезе подвержено брюшко мышцы, а при билокальном — мышечно-сухожильные соединения [7, 8]. В этих работах подчеркивается преимущество билокального остеосинтеза для сохранения гистоструктуры мышц и рекапитуляции в удлиняемых мышцах признаков их роста, соответствующих раннему периоду постнатального развития. В работах Курганской школы, где удлинение проводили в условиях монолокального дистракционного остеосинтеза по 1 мм в сутки за 4 приема, с первых дней дистракции наблюдались миотубы и карти-

ны миофибриллогенеза в подсарколеммальных участках, что схоже с растущими мышцами в эмбриогенезе, отмечены однотипные изменения мышц опытной и контралатеральной конечностей [3, 16]. При сдвигах метаболизма в организме отмечены очаговые повреждения волокон соматической мускулатуры, в частности, контрактурные изменения различной степени [17,

18], аналогичные изменения характерны и для сердечной мышцы.

Цель. Идентифицировать, сопоставить морфологические признаки изменений передней большеберцовой мышцы при дистракции голени в эксперименте с открытой поперечной остеотомией и в раннем периоде постнатального развития.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперимент выполнен на взрослых беспородных собаках, которым производили дозированное удлинение голени с темпом 1 мм в сутки, по 0,25 мм за 4 приема, после открытой поперечной остеотомии большеберцовой кости долотом (три случая). Дистракцию начинали через 5 дней после операции. Животных выводили из опыта через 14 и 28 дней дистракции, месяц фиксации. Для сопоставления морфологических проявлений адаптации к дозированному растяжению экспериментальных мышц исследовали аналогичную мышцу в периоде постнатального развития: 14 дней, один и два меся-

ца (три случая). Фрагменты мышцы для исследования иссекали из средней трети брюшка, закрепляли на жесткой основе, после альдегидно-осмиевой фиксации дегидратировали в спиртах, ацетоне и заливали в эпоксидные смолы, изготавливали полутонкие срезы, окрашивали метиленовым синим – основным фуксином и по М.Онтелл. Препараты изучали в фотомикроскопе «Opton» (Германия), изображения оцифровывали с помощью аппаратно-программного комплекса «ДиаМорф» для анализа полноцветных изображений (Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Через 14 дней дистракции передняя большеберцовая мышца представлена волокнами с нормальной поперечной исчерченностью и умеренными соединительнотканными прослойками, ядра мышечных волокон удлинено-овальной формы (рис. 1). Встречаются мышечные волокна в различных стадиях перерастяжения: контрактуры II-IV степени (К-II-IV) (рис. 2). В участках повреждения наблюдается усиленное связывание красителей, что косвенно указывает на повышенную проницаемость клеточных мембран в очагах повреждения контрактурного типа (рис. 2). Признаком регенерации мышцы являются участки мышечного волокна с частично утраченной поперечной исчерченностью, вакуолями и щелями вокруг скоплений ядер мышечных волокон и активированных миосателли-

тоцитов [22] (рис. 3). В ядрах миосателлитов преобладает деспирализованный хроматин, что является одним из признаков активного биосинтетического процесса в клетке (наряду с развитой эндоплазматической сетью и многочисленными рибосомами [2]), редкие гранулы гетерохроматина базофильны, имеются два или одно четких ядрышка, хорошо видна цитоплазма (рис. 4, а). Активированные миосателлиты часто локализуются вблизи микрососудов (по литературным данным, более половины), выполняя трофическое обеспечение метаболической активности мышечных волокон [2, 10, 11]. Через 14 дней удлинения голени в мышце встречены миотубы – слияние миобластов с дальнейшим формированием мышечных волокон (рис. 4, б).

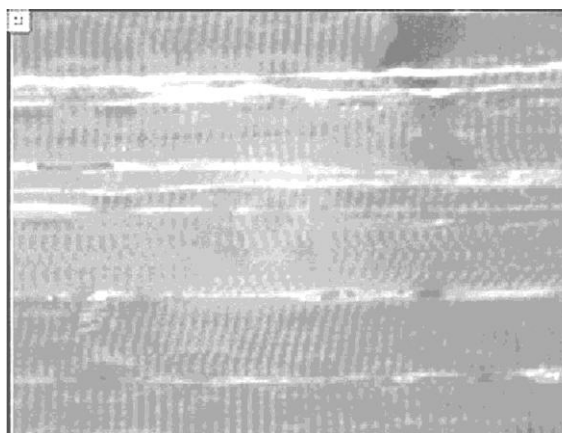


Рис. 1. Передняя большеберцовая мышца типичного строения. 14 дней дистракции. Продольный полутонкий срез, окраска метиленовым синим – основным фуксином, № 2230. Об. 16, ок. 10×

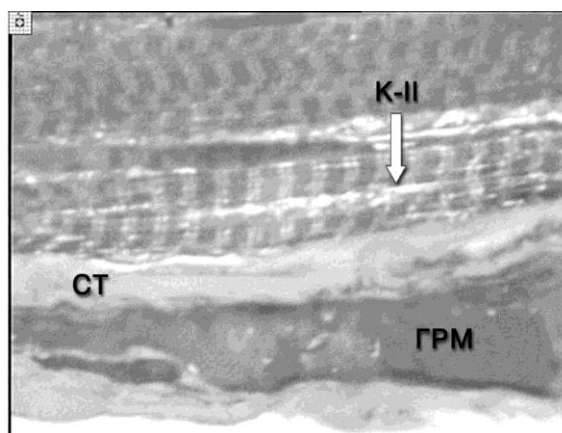


Рис. 2. Изменения мышечных волокон. К-II – контрактура II степени, ГРМ – глыбчатый распад миофибрилл – контрактура IV степени, СТ – соединительная ткань. 14 дней дистракции. Продольный полутонкий срез, окраска метиленовым синим – основным фуксином, № 2230. Об. 100, ок. 10×

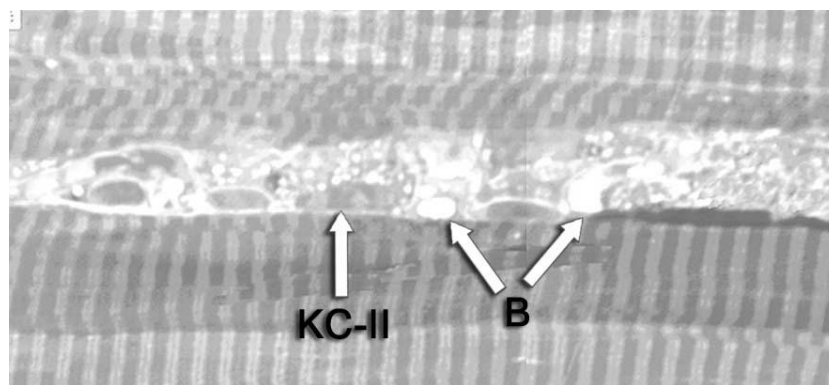


Рис. 3. Вакуолизация части мышечного волокна: КС-II – активированный миосателлит, В – вакуоли. 14 дней distraction. Продольный полутонкий срез, окраска метиленовым синим – основным фуксином. № 2230. Об. 100, ок. 10×

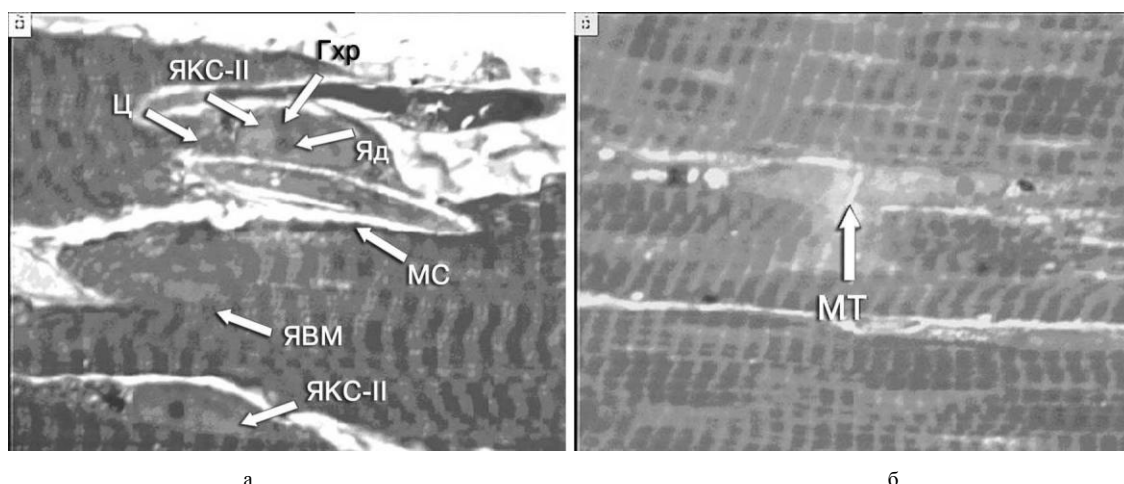


Рис. 4. Признаки регенераторного роста в передней большеберцовой мышце: а – ЯКС-II – ядра клеток-сателлитов второго типа, Ц – цитоплазма КС-II, Гхр – гетерохроматин, Яд – ядрышки миосателлитов, ЯВМ – ядра мышечных волокон, МС – микрососуд; б – МТ – миотуба – слияние миобластов. 14 дней distraction. Продольные полутонкие срезы, окраска метиленовым синим – основным фуксином, № 2230. Об. 100, ок. 10×

Через 14 дней постнатального онтогенеза для передней большеберцовой мышцы характерны поперечно исчерченные мышечные волокна небольших диаметров и признаки, характерные для дистракционной мышцы, в частности, высокое соотношение эндомизий/мышечное волокно, где соединительнотканые прослойки чуть меньше ширины волокон. Нередки контрактурно измененные волокна на небольших участках – контрактура II-III степени (рис. 5, а). Активированные клетки-сателлиты с двойными ядрышками в светлых эухроматиновых ядрах, в которых не визуализируется спирализованный хроматин, локализованы вблизи концевых участков растущих волокон (рис. 5, а), между двумя миосателлитами, вероятно, намечается сближение с дальнейшим слиянием (рис. 5, б).

Через 28 дней distraction в исследуемой мышце соединительнотканые прослойки визуально несколько увеличены, волокна, в большинстве своем, с нормальной поперечной исчерчен-

ностью (рис. 6, а). Участки мышцы с «гофрированными» волокнами могут быть достаточно обширными и занимать всю площадь полутонкого среза. Изменения мышечных волокон довольно разнообразны: помимо гофрированных волокон (рис. 6, а) есть участки мышцы, замещенные соединительной и жировой тканью (рис. 6, б). Фрагменты глыбчатого распада миофибрилл (контрактура IV степени) переходят в контрактуры III-II степени, подобными изменениями могут быть охвачены рядом расположенные мышечные волокна, где в одном волокне чередуются участки контрактур различной степени (рис. 6, в). Активно регенерирующая/растущая мышца представлена скоплениями миосателлитов второго типа и ядер мышечных волокон; как видно, четыре рядом расположенных мышечных волокна одновременно задействованы в процессе distractionного роста (рис. 7).

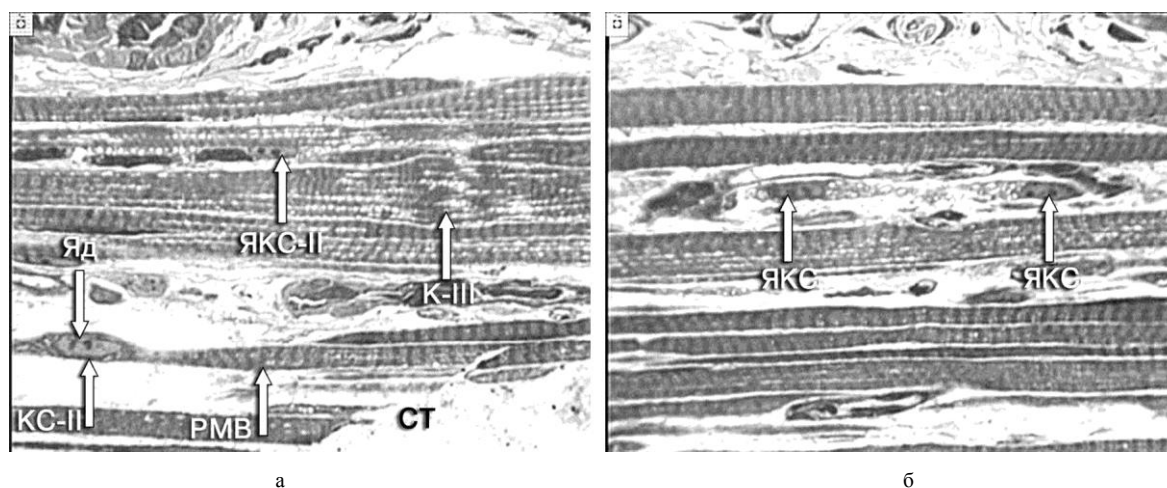


Рис. 5. Передняя большеберцовая мышца в период бурного постнатального роста: а – КС-II – активированные миосателлиты, Яд – ядрышки миосателлитоцита, К-III – контрактура III степени, РМВ – растущее мышечное волокно, СТ – соединительная ткань; б – ЯКС – ядра клеток-сателлитов. 14 дней постнатального развития. Продольные полутонкие срезы, окраска по М.Оntell, № 0100. Об. 40, ок. 10×

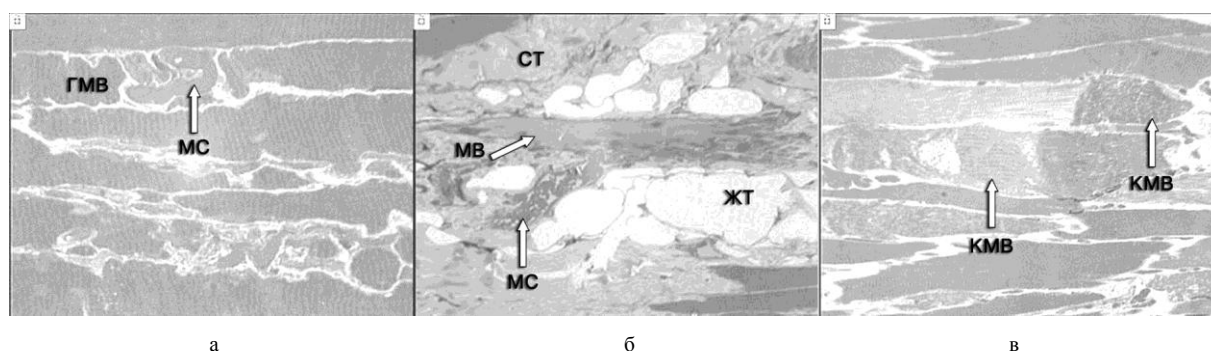


Рис. 6. Изменения в передней большеберцовой мышце: а – ГМВ – гофрированное мышечное волокно, МС – микрососуд; б – СТ – соединительная ткань, МВ – остаточное мышечное волокно, ЖТ – жировая ткань; в – КМВ – контрактурно измененные мышечные волокна. 28 дней дистракции. Продольные полутонкие срезы, окраска метиленовым синим – основным фуксином, № 2213. Об. 16, ок. 10×

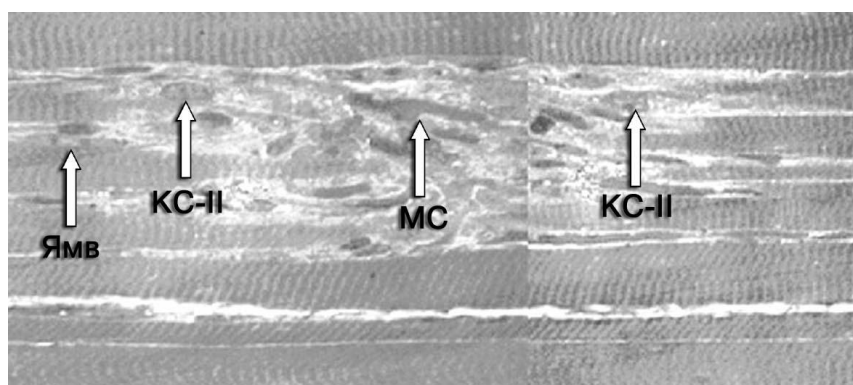


Рис. 7. Регенерация мышцы. ЯКС-II – ядра клеток-сателлитов второго типа, МС – микрососуды, Ямв – ядра мышечных волокон. 28 дней дистракции. Продольный полутонкий срез, окраска метиленовым синим – основным фуксином. № 2213. Об. 40, ок. 10×

Через 28 дней постнатального онтогенеза контрактурные изменения различной степени повторяются во множестве мышечных волокон, контрактуры I-III степени чередуются с темно-окрашенными участками (контрактура IV степени) (рис. 8, а). Аналогично дистракционной мышце нередко гофрированные волокна, их фрагментация (рис. 8, б). Признаки постнаталь-

ного роста: миосателлитоциты со светлыми ядрами – преобладание эухроматина; одно или два ядрышка; миотубы, образованные слиянием двух и более миобластов (рис. 8, в).

Через месяц фиксации передняя большеберцовая мышца с умеренными соединительнотканнскими прослойками (рис. 9, а); встречаются единичные обширные участки мышцы, заме-

щенные соединительной тканью. Гипертрофированное гигантское волокно образует на конце булавовидное расширение, в котором, по литературным данным [12, 20], должны быть скопления мышечных ядер, так называемых «почек роста» или «мышечных почек» (рис. 9, б).

Через 2 месяца постнатального онтогенеза передняя большеберцовая мышца представлена мышечными волокнами с четкой поперечной исчерченностью и меньшими, относительно

предыдущего срока, прослойками эндомизия, обширные разрастания соединительной ткани редки, в волокнах определяются клетки-сателлиты второго типа, что характерно для растущих мышечных волокон.

Очевидно, что при дистракционном остеосинтезе голени в передней большеберцовой мышце наблюдается мозаичность явлений: признаки деструкции различной степени и признаки регенерации и роста мышечных волокон.

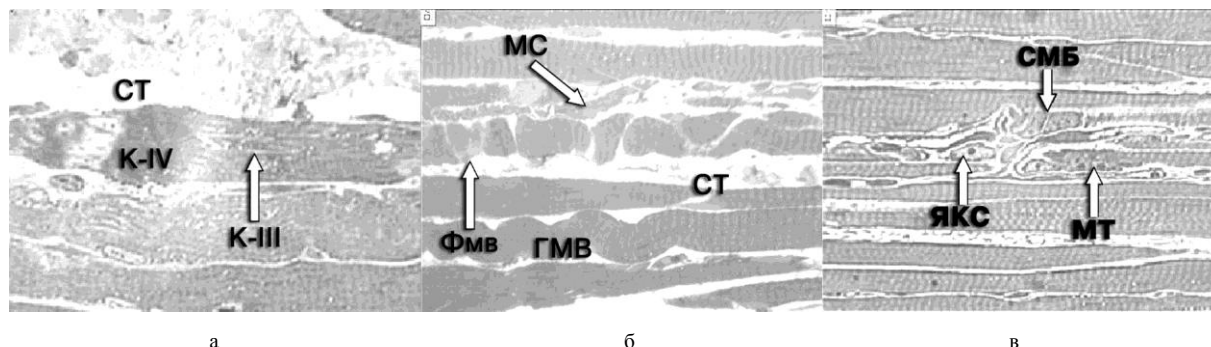


Рис. 8. Передняя большеберцовая мышца щенка: а – К-III – контрактура мышечного волокна III степени, ГРМ – глыбчатый распад миофибрилл (контрактура IV степени), СТ – соединительная ткань, б – ГМВ – гофрированное волокно, ФМВ – фрагментированное мышечное волокно, МС – микрососуд; в – ЯКС – ядро клетки-сателлита, СМБ – слияние миобластов, МТ – миотуба. 28 дней постнатального развития. Продольные полутонкие срезы, окраска: по М.Онтелл, № 0126. Об. 40, ок. 10×

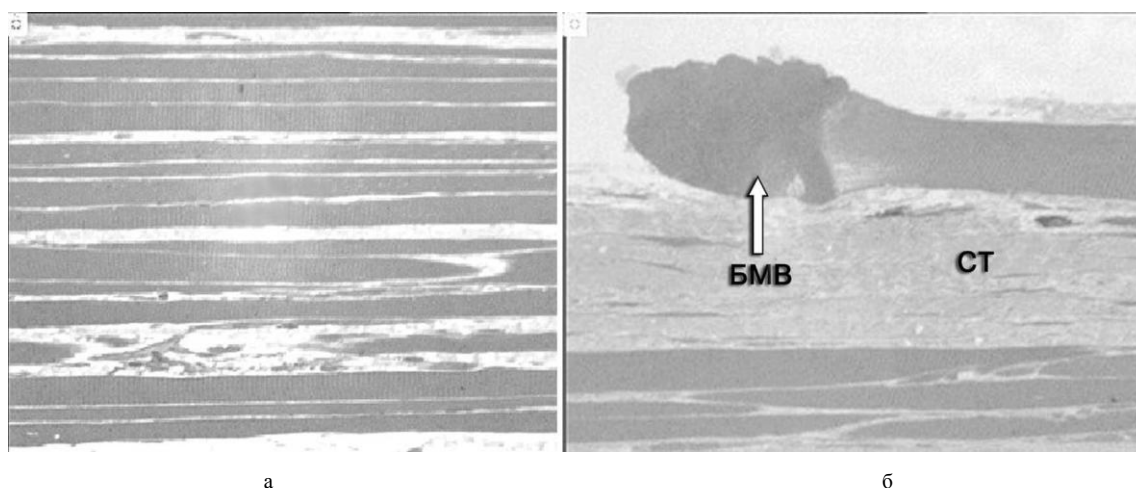


Рис. 9. Передняя большеберцовая мышца: а – типичное строение; б – БМВ – булавовидное расширение на конце мышечного волокна, СТ – соединительная ткань. 30 дней фиксации. Полутонкие срезы, окраска метиленовым синим – основным фуксином, № 2225. Увеличение: Об. ×16. Ок. ×10

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Согласно аксиоме об «эффекте Илизарова», развивающиеся деформационные напряжения при дистракции индуцируют активную регенерацию и процессы интеркалярного роста в пароссальных тканях [15]. Регенераторным процессам должны предшествовать деструктивные явления в мышце. Удлинение под действием внешней силы является высокоспециализированной функцией мышцы, при регулярной дистракционной нагрузке изменяются как структура мышечной ткани, так и основные метаболические процессы (тенденция к активизации глико-

литического рефосфорилирования АТФ) [14]. Так, через 4-6 недель дистракции возрастает активность окислительно-восстановительных ферментов при сохранении высокой активности АТФ-азы, через 8 недель – снижается активность СДГ и АТФ-азы при умеренном повышении активности α -глицерофосфатдегидрогеназы [16]. Учитывая, что миофибриллы очень чувствительны к нарушениям метаболизма [18], их изменения при дистракции в любом режиме неизбежны. После эвтаназии в мышцах сохраняется сила натяжения покоя – физиологическая

норма, в экспериментальных и патологических условиях укорочение саркомеров переходит за физиологические границы (до 1,5-1,2 мкм), когда исчезают I-диски и формируются «полосы сокращения» – A- и Z-полосы сокращения. Контрактурный тип повреждений – это особая форма дистрофических изменений, характерным признаком которого является усиленное двулучепреломление A-дисков миофибрилл, при этом длина саркомеров может быть такой же, как в соседних мышечных волокнах (контрактура I степени). При контрактуре II степени саркомеры укорачиваются за счет сужения I-дисков, но исчерченность сохраняется; когда A-диски сливаются в сплошной двулучепреломляющий конгломерат – контрактура III степени; а когда происходит распад анизотропной субстанции на глыбки – IV степень контрактурного повреждения [17, 18]. III и IV степень контрактуры – необратимые изменения, при контакте с циркулирующей кровью происходит пропитывание клеток плазмой (темное окрашивание). В дальнейшем глыбки подвергаются коагуляционному некрозу и с участием макрофагов разрушаются. В одном и том же волокне нередко контрактуры различной степени [18]. По данным литературы, в процессе восстановления скелетной мышечной ткани после механической травмы в фазы дифференцировки и адаптации происходит гибель значительной части новообразованных мышечных трубочек и мышечных волокон [11]. Деструктивные изменения в передней большеберцовой мышце при дозированном удлинении голени и в раннем периоде постнатального роста щенков во многом схожи.

Процессы повреждения и регенерации скелетной мышцы складываются из фаз пролиферации, дифференцировки и адаптации [11, 13]. Активированные клетки-сателлиты свойственны как процессам роста, так и регенерации мышечных волокон [15]. Так, через 36 часов обнаруживали регенерацию мышечной ткани из жизнеспособных миогенных предшественников (миосателлитоцитов) в перинекротической области [1]. Различают два вида клеток-сателлитов (КС): КС-I и КС-II. Первый является неактивной формой с довольно крупным вытянутым ядром, в котором преобладает гетерохроматин, проявляющий базофилию, окрашиваясь в темносиний цвет, и тонким ободком цитоплазмы с

малочисленными органеллами. Второй вид этих клеток – активированный сателлитоцит со светлым эухроматиновым ядром, одним или двумя ядрышками, в цитоплазме многочисленные полирибосомы, эндоплазматическая сеть с расширенными цистернами и развитый комплекс Гольджи [2]. На исследуемых сроках дистракции, как и у растущих щенков, в мышечных волокнах преобладают именно сателлитоциты второго типа с дальнейшей их дифференцировкой в миобласты, инкорпорацией в миотубы, формированием мышечных волокон или присоединением к зрелым мышечным волокнам [5]. О том, что клетки-сателлиты являются источником пополнения мышечных волокон, свидетельствует то, что при мышечных дистрофиях наблюдали гипертрофию миосателлитоцитов, их скопления обнаруживают в зонах некроза мышц. Наличие в миосателлитоцитах свободных рибосом, полисом, аппарата Гольджи, явления активного пиноцитоза в клетках и в саркоплазме под ними предполагает, что эти клетки выполняют трофическую функцию [10, 11]. Гипертрофия клеток – это важный компонент регенерации [13], некоторые исследователи считают, что в расширенных на концах булавовидных волокнах, в так называемых «мышечных почках», скапливаются мышечные ядра [12, 20]. Проявлением регенерации мышечных волокон является также скопление вокруг мышечных и миосателлитных ядер вакуолей и щелей [22]. В новых исследованиях механизмов адаптации скелетной мышцы к постепенному увеличению длины пришли к выводу, что при удлинении на 20-30% обязательно появляются новые саркомеры, а не просто механическое растяжение [21]. Выдвинута гипотеза чувствительности длины: новые саркомеры образуются уже после превышения удлинения мышцы более чем на 2,7 мкм [23]. То есть напряжение растяжения стимулирует новообразование тканей.

Таким образом, морфологические картины передней большеберцовой мышцы удлиняемой голени методом дистракции по 1 мм в день за 4 приема после открытой поперечной остеотомии и в периоде постнатального роста во многом схожи. Это касается в равной степени как деструктивных проявлений, так и признаков регенерации, роста в исследуемых мышцах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гистологические основы регенерации тканей опорно-двигательного аппарата /Р.К. Данилов, В.Г. Гололобов, И.А. Одинцова, Х.Х. Мурзабаев //Ортопед., травматол. – 2000. - № 2. – С. 102.
2. Данилов, Р.К. Миосателлитоциты /Р.К. Данилов, А.А. Клишов //Арх. анатом. – 1981. - №1. – С. 95-107.
3. Илизаров, Г.А. Электронно-микроскопическое исследование передней большеберцовой мышцы при удлинении голени в эксперименте / Г.А. Илизаров, Н.К. Чикорина // Экспериментально-теоретические и клинические аспекты разрабатываемого в КНИИЭКОТ метода чрескостного остеосинтеза: Тез. докл. Всесоюз. симпози. - Курган, 1983. - С.54-56.
4. Карлсон, Б.М. Регенерация /Б.М. Карлсон. – М.: Наука, 1986. – 296 с.
5. Клишов, А.А. Гистогенез, регенерация и опухолевый рост скелетномышечной ткани / А.А. Клишов. – Л.: Медицина, 1971. – 175 с.

6. Кочутина, Л.Н. Влияние растяжения на гистоструктуру мышц и сухожилий голени при дистракционном остеосинтезе / Л.Н. Кочутина, А.И. Реутов // Мед. биомеханика: Тез. докл. междунар. конф. в 4-х томах. - Рига, 1986. - Т.1. - С. 206 - 210.
7. Кочутина, Л.Н. Реактивность и регенерация скелетных мышц конечности, удлиняемой методом биллокального дистракционного остеосинтеза по Илизарову / Л.Н. Кочутина // Значение открытых Г.А. Илизаровым общепатологических закономерностей в регенерации тканей. - Курган, 1988. - С.71-76.
8. Кочутина, Л.Н. Особенности миогистогенеза в условиях моно- и биллокального дистракционного остеосинтеза в эксперименте / Л.Н. Кочутина, А.А. Клишов // Арх. анатом. - 1989. - Т.97, №11. - С. 44-52.
9. Кроленко, С.А. Разрушение миофибрилл во время распространяющегося повреждения. Изолированные мышцы крысы / С.А. Кроленко, Н.А. Рижмадзе // Цитология. - 1979. - №9. - С. 1016-1020.
10. Митин, К.С. Ультраструктура скелетных мышц человека / К.С. Митин, С.М. Секамова, Н.А. Соколова // Арх. анатом. - 1973. - №2. - С.13-19.
11. Морфологические основы регенерации скелетной мышцы / Р.К. Данилов, И.А. Одинцова, Э.А. Елагина, Х.Х. Мурзабаев // Морфология. - 2000. - №3. - С. 40.
12. Патологическая анатомия: Учебник / Под ред. А.И. Струкова, В.В. Серова. - М.: Медицина, 1995. - 688 с.
13. Саркисов, Д.С. Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций / Д.С. Саркисов. - М.: Медицина, 1987. - 446 с.
14. Сорокин, А.П. Ультраструктура скелетной мышцы при моделированной дистракционной нагрузке / А.П. Сорокин, Ф.Л. Доленко // Азерб. мед. журн. - 1977. - №9. - С. 12-19.
15. Теоретические аспекты дистракционного остеосинтеза. Значение режима дистракции / А.А. Шрейнер, С.А. Ерофеев, М.М. Щудло и др. // Гений ортопедии. - 1999. - №2. - С.13-17.
16. Ультраструктура и гистохимия регенерирующей и интактной скелетной мышцы в условиях дозированного растяжения / Г.А. Илизаров, Н.К. Чикорина, Т.С. Беркуцкая, А.Б. Кузнецова // Мышечная активность и жизнедеятельность человека и животных / Ин-т эволюц. морфологии и экологии. - М., 1986. - С. 72-75. - Деп. в ВИНТИ, Д - 4596-В.
17. Целлариус, С.Ф. Очаговая дезагрегация миофибрилл при острых метаболических повреждениях соматической мускулатуры / С.Ф. Целлариус, Ю.Г. Целлариус // Бюлл. эксперим. биол. - 1975. - №1. - С.71-74.
18. Целлариус, С.Ф. Гистопатология очаговых метаболических повреждений волокон соматической мускулатуры / С.Ф. Целлариус, Ю.Г. Целлариус. - Новосибирск, 1979. - 152 с.
19. Чиркова, А.М. Динамика морфологических изменений в фасциально-мышечном аппарате голени, удлиняемой по методу Илизарова / А.М. Чиркова, Г.В. Дьячкова // Вопросы чрескостного остеосинтеза по Илизарову: Сб. науч. тр. - Курган, 1981. - Вып. 7. - С. 100-105.
20. Ярошевская, Е.Н. Морфологическая характеристика мышц удлинённой нижней конечности / Е.Н. Ярошевская, С.Д. Дзахов // Ортопед. травматол. - 1969. - №2. - С. 63 - 69.
21. Mechanism of skeletal muscle adaptation to gradually increasing length / M. Samchukov, M. Makarov, A. Cherkashin, J. Birch // 2nd International Meeting of ASAMI: Scientific Abstracts. - Rome, 2001. - P. 73.
22. Reznik, M. Etude autoradiographique du muscle strie regeneration in vivo M. Reznik // J. Embriol. Exp. Morphol. - 1968. - Vol. 19, N 2. - P. 283-297.
23. Sarcomerogenesis during muscle lengthening: the length-sensor hypothesis / S.A. Green, V.J. Caiozzo, M.J. Baker et al. // 2nd International Meeting of ASAMI: Scientific Abstracts. - Rome, 2001. - P. 71.

Рукопись поступила 05.01.03.