

УДК [611.835.86+611.738.41:616.718.5/6-001.5-089.227.84]-092.9

**ДИНАМИКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ГЛУБОКОГО
МАЛОБЕРЦОВОГО НЕРВА И ПЕРЕДНЕЙ БОЛЬШЕБЕРЦОВОЙ
МЫШЦЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ УДЛИНЕНИИ ГОЛЕНИ
ВЫСОКОДРОБНОЙ ДИСТРАКЦИЕЙ
С ПОВЫШЕННЫМ СУТОЧНЫМ ТЕМПОМ**

Щудло Н.А., Варсегова Т.Н., Щудло М.М.

*ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия»
им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, Курган, e-mail: nshchudlo@mail.ru*

Проведен анализ гистологических изменений глубокого малоберцового нерва и передней большеберцовой мышцы при экспериментальном удлинении голени автоматической высокодробной дистракцией в режиме 3 мм в сутки за 120 включений автодистрактора у 13 собак. Установлено, что на этапе дистракции у всех животных развиваются облитерирующие поражения некоторых артерий перимизия, для этапа фиксации характерно снижение васкуляризации мышцы, компенсированное через 30 дней после снятия аппарата. Денервационные изменения выявлены у семи собак из 13, из них у одной на этапе дистракции, у шести – через 30 и более дней после её прекращения. Признаки незавершённого денервационно-реиннервационного процесса сохранялись через 90 дней после снятия аппарата.

Ключевые слова: ортопедическое удлинение голени, нейропатия малоберцового нерва

**THE DYNAMICS OF MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE DEEP PERONEAL
NERVE AND THE ANTERIOR TIBIAL MUSCLE FOR EXPERIMENTAL LEG
LENGTHENING USING DISTRACTION OF HIGH DIVISION WITH INCREASED
DAILY RATE**

Shchudlo N.A., Varsegova T.N., Shchudlo M.M.

*Russian Ilizarov Scientific Center «Restorative Traumatology and Orthopaedics»
of the RF Ministry of Health, Kurgan, e-mail: varstn@mail.ru*

Histological changes in the deep peroneal nerve and the anterior tibial muscle analyzed for experimental leg lengthening in 13 dogs using automatic high-division distraction by 3 mm per day for 120 times of autodistractor activation. Obliterating involvements of some arteries in perimysium were found in all the animals at the stage of distraction, and the decrease of the muscle vascularization compensated by 30 days after the device removal was characteristic for the stage of fixation. Denervation changes found in seven dogs of 13, and among them those at the stage of distraction – in one dog, and in six dogs the changes were observed by 30 days and more after the distraction stopped. The signs of incomplete denervation-reinnervation process maintained by 90 days after the device removal.

Keywords: orthopaedic leg lengthening, peroneal nerve neuropathy

Операции по ортопедическому удлинению конечностей применяются при посттравматических и врождённых укорочениях, в том числе при системных заболеваниях скелета («короткий статус») либо субъективно низком росте. Метод удлинения, разработанный академиком Г.А. Илизаровым, получил международное признание. Он включает нарушение целостности кости, фиксацию костных фрагментов в аппарате и их последующее контролируемое дозированное взаимное удаление – дистракцию. Дистракция со средним суточным темпом 1 мм в день создаёт условия для развития в диастазе между костными фрагментами новой костной ткани (дистракционного костного регенерата), который постепенно перестраивается в зрелую кость. Таким образом, достигается удлинение кости и происходит прирост всех тканей голени, а не только их растяжение [1]. Пролиферация и фузия миобластов обеспечивают рост скелетных мышц при удлинении конечности [5];

в нервных волокнах формируются дополнительные объёмы аксоплазмы, а шванновские клетки синтезируют новый миелин [7].

В то же время установлено [6, 8, 10], что в 5-30% случаев удлинения голени у ортопедо-травматологических больных развиваются неврологические осложнения. Чаще всего они проявляются слабостью и параличом мышц разгибателей стопы, а иногда и нарушениями чувствительности: гипер- и парестезиями, анестезиями, нейропатическими болями. По мнению М.Р. Nogueira & D. Paley [9], основной причиной является повреждение малоберцового нерва при натяжении фасций и межмышечных перегородок, которое вызывает его ущемление (сдавнение) и развитие туннельной нейропатии. Однако этиопатогенез этого состояния не исследован, поэтому не существует общепринятой тактики профилактики и лечения.

С целью изучения возможности сокращения сроков и повышения эффективно-

сти лечения ортопедо-травматологических больных проведены эксперименты на животных, в которых сочетали повышенный суточный темп удлинения, позволяющий сократить период пребывания конечностей в аппарате, с принципом высокодетальной distraction [2, 4]. Последняя, как известно, создаёт более благоприятные условия для адаптации мышц к дозированному растяжению при удлинении с темпом 1 мм [3]. Состояние глубокого малоберцового нерва в условиях удлинения голени не изучено вплоть до настоящего времени. Для развития представлений об этиопатогенезе нейропатии малоберцового нерва особую актуальность приобретают опыты с повышенным темпом distraction.

Цель исследования – оценка динамики морфологических изменений глубокого малоберцового нерва и передней большеберцовой мышцы при экспериментальном удлинении голени высокодетальной distraction с повышенным суточным темпом.

Материалы и методы исследования

Исследование проведено на 13 собаках, которым через 5 дней после флекссионной остеоклазии берцовых костей проводили distraction правой голени аппаратом Илизарова в автоматическом режиме с суточным темпом 3 мм за 120 приёмов в течение 10 суток. Величина удлинения голени составляла в среднем 15% от её исходной длины. После месячной фиксации аппарат снимали и животных наблюдали еще в течение 30 и 90 дней, после чего выводили из опыта. Часть животных вывели из опыта через пять дней distraction, в конце периода distraction и в конце периода фиксации в аппарате. Эксперименты выполнены к. вет. н. М.А. Степановым.

При проведении экспериментов соблюдали требования Министерства здравоохранения Российской Федерации к работе экспериментально-биологических клиник (Федеральный закон, принятый Государственной Думой 1 декабря 1999 г. «О защите животных от жестокого обращения», «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» согласно приказу МЗ СССР №755 от

12.08.1987г), а также «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей». Выведение из опыта осуществляли передозировкой барбитуратов.

После эвтаназии для морфологических исследований иссекали фрагменты переднего сосудисто-нервного пучка голени на уровне distractionного регенерата, а также фрагменты передней большеберцовой мышцы. Изготавливали поперечные и продольные парафиновые срезы, окрашенные гематоксилином-эозином, по ван Гизону и трёхцветным методом по Массону. Часть материала заливали в эпоксидные смолы для изготовления полутонких срезов, окрашенных по Ontell и Weakley. Препараты изучали и оцифровывали, используя большой фотомикроскоп фирмы «Opton» (ФРГ) с АПК «ДиаМорф» (Россия). Количественные исследования проводили в полноцветных цифровых изображениях продольных и поперечных полутонких срезов. В продольных срезах определяли процентную долю дегенерировавших на протяжении мионов в общем объёме выборки из нескольких десятков мышечных волокон. В поперечных срезах определяли диаметры мышечных волокон, численные плотности мышечных волокон и кровеносных сосудов, рассчитывали индекс васкуляризации мышцы. Результаты количественного анализа мышц экспериментальных животных сопоставляли с данными, полученными в аналогичных исследованиях мышц 3 интактных собак. Проверку статистических гипотез о различии проводили с применением критерия Пагуровой, теста Вилкоксона-Манна-Уитни, метода Фишера-Ирвина.

Результаты исследования и их обсуждение

Через 5 дней distraction (n=2) в пучках глубокого малоберцового нерва нервные волокна не изменены, однако у одной из собак во многих нервах эндомизия передней большеберцовой мышцы определяется отёк и вакуолизация аксонов крупных миелинизированных волокон (рис. 1а). У всех собак наряду с неизменёнными артериями перимизия встречаются артерии с признаками повреждений интимы и миоинтимальными утолщениями, обтурирующими просвет (рис. 1б).

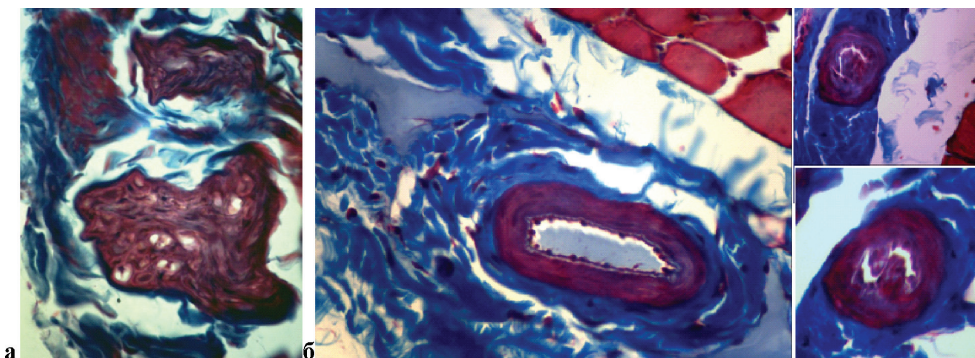


Рис. 1. Нервы (а) и артерии (б) перимизия в поперечных парафиновых срезах передней большеберцовой мышцы собаки. Срок опыта 10 дней, distraction 5 дней. Окраска Массон-трихром. Увеличение 500х

В некоторых пучках мышечных волокон обнаружены их разрывы и очаги кровоизлияний (рис. 2а), встречаются также участки пересокращения и перерастяжения мышечных волокон с явлениями фокального некроза и регенерации (рис. 2б). Через 10 дней distraction (n=3) в глубоком малоберцовом нерве у всех животных нервные волокна также не изменены, признаки

дегенерации внутримышечных нервных стволиков и окончаний не определяются. В большинстве волокон передней большеберцовой мышцы отсутствует поперечная исчерченность, многие контрактурно изменены (рис. 2в, г); участки кровоизлияний и разрывов мышечных волокон, а также их массовой некротической гибели обнаружены только у одной собаки из трёх.

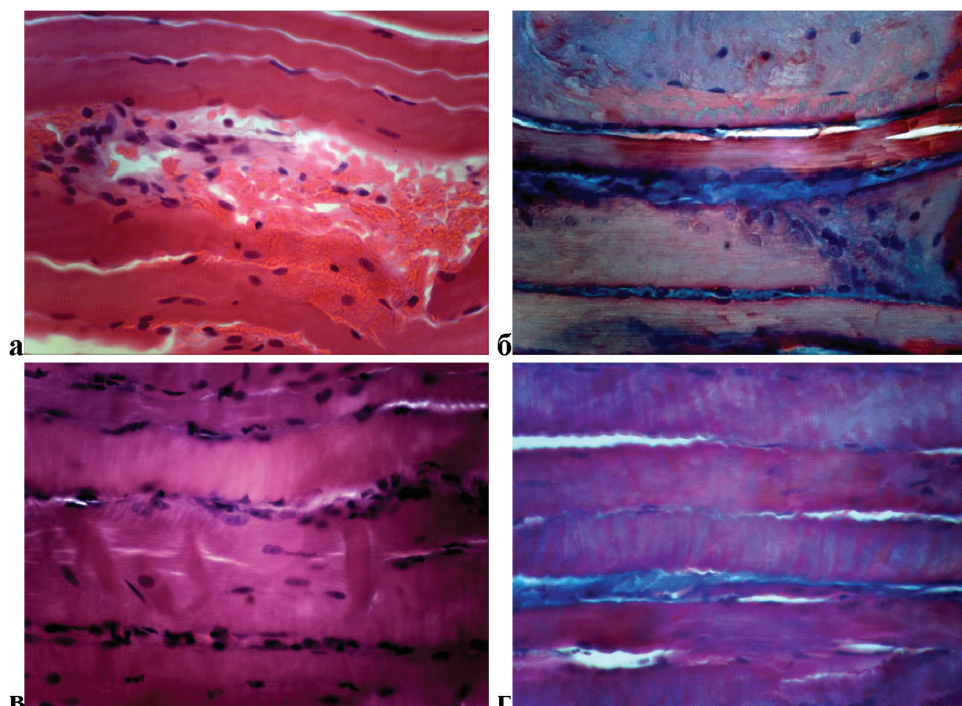


Рис. 2. Фрагменты продольных парафиновых срезов передней большеберцовой мышцы собак в период distraction: а, б – 5 дней distraction; в, г – 10 дней distraction. Окраска: а, в – гематоксилин-эозин; б, г – Массон-трихром. Увеличение 500х

Через 30 дней фиксации (n=3) у двух собак определяется сохранность волокон глубокого малоберцового нерва, у одной – выражена валлеровская дегенерация значительной части его волокон, а также денервации внутримышечных нервных стволиков, признаки фиброзного замещения мышечных волокон и даже целых пучковых групп. В это время выражены явления внутрисимпластической регенерации, а в некоторых волокнах – и восстановление поперечной исчерченности (рис. 3).

Через 30 дней после снятия аппарата (n=3) у одной собаки массовая деструкция нервных волокон в пучках глубокого малоберцового нерва сочетается с выраженными признаками фиброзного замещения пучков мышечных волокон; встречаются спирально расщеплённые волокна (рис. 4а), наличие которых связано дегенерацией нейронов спинного мозга, о чём свидетельствует появление фагоцитирующей глии в его дорзальных корешках и сером веществе (рис. 4б, в).

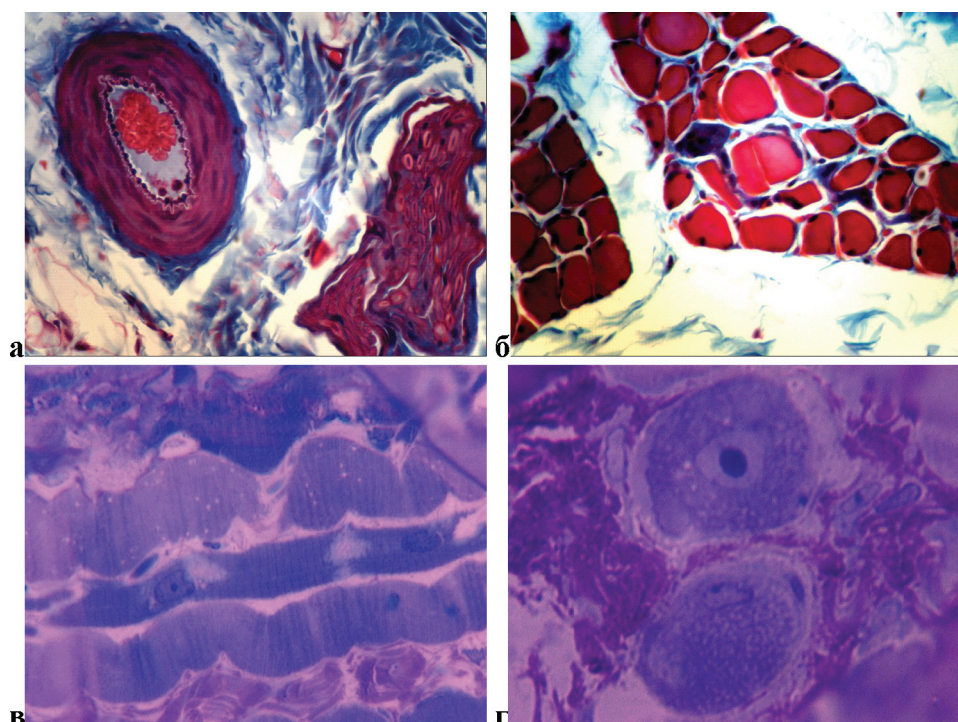


Рис. 3. Фрагменты парафиновых (а, б – Массон-трихром, увеличение 500х) и эпоксидных в, г – окраска по Уикли, увеличение: в – 500х, г – 1250х) срезов передней большеберцовой мышцы собак через 70 дней после операции (из них фиксации 30 дней)

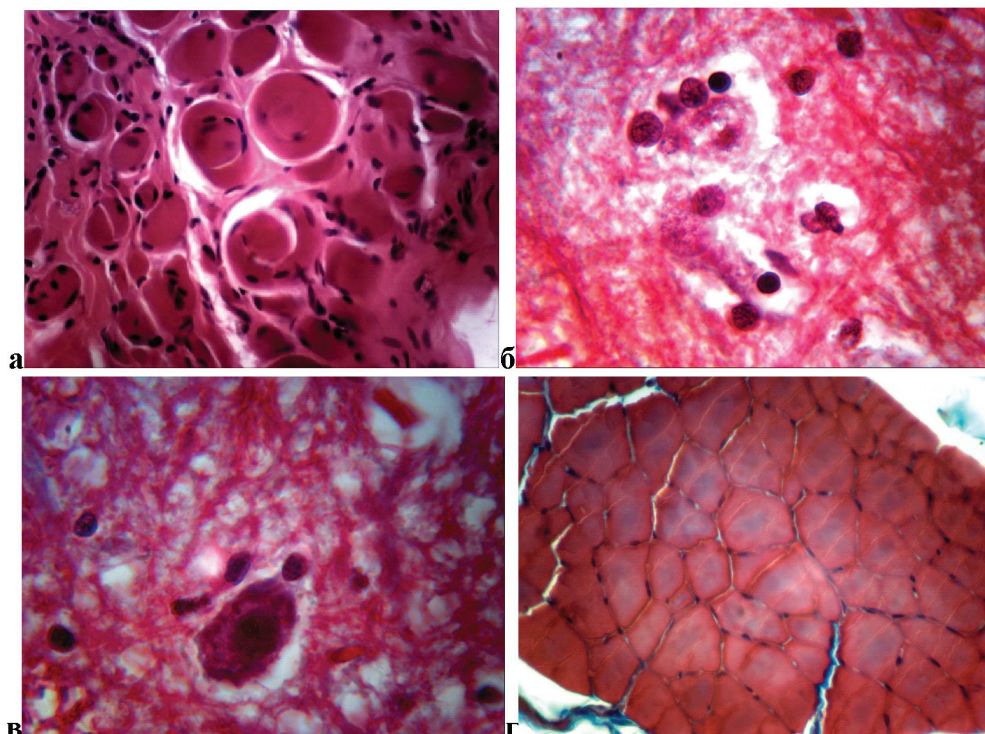


Рис. 4. Фрагменты поперечных парафиновых срезов передней большеберцовой мышцы (а, г), дорзального корешка спинного мозга (б) и дорзального рога спинного мозга (в) собак через 30 дней после снятия аппарата. Окраска: а, б, в – гематоксалин-эозин; г – Массон-трихром. Увеличение 500х

У остальных двух собак определяется сохранность волокон глубокого малоберцового нерва и умеренно выраженные фиброзные изменения эндомизия и перимизия, но признаки денервационно-реиннервационного процесса выражены и в этих опытах – в частности, мишенеподобные мышечные волокна (рис. 4г). Через 90 дней после снятия аппарата (n=2) у одной собаки пучки глубокого малоберцового нерва имеют нормальное строение, но в некоторых нервных стволиках перимизия передней большеберцовой мышцы выражены явления резидуального отёка эндоневрия, картины ремиелинизации нервных волокон, регенерационные кластеры. Выражены фиброзные изменения перимизия, эндомизий утолщен и содержит большое количество клеточных элементов. Ещё у одной собаки наряду с резидуальным отёком эндоневрия

малоберцового нерва и спирально расщеплёнными мышечными волокнами отмечен феномен группировки волокон, характерный для успешной реиннервации.

Результаты количественного анализа (таблица) свидетельствуют, что доля мионов, дегенерировавших на протяжении, увеличивается к концу периода фиксации, но после снятия аппарата протяжённые некротические изменения мышечных волокон практически не встречаются. Средний диаметр мышечных волокон на этапе distraction достоверно не отличается от соответствующего показателя интактной мышцы, но в последующие сроки опыта достоверно уменьшается. Индекс васкуляризации сопоставим с параметром интактной мышцы на этапе distraction, снижается вдвое в период фиксации, но после снятия аппарата вновь достигает уровня интактной мышцы.

Основные морфометрические параметры передней большеберцовой мышцы

Срок опыта	Процент мионов, дегенерировавших на протяжении	Средний диаметр мышечных волокон (M ± SD)	Среднее число микрососудов на одно мышечное волокно (M ± SD)
Конец distraction	11,6%**	46,31±15,52	1,35±0,78
Конец фиксации в аппарате	22,7%**	31,54 ± 6,1**	0,62±0,14**
30 дней после снятия аппарата	<1 %	38,52±13,12**	1,38±0,62
90 дней после снятия аппарата	<1 %	30,35±11,18**	1,34± 0,16

* – статистически значимые отличия от интактной группы на уровне значимости 0,05,
** – значимость 0,01.

Обсуждение результатов. Ранее было установлено [4], что при удлинении голени собак высокодетальной автоматической distraction с повышенным суточным темпом в режиме «3 мм за 120» в части опытов происходили разрывы отдельных пучков мышечных волокон большеберцовой мышцы, однако преобладающая реакция мионов на distraction заключалась в дезинтеграции структур сократительного аппарата, которая не сопровождалась нарушением целостности сарколеммы и не вызывала тканевой (воспалительной) реакции. После прекращения distraction сохранялась жизнеспособность таких мионов и происходило восстановление и ремоделирование миофибрилл, однако даже через 30 дней после прекращения distraction поперечная исчерченность выявлялась лишь в части волокон.

В данном исследовании более подробно (от середины периода distraction

до 90 дней после снятия аппарата) изучена динамика гистологических изменений передней большеберцовой мышцы и впервые прослежено состояние глубокого малоберцового нерва. Для этапа distraction деструктивные изменения внутримышечных нервных стволиков оказались нехарактерными и были выявлены только у одного животного из пяти. Дегенеративные изменения внутримышечных нервов у шести собак и глубокого малоберцового нерва у трёх собак выявлены спустя длительное время после прекращения distraction. Признаки незавершённого денервационно-реиннервационного процесса сохранялись даже через 90 дней после снятия аппарата. Наличие неинтимальных утолщений в артериях перимизия передней большеберцовой мышцы, которые обнаруживаются у всех животных уже через 5 дней distraction, а также двукратное по сравнению с интактной мышцей снижение индекса васкуляризации через

30 дней фиксации свидетельствуют о существенной роли ишемического фактора в развитии денервационных изменений.

Заключение. Динамика патоморфологических изменений глубокого малоберцового нерва, интраорганных нервов и сосудов передней большеберцовой мышцы свидетельствует о полиэтиологичности нарушений функции мышц разгибателей стопы при ортопедическом удлинении голени. При высокодетальной автоматической дистракции с повышенным суточным темпом наиболее существенными причинными факторами являются дезинтеграция миофибрилярного аппарата, ишемизация мышечных волокон и внутримышечных нервов. На уровне внутримышечных нервов находится инициальная зона повреждения нервно-мышечного аппарата. Дегенерация волокон глубокого малоберцового нерва и спинальных структур происходит в результате ретроградных изменений, которые развиваются несмотря на восстановление васкуляризации мышцы.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 14-44-00010).

Список литературы

1. Аранович А.М. Объемные характеристики голени после удлинения у больных ахондроплазией / А.М. Арано-

вич, Е.В. Диндиберя, Э.А. Гореванов, О.В. Климов // *Гений Ортопедии.* – 2005. – № 2. – С.32–34.

2. Горбач Е.Н. Изучение динамики костеобразования, состояния суставного хряща и большеберцового нерва при повышенном темпе удлинения голени автодистрактором в эксперименте / Е.Н. Горбач, Т.А. Ступина, Т.Н. Варсегова, А.А. Еманов // *Успехи современного естествознания.* – 2013. – № 7. – С. 42-47.

3. Шевцов В.И. Структурная адаптивность и пластичность скелетных мышц при удлинении конечности / В.И. Шевцов, Н.А. Щудло, М.М. Щудло, Г.Н. Филимонова // *Гений ортопедии.* – 2009. – № 4. – С. 39-47.

4. Щудло Н.А. Гистологические изменения передней большеберцовой мышцы при удлинении голени собак с повышенным суточным темпом дистракции различной дробности / Н.А. Щудло, М.М. Щудло, И.В. Борисова, Г.Н. Филимонова // *Гений ортопедии.* – 2013. – № 3. – С. 71-76.

5. Day C.S. Limb lengthening promotes muscle growth / C.S. Day, M.S. Moreland, S.S. Floyd, J. Huard // *J. Orthop. Res.* – 1997. – V. 15, № 2. – P.227–234.

6. Galardi G. Peripheral nerve damage during limb lengthening. Neurophysiology in five cases of bilateral tibial lengthening / G. Galardi, G. Comi, L. Lozza, P. Marchettini, M. Novarina, R. Facchini // *J. Bone Joint Surg. (Br).* – 1990. – V. 72, № 1. – P.121-124.

7. Hara Y. P0 mRNA expression increases during gradual nerve elongation in adult rats / Y. Hara, T. Shiga, I. Abe, A. Tsujino, H. Ichimura, N. Okado // *Exp. Neurol.* – 2003. – V. 184, № 1. – P.428-435.

8. Nogueira M.P. Nerve lesions associated with limb-lengthening / M.P. Nogueira, D. Paley, A. Bhave, A. Herbert, C. Nocente, J.E. Herzenberg // *J. Bone Joint Surg (Am).* – 2003. – V. 85, № 8. – P.1502-1510.

9. Nogueira M.P., Paley D. Prophylactic and Therapeutic Peroneal Nerve Decompression for Deformity Correction and Lengthening // *Oper. Tech. Orthop.* – 2011. – № 21. – P.180-183.

10. Young N.L. Electromyographic and nerve conduction changes after tibial lengthening by the Ilizarov method / N.L. Young, R.J. Davis, D.F. Bell, D.M. Redmond // *J. Pediatr. Orthop.* – 1993. – V. 13, № 4. – P.473-477.