

Морфологическая характеристика мышц голени в условиях высокоскоростного дистракционного остеосинтеза в сочетании с внутрикостным титановым стержнем, напылённым гидроксиапатитом

А.В. Попков, Г.Н. Филимонова, Н.А. Кононович, Е.Н. Горбач, Д.А. Попков

ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, Курган

Контактная информация: к.б.н. Филимонова Галина Николаевна, galnik.kurgan@yandex.ru

Цель работы – сравнение морфофункциональных характеристик мышц голени при автоматическом высокоскоростном удлинении с повышенным темпом и в комбинации с внутрикостным армированием титановой спицей с гидроксиапатитным напылением.

Основные эксперименты выполнены на беспородных собаках обоего пола в возрасте скелетной зрелости, у которых осуществляли удлинение голени круглосуточным автодистрактором в темпе 3,0 мм в течение 10 суток. У животных группы № 1 шаг автодистрактора был 0,025 мм за 120 приёмов. Под общим наркозом осуществляли интрамедуллярное армирование большеберцовой кости спицей из титанового сплава (Ti6Al 4V) толщиной 1,8 мм с покрытием гидроксиапатитом по технологии микродугового оксидирования, осуществляли остеосинтез аппаратом Илизарова и поперечную остеотомию большеберцовой кости. Период фиксации аппаратом Илизарова в среднем составил 14 дней (минимальный – 4 дня). В группе № 2 шаг автодистрактора был равен 0,017 мм за 180 приёмов, а период фиксации в среднем был 45 дней (минимальный – 30 суток). По окончании дистракции и через 3 мес. после снятия аппарата исследовали переднюю большеберцовую мышцу. Животные группы № 1 активно использовали опытную конечность с первых дней дистракции, период фиксации был сокращён в 2 раза. Макропрепараты мышц животных группы № 1 фактически не различались на опытной и контралатеральной конечностях. Гистоструктура мышцы в обеих группах характеризовалась признаками активизации ангио- и миогистогенеза, но у собак в группе № 1 объёмная плотность микрососудов была выше в 3 раза в периоде удлинения. Сделан вывод о том, что метод высокоскоростной автодистракции конечности в сочетании с интрамедуллярным армированием титановой спицей с гидроксиапатитным напылением оказывает активирующее воздействие на ангио- и миогенез: гистоструктурные характеристики большеберцовой мышцы свидетельствуют о преобладании процессов репаративной регенерации по типу реституции. В результате сохраняется функциональная активность конечности с первых дней дистракции, а период фиксации сокращается вдвое.

Ключевые слова: мышцы, автодистракция, интрамедуллярное армирование, гидроксиапатитное покрытие.

Введение

Проблема укорочения нижних конечностей, составляющая более половины всех пороков развития опорно-двигательной системы, особенно актуальна в детском возрасте [1, 6]. При удлинении конечностей, как правило, выбирают

метод чрескостного дистракционного остеосинтеза по Илизарову [7, 12]. Несмотря на универсальность, этот метод, как и любой другой, не исключает возможности формирования различного рода осложнений при его использовании [22]. В РНЦ «ВТО» им. акад. Или-

зарова с 1981 г. пристальное внимание ученых направлено на разработки и внедрение в клиническую практику вариантов автоматического удлинения костей конечностей [7]. Доказана возможность увеличения скорости автоматической дистракции до 3,0 мм в сутки, при этом известно, что активность остеогенеза не претерпевают существенных изменений по сравнению с суточным темпом 1,0 мм [3, 8]. Таким образом, был уменьшен период дистракции, однако период фиксации аппаратом Илизарова и период реабилитации до полноценного функционирования конечности оставался довольно продолжительным. С появлением новых технологий стимуляции репаративного остеогенеза различными методами, включая варианты с использованием интрамедуллярных имплантатов, покрытых биоактивным слоем [5, 9, 19], появилась возможность сократить сроки периода фиксации голени в аппарате более чем в 2 раза. В восстановительной хирургии используются титан и его сплавы в качестве зубных и ортопедических имплантатов вследствие их превосходной биосовместимости с костной тканью [11]. В стремлении ускорить остеоинтеграцию ведутся разработки биоактивных покрытий – в частности, гидроксиапатита, который наносится на поверхность имплантата различными методами [2]. Известно, что такие кристаллические модификации TiO_2 , как анатаз и рутил, обладают биоактивными свойствами, проявляющимися в их ускоренной остеоинтеграции. Следует отметить, что предпочтение отдается оксиду титана с кристаллической структурой анатаз [21]. При этом в доступной литературе не найдены данные о морфологических

особенностях параоссальных тканей (в частности, поперечнополосатых мышц) в подобных условиях комбинированного остеосинтеза.

Цель работы – сравнение морфофункциональных характеристик мышц голени при автоматическом высокочастотном удлинении с повышенным темпом и в комбинации с внутрикостным армированием титановой спицей с гидроксиапатитным напылением.

Материалы и методы

Эксперименты были выполнены на 18-ти беспородных собаках обоего пола в возрасте скелетной зрелости и массой 15-20 кг, у которых осуществляли удлинение голени в условиях круглосуточной высокочастотной автодистракции с темпом 3,0 мм в течение 10-ти сут.

Для этого в I группе ($n=10$) в условиях операционной животным под внутривенным наркозом осуществляли интрамедуллярное армирование большеберцовой кости спицей из титанового сплава (Ti6Al 4V) толщиной 1,8 мм с гидроксиапатитным покрытием, нанесенным методом микродугового оксидирования. После этого осуществляли остеосинтез аппаратом Илизарова. Для монтажа аппарата использовали 6 чрескостно введенных спицевых фиксаторов. При этом исключали прохождение последних через переднюю большеберцовую мышцу. Далее осуществляли поперечную остеотомию костей голени долотом.

Для профилактики послеоперационных воспалительных реакций животным вводили цефазолин по 0,5 г внутримышечно 2 раза в день в течение 7-ми дней.

Во II группе (n=8) армирования большеберцовой кости не выполняли. Кости голени фиксировали при помощи 8-ми спиц, одна из которых проходила через брюшко передней большеберцовой мышцы. После операции собакам вводился цефазолин в режиме, аналогичном таковому в I группе животных.

Через 7 сут после операции начинали удлинение голени. По окончании периода удлинения высота диастаза составляла 29-30 мм, что соответствовало 14-16% от исходной длины сегмента.

Раны вокруг спиц в обеих группах животных контролировали ежедневно. После поперечной остеотомии большеберцовой кости через 7 дней начинали удлинение голени посредством автодистрактора: дробность distraction в I группе составила 0,025 мм за 120 приёмов, во II группе – 0,017 мм за 180 приёмов в сутки, что позволило увеличить длину голени на 3 см. За животными наблюдали в течение трёх мес. после операции. Демонтаж аппарата Илизарова осуществляли после консолидации, когда минерализация distractionного регенерата по результатам рентгенографии достигала оптической плотности прилежащих костных фрагментов, а клиническая проба «ротационная и флекссионная нагрузка» показывала отсутствие какой-либо подвижности в зоне удлинения. В I группе этот период в среднем составил 14 сут (4-21), во II группе – был не менее 30 сут (в некоторых случаях – до 45-ти). Спицы, введенные в костномозговой канал, не извлекали на протяжении прижизненных наблюдений за животными.

Гистологические исследования передней большеберцовой мышцы осуществляли по окончании периода ди-

стракции и через 90 сут после снятия аппарата Илизарова. Для независимого контроля, как уже отмечалось выше, исследовали переднюю большеберцовую мышцу интактных животных (n=3), составивших интактную группу. Для гистологического анализа фрагмент мышцы, взятый в проекции костного регенерата, фиксировали в смеси равных объёмов 2% глутарового и параформальдегида, после проводки заливали в парафин. Часть материала постфиксировали в 1% осмиевой кислоте, полимеризовали в эпоксидных смолах. Парафиновые срезы изготавливали на микротоме «Bromma-2218» LKB (Швеция), окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону, по Массону. Полутонкие срезы получали с помощью ультратома Nova LKB (Швеция), окрашивали по М. Ontell (использованы для стереометрии). Гистологические препараты исследовали с помощью стереомикроскопа «AxioScore.A1», получая изображения посредством цифровой камеры «AxioCam» («Carl Zeiss MicroImaging GmbH», Германия). С целью проведения стереологического анализа мышечной ткани в программе «PhotoFiltre» произведён сбор первичных данных, рассчитана объемная плотность ($\text{мм}^3/\text{мм}^3$) мышечных волокон (VV_{MB}), микрососудов (VV_{MC}), эндомизия ($VV_{\text{ЭНД}}$), индекс васкуляризации, как отношение числа микрососудов к числу мышечных волокон ($I_{\text{ВАСК}} = NA_{\text{МСД}} / NA_{\text{МВ}}$). Данные анализировали методами непараметрической статистики в программе «AtteStat», версия 10.8.8, встроенной в Microsoft Excel, достоверность различий определяли на основании W-критерия Вилкоксона для независимых выборок.

Эксперименты выполнены в соответствии с требованиями «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986), в соответствии с принципами лабораторной практики (NIH Publication no. 85-23, revised 1985) и были одобрены Комитетом по этике ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова». Животных эвтаназировали путём внутривенного введения летальной дозы тиопентала натрия в расчёте 60 мг/кг массы тела животного.

Результаты исследований

В обеих группах у животных сохранялась опорная функция оперированной конечности. Не было отмечено неврологических и инфекционных осложнений, а также гибели животных. В I группе отеков конечности и функциональных нарушений со стороны смежных суставов не было. Во II группе в некоторых случаях на этапе периода удлинения отмечали формирование эквинусной постановки стопы. После прекращения фиксации аппаратом Илизарова функция голеностопного сустава восстанавливалась.

Посредством визуального анализа макропрепаратов большеберцовых мышц было выявлено, что у животных I группы мышцы обеих конечностей фактически не различались по насыщенности цвета и объёму, будучи ярко-малиновыми. У собак во II группе мышца опытной конечности, как правило, имела меньший объём и бледно-розовый цвет. Поверхностная фасция опытной берцовой мышцы у животных I группы была более тонкой и прозрач-

ной, в отличие от уплотнённой фасции и нередко наблюдавшихся спаек при препарировании мышц собак из II группы, что могло быть связано с используемым вариантом фиксации концов отломков, когда через брюшко мышцы проводили спицефиксатор.

При гистологическом анализе в мышцах собак I группы через 10 сут автодистракции большинство полей зрения имело нормальную гистоструктуру: идентифицировались метаболические типы волокон, их профили сохраняли полигональность, соединительнотканые прослойки были несколько увеличены, сосуды перимизия – без патологии (рис. 1а). Для некоторых пучков мышечных волокон был характерен заметный фиброз эндо- и перимизиального пространства, сосуды артериального звена имели массивный средний слой и увеличенный адвентициальный (рис. 1б). Во фрагментах мышцы с признаками активной пластической реорганизации профили мышечных волокон утрачивали свою полигональность, существенно возрастала полиморфность их диаметров, отмечались деструктивно изменённые, многочисленные мелкие волокна (рис. 1в). Число активированных ядер в волокнах возрастало, отмечались миобласты, цепочки и группы ядер. Встречались единичные контрактурно изменённые волокна, небольшие лаброциты с мелкими гранулами. Количество пучков мышечных волокон с нормальной гистоструктурой составило 73,7%, фиброзированных – 26,3%. Большинство сосудов перимизия имели нормальное строение (81,7%), с закрытым просветом составили 6,1%, а с признаками адвентициального фиброза – 12,3%.

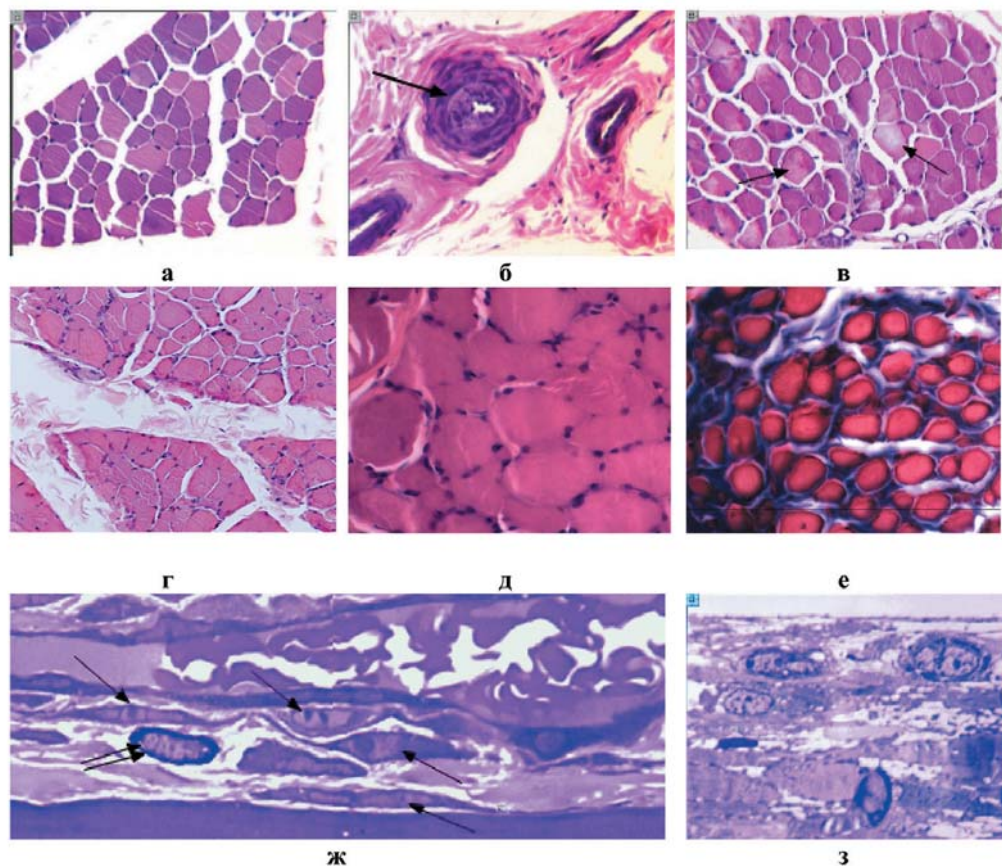


Рис. 1. Конец дистракции. Гистоструктура передней большеберцовой мышцы животных I группы (а-в) и II группы (г-з): **а** – волокна типированы, полигональные профили; **б** – перимизимальные сосуды с признаками фиброза, в артериях массивный средний слой (стрелка); **в** – фрагмент в состоянии структурной реорганизации, повышенная вариативность диаметров, деструктивно изменённые волокна (стрелки); **г** – сохраняются полигональные профили, утолщенный перимизий; **д** – отек в эндомизии (стрелка); **е** – округлые профили волокон; **ж** – фибробласты в интерстициальном пространстве расположены в направлении вектора напряжения растяжения (стрелки), тучная клетка (двойная стрелка); **з** – массовая дегенерация мышечных волокон. Парафиновые срезы (а-е); а-д – окраска гематоксилин-эозином, е – по Массону, ув. x200, д – x400. Нижняя строка – полутонкие срезы, окраска по М. Ontell, ув. 1250х.

Во II группе животных в мышце наблюдались изменения аналогичного характера, но большей степени выраженности. Чаше встречались волокна с контрактурами различной степени, отмечались картины сохранения отеочно-сти эндомизия (рис. 1д), фиброза пери-

мизимального пространства (рис. 1г, е), множественные фибробласты в котором ориентировались в направлении вектора напряжения растяжения, были нередко крупные лаброциты (рис. 1ж), а также картины массовой дегенерации мышечных волокон (рис. 1з). Количест-

во пучков мышечных волокон с сохраненной гистоструктурой составило 66,4%, фиброзированных – 28,6%, дегенерирующих – 5%.

По данным стереометрии к концу distraction в большеберцовой мышце животных I группы объёмная доля микрососудов, эндомизия и мышечных волокон составили 240%, 250% и 85% от интактных значений, соответственно ($p \leq 0,05$). Во II группе объёмная плотность микрососудов не отличалась достоверно от интактного параметра, доля эндомизия была в 2 раза ниже, объёмная плотность мышечных волокон – достоверно выше ($p \leq 0,05$). Индекс васкуляризации в I группе составил 90% от параметра во II группе.

Через 3 мес. после снятия аппарата для мышц I группы животных были характерны полигональные профили волокон, идентифицировались их метаболические типы, варибельность диаметров уменьшалась относительно периода distraction, были характерны инактивированные ядра, доля эндомизия варьировала в различных фрагментах мышцы (рис. 2а, б). Большинство перимизимальных сосудов – без признаков патологии, внутримышечные миелиновые нервные стволы имели, в основном, сохранную гистоструктуру (рис. 2в). Во II группе в мышце сохранялись адаптационные структурные изменения: повышенная вариативность диаметров, отсутствие полигональности профилей волокон,

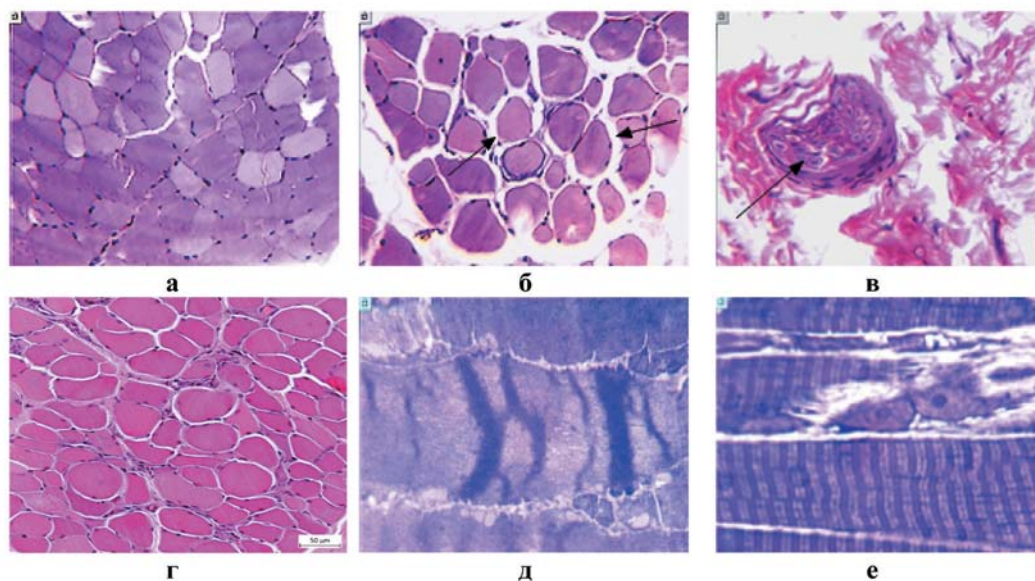


Рис. 2. 90 сут после снятия аппарата Илизарова. Гистоструктура мышцы животных I группы (верхняя строка) и II группы (нижняя строка): а – нормальная гистоструктура; б – увеличенные прослойки эндомизия (стрелки); в – нервный ствол перимизия с сохраненной гистоструктурой (стрелка); г – вариативность диаметров, отсутствие полигональных профилей, прослойки эндомизия увеличены; д – контрактурно изменённое волокно; е – миобласт. Парафиновые срезы (а-г), окраска гематоксилин-эозином, ув. $\times 200$. Полутонкие срезы (д-е), окраска по М. Ontell, ув. $\times 1250$.

увеличенные прослойки эндомизия, волокна с признаками контрактур, парные миообласты (рис. 2г-е). По данным стереометрии объёмная доля микрососудов в группах сравнения и интактной группе не имели достоверных различий. Доля объёма мышечных волокон в обеих группах была достоверно выше, а доля эндомизия – достоверно ниже относительно интактного параметра ($p \leq 0,05$). Индекс васкуляризации снижался в обеих группах, при этом в I группе параметр составил 81% от сопоставимого значения во II группе.

Обсуждение результатов

Гистологическая картина большеберцовой мышцы в условиях distraction у животных I группы в большинстве полей зрения характеризовалась полигональностью профилей мышечных волокон, что характерно для функционально активной мышцы. Известно, что в мышцах при distractionных нагрузках имеет место неосаркомерогенез, но при высокой скорости и малодробной distraction могут появляться признаки перерастяжения саркомеров с последующим замещением мышечных волокон соединительной тканью [24]. Наличие саркомерогенеза было подтверждено и в новых работах с помощью математической модели на основе экспериментальных данных [25]. В нашей работе наличие полей зрения с признаками активной пластической реорганизации, когда мышечные волокна утрачивали полигональность и появлялось множество волокон мелкого калибра, могло свидетельствовать о появлении регенерирующих и новообразованных волокон. Большое число клеток с эухроматичными ядрами, расположенными

одиночно или группами, возможно, на наш взгляд, отнести к активированным клеткам-сателлитам-II. Для увеличения числа миосателлитоцитов достаточно легкой компрессии, воздействия холодом, кроме того, они активируются после тренировки, при денервации или растяжении, после воздействия оксидом азота [14]. Миосателлитоциты-II вблизи микрососудов выполняют трофическое обеспечение миоцитов, участвуют в ангио- и миогенезе [16]. На связь клеток-сателлитов с трофическим обеспечением мышечных волокон указывает и то, что 87% их концентрируются вблизи нервно-мышечных синапсов [23]. Установлено, что при distraction конечности кроликов по 0,5 мм в день за 2 приёма клетки-сателлиты пролиферировали по всей длине *tibialis anterior muscles* [20]. При этом у взрослых особей скорость пролиферации миосателлитов составила 1780% в средней части и до 2860% – в мышечно-сухожильном соединении, у молодых особей – 210% и 290% соответственно. Считают, что distractionный остеогенез со скоростью 1,4 мм в сутки у скелетно-незрелых животных приводит к удлинению мышцы за счёт саркомерогенеза, формируя функционально активную мышцу [17]. Distraction же у взрослых животных приводит к формированию мышцы с существенным фиброзом и функциональной недостаточностью, что, возможно, является результатом частичной денервации. В др. исследованиях вопрос о продольном росте мышц при distraction предложено обсуждать в свете концепции цикла обратной связи [15]. В частности, обсуждается вопрос о роли клеток-сателлитов: анализ генных чипов даёт парадоксальное представле-

ние о том, что distractionный остеогенез приводит к усилению гена GADD45, связанного с остановкой роста и деградацией ДНК. Столь противоречивые данные подчёркивают необходимость дальнейших исследований гистогенеза мышечной ткани. Данные биохимических исследований также свидетельствуют об активизации миогистогенеза в условиях автоdistraction с высоким темпом: возрастает роль пентозо-фосфатного пути, который является одним из основных молекулярных механизмов, обеспечивающих репаративные процессы в ткани, пентозы используются для синтеза нуклеиновых кислот [10]. Адаптация скелетных мышц в ответ на автоdistraction с высоким темпом свидетельствует о гибкости молекулярных механизмов мышечной ткани, что обеспечивает её сохранность в данных условиях. Большая объёмная доля микрососудов в I группе, наряду с увеличением объёмной плотности эндомизия, является характерным признаком для растущих щенков в периоде постнатального онтогенеза [13], distraction, как известно, стимулирует неоангиогенез [4]. Вероятно, внутрикостный титановый стержень с гидроксиапатитным напылением способствует не только более быстрой и успешной регенерации костной ткани и, соответственно, функциональной активности конечности даже в периоде автоdistraction, но также благотворно влияет на пролиферативную активность мягкотканых компонентов, прилежащих к distractionному регенерату, – в частности, на большеберцовую мышцу. В некоторых работах, при ежедневной оценке количества клеток и дифференцировки остеогенных клеток методами количественной иммуноцитохимии,

выявили, что поверхность modSLA способствовала созреванию остеогенных предшественников в постмитотические остеобласты. В частности, modSLA приводила к снижению скорости пролиферации клеток, но демонстрировала высокие скорости экспрессии остеокальцина [18]. В настоящем исследовании активность животных I группы во время всего периода автоdistraction, отсутствие болевого синдрома, функциональная нагрузка на мышцы голени, очевидно, обуславливают в ходе опыта наличие в мышцах признаков, характерных для растущих щенков, отличающихся существенным увеличением стромальных элементов в целом (объёмной доли эндомизия наряду с объёмной долей микрососудов). Характерные для мышцы I группы животных единичные лаброциты с мелкими гранулами свидетельствуют об отсутствии признаков воспаления.

Выводы

Учитывая функциональное состояние животных в ходе эксперимента, гистоструктурные и стереометрические характеристики большеберцовой мышцы, можно заключить, что применяемый в медицинской практике метод высокочеткой автоdistraction конечности с высокой суточной скоростью в сочетании с интрамедуллярным армированием спицами из титановых сплавов с гидроксиапатитным покрытием, помимо остеогенеза, оказывает стимулирующее воздействие на миогистогенез. Использование данной методики в клинических условиях позволит существенно сократить сроки лечения пациентов без ущерба для функциональной активности конечности, учитывая, что

мышцы способны проявлять структурную адаптацию и пластичность по типу реституции. Тем не менее, необходимы дальнейшие экспериментальные разработки, углублённый анализ морфофункциональных характеристик как мышц, так и др. параоссальных тканей.

Список литературы

1. *Гаркавенко Ю.Е., Поздеев А.П.* Ошибки и осложнения при удлинении нижних конечностей у детей // Вестник гильдии протезистов-ортопедов. – 2004. – № 5. – С. 61-63.
2. *Гнеденков С.В., Шаркеев Ю.П., Синебрюхов С.Л., Хрисанфова О.А., Легостаева Е.В., Завидная А.В., Пузь А.В., Хлусов И.А.* Функциональные покрытия для имплантационных материалов // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2012. – № 1. – С. 12-19.
3. *Ерофеев С.А., Чиркова А.М.* Костеобразование при удлинении конечности с высоким темпом в условиях автоматической distraction // В сб.: Морфофункциональные аспекты регенерации и адаптационной дифференцировки структурных компонентов опорно-двигательного аппарата в условиях механических воздействий: Мат-лы Межд. науч.-практ. конф. – Курган. – 2004. – С. 94-96.
4. *Илизаров Г.А.* Некоторые проводимые нами фундаментальные исследования и их общеприкладное значение. Часть IV // Гений ортопедии. – 2015. – № 4. – С. 6-9.
5. *Кирилова И.А.* Деминерализованный костный трансплантат как стимулятор остеогенеза: современные концепции // Хирургия позвоночника. – 2004. – № 3. – С. 105-110.
6. *Малахов О.А., Кожеевников О.В.* Неравенство длины нижних конечностей у детей: рук-во для врачей. – М.: Медицина. – 2008. – 351 с.
7. *Попков А.В., Коваленко Т.Н., Смирнова И.Л.* Автоматическое удлинение конечностей: проблемы и перспективы // Анналы травматологии и ортопедии. – 1995. – № 2. – С. 67-70.
8. *Попков А.В., Осипенко А.В.* Регенерация тканей при удлинении конечностей: рук-во для врачей. – М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2008. – 240 с.
9. *Попков А.В., Попков Д.А.* Интрамедуллярное армирование при замедленной консолидации, ложных суставах и дефектах длинных трубчатых костей // В кн.: Интрамедуллярные имплантаты при лечении переломов длинных трубчатых костей: науч.-клин. иссл. – Саарбрюккен: Palmarium Academic Publishing. – 2016. – С. 172-201.
10. *Стогов М.В., Лунева С.Н., Еманов А.А.* Особенности метаболизма тканей при удлинении конечности методом Илизарова с темпом distraction 3 мм в сутки в автоматическом режиме // Гений ортопедии. – 2008. – № 1. – С. 85-89.
11. *Тетюхин Д.В., Козлов Е.Н., Молчанов С.А., Маркеев А.М., Соловьёв А.А.* Биоактивное покрытие титанового имплантата, вводимого в костную ткань человека. Патент РФ № 0002566060. – 2017.
12. *Урьев Г.А., Соколовский О.А., Ильяевич И.А., Заровская А.В.* Удлинение верхних и нижних конечностей в режиме автоматической distraction // Развитие травматологии и ортопедии в республике Беларусь на современном этапе: Мат-лы VIII Съезда травматологов-ортопедов Республики Беларусь. – Минск. – 2008. – С. 224-226.
13. *Шевцов В.И., Филимонова Г.Н.* Передняя большеберцовая мышца собак на этапах постнатального и distractionного морфогенеза // Гений ортопедии. – 2008. – № 1. – С. 74-80.
14. *Anderson J.E.* A role for nitric oxide in muscle repair: nitric oxide-mediated activation of muscle satellite cells // Mol. Biol. Cell. – 2000. – V. 11. – Pp. 1859-1874.
15. *Caiozzo V.J., Utkan A., Chou R., Khalafi A., Chandra H., Baker M., Rourke B., Adams G., Baldwin K., Green S.* Effects of distraction on muscle length: mechanisms involved in sarcomerogenesis // Clin. Orthop. Relat. Res. – 2002. – V. 403. – Pp. 133-45.
16. *Christov C., Chrétien F., Abou-Khalil R.* Muscle satellite cells and endothelial cells: close neighbors and privileged partners // Mol. Biol. Cell. – 2007. – V. 18. – No. 4. – Pp. 1397-1409.
17. *de Deyne P.G.* Lengthening of muscle during distraction osteogenesis // Clin. Orthop. Relat. Res. – 2002. – V. 403. Suppl. – Pp. 171-177.
18. *Klein M.O., Bijelic A., Toyoshima T., Götz H., von Koppenfels R.L., Al-Nawas B., Duschner H.* Long-term response of osteogenic cells on micron and submicron-scale-structured hydrophilic titanium surfaces: sequence of cell proliferation and cell differentiation.

- entiation // Clin. Oral Implants Res. – 2010. – V. 21. – Pp. 642-649.
19. **Popkov D., Popkov A., Haumont T., Journeau P., Lascombes P.** Flexible intramedullary nail use in limb lengthening // J. Pediatr. Orthop. – 2010. – V. 30. – No. 8. – Pp. 910-918.
 20. **Tsujimura T., Kinoshita M., Abe M.** Response of rabbit skeletal muscle to tibia lengthening // J. Orthop. Sci. – 2006. – V. 11. – No. 2. – Pp. 185-190.
 21. **Uchida M., Kim H-M., Kokubo T., Fujibayashi S., Nakamura T.** Structural dependence of apatite formation on titania gels in a simulated body fluid // J. of Biomedical Materials Research. – 2003. – V. 64A. – Issue 1. – Pp. 164-170.
 22. **Vargas Barreto B.** Complications of Ilizarov leg lengthening: a comparative study between patients with leg length discrepancy and short-stature // Int. Orthop. – 2007. – V. 31. – No. 5. – Pp. 587-591.
 23. **Yin H., Price F., Rudnicki M.A.** Satellite cells and the muscle stem cell niche // Physiol. Rev. – 2013. – V. 93. – No. 1. – Pp. 23-67.
 24. **Williams P., Simpson H., Kenwright J., Goldspink G.** Muscle fibre damage and regeneration resulting from surgical limb distraction // Cells Tissues Organs. – 2001. – V. 169. – No. 4. – Pp. 395-400.
 25. **Zollner A.M., Abilez O.J., Bol M., Kuhl E.** Stretching skeletal muscle: chronic muscle lengthening through sarcomerogenesis // PLoS One. – 2012. – V. 7 – No. 10. – Pp. 645-661.
- References**
1. **Garkavenko Ju.E., Pozdeev A.P.** Oshibki i oslozhneniya pri udlinenii nizhnih konechnostej u detej [Errors and complications in elongation of the lower limbs in children]. Vestnik gil'dii protezistov-ortopedov [Herald of the orthopedic prosthetists guild]. 2004. No. 5. Pp. 61-63. (In Russian).
 2. **Gnedkov S.V., Sharkeev Ju.P., Sinebrjuhov S.L., Hrisanfova O.A., Legostaeva E.V., Zavidnaja A.V., Puz' A.V., Hlusov I.A.** Funkcional'nye pokrytija dlja implantacionnyh materialov [Functional coatings for implantation materials]. Tikhookeanskij meditsinskij zhurnal [Pacific Medical J.]. 2012. No. 1. Pp. 12-19. (In Russian).
 3. **Erofeyev S.A., Chirkova A.M.** Kosteobrazovanie pri udlinenii konechnosti s vysokim tempom v usloviyah avtomaticheskoy distrakcii [Bone formation with elongation of the extremity with a high rate in conditions of automatic distraction]. V sb.: Morfofunkcional'nye aspekty regeneracii i adaptacionnoj differencirovki strukturnyh komponentov oporno-dvigatel'nogo apparata v usloviyah mehanicheskikh vozdeystvij: Mat-ly Mezhd. nauch.-prakt. konf. [In: Morphofunctional aspects of regeneration and adaptive differentiation of the structural components of the musculoskeletal system under the conditions of mechanical impacts, scientific-practical conf.]. Kurgan. 2004. Pp. 94-96. (in Russian).
 4. **Ilizarov G.A.** Nekotorye provodimye nami fundamental'nye issledovaniya i ih obshhebiologicheskoe i prikladnoe znachenie [Some fundamental research conducted by us and their general biological significance]. Part IV. Genius of orthopedics. 2015. No. 4. Pp 6-9. (In Russian).
 5. **Kirilova I.A.** Demineralizovannyj kostnyj transplantat kak stimulyator osteogeneza: sovremennye koncepcii [Demineralized bone graft as a stimulant of osteogenesis: modern concepts]. Hirurgiya pozvonochnika [Surgery of the spine]. 2004. No. 3. Pp. 105-110. (In Russian).
 6. **Malakhov O.A., Kozhevnikov O.V.** Neravenstvo dliny nizhnih konechnostej u detej: ruk-vo dlja vrachej [Length discrepancy in the lower limbs in children: a guide for doctors]. Moscow: Medicina. 2008. 351 p. (In Russian).
 7. **Popkov A.V., Kovalenko T.N., Smirnova I.L.** Avtomaticheskoe udlinenie konechnostej: problemy i perspektivy [Automatic limb lengthening: problems and prospects]. Annals of traumatology and orthopedics. 1995. No. 2. Pp. 67-70. (In Russian).
 8. **Popkov A.V., Osipenko A.V.** Regeneracija tkanej pri udlinenii konechnostej: ruk-vo dlja vrachej [Regeneration of tissues by elongation of limbs: a guide for doctors]. Moscow: GEOTAR-Media. 2008. 240 p. (In Russian).
 9. **Popkov A.V., Popkov D.A.** Intramedullarnoe armirovanie pri zamedlennoj konsolidacii, lozhnyh sustavah i defektah dlinnyh trubchatyh kostej [Intramedullary reinforcement in delayed consolidation, nonunions and defects of long tubular bones]. V kn.: Intramedullarnye implantaty pri lechenii perelomov dlinnyh trubchatyh kostej: nauch.-klin. issl. [In the book: Intramedullary implants in the treatment of fractures of long tubular bones: a scientific and clinical study]. Saarbrücken: Palmarium Academic Publishing. 2016. Pp. 172-201. (In Russian).

10. *Stogov M.V., Luneva S.N., Emanov A.A.* Osobennosti metabolizma tkanej pri udlinenii konechnosti metodom Ilizarova s tempom distrakcii 3 mm v sutki v avtomaticheskom rezhime [Features of tissue metabolism by elongation of the limb with the Ilizarov method with a distraction rate of 3 mm per day in automatic mode]. *Genius of orthopedics*. 2008. No. 1. Pp. 85-89. (In Russian).
11. *Tejukhin D.V., Kozlov E.N., Molchanov S.A., Markeyev A.M., Solov'jov A.A.* Bioaktivnoe pokrytie titanovogo implantata, vvodimogo v kostnuju tkan' cheloveka. [Bioactive coating of a titanium implant inserted into a human bone tissue]. Patent of Russian Federation No. 0002566060. 2017. (In Russian).
12. *Ur'ev G.A., Sokolovskij O.A., Il'jasevich I.A., Zarovskaja A.V.* Udlinenie verhnih i nizhnih konechnostej v rezhime avtomaticheskoy distrakcii [Elongation of the upper and lower extremities in the mode of automatic distraction]. *Razvitie travmatologii i ortopedii v respublike Belarus' na sovremennom jetape: Mat-ly VIII S'ezda travmatologov-ortopedov Respubliki Belarus'* [Development of traumatology and orthopedics in the Republic of Belarus at the present stage: materials of the VIII Congress of traumatology-orthopedists of the Republic of Belarus]. Minsk. 2008. Pp. 224-226. (In Russian).
13. *Shevcov V.I., Filimonova G.N.* Perednjaja bol'shebercovaja myshca sobak na jetapah postnatal'nogo i distrakcionnogo morfogeneza [Anterior tibial muscles of dogs at the stages of postnatal and distraction morphogenesis]. *Genius of orthopedics*. 2008. No. 1. Pp. 74-80. (In Russian).
14. *Anderson J.E.* A role for nitric oxide in muscle repair: nitric oxide-mediated activation of muscle satellite cells. *Mol. Biol. Cell*. 2000. V. 11. Pp. 1859-1874.
15. *Caiozzo V.J., Utkan A., Chou R., Khalafi A., Chandra H., Baker M., Rourke B., Adams G., Baldwin K., Green S.* Effects of distraction on muscle length: mechanisms involved in sarcomerogenesis. *Clin. Orthop. Relat. Res*. 2002. V. 403. Pp. 133-45.
16. *Christov C., Chrétien F., Abou-Khalil R.* Muscle satellite cells and endothelial cells: close neighbors and privileged partners. *Mol. Biol. Cell*. 2007. V. 18. No. 4. Pp. 1397-1409.
17. *de Deyne P.G.* Lengthening of muscle during distraction osteogenesis. *Clin. Orthop. Relat. Res*. 2002. V. 403. Suppl. Pp. 171-177.
18. *Klein M.O., Bijelic A., Toyoshima T., Götz H., von Koppenfels R.L., Al-Nawas B., Duschner H.* Long-term response of osteogenic cells on micron and submicron-scale-structured hydrophilic titanium surfaces: sequence of cell proliferation and cell differentiation. *Clin. Oral Implants Res*. 2010. V. 21. Pp. 642-649.
19. *Popkov D., Popkov A., Haumont T., Journeau P., Lascombes P.* Flexible intramedullary nail use in limb lengthening. *J. Pediatr. Orthop*. 2010. V. 30. No. 8. Pp. 910-918.
20. *Tsujimura T., Kinoshita M., Abe M.* Response of rabbit skeletal muscle to tibia lengthening. *J. Orthop. Sci*. 2006. V. 11. No. 2. Pp. 185-190.
21. *Uchida M., Kim H-M., Kokubo T., Fujibayashi S., Nakamura T.* Structural dependence of apatite formation on titania gels in a simulated body fluid. *J. of Biomedical Materials Research*. 2003. V. 64A. Issue 1. Pp. 164-170.
22. *Vargas Barreto B.* Complications of Ilizarov leg lengthening: a comparative study between patients with leg length discrepancy and short- stature. *Int. Orthop*. 2007. V. 31. No. 5. Pp. 587-591.
23. *Yin H., Price F., Rudnicki M.A.* Satellite cells and the muscle stem cell niche. *Physiol. Rev*. 2013. V. 93. No. 1. Pp. 23-67.
24. *Williams P., Simpson H., Kenwright J., Goldspink G.* Muscle fibre damage and regeneration resulting from surgical limb distraction. *Cells Tissues Organs*. 2001. V. 169. No. 4. Pp. 395-400.
25. *Zollner A.M., Abilez O.J., Bol M., Kuhl E.* Stretching skeletal muscle: chronic muscle lengthening through sarcomerogenesis. *PLoS One*. 2012. V. 7 No. 10. Pp. 645-661.

Morphological characteristics of tibial muscles in the conditions of high rate distraction osteosynthesis in combination with intramedullary hydroxyapatite-coated titanium nail

A.V. Popkov, G.N. Filimonova, N.A. Kononovich, E.N. Gorbach,
D.A. Popkov

The purpose of this work is to compare of the morphofunctional characteristics of the lower leg muscles in conditions of transosseous distraction osteosynthesis by high-rate and high-fractional automated distraction and in combination with intraosseous reinforcement with a titanium. The main experiments were performed on mongrel dogs of both sexes at the age of skeletal maturity, lengthening of the tibia was performed with a daily autodistractor at a rate of 3.0 mm for 10 days. In the animals of group No. 1, the autodistractor step was 0.025 mm at 120 times. At the general anesthesia, intramedullary reinforcement of the tibia was a 1.8- mm titanium (Ti6Al 4V) coated with hydroxyapatite by microarc oxidation technology. Next, osteosynthesis with an Ilizarov apparatus and transverse osteotomy of the tibia were produced. In the group No. 2, the autodistractor step was 0.017 mm at 180 times, the fixation period was 30 days. At the end of the distraction and 3 months after the removal of the apparatus, the tibial muscles were examined. Animals of the group No. 1 actively used the limb from the first days of distraction. The period of fixation decreased twice. Macro-preparations of muscles of dogs in group No. 1 did not significantly differ in the experimental and contralateral limbs. The histostructure of the muscles in both groups was characterized by signs of activation of angiogenesis and myogistogenesis, but in the group No. 1 the volume density of microvessels was 3 times higher in the period of elongation. It was concluded that the method of high-speed limb auto-extrusion in combination with intramedullary reinforcement of titanium wire with hydroxyapatite spraying has an activating effect on angiogenesis and myogenesis. The histostructural characteristics of the tibial muscle testify to the predominance of the processes of reparative regeneration by the type of restitution. As a result, the functional activity of the limb remains from the first days of distraction, the period of fixation is reduced by 2 times.

Key words: muscles, automated distraction, intramedular reinforcement, hydroxyapatite coating.