

resonance and neutron scattering. Synthesis and Applications of Isotopically Labeled Compounds // In: Proceedings of an International Symposium. Baillie T, Jones J.R eds. - Amsterdam: Elsevier. 1989. P. 329-332.

18. **Kushner D.J., Baker A., Dunstall T.G.** Pharmacological uses and perspectives of heavy water and deuterated compounds // Can. J. Physiol. Pharmacol. 1999. V. 77(2). P. 79-88.

19. **LeMaster D.M.** Uniform and selective deuteration in two-dimensional NMR studies of proteins // Ann. Rev. Biophys. Chem. 1990. V. 19. P. 243-266.

20. **Lis G., Wassenaar L.J., Hendry M.J.** High-Precision Laser Spectroscopy D/H and 18O/16O Measurements of Microliter Natural Water Samples // Anal. Chem. 2008. V. 80(1). P. 287-293.

21. **MacCarthy P.** Infrared spectroscopy of deuterated compounds: an undergraduate

experiment // J. Chem. Educ. 1985. V. 62(7). 633 p.

22. **Mosin O.V., Karnaukhova E.N., Pshenichnikova A.B., Reshetova O.S.** Electron impact mass-spectrometry in bioanalysis of stable isotope labeled bacteriorhodopsin // In: 6th Intern. Conf. on Retinal proteins. - Leiden, the Netherlands: Springer Verlag. 1994. 115 p.

23. **Mosin O.V., Skladnev D.A., Shvets V.I.** Biosynthesis of 2H-labeled phenylalanine by a new methylotrophic mutant *Brevibacterium methylicum* // Bioscience, biotechnology, and biochemistry. 1998. V. 62(2). P. 225-229.

24. **Vertes A.** Physiological effects of heavy water. Elements and isotopes: formation, transformation, distribution. - Dordrecht: Kluwer Acad. Publ. 2004. 112 p.

Studying of isotopic effects of heavy water (D₂O) in biological systems on example of prokaryotic and eukaryotic cells

O. V. Mosin, I. Ignatov

Isotope effects of deuterium (D) in cells of various taxonomic groups of prokaryotic and eucaryotic microorganisms realizing methylotrophical, chemoheterotrophical, photoorganotrophical, and photosynthetic ways of assimilation of carbon substrates (methylotrophic bacteria, halobacteria, green microalgae) are investigated at growth on media with heavy water (D₂O). The method of step by step adaptation technique of cells to D₂O is developed, consisting in plating of clls on 2% agarose nutrient media containing increasing gradient of concentration of D₂O (from 0 up to 98% D₂O) and the subsequent selection of stable to D₂O cells. Obtained from growth media with a low gradient of D₂O concentration, cells were further transferred on growth media with higher gradient of D₂O concentration, up to 98% D₂O. In the result of that technique it were obtained adapted to maximum concentration of D₂O cells, biological material of which instead of hydrogen contained deuterium with levels of enrichment 95% D. Usage of cells adapted to D₂O and deuterated natural compounds (protein, amino acids, nucleosides, pigments, carboxydrates, lipids), extracted from them, can find further application in biophysical researches and biomedical technologies.

Key words: deuterium, heavy water, adaptation, isotopic effects, bacteria, microalgae.

Структурная реорганизация бедренной и большеберцовой артерий, малоберцового нерва и хряща коленного сустава при экспериментальных переломах костей голени у собак и их лечении методом чрескостного остеосинтеза

Н.А. Щудло, Т.Н. Варсегова, Т.А. Ступина, И.В. Борисова

ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г. А. Илизарова Минздравсоцразвития России», г. Курган

Контактная информация: к.б.н. Варсегова Татьяна Николаевна varstn@mail.ru

У 18 взрослых беспородных собак моделировали оскольчатые переломы голени. Проведено комплексное гистологическое исследование с применением компьютерной морфометрии бедренных и передних большеберцовых артерий, поверхностного малоберцового нерва, хряща коленного сустава в разные сроки фиксации голени в аппарате Г.А. Илизарова (14, 21, 35-37 и 48-50 суток), через 30 и 90 суток после снятия аппарата (80 и 140 суток эксперимента, соответственно). Признаки механического повреждения передней большеберцовой артерии выявлены в 22,2% опытов, повреждения малоберцового нерва – в 11,1% случаев. Установлено, что динамика изменений среднего диаметра передней большеберцовой артерии оперированной конечности, диаметра просвета и толщины её стенки зависела от интенсивности остеогенеза. Увеличение абсолютной величины морфометрических показателей наблюдается у животных с ускоренной консолидацией перелома (35-37 суток), при фиксации в аппарате в течение 48-50 дней все морфометрические показатели имели тенденцию снижения по сравнению с периодом 14-21 дней фиксации. Увеличение калибра и просвета артерий сопровождалось формированием дефектов внутренней эластической мембраны, протяжённость которых в поперечных срезах превышала 30% периметра люминальной поверхности. В опытах с отсутствием признаков механического повреждения малоберцового нерва выявлены изменения эпинеурия и перинеурия, которые свидетельствуют об усилении структурно-функциональных характеристик перинеурального барьера и гистогенезе структур, обеспечивающих механическую прочность нерва и поддержание гомеостаза среды микроокружения нервных волокон. В суставном хряще выявлены деструктивные изменения, выражающиеся разволокнением межклеточного вещества поверхностной зоны, гибелью части хондроцитов, снижением толщины хряща и численной плотности хондроцитов. Вплоть до 140 суток опыта репаративная регенерация хряща имела незавершённый характер. Полученные экспериментальные данные необходимы для разработки эффективных методов поддерживающей терапии и функциональной реабилитации пострадавших с переломами костей.

Ключевые слова: переломы, ремоделирование артерий, регенерация нервов, хряща.

Введение

Переломы большеберцовой кости печально известны как повреждения, которые «нечасто отбирают жизнь, но часто её меняют» [17]. Анатомические особенности голени определяют высокую частоту открытых переломов, создающих риск инвалидизирующих осложнений. Ранний остеосинтез аппаратом

Г.А. Илизарова признаётся методом выбора в лечении этих переломов, поскольку он обеспечивает оптимальные условия для костного сращения и восстановления утраченных функций [5, 8, 19]. Однако функциональная реабилитация таких пострадавших относится к трудным проблемам травматологии.

Принято считать, что главная причина

функционального дефицита – длительная гипокинезия, которая приводит не только к атрофии мышц от бездействия, но и к снижению активного и пассивного объёма движений в суставах. Следует также учитывать, что при открытых переломах большеберцовой кости нередки нейрососудистые осложнения, которые могут быть результатом прямой механической травмы сосудисто-нервных пучков, выявленной в 14,6% случаев [18], и следствием компартмент-синдрома [15]. Особыми проблемами являются иатрогенные повреждения сосудисто-нервных пучков при остеосинтезе, а также ложные артериальные и венозные аневризмы, развивающиеся в отдалённом периоде после переломов голени [16].

На основании анализа клинического материала невозможно составить целостные представления о характере и выраженности механических и гемодинамических повреждений сосудисто-нервных пучков, структурных изменений суставного хряща, а также о механизмах компенсаторно-приспособительных реакций. Эти знания необходимы для разработки адекватной патогенетически обоснованной реабилитационной программы, направленной на улучшение качества жизни пострадавших с последствиями открытых переломов костей голени. Очевидна целесообразность экспериментальных исследований соответствующего направления.

Цель работы – выявление закономерностей структурной реорганизации бедренной и передней большеберцовой артерий, поверхностного малоберцового нерва и суставного хряща мышечков бедра при экспериментальном моделировании оскольчатых переломов голени, леченных методом чрескостного остеосинтеза.

Материалы и методы

Эксперимент проведен совместно с к.м.н. Н.В. Петровской и к.в.н. М.А. Степановым на 18 беспородных собаках обоего пола с массой тела 11-20 кг, в возрасте 3-5 лет. Собаки содержались в виварии, оперативные вмешательства и эвтаназию осуществляли в соответствии требованиями Министерства здравоохранения Российской Федерации к работе экспериментально-биологических клиник, а также «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей». Все манипуляции, проводимые на животных, были рассмотрены и одобрены этическим комитетом. Оперативные вмешательства проводили в условиях операционной, под внутривенным комбинированным наркозом моделировали открытый оскольчатый перелом в средней трети правой голени ударом груза массой 5 кг в свободном падении с высоты 1,5 м. В течение суток осуществляли иммобилизацию голени шиной и дополнительное обезболивание, затем выполняли закрытый чрескостный остеосинтез аппаратом Илизарова. Период фиксации голени в аппарате варьировал от 35 до 50 суток. Животные выводились из эксперимента передозировкой барбитуратов в разные сроки фиксации голени в аппарате (14, 21, 35-37 и 48-50 суток), через 30 и 90 суток после снятия аппарата (80 и 140 суток эксперимента, соответственно).

Для морфологического исследования иссекали участки поверхностного малоберцового нерва на уровне средней трети голени, участки бедренных и передних большеберцовых артерий оперированной и контралатеральной конечностей, участки хряща коленного сустава.

Для изготовления полутонких сре-

зов нервов, артерий и суставного хряща материал фиксировали в смеси 2% растворов глутарового и параформальдегидов на фосфатном буфере (рН 7,4) с добавлением 0,1% пикриновой кислоты, постфиксировали в 1% растворе тетраоксида осмия с 1,5% красной кровяной солью и заливали в аралдит. Поперечные полутонкие срезы окрашивали метиленовым синим и основным фуксином. В оцифрованных на аппаратно-программном комплексе «DiaMorph» (Москва) изображениях полутонких срезов нервов определяли суммарную площадь пучков нервных волокон, численные плотности миелиновых, безмиелиновых нервных волокон и эндоневральных микрососудов и долю (в %) деструктивно измененных миелиновых нервных волокон.

Гистоморфометрический анализ суставного хряща мышечков бедра проводили по полутонким эпоксидным срезам большой площади, изготовленным по разработанной нами технологии [7, 10]. Для точко-счётной объёмометрии использовали электронную версию оригинальной тестовой решетки [13], состоящей из 100 узлов с прозрачными центрами. Определяли толщину хряща (h_{xp}), рассчитывали численную (NA_{xc}) плотность всех хондроцитов в ткани, а также численную плотность изогенных групп ($NA_{из.гр}$) и пустых лакун ($NA_{пуст.лак}$) в общем объёме выборки (%).

Для получения нормативных данных соответствующими морфометрическими методами изучили поверхностные малоберцовые нервы [2] и суставной хрящ [6] 5-ти интактных взрослых беспородных собак.

Гистологическое исследование участков бедренных и большеберцовых артерий проведено методами световой микроскопии и морфометрии цифровых

изображений поперечных серийных парафиновых (окраски гематоксилин-эозином, по ван Гизону, Массону и Харту) и полутонких эпоксидных (окраска по Уикли) срезов. При количественном анализе определяли размерные параметры передней большеберцовой артерии: средний ортогональный диаметр (D), диаметр просвета (DL), толщину меди (НМ) и внутреннего слоя адвентиции. Рассчитывали относительную разницу каждого из указанных параметров артерии оперированной и контралатеральной конечностей по формуле:

$$(D, DL, НМ, НА)_{oper} - (D, DL, НМ, НА)_{contr} / (D, DL, НМ, НА)_{oper} * 100\%$$

Проверку статистических гипотез о различиях осуществляли с помощью параметрических и непараметрических критериев в программе AtteStat, версия 1.0 [4] в электронных таблицах Microsoft Excel 97.

Результаты и их обсуждение

При взятии материала для гистологического исследования установлено, что во всех экспериментах сосудисто-нервные пучки голени сохраняли свою анатомическую непрерывность на всём протяжении.

При микроскопии гистологических срезов передней большеберцовой артерии установлено, что у 4 собак из 18 (у 3 срок опыта 14-21 суток фиксации в аппарате, у одной – 49 суток фиксации в аппарате) наблюдались признаки механического повреждения артерий. В отличие от контралатеральных, повреждённые артерии полностью лишены эндотелия, субэндотелиального слоя и внутренней эластической мембраны, площадь просвета уменьшена в 7-8 раз. Просвет окружён миоинтимальным утолщением, в составе которого преобладают гладко-

мышечные клетки, и присутствует множество пенистых фагоцитов. Адвентиция фиброзно изменена.

У остальных животных в сроки 14 и 21 сутки фиксации в бедренных и большеберцовых артериях оперированной и контралатеральной конечностей выявлены разной степени выраженности признаки гемодинамических повреждений и репаративных реакций. Наибольшие изменения выражены в интиме и внутренней эластической мембране (ВЭМ). Наряду с участками дезэндотелизации и повреждениями субэндотелиального слоя встречались признаки дезинтеграции ВЭМ – эластолиза с формированием дефектов, значительно превышавших нормальные поры (рис. 1А). В отдельных случаях их протяжённость была значительной как по длине, так и по периметру сосуда, достигая более 30% периметра люминальной поверхности. Дефекты ВЭМ в отдельных случаях были замещены частоклоном эндотелиальных и модифицированных веретёновидных гладкомышечных клеток, в других – фиброзным

рубцом (рис. 1Б). В полутонких срезах выявлялись признаки эластогенеза – формирования редупликаций ВЭМ или фрагментов эластина в зонах её дефектов. В участках с сохранившейся ВЭМ нередко выявлялся субинтимальный фиброз. Дезинтеграция эластических структур выявлялась также в меди и внутреннем слое адвентиции. Медия содержала участки фиброзно-мышечной гиперплазии, которые располагались преимущественно в её внутреннем слое и отличались продольным по отношению к длиннику сосуда расположением миоцитов. По всей толще меди встречались миоциты с признаками дистрофических и некротических изменений, а также пенистые фагоциты. Адвентиция отличалась от нормальной повышенным содержанием клеточных элементов. У всех собак этого периода эксперимента в передней большеберцовой артерии оперированной конечности толщина адвентиции и меди была больше, чем на контралатеральной стороне. Процентная разница диаметров просвета варьировала от -12,9 до +40%.

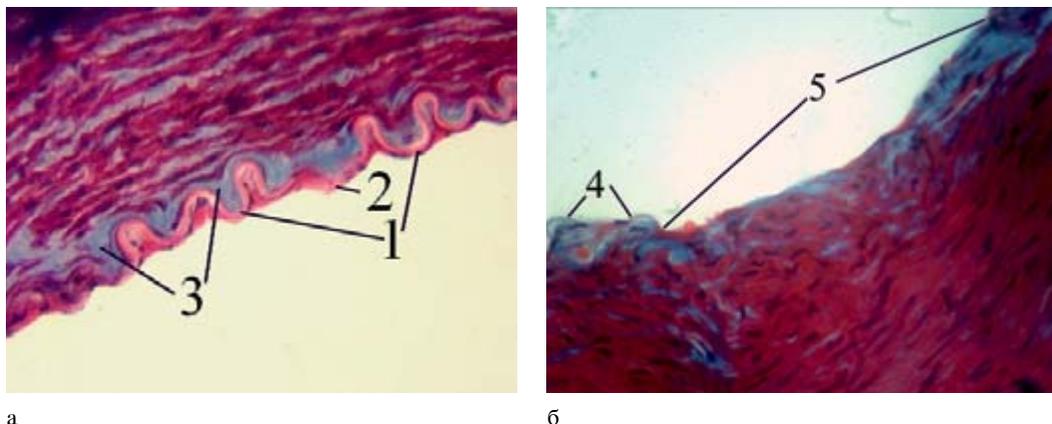


Рис. 1. а – фрагмент поперечного парафинового среза правой бедренной артерии через 14 суток фиксации в аппарате; б – фрагмент поперечного парафинового среза правой передней большеберцовой артерии через 21 сутки фиксации в аппарате. Окраска Массон-трихром, увеличение 500х. 1 – сохранившиеся участки внутренней эластической мембраны. 2 – участки её спрямления и лизиса. 3 – субинтимальный фиброз. 4 – остатки внутренней эластической мембраны. 5 – фиброзное замещение полнослойного дефекта интимы.

У двух собак этого срока описанные выше изменения сочетались с синдромом хронического сдавления передней большеберцовой артерии, проявляющимся гиперваскуляризацией адвентиции и выраженными дегенеративными изменениями меди.

Через 35-37 суток фиксации в зонах дефектов ВЭМ большеберцовых и бедренных артерий (рис. 2) отчетливо выявлялись новообразованные эластические структуры, которые подвергались вторичному эластолизу. Толщина стенки передней большеберцовой артерии оперированной конечности была больше контралатеральной, а процентная разница диаметров просвета варьировала от -1,6% до +26,6%.

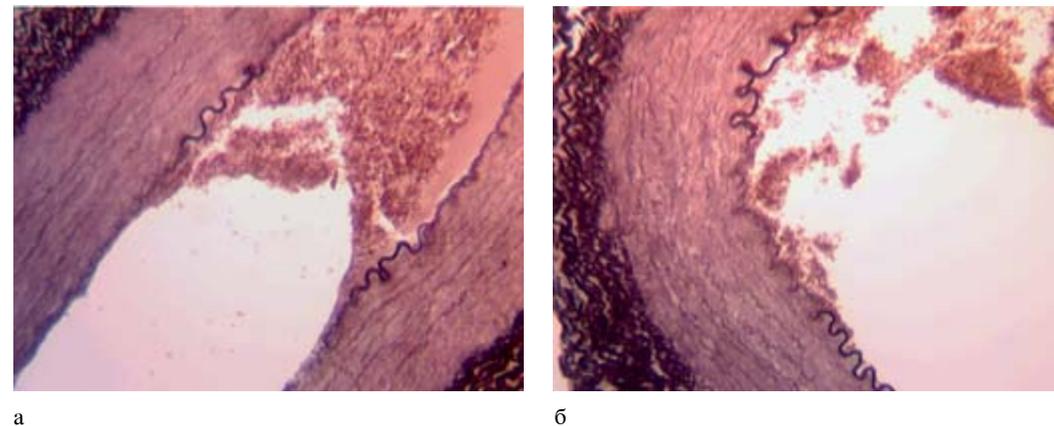


Рис. 2. Фрагменты поперечных полутонких срезов правой (а) и левой (б) бедренных артерий через 35 суток фиксации в аппарате. Окраска по Харту, увеличение 180х. Чередование участков с сохранившейся эластической мембраной с участками эластолиза, эластогенеза и вторичного эластолиза.

В срок 48-50 суток фиксации (группа с замедленной консолидацией перелома, n=3) у двух собак выявлен синдром хронического сдавления передней большеберцовой артерии, причём у одной он сочетался с обтурирующим тромбозом. Ещё у одной собаки, как было указано выше, выражены признаки констриктив-

ного ремоделирования передней большеберцовой артерии в результате механического повреждения.

В период после снятия аппарата (через 30 и 90 суток) процентная разница диаметров просвета передней большеберцовой артерии варьирует от -22,2 до +50,8%. На стороне с большим просветом определяется неравномерное истончение меди. Создаётся впечатление, что происходит оно, главным образом, за счёт запустевания наружных слоёв меди в результате гибели и миграции миоцитов.

В таблице представлена динамика изменений среднего диаметра передней большеберцовой артерии оперированной конечности, диаметра просвета и толщины её стенки. Можно видеть, что увели-

чение абсолютной величины морфометрических показателей наблюдается у животных с ускоренной консолидацией перелома (35-37 суток). При фиксации в аппарате в течение 48-50 суток все морфометрические показатели имели тенденцию снижения по сравнению с периодом 14-21 сутки фиксации.

Таблица

Морфометрические характеристики правой большеберцовой артерии

Срок опыта, количество вариант	Размерные параметры – M ± SD (в микрометрах)			
	Диаметр артерии	Диаметр просвета	Толщина меди	Толщина ВЭМ
Ф14-21	1255 ± 167	582 ± 91	234 ± 24	110 ± 16
Ф35-37	1464 ± 85°	699 ± 49°	275 ± 21°	129 ± 12
Ф48-50	1186 ± 142	569 ± 113	219 ± 20	116 ± 33
Ф30-35БА30	1584 ± 134 * 1	749 ± 110*	286 ± 21 ** 1	148 ± 14*1

Примечания:

° – статистическая значимость различий (Ф14-21) и (Ф35-37),

* – $p < 0,05$ – статистическая значимость различий (Ф48-50) и (Ф30-35БА30),** – $p < 0,01$ – статистическая значимость различий (Ф48-50) и (Ф30-35БА30),1 – $p < 0,05$ – статистическая значимость различий (Ф14-21) и (Ф30-35БА30).

Через 14-21 сутки фиксации голени в аппарате у двух собак регистрируется повышение ($p < 0,05$) на 11-16% суммарной площади пучков нервных волокон малоберцового нерва оперированной конечности относительно аналогичных параметров контралатерального нерва. В эпиневррии малоберцовых нервов обнару-

живаются признаки реактивного воспаления с наличием лейкоцитарно-плазмочитарных инфильтратов, повышенным, по сравнению с интактным нервом, содержанием фибробластов, фиброцитов и тучных клеток. Стенки большинства эпиневральных кровеносных сосудов утолщены, просветы расширены, нередко

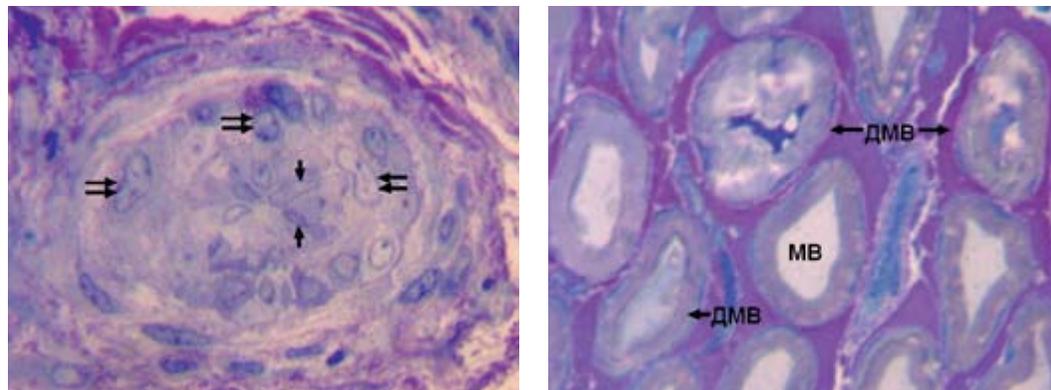


Рис. 3. Поверхностный малоберцовый нерв. Фиксация в аппарате 21 сутки.
а – эпиневральная артериола с облитерированным просветом. Стрелки – эндотелиоциты, выбухающие в просвет, двойные стрелки – апоптозные ядра гладкомышечных клеток; б – нервные волокна. МВ – миелиновые волокна, ДМВ – деструктивно измененные миелиновые волокна. Поперечный полутолстый срез, окраска метиленовым синим и основным фуксином. Увеличение 1250х.

состояние эритроцитарного стаза. Часть микрососудов имеют облитерированные просветы и признаки дистрофических и деструктивных изменений (рис. 3А).

Периневррий сохраняет тонколамеллярное строение, но возрастает количество ядер периневральных клеток, увеличиваются объемы волокнистых прослоек. Между слоями периневральных клеток формируются многочисленные мостики, представленные цитоплазматическими клеточными выростами. Ламеллоподии периневральных клеток внутреннего слоя периневррия армируют артерии и артериолы, анастомозирующие эпиневральное и эндоневральное сосудистые русла. Субпериневральные отеки отсутствуют.

Эндоневральные кровеносные сосуды, в отличие от интактного нерва, имеют, в основном, расширенные просветы, а отдельные – признаки деструктивных изменений клеточных элементов стенки. Численная плотность эндоневральных микрососудов на 21,7% превышает соответствующий параметр интактного нерва, составляя 281 ± 19 в 1 мм^2 (в интактном нерве – 220 ± 17).

Обнаруживаются миелиновые волокна с признаками демиелинизации, аксональной и валлеровской дегенерации (рис. 3Б). Гистоморфометрические исследования показали, что через 14 суток фиксации их доля (Deg%) составила $11,8 \pm 0,2\%$, а на 21 сутки – $8,9 \pm 3,9\%$, что в 6,2 и 4,7 раза выше значений интактного малоберцового нерва ($1,9 \pm 0,3\%$). В результате регенераторных процессов возрастает численная плотность миелиновых волокон (NA_{mf}): на 14 и 21 сутки фиксации NA_{mf} (24462 ± 2038 и 24166 ± 2486 в 1 мм^2 , соответственно) превышает ($p < 0,01$) аналогичный параметр интактного нерва (21335 ± 505) на

12,8% и 11,7%, соответственно. Численная плотность безмиелиновых волокон (NA_{amf}) через 14 суток фиксации снижается ($p < 0,01$) на 18,7% (13394 ± 701), а на 21 сутки (16359 ± 1614) приближается к норме (16479 ± 869).

Через 35-37 суток фиксации в аппарате, как и на предыдущем сроке эксперимента, у одной собаки обнаружено повышение на 5% ($p < 0,05$) суммарной площади пучков нервных волокон малоберцового нерва оперированной конечности относительно аналогичных параметров контралатерального нерва. В эпиневррии малоберцовых нервов выражены коллагеновые депозиты, наблюдается его гиперваскуляризация. Артериолы и венулы гипертрофированы. Часть сосудов, как и на предыдущих сроках, имеет признаки деструктивных изменений клеточных элементов. Периневррий сохраняет тонколамеллярное строение, волокнистые прослойки между слоями периневральных клеток остаются утолщенными. Численная плотность эндоневральных микрососудов остается высокой, составляя 287 ± 65 в 1 мм^2 . Продолжают встречаться волокна с признаками реактивно-деструктивных изменений, но Deg% уменьшается до 4,1%. Мелкие новообразованные волокна с тонкой миелиновой оболочкой единичны. NA_{mf} на 10,1% превышает значения интактного нерва (23742 ± 1188 , достоверность различий статистически не подтверждается), а NA_{amf} остается приближенной к норме.

Через 48-50 суток фиксации голени в аппарате достоверные различия по параметру «суммарная площадь пучков нервных волокон» отсутствуют. По сравнению с предыдущим сроком, в эпиневррии малоберцовых нервов снижается содержание клеточных элементов, но

сохраняется его гиперваскуляризация. У части артерий и артериол просветы расширены, у части – сужены, стенки утолщены. Периневрий утолщен. Просветы большинства эндоневральных микрососудов, как и в норме, спавшиеся, их численная плотность продолжает расти и составляет 307 ± 57 в 1 мм^2 , что на 28,3% выше ($p < 0,01$) значений интактного нерва. Визуально отмечается повышение количества миелиновых волокон в поле зрения, появление мелких новообразованных проводников. Гистоморфометрические исследования показали, что в результате происходящих в нерве регенераторных процессов NA_{mf} и NA_{amf} (28878 ± 1299 и 19620 ± 7470) существенно возрастают, и на 26,1% ($p < 0,01$) и 16,0%, соответственно, превышают норму – при этом статистически значимые отличия площади пучков нервных волокон нервов оперированной и контрлатеральной конечности отсутствуют. Продолжают встречаться волокна с признаками демиелинизации, аксональной и валлеровской дегенерации. Deg% составляет 5,7%.

У 2-х собак на данном сроке опыта в малоберцовых нервах обнаружены мел-

кие новообразованные аксоны в составе регенерационных кластеров (рис. 4а), что свидетельствует о предшествующей массовой деструкции нервных проводников с последующей регенерацией на фоне выраженного периневрального (рис. 4б) и эндоневрального фиброза.

На последующих сроках опыта (через 30 и 90 суток после снятия аппарата) достоверные различия по параметру «суммарная площадь пучков нервных волокон» отсутствуют. Эпиневральные микрососуды имеют нормальное строение, но их количество остается повышенным. В некоторых крупных пучках выявляются локальные субпериневральные отеки, отдельные периневральные клетки имеют вакуолизированную цитоплазму. Сохраняется гиперваскуляризация эндоневрия, просветы большинства микрососудов, как и в интактном нерве, спавшиеся, их численная плотность на 21,7% превышает ($p < 0,01$) значения интактного нерва. Клеточность эндоневрия остается повышенной: обнаруживаются единичные плазмциты, макрофаги, а в субпериневральных и периваскулярных пространствах встречаются тучные клетки.

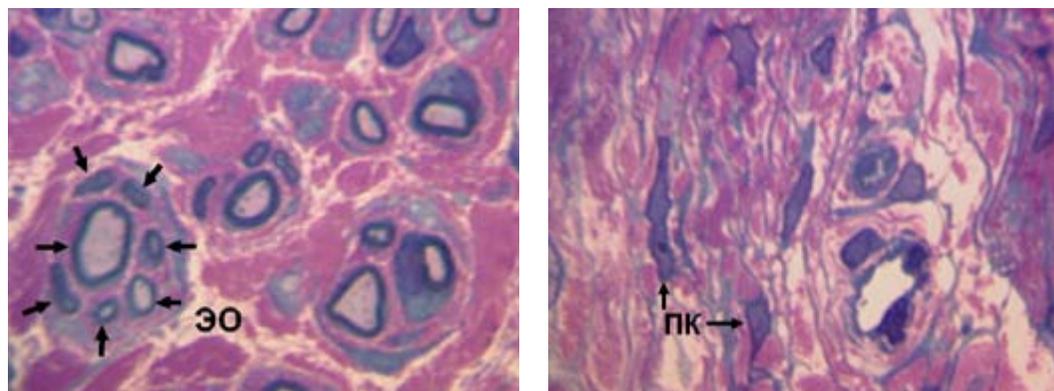


Рис. 4. Поверхностный малоберцовый нерв. Конец периода фиксации (50 суток опыта). а – нервные волокна. ЭО – эндоневральный отек, стрелки – миелинизирующиеся аксоны в составе регенерационного кластера; б – периневрий. ПК – периневральные клетки. Поперечный полутонкий срез, окраска метиленовым синим и основным фуксином. Увеличение 1250х.

Количество миелиновых волокон с признаками деструктивных изменений даже через 90 суток после снятия аппарата остается повышенным: Deg% в 2,4 раза превышает интактный показатель. NA_{mf} и NA_{amf} (24574 ± 380 и 15440 ± 1292) снижаются: NA_{amf} приближается к норме, а NA_{mf} на 13,2% превышает ($p < 0,01$) значения интактного нерва.

В суставном хряще к концу периода фиксации на всех сроках при светооптическом исследовании выявлены очаги разволокнения, демаскировка коллагеновых волокон, формирование узур (рис. 5). В части наблюдений в глубокой зоне отсутствовало колончатое расположение клеток, в отдельных участках наблюдалось истончение зоны кальцифицированного хряща, отмечено проникновение сосудов в хрящ. Толщина (h) хряща снижена ($p < 0,001$) – $400,3 \pm 4,9$ мкм (норма – $475,5 \pm 1,3$ мкм). За счет высокой клеточной плотности в поверхностной зоне численная плотность хондроцитов ($NA_{хц}$) превышала норму ($6,1 \pm 0,7$) до $9,2 \pm 0,7$ в $0,01 \text{ мм}^2$. Отмечены клетки, находящиеся в состоянии деструкции, пустые клеточные лакуны, их доля ($NA_{пуст\ лак}$) составила 17,2%.

Через 30 суток после снятия аппарата деструктивные изменения, как и на предыдущем сроке, выражались разволокнением межклеточного вещества поверхностной зоны, гибелью клеток. Толщина хряща и $NA_{хц}$ снижались ($p < 0,05$) до $372,2 \pm 2,5$ мкм и $7,2 \pm 0,6$, соответственно, $NA_{пуст\ лак}$ составила 26,6%. Часть клеток, входящих в состав изогенных групп, находилась в состоянии деструкции. Численная плотность изогенных групп ($NA_{из. гр}$) сопоставима с нормой.

Через 90 суток после снятия аппарата отмечен прирост h хряща – $452,3 \pm 7,6$ мкм, относительно нормы сохранялись сниженные значения. В части наблюдений восстанавливалась однородность межклеточного вещества поверхностной зоны. Значения численной плотности хондроцитов приближались к норме. $NA_{пуст\ лак}$ и $NA_{из. гр}$ превышали норму – 18% и 20%, соответственно.

В исследованной модели оскольчатого перелома голени у собак признаки механического повреждения передней большеберцовой артерии выявлены в 22,2% опытов, повреждения малоберцового

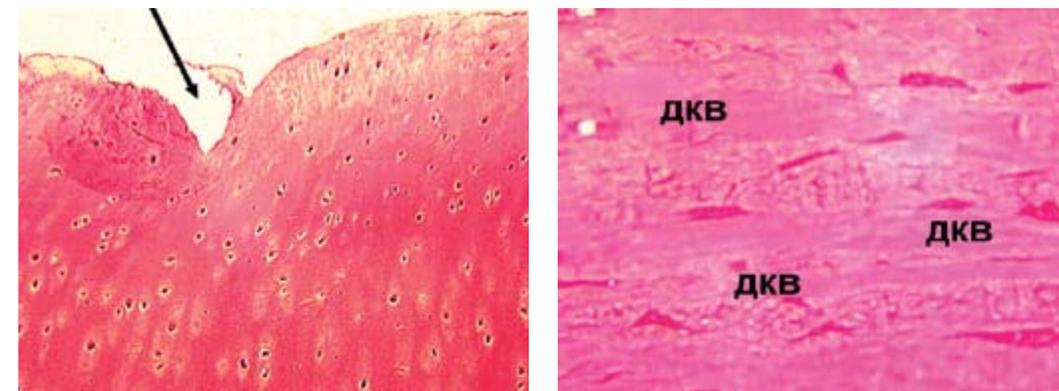


Рис. 5. Поверхностная зона суставного хряща. Конец периода фиксации. Полутонкий срез, окраска метиленовым синим и основным фуксином; а – разволокнение суставной поверхности, формирование узур (стрелка). Увеличение 200х; б – нарушена однородность межклеточного вещества, демаскировка коллагеновых волокон (ДКВ). Увеличение 500х.

нерва – в 11,1% случаев. Кроме того, в 22,2% опытов имелись гистологические признаки синдрома хронического сдавления передней большеберцовой артерии.

Во всех опытах наблюдались выраженные гемодинамические повреждения, репаративные реакции и адаптационное ремоделирование в передней большеберцовой артерии не только оперированной, но и контралатеральной конечности, а также бедренных артерий.

Хорошо известно, что артерии меняют (ремоделируют) свою структуру при изменениях кровотока [14]; ключевое событие ремоделирования в условиях повышенного кровотока – формирование дефектов внутренней эластической мембраны, которое позволяет артерии увеличить свой калибр и просвет, описано в экспериментах с артерио-венозными фистулами, но не исследовалось при переломах костей. Обнаруженное в данном исследовании разрушение не только внутренней эластической мембраны, но и эластических волокон меди и адвентиции, субинтимальный фиброз, формирование псевдо- и неоинтимы, запустевание меди при прочих неблагоприятных факторах могут инициировать развитие аневризм и системных сосудистых заболеваний или усугубить течение уже имеющихся, несмотря на то, что все описанные изменения имеют адаптационный характер.

Даже в отсутствии признаков механического повреждения малоберцовой нерва были выражены реактивные изменения эпинеурия: его утолщение, инфильтрация клетками воспалительного ряда, формирование коллагеновых депозитов, дистрофические и деструктивные изменения эпинеуральных сосудов, эпинеуральная гиперваскуляризация. Прослежены выраженные изменения клеточных

и волокнистых компонентов перинеурия, аналогичные описанным при дистракционном остеосинтезе у собак [12]. В комплексе эти данные свидетельствуют об усилении структурно-функциональных характеристик перинеурального барьера [11] и гистогенезе структур, обеспечивающих механическую прочность нерва и поддержание гомеостаза среды микроокружения нервных волокон, что объясняет хорошую сохранность проводниковой части нерва при развитии посттравматического отёчно-воспалительного синдрома, прослеженную в выполненном исследовании. К компенсаторно-приспособительным механизмам, направленным на поддержание гомеостаза и регуляцию репаративных процессов, следует отнести также эпинеуральную и эндоневральную гиперваскуляризацию, а также увеличение численности нервных волокон. Аналогичные изменения выявлены в нервах седалищно-берцового комплекса при дистракционном остеосинтезе бедра и голени у собак [1, 3, 9].

В суставном хряще обнаружены деструктивные изменения, выражающиеся разволокнением межклеточного вещества поверхностной зоны, гибелью части хондроцитов, снижением толщины хряща, численной плотности хондроцитов. Эти изменения являются следствием нарушения обменных процессов в суставном хряще, свидетельствующих о снижении синтеза и преобладании катаболических процессов. Через 90 суток после снятия аппарата возврат к двигательному стереотипу способствовал восстановлению гомогенности межклеточного вещества поверхностной зоны хряща только в части наблюдений. В основном, репаративная регенерация суставного хряща имела незавершенный характер, по сравнению с интактной нор-

мой значения морфометрических параметров оставались сниженными.

Выводы

При лечении оскольчатых переломов костей голени, даже на фоне созданных благоприятных биомеханических условий (чрескостный остеосинтез по Илизарову), в передней большеберцовой артерии, малоберцовой нерве и суставном хряще выявлены изменения деструктивно-репаративного и компенсаторно-приспособительного характера.

Полученные экспериментальные данные послужат теоретической основой для разработки эффективных методов поддерживающей терапии и функциональной реабилитации пострадавших с переломами костей.

Список литературы

1. **Варсегова Т.Н.** Методические особенности гистоморфометрии и стереологического анализа периферических нервов в экспериментальных исследованиях // Гений ортопедии. 2006. № 3. С. 90-95.
2. **Варсегова Т.Н.** Морфологическая и морфометрическая характеристика берцовых нервов собак // Сб. науч. тр. по материалам Первых международных Беккеровских чтений. Волгоград. 2010. Ч. 1. С. 317-319.
3. **Варсегова Т.Н.** Реактивно-деструктивные изменения большеберцовой нерва при удлинении голени дробной и высокодетальной дистракцией в эксперименте // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2011. № 4 (80). С. 234-238.
4. **Гайдышев И.П.** Анализ и обработка данных: специальный справочник. – СПб.: Питер. 2001. 752 с.
5. **Камерин В.К., Дьячков А.Н., Мартель И.И.** Монолокальный компрессионно-дистракционный остеосинтез по Или-

зарову в лечении открытых переломов // Гений ортопедии. 1995. № 1. С. 42-45.

6. **Ступина Т.А., Щудло М.М.** Гистоморфометрические характеристики интактного суставного хряща наружного мыщелка бедра собак // Морфологические ведомости. 2008. № 1-2. С. 104-107.

7. **Ступина Т.А., Щудло М.М.** Способ количественной оценки состояния суставного хряща на разных уровнях структурной организации // Гений ортопедии. 2009. № 1. С. 55-57.

8. **Швед С.И., Мартель И.И.** Чрескостный остеосинтез в лечении открытых переломов конечностей // Гений ортопедии. 1996. № 2-3. С. 102-103.

9. **Шевцов В.И., Щудло Н.А., Щудло М.М.** Изменения численно-размерного состава и динамического состояния нервных волокон седалищного нерва при удлинении бедра у собак // Гений ортопедии. 2004. № 1. С. 39-44.

10. **Щудло М.М., Варсегова Т.Н., Ступина Т.А., Борисова И.В., Гордичук С.В., Воинкова Л.В., Кобелев А.В.** Проблема эффекта Холмса в количественной телепатологии (методические аспекты) // Известия Челябинского Центра УРО РАН. 2003. № 1. С. 120-124.

11. **Щудло М.М.** Морфологические эквиваленты физиологических барьеров нервных стволов // Российские морфологические ведомости. 1999. №1-2. 172 с.

12. **Щудло М.М.** Рост и дифференцировка структур эпи-перинеурия в условиях дозированного растяжения // Вестник РАМН. 2000. № 2. С.19-23.

13. **Щудло М.М., Ступина Т.А., Щудло Н.А.** Количественный анализ метахромазии суставного хряща в телепатологии // Известия Челябинского НЦ (УРО РАН). Специальный выпуск (25). 2004. С. 17-22. http://csc.ac.ru/news/2004_special/04.zip

14. *Masuda H., Zhuang Y.J., Singh T.M., Kawamura K., Murakami M., Zarins C.K., Glagov S.* Adaptive Remodeling of Internal Elastic Lamina and Endothelial Lining During Flow-Induced Arterial Enlargement // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 1999. V. 19. P. 2298-2307.
15. *McQueen M.M., Christie J., Court-Brown C.M.* Acute compartment syndrome in tibial diaphyseal fractures // *Bone Joint Surg [Br]*. 1996. 78-B. P. 95-98.
16. *Miki R.A., Lawrence J.P., Gillon T.J., Lawrence B.D., Zell R.A.* Anterior tibial artery and deep peroneal nerve entrapment in spiral distal third tibia fracture // *Trauma Orthopaedics*. 2008. V. 31. № 12. 1240 p.
17. *Miller N.C., Askew A.E.* Tibia fractures: an overview of evaluation and treatment // *Orthopaedic Nursing*. 2007. V. 26. № 4. P. 216-223.
18. *Mirdad T. M.* Neuro-vascular injuries associated with limb fractures // *East African Medical Journal*. 2000. V. 77. № 12. P. 663-665.
19. *Wani N., Baba A., Kangoo K., Mir M.* Role of early Ilizarov ring fixator in the definitive management of type II, IIIA and IIIB open tibial shaft fractures // *International Orthopaedics*. 2011. V. 35. № 6. P. 915-923.

Structural reorganization of femoral and tibial arteries, peroneal nerve, and the knee cartilage for experimental canine leg bone fractures and their treatment by transosseous osteosynthesis technique

N.A. Chtchoudlo, T.N. Varsegova, T.A. Stupina, I.V. Borisova

Comminuted leg fractures were modeled in 18 adult mongrel dogs. A complex histological study was performed using computer morphometry of the femoral and anterior tibial arteries, the superficial peroneal nerve, the knee cartilage in different periods of leg fixation by the Ilizarov device (days 14, 21, 35-37 and 48-50), 30 and 90 days after the device removal (80 and 140 days of experiment, respectively). The signs of the anterior tibial artery mechanical injury have been revealed in 22,2% of experiments, those of the peroneal nerve injuries – in 11,1% of cases. The dynamics of changes in the medium diameter of the anterior tibial artery of the limb operated, lumen diameter and its wall thickness has been established to depend on osteogenesis intensity. The increase of the absolute value of morphometric parameters has been noted in animals with accelerated fracture consolidation (35-37 days), in case of the device fixation for 48-50 days all the morphometric parameters have had the tendency towards increasing in comparison with fixation for the period of 14-21 days. The increase of arterial calibre and lumen was accompanied by the formation of the defects of the inner elastic membrane the length of which in cross sections exceeded 30% of luminal surface perimeter. In the experiments with the absence of the signs of peroneal nerve mechanical injury the changes in epineurium and perineurium have been revealed evidencing the intensification of the structural-and-functional characteristics of the perineural barrier, as well as histogenesis of the structures providing the nerve mechanic strength and the maintenance of homeostasis of nerve fiber microenvironment medium. The destructive changes have been revealed in the articular cartilage expressed as follows: the visualization of the superficial zone extracellular substance gametting, the death of a part of chondrocytes, the decrease of cartilage thickness and chondrocyte numerical density. The reparative regeneration of the cartilage was of incomplete for up to 140 days of the experiment. The experimental data obtained are required for developing the effective methods of supporting therapy and functional rehabilitation of casualties with bone fractures.

Key words: fractures, remodeling of arteries, regeneration of nerves and cartilage.

Влияние эмоксипина на морфометрические показатели щитовидной железы белых крыс в постнатальном онтогенезе в условиях иммобилизационного стресса

А.Л. Ясенявская, С.А. Лужнова

ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия», Астрахань

Контактная информация: Ясенявская Анна Леонидовна yasen_9@mail.ru

Изучали влияние эмоксипина на структуру щитовидной железы белых крыс в молодом и зрелом возрасте на фоне иммобилизационного стресса.

В результате исследования было установлено, что эмоксипин устранял изменения в структуре щитовидной железы, проявляющиеся снижением высоты тироцитов и площади ядер тироцитов, а также увеличением площади фолликулов и фолликулярного коллоида.

Ключевые слова: щитовидная железа, эмоксипин, иммобилизационный стресс.

Стресс, как известно, представляет собой совокупность защитных и повреждающих реакций организма, возникающих в результате нейроэндокринных и метаболических сдвигов в ответ на действие чрезвычайных или патологических факторов. Стрессорные факторы, действующие на организм, вызывают в нем цепь защитно-приспособительных реакций, заключающихся в изменении нейроэндокринных, иммунных, метаболических и других процессов [1, 2, 3, 5, 6, 11, 12, 15].

Адаптационные возможности различаются у животных разного возраста, так как в процессе онтогенеза происходит формирование и становление механизмов адаптации [13, 14]. С возрастом активность окислительного метаболизма изменяется, и его степень обратно пропорциональна продолжительности жизни для различных видов животных [7]. Нарушение баланса про- и антиоксидантных процессов в ходе возрастной инво-

люции играет немалую роль в развитии возраст-зависимой патологии, а также при физиологических факторах, близких к экстремальным [9, 10]. В этих условиях активация свободнорадикальных процессов коррелирует со снижением эффективности функционирования биологических систем и утилизации свободных радикалов [8].

Принимая во внимание тот факт, что щитовидная железа является одним из ключевых звеньев нейроэндокринной системы «гипоталамус – гипофиз – железы – мишени», исследования, посвященные изучению механизмов взаимосвязи тиреоидной функции и свободнорадикальных процессов, несомненно, актуальны.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния эмоксипина на морфометрические показатели функциональной активности щитовидной железы на разных этапах постнатального онтогенеза в условиях иммобилизационного стресса.