

14. Zaugg C.E., Spaniol M., Kaufmann P. et al. Myocardial function and energy metabolism in carnitine-deficient rats. *Cell. Mol. Life. Sci.*, 2003, v. 60, № 4, p. 767–775.

Поступила в редакцию 19.07.2005 г.
Получена после доработки 05.12.2005 г.

CHANGES OF MYOCARDIUM, SKELETAL MUSCLE AND LIVER OF RATS FED CARNITINE-DEFICIENT DIET AND TREATED WITH CARNITINE OPTICAL ISOMERS

A.A. Spasov, I.N. Iezhitsa, V.B. Pisarev, G.L. Snigur and M.S. Kravchenko

The aim of the present study was a comparative assessment of L-, D- and DL-carnitine effect on morphometric and histological parameters of myocardium, skeletal muscles (m. gastrocnemius) and liver in 60 rats fed carnitine-deficient diet. Carnitine-deficient diet fed 2 months resulted in a substantial reduction of carnitine concentration in blood plasma of rats. In carnitine-deficient animals, lipid vacuoles were found to accumulate within the hepatocytes in all the zones of hepatic

lobules, which mainly had the character of micro- and macrovesicular steatosis. This was accompanied by a reduction of skeletal muscle fiber and cardiomyocyte average thickness. L-carnitine administration resulted in the compensation of carnitine deficiency in animals with alimentary carnitine deficient state, while the racemate and D-stereoisomere did not affect its content in blood. Pharmacological correction of carnitine deficiency with L-carnitine prevented the development of liver fatty dystrophy to a greater degree, than the administration of other carnitine stereoisomers and promoted the restoration of muscular fiber thickness of skeletal muscles. DL-carnitine administration was accompanied by a moderate correction of fatty dystrophy and did not prevent the development of skeletal muscles atrophy. D-carnitine stereoisomere did not prevent liver fatty dystrophy, but it reduced its severity. Correction of carnitine deficiency with D- stereoisomere was not accompanied by essential morphological and morphometric differences in degree of skeletal muscle atrophy.

Key words: *myocardium, skeletal muscles, liver, morphometry, carnitine deficiency.*

Department of Pharmacology and Department of Pathological Anatomy Volgograd State Medical University.

© Н.К. Чикорина, В.И. Шевцов, 2006
УДК 611.16:611.73

Н.К. Чикорина и В.И. Шевцов

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЭНДОТЕЛИОЦИТОВ ГЕМОМИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ ПРИ УДЛИНЕНИИ ГОЛЕНИ ПО МЕТОДУ Г.А. ИЛИЗАРОВА (экспериментальное исследование)

Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова Росздрава, г. Курган

Методом трансмиссионной электронной микроскопии изучена ультраструктура эндотелиоцитов гемомикроциркуляторного русла передней большеберцовой мышцы взрослых собак при удлинении голени по методу Г.А. Илизарова. Установлена их способность к редукции и обновлению. Возникающее в тканях удлиняемой конечности напряжение растяжения стимулирует и поддерживает высокую активность ядерного аппарата эндотелиоцитов, в котором преобладает эухроматин. При этом во все сроки наблюдения капилляров с закрытым просветом свидетельствует о пролонгированном процессе ангиогенеза терминальных отделов гемомикроциркуляторного русла, которые сочетаются с регенерацией и ростом волокон скелетной мышечной ткани. После прекращения дистракции на фоне продолжающегося роста и дифференцировки мышечной ткани отмечен рост эндотелиоцитов и усиление активности их синтетического аппарата.

Ключевые слова: *скелетная мышца, капилляр, эндотелиоцит, дистракция конечности.*

При лечении ортопедотравматологических больных в оценке репаративных процессов, происходящих в костной ткани конечности, особое значение придается состоянию регионарного кровообращения. Адекватный уровень кровотока является одним из условий формирования полноценного костного регенерата [5, 13]. В клинической практике в комплексе методов исследования, позволяющих получить полноценную информацию о состоянии регионарного кровотока, применяется рентгеноконтрастная ангиография [2] или реовазография [3]. Все более частое применение получают методы неинвазивной сосуди-

стой диагностики, позволяющие исследовать кровоток не только в магистральных артериях, но и в более мелких сосудах мягких тканей, включая гемомикроциркуляторное русло скелетных мышц [8]. Дополнительные возможности приобретения научных данных предоставляют экспериментальные условия изучения переломов длинных трубчатых костей. Морфологические исследования, проводимые на световом и электронно-микроскопическом уровне, а также сканирующая электронная микроскопия позволили обнаружить сложную организацию микрорельефа и архитектоники сосудов отдельных органов

и тканей [1, 9, 12]. Однако электронно-микроскопические исследования микрососудистого русла скелетных мышц конечности в условиях distractionного остеосинтеза немногочисленны [1].

Цель настоящей работы — комплексное изучение влияния дозированного растяжения на строение эндотелиоцитов гемомикроциркуляторного русла скелетных мышц голени в условиях экспериментального удлинения конечности методом distractionного остеосинтеза по Илизарову.

Материал и методы. Эксперименты проведены А.Н. Дьячковым, И.И. Мартелем и Н.В. Петровской на 46 взрослых беспородных собаках, которым после закрытой флекссионной остеоклазии берцовых костей [7] удлиняли конечность на 28–30 мм (до 20%) первоначальной длины голени с режимом distraction 0,75–1,0 мм за 4 приема в день. Животных выводили из опыта через 5 сут после операции, 3, 7, 14, 21, 28 сут distraction, 30 сут фиксации голени в аппарате и через 1–3 мес после снятия аппарата. Содержание животных, оперативные вмешательства и эвтаназию осуществляли согласно приказа МЗ СССР №775 от 12.08.1977 г. «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных».

Для морфологических исследований использовали образцы из верхней, средней и нижней третьей брюшка передней большеберцовой мышцы. Под общим наркозом прижизненно через брюшную часть аорты вводили 2% альдегидную смесь на фосфатном буфере, взятые кусочки мышц обрабатывали по общепринятой методике изготовления препаратов для электронно-микроскопического исследования [10]. Ультратонкие срезы изготавливали с помощью алмазных ножей LKB JUMDI (Япония) на ультрамикротоме LKB Ultratome III 8800 и LKB Ultratome Bromma Nova (Швеция), контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца в ультратейнере фирмы LKB Bromma 2168 (Швеция). Срезы скелетной мышечной ткани изучали с помощью трансмиссионного электронного микроскопа JEM-100B фирмы JEOL (Япония).

Результаты исследования. В послеоперационном периоде, до начала distraction, в капиллярах эндомизия наблюдаются изменения в виде отека базальной мембраны эндотелия, его истончения и усиления пиноцитозной активности эндотелиоцитов. Их ядра богаты гетерохроматином. Базальные мембраны представлены толстыми, гомогенизированными структурами. В просвете части капилляров, кроме изредка встречающихся форменных элементов крови, определяется содержимое в виде свободно лежащих мембранных комплексов либо расширенных или спавшихся миелоноподобных мешочков. В некоторых капиллярах просвет целиком заполнен цитоплазматическими массами десквамированных клеток (рисунок, а). На люминальной поверхности эндотелиоцитов появляются множество выростов, увеличивающих рабочую площадь капилляров. Встречаются спавшиеся капилляры или с пустым расширенным просветом.

Через 3–7 сут distraction в части капилляров послеоперационные изменения сохраняются. Наряду с этим, встречаются капилляры с закрытым просветом, в ядрах эндотелиоцитов которых значительно представлен функционально активный эухроматин, а гетерохроматин располагается около ядерной оболочки. Пиноцитозные пузырьки морфологически близки к норме. Базальная мембрана эндотелия ка-

пилляров войлокообразного вида, обычной толщины (см. рисунок, б). Это может свидетельствовать о развитии резервных микрососудов, часть из которых раскрываются, вступая в сообщение с кровотоком.

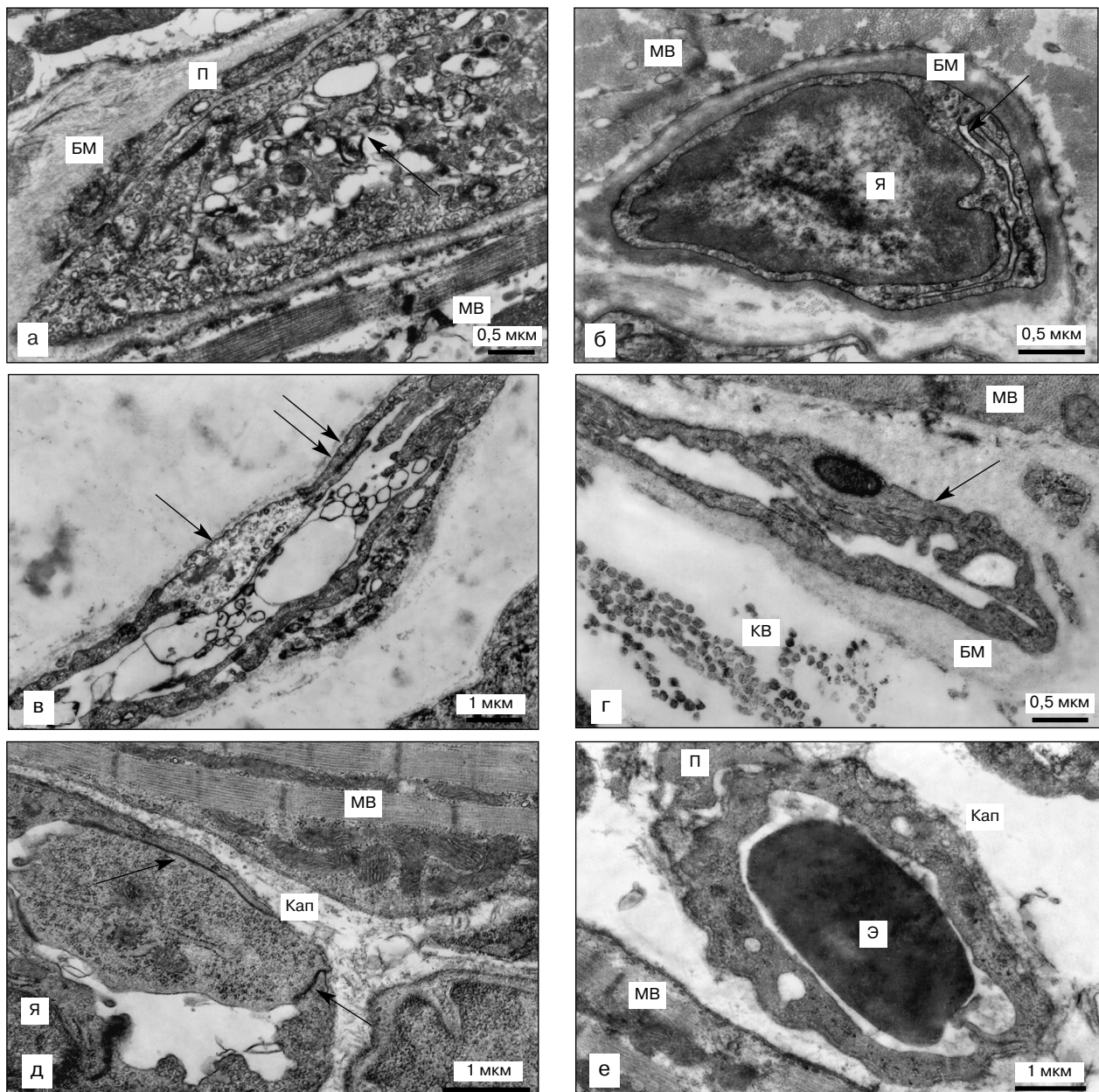
Через 2–3 нед distraction (удлинение голени на 10–15%) ультраструктура большинства капилляров эндомизия нормализуется, хотя в некоторых из них продолжают встречаться мембранные агрегаты. В отдельных капиллярах, наряду с обычными эндотелиоцитами, имеются клетки со светлой цитоплазмой, обедненной структурами цитоскелета и пиноцитозными пузырьками (см. рисунок, в). Выросты эндотелиоцитов на люминальной поверхности более тонкие, извитые, иногда замыкаются с образованием своеобразных петель. Вероятно, эти изменения свидетельствуют о локальных деструктивных процессах в стенках капилляров. Встречаются капилляры со щелевидным просветом. Реактивно-дистрофические изменения в поврежденных мышечных волокнах, постепенно стихая, ликвидируются. В стенке микрососудов встречаются участки, свидетельствующие о регенерации зоны повреждения за счет прилежащих клеточных элементов (см. рисунок, г).

При удлинении голени на 20% (28 сут distraction) в большинстве видимых капилляров определяется обычная структура эндотелиоцитов, цистерны эндоплазматической сети уплощены. Наряду с раскрытыми микрососудами, обнаруживаются резервные гемокапилляры со щелевидным просветом.

После прекращения distraction (конец фиксации голени в аппарате, 2 мес эксперимента) продолжается дифференцировка новообразованной скелетной мышечной ткани и аппозиционный рост миофибрилл внутри волокон и под сарколеммой. В большинстве исследованных микрососудов мышц определяется обычная ультраструктура. В ядрах эндотелиоцитов гетерохроматин концентрируется около ядерной оболочки. Цитоплазма насыщена пиноцитозными пузырьками, мелкими митохондриями и единичными расширенными цистернами гранулярной эндоплазматической сети. Базальная мембрана войлокообразного вида. Видны прилегающие отростки перицитов. В эндотелии некоторых капилляров представительство биосинтетического аппарата в виде множества полирибосом и гранулярной эндоплазматической сети свидетельствует о росте эндотелиоцитов (см. рисунок, д).

После снятия аппарата (3 мес эксперимента) происходит восстановление ультраструктуры исследуемых мышц и их гемокапилляров (см. рисунок, е).

Обсуждение полученных данных. Проведенные исследования показали, что преобразование эндотелиоцитов капиллярного русла скелетных мышц голени экспериментальных животных при удлинении конечности является следствием изменения кровотока в магистральных сосудах. При чрескостном остеосинтезе по Илизарову отмечается увеличение объемной скорости кровотока, расширение просвета магистральных артерий и увеличение объема сосудистого бассейна скелетных мышц [4, 6]. Оперативное вмешательство на голени, как и любая травма, вызывает перераспределение крови в общей системе кровообращения и интенсификацию регионарного



Капилляры эндомизия передней большеберцовой мышцы в условиях удлинения голени по методу Г.А. Илизарова.

а — через 5 сут после операции, стрелкой указано содержимое капилляра; б — через 7 сут дистракции, стрелкой указан капилляр с закрытым просветом; в — через 14 сут дистракции, стрелкой указан эндотелиоцит со светлой цитоплазмой, двумя стрелками — «темный» эндотелиоцит; г — через 21 сут дистракции, стрелкой указан отросток эндотелиоцита смежного капилляра; д — через 30 сут фиксации в аппарате, стрелками указаны плотные и щелевые контакты эндотелиоцитов; е — через 1 мес после снятия аппарата, нормальная ультраструктура капилляра. МВ — мышечное волокно; КВ — коллагеновые волокна; Кап — капилляр; БМ — базальная мембрана эндотелия; Я — ядро эндотелиоцита; Э — эритроцит в просвете капилляра; П — перицит.

кровотока. В конечном итоге это предотвращает развитие грубых структурных изменений в мышечных волокнах в послеоперационном периоде. Однако возросший кровоток и повышение тонуса резистентных сосудов предполагают открытие артериовенозных шунтов, по которым кровь, минуя мышцы, сбрасывается в венозное русло. Вследствие этого поднимается венозное давление и снижается относительная величина притока крови к мышцам [1]. Поэтому реактивные изменения в отдельных мышечных волокнах сохраняются до нормализации регионарного кровотока.

Значительное увеличение объема сосудистого бассейна скелетных мышц после операции увеличивает

нагрузку и на капилляры. В результате этого в части из них развиваются адаптационные процессы в виде неспецифических реактивных и адаптационных изменений ультраструктуры эндотелиоцитов. Снижение же объемной скорости кровотока в бедренной артерии через 2 нед дистракции до уровня дооперационных величин уменьшает кровенаполнение сосудистого русла мышц, и в большинстве капилляров скелетных мышц наступает нормализация их ультраструктуры.

К 21-м суткам дистракции величина кровотока в бедренной артерии падает ниже дооперационных величин, а венозное давление достигает максимальных цифр. Можно предположить, что относительная гипок-

сия тканей, вызванная венозным застоем, является необходимым фактором для развертывания в них репаративных процессов. Электронно-микроскопические исследования скелетной мышечной ткани подтверждают это предположение. Активный миофибриллогенез, увеличение объема саркоплазмы и площади, покрывающей их сарколеммы, а также новообразование мышечных волокон из камбиальных элементов являются признаками продолжающейся регенерации структурных единиц миома [6, 11]. Изменения эндотелиоцитов в этом периоде наблюдения свидетельствуют о локальных адаптационных процессах в стенках капилляров.

Через 28 сут distraction отмечаются нормализация кровотока в бедренной артерии, тенденция нарастания артериального давления и снижение давления в венозной части сосудистого русла, что ведет, наряду с непосредственным влиянием напряжения растяжения скелетной мышечной ткани, к улучшению ее питания, адаптационной устойчивости и стимуляции роста скелетных мышц. Гемокапилляры микроциркуляторного русла на новую волну интенсификации регионарного кровообращения отвечают раскрытием резервных единиц, что свидетельствует о возрастании функциональной нагрузки по обеспечиванию наращивания мышечной массы.

К концу периода фиксации голени в аппарате наблюдается новая волна увеличения объемной скорости кровотока по бедренной артерии, что оказывает существенное влияние на процессы цитодифференцировки новообразованной скелетной мышечной ткани и продолжающийся рост мышечных волокон [11]. В большинстве исследованных микрососудов мышц определяется обычная ультраструктура.

После снятия аппарата параллельно с постепенной нормализацией реографических показателей восстанавливается структура скелетных мышц голени и регионарных гемокапилляров.

Таким образом, при distractionном остеосинтезе по Г.А. Илизарову возникающее в тканях напряжение растяжения, активизирующее процессы восстановления утраченных структур, вызывает в первую очередь перестройку регионарного кровотока. Интенсификация регионарного кровотока в удлиняемой конечности, по-видимому, усиливает метаболическую активность эндотелиоцитов и стимулирует ангиогенез терминальных отделов гемомикроциркуляторного русла, что способствует регенерации и росту волокон скелетных мышц. Присутствие во все сроки наблюдения капилляров со щелевидным просветом свидетельствует о пролонгированном процессе восстановления объема сосудистого бассейна скелетных мышц.

ЛИТЕРАТУРА

1. Асонова С.Н., Наумов А.Д., Ерофеев С.А. и Гордиевских Н.И. Морфофункциональные особенности интраорганных сосудов мышц при разных режимах удлинения по Илизарову. *Ангиол. сосуд. хир.*, 1995, № 2, с. 109–110.
2. Беляева А.А. Ангиография в клинике травматологии и ортопедии. М., Медицина, 1993.
3. Бейдик О.В. и Киреев С.И. Влияние способа внешней фиксации на динамику регионарного кровообращения. *Гений ортопедии*, 1999, № 3, с. 38–40.

4. Илизаров Г.А. и Гордиевский Н.И. Влияние ритма distraction на некоторые показатели гемодинамики в икроножной мышце оперированной конечности. В кн.: *Метод Илизарова: теория, эксперимент, клиника*. Курган, ИПП «Зауралье», 1991, с. 277–279.
5. Илизаров Г.А. и Ирьянов Ю.М. Особенности остеогенеза в условиях напряжения растяжения. *Бюл. exper. биол.*, 1991, т. 111, № 2, с. 194–196.
6. Илизаров Г.А., Наумов А.Д. и Чикорина Н.К. Влияние дозированного растяжения аппаратом Илизарова на структурно-функциональное состояние скелетных мышц в эксперименте. В кн.: *Метод Илизарова: теория, эксперимент, клиника*. Курган, ИПП «Зауралье», 1991, с. 290–293.
7. Илизаров Г.А. и Шрейнер А.А. Новый метод флексиионной остеоклазии (экспериментальное исследование). *Ортопед. травматол.*, 1979, №1, с. 9–13.
8. Крупаткин А.И. Функциональные исследования периферического кровообращения и микроциркуляции тканей в травматологии и ортопедии: возможности и перспективы. *Вестн. травматол. и ортопед. им. Н.Н. Приорова*, 2000, №1, с. 66–69.
9. Куприянов В.В., Миронов В.А., Миронов А.А. и Гурина О.Ю. Ангиогенез. Образование, рост и развитие кровеносных сосудов. М., НИО «Квартет», 1993.
10. Саркисов Д.С. и Петров Ю.Л. Микроскопическая техника: Руководство. М., Медицина, 1996.
11. Чикорина Н.К. Сопоставительный анализ ультраструктуры передней большеберцовой мышцы у щенков и у взрослых собак при удлинении голени по Илизарову. В кн.: *Закономерности морфогенеза и регуляция тканевых процессов в нормальных, экспериментальных и патологических условиях*. Тюмень, Изд-во Тюменск. гос. мед. акад., 1998, с. 73–74.
12. Шевцов В.И. и Ирьянов Ю.М. Остеогенез при distractionном остеосинтезе. *Бюл. exper. биол.*, 1995, т.120, № 7, с. 95–99.
13. Ilizarov G.A. Transosseous osteosynthesis. Theoretical and clinical aspects of the regeneration and growth in tissue. Berlin, Heidelberg, Springer Verlag, 1992.

Поступила в редакцию 14.01.2006 г.

ULTRASTRUCTURAL CHARACTERISTICS OF ENDOTHELIOCYTES OF SKELETAL MUSCLE HEMOMICROCIRCULATORY BED DURING TIBIAL LENGTHENING USING G.A. ILIZAROV METHOD

N.K. Chikorina and V.I. Shevtsov

The method of transmission electron microscopy was used to study the ultrastructure of endotheliocytes in the hemomicrocirculatory bed of the anterior tibial muscle of adult dogs during tibial lengthening with Ilizarov method. The capacity of endotheliocytes to reduction and renewal was established. The tension stress induced in the biological tissues of the lengthened limb stimulates and supports high activity of endotheliocyte nuclear apparatus, which is characterized by the prevalence of euchromatin. Presence of capillaries with closed lumen at all time points studied is indicative of a prolonged angiogenesis process in the terminal parts of the hemomicrocirculatory bed, which is accompanied by regeneration and growth of the muscle fibers. After the cessation of distraction, while the muscle tissue continued to grow and differentiate, the endotheliocyte growth and the activation of their synthetic apparatus was noted.

Key words: *skeletal muscle, capillary, endotheliocyte, distraction.*

G.A. Ilizarov State Scientific Center «Restorative Traumatology and Orthopedics», Kurgan.