

Научная статья
УДК 611.835.8-089.84:616.718.8-092.9
<https://doi.org/10.17816/2311-2905-2534>



Структурная реорганизация диафиза III плюсневой кости после аутогенной пластики большеберцовой порции седалищного нерва

Н.А. Щудло, Т.А. Ступина, Т.Н. Варсегова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, г. Курган, Россия

Реферат

Актуальность. Из мировой литературы известно влияние нейрэктомии седалищного нерва на снижение костной плотности бедренных и большеберцовых костей лабораторных мышей и крыс, но не изучено состояние костей дистальных отделов конечностей после операций, направленных на восстановление иннервации.

Цель исследования — выявить структурные изменения диафиза III плюсневой кости после первичной аутогенной пластики резекционного дефекта большеберцовой порции седалищного нерва крыс.

Материал и методы. У 16 крыс Wistar (возраст 8–10 мес.) выполнена аутологичная нейропластика большеберцовой порции седалищного нерва. Через 4 мес. ($n = 8$) и 6 мес. ($n = 8$) после операции животных эвтаназировали. Группу контроля (контроль) составили 7 интактных животных в возрасте 14 мес. ($n = 3$) и 16 мес. ($n = 4$) — соответственно возрасту оперированных крыс на момент эвтаназии. Для гистоморфометрического анализа иссекали фрагмент переднего отдела стопы на уровне плюсневых костей. Методом точко-счетной объемометрии в изображениях поперечных срезов диафиза III плюсневой кости, окрашенных по Массону, определяли соотношение фуксинофильных и анилинофильных структур кортикальной пластинки. Измеряли толщину кортикальной пластинки, определяли численную плотность, площадь и диаметр остеонов и гаверсовых каналов.

Результаты. Через 4 мес. эксперимента по сравнению с контролем выявлено снижение доли минерализованных структур кортикальной пластинки на 15% ($p = 0,0001$), уменьшена ее толщина на 12,7% ($p = 0,0184$). В остеонном слое выражены признаки остеолита, снижена численная плотность остеонов, их размерные характеристики, отмечены остеоны с расширенными гаверсовыми каналами. В срок 6 мес. толщина кортикальной пластинки не имела статистически значимых отличий от нормы ($p = 0,2067$), однако прогрессировало снижение доли минерализованных структур — на 33,6% ($p = 0,0001$). В остеонном слое сохранялись сниженные значения численной плотности остеонов, их площади и диаметров. Значения диаметров гаверсовых каналов остеонов продолжали увеличиваться.

Заключение. В период от 4 до 6 мес. восстанавливалась толщина кортикальной пластинки диафиза III плюсневой кости, но прогрессировали изменения численно-размерного состава остеонов, уменьшение минерализации внеклеточного матрикса и эрозирование субпериостального слоя кости. Оценка денервационной остеопении дистальных отделов конечностей в данных условиях эксперимента применима в дальнейших исследованиях реабилитационных воздействий, ускоряющих и улучшающих реиннервацию.

Ключевые слова: седалищный нерв крысы, аутонейропластика, диафиз плюсневой кости, денервационная остеопения, гистоморфометрия.

Для цитирования: Щудло Н.А., Ступина Т.А., Варсегова Т.Н. Структурная реорганизация диафиза III плюсневой кости после аутогенной пластики большеберцовой порции седалищного нерва. *Травматология и ортопедия России*. 2023;29(3):56–64. <https://doi.org/10.17816/2311-2905-2534>.

Ступина Татьяна Анатольевна; e-mail: stupinasta@mail.ru

Рукопись получена: 26.01.2023. Рукопись одобрена: 15.06.2023. Статья опубликована онлайн: 11.07.2023.

© Щудло Н.А., Ступина Т.А., Варсегова Т.Н., 2023



Structural Reorganization of the Third Metatarsal Bone Shaft After Autogenous Plasty of the Tibial Portion of the Sciatic Nerve

Nathalia A. Shchudlo, Tatyana A. Stupina, Tatyana N. Varsegova

National Ilizarov Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russia

Abstract

Background. Previous research has shown that neurectomy of the sciatic nerve leads to a reduction in bone density in the femur and tibia of laboratory mice and rats. However, the impact of surgeries aimed at restoring nerve innervation on the bones of distal limb parts has not been studied.

Aim of the study — to identify structural changes in the shaft of the third metatarsal bone after primary autogenous plasty of the resection defect of the tibial portion of the sciatic nerve in rats.

Methods. Autologous neuroplasty of the tibial portion of the sciatic nerve was performed on 16 Wistar rats (aged 8-10 months). The animals were euthanized at 4 and 6 months after the surgery, and a control group of 7 intact rats of similar age was included. Histomorphometric analysis was conducted on a dissected fragment of the forefoot at the level of the metatarsal bones. The ratio of fuchsinophilic and anilinophilic structures of the cortical plate was determined using point-count volumetry on Masson-stained images of transverse sections of the third metatarsal bone shaft. The thickness of the cortical plate, numerical density, area, and diameter of osteons and Haversian canals were measured.

Results. After 4 months, compared to the control group, a 15% decrease ($p = 0.0001$) in the proportion of mineralized structures of the cortical plate and a 12.7% reduction ($p = 0.0184$) in its thickness were observed. Osteolysis signs were present in the osteonal layer, along with decreased numerical density and dimensional characteristics of osteons, and the presence of osteons with dilated Haversian canals. At 6 months, the thickness of the cortical plate did not significantly differ from the norm ($p = 0.2067$), but there was a progressive 33.6% decrease ($p = 0.0001$) in the proportion of mineralized structures. Reduced values of numerical density, area, and diameter of osteons persisted in the osteonal layer, while the diameters of Haversian canals in osteons increased over time.

Conclusion. From 4 to 6 months, the thickness of the cortical layer in the compact bone of the third metatarsal bone shaft was restored. However, changes in the numerical and dimensional composition of osteons, along with decreased mineralization of the extracellular matrix and erosion of the subperiosteal bone layer, continued to progress. The developed experimental 2D model can be used to assess denervation osteopenia in distal limb parts and further explore rehabilitation interventions that enhance and improve reinnervation.

Keywords: rat sciatic nerve, autoneuroplasty, metatarsal bone shaft, denervation osteopenia, histomorphometry.

Cite as: Shchudlo N.A., Stupina T.A., Varsegova T.N. Structural Reorganization of the Third Metatarsal Bone Shaft After Autogenous Plasty of the Tibial Portion of the Sciatic Nerve. *Traumatology and Orthopedics of Russia*. 2023;29(3): 56-64. (In Russian). <https://doi.org/10.17816/2311-2905-2534>.

✉ Tatyana A. Stupina; e-mail: stupinasta@mail.ru

Submitted: 26.01.2023. Accepted: 15.06.2023. Published online: 11.07.2023.

© Shchudlo N.A., Stupina T.A., Varsegova T.N., 2023

ВВЕДЕНИЕ

Изменения структуры костей при повреждении периферических нервов исследуются на протяжении многих лет. По мнению J.A. Gillespie, они являются результатом мышечной атрофии от бездействия, не существует доказательств специфического трофического влияния нервов на кости [1]. Однако уже в первой половине XX в. были выявлены вазомоторные нервы гаверсовых каналов и нервные волокна в костном матриксе [2]. В последние два десятилетия исследования костной иннервации интенсифицировались [3]: доказано опосредованное нейротрансмиттерами, нейропептидами, аксональными факторами роста и нейротрофинами участие периферических нервов в развитии и репарации костей [4], изучена нейральная регуляция функции остеобластов и остеокластов в норме и в условиях патологии, прежде всего при остеопорозе [5, 6, 7]. Установлено, что патогенез «пятнистого» остеопороза при посттравматическом комплексном регионарном болевом синдроме, ранее известном под терминами «рефлекторная симпатическая дистрофия» и «каузалгия» (у пациентов с повреждениями периферических нервов), включает участие не только периферической, но и центральной нервной системы [8]. Рентгенологически «пятнистый» остеопороз выявляется чаще в области кистей и стоп, поражая преимущественно субхондральную кость. По мнению некоторых авторов, он не приводит к переломам и в большинстве случаев разрешается спонтанно [9]. По мнению других специалистов, разработка терапии, направленной на повышение костной плотности, для таких пациентов необходима [10].

В экспериментальных исследованиях на животных было установлено системное снижение костной плотности при хронической констрикции седалищного нерва [11, 12] и после нейрэктомии [13, 14]. Сепарация, анизотропия, нарушения непрерывности и снижение численности трабекул проксимального метафиза большеберцовой кости после нейрэктомии седалищного нерва были выражены сильнее, чем у овариэктомированных крыс [13]. С другой стороны, потеря костной массы у овариэктомированных крыс была также ассоциирована со снижением внутрикостной иннервации [15].

Потеря костной плотности после нейрэктомии седалищного нерва в трабекулярной кости происходит интенсивнее, чем в компактной [16]. Однако в корковой пластинке большеберцовой кости мышцей уже через 4 нед. после нейрэктомии седалищного нерва ускорилась костная резорбция и снижалась скорость костеобразования [13]. Аналогичный результат был получен на крысах, причем снижение костной плотности происходило в дистально-проксимальном направлении [17].

Вызванная нейрэктомией потеря костной массы может быть замедлена фармакологической супрессией макрофагов [18], низкоамплитудными нагрузками [19], низкочастотной электрической миостимуляцией [20], а также применением флавоноида нарингенина [21].

Однако в доступной литературе мы не встретили сведений об изменениях микроструктуры костей дистальных отделов конечностей после операций на нервах, направленных на восстановление иннервации конечностей.

Цель исследования — выявить структурные изменения диафиза III плюсневой кости после первичной аутогенной пластики резекционного дефекта большеберцовой порции седалищного нерва крыс.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на 23 крысах-самцах линии Wistar в возрасте 8–10 мес. с массой тела 360–420 г. Шестнадцати опытным животным осуществляли аутологичную нейропластику большеберцовой порции седалищного нерва на уровне средней трети бедра, как описано в опубликованной нами статье [22] (рис. 1). Через 4 мес. ($n = 8$) и 6 мес. ($n = 8$) после операции животных эвтаназировали передозировкой тиопентала после предварительной наркотизации: Рометар 2% (1–2 мг/кг), Золетил 100 (10–15 мг/кг). Группу контроля (контроль) составили 7 интактных животных в возрасте 14 мес. ($n = 9$) и 16 мес. ($n = 4$) соответственно возрасту оперированных крыс на момент эвтаназии.

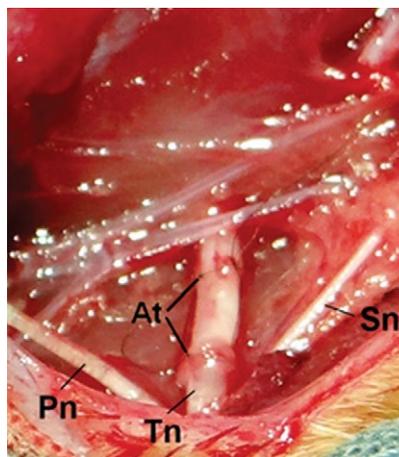


Рис. 1. Большеберцовая порция (Tn) седалищного нерва после швирования аутологичного трансплантата (At) нитью 10-0, Pn — малоберцовая порция седалищного нерва, Sn — икроножный нерв

Fig. 1. Tibial portion (Tn) of the sciatic nerve after suturing the autologous graft (At) with 10-0 thread, Pn — peroneal portion of the sciatic nerve, Sn — sural nerve

Для гистоморфометрического анализа иссекали фрагмент переднего отдела стопы на уровне плюсневых костей. Материал фиксировали в 10% растворе формалина, частично декальцинировали в смеси соляной и муравьиной кислот (булавочная проба), обезвоживали в этаноле и заливали в парафин. Парафиновые срезы (толщиной 5–7 мкм) изготавливали на микротоме HM 450 Thermo Scientific (США), окрашивали гематоксилином и эозином и трехцветным методом по Массону. Светооптическое исследование, оцифровку и морфометрию производили с помощью микроскопа AxioScore.A1 с цифровой камерой AxioCam и программным обеспечением Zenblue (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Германия). Объект гистоморфометрического исследования — диафиз III плюсневой кости, иннервируемый ветвями большеберцового нерва.

Методом точко-счетной объемометрии в полноцветных цифровых изображениях поперечных срезов диафиза кости, окрашенных по Массону, при увеличении $\times 400$ в программе PhotoFiltre 7 с помощью тестовой решетки равноудаленных точек с прозрачными центрами [23] определяли долю фуксинофильных (окрашенных красным цветом) и анилинофильных (окрашенных синим цветом) структур кортикальной пластинки. В программе Zenblue осуществляли морфометрию по следующим параметрам: при увеличении $\times 40$ измеряли толщину кортикальной пластинки (h, мкм), при увеличении $\times 400$ в поле зрения определяли численную плотность остеонов (Na), площадь остеонов (S, мкм²), диаметр

остеонов (d, мкм), диаметр гаверсова канала (d, мкм). От каждого случая анализировали от 10 до 15 полей зрения.

Статистический анализ

Анализ данных проводили с помощью описательной статистики. Количественные характеристики представлены в виде медиан и квартилей — Me (Q1–Q3). Для проверки статистических гипотез о различиях использовали непараметрический критерий Вилкоксона, статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$ (программа AtteStat, версия 9.3.1).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В группе интактных животных в кортикальной пластинке III плюсневой кости хорошо выражены наружный и внутренний слои общих пластинок, между которыми располагался остеонный слой (рис. 2а). В остеонном слое отмечены структурно зрелые остеоны с узким просветом гаверсова канала.

В опыте сохранялось аналогичное строение, однако отмечены остеоны с расширенными гаверсовыми каналами (остеоны резорбционного типа, так называемый симптом кортикальной остеопении), свидетельствующие о потере костной массы за счет резорбции компактного костного вещества вокруг сосудов (рис. 2б). Сосуды гаверсовых каналов расширены и заполнены эритроцитами. Выявлялись изменения основного вещества в виде нарушения четких границ остеонов, архитектоники костных пластинок.

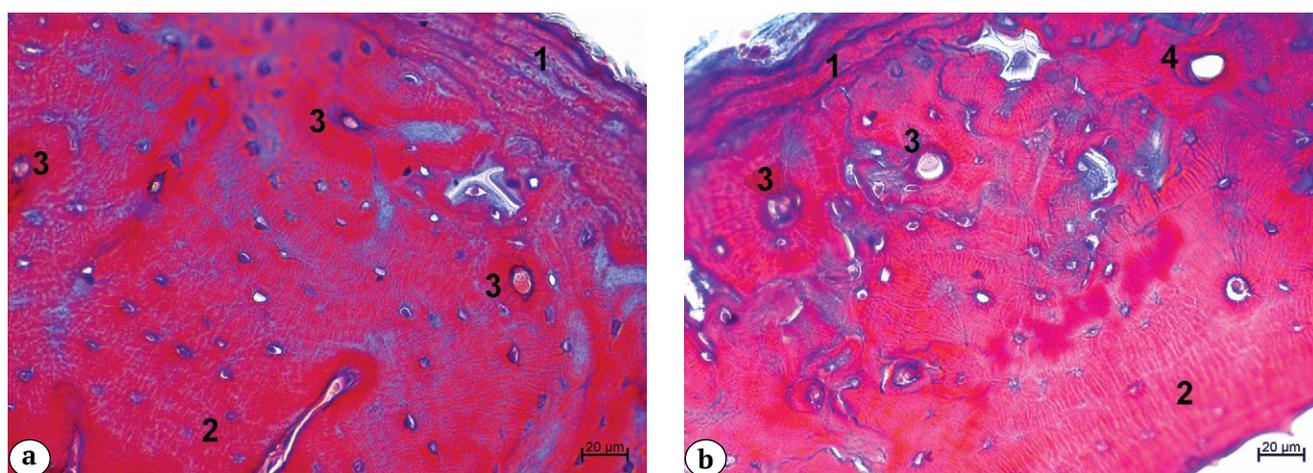


Рис. 2. Фрагменты кортикальной пластинки III плюсневой кости. Срок эксперимента 4 мес.: а — контроль (интактные животные); б — опыт; 1 — наружный слой общих пластинок; 2 — внутренний слой общих пластинок; 3 — структурно зрелый остеон; 4 — остеон резорбционного типа. Поперечный срез, окраска трехцветным методом по Массону. Ув. $\times 400$

Fig. 2. Fragments of the cortical plate of the third metatarsal bone. Experimental period — 4 months: а — control (intact animals); б — experimental group; 1 — outer layer of the cortical plates; 2 — inner layer of the cortical plates; 3 — mature osteon; 4 — resorptive-type osteon. Cross-section; stained using the Masson's trichrome method. Mag. $\times 400$

В срок эксперимента 4 мес. отмечено снижение интенсивности окраски срезов кортикальной пластинки красным цветом, особенно в остеонном слое, по сравнению с контролем доля фуксинофильных структур снижена на 15%. Частота встречаемости остеокластов 0–2 в поле зрения при увеличении $\times 400$.

В срок эксперимента 6 мес. в окрашенных трехцветным методом по Массону срезах визуально отмечено увеличение доли анилинофильных структур (рис. 3), количественный анализ выявил снижение доли фуксинофильных структур на 33,6% относительно контроля, что свидетельствовало о прогрессирующем снижении минерализации кортикальной пластинки (табл. 1).

Регистрировали признаки периостальной резорбции кортикальной пластинки, со стороны окружающих мягких тканей отмечены вращение кровеносных сосудов и активные остеокласты (рис. 3).

Наружный слой общих пластинок в большей части наблюдений истончен, в части наблюдений отмечены участки утолщения. В остеонном слое выражены признаки остеолита — резорбции костной ткани. Остеоны уменьшены в размерах, гаверсовы каналы расширены с неровными контурами (рис. 3). Об интенсивности процесса резорбции свидетельствовало и возрастание частоты встречаемости остеокластов от 2 до 5 в поле зрения при увеличении $\times 400$.

Таблица 1

Доля минерализованных и неминерализованных структур в кортикальной пластинке на этапах эксперимента, Ме (Q1–Q3)

Группа	Минерализованные структуры	Неминерализованные структуры
Контроль	77,28 (74,93–79,06)	22,71 (19,89–24,51)
<i>Срок эксперимента — 4 мес.</i>		
Опыт	65,33 (64,51–68,48)	34,66 (31,52–34,56)
<i>p</i>	$p^{к-о} = 0,0001$	$p^{к-о} = 0,0001$
<i>Срок эксперимента — 6 мес.</i>		
Опыт	51,25 (46,25–58,66)	48,75 (41,33–51,33)
<i>p</i>	$p^{к-о} = 0,0001; p^{4-6} = 0,0018$	$p^{к-о} = 0,0001; p^{4-6} = 0,0018$

Применяли критерий Вилкоксона, различия статистически значимы при $p < 0,05$; $p^{к-о}$ — сравнение контроля и опыта; p^{4-6} — сравнение между сроками эксперимента.

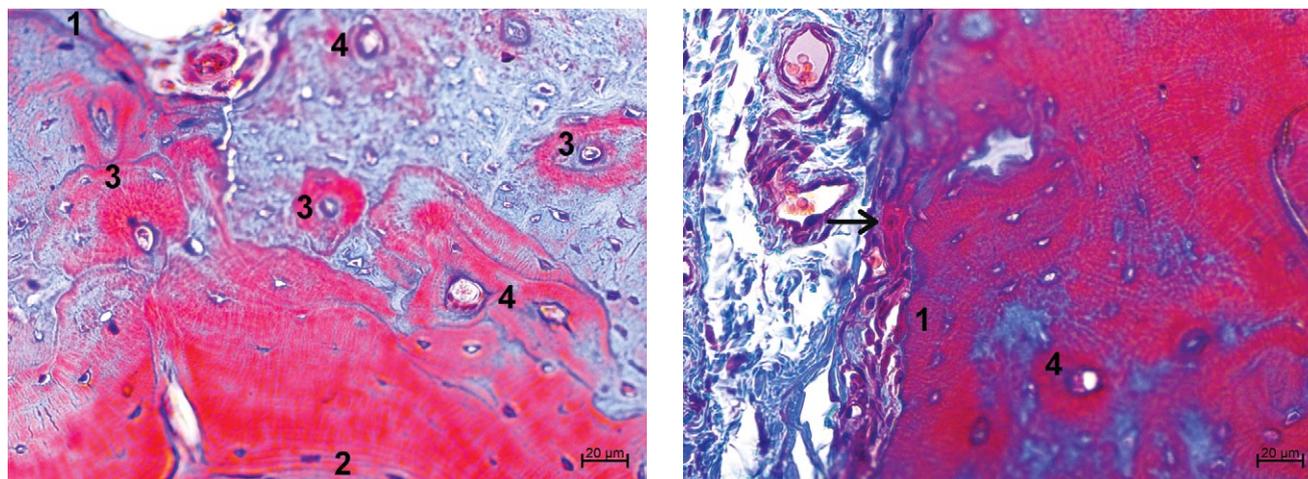


Рис. 3. Фрагменты кортикальной пластинки III плюсневой кости. Срок эксперимента — 6 мес.: 1 — сосудистая инвазия и остеокласт (стрелка) в наружном слое костных пластинок; 2 — внутренний слой общих пластинок; 3 — структурно зрелый остеон; 4 — остеон резорбционного типа. Поперечный срез, окраска трехцветным методом по Массону. Ув. $\times 400$

Fig. 3. Fragments of the cortical plate of the third metatarsal bone. Experimental period — 6 months: 1 — vascular invasion and osteoclast (arrow) in the outer layer of the bone plates; 2 — inner layer of the cortical plates; 3 — mature osteon; 4 — resorptive-type osteon. Cross-section; stained using the Masson’s trichrome method. Mag. $\times 400$

При гистоморфометрическом анализе значения толщины кортикальной пластинки в опыте при сравнении с контролем в срок 4 мес. эксперимента статистически значимо снижены ($p = 0,0184$), а через 6 мес. после операции не имели значимых отличий от интактной группы ($p = 0,2067$).

В остеонном слое на протяжении всего эксперимента отмечено снижение площади и диаметра

остеонов относительно контроля, минимальные значения зарегистрированы в срок эксперимента 4 мес. Отмечено прогрессирующее снижение численной плотности остеонов. Относительно контроля выявлено статистически значимое увеличение диаметра гаверсова канала ($p = 0,002$), к концу эксперимента значения данного параметра продолжали увеличиваться (табл. 2).

Таблица 2

Количественные характеристики III плюсневой кости, Ме (Q1–Q3)

Группа	h кортикал. пластинки, мкм	Na остеонов	S остеоона, мкм ²	d остеоона, мкм	d гаверс. канала, мкм
Контроль	332,39 (239,20–466,80)	5 (4–6)	1439,36 (629,69–1934,58)	37,48 (21,71–59,63)	5,63 (3,94–11,84)
<i>Срок эксперимента – 4 мес.</i>					
Опыт	289,91 (260,17–302,26)	3,5 (3–4)	613,31 (435,06–954,82)	24,96 (21,14–56,59)	8,83 (7,47–15,26)
<i>p</i>	$p^{к-о} = 0,0184$	$p^{к-о} = 0,0170$	$p^{к-о} = 0,0080$	$p^{к-о} = 0,0085$	$p^{к-о} = 0,0020$
<i>Срок эксперимента – 6 мес.</i>					
Опыт	301,65 (256,80–327,03)	3 (2–3)	680,41 (311,07–987,07)	29,43 (19,18–45,65)	10,88 (7,64–25,29)
<i>p</i>	$p^{к-о} = 0,2067$ $p^{4-6} = 0,2701$	$p^{к-о} = 0,0130$ $p^{4-6} = 0,0781$	$p^{к-о} = 0,0357$ $p^{4-6} = 0,9149$	$p^{к-о} = 0,0357$ $p^{4-6} = 0,5934$	$p^{к-о} = 0,0027$ $p^{4-6} = 0,3735$

Применяли критерий Вилкоксона, различия статистически значимы при $p < 0,05$; $p^{к-о}$ — сравнение контроля и опыта; p^{4-6} — сравнение между сроками эксперимента.

ОБСУЖДЕНИЕ

Первичный шов «конец в конец» является золотым стандартом хирургического лечения анатомических перерывов нервов. По данным обзора публикаций из 25 стран, он выполняется у большинства пациентов с повреждениями нервов, однако полное функциональное восстановление достигается только в 10% случаев [24]. Принято считать, что основными причинами неудовлетворительных клинических результатов являются медленный регенераторный рост отростков аксомированных нейронов — всего один дюйм в месяц у людей [25], а также длинный регенерационный путь, что предопределяет наступление необратимых денервационных изменений тканей мишеней дистальных отделов конечностей еще до момента реиннервации [26]. В частности, степень развития изменений мышц может широко варьировать, отражая неоднородность начальных параметров повреждения нерва и разные темпы развития атрофических компенсаторно-приспособительных процессов, но в отдаленные сроки степень этих изменений нередко достигает значительной выраженности [27].

Однако не только в клинике, но и в опытах на мелких лабораторных животных параметры иннервации восстанавливаются длительно и частично. В частности, вплоть до 20 нед. после перерезки и шва седалищного нерва крыс соотношение пептидергических и непептидергических нервных волокон в эпидермисе подушечек стоп остается нарушенным [28]. По данным других авторов, через 220 дней после шва седалищного нерва крыс средний диаметр регенерировавших миелинизированных волокон в дистальном отрезке нерва достигает не более 50% от соответствующего параметра интактного нерва, регенерирующий нерв содержит большое количество тонких непроводящих волокон [29].

Ранее в нашей экспериментальной модели первичной аутопластики резекционного дефекта большеберцовой порции седалищного нерва коротким аутологичным трансплантатом установлено, что через 6 мес. после операции средний диаметр регенерировавших миелинизированных волокон большеберцового нерва на уровне средней трети голени составил 52% от соответствующего параметра интактного нерва, индекс ва-

скуляризации подошвенных межкостных мышц уменьшен вдвое по сравнению с интактными животными, а медиана диаметров мышечных волокон — на 20,96%, что свидетельствует о частичном характере реиннервации и сниженной васкуляризации мышц стопы [22].

В представленном исследовании впервые изучены структурные изменения диафиза III плюсневой кости в отдаленные сроки после первичной аутопластики седалищного нерва. Наряду с традиционно применяемой окраской гематоксилином и эозином для оценки остеопороза [30] использовали трехцветный метод по Массону, который позволяет дифференцировать зрелую минерализованную кость от деминерализованной, поскольку первая проявляет аффинитет к кислому фуксину и поэтому окрашивается в красный цвет [31].

Через 4 мес. эксперимента по сравнению с контролем выявлено снижение доли минерализованных структур кортикальной пластинки на 15%, уменьшена ее толщина на 12,7%, в остеонном слое выражены признаки остеолита, снижена численная плотность остеонов, уменьшены их размерные характеристики, отмечены остеоны с расширенными гаверсовыми каналами. В срок 6 мес. толщина кортикальной пластинки не имела значимых отличий от нормы, однако прогрессировало снижение доли минерализованных структур на 33,6%. В остеонном слое сохранялись сниженные значения численной плотности остеонов, их площади и диаметров. Значения диаметров гаверсовых каналов продолжали увеличиваться. Расширенные гаверсовы каналы с неровными контурами являлись следствием остеокластической резорбции костной ткани. К концу эксперимента интенсивно выражены признаки периостальной резорбции кортикальной пластинки. Со стороны мягких тканей зарегистрирована инвазия сосудов и остеокластов.

Динамика морфометрических показателей компактной кости, по-видимому, определяется стойким снижением васкуляризации окружаю-

щих кость мягких тканей и самой кости в условиях неполной реиннервации. Прогрессирующее увеличение диаметра гаверсовых каналов и восстановление толщины кортикальной пластинки, возможно, связаны, то есть формирование остеонов резорбционного типа обеспечивает субстрат для минерализации вновь образующегося матрикса.

Следует также отметить, что выявленные в нашем исследовании изменения существенно отличаются от остеопороза вследствие бездействия, при котором существенно уменьшается толщина кортикальной пластинки преимущественно за счет эндостальной резорбции [32], а также от старческой остеопении крыс, при которой численная плотность остеонов увеличивается, а диаметр гаверсовых каналов уменьшается [33]. Развитие старческой остеопении у мышей и у людей также проявлялось повышением порозности кортикальной пластинки за счет новообразования остеоноподобных структур [34]. По данным биомеханических исследований, повышение пористости кости приводит к необратимым изменениям формы путем послойного уплотнения и разрушения микроструктуры без распада на отдельные фрагменты [35].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что в период от 4 до 6 мес. после аутологичной пластики резекционного дефекта большеберцовой порции седалищного нерва восстанавливается толщина кортикальной пластинки диафиза III плюсневой кости, но прогрессируют изменения численно-размерного состава остеонов, уменьшение минерализации внеклеточного матрикса и эрозирование субпериостального слоя кости. Оценка денервационной остеопении дистальных отделов конечностей в данных условиях эксперимента применима в дальнейших исследованиях реабилитационных воздействий, ускоряющих и улучшающих реиннервацию.

DISCLAIMERS

Author contribution

Shchudlo N.A. — study concept and design, writing and drafting the article.

Stupina T.A. — data analysis and interpretation, writing and drafting the article.

Varsegova T.N. — data analysis and interpretation, writing and drafting the article.

All authors have read and approved the final version of the manuscript of the article. All authors agree to bear responsibility for all aspects of the study to ensure proper consideration and resolution of all possible issues related to the correctness and reliability of any part of the work.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Заявленный вклад авторов

Щудло Н.А. — концепция и дизайн исследования, проведение эксперимента, написание и редактирование текста статьи.

Ступина Т.А. — сбор, анализ и интерпретация данных, написание и редактирование текста статьи.

Варсегова Т.Н. — анализ и интерпретация данных, написание и редактирование текста статьи.

Все авторы прочли и одобрили финальную версию рукописи статьи. Все авторы согласны нести ответственность за все аспекты работы, чтобы обеспечить надлежащее рассмотрение и решение всех возможных вопросов, связанных с корректностью и надежностью любой части работы.

Источник финансирования. Работа поддержана программой МЗ РФ в рамках государственного задания ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России для выполнения НИР на 2020–2023 гг.

Возможный конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Этическая экспертиза. Эксперимент выполнен согласно СанПиН 3.3686-21; ГОСТ 33217-2014; ГОСТ 33215-2014. Исследование проведено при соблюдении принципов гуманного обращения с лабораторными животными в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей, и директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях.

Дизайн исследования одобрен этическим комитетом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, протокол № 4 (68) от 11.11.2020 г.

Информированное согласие на публикацию. Не требуется.

Funding source. State budgetary funding.

Disclosure competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Ethics approval. The study was conducted in compliance with the principles of humane treatment of laboratory animals in accordance with the requirements of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experiments and other Scientific Purposes and Directive 2010/63/EU of the European Parliament and the Council of the European Union of September 22, 2010 on the protection of animals used for scientific purposes.

The study was approved by the local ethics committee of National Ilizarov Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, protocol No 4 (68), 11.11.2020.

Consent for publication. Not required.

ЛИТЕРАТУРА [REFERENCES]

- Gillespie J.A. The nature of the bone changes associated with nerve injuries and disuse. *Bone Joint Surg.* 1954;36-B(3):464-473. doi: 10.1302/0301-620X.36B3.464.
- Hurrell D.J. The Nerve Supply of Bone. *J Anat.* 1937; 72(Pt 1):54-61.
- Milovanović P., Đurić M. Innervation of bones: Why it should not be neglected? *Med Podml.* 2018;69(3):25-32. (In Serbian). doi: 10.5937/mp69-18404.
- Wan Q.Q., Qin W.P., Ma Y.X., Shen M.J., Li J., Zhang Z.B. et al. Crosstalk between Bone and Nerves within Bone. *Adv Sci (Weinh).* 2021;10;8(7):2003390. doi: 10.1002/advs.202003390.
- Gkiatas I., Papadopoulos D., Pakos E.E., Kostas-Agnantis I., Gelalis I., Vekris M. et al. The Multifactorial Role of Peripheral Nervous System in Bone Growth. *Front Phys.* 2017;5:44. doi: 10.3389/fphy.2017.00044.
- Танашян М.М., Антонова К.В., Мазур А.С., Спрышков Н.Е. Неврологические заболевания и остеопороз. *Эффективная фармакотерапия.* 2022;18(19):42-50. doi: 10.33978/2307-3586-2022-18-19-42-50. Tanashyan M.M., Antonova K.V., Mazur A.S., Spryskov N.E. Neurological Diseases and Osteoporosis. *Effective pharmacotherapy.* 2022;18(19):42-50. (In Russian). doi: 10.33978/2307-3586-2022-18-19-42-50.
- Eleftheriou F. Impact of the Autonomic Nervous System on the Skeleton. *Physiol Rev.* 2018;98(3):1083-1112. doi: 10.1152/physrev.00014.2017.
- Park G.Y., Im S., Hoon S. Patchy Osteoporosis in Complex Regional Pain Syndrome. Osteoporosis. *InTech;* 2012. Available from: <http://dx.doi.org/10.5772/29181>.
- Atkins R.M. Complex regional pain syndrome. *J Bone Joint Surg Br.* 2003;85(8):1100-1106. doi: 10.1302/0301-620x.85b8.14673.
- Hind K., Johnson M.I. Complex regional pain syndrome in a competitive athlete and regional osteoporosis assessed by dual-energy X-ray absorptiometry: a case report. *J Med Case Rep.* 2014;8:165. doi: 10.1186/1752-1947-8-165.

- Suyama H., Moriwaki K., Niida S., Maehara Y., Kawamoto M., Yuge O. Osteoporosis following chronic constriction injury of sciatic nerve in rats. *J Bone Miner Metab.* 2002;20(2):91-97. doi: 10.1007/s007740200012.
- Bosco F., Guarnieri L., Nucera S., Scicchitano M., Ruga S., Cardamone A. et al. Pathophysiological Aspects of Muscle Atrophy and Osteopenia Induced by Chronic Constriction Injury (CCI) of the Sciatic Nerve in Rats. *Int J Mol Sci.* 2023;24(4):3765. doi: 10.3390/ijms24043765.
- Brouwers J.E., Lambers F.M., van Rietbergen B., Ito K., Huiskes R. Comparison of bone loss induced by ovariectomy and neurectomy in rats analyzed by in vivo micro-CT. *J Orthop Res.* 2009;27(11):1521-1527. doi: 10.1002/jor.20913.
- Kodama Y., Dimai H.P., Wergedal J., Sheng M., Malpe R., Kutilek S. et al. Cortical tibial bone volume in two strains of mice: effects of sciatic neurectomy and genetic regulation of bone response to mechanical loading. *Bone.* 1999;25(2):183-190. doi: 10.1016/s8756-3282(99)00155-6.
- Burt-Pichat B., Lafage-Proust M.H., Duboeuf F., Laroche N., Itzstein C., Vico L. et al. Dramatic decrease of innervation density in bone after ovariectomy. *Endocrinology.* 2005;146(1):503-510. doi: 10.1210/en.2004-0884.
- Monzem S., Javaheri B., de Souza R.L., Pitsillides A.A. Sciatic neurectomy-related cortical bone loss exhibits delayed onset yet stabilises more rapidly than trabecular bone. *Bone Rep.* 2021;15:101116. doi: 10.1016/j.bonr.2021.101116.
- Ko H.Y., Chang J.H., Shin Y.B., Shin M.J., Shin Y.I., Lee C.H. et al. Changes of lower-limb trabecular bone density after sciatic nerve transection in immature rats. *Biomed Res.* 2017;28(18):8079-8084.
- Shimada N., Sakata A., Igarashi T., Takeuchi M., Nishimura S. M1 macrophage infiltration exacerbate muscle/bone atrophy after peripheral nerve injury. *BMC Musculoskelet Disord.* 2020;21(1):44. doi: 10.1186/s12891-020-3069-z.

19. Piet J., Hu D., Baron R., Shefelbine S.J. Bone adaptation compensates resorption when sciatic neurectomy is followed by low magnitude induced loading. *Bone*. 2019;120:487-494. doi: 10.1016/j.bone.2018.12.017.
20. Tamaki H., Yotani K., Ogita F., Hayao K., Kirimoto H., Onishi H. et al. Low-Frequency Electrical Stimulation of Denervated Skeletal Muscle Retards Muscle and Trabecular Bone Loss in Aged Rats. *Int J Med Sci*. 2019;16(6):822-830. doi: 10.7150/ijms.32590.
21. Ma X., Lv J., Sun X., Ma J., Xing G., Wang Y. et al. Naringin ameliorates bone loss induced by sciatic neurectomy and increases Semaphorin 3A expression in denervated bone. *Sci Rep*. 2016;6:24562. doi: 10.1038/srep24562.
22. Щудло Н.А., Кобызев А.Е., Варсегова Т.Н., Ступина Т.А. Гистоморфометрическая оценка большеберцового нерва и мелких мышц стопы после внутреннего невролиза и аутогенной пластики большеберцовой порции седалищного нерва крыс. *Гений ортопедии*. 2022;28(6):823-829. doi: 10.18019/1028-4427-2022-28-6-823-829. Shchudlo N.A., Kobzyev A.E., Varsegova T.N., Stupina T.A. Histomorphometric assessment of the tibial nerve and small muscles of the foot after internal neurolysis and autogenous plastic surgery of the tibial portion of the sciatic nerve in rats. *Orthopaedic Genius*. 2022;28(6):823-829. (In Russian). doi: 10.18019/1028-4427-2022-28-6-823-829.
23. Щудло М.М., Ступина Т.А., Щудло Н.А. Количественный анализ метахромазии суставного хряща в телепатологии. *Известия Челябинского научного центра УрО РАН*. 2004;25:17-22. Shchudlo M.M., Stupina T.A., Shchudlo N.A. Quantitative analysis of articular cartilage metachromasia in telepathology. *Proceedings of the Chelyabinsk Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*. 2004;25:17-22. (In Russian).
24. Scholz T., Krichevsky A., Sumarto A., Jaffurs D., Wirth G.A., Paydar K. et al. Peripheral nerve injuries: an international survey of current treatments and future perspectives. *J Reconstr Microsurg*. 2009;25(6):339-344. doi: 10.1055/s-0029-1215529.
25. Höke A. A (heat) shock to the system promotes peripheral nerve regeneration. *J Clin Invest*. 2011;121(11):4231-4234. doi: 10.1172/JCI59320.
26. Scheib J., Höke A. Advances in peripheral nerve regeneration. *Nat Rev Neurol*. 2013;9(12):668-676. doi: 10.1038/nrneurol.2013.227.
27. Григоровский В.В., Страфун С.С., Гайко О.Г., Гайович В.В., Блинова Е.Н. Гистопатологические изменения и корреляционные зависимости морфологических показателей состояния мышц конечностей и клинических данных у больных с последствиями травматических нарушений иннервации. *Гений ортопедии*. 2014;(4):49-57. Grigorovskii V.V., Strafun S.S., Gaiko O.G., Gaiovich V.V., Blinova E.N. Histopathological changes and correlations of the morphological values of limb muscle status and clinical data in patients with the consequences of innervation traumatic disorders. *Orthopaedic Genius*. 2014;(4):49-57. (In Russian).
28. Kambiz S., Duraku L.S., Baas M., Nijhuis T.H., Cosgun S.G., Hovius S.E. et al. Long-term follow-up of peptidergic and nonpeptidergic reinnervation of the epidermis following sciatic nerve reconstruction in rats. *J Neurosurg*. 2015;123(1):254-269. doi: 10.3171/2014.12.JNS141075.
29. Ikeda M., Oka Y. The relationship between nerve conduction velocity and fiber morphology during peripheral nerve regeneration. *Brain Behav*. 2012;2(4):382-390. doi: 10.1002/brb3.61.
30. Şipos R.S., Fehete R., Moldovan D., Sus I. Szasz S., Pávai Z. Assessment of femoral bone osteoporosis in rats treated with simvastatin or fenofibrate. *Open Life Sci*. 2015;10(1):379-387. doi: 10.1515/biol-2015-0039.
31. Zhang C., Yan B., Cui Z., Cui S., Zhang T., Wang X. et al. Bone regeneration in minipigs by intrafibrillar mineralized collagen loaded with autologous periodontal ligament stem cells. *Sci Rep*. 2017;7(1):10519. doi: 10.1038/s41598-017-11155-7.
32. Li C.Y., Price C., Delisser K., Nasser P., Laudier D., Clement M. et al. Long-term disuse osteoporosis seems less sensitive to bisphosphonate treatment than other osteoporosis. *J Bone Miner Res*. 2005;20(1):117-124. doi: 10.1359/JBMR.041010.
33. Singh I.J., Gunberg D.L. Quantitative histology of changes with age in rat bone cortex. *J Morphol*. 1971;133(2):241-251. doi: 10.1002/jmor.1051330208.
34. Piemontese M., Almeida M., Robling A.G., Kim H.N., Xiong J., Thostenson J.D. et al. Old age causes de novo intracortical bone remodeling and porosity in mice. *JCI Insight*. 2017;2(17):e93771. doi: 10.1172/jci.insight.93771.
35. Удинцева М.Ю., Зайцев Д.В., Волокитина Е.А., Антропова И.П., Кутепов С.М. Исследование механических свойств костной ткани надacetabулярной области. *Гений ортопедии*. 2022;28(4):559-564. doi: 10.18019/1028-4427-2022-28-4-559-564. Udinceva M.Ju., Zajcev D.V., Volokitina E.A., Antropova I.P., Kutepov S.M. Investigation of bone tissue mechanical properties in the supra-acetabular region. *Orthopaedic Genius*. 2022;28(4):559-564. (In Russian). doi: 10.18019/1028-4427-2022-28-4-559-564.

Сведения об авторах

✉ Ступина Татьяна Анатольевна — д-р биол. наук
 Адрес: Россия, 640014, г. Курган, ул. М. Ульяновой, д. 6
<https://orcid.org/0000-0003-3434-0372>
 e-mail: stupinasta@mail.ru

Щудло Наталья Анатольевна — д-р мед. наук
<https://orcid.org/0000-0001-9914-8563>
 e-mail: nshchudlo@mail.ru

Варсегова Татьяна Николаевна — канд. биол. наук
<https://orcid.org/0000-0001-5430-2045>
 e-mail: varstn@mail.ru

Authors' information

✉ Tatyana A. Stupina — Dr. Sci. (Biol.)
 Address: 6, M. Ulyanova st., Kurgan, 640014, Russia
<https://orcid.org/0000-0003-3434-0372>
 e-mail: stupinasta@mail.ru

Nathalia A. Shchudlo — Dr. Sci. (Med.)
<https://orcid.org/0000-0001-9914-8563>
 e-mail: nshchudlo@mail.ru

Tatyana N. Varsegova — Cand. Sci. (Biol.)
<https://orcid.org/0000-0001-5430-2045>
 e-mail: varstn@mail.ru