

## ТРАВМАТОЛОГИЯ TRAUMATOLOGY

### МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РЕОРГАНИЗАЦИЯ ПОДОШВЕННОГО АПОНЕВРОЗА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ ФАСЦИОПАТИИ СИНТЕТИЧЕСКИМ АНАЛОГОМ ПРОСТАГЛАНДИНА E1

Силантьев В.Н.<sup>1</sup>,  
Дзюба Г.Г.<sup>1</sup>,  
Маркелова М.В.<sup>1</sup>,  
Ерофеев С.А.<sup>1</sup>,  
Турушев М.А.<sup>1</sup>,  
Чернигова С.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России (644099, г. Омск, ул. Ленина, 12, Россия)

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина» (644008, г. Омск, Институтская пл. 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:  
Дзюба Герман Григорьевич,  
e-mail: germanort@mail.ru

#### РЕЗЮМЕ

**Обоснование.** Хронический подошвенный фасциопатический болевой синдром является патологией, существенно влияющей на качество жизни пациентов всех возрастных категорий. Недостаточная изученность этиологических и патогенетических факторов развития фасциопатий объясняет множественность, а порой и противоречивость схем консервативного и оперативного лечения. Выбор оптимального варианта терапевтического или хирургического воздействия может быть связан с экспериментальным моделированием фасциопатий и изучением особенностей динамики патологического процесса.

**Цель исследования.** Изучить морфологические изменения структур, тождественных подошвенному апоневрозу человека, при экспериментальном моделировании фасциопатии у животных.

**Методы исследования.** Материалом для исследования служили фрагменты сухожильно-апоневротического комплекса стопы лабораторных животных (контрольная группа: животные с введением физиологического раствора хлорида натрия ( $n = 12$ ); основная группа: животные с введением алпростадила ( $n = 12$ )). Использованы методы световой микроскопии (окраска альциановым и толуидиновым синим, по Ван-Гизону, Вейгерт – Ван-Гизону и Пикро-Маллори) и морфометрии.

**Результаты и обсуждение.** В результате исследования установлено, что четырёхкратное введение алпростадила оказывало существенное влияние на структуру плотной волокнистой соединительной ткани подошвенного отдела стопы лабораторных животных. Активизировались механизмы повреждения (отёк, микрокровоизлияния, инфильтрация лимфоцитами, плазмоцитами и лейкоцитами, дистрофия по типу мукоидного и фибриноидного набухания, разволокнение и разрывы коллагеновых волокон), адаптации и регенерации (появление большого количества активированных фиброцитов, фибробластов, микрососудов, новообразование коллагеновых волокон). Всё это в совокупности приводило к пространственным очаговым гистотопографическим изменениям, заключающимся в увеличении клеточного состава соединительнотканых структур на фоне заметного нарушения их пространственной ориентации.

**Заключение.** Моделирование фасциопатии с помощью алпростадила сопровождалось появлением мозаичных обратимых и необратимых гетероморфных и гетерохронных изменений всех соединительнотканых апоневротических структур. Подобные гистотопографические изменения необходимо рассматривать как одну из причин клинических проявлений подошвенных фасциопатий, вызывающих функциональную недостаточность и объясняющую клинический рецидивирующий характер патологического процесса.

**Ключевые слова:** гистология, подошвенный апоневроз, фасциопатия, алпростадил, лабораторные животные, моделирование

**Для цитирования:** Силантьев В.Н., Дзюба Г.Г., Маркелова М.В., Ерофеев С.А., Турушев М.А., Чернигова С.В. Морфофункциональная реорганизация подошвенного апоневроза при экспериментальном моделировании фасциопатии синтетическим аналогом простагландина E1. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 242-252. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.24

Статья получена: 10.12.2021

Статья принята: 25.04.2022

Статья опубликована: 05.07.2022

## MORPHOFUNCTIONAL REORGANIZATION OF PLANTAR APONEUROSIS IN EXPERIMENTAL MODELING OF FASCIOPATHY BY SYNTHETIC ANALOGUE OF PROSTAGLANDIN E1

Silantyev V.N.<sup>1</sup>,  
Dzyuba G.G.<sup>1</sup>,  
Markelova M.V.<sup>1</sup>,  
Erofeev S.A.<sup>1</sup>,  
Turushev M.A.<sup>1</sup>,  
Chernigova S.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Omsk State Medical University  
(Lenina str. 12, Omsk 644099,  
Russian Federation)

<sup>2</sup> Omsk State Agrarian University  
(Institutskaya square 1, Omsk 644008,  
Russian Federation)

Corresponding author:  
**German G. Dzyuba,**  
e-mail: germanort@mail.ru

### ABSTRACT

**Foundation.** Chronic plantar fasciopathic pain syndrome is a pathology that significantly affects the quality of life of patients of all age categories. Insufficient knowledge of the etiological and pathogenetic factors in the development of fasciopathies explains the multiplicity, and sometimes inconsistency, of conservative and surgical treatment regimens. The choice of the optimal variant of therapeutic or surgical intervention may be associated with experimental modeling of fasciopathies and the study of the dynamics of the pathological process.

**The aim.** To study the morphological changes in structures identical to the human plantar aponeurosis in experimental modeling of fasciopathy in animals.

**Research methods.** The material for the study was fragments of the tendon-aponeurotic complex of the foot of laboratory animals (control group: animals with the introduction of physiological sodium chloride solution (n = 12); main group: animals with the introduction of alprostadil (n = 12)). The methods of light microscopy (staining with alcian and toluidine blue, according to Van Gieson, Weigert – Van Gieson and Picro-Mallory) and morphometry were used.

**Results and discussion.** As a result of the study, it was found that the four-fold administration of alprostadil had a significant effect on the structure of the dense fibrous connective tissue of the plantar foot of laboratory animals. The mechanisms of damage (edema, microhemorrhages, infiltration by lymphocytes, plasmocytes and leukocytes, dystrophy by the type of mucoid and fibrinoid swelling, delamination and rupture of collagen fibers), adaptation and regeneration (the appearance of a large number of activated fibrocytes, fibroblasts, microvessels, neoplasm of collagen fibers) were activated. All this together led to spatial focal histotopographic changes, consisting in an increase in the cellular composition of connective tissue structures against the background of a noticeable violation of their spatial orientation.

**Conclusion.** Modeling of fasciopathy using alprostadil was accompanied by the appearance of mosaic reversible and irreversible heteromorphic and heterochronous changes in all connective tissue aponeurotic structures. Such histotopographic changes should be considered as one of the reasons for the clinical manifestations of plantar fasciopathies, causing functional insufficiency and explaining the clinical recurrent nature of the pathological process.

**Key words:** histology, plantar fasciitis, fasciopathy, alprostadil, laboratory animals, simulation

Received: 10.12.2021  
Accepted: 25.04.2022  
Published: 05.07.2022

**For citation:** Silantyev V.N., Dzyuba G.G., Markelova M.V., Erofeev S.A., Turushev M.A., Chernigova S.V. Morphofunctional reorganization of plantar aponeurosis in experimental modeling of fasciopathy by synthetic analogue of prostaglandin E1. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 242-252. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.24

## ВВЕДЕНИЕ

Подошвенная фасциопатия относится к большой группе тендинопатий и фасциопатий различных локализаций, клинически проявляющихся хроническим упорным болевым синдромом [1–4]. Несмотря на длительную историю изучения этой патологии, причины и морфогенез клинических проявлений до сих пор остаются не вполне понятными [3, 5–7]. К изученным морфологическим признакам развития фасциопатии относят дегенерацию коллагена, заключающуюся в дезорганизации волокон, неравномерном очаговом гофрировании и повышенной извитости коллагеновых пучков при увеличении количества гликозаминогликанов между волокнами, сопряжённом с уменьшением количества теноцитов и беспорядочным микрососудистым ростом [6, 8, 9]. Этот процесс сопровождается появлением метаболически активных фибробластов, определяющих повышенную продукцию гликозаминогликанов и белков внеклеточного матрикса. Коллагеновые волокна в этом случае не только гофрируются, но и теряют параллельную ориентацию, в результате чего происходит снижение силы их сцепления в пучках второго и последующих порядков [6]. Изменения обычно носят очаговый характер: регенераторные зоны, характеризующиеся активным тканевым метаболизмом, перемежаются с зонами дистрофии и атрофии (дегенеративных изменений) и теноцитов и коллагеновых волокон [9]. В ряде работ отмечена пусковая роль воспаления и цитокиновой реакции в развитии фасциопатий, что косвенно подтверждается выявлением лимфоцитарной и макрофагальной инфильтрации с увеличением «клеточности» плотной волокнистой соединительной ткани [6, 7, 10, 11].

Недостаточная изученность этиологических и патогенетических факторов развития фасциопатий объясняет множественность, а порой и противоречивость схем консервативного и оперативного лечения. Выбор оптимального варианта терапевтического или хирургического воздействия может быть связан с экспериментальным моделированием фасциопатий, изучением особенностей патологического процесса и влияния на него различных лечебных схем [1, 6]. В настоящее время существуют различные способы получения тендинопатий: от механических и электрических до медикаментозных, например, с использованием цитокинов. Согласно имеющимся литературным данным, экспериментальную модель тендинопатии с использованием лекарственного препарата алпростадила (синтетического простагландина E1) можно считать репрезентативной, она является недорогой, воспроизводимой, технически несложной и не требует длительной анестезии животных [12]. Опираясь на близость морфологического строения сухожильных и апоневротических структур, использование подобной алпростадиловой технологии при разработке модели фасциопатии подошвенного апоневроза для проведения морфологических и клинических исследований выглядит многообещающим.

**Целью настоящего исследования** было изучение морфологических изменений структур, тождественных

подошвенному апоневрозу человека, при экспериментальном моделировании фасциопатии у животных.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на базе ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет», одобрено этическим комитетом университета (протокол № 107 от 02.10.2018).

В качестве экспериментальных животных использовались беспородные собаки ( $n = 24$ ) массой  $7,7 \pm 2,1$  кг в возрасте от 10 до 16 месяцев, являющимся оптимальным для верификации закрытия зоны роста бугра пяточной кости тазовой конечности. Исследования проводили в соответствии с Хельсинкской декларацией об этических принципах медицинских исследований, утверждённой Всемирной медицинской ассоциацией (ВМА) в 1964 г. и пересмотренной на 64-м съезде Генеральной ассамблеи ВМА в 2013 г.; с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и в других научных целях (ETS № 123), Страсбург, 18 марта 1986 г. (European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (ETS N 123)) и принятых на основе этого документа нормативных актах ЕАЭС и России.

Наиболее близким по функции и строению к человеческому подошвенному апоневрозу является поверхностный сгибатель пальцев стопы у собак (*m. flexor digitalis pedis superficialis*), сухожилие которого, переплетаясь с сухожилием икроножной мышцы, проходит по вершине пяточного бугра короткими крепкими пучками и, прикрепляясь к нему, следует дистально по подошвенной поверхности стопы, аналогично подошвенному апоневрозу человека. Для удобства восприятия в тексте статьи указанные структуры будут условно названы «подошвенным апоневрозом».

При моделировании фасциопатии использовался препарат «Алпростан» (алпростадил – синтетический аналог естественного PGE1, производитель: «ЗЕНТИВА» а.с. 10237, Чешская Республика), разведённый до необходимой концентрации 5000 нг в 1 мл физиологическим раствором хлорида натрия [12]. Для обезболивания использовали внутривенное введение пропофола через катетер, установленный в грудной конечности животного. Раствор алпростадила вводился в интра- и периапоневротические ткани с кратностью 1 раз в неделю на протяжении четырёх недель. Одновременно с введением алпростадила, в апоневроз контрлатеральной лапы животного, использовавшейся в качестве контроля, вводилось аналогичное количество (1,0 мл) изотонического раствора хлорида натрия. Морфологический раздел исследования заключался в заборе части (размер  $0,5 \times 2$  см) подошвенного апоневроза из зон инъекций опытной и контрлатеральной тазовых конечностей на 35-е сутки от момента начала эксперимента. Для обезболивания при заборе материала использовалась следующая схема: премедикация осуществлялась введением атропина 0,001 % – 1 мл и димедрола 1 % – 0,5 мл

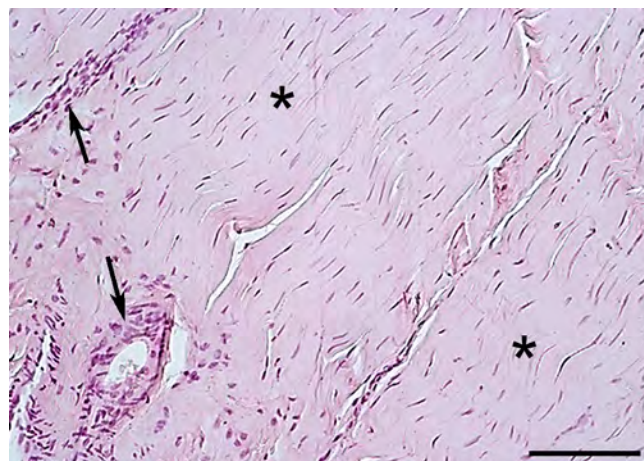
на 10 кг массы тела животного; вводный наркоз – медленной внутривенной инфузией пропофола до расслабления скелетных мышц животного (2–3 мл); основной наркоз – золитилом дробно 10 мг/кг в 1 час. Все животные после забора материала оставались живыми. Биоптаты апоневроза фиксировали в 10%-м нейтральном формалине. Гистологическую проводку и заливку в парафин проводили общепринятыми методами. Из полученных парафиновых блоков изготавливали продольные (вдоль волокон апоневроза) серийные срезы толщиной 5 мкм. Для дальнейшего гистологического исследования срезы окрашивали гематоксилином-эозином, альциановым и толуидиновым синим, по Ван-Гизону, Вейгерт – Ван-Гизону и Пикро-Маллори [13]. При окраске гематоксилином-эозином оценку полученным изменениям давали в сравнении с контрольной группой в соответствии с полуколичественной шкалой T. Movin и S. Bonar [12, 14]. Морфометрическую оценку относительной доли изучаемых структур в поле зрения проводили с помощью программы ImageJ 1.46 и общедоступных плагинов (<https://imagej.nih.gov/ij/>) на цветных изображениях. Измерения проводили в соответствии с рекомендациями по стереометрическим исследованиям [15–17].

В зависимости от характера распределения переменных (критерий Колмогорова – Смирнова) проверку статистических гипотез осуществляли с помощью параметрического (t-критерий Стьюдента) и непараметрического (Манна – Уитни) критериев в программе Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США). Результаты представлены как среднее ± стандартное отклонение и медиана (нижний и верхний квартили). По общепринятым рекомендациям для проведения статистического анализа нулевая гипотеза отвергалась при  $p \leq 0,05$  [18].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При исследовании интактного подошвенного апоневроза тазовой конечности собаки определялись пучки первого, второго и третьего порядка, сформированные из коллагеновых волокон плотной волокнистой соединительной ткани. Волокна в пучках первого порядка включали клеточные элементы фиброцитарного ряда, имеющие тонкую пластинчатую структуру, длинные отростки и плоские или веретенообразные ядра. Между пучками всех порядков определялась неоформленная рыхлая волокнистая соединительная ткань (соответствующая сухожильным эндотению и перитению), в которой находились единичные сосуды. В периваскулярном пространстве выявлялись отдельные лимфоциты. Клеточность изученных полей зрения оценивалась нами как слабая и умеренная, без деструктивных изменений всех дифферонов соединительной ткани и крови (рис. 1).

Через 7 суток после четвёртой инъекции алпростадилла была отмечена трансформация структурно-функционального состояния всех компонентов подошвенного апоневроза. При окраске гематоксилином-эозином выявляли протяжённые зоны апоневроза с изменёнными тинкториальными свойствами белка (с) и низ-



**РИС. 1.**

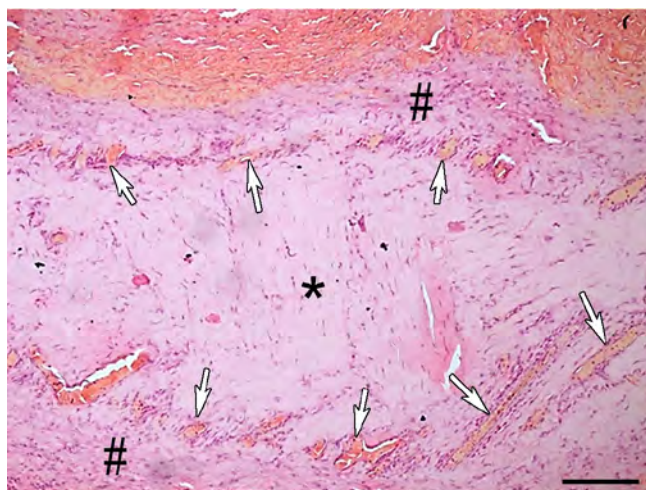
Подошвенный апоневроз собаки контрольной группы: пучки первого и второго порядка (\*), элементы рыхлой неоформленной волокнистой соединительной ткани (стрелки) между пучками второго порядка. Окраска альциановым синим, шкала – 100 мкм

**FIG. 1.**

Plantar aponeurosis of a control group dog: bundles of the first and second order (\*), elements of loose unformed fibrous connective tissue (arrows) between bundles of the second order. Alcian blue, scale 100 microns

кими показателями клеточности (рис. 2а). Как правило, вокруг таких участков отмечали скопления полнокровных кровеносных сосудов, очаги кровоизлияний, окружённых множественными инфильтратами, что трактовалось как зоны высокой клеточности (рис. 2б). Оказалось существенным, что полнокровные сосуды, кровоизлияния и инфильтраты выявлялись не только в структурах эндотения и перитения, но и между пучками апоневроза первого порядка (рис. 3а). Граница очагов кровоизлияний и сохранившихся пучков коллагеновых волокон имела очень сложные очертания в результате формирования взаимных инвагинаций в плотной волокнистой неоформленной и оформленной соединительной ткани. По этой границе были отмечены инфильтраты, состоящие преимущественно из лимфоцитов и нейтрофильных лейкоцитов (рис. 3б). Особое значение имели кровеносные микрососуды, пересекающие под углом пучки коллагеновых волокон на границе с кровоизлияниями и инфильтратами. Мы полагаем, что возникновение подобных сосудов было связано с развитием процесса регенерации и обеспечивало восстановление приграничных повреждённых коллагеновых волокон.

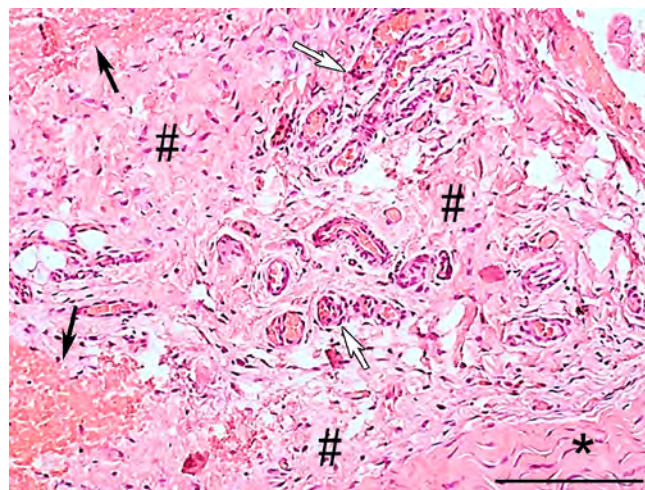
Частичное и полное нарушение дифференцировки коллагеновых пучков первого и второго порядка подтверждалось окрасками серийных срезов по Ван-Гизону и Пикро-Маллори. Выявлялось разволокнение пучков апоневроза, увеличение их извитости и площади межточечного вещества. В среднем доля окрашенных по Ван-Гизону волокон (рис. 4а) снижалась до 57,4 % в поле зрения ( $p < 0,001$ , критерий Манна – Уитни) при норме 82,5 %, остальную площадь занимали клетки инфильтрата, ме-



**a**

**РИС. 2.**

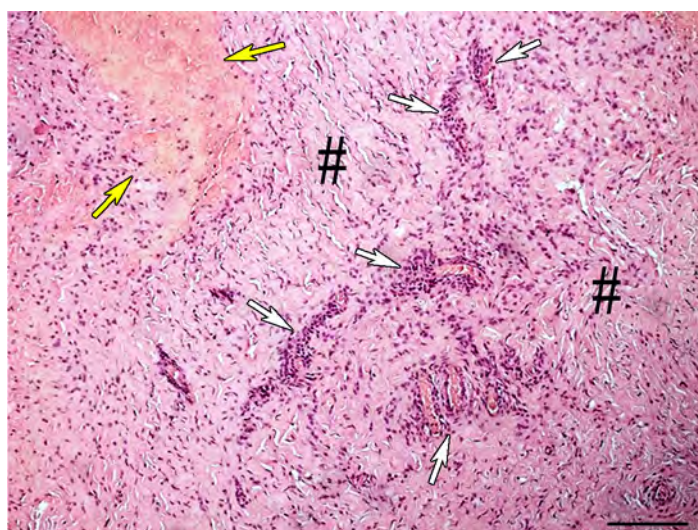
Подошвенный апоневроз собаки при моделировании тендинопатии: **а** – зона апоневроза с изменёнными тинкториальными свойствами коллагеновых волокон (\*), скопление сосудов (стрелки) и инфильтраты (#); **б** – большое количество кровеносных микрососудов в рыхлой неоформленной волокнистой соединительной ткани (#); стрелки – кровоизлияния; \* – коллагеновые волокна плотной волокнистой оформленной соединительной ткани. Окраска гематоксилином-эозином, шкалы: 200 мкм (**а**), 100 мкм (**б**)



**б**

**FIG. 2.**

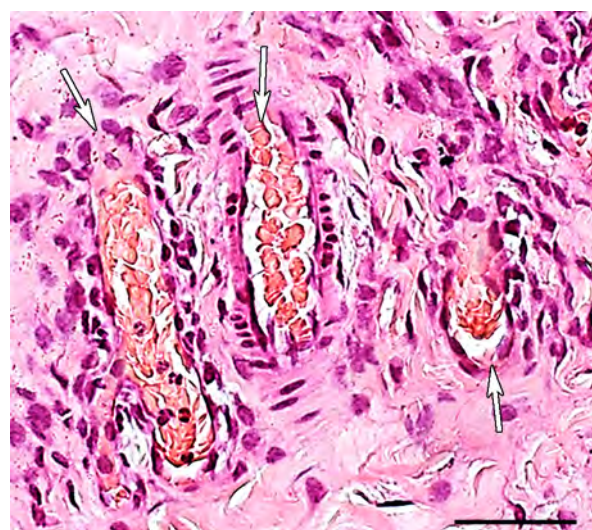
Plantar aponeurosis of a dog when modeling tendinopathy: **a** – aponeurosis zone with altered tinctorial properties of collagen fibers (\*), a cluster of vessels (arrows) and infiltrates (#); **b** – a large number of blood microvessels in loose unformed fibrous connective tissue (#); arrows – hemorrhages; \* – collagen fibers of dense fibrous connective tissue. Hematoxylin-eosin, scales: 200 microns (**a**), 100 microns (**b**)



**a**

**РИС. 3.**

Подошвенный апоневроз собаки при моделировании фасциопатии: **а** – видны скопления микрососудов, очаги повышенной клеточности (белые стрелки), расширение пространства между пучками волокон первого порядка (#), очаговые кровоизлияния (жёлтые стрелки); **б** – фрагмент (**а**), значительное повышение «клеточности» периваскулярных зон, большое содержание фибробластов и инфильтрировавших клеток крови (в виде частоккола). Окраска гематоксилином-эозином, шкалы: 200 мкм (**а**), 50 мкм (**б**)



**б**

**FIG. 3.**

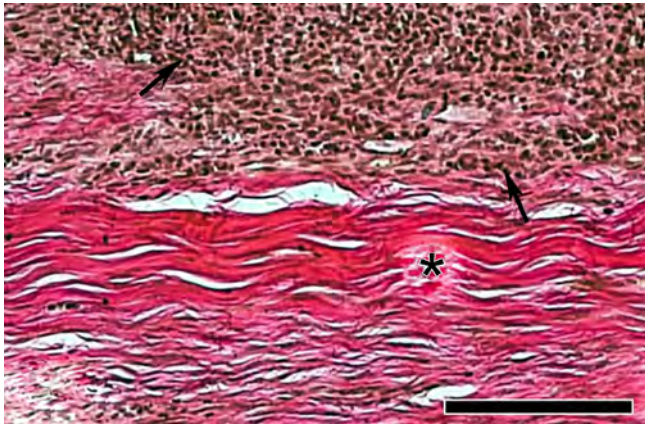
Plantar aponeurosis of a dog in the simulation of fasciopathy: **a** – visible clusters of microvessels, foci of increased cellular activity (white arrows), expansion of the space between bundles of fibers of the first order (#), focal hemorrhages (yellow arrows); **b** – fragment of (**a**), a significant increase in the "cellular" perivascular zones, a large content of fibroblasts and infiltrated blood cells (in the form of a palisade). Hematoxylin-eosin, scales: 200 microns (**a**), 50 microns (**b**)

жучочного вещества и сосуда. Аналогичная картина наблюдалась и при окраске по Пикро-Маллори (рис. 4б).

При окраске по Ван-Гизону на коллаген появлялись «пустые» (неокрашенные) участки апоневроза (рис. 5а), которые при использовании альцианового синего приобретали бирюзово-голубое окрашивание, свойственное для кислых мукополисахаридов (рис. 5б). При окраске альциановым синим было установлено, что введение алпростадила приводило к морфологически различ-

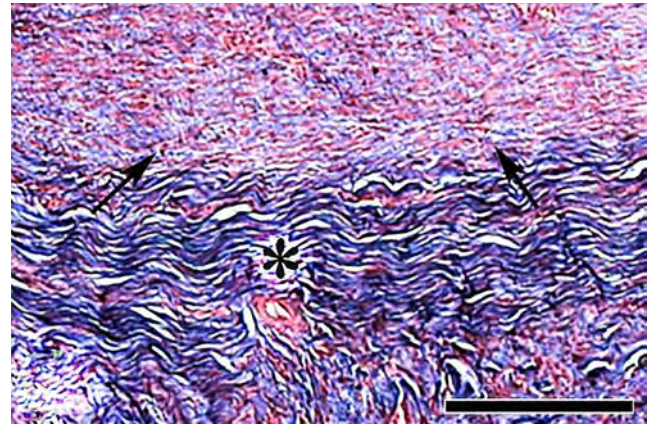
ным очаговым изменениям апоневроза: отмечали зоны интактного апоневроза с небольшим количеством теночитов, зоны с дистрофическими изменениями (рис. 5б) и смешанные зоны со значительным количеством клеток.

По данным морфометрического анализа, в контроле и в неповреждённых участках апоневроза животных с экспериментальной фасциопатией преобладали неизменённые коллагеновые волокна, их доля в поле зрения составляла 87,3 %. В зонах мукоидного набухания



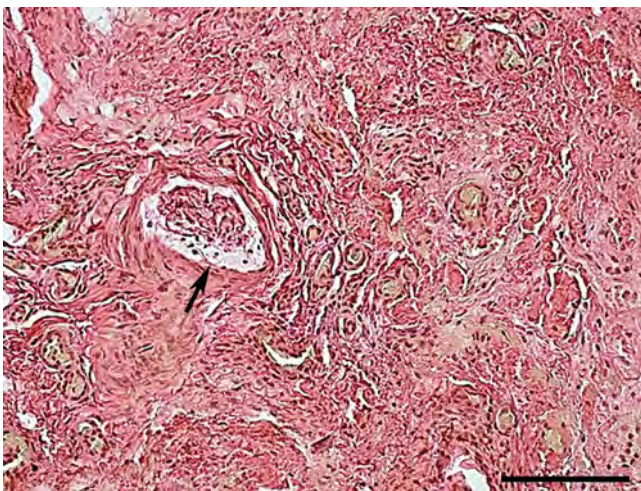
а

**РИС. 4.** Зона инфильтрации апоневроза при фасциопатии: фрагменты повреждённых коллагеновых волокон без чётких границ с полной потерей архитектоники (стрелки); нарушение дифференцировки и разволокнение коллагеновых волокон, увеличение площади межучточного вещества (\*). Окраска по Ван-Гизону (а) и Пикро-Маллори (б); шкала 150 мкм



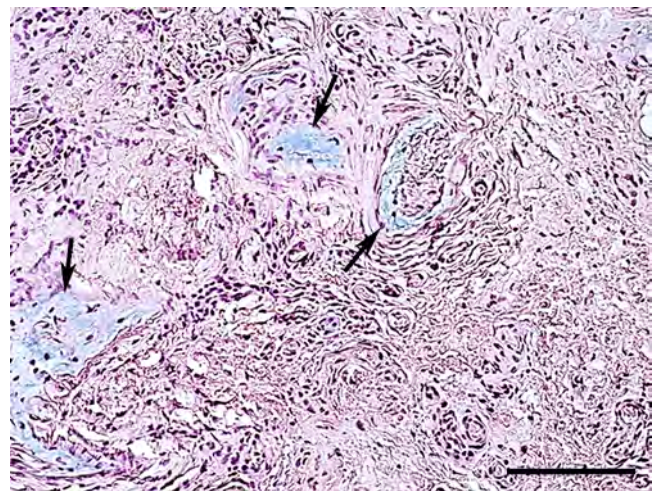
б

**FIG. 4.** Zone of infiltration of aponeurosis in fasciopathy: fragments of damaged collagen fibers without clear borders with complete loss of architectonics (arrows); violation of differentiation and disfoliation of collagen fibers, an increase in the area of the interstitial substance (\*). Staining: Van Gieson (a) and Picro-Mallory (b); scale 150 microns



а

**РИС. 5.** Подошвенный апоневроз собаки при моделировании фасциопатии: а – нарушение дифференцировки и полный локальный распад коллагеновых волокон (отсутствие окраски коллагена, чёрная стрелка); б – бирюзово-голубое окрашивание кислых мукополисахаридов в участках разрушения коллагеновых волокон (признаки дистрофии) (чёрные стрелки). Окраска по Ван-Гизону (а) и альциановым синим (б), шкала 200 мкм



б

**FIG. 5.** Plantar aponeurosis of the dog in the simulation of fasciopathy: а – violation of differentiation and complete local decay of collagen fibers (lack of color of collagen, black arrow); б – turquoise-blue staining of acidic mucopolysaccharides in areas of destruction of collagen fibers (signs of dystrophy) (black arrows). Staining: Van Gieson (a), alcian blue (b), scale 200 microns

**ТАБЛИЦА 1**  
**ПЛОЩАДЬ (В 1 ММ<sup>2</sup> ПОЛЯ ЗРЕНИЯ) ОСНОВНЫХ СТРУКТУР АПОНЕВРОЗА В КОНТРОЛЬНЫХ ЗОНАХ И ЗОНАХ МУКОИДНОГО НАБУХАНИЯ, МЕ (Q1–Q3)**

**TABLE 1**  
**THE AREA (IN 1 MM<sup>2</sup> OF THE FIELD OF VIEW) OF THE MAIN STRUCTURES OF APONEUROSIS IN THE CONTROL ZONES AND AREAS OF MUCOID SWELLING, ME (Q1–Q3)**

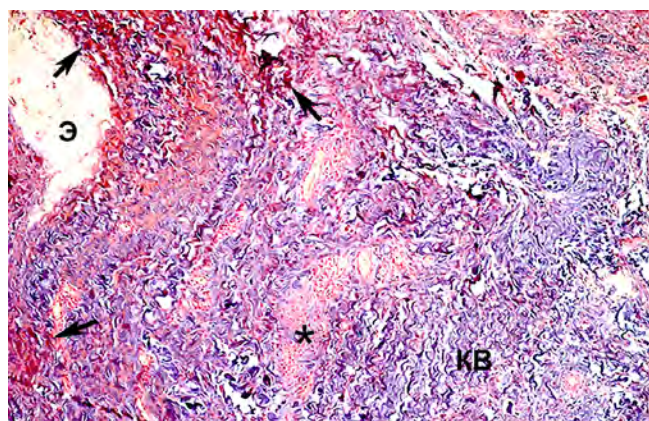
Структуры	Группы		Сравнение
	Контроль (n = 12)	Модель (n = 12)	
Коллагеновые волокна	0,873 (0,675–0,897)	0,147 (0,126–0,168)	p < 0,01*
Ядра теноцитов	0,088 (0,069–0,096)	0,264 (0,228–0,285)	p < 0,01*
Зоны мукоидного изменения	0,021 (0,018–0,047)	0,561 (0,498–0,687)	p < 0,01*
Всё остальное (межклеточные пространства, сосуды и пр.)	0,018 (0,015–0,036)	0,038 (0,033–0,059)	p < 0,05*

Примечание. \* – различия статистически значимы в сравнении с контролем при p < 0,05 (критерий Манна – Уитни).

доля неповреждённого коллагена снижалась до 14,7 %, а площадь патологических очагов, окрашенных альциановым, увеличивалась до 56,1 % (табл. 1).

Таким образом, на препаратах, окрашенных альциановым синим, удалось показать изменение соотношений объёма повреждённых (дистрофия: мукоидное набухание) и неповреждённых структур апоневроза.

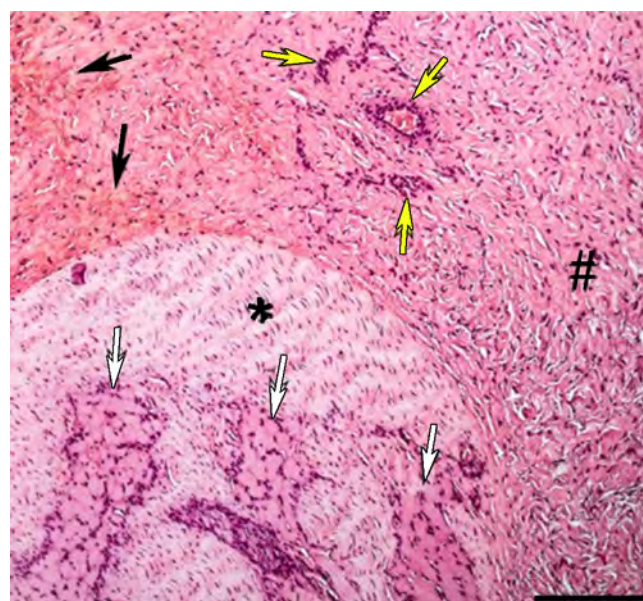
В зонах инфильтратов и пропитывания эритроцитами плотной волокнистой оформленной и неоформленной соединительной ткани выявляли также признаки фибриноидного набухания с появлением очагов полного разрушения коллагеновых волокон и межклеточного вещества. Особенно наглядно это видно на препаратах, окрашенных по Пикро-Маллори, где эритроциты – жёлтые, коллагеновые волокна – синие, фибрин – красный (рис. 6).



**РИС. 6.** Подошвенный апоневроз собаки при моделировании фасциопатии: кровоизлияния (Э, жёлтые), нарушение дифференцировки, изменение формы, увеличение степени волнистости, продольное разделение коллагеновых волокон (KB, синие), очаги выпадения теноцитов (\*), скопление фибрина (стрелки, красные). Окраска Пикро-Маллори; шкала 200 мкм

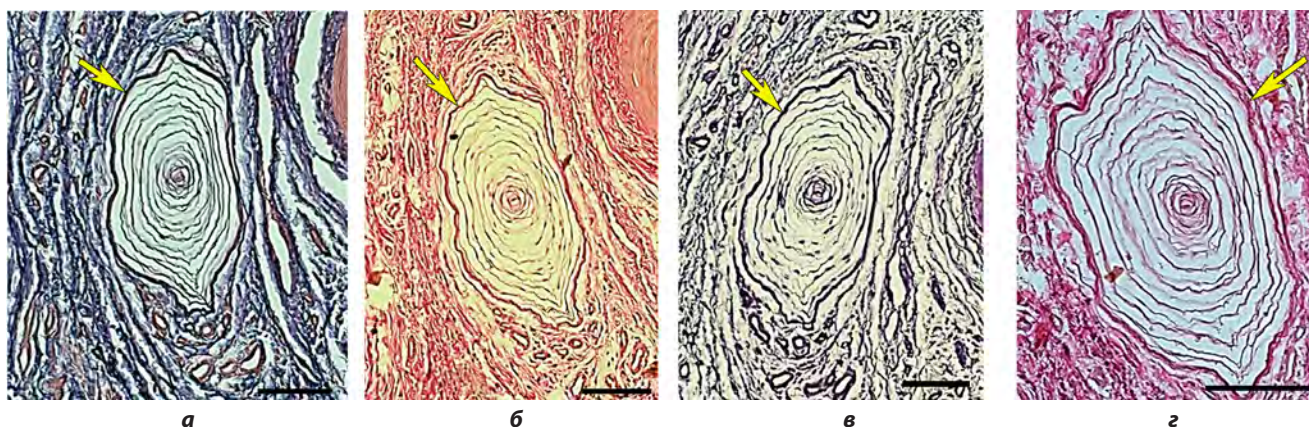
**FIG. 6.** Plantar aponeurosis of a dog in the simulation of fasciopathy: hemorrhages (Э, yellow), violation of differentiation, shape change, increase in the degree of undulation, longitudinal division of collagen fibers (KB, blue), foci of tenocyte loss (\*), fibrin accumulation (arrows, red). Picro-Mallory staining; scale 200 microns

В итоге, в ходе морфофункциональной реорганизации соединительной ткани подошвенного апоневроза собаки, при медикаментозной аллпростадилевой фасциопатии, как результате сочетания процессов повреждения, резорбции и новообразования коллагеновых волокон, происходило усложнение его пространственного внутреннего строения. Выявлялись участки апоневроза



**РИС. 7.** Подошвенный апоневроз собаки при моделировании фасциопатии: диффузное кровоизлияние (чёрные стрелки), очаги повышенной клеточности (инфильтрации, жёлтые стрелки), расширение пространства между пучками волокон (#); белые стрелки и \* – пересекающиеся пучки коллагеновых волокон в зоне с высоким показателем клеточности. Окраска гематоксилином-эозином, шкала 200 мкм

**FIG. 7.** Plantar aponeurosis of a dog in the simulation of fasciopathy: diffuse hemorrhage (black arrows), foci of increased cellular activity (infiltration, yellow arrows), expansion of the space between fiber bundles (#); white arrows and \* – intersecting bundles of collagen fibers in the zone with a high cellular index. Hematoxylin-eosin staining, scale 200 microns

**РИС. 8.**

Подошвенный апоневроз собаки при моделировании тендинопатии: тельца Фатера – Пачини (стрелки) при различных окрасках: целостность всех структурных компонентов. Окраски: **а** – Пикро-Маллори; **б** – Ван-Гизон; **в** – толуидиновый синий; **г** – Вейгерт – Ван-Гизон; шкала 100 мкм

**FIG. 8.**

Plantar aponeurosis of a dog when modeling tendinopathy: Vater – Pacini corpuscles (arrows) with different colors: integrity of all structural components. Staining: **a** – Picro-Mallory; **б** – Van Gieson; **в** – toluidine blue; **г** – Weigert – Van Gieson; scale 100 microns

с патологической перестройкой в виде поперечно расположенных пучков первого и второго порядка с взаимно переплетёнными коллагеновыми волокнами, а также резко возросшим показателем клеточности. В структуре клеточных элементов регистрировалось значительное увеличение числа активно метаболизирующих теноцитов, о чём свидетельствовало округление их ядер и наличие видимой цитоплазмы (рис. 7).

В совокупности, перечисленные выше структурные изменения соответствовали в некоторых участках 8–11 баллам (Min-Max) при гистологической оценке по шкале Bonar и заключались в изменении формы, извитости, нарушении и даже исчезновении дифференцировки фибриллярных волокон, их продольном разъединении и разрыве, округлении ядер теноцитов, наличии видимой цитоплазмы и кровеносных сосудов между изменёнными волокнами. Полуколичественная оценка патогистологических изменений подошвенного апоневроза животных основной группы показала, что среднее значение степени дегенерации по шкале Bonar в конце эксперимента составляло  $7,1 \pm 1,97$  балла. То есть в рамках одной сигмы (95 % всех измерений, основная масса), этот показатель варьировался в большинстве полей зрения в пределах 5–9 баллов. В контрольной группе суммарный показатель составил  $0,3 \pm 0,1$  балла, что было статистически значимо ниже ( $p < 0,0001$ , t-критерий Стьюдента), чем при моделировании фасциопатии.

Пространственная реорганизация коллагеновых волокон подошвенного апоневроза наблюдалась и вокруг элементов периферической нервной системы, где сочетались процессы дистрофии, разрушения и восстановления волокон. При этом структура самих нервных окончаний (на примере телец Фатера – Пачини) не нарушалась (рис. 8).

Подобные очаговые (гетероморфные и гетерохронные) гистотопографические изменения апоневроза, вероятно, приводили и к изменениям условий функционирования локальных элементов его соматосенсорной системы. Гетероморфность и гетерохронность выявлен-

ных изменений соединительной ткани можно рассматривать как морфологический субстрат клинических проявлений фасциопатий.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, четырёхкратное введение алпростадила по использованному нами методу оказывало существенное влияние на структуру плотной волокнистой неоформленной и оформленной соединительной ткани подошвенного апоневроза собак. Активизировались механизмы повреждения, адаптации и регенерации, в совокупности приводящие к пространственным гистотопографическим изменениям апоневроза, лежащим в основе формирования картины медикаментозной фасциопатии. Найденные изменения при моделировании фасциопатии имели очаговый характер, то есть имели выраженные признаки гетероморфности.

В местах инъекций препарата появлялись морфологические признаки отёка, набухания интерстициального пространства, полнокровия сосудов, кровоизлияния, инфильтрации ядерных клеток крови – дистрофии апоневроза. Кроме того, в оформленной и неоформленной соединительной ткани появлялись зоны с большим количеством капилляров. Воспалительные изменения, вероятно, инициировались в покровных структурах, соответствующих паратенону и эндотенону, а затем распространялись на пучки коллагеновых волокон и межучастное вещество апоневроза, где отмечалось увеличение количества плазмощитов и лимфоцитов. Параллельно изменялась структура пучков коллагена: коллагеновые волокна теряли типичную упорядоченную ориентацию, отмечались неравномерное гофрирование и увеличение их извитости. Некоторые волокна подвергались диффузному лизису, дистрофии и разрывались. Вокруг таких пучков выявлялись свободные эритроциты, лимфоцитарные клеточные инфильтраты и очаги скопления



кислых мукополисахаридов. По литературным данным, именно разрушение коллагеновых волокон и их последующая пространственная реорганизация имеет ключевое значение в патогенезе фасциопатий [6].

Значительным разнонаправленным изменением подвергались специализированные клеточные элементы апоневроза – теноциты. Одних процесс приводил к дегенерации и атрофии, других – к трансформации в фибробласты, отличающиеся округлыми ядрами и большим объёмом цитоплазмы. С большой долей вероятности можно предположить, что именно за счёт этих клеток, имеющих все признаки высокой функциональной активности, происходила репаративная регенерация и последующая пространственная реорганизация апоневроза. Его структура нарушалась, становилась менее организованной, но более клеточной, с преобладанием метаболически активных теноцитов, способных и в дальнейшем изменять объёмные соотношения всех компонентов апоневроза, косвенно влияя и на чувствительные нервные окончания. При этом, по нашим данным, такие крупные специализированные окончания, как тельца Фатера – Пачини не имели признаков патологических изменений. Для изучения более мелких болевых нервных окончаний, как и для выяснения их связей с коллагеновым скелетом, требуются либо специальные методы окраски, либо электронная микроскопия [19].

Было установлено, что при медикаментозном моделировании фасциопатии в матриксе соединительной ткани апоневроза происходили химические реакции, результатом которых явилось накопление кислых мукополисахаридов. Кроме того, разрушались и молекулы коллагеновых волокон, с распадом мукопротеидов и высвобождением веществ типа гиалуроновой и хондроитинсерной кислот [6], что подтверждалось окрашиванием продуктов этих реакций альциановым синим. Перечисленные патологические процессы вели к формированию очагов мукоидного набухания. По нашим данным, в этих очагах при окраске по Ван-Гизону и Пикро-Маллори доля неповреждённых коллагеновых волокон значительно снижалась, вплоть до полного их исчезновения. Показательно, что с помощью окраски Пикро-Маллори в зонах инфильтрации и кровоизлияний нами были выявлены и признаки фибриноидного набухания: фибрин окрашивался в красный цвет вокруг кровоизлияний, сосудов, нервных элементов и между пучками повреждённых коллагеновых волокон. По литературным данным, при экспериментальных фасциопатиях превалируют мукоидные изменения, а фибриноидное набухание практически не описано [20]. Появление таких очагов деструкции свидетельствует о более тяжёлых, возможно необратимых изменениях подошвенного апоневроза, вызывающих функциональную недостаточность и объясняющую клинический рецидивирующий характер патологического процесса.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённое исследование продемонстрировало, что заметные патологические трансформации подошвен-

ного апоневроза могут быть вызваны локальным введением провоспалительных препаратов (типа алпростадила). Выявленные нами очаговые пространственные гистотопографические воспалительные, дегенеративные и репаративные изменения подошвенного апоневроза во многом объясняют нарушения функционирования элементов его соматосенсорной системы (например, упорного хронического болевого синдрома, дискоординации нагрузочного режима стопы и выработки патологического статико-локомоторного стереотипа) при фасциопатиях. Полученные и имеющиеся научные данные не позволяют точно идентифицировать морфологические признаки подобных клинических проявлений и требуют дальнейшего изучения с использованием комплексного клинко-морфологического подхода [6, 12, 20, 21].

В ходе исследования была получена доказательная экспериментальная медикаментозная (алпростадиловая) модель фасциопатии, воспроизводящая основные патогномичные морфологические признаки дегенеративного процесса, аналогичные известным и описанным при экспериментальных и клинических тендинопатиях. Эта модель и выявленные гетероморфные и гетерохронные изменения всех структур подошвенного апоневроза являются основой для дальнейшего изучения влияния на патологический процесс разнородных лечебных мероприятий, включающих медикаментозные и физические факторы воздействия.

## Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Riley G. Tendinopathy – from basic science to treatment. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2008; 4(2): 82-89. doi: 10.1038/ncprheum0700
2. Aicale R, Tarantino D, Maffulli N. Overuse injuries in sport: A comprehensive overview. *J Orthop Surg Res*. 2018; 13(1): 309. doi: 10.1186/s13018-018-1017-5
3. King D, Yakubek G, Chughtai M, Khlopas A, Saluan P, Mont MA, et al. Quadriceps tendinopathy: A review, part 2 – classification, prognosis, and treatment. *Ann Transl Med*. 2019; 7(4): 72. doi: 10.21037/atm.2019.01.63
4. King D, Yakubek G, Chughtai M, Khlopas A, Saluan P, Mont MA, et al. Quadriceps tendinopathy: A review – part 1: epidemiology and diagnosis. *Ann Transl Med*. 2019; 7(4): 71. doi: 10.21037/atm.2019.01.58
5. Longo UG, Fazio V, Poeta ML, Rabitti C, Franceschi F, Maffulli N, et al. Bilateral consecutive rupture of the quadriceps tendon in a man with BstUI polymorphism of the COL5A1 gene. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2010; 18(4): 514-518. doi: 10.1007/s00167-009-1002-y
6. Thankam FG, Dilisio MF, Gross RM, Agrawal DK. Collagen I: A kingpin for rotator cuff tendon pathology. *Am J Transl Res*. 2018; 10(11): 3291-3309.
7. Thankam FG, Roesch ZK, Dilisio MF, Radwan MM, et al. Association of inflammatory responses and ECM disorganization with HMGB1 upregulation and NLRP3 inflammasome activa-

tion in the injured rotator cuff tendon. *Sci Rep.* 2018; 8(1): 8918. doi: 10.1038/s41598-018-27250-2

8. Longo UG, Franceschi F, Ruzzini L, Rabitti C, Morini S, Maffulli N, et al. Characteristics at haematoxylin and eosin staining of ruptures of the long head of the biceps tendon. *Br J Sports Med.* 2009; 43(8): 603-607. doi: 10.1136/bjism.2007.039016

9. DE Giorgi S, Saracino M, Castagna A. Degenerative disease in rotator cuff tears: What are the biochemical and histological changes? *Joints.* 2014; 2(1): 26-28.

10. Millar NL, Akbar M, Campbell AL, Reilly JH, Kerr SC, McLean M, et al. IL-17A mediates inflammatory and tissue remodeling events in early human tendinopathy. *Sci Rep.* 2016; 6: 27149. doi: 10.1038/srep27149

11. Tang C, Chen Y, Huang J, Zhao K, Zhao K, Chen X, Yin Z, et al. The roles of inflammatory mediators and immunocytes in tendinopathy. *J Orthop Translat.* 2018; 14: 23-33. doi: 10.1016/j.jot.2018.03.003

12. Sullo A, Maffulli N, Capasso G, Testa V. The effects of prolonged peritendinous administration of PGE1 the rat Achilles tendon: A possible animal model of chronic Achilles tendinopathy. *J Orthop Sci.* 2001; 6(4): 349-357. doi: 10.1007/s007760100031

13. Коржевский Д.Э., Гиляров А.В. *Основы гистологической техники.* СПб.: СпецЛит; 2010.

14. Movin T. *Aspects of aetiology, pathoanatomy and diagnostic methods in chronic mid-portion achillodynia.* PhD Thesis, Karolinska Institute; 1998.

15. Автандилов Г.Г. *Основы количественной патологической анатомии: учебное пособие.* М.: Медицина, 2002.

16. Конюхов А.Л. *Руководство к использованию программного комплекса ImageJ для обработки изображений: Учебное методическое пособие.* Томск; 2012.

17. Худоевков Р.М. *Методы компьютерной морфометрии в нейроморфологии: учебное пособие (базовый курс).* М.: ФГБУ «НЦН» РАМН; 2014.

18. Боровиков В. *Statistica. Искусство анализа данных на компьютере.* СПб.: Питер; 2003.

19. Canty EG, Kadler KE. Procollagen trafficking, processing and fibrillogenesis. *J Cell Sci.* 2005; 118(Pt7): 1341-1353. doi: 10.1242/jcs.01731

20. Юрковский А.М., Аникеев О.И., Ачинович С.Л. Сопоставление сонографических и гистологических данных при дистрофических изменениях подвздошно-поясничной связки. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета.* 2011; 4: 74-77.

21. Maffulli N, Longo UG, Franceschi F, Rabitt C, Denaro V. Movin and Bonar scores assess the same characteristics of tendon histology. *Clin Orthop Relat Res.* 2008; 466(7): 1605-1611. doi: 10.1007/s11999-008-0261-0

sification, prognosis, and treatment. *Ann Transl Med.* 2019; 7(4): 72. doi: 10.21037/atm.2019.01.63

4. King D, Yakubek G, Chughtai M, Khlopas A, Saluan P, Mont MA, et al. Quadriceps tendinopathy: A review – part 1: epidemiology and diagnosis. *Ann Transl Med.* 2019; 7(4): 71. doi: 10.21037/atm.2019.01.58

5. Longo UG, Fazio V, Poeta ML, Rabitti C, Franceschi F, Maffulli N, et al. Bilateral consecutive rupture of the quadriceps tendon in a man with BstUI polymorphism of the COL5A1 gene. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2010; 18(4): 514-518. doi: 10.1007/s00167-009-1002-y

6. Thankam FG, Dilisio MF, Gross RM, Agrawal DK. Collagen I: A kingpin for rotator cuff tendon pathology. *Am J Transl Res.* 2018; 10(11): 3291-3309.

7. Thankam FG, Roesch ZK, Dilisio MF, Radwan MM, et al. Association of inflammatory responses and ECM disorganization with HMGB1 upregulation and NLRP3 inflammasome activation in the injured rotator cuff tendon. *Sci Rep.* 2018; 8(1): 8918. doi: 10.1038/s41598-018-27250-2

8. Longo UG, Franceschi F, Ruzzini L, Rabitti C, Morini S, Maffulli N, et al. Characteristics at haematoxylin and eosin staining of ruptures of the long head of the biceps tendon. *Br J Sports Med.* 2009; 43(8): 603-607. doi: 10.1136/bjism.2007.039016

9. DE Giorgi S, Saracino M, Castagna A. Degenerative disease in rotator cuff tears: What are the biochemical and histological changes? *Joints.* 2014; 2(1): 26-28.

10. Millar NL, Akbar M, Campbell AL, Reilly JH, Kerr SC, McLean M, et al. IL-17A mediates inflammatory and tissue remodeling events in early human tendinopathy. *Sci Rep.* 2016; 6: 27149. doi: 10.1038/srep27149

11. Tang C, Chen Y, Huang J, Zhao K, Zhao K, Chen X, Yin Z, et al. The roles of inflammatory mediators and immunocytes in tendinopathy. *J Orthop Translat.* 2018; 14: 23-33. doi: 10.1016/j.jot.2018.03.003

12. Sullo A, Maffulli N, Capasso G, Testa V. The effects of prolonged peritendinous administration of PGE1 the rat Achilles tendon: A possible animal model of chronic Achilles tendinopathy. *J Orthop Sci.* 2001; 6(4): 349-357. doi: 10.1007/s007760100031

13. Korzhevskij DE, Gilyarov AV. *Fundamentals of histological technique.* Saint Petersburg: Spetslit; 2010. (In Russ.).

14. Movin T. *Aspects of aetiology, pathoanatomy and diagnostic methods in chronic mid-portion achillodynia.* PhD Thesis, Karolinska Institute; 1998.

15. Avtandilov GG. *Fundamentals of quantitative pathological anatomy.* Moscow: Medicina; 2002. (In Russ.).

16. Konyuhov AL. *Guide to the use of the ImageJ software complex for image processing.* Tomsk; 2012. (In Russ.).

17. Hudoevkov RM. *Methods of computer morphometry in neuromorphology.* Moscow; 2014. (In Russ.).

18. Borovikov V. *Statistica. The art of analyzing data on a computer.* Saint Petersburg: Piter Publishing House; 2003. (In Russ.).

19. Canty EG, Kadler KE. Procollagen trafficking, processing and fibrillogenesis. *J Cell Sci.* 2005; 118(Pt7): 1341-1353. doi: 10.1242/jcs.01731

20. Yurkovskij AM, Anikeev OI, Achinovich SL. Comparison of sonographic and histological data in dystrophic changes of the ilio-lumbar ligament. *Journal of the Grodno State Medical University.* 2011; 4: 74-77. (In Russ.).

## REFERENCES

1. Riley G. Tendinopathy – from basic science to treatment. *Nat Clin Pract Rheumatol.* 2008; 4(2): 82-89. doi: 10.1038/ncprheum0700

2. Aicale R, Tarantino D, Maffulli N. Overuse injuries in sport: A comprehensive overview. *J Orthop Surg Res.* 2018; 13(1): 309. doi: 10.1186/s13018-018-1017-5

3. King D, Yakubek G, Chughtai M, Khlopas A, Saluan P, Mont MA, et al. Quadriceps tendinopathy: A review, part 2 – clas-

21. Maffulli N, Longo UG, Franceschi F, Rabitt C, Denaro V. Movin and Bonar scores assess the same characteristics of tendon histology. *Clin Orthop Relat Res.* 2008; 466(7): 1605-1611. doi: 10.1007/s11999-008-0261-0

#### Сведения об авторах

**Силантьев Вадим Николаевич** – ассистент кафедры травматологии и ортопедии, ФГБОУ ВО «ОмГМУ» Минздрава России, <https://orcid.org/0000-0002-2407-8545>

**Дзюба Герман Григорьевич** – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой травматологии и ортопедии, ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: [germanort@mail.ru](mailto:germanort@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-4292-213X>

**Ерофеев Сергей Александрович** – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры травматологии и ортопедии, ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, <https://orcid.org/0000-0003-4499-0598>

**Маркелова Марина Владимировна** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии, ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, <https://orcid.org/0000-0002-5356-9669>

**Турушев Михаил Анатольевич** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры травматологии и ортопедии, ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, <https://orcid.org/0000-0002-4507-7496>

**Чернигова Светлана Владимировна** – доктор ветеринарных наук, доцент, директор института ветеринарной медицины и биотехнологии, ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина»

#### Information about the authors

**Vadim N. Silantjev** – Teaching Assistant at the Department of Traumatology and Orthopaedics, Omsk State Medical University, <https://orcid.org/0000-0002-2407-8545>

**German G. Dzyuba** – Dr. Sc. (Med.), Docent, Head of the Department of Traumatology and Orthopaedics, Omsk State Medical University, e-mail: [germanort@mail.ru](mailto:germanort@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-4292-213X>

**Sergey A. Erofeev** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Professor at the Department of Traumatology and Orthopaedics, Omsk State Medical University, <https://orcid.org/0000-0003-4499-0598>

**Marina V. Markelova** – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Pathological Anatomy, Omsk State Medical University, <https://orcid.org/0000-0002-5356-9669>

**Mikhail A. Turushev** – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Traumatology and Orthopedics, Omsk State Medical University, <https://orcid.org/0000-0002-4507-7496>

**Svetlana V. Chernigova** – Dr. Sc. (Vet.), Docent, Director of the Institute of Veterinary Medicine and Biotechnology, Omsk State Agrarian University