

## КОМПЛЕКСНАЯ СТИМУЛЯЦИЯ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО НЕРВА ПОСЛЕ ОТСРОЧЕННОЙ НЕЙРОРАФИИ

**А. Н. Иванов** — НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, ведущий научный сотрудник отдела фундаментальных и клинико-экспериментальных исследований, доктор медицинских наук; **Г. А. Коршунова** — НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, старший научный сотрудник отдела инновационных проектов в нейрохирургии и вертебрологии, кандидат медицинских наук; **О. В. Матвеева** — НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, врач отделения клинической лабораторной диагностики, кандидат медицинских наук; **В. Г. Нинель** — НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, главный научный сотрудник отдела инновационных проектов в нейрохирургии и вертебрологии, профессор, доктор медицинских наук; **И. Е. Шутров** — ГУЗ «Саратовская областная детская клиническая больница», врач травматолог-ортопед; **И. Н. Щаницын** — НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, младший научный сотрудник отдела инновационных проектов в нейрохирургии и вертебрологии, кандидат медицинских наук; **Т. А. Андропова** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, доцент кафедры биологии, доцент, кандидат медицинских наук; **И. А. Норкин** — НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, директор, заведующий кафедрой травматологии и ортопедии, профессор, доктор медицинских наук.

## COMPLEX STIMULATION OF PERIPHERAL NERVE REGENERATION AFTER DEFERRED NEURORRHAPHY

**A. N. Ivanov** — Scientific Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery of Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Department of Fundamental, Clinical and Experimental Studies, Leading Researcher, Doctor of Medical Science; **G. A. Korshunova** — Scientific Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery of Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Department of Innovation Projects in Neurosurgery and Vertebrology, Department of Clinical Laboratory Medicine, Doctor, Candidate of Medical Science; **O. V. Matveyeva** — Scientific Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery of Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Department of Laboratory Medicine, Doctor, Candidate of Medical Science; **V. G. Ninel** — Scientific Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery of Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Department of Innovation Projects in Neurosurgery and Vertebrology, Chief Researcher, Professor, Doctor of Medical Science; **I. E. Shutrov** — Saratov Regional Children's Clinical Hospital, Traumatologist-orthopedist, **I. N. Shchanitsyn** — Scientific Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery of Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Department of Innovation Projects in Neurosurgery and Vertebrology, Junior Researcher, Candidate of Medical Science; **T. A. Andronova** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Associate Professor at the Department of Biology, Associate Professor, Candidate of Medical Science; **I. A. Norkin** — Scientific Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery of Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Director, Head of the Department of Traumatology and Orthopedics, Professor, Doctor of Medical Science.

Дата поступления — 30.06.2017 г.

Дата принятия в печать — 19.09.2017 г.

**Иванов А. Н., Коршунова Г. А., Матвеева О. В., Нинель В. Г., Шутров И. Е., Щаницын И. Н., Андропова Т. А., Норкин И. А.** Комплексная стимуляция регенерации периферического нерва после отсроченной нейрорафии. Саратовский научно-медицинский журнал 2017; 13 (3): 732–737.

**Цель:** изучение влияния комплексной стимуляции, включающей аутотрансплантацию кожного лоскута и электростимуляцию седалищного нерва, на микроциркуляторные, электрофизиологические и морфологические изменения после отсроченной нейрорафии у крыс. **Материал и методы.** Эксперимент выполнен на 50 белых крысах, разделенных на контрольную, сравнительную и опытную группы. В опытной группе на фоне отсроченной нейрорафии выполняли аутотрансплантацию кожного лоскута и электростимуляцию седалищного нерва. В группе сравнения проводили отсроченную нейрорафию. Контрольная группа состояла из интактных животных. Методы исследования: лазерная доплеровская флоуметрия, электронейромиография и морфологическое исследование оперированного нерва. **Результаты.** Комплексная стимуляция, включающая аутотрансплантацию кожного лоскута и прямое воздействие электрических импульсов на седалищный нерв после его отсроченной нейрорафии, вызывает нормализацию кровотока в оперированной конечности, способствует интенсификации восстановления нервных волокон. **Заключение.** Интенсификация регенерации седалищного нерва после отсроченной нейрорафии у крыс под влиянием комплексной стимуляции, включающей аутотрансплантацию кожного лоскута и прямое воздействие электрических импульсов, экспериментально обосновывает целесообразность клинической апробации данного способа для лечения пациентов с травмами периферических нервов.

**Ключевые слова:** регенерация, периферический нерв, микроциркуляция, аутотрансплантация, электростимуляция.

**Ivanov AN, Korshunova GA, Matveyeva OV, Ninel VG, Shutrov IE, Shchanitsyn IN, Andronova TA, Norkin IA.** Complex stimulation of peripheral nerve regeneration after deferred neurorrhaphy. Saratov Journal of Medical Scientific Research 2017; 13 (3): 732–737.

**The aim** is to study the complex stimulation effect including skin autotransplantation and electrical stimulation of the sciatic nerve on microcirculation, electrophysiological and morphological changes after deferred neurorrhaphy in rats. **Material and methods.** The experiment was performed in 50 albino rats divided into control, comparative and experimental groups. In the experimental group, on the background of deferred neurorrhaphy, skin autotransplantation and electrical stimulation of the sciatic nerve had been carried out. In the comparative group only deferred neurorrhaphy was performed. Research methods included laser doppler flowmetry, electroneuromyography and morphological analysis of the operated nerve. **Results.** Complex stimulation including skin autotransplantation and direct action of electrical pulses on the sciatic nerve after its deferred neurorrhaphy causes restoration of bloodstream in the operated limb, promotes intensification of restoration of nerve fibers. **Conclusion.** Intensification of sciatic nerve regeneration after deferred neurorrhaphy in rats under the influence of complex stimulation including full-thickness skin graft autotransplantation and direct action of electrical pulses substantiates experimentally appropriateness of clinical testing of the given method for treatment of patients with peripheral nerve injuries.

**Key words:** regeneration, peripheral nerve, microcirculation, autotransplantation, electrical stimulation.

**Введение.** Лечение и реабилитация пациентов с повреждениями периферических нервов является одной из наиболее актуальных проблем современной медицины в связи с высокой инвалидизацией данного контингента больных [1].

Хирургическое лечение травм периферических нервов представляет собой обязательный и неотъемлемый компонент структурно-функционального восстановления нервно-мышечного аппарата, критически важный для обеспечения направленной регенерации нервных волокон. Вместе с тем даже безупречно выполненная нейрорафия не всегда обеспечивает полное восстановление проводимости поврежденных нервных стволов. Среди факторов, препятствующих эффективной реиннервации, особо следует отметить медленное прорастание нервных волокон через зону шва из-за непродолжительного периода активного течения регенеративных процессов с формированием дистрофических изменений в денервированных мышечных волокнах [1]. Кроме того, травма периферического нерва обуславливает нарушение вегетативной иннервации и развитие денервационной гиперчувствительности, сопровождающиеся спазмом сосудов микроциркуляторного сосудистого русла [2, 3]. Система микроциркуляции находится в тесном физиологическом и патогенетическом сопряжении с параметрами тканевого гомеостаза как в условиях нормы, так и при различных пато- и саногенетических процессах [3, 4]. В связи с этим нарушение функции микроциркуляторного русла, обусловленное денервационной гиперчувствительностью, оказывает выраженное негативное влияние на протекание репаративных процессов [3, 4]. Следует также отметить, что выполнение нейрорафии не всегда возможно непосредственно после травмы, и в этих случаях производят отсроченное наложение швов на поврежденный периферический нерв, что необходимо учитывать при моделировании условий регенерации нервных волокон в эксперименте [1].

Для решения комплекса проблем, возникающих при регенерации периферических нервов, весьма перспективными представляются различные виды стимуляции. В частности, было показано положительное влияние электростимуляционного воздействия на регенерацию нервных волокон как в условиях эксперимента, так и в клинике [1]. В настоящее время активно ведется поиск различных биологических стимуляторов регенерации нервных волокон, факторов роста, стволовых клеток и др. [1]. Кроме того, источником веществ, стимулирующих регенерацию, могут выступать и собственные ткани организма. Так, кратковременная ишемия и реперфузия в тканях вызывает образование биологически активных веществ, которые при попадании в кровоток оказывают дистантное протекторное действие на удаленные органы и могут улучшать регенерацию [5]. Стимулирующее влияние на метаболические и репаративные процессы продемонстрировано при трансплантации аллотканей [6, 7]. Однако при использовании аллотканей возникает риск развития инфекционных и иммунных осложнений, что обуславливает преимущества использования для биостимуляции аутоканей [8, 9]. Следует отметить, что в доступной литературе крайне мало сведений о применении аутооттрансплан-

тации тканей для стимуляции регенерации нервов и возможностей сочетания подобных способов лечения с физиотерапией, в частности с воздействием электрических импульсов.

**Цель:** изучение влияния комплексной стимуляции, включающей аутооттрансплантацию полнослойного кожного лоскута и прямую электростимуляцию седалищного нерва, на микроциркуляторные, электрофизиологические и морфологические изменения после отсроченной нейрорафии у крыс.

**Материал и методы.** Исследования выполнены на 50 белых беспородных крысах-самцах массой 200–250 г, разделенных на три группы: 1) контрольная группа включала 15 интактных белых крыс; 2) группа сравнения содержала 20 крыс с полным поперечным пересечением седалищного нерва и его нейрорафией на 21 сутки после пересечения (отсроченная нейрорафия); 3) опытная группа состояла из 15 животных, которым одновременно с наложением отсроченного шва устанавливали электроды в зону нейрорафии для последующего проведения курса прямой электростимуляции (ПЭС) и выполняли аутооттрансплантацию полнослойного кожного лоскута (АТПКЛ) в межлопаточную область.

При проведении экспериментов соблюдали этические принципы в соответствии с Хельсинкской декларацией 1975 г. и ее пересмотром в 1983 г., при работе с экспериментальными животными руководствовались требованиями приказа Министерства здравоохранения РФ от 23 августа 2010 г. №708н «Об утверждении Правил лабораторной практики». Всех животных за 5 минут до проведения манипуляций наркотизировали введением внутримышечно комбинации зоветила (Virbac Sante Animale, Франция) в дозе 0,1 мл/кг и ксилазина (Interchemie, Нидерланды) в дозе 1 мг/кг.

Пересечение и нейрорафию седалищного нерва производили на уровне средней трети бедра. Электроды подводили к проксимальному и дистальному отделам сшитого нерва, так что расстояние между ними составляло 20 мм. Наложение эпинеуральных швов при нейрорафии и фиксации электродов к эпиневрью осуществляли с применением микрохирургической техники, атравматических игл и шовного материала 8/0 USP. Электростимуляцию проводили в период с 3-х по 21-е сутки после выполненной нейрорафии при помощи аппарата «Миоволна» (ООО «Трима», Россия) с амплитудой стимулирующего тока 0,5–2,0 мА, частотой 25–30 Гц, длительностью 0,1 мс биполярными электрическими импульсами прямоугольной формы в течение 20 минут 3 раза в день.

АТПКЛ выполняли в межлопаточной области на депилированном участке кожи в асептических условиях. Предварительно иссекали полнослойный кожный лоскут размером 0,1% от площади поверхности тела, затем лоскут помещали в сформированный в ране подкожный карман, для фиксации лоскута рану ушивали.

Микроциркуляцию в оперированной конечности исследовали методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) с помощью анализатора «ЛАКК-ОП» (производство НПП «Лазма», Россия) и программы LDF 3.0.2.395. Регистрацию ЛДФ-грамм выполняли у сравнительной и опытной групп на 21-е сутки после отсроченной нейрорафии, располагая световодный зонд на коже тыльной поверхности стопы. В качестве контроля использовали ЛДФ-граммы интактных животных. При исследовании микроциркуляции

Изменения микроциркуляции в тканях оперированной конечности под влиянием комплексной стимуляции после отсроченной нейрорафии седалищного нерва

Группа	М, перф. ед.	Нормированная амплитуда колебаний, отн. ед.		
		эндотелиальных	нейрогенных	миогенных
Контроль (n=15)	11,6 (10,1;13,3)	13,01 (10,33;17,93)	11,3 (10,52;12,62)	6,55 (5,00;7,88)
Отсроченная нейрорафия (n=10)	7,5 (6,4;8,3) $p_1=0,001175$	17,99 (11,08;21,58) $p_1=0,174143$	8,61 (6,33;9,39) $p_1=0,000646$	6,31 (4,41;7,30) $p_1=0,304800$
Отсроченная нейрорафия и комплексная стимуляция (n=10)	11,7 (8,8;15,2) $p_1=0,864395$ ; $p_2=0,004578$	17,41 (16,09;20,46) $p_1=0,006767$ ; $p_2=0,817483$	12,74 (9,96;15,08) $p_1=0,317167$ ; $p_2=0,001099$	5,23 (3,69;6,52) $p_1=0,112777$ ; $p_2=0,575157$

Примечание: в каждом случае приведены медиана, верхний и нижний квартили;  $p_1$ ,  $p_2$  — по сравнению с контролем и группой животных, которым не выполнялась стимуляция после отсроченной нейрорафии.

определяли показатель перфузии в перфузионных единицах и с помощью вейвлет-анализа рассчитывали нормированные амплитуды эндотелиальных, нейрогенных и миогенных колебаний, позволяющих оценить состояние соответствующих активных механизмов модуляции микрокровотока.

Для оценки динамики проводимости нервных волокон через зону нейрорафии седалищного нерва, а также активности процессов реиннервации в мышцах оперированной конечности на 21-е сутки эксперимента проводили электронейромиографию (ЭНМГ) с помощью электромиографа Keypoint (Alrain Biomed ApS, Дания) с набором стандартных стимулирующих и регистрирующих электродов. Для выделения у животных вызванных потенциалов нерва (ВП) регистрирующий электрод располагали на седалищном нерве выше и ниже места повреждения. Для регистрации вызванного мышечного ответа (М-ответа) игольчатый электрод располагали в икроножной мышце. Нерв раздражали прямоугольными импульсами длительностью 0,1 мс и частотой 1 Гц. При ЭНМГ регистрировали латентный период (ЛП) и амплитуду ВП.

Выведение животных из эксперимента осуществляли путем передозировки препаратов для наркоза. Для определения степени тяжести и течения регенеративно-дегенеративных процессов в оперированном нерве готовили гистологические препараты. Участок нерва длиной от 15 до 20 мм, включавший зону нейрорафии с маркировкой проксимального и дистального отрезков, фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина (ООО «Биовитрум», Россия), обезвоживали в спиртах восходящей плотности, заливали в парафин. Срезы проксимальных (выше шва) и дистальных (ниже шва) отделов толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином Майера и эозином (ООО «Биовитрум», Россия). Для покрытия срезов применяли монтирующую среду Bio-Mount (BioOptica, Италия).

Препараты исследовали при помощи микроскопа Axiolmager Z2 (Carl Zeiss, Германия). На серии окрашенных поперечных срезов проксимального и дистального участков шитого седалищного нерва животных определяли среднее число неизмененных, регенерирующих и дистрофически измененных нервных волокон в поле зрения при увеличении объектива 100х и окуляра 10х (Ув. х 100).

Статистическую обработку полученных данных осуществляли при помощи пакета программ Statistica 10.0. Проверяли гипотезы о виде распределений вариационных рядов (критерий Шапиро — Уилкса). Большинство наших данных не соответствовали закону нормального распределения, поэтому для

сравнения значений использовался U-критерий Манна — Уитни, на основании которого рассчитывали Z-критерий и показатель достоверности различия  $p$ . Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

#### Результаты.

**1. Изменения микроциркуляции в оперированной конечности под влиянием комплексной стимуляции после отсроченной нейрорафии седалищного нерва у крыс.** В результате проведенных исследований установлено, что на 21-е сутки после отсроченной нейрорафии (42-е сутки после перерезки седалищного нерва) снижение перфузионного показателя кожи тыльной поверхности стопы у животных достигало в среднем 35% (табл. 1). Снижение перфузионного показателя сопровождалось повышением нейрогенного тонуса микрососудов, что проявлялось уменьшением нормированной амплитуды нейрогенных колебаний. Величины нормированных амплитуд эндотелиальных и миогенных колебаний на 21-е сутки после отсроченной нейрорафии не имели статистически значимых отличий от уровня контроля, однако отмечалась тенденция к увеличению среднего значения нормированных амплитуд эндотелиальных колебаний (см. табл. 1).

У животных, подвергавшихся комплексной стимуляции, включающей АТПКЛ и ПЭС, на 21-е сутки после отсроченной нейрорафии перфузионный показатель находился на уровне контрольных значений (табл. 1). При этом перфузионный показатель был статистически значимо выше, чем у животных группы сравнения. У животных при выполнении им комплексной стимуляции происходила выраженная перестройка активной модуляции микрокровотока в конечности. На 21-е сутки после отсроченной нейрорафии амплитуды эндотелиальных колебаний статистически значимо превышали контрольный уровень, однако вариабельность эндотелиальных колебаний перекрывала квартиль-диапазон соответствующего показателя группы сравнения. Нормированные амплитуды нейрогенных колебаний кровотока у животных опытной группы были статистически значимо выше, чем у крыс группы сравнения, и находились в пределах вариабельности значений контроля (см. табл. 1). Нормированная амплитуда миогенных колебаний при этом не имела статистически значимых отличий как от контрольного уровня, так и от группы сравнения.

Таким образом, комплексная стимуляция, включающая АТПКЛ и ПЭС, оказывает выраженное нормализующее влияние на микроциркуляцию в тканях оперированной конечности после отсроченной нейрорафии седалищного нерва у крыс. Восстановле-

ние адекватного уровня перфузии оперированной конечности при комплексной стимуляции сопровождается резкой интенсификацией активной модуляции кровотока прежде всего за счет нейрогенных и эндотелиальных механизмов, что свидетельствует об эффективной редукции явлений денервационной гиперчувствительности сосудов микроциркуляторного русла.

**2. Изменения электрофизиологических параметров под влиянием комплексной стимуляции после отсроченной нейрорафии седалищного нерва у крыс.** С помощью ЭНМГ установлено, что на 21-е сутки после отсроченной нейрорафии у животных группы сравнения регистрируется низкоамплитудный ВП нерва ниже зоны наложения швов, что свидетельствует о частичном восстановлении проводимости через область нейрорафии. В то же время амплитуда вызванного потенциала нерва у крыс группы сравнения составляет только 3% от его величины у интактных животных, а латентный период превышает таковой в контрольной группе в 8 раз (табл. 2), отражая низкую скорость проведения возбуждения по поврежденному нерву. На 21-е сутки после отсроченной нейрорафии получить М-ответ икроножной мышцы у животных группы сравнения не удалось (см. табл. 2), что свидетельствовало об отсутствии процессов реиннервации мышечных волокон.

При ЭНМГ-тестировании седалищного нерва на 21-е сутки после отсроченной нейрорафии у животных, подвергнутых комплексной стимуляции, также регистрировали низкоамплитудные невральные потенциалы ниже зоны наложения швов. При этом амплитуда ВП нерва опытной группы значительно превышала аналогичный показатель группы сравнения, достигая в среднем 13% величины контрольных значений (см. табл. 2). У животных опытной группы также отмечали сокращение ЛП ВП седалищного нерва в среднем в 2 раза относительно группы сравнения, что свидетельствует о выраженном увеличении проводимости через зону нейрорафии под влиянием комплексной стимуляции, включающей АТПКЛ и ПЭС.

Важным отличием опытной группы от группы сравнения являлось наличие низкоамплитудного мышечного ответа, регистрируемого с икроножной мышцы при стимуляции нерва выше места пересечения (см. табл. 2). Появление М-ответа отражает начало процесса реиннервации мышечных волокон у животных опытной группы и переход процесса регенерации в импульсную стадию, чего не отмечалось у животных группы сравнения.

Таким образом, электрофизиологические показатели животных, которым выполняли АТПКЛ в сочетании с ПЭС после отсроченной нейрорафии, свидетельствуют о выраженном положительном влиянии комплексной стимуляции на функциональное состояние оперированного нерва. Увеличение скорости проведения возбуждения и появление признаков реиннервации мышц у животных опытной группы отражают стимулирующее действие комплекса АТПКЛ и ПЭС на регенерацию нервных волокон после отсроченной нейрорафии седалищного нерва у крыс.

**3. Морфологические изменения оперированного нерва под влиянием комплексной стимуляции после отсроченной нейрорафии седалищного нерва у крыс.** Для верификации нарушений, обнаруженных в ходе функциональных исследований, проведен анализ морфологических изменений в проксимальном и дистальном отделах оперированного нерва на 21-е сутки после отсроченной нейрорафии. В проксимальном отделе оперированного нерва у животных группы сравнения обнаруживали в среднем 38 (30; 45) нервных волокон в поле зрения при увеличении 1000, из которых более половины имели дистрофические изменения. В среднем только 16% нервных волокон в проксимальном отделе имели нормальную гистологическую структуру (табл. 3).

В дистальном отделе оперированного седалищного нерва среднее количество нервных волокон статистически значимо снижалось и составило 29 (23; 33) в поле зрения при увеличении 1000 (см. табл. 3). Так же как и в проксимальном сегменте, преобладали дистрофически измененные волокна, но в отличие от проксимального отдела полностью отсутствовали неизмененные нервные волокна (см. табл. 3). Наличие регенерирующих нервных волокон в дистальном сегменте подтверждает результаты функционального исследования седалищного нерва. Характер морфологических изменений свидетельствует о выраженных дегенеративных процессах, развивающихся в оперированном нерве как в проксимальном, так и в дистальном его отделах. При этом более интенсивно данные процессы протекают в дистальном отделе.

При исследовании гистологических препаратов опытной группы установлено, что в проксимальном отделе седалищного нерва животных, подвергнутых комплексной стимуляции, на 21-е сутки после отсроченной нейрорафии среднее количество нервных волокон в 2 раза превысило аналогичный показатель в группе сравнения и составило 78 (74; 92) в поле зрения (см. табл. 3). При этом количество регенерирующих нервных волокон также было вдвое больше, чем в группе сравнения. Кроме того, значительно возрас-

Таблица 2

**Изменения электрофизиологических параметров под влиянием комплексной стимуляции после отсроченной нейрорафии седалищного нерва**

Группа	ЛП нерва (мс)	Амплитуда ВП нерва (мкВ)	ЛП М-ответа (мс)	Амплитуда М-ответа (мкВ)
Контроль (n=12)	1,8 (1,45; 2,7)	222,5 (199; 297)	3,5 (3,2; 4,85)	19608 (14163; 21372)
Отсроченная нейрорафия (n=20)	14,8 (12,8; 16,2) $p_1=0,000003$ $p_2=0,000833$	7,6 (4; 14) $p_1=0,000003$ $p_2=0,006665$	—	—
Отсроченная нейрорафия и комплексная стимуляция (n=10)	7 (6; 10) $p_1=0,000453$ $p_2=0,000107$	29 (19,3; 43,4) $p_1=0,000453$ $p_2=0,000462$	14,1 (13; 14,8) $p_1=0,001874$	94,4 (76; 102) $p_1=0,000453$

Примечание: в каждом случае приведены медиана, верхний и нижний квартили;  $p_1$ ,  $p_2$  — по сравнению с контролем и группой животных, которым не выполнялась стимуляция после отсроченной нейрорафии.

Изменения морфологических параметров под влиянием комплексной стимуляции после отсроченной нейрорафии седалищного нерва

Группа	Сегмент нерва	Количество нервных волокон в поле зрения (Ув. 1000)			
		неизмененных	дистрофически измененных	регенерирующих	Всего
Отсроченная нейрорафия (n=15)	Проксимальный	6 (3; 19)	18 (13; 24)	7 (3; 11)	38 (30; 45)
	Дистальный	0 (0; 0) $p_1=0,000001$	15 (8; 21) $p_1=0,433082$	10 (5; 15) $p_1=0,427208$	29 (23; 33) $p_1=0,001346$
Отсроченная нейрорафия и комплексная стимуляция (n=15)	Проксимальный	62 (52; 69) $p_2=0,000001$	5 (4; 8) $p_2=0,0000011$	13 (8; 18) $p_2=0,014130$	78 (74; 92) $p_2=0,000001$
	Дистальный	0 (0; 0) $p_1=0,000001$ ; $p_2=0,587594$	4 (2; 10) $p_1=0,394560$ ; $p_2=0,000677$	27 (18; 40) $p_1=0,000162$ ; $p_2=0,000002$	35 (33; 50) $p_1=0,000004$ ; $p_2=0,001800$

Примечание: в каждом случае приведены медиана, верхний и нижний квартили;  $p_1$  — по сравнению с проксимальным отделом нерва,  $p_2$  — по сравнению с аналогичным сегментом нерва группы животных, которым не выполнялась стимуляция после отсроченной нейрорафии.

тала доля неизмененных нервных волокон, достигая 79% (табл. 3).

В дистальном отделе оперированного нерва животных опытной группы среднее количество нервных волокон относительно проксимального отдела значимо снижалось и составило 35 (33; 50) в поле зрения. При этом общее количество нервных волокон в дистальном сегменте оперированного нерва статистически значимо превышало значения группы сравнения (см. табл. 3). Число дистрофически измененных нервных волокон в проксимальном сегменте оперированного нерва у животных опытной группы было статистически значимо ниже, чем у крыс группы сравнения. Регенерирующие нервные волокна составили 77% от общего количества нервных волокон в дистальном сегменте оперированного нерва у животных, подвергнутых комплексной стимуляции после отсроченной нейрорафии.

Таким образом, комплексная стимуляция, включающая АТПКЛ и ПЭС, снижает выраженность дегенеративных изменений в седалищном нерве после отсроченной нейрорафии, а также стимулирует прорастание нервных волокон в дистальный сегмент оперированного нервного ствола, что согласуется с результатами электронейромиографии, свидетельствующими об ускорении репаративных процессов у животных опытной группы.

**Обсуждение.** Интенсификация прорастания нервных волокон в дистальный сегмент оперированного нервного ствола, увеличение скорости проведения возбуждения через зону наложения шва и ускорение реиннервации, обнаруженные у животных опытной группы, свидетельствуют о регенеративном эффекте комплексной стимуляции, включающей АТПКЛ и ПЭС, после отсроченной нейрорафии седалищного нерва у крыс. Восстановление адекватного уровня перфузии тканей оперированной конечности у животных опытной группы, в отличие от группы сравнения, позволяют выделить стимулирующее действие комплекса АТПКЛ и ПЭС на микроциркуляцию после отсроченной нейрорафии. Нормализующее влияние комплексной стимуляции на микроциркуляцию в оперированной конечности после отсроченной нейрорафии может являться одним из ключевых механизмов, обеспечивающих восстановление структуры и функции нервных волокон, так как уменьшение выраженности денервационной гиперчувствительности сосудов обеспечивает оптимальную трофику при репаративных процессах [4]. Восстановление адекватной перфузии конечности после

отсроченной нейрорафии седалищного нерва может быть реализовано за счет дистантного стимулирующего действия АТПКЛ на микроциркуляцию, которое выявлено в условиях сохраненной и нарушенной иннервации и описано в предшествующих работах [8, 9]. Вместе с тем данные литературы свидетельствуют о стимулирующем влиянии воздействия электрических импульсов на микрокровоток [1, 10]. В связи с этим, вероятно, взаимопотенцирование активирующего действия АТПКЛ и ПЭС на микроциркуляторное русло объясняет обнаруженное в данной работе эффективное восстановление перфузии тканей оперированной конечности под влиянием комплексной стимуляции после отсроченной нейрорафии седалищного нерва.

Увеличение темпов регенерации нервных волокон у животных опытной группы может быть объяснено не только восстановлением трофики, но и прямым влиянием электрической стимуляции на нервную ткань. Согласно данным литературы, электростимуляция приводит к увеличению внутриклеточного уровня цАМФ, повышению экспрессии нейротрофических факторов и экспрессии генов, регулирующих регенерацию, что способствует усилению аксонального транспорта тубулина, актина и белка GAP-43 [1]. Кроме того, недавно проведенные исследования свидетельствуют о стимуляции и пролонгации продукции нейротрофина-3 при АТПКЛ на фоне нейрорафии седалищного нерва у крыс, выполненной непосредственно после его перерезки [10], что, вероятно, также вносит вклад в ускорение темпов регенерации у животных опытной группы. Вместе с тем следует отметить, что реиннервация сосудов, в свою очередь, обеспечивает поддержание адекватной перфузии тканей конечности, и обнаруженное увеличение амплитуды нейрогенных колебаний может отражать восстановление функции вегетативных волокон, обеспечивающих реализацию данного механизма.

Таким образом, совокупность собственных исследований и данных литературы свидетельствуют, что комплекс АТПКЛ и ПЭС, синергично действуя на взаимосвязанные саногенетические процессы восстановления кровотока и прорастания аксонов нейронов с реиннервацией органов-мишеней (скелетных мышц и гладких мышц сосудов), обеспечивают выраженный регенеративный эффект после отсроченной нейрорафии седалищного нерва.

**Заключение.** Представленные результаты проведенных экспериментов позволяют заключить,

что комплексное воздействие, включающее АТПКЛ и ПЭС, обеспечивает стимулирующее действие на механизмы модуляции микрокровотока и восстановление адекватного уровня перфузии тканей оперированной конечности, интенсификацию прорастания нервных волокон в дистальный сегмент поврежденного нервного ствола, облегчая проведение возбуждения через зону наложения шва и ускоряя реиннервацию при отсроченной нейрорафии седалищного нерва у белых крыс. Полученные данные экспериментально обосновывают целесообразность клинической апробации комплексной стимуляции, включающей АТПКЛ и ПЭС у пациентов с травмами периферических нервов.

**Конфликт интересов.** Работа выполнена в рамках государственного задания НИИТОН ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России «Комплексная стимуляция регенеративных процессов при повреждении седалищного нерва». Регистрационный номер 115032440029.

**Авторский вклад:** концепция и дизайн исследования — А.Н. Иванов, В.Г. Нинель; получение данных — А.Н. Иванов, Г.А. Коршунова, О.В. Матвеева, И.Е. Шутров, И.Н. Щаницын; анализ данных — А.Н. Иванов, Г.А. Коршунова, О.В. Матвеева, И.Е. Шутров; интерпретация результатов — А.Н. Иванов, Г.А. Коршунова, О.В. Матвеева; написание статьи — А.Н. Иванов, Т.А. Андропова, И.А. Норкин.

#### References (Литература)

- Shchanitsyn IN, Ivanov AN, Bazhanov SP, et al. Stimulation of peripheral nerve regeneration: current status, problems and perspectives. *Uspehi fiziologicheskikh nauk* 2017; 48 (3): 92–111. Russian (Щаницын И.Н., Иванов А.Н., Бажанов С.П. и др. Стимуляция регенерации периферического нерва: современное состояние, проблемы и перспективы Успехи физиологических наук 2017; 48 (3): 92–111).
- Ivanov AN, Norkin IA, Ninel VG, et al. Peculiarities microcirculatory changes in regeneration of the sciatic nerve under the experimental conditions. *Fundamental research* 2014; 4 (2): 281–285. Russian (Иванов А.Н., Норкин И.А., Нинель В.Г. и др. Особенности изменений микроциркуляции при регенерации седалищного нерва в условиях эксперимента. *Фундаментальные исследования* 2014; 4 (2): 281–285).
- Shchanitsyn IN, Ivanov AN, Bajanov SP, et al. Methods for studying changes in the spinal cord after traumatic injuries of peripheral nerves. *Regional Haemodynamics and Microcirculation* 2015; 1 (49): 13–22. Russian (Щаницын И.Н., Иванов А.Н., Бажанов С.П. и др. Методы изучения изменений в спинном мозге при травматических повреждениях периферического
- нерва. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция* 2014; 1 (49): 13–22).
- Krupatkin AI. Information aspects of microcirculation after surgical sympathectomy in posttraumatic complex regional pain syndrome. *Neuroscience and Behavioral Physiology* 2013; 113 (6-1): 17–21. Russian (Крупаткин А.И. Информационные аспекты состояния микроциркуляции после десимпатизирующих операций при посттравматическом комплексном регионарном болевом синдроме. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова* 2013; 113 (6-1): 17–21).
- Lyamina NP, Karpova ES, Kotel'nikova EV, et al. Preconditioning at the stages of invasive and rehabilitative treatment of patients with coronary heart disease. *Klin med* 2015; 93 (3): 14–20. Russian (Лямина Н.П., Карпова Э.С., Котельникова Е.В. и др. Прекодиционирование на этапах инвазивного и восстановительного лечения больных ишемической болезнью сердца. *Клиническая медицина* 2015; 93 (3): 14–20).
- Muldashev ER, Nigmatullin RT, Galimova VU. The concept of regenerative medicine "Alloplant". In: *The newest methods of cellular technologies in medicine*. Novosibirsk, 2014; p. 10. Russian (Мулдашев Э.Р., Нигматуллин Р.Т., Галимова В.У. Концепция регенеративной медицины «Аллоплант». В сб.: *Новейшие методы клеточных технологий в медицине*. Новосибирск, 2014; с. 10).
- Pasechnikova EV, Maltsev EV, Sotnikova EP, et al. Preparations of tissue therapy. Part 1. *Ophthalmological journal* 2011; 3: 79–88. Russian (Пасечникова Е.В., Мальцев Э.В., Сотникова Е.П. и др. Препараты тканевой терапии. Ч. 1. *Офтальмологический журнал* 2011; 3: 79–88).
- Ivanov AN, Matveeva OV, Shutrov IE, et al. Cellular mechanisms of skin autograft distant stimulating effect on microcirculation. *Journal of New Medical Technologies* 2016; 23 (2): 72–78. Russian (Иванов А.Н., Матвеева О.В., Шутров И.Е. и др. Клеточные механизмы дистантного стимулирующего влияния аутографтированного кожного лоскута на микроциркуляцию. *Вестник новых медицинских технологий* 2016; 23 (2): 72–78).
- Ivanov AN, Shutrov IE, Norkin IA. Skin flap autografting as a method of microcirculation biostimulation in the conditions of normal and impaired innervation. *Regional Haemodynamics and Microcirculation* 2015; 14 (3): 59–65. Russian (Иванов А.Н., Шутров И.Е., Норкин И.А. Аутографтирование полнослойного кожного лоскута как способ биостимуляции микроциркуляции в условиях нормальной и нарушенной иннервации. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция* 2015; 14 (3): 59–65).
- Ivanov AN, Shutrov IE, Ninel', et al. The influence of skin flap autotransplantation and direct electrostimulation of sciatic nerve on nervous fiber regeneration. *Cell and Tissue Biology* 2017; 59 (7): 489–497. Russian (Иванов А.Н., Шутров И.Е., Нинель В.Г. и др. Влияние аутографтирования кожного лоскута и прямой электростимуляции седалищного нерва на регенерацию нервных волокон. *Цитология* 2017; 59 (7): 489–497).