

© Группа авторов, 2004

## **Способ экспресс-визуализации аксонов для интраоперационной оценки невротизации тканей**

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

### ***A technique of axon express-visualization for intraoperative assessment of tissue neurotization***

**N.A. Chtchoudlo, M.M. Chtchoudlo, I.V. Borisova, T.N. Varsegova, T.A. Stoupina**

Государственное учреждение

Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" им. академика Г. А. Илизарова, г. Курган  
(генеральный директор — заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАМН, д.м.н., профессор В.И. Шевцов)

---

Разработан способ экспресс-визуализации аксонов для интраоперационной оценки невротизации тканей, позволяющий хирургу в ходе операции принимать тактические решения. Вся процедура от момента взятия материала до предоставления результатов занимает 25–30 минут.

Ключевые слова: экспресс-диагностика, суправитальная окраска, невротизация.

A technique of axon express-visualization for intraoperative assessment of tissue neurotization, which allows surgeon to come to a tactical decision in the process of surgery, has been developed. It takes 25-30 minutes for the whole of procedure beginning from material taking up to result presentation.

Keywords: express-diagnosis, supravital stain, neurotization.

---

В результате значительного улучшения технологии гистологических исследований намного сократилось время между взятием гистологического материала и патологоанатомическим ответом, что определило возможность установления точного гистологического диагноза во время операции [3].

В клинической и экспериментальной хирургии иногда возникает необходимость уточнить в ходе операции уровень резекции патологически изменённых участков повреждённого нервного ствола (известно, что недостаточное "освежение" его концов является одной из причин неудачных восстановительных операций, а слишком радикальное иссечение увеличивает дефект и снижает шансы точного сопоставления пучков нервных волокон).

Традиционные интраоперационные методы исследования нервов, используемые за рубежом [4] (реакции на ацетилхолинэстеразу и карбоангидразу), включают применение дорогостоящих гистохимических реактивов, что ограничивает их использование в практическом здравоохранении. Кроме того, недостатком данных методик является значительный временной промежуток между взятием материала и возможностью его анализа, причем проанализировать состояние дистального участка поврежденного нерва можно лишь в течение первых 10 суток после травмы.

Описанный в литературе метод Догеля (суправитальное окрашивание метиленовой синькой нервных волокон в тканях), используемый для выявления общей архитектоники нервной системы [2], имеет ряд недостатков: окрашивать можно только свежееиссеченные из живого организма кусочки ткани, окраска быстро исчезает, глубоко лежащие нервные элементы не прокрашиваются, что не обеспечивает возможности оценки их жизнеспособности. Достоинство данного метода – быстрота выявления структур (исключается этап фиксации и проводки).

Известен способ гистологической экспресс-диагностики по криостатным срезам [1], предусматривающий забор исследуемого материала, его криогенную обработку, изготовление серийных срезов необходимой толщины, их окраску толуидиновым синим, проведение экспресс-анализа и последующее изготовление постоянных препаратов путем их фиксации по стандартным методикам. Этот способ применяется для выявления участков патогенной ткани при определении границ злокачественных образований. При этом изготовленные гистологические препараты имеют ограниченный срок хранения из-за выцветания красителя и кристаллизации канадского бальзама (или его заменителя).

**Целью** работы явилась разработка способа экспресс-визуализации аксонов для интраоперационной оценки невротизации тканей, обеспе-

чивающего ускорение диагностики жизнеспособности нервных тканей и длительного хранения анализируемого материала.

**Задачи:** предотвратить биохимическую смерть ткани во время транспортировки материала из операционной в лабораторию и выяснить, возможна ли после этого окраска по Догелю

лю криостатных срезов и если возможна, то в каком временном интервале.

**Материал:** биопсийный материал периферических нервов от трех экспериментальных животных (№№ 2419, 2422, 2497) и одного клинического случая (больной С., 37 лет, история болезни № 2240 от 19.07.02).

#### МЕТОДИКА

Иссеченный в ходе операции биоптат (кусочек ткани) монтируют на плотной бумаге, подвергают быстрому глубокому замораживанию в жидком азоте (-196 °С). Материал транспортируют в лабораторию, криотомируют на срезы толщиной 8 мкм, монтируют на предметные стекла, наносят теплый (37 °С) 1 % раствор ме-

тиленовой синьки в физиологическом растворе (по А.С. Догелю), сразу смывают дистиллированной водой и микроскопируют, используя водную иммерсию. С интервалом 5 секунд изображения одного поля зрения оцифровывают на аппаратно-программном комплексе «Диа-Морф».

#### РЕЗУЛЬТАТЫ

В течение первых 5-10 секунд в срезах отчетливо выявляются осевые цилиндры мякотных нервных волокон (рис. 1, А), но уже через

30 секунд аксоны практически не видны, но визуализируются ядра нейролеммоцитов (рис. 1, Б).

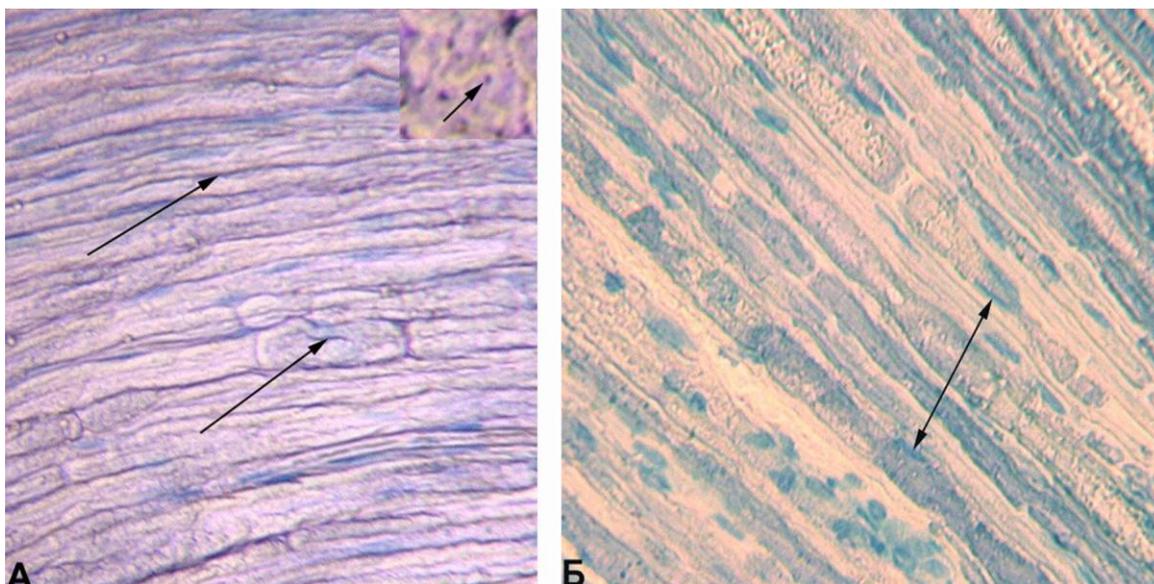


Рис. 1. Патогистологический препарат седалищного нерва собаки (жидкий азот 10 минут, криостатный срез), в котором предлагаемым методом визуализированы: А - аксоны нервных волокон, Б - ядра нейролеммоцитов. Эксперимент № 2422. Об. 16, ок. 12,5×

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложенный способ позволяет предотвратить биохимическую смерть ткани во время транспортировки материала из операционной в лабораторию.

Оцифровка изображений дает возможность последовательно задокументировать окрашивание осевых цилиндров, а затем ядер шванновских клеток, предотвратив недостаток прототипа – утрату информации в результате исчезновения окраски.

Возможна количественная оценка сохранённых изображений. Например, численная плот-

ность нейролеммоцитов в дистальном отрезке нерва для пациента, оперированного в сроки более 3 месяцев после травмы, является прогностически значимым параметром.

Оцифрованные изображения передаются по внутриучрежденческим телекоммуникационным сетям, при этом взаимоотношения между патогистологами и клиницистами носят консультативный характер. Вся процедура с момента взятия материала до предоставления результатов занимает 25-30 минут, что позволяет хирургу в ходе операции принимать тактические

решения. Данный способ имеет высокую точность, что очень важно для диагностического процесса.

Разработанный нами способ апробирован на

экспериментальном и клиническом материале и может успешно применяться для интраоперационной оценки невротизации тканей в клинической практике.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Клечиков, В.З. Использование криостатных срезов для гистологической экспресс-диагностики / В.З. Клечиков, Л.И. Плинер, В.А. Прянишников // Арх. патологии. - 1974. - № 2. - С. 73-76.
2. Роскин, Г.И. Микроскопическая техника / Г.И. Роскин . – М.: Советская наука, 1951. – 446с.
3. <http://pathology.medic.donetsk.ua/Lectures/Intro.Shtml>
4. Payne, S.H. Nerve repair and grafting in the upper extremity / S.H. Payne // J. South. Orthop. Ass. – 2001. – Vol. 10, N 3. – P. 173-189.

Рукопись поступила 29.07.03.