

Гений ортопедии. 2022. Т. 28, № 6. С. 823-829.
Genij Ortopedii. 2022. Vol. 28, no. 6. P. 823-829.

Научная статья

УДК [617.586:616.833-089.853+616.833-089.844]-092.9

<https://doi.org/10.18019/1028-4427-2022-28-6-823-829>



Гистоморфометрическая оценка большеберцового нерва и мелких мышц стопы после внутреннего неврוליза и аутогенной пластики большеберцовой порции седалищного нерва крыс

Н.А. Щудло¹, А.Е. Кобызов², Т.Н. Варсегова¹, Т.А. Ступина^{1✉}

¹ Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г.А. Илизарова, Курган, Россия

² Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, Москва, Россия

Автор, ответственный за переписку: Татьяна Анатольевна Ступина, stupinaSTA@mail.ru

Аннотация

Введение. Преобразования нервов и мышц дистальных отделов конечностей при повреждениях нервов на уровне проксимальных сегментов критичны для восстановления функций, но недостаточно изучены на экспериментальных биологических моделях. **Цель.** Гистоморфометрическая оценка большеберцовых нервов и подошвенных межкостных мышц после внутреннего неврוליза и аутогенной пластики большеберцовой порции седалищного нерва (СН) крыс. **Материалы и методы.** Исследование выполнено на 21 крысе Wistar мужского пола, возраст 8–10 месяцев. Серия 1 (внутренний неврוליз СН) – n = 6. Серия 2 (аутогенная нейропластика СН) – n = 8. Контроль – 7 интактных крыс. Крысы эвтаназированы через 6 месяцев после операции, проведена световая микроскопия и гистоморфометрия поперечных полутонких срезов большеберцового нерва на уровне средней трети голени и парафиновых срезов подошвенных межкостных мышц стопы. **Результаты.** В серии 1 в большеберцовом нерве эндоневральные сосуды имели увеличенные диаметры и толщину стенки, но меньший просвет в сравнении с нормой, размерные характеристики популяции миелинизированных волокон увеличены за счёт декомпактизации миелина и отёка аксонов, около 10 % миелинизированных волокон деструктивно изменены. В серии 2 вдвое увеличена численная плотность эндоневральных сосудов большеберцового нерва в сравнении с интактным, численно-размерный состав регенерировавших миелинизированных волокон свидетельствовал об активной, но незавершённой регенерации. Индекс васкуляризации подошвенных межкостных мышц в серии 1 приближен к норме, в серии 2 уменьшен вдвое, медиана диаметров мышечных волокон уменьшена на 12,41 % (p = 0,000) и 20,96 % (p = 0,000) соответственно. Представительство мышечных волокон диаметром более 30 мкм в серии 2 по сравнению с серией 1 увеличено. **Заключение.** Внутренний неврוליиз и интерфасцикулярная аутопластика седалищного нерва вызывают разнонаправленные изменения эндоневральных сосудов большеберцового нерва, которые предопределяют разнонаправленный характер и выраженность денервационно-реиннервационных изменений нервов голени и мелких мышц стопы. **Ключевые слова:** седалищный нерв, внутренний неврוליиз, аутогенная пластика, большеберцовый нерв, межкостные мышцы стопы, гистоморфометрия

Для цитирования: Гистоморфометрическая оценка большеберцового нерва и мелких мышц стопы после внутреннего неврוליза и аутогенной пластики большеберцовой порции седалищного нерва крыс / Н.А. Щудло, А.Е. Кобызов, Т.Н. Варсегова, Т.А. Ступина // Гений ортопедии. 2022. Т. 28, № 6. С. 823-829. DOI: 10.18019/1028-4427-2022-28-6-823-829. EDN THOJMU.

Original article

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

N.A. Shchudlo¹, A.E. Kobyzov², T.N. Varsegova¹, T.A. Stupina^{1✉}

¹ Ilizarov National Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russian Federation

² All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russian Federation

Corresponding author: Tatyana A. Stupina, stupinaSTA@mail.ru

Abstract

Introduction Transformations of the nerves and muscles of the distal extremities after nerve injuries at the level of the proximal segments are critical for the restoration of functions, but have not been sufficiently studied in experimental biological models. **Purpose** Histomorphometric evaluation of the tibial nerves and plantar interosseous muscles after internal neurolysis and autogenous plasty of the tibial portion of the sciatic nerve (SN) in rats. **Materials and methods** The study was performed on 21 male Wistar rats, aged 8–10 months. Series 1 (internal SN neurolysis) – n = 6. Series 2 (autogenous SN neuroplasty) – n = 8. Control – 7 intact rats. The rats were euthanized 6 months after the operation. Light microscopy and histomorphometry of transverse semithin sections of the tibial nerve at the level of the middle third of the lower leg and paraffin sections of the plantar interosseous muscles of the foot were performed. **Results** In series 1, endoneurial vessels had increased diameters and wall thickness in the tibial nerve, but a smaller lumen compared to the norm; the dimensional characteristics of the myelinated fiber population were increased due to myelin decompaction and axonal edema; about 10 % of myelinated fibers were destructively changed. In series 2, the numerical density of the endoneurial vessels of the tibial nerve was doubled in comparison with the intact one; the numerical and dimensional composition of the regenerated myelinated fibers indicated active but incomplete regeneration. The vascularization index of the plantar interosseous muscles in series 1 was close to normal, in series 2 it decreased twice, the median of muscle fiber diameters was reduced by 12.41 % (p = 0.000) and 20.96 % (p = 0.000), respectively. Muscle fibers with a diameter of more than 30 µm increased in series 2 compared to series 1. **Conclusion** Internal neurolysis and interfascicular autoplasty of the sciatic nerve cause multidirectional changes in the endoneurial vessels of the tibial nerve, which predetermine the multidirectional nature and severity of denervation and reinnervation changes in the nerves of the lower leg and small muscles of the foot.

Keywords: sciatic nerve, internal neurolysis, autogenous plasty, tibial nerve, interosseous muscles of the foot, histomorphometry

For citation: Shchudlo N.A., Kobyzov 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. *Genij Ortopedii*, 2022, vol. 28, no 6, pp. 823-829. DOI: 10.18019/1028-4427-2022-28-6-823-829.

ВВЕДЕНИЕ

Повреждения нервов конечностей встречаются у 2,8–10 % [1, 2] травматологических больных. Такие пациенты требуют более длительной госпитализации

и реабилитации, чем при травмах без повреждений нервов [3], так как денервация мышц и покровных тканей вызывает потерю движений и расстройства чув-

ствительности [4], что значительно снижает качество жизни пациентов.

Степень повреждений нервов варьирует от незначительного сдавления до полного перерыва всех его структур [5], что определяет исходы и тактику лечения. Даже при полных анатомических перерывах периферических нервов нервные волокна могут спонтанно регенерировать через небольшой дефект или рубец [6], однако в большинстве случаев это не приводит к восстановлению функций. Поэтому при отсутствии признаков восстановления частично повреждённого нерва и при полных анатомических перерывах нервов показана хирургическая ревизия и реконструкция пучков нервных волокон с применением внутреннего невролиза и интерфасцикулярной аутопластики [7].

Внутренний невролиз применяется как подготовительный этап интерфасцикулярной аутопластики, а при сохранении непрерывности пучков нервных волокон выступает как самостоятельная операция [8, 9, 10]. Однако данные о влиянии внутреннего невролиза при компрессионной нейропатии на реиннервацию в эксперименте и клинике противоречивы [11-14], что актуализирует прицельное экспериментальное изучение

влияния распушечивания интактного нерва на состояние его дистальных ветвей и иннервируемых мышц.

Большинство экспериментальных исследований нейрорегенерации выполнено на седалищном нерве крыс [15]. Их актуальность и клиническая релевантность определяется высокой частотой повреждений седалищного нерва при боевой травме [16], а также при ятрогенных повреждениях [17-20]. Однако в доступной литературе мы не встретили данных о влиянии внутреннего невролиза и интерфасцикулярной аутопластики седалищного нерва экспериментальных животных на состояние нервов голени и мелких мышц стопы. Поскольку медленный регенераторный рост аксонов, задерживая реиннервацию мышц, снижает эффективность восстановления функций [21], состояние дистальных отделов конечности при травмах нервов на уровне проксимальных сегментов особенно критично для восстановления функций.

Цель исследования – гистоморфометрическая оценка большеберцовых нервов и подошвенных межкостных мышц после внутреннего невролиза и аутогенной пластики большеберцовой порции седалищного нерва крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на 21 лабораторной крысе линии Wistar мужского пола в возрасте 8–10 месяцев (масса 360–420 г). Животные содержались в двухэтажных проволочных клетках с гладким дном и подстилом из древесных стружек в контролируемых гигиенических условиях. Они имели свободный доступ к воде и стандартному корму. Эксперимент выполнен согласно Европейской Конвенции по защите позвоночных животных, Директиве 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях, и СП 2.2.1.3218-14; ГОСТ 33217-2014; ГОСТ 33215-2014. Дизайн исследования одобрен этическим комитетом учреждения (протокол № 2 (57) от 17.05.18). 14 крыс составили две опытные серии. В опытных сериях перед операцией животным вводили внутримышечно гидрохлорид ксилазин и тилетамин/золазепам (0,8 мг и 0,4 мг на 100 г веса крысы соответственно) и состригали шерстный покров в области правого бедра и голени. В операционной обрабатывали кожу йодно-спиртовой настойкой. В серии 1 («внутренний невролиз») остро-тупым способом через двуглавую мышцу бедра осуществляли внепроекторный доступ к правому седалищному нерву на уровне средней трети бедра. Под операционным микроскопом (OPMI-6, Germany) с помощью острого сосудистого зонда и ножниц для иридэктомии выполняли выделение большеберцовой порции седалищного нерва путём эпифасцикулярной продольной эпинеуротомии на протяжении 2 см, после чего рану послойно ушивали. В серии 2 после аналогичного доступа к нерву и его распушечивания резецировали участок большеберцовой порции длиной 6 мм, затем с применением микрохирургической техники (увеличение операционного микроскопа 8-16×, шовный материал калибра 9-0) резецированный участок вшивали *in situ*. Серию контро-

ля составили 7 интактных крыс (возрастной диапазон 16-18 месяцев – соответственно возрасту оперированных крыс на момент эвтаназии – через 6 месяцев после операции).

Большеберцовые нервы иссекали, подвергали альдегидно-осмиевой фиксации и заключали в аралдит. Полутонкие срезы (толщина 0,5-1,0 мкм) изготавливали с помощью алмазных ножей на ультрамикротоме «Nova» LKB (Швеция), окрашивали метиленовым синим и основным фуксином. Подошвенные межкостные мышцы в области III плюсневой кости, иннервируемые подошвенным нервом, являющимся ветвью большеберцового нерва, фиксировали в 4 % растворе формалина, декальцинировали в смеси соляной и муравьиной кислот, обезжизняли в этаноле и заливали в парафин. Парафиновые срезы (5-7 мкм) изготавливали на микротоме «Reichert» (Австрия), окрашивали трехцветным методом по Массону, гематоксилином и эозином. Микроскопию срезов и получение цифровых изображений осуществляли с помощью микроскопа «AxioScope.A1» и цифровой камеры «AxioCam» (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Германия).

В программе «ВидеоТест Мастер-Морфология, 4.0» определяли средние диаметры миелиновых волокон (выборка из 400-500 волокон у каждой крысы), их аксонов, коэффициент G (отношение диаметра аксона к диаметру волокна), толщину миелиновой оболочки, долю измененных миелиновых нервных волокон (в %), средние диаметры эндоневральных микрососудов, их просветов, толщину стенки и рассчитывали модифицированный индекс Керногана (отношение диаметра просвета к толщине сосудистой стенки), численные плотности миелиновых волокон и эндоневральных микрососудов в 1 мм² площади среза. Строили гистограммы распределения миелиновых волокон по диаметрам (шаг – 1 мкм). С помощью программного обеспечения «Zen blue» (Carl

Zeiss MicroImaging GmbH, Германия) в полноцветных изображениях парафиновых поперечных срезов подожженных межкостных мышц при увеличении $\times 400$ измеряли средний диаметр каждого мышечного волокна (D, мкм), анализировали в среднем 200 волокон от одного случая. Строили гистограммы распределения волокон по диаметрам (шаг – 10 мкм). Определяли численную плотность микрососудов и мышечных волокон, рассчитывали индекс васкуляризации (Iv).

Статистическую обработку данных выполняли в

компьютерной программе Attestat, версия 9.3.1 (разработчик И.П. Гайдышев, сертификат о регистрации в Роспатенте № 2002611109). С учётом значимых отличий распределения некоторых выборок от нормального, табличные данные представляли в виде медиан (Me) и квартилей (Q1; Q3). Для проверки статистических гипотез о различиях при попарном сравнении опытных серий между собой и с нормой применяли критерий Хи-квадрат, критерий Манна-Уитни, для выявления отличий функций распределения – критерий Смирнова.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Микроскопическое исследование поперечных полутонких срезов седалищных и большеберцовых нервов крыс серии 1 (внутренний невролиз) показало, что большинство миелиновых волокон, как и в интактных нервах, имело нормальную структуру, в некоторой части волокон отмечались демиелинизация либо утолщение, расслоение и неравномерная окраска миелина, а в отдельных волокнах – деформация и потемнение аксонов (рис. 1, а, б). В серии 2 (аутонейропластика) в трансплантате большеберцовой порции седалищного нерва, в большеберцовой порции дистальнее трансплантата, а также в большеберцовом нерве на уровне средней трети голени регенерировавшие миелиновые нервные волокна были более мелкими по сравнению с нормой и серией 1, некоторые волокна формировали регенерационные кластеры (рис. 1, в). В серии 2 в эндоневрии чаще встречались фибробласты, макрофаги и тучные клетки, а также ядродержащие профили миелиновых и безмиелиновых нервных волокон.

Анализ количественных показателей популяции миелиновых волокон большеберцового нерва (табл. 1) выявил в серии 1 снижение медианы их численной плотности по сравнению с нормой на 11,78 % ($p = 0,041$). Доля реактивно-деструктивно измененных волокон в серии 1 достоверно превышала норму на 3,19 % ($p = 0,003$). Медиана диаметров миелиновых волокон в серии 1 увеличена на 28,26 % ($p = 0,002$), медиана диаметров аксонов – на 9,22 % ($p = 0,000$), медиана толщины миелиновых оболочек – на 18,63 % ($p = 0,000$).

В серии 2 отличия от нормы имели противоположную направленность – численная плотность миелиновых проводников превышала норму на 34,36 % ($p = 0,001$) при достоверном снижении процента измененных волокон относительно нормы на 2,70 % ($p = 0,000$). Медиана диаметров миелиновых волокон уменьшена в сравнении с нормой на 52,00 % ($p = 0,000$), медиана диаметров аксонов – на 51,05 % ($p = 0,000$) и толщины миелиновых оболочек – на 52,94 % ($p = 0,000$) (табл. 1).

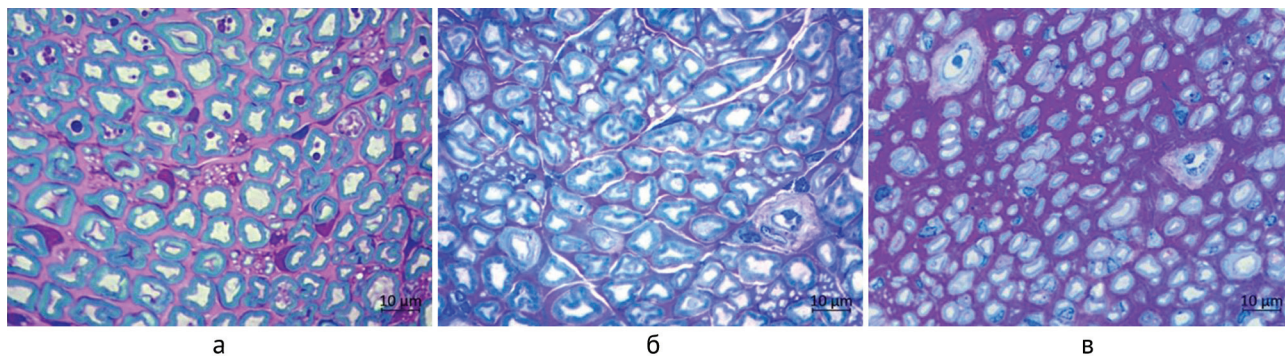


Рис. 1. Фрагменты поперечных эпиксидных полутонких срезов большеберцовых нервов крыс: а – интактный нерв; б – серия 1 (внутренний невролиз); в – серия 2 (аутонейропластика). Окраска метиленовым синим, азуром II и основным фуксином, $\times 500$

Таблица 1

Численные и размерные характеристики миелиновых нервных волокон большеберцового нерва крыс в норме и опытных сериях Me (Q1; Q3)

Параметр	Норма (интактные крысы) n = 7	Серия 1 (внутренний невролиз) n = 6	Серия 2 (аутонейропластика) n = 8
Численная плотность миелиновых волокон (в 1 мм ²)	15040 (12859; 15499) $p^{n-1} = 0,041^*$; $p^{n-2} = 0,001^*$	13261 (11825; 14237) $p^{1-2} = 0,000^*$	20207 (18140; 22618)
Доля измененных миелиновых волокон (%)	6,75 (5,70; 8,13) $p^{n-1} = 0,003^*$; $p^{n-2} = 0,000^*$	9,94 (7,82; 10,68) $p^{1-2} = 0,000^*$	4,05 (2,38; 5,06)
Диаметр миелиновых волокон (мкм)	6,73 (5,50; 8,75) $p^{n-1} = 0,002^*$; $p^{n-2} = 0,000^*$	7,35 (5,41; 8,51) $p^{1-2} = 0,000^*$	3,50 (2,79; 4,04)
Диаметр аксонов миелиновых волокон (мкм)	4,34 (3,54; 5,18) $p^{n-1} = 0,000^*$; $p^{n-2} = 0,000^*$	4,74 (3,50; 5,64) $p^{1-2} = 0,000^*$	2,42 (1,84; 2,84)
Толщина миелина (мкм)	1,02 (0,72; 1,30) $p^{n-1} = 0,000^*$; $p^{n-2} = 0,000^*$	1,21 (0,87; 1,53) $p^{1-2} = 0,000^*$	0,54 (0,44; 0,62)

Примечания: p^{n-1} – уровень значимости отличий при попарном сравнении нормы и серии 1; p^{n-2} – нормы и серии 2; p^{1-2} – серий 1 и 2 по критерию Манна-Уитни; * – различия достоверны при $p \leq 0,05$.

Анализ эндоневральной васкуляризации большеберцового нерва показал (табл. 2), что в сериях 1 и 2 численные плотности эндоневральных сосудов возрастали относительно нормы на 5,61 % ($p = 0,806$) и на 90,23 % ($p = 0,028$) соответственно, их диаметры увеличивались на 21,15 % ($p = 0,001$) и 15,42 % ($p = 0,001$), толщина стенок возрастала на 33,93 % ($p = 0,000$) и 17,10 % ($p = 0,003$) соответственно, но диаметры просветов в серии 1 уменьшались относительно нормы на 13,92 % ($p = 0,018$), а в серии 2 возрастали на 29,75 % ($p = 0,069$). В серии 2 серии индекс Керногана не отличался от нормы, а в серии 1, вследствие утолщения стенок микрососудов и уменьшения диаметров их просветов, снижался (табл. 2) на 41,43 % ($p = 0,000$), что свидетельствует о существенном ухудшении их пропускной способности.

Анализ распределения миелиновых волокон по диаметрам (рис. 2) показал, что в серии 1 график распределения приближен по форме к графику интактного большеберцового нерва крыс: распределение бимодальное, и, хотя правая мода и график в целом смещён на 1 класс в сторону больших диаметров, функция рас-

пределения не имела статистически значимых отличий от нормы (рис. 2). В серии 2 в отличие от нормы и серии 1 распределение унимодалное, основание графика укорочено на 3-4 разряда, и мода смещена влево в сторону меньших диаметров, функция распределения достоверно отличалась от нормы, и от серии 1 (рис. 2)

При микроскопическом исследовании иннервируемых большеберцовым нервом подошвенных межкостных мышц области III плюсовой кости в серии 1 отмечался выраженный фиброз перимизия, а в серии 2 – фиброз пери- и эндомизия (рис. 3). В отличие от интактных мышц, где срезы мышечных волокон имели полигональную форму, в обеих опытных сериях встречались миоциты с округлёнными либо ангулярными контурами, изменёнными тинкториальными свойствами – снижением интенсивности окраски в центральных участках (рис. 3, а). В нервных стволиках, расположенных в соединительнотканых оболочках мышц, наблюдались аксональная и валлеровская дегенерация миелиновых нервных волокон. Реактивно-деструктивные изменения мышечных и нервных волокон были более выражены в серии 2.

Таблица 2

Численные и размерные характеристики эндоневральных микрососудов большеберцового нерва крыс в норме и опытных сериях Me (Q1; Q3)

Параметр	Норма (интактные животные) n = 7	Серия 1 (внутренний невролиз) n = 6	Серия 2 (аутонейропластика) n = 8
Численная плотность эндоневральных микрососудов (в 1 мм ²)	63,94 (63,00; 74,94) $p^{n-1} = 0,806$; $p^{n-2} = 0,028^*$	67,53 (65,99; 67,07) $p^{1-2} = 0,027^*$	121,63 (97,79; 130,56)
Диаметр микрососудов (мкм)	12,39 (9,31; 15,51) $p^{n-1} = 0,001^*$; $p^{n-2} = 0,001^*$	15,01 (12,04; 18,13) $p^{1-2} = 0,511$	14,30 (11,91; 18,18)
Диаметр просвета (мкм)	4,74 (3,28; 6,36) $p^{n-1} = 0,018^*$; $p^{n-2} = 0,069$	4,08 (0,00; 6,34) $p^{1-2} = 0,013^*$	6,15 (3,60; 8,52)
Толщина сосудистой стенки (мкм)	3,86 (2,59; 4,66) $p^{n-1} = 0,000^*$; $p^{n-2} = 0,003^*$	5,17 (4,46; 6,23) $p^{1-2} = 0,001^*$	4,52 (3,48; 5,66)
Индекс Керногана	1,40 (0,94; 1,95) $p^{n-1} = 0,000^*$; $p^{n-2} = 0,904$	0,82 (0,00; 1,38) $p^{1-2} = 0,000^*$	1,46 (0,89; 1,98)

Примечания: p^{n-1} – уровень значимости отличий при попарном сравнении нормы и серии 1; p^{n-2} – нормы и серии 2; p^{1-2} – серий 1 и 2 по критерию Манна-Уитни; * – различия достоверны при $p < 0,05$.

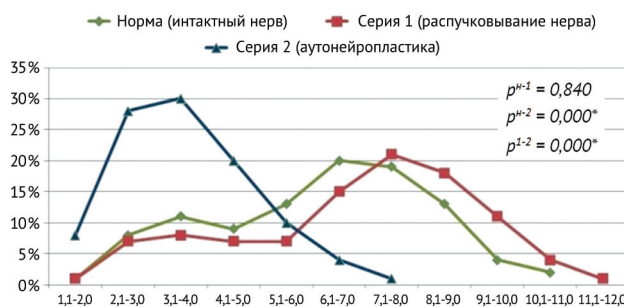


Рис. 2. Графики распределения миелиновых нервных волокон большеберцового нерва крыс в норме и опытных сериях по диаметрам (шаг – 1 мкм). Ось абсцисс – диаметры (мкм), ось ординат – доли волокон (%). Уровни значимости отличий при попарном сравнении нормы (н), серии 1 (1) и серии 2 (2) по критерию Смирнова – p^{n-1} , p^{n-2} , p^{1-2} ; * – различия достоверны при $p < 0,05$

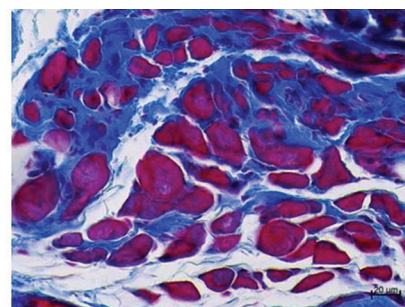
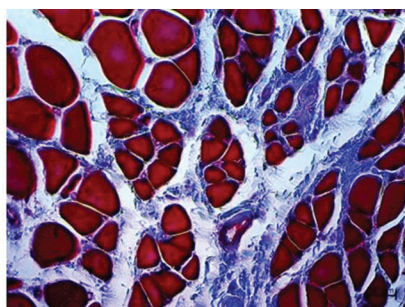
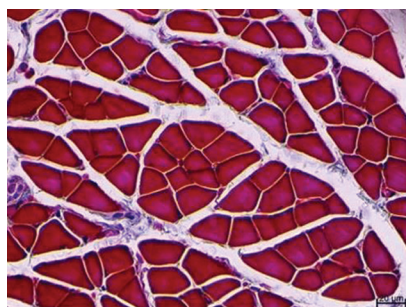


Рис. 3. Фрагменты поперечных парафиновых срезов подошвенных межкостных мышц: а – норма (интактная мышца); б – серия 1 (внутренний невролиз); в – серия 2 (аутонейропластика). Поперечный парафиновый срез, окраска трехцветным методом по Массону, $\times 400$

В обеих опытных сериях отмечалось увеличение количества внутримышечных ядер; наряду с гипертрофированными волокнами встречались атрофичные мионы, а также мионы на разных стадиях некротической гибели (рис. 4).

Анализ количественных показателей мышечных волокон обнаружил снижение медиан их диаметров в сериях 1 и 2 относительно нормы на 12,41 % ($p = 0,000$) и 20,96 % ($p = 0,000$) соответственно. В серии 2 снижена вдвое медиана индекса васкуляризации мышечных волокон (табл. 3).

В интактной норме диаметры мышечных волокон не превышали 70 мкм, распределение по диаметрам было унимодальным, количество классов гистограммы – 7 (рис. 5). Преобладали мышечные волокна диаметром 21-30 мкм (53,9 %), мелкие волокна диаметром

до 10 мкм и крупные диаметром 31-40 мкм составили 6 % и 1 % соответственно, волокна диаметром более 40 мкм – единичны (рис. 5). В опытных сериях пик гистограммы смещался на один класс влево (преобладали мышечные волокна диаметром 11-20 мкм). Количество классов гистограммы в серии 1 – 4 (от менее 10 мкм до 31-40 мкм), в серии 2 – 6 (от менее 10 мкм до 51-60 мкм). В серии 2 по сравнению с нормой и серией 1 в 3,5 раза увеличивалась доля мышечных волокон диаметром до 10 мкм и значительно снижалась доля мышечных волокон диаметром 21-30 мкм, мышечные волокна диаметром более 40 мкм единичны (рис. 5). Отличия функции распределения мышечных волокон в серии 1 от нормы статистически незначимы, серия 2 достоверно отличалась от серии 1 и от нормы.

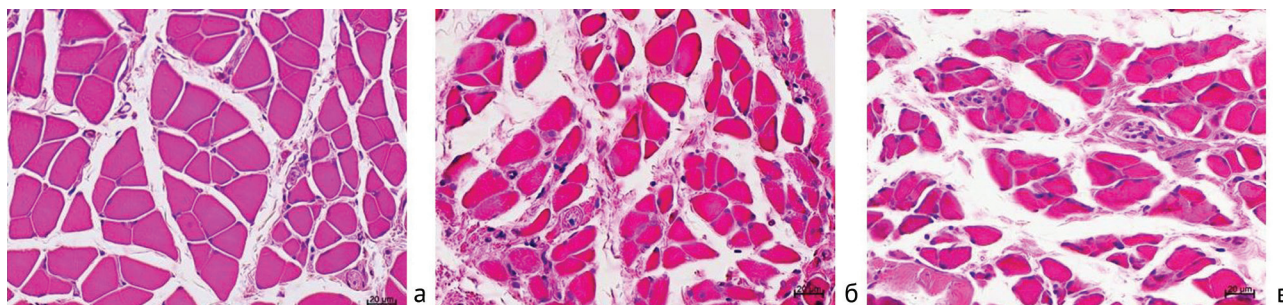


Рис. 4. Фрагменты поперечных парафиновых срезов подошвенных межкостных мышц: а – норма (интактная мышца); б – серия 1 (внутренний невролиз); в – серия 2 (аутонейропластика). Поперечный парафиновый срез, окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

Таблица 3

Количественные характеристики мышечных волокон подошвенных межкостных мышц крыс в норме и опытных сериях
Me (Q1; Q3)

Параметр	Норма (интактные животные), n = 7	Серия 1 (внутренний невролиз), n = 6	Серия 2 (аутонейропластика), n = 8
Диаметр волокон (мкм)	21,52 (17,13; 25,31) $p^{n-1} = 0,000^*$; $p^{n-2} = 0,000^*$	18,85 (15,24; 22,41) $p^{1-2} = 0,000^*$	17,01 (11,43; 20,52)
Индекс васкуляризации волокон	1,00 (0,54; 1,00) $p^{n-1} = 0,050$; $p^{n-2} = 0,040^*$	1,00 (0,69; 1,00) $p^{1-2} = 0,000^*$	0,50 (0,40; 0,80)

Примечания: p^{n-1} – уровень значимости отличий при попарном сравнении нормы и серии 1; p^{n-2} – нормы и серии 2, p^{1-2} – серий 1 и 2 по критерию Манна-Уитни; * – различия достоверны при $p < 0,05$.

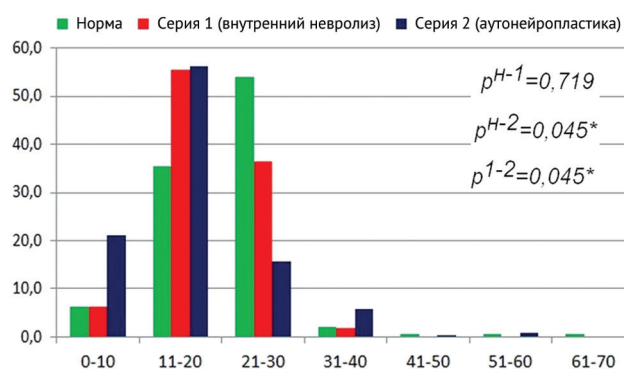


Рис. 5. Гистограммы распределения мышечных волокон подошвенных межкостных мышц крыс в норме и опытных сериях по диаметрам (шаг – 10 мкм). Ось абсцисс – диаметры (мкм), ось ординат – доли волокон (%). Уровни значимости отличий при попарном сравнении нормы (н), серии 1 (1) и серии 2 (2) по критерию Смирнова – p^{n-1} , p^{n-2} , p^{1-2} ; * – различия достоверны при $p < 0,05$

ОБСУЖДЕНИЕ

В выполненном исследовании впервые проведена оценка влияния внутреннего невролиза и аутопластики седалищного нерва на васкуляризацию и численно-размерный состав популяции волокон большеберцового нерва и мелких мышц стопы.

Ранее другими авторами в экспериментах с внутренним невролизом большеберцового нерва кроликов были

выявлены не только фиброз оболочек нерва, но и повреждения некоторой части нервных волокон при том, что барьерная функция периневрия и эндоневральных сосудов, по данным авторов, нарушены не были [22]. В нашем исследовании установлено, что внутренний невролиз седалищного нерва крыс на уровне средней трети бедра, который неизбежно сопровождается по-

вреждением сети эпинеуральных сосудов, приводит к существенным изменениям эндоневральных сосудов большеберцового нерва – по сравнению с сосудами большеберцового нерва интактных крыс, они становятся более крупными, толстостенными, но имеют меньший просвет и, как следствие, сниженную пропускную способность. Вероятно, вследствие этого развивается ишемизация эндоневрия и меняется популяция миелинизированных волокон большеберцового нерва – через 6 месяцев после оперативного вмешательства значительная их часть (около 10 %) деструктивно изменена, а многие имеют декомпактизированные миелиновые оболочки и отёчные аксоны. Декомпактизация миелина и отёк аксонов были описаны ранее другими авторами в зрительном нерве крыс и интерпретированы как проявления хронической дегенерации при ишемической нейропатии [23]. В наших экспериментах щадящая модель внутреннего невролиза [24] включала эпифасцикулярную эпинеуротомию без рассечения периневрия. Однако через 6 месяцев после операции в иннервируемых большеберцовым нервом подошвенных межкостных мышцах стопы был выражен фиброз перимизия, а также качественные и количественные признаки денервационных изменений мышечных волокон. По данным D. Goth [25], внешний невролиз у экспериментальных животных не вызывает изменений нормального мозаичного паттерна мышечных волокон, а после внутреннего невролиза был выражен феномен группировки мышечных волокон. Это указывало не просто на наличие денервационно-реиннервационного процесса и возможности восстановления, но, прежде всего, на коллатеральную реиннервацию [26]. В нашем исследовании мы не выявили феномена группировки мышечных волокон ни в первой, ни во второй серии опытов, однако индекс васкуляризации подошвенных межкостных мышц в серии с внутренним невролизом был приближен к норме, отличия функции распределения мышечных волокон по диаметру от интактных мышц были статистически незначимы, однако медиана диаметров была достоверно уменьшена в сравнении с нормой.

В опытах второй серии внутренний невролиз седалищного нерва был выполнен как первый этап операции – выделение большеберцовой порции. После резекции участка большеберцовой порции и вшивания резецированного фрагмента *in situ* на пути регенерирующих аксонов располагались две зоны швов и неваскуляризованный трансплантат. По данным других авторов, васкуляризованные трансплантаты обеспечивают более

быструю регенерацию, однако конечный результат сопоставим с неваскуляризованными [27], поскольку с течением времени происходит реваскуляризация неваскуляризованных трансплантатов – преимущественно из проксимальной коаптации оперированного нерва [28], причём вновь формирующиеся кровеносные сосуды рассматриваются не только как фактор выживания клеточно-тканевых структур, но и как пути миграции шванновских клеток при нейрорегенерации [29].

В нашем исследовании впервые установлено, что при аутонейропластике седалищного нерва крыс развивается выраженная гипervasкуляризация эндоневрия большеберцового нерва, о чём свидетельствовало двукратное увеличение численной плотности эндоневральных сосудов в сравнении с интактным нервом. В отличие от серии с внутренним невролизом, у животных после аутонейропластики седалищного нерва эндоневральные сосуды большеберцового нерва имели менее утолщенную стенку, широкие просветы и сопоставимую с нормой пропускную способность. Большеберцовый нерв был невротизирован большим количеством регенерировавших миелинизированных волокон, однако их численно-размерный состав свидетельствовал о незавершённости процесса регенерации. Индекс васкуляризации реиннервируемых большеберцовым нервом мышц был уменьшен вдвое, фиброз перимизия и эндомизия, качественные и количественные изменения мышечных волокон свидетельствовали о недостаточной реиннервации, однако большее представительство мышечных волокон диаметром более 30 мкм во второй серии по сравнению с первой указывало на возможности дальнейшего восстановления. Вплоть до настоящего времени неизвестно, может ли васкуляризация регенерирующего нерва и реиннервируемых мышц рассматриваться в качестве прогностических параметров [30], но выполненное нами исследование и другие исследования аналогичных направлений существенно расширяют имеющиеся представления о возможных мишенях для нейрорегенераторных воздействий.

Таким образом, авторами разработана новая биологическая модель – микрохирургическая аутонейропластика большеберцовой порции седалищного нерва крысы линии Вистар, которая позволит в дальнейшем апробировать новые малотравматичные интраоперационные нейрорегенеративные и реваскуляризирующие воздействия, направленные на улучшение результатов лечения восстановительных и реконструктивных операций на нервах конечностей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Внутренний невролиз и интерфасцикулярная аутопластика седалищного нерва вызывают разнонаправленные изменения эндоневральных сосудов больше-

берцового нерва, которые определяют характер и выраженность денервационно-реиннервационных изменений нервов голени и мелких мышц стопы.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Analysis of upper and lower extremity peripheral nerve injuries in a population of patients with multiple injuries / J. Noble, C.A. Munro, V.S. Prasad, R. Midha // J. Trauma. 1998. Vol. 45, No 1. P. 116-122. DOI: 10.1097/00005373-199807000-00025.
2. Traumatic injuries of peripheral nerves: a review with emphasis on surgical indication / R.S. Martins, D. Bastos, M.G. Siqueira, C.O. Heise, M.J. Teixeira // Arq. Neuropsiquiatr. 2013. Vol. 71, No 10. P. 811-814. DOI: 10.1590/0004-282X20130127.
3. Nerve injury in severe trauma with upper extremity involvement: evaluation of 49,382 patients from the TraumaRegister DGU(R) between 2002 and 2015 / T. Huckhagel, J. Nüchtern, J. Regelsberger, R. Lefering; TraumaRegister DGU // Scand. J. Trauma Resusc. Emerg. Med. 2018. Vol. 26, No 1. P. 76. DOI: 10.1186/s13049-018-0546-6.

4. Neuroprotective activity of thioctic acid in central nervous system lesions consequent to peripheral nerve injury / D. Tomassoni, F. Amenta, L. Di Cesare Mannelli, C. Ghelardini, I.E. Nwankwo, A. Pacini, S.K. Tayebati // *Biomed. Res. Int.* 2013. Vol. 2013. P. 985093. DOI: 10.1155/2013/985093.
5. Sunderland S. A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function // *Brain*. 1951. Vol. 74, No. 4. P. 491-516. DOI: 10.1093/brain/74.4.491.
6. Siemionow M., Brzezicki G. Chapter 8: Current techniques and concepts in peripheral nerve repair // *Int. Rev. Neurobiol.* 2009. Vol. 87. P. 141-172. DOI: 10.1016/S0074-7742(09)87008-6.
7. Biomedical engineering strategies for peripheral nerve repair: surgical applications, state of the art, and future challenges / B.J. Pfister, T. Gordon, J.R. Loverde, A.S. Kochar, S.E. Mackinnon, D.K. Cullen // *Crit. Rev. Biomed. Eng.* 2011. Vol. 39, No 2. P. 81-124. DOI: 10.1615/critrevbiomedeng.v39.i2.20.
8. Mazal P.R., Millesi H. Neurolysis: is it beneficial or harmful? // *Acta Neurochir. Suppl.* 2005. Vol. 92. P. 3-6. DOI: 10.1007/3-211-27458-8_1.
9. Microsurgical neurolysis: its anatomical and physiological basis and its classification / H. Millesi, T. Rath, R. Reihnsner, G. Zoch // *Microsurgery*. 1993. Vol. 14, No 7. P. 430-439. DOI: 10.1002/micr.1920140703.
10. Matejčík V. Neurolyzy periférnych nervov dolných končatín // *Rozhl. Chir.* 2004. Vol. 83, No 9. P. 463-466.
11. An assessment of the effects of internal neurolysis on a chronically compressed rat sciatic nerve / S.E. Mackinnon, J.P. O'Brien, A.L. Dellon, A.R. McLean, A.R. Hudson, D.A. Hunter // *Plast. Reconstr. Surg.* 1988. Vol. 81, No 2. P. 251-258. DOI: 10.1097/00006534-198802000-00020.
12. Shu N. The effect of neurolysis on the recovery of experimentally induced entrapment neuropathy // *Nihon Seikeigeka Gakkai Zasshi*. 1995. Vol. 69, No 7. P. 517-527.
13. Internal neurolysis or ligament division only in carpal tunnel syndrome – results of a randomized study / H. Holmgren-Larsson, W. Lesznowski, U. Lindén, L. Rabow, J. Thorling // *Acta Neurochir. (Wien)*. 1985. Vol. 74, No 3-4. P. 118-121. DOI: 10.1007/BF01418799.
14. Neurolysis for the treatment of sciatic nerve palsy associated with total hip arthroplasty / G.J. Regev, M. Drexler, R. Sever, T. Dwyer, M. Khashan, Z. Lidar, K. Salame, S. Rochkind // *Bone Joint J.* 2015. Vol. 97-B, No 10. P. 1345-1349. DOI: 10.1302/0301-620X.97B10.35590.
15. Construction and effect evaluation of different sciatic nerve injury models in rats / Q. Siwei, N. Ma, W. Wang, S. Chen, Q. Wu, Y. Li, Z. Yang // *Transl. Neurosci.* 2022. Vol. 13, No 1. P. 38-51. DOI: 10.1515/tnsci-2022-0214.
16. Combat injury of the sciatic nerve – an institutional experience / P.E. Jones, R.M. Meyer, W.J. Faillace, M.E. Landau, J.K. Smith, P.L. McKay, L.J. Nesti // *Mil. Med.* 2018. Vol. 183, No 9-10. P. e434-e441. DOI: 10.1093/milmed/usy030.
17. Тотальное эндопротезирование у пациентов с последствиями переломов вертлужной впадины (обзор литературы) / А.А. Пронских, К.Н. Харитонов, А.А. Корыткин, С.В. Романова, В.В. Павлов // *Гений ортопедии*. 2021. Т. 27, № 5. С. 620-627. DOI: 10.18019/1028-4427-2021-27-5-620-627.
18. Укорачивающая подвертельная остеотомия бедренной кости при эндопротезировании тазобедренного сустава у пациентов с врожденным вывихом бедра / Л.С. Шнайдер, О.И. Голенков, Э.У. Тургунов, М.В. Ефименко, М.А. Степанькова, В.В. Павлов // *Гений ортопедии*. 2020. Т. 26, № 3. С. 340-346. DOI: 10.18019/1028-4427-2020-26-3-340-346.
19. Nerve injuries associated with total hip arthroplasty / R. Hasija, J.J. Kelly, N.V. Shah, J.M. Newman, J.J. Chan, J. Robinson, A.V. Maheshwari // *J. Clin. Orthop. Trauma*. 2018. Vol. 9, No 1. P. 81-86. DOI: 10.1016/j.jcot.2017.10.011.
20. Park C.W., Cho W.C., Son B.C. Iatrogenic injury to the sciatic nerve due to intramuscular injection: a case report // *Korean J. Neurotrauma*. 2019. Vol. 15, No 1. P. 61-66. DOI: 10.13004/kjnt.2019.15.e4.
21. Application of fetal neural stem cells transplantation in delaying denervated muscle atrophy in rats with peripheral nerve injury / S. Gu, Y. Shen, W. Xu, L. Xu, X. Li, G. Zhou, Y. Gu, J. Xu // *Microsurgery*. 2010. Vol. 30, No 4. P. 266-274. DOI: 10.1002/micr.20722.
22. Rydevik B., Lundborg G., Nordborg C. Intraneural tissue reactions induced by internal neurolysis. An experimental study on the blood-nerve barrier, connective tissues and nerve fibres of rabbit tibial nerve // *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.* 1976. Vol. 10, No 1. P. 5-8. DOI: 10.1080/02844317609169741.
23. Myelin sheath decompaction, axon swelling, and functional loss during chronic secondary degeneration in rat optic nerve / S.C. Payne, C.A. Bartlett, A.R. Harvey, S.A. Dunlop, M. Fitzgerald // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2012. Vol. 53, No 10. P. 6093-6101. DOI: 10.1167/iovs.12-10080.
24. Intraoperative electrophysiological studies to predict the efficacy of neurolysis after nerve injury-experiment in rats / J.G. Yan, M.P. Eldridge, W.W. Dzwierzynski, Y.H. Yan, S. Jaradeh, L.L. Zhang, J.R. Sanger, H.S. Matloub // *Hand (NY)*. 2008. Vol. 3, No 3. P. 257-262. doi: 10.1007/s11552-008-9094-2.
25. Goth D. Tierexperimentelle Untersuchungen zur Neurolyse peripherer Nerven // *Handchir. Mikrochir. Plast. Chir.* 1987. Vol. 19, No 4. P. 212-216.
26. Karpati G., Engel W.K. "Type grouping" in skeletal muscles after experimental reinnervation // *Neurology*. 1968. Vol. 18, No 5. P. 447-455. DOI: 10.1212/wnl.18.5.447.
27. Vascularized nerve grafts: an experimental study / R. Donzelli, C. Capone, F.G. Sgulò, G. Mariniello, F. Maiuri // *Neurol. Res.* 2016. Vol. 38, No 8. P. 669-677. DOI: 10.1080/01616412.2016.1198527.
28. The role of vascularization in nerve regeneration of nerve graft / T.M. Saffari, M. Bedar, C.A. Hundepool, A.T. Bishop, A.Y. Shin // *Neural Regen. Res.* 2020. Vol. 15, No 9. P. 1573-1579. DOI: 10.4103/1673-5374.276327.
29. Blood Vessels: The pathway used by Schwann cells to colonize nerve conduits / B.E. Fornasari, F. Zen, G. Nato, M. Fogli, F. Luzzati, G. Ronchi, S. Raimondo, G. Gambarotta // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. Vol. 23, No 4. P. 2254. DOI: 10.3390/ijms23042254.
30. Quantitative assessment of intraneural vascular alterations in peripheral nerve trauma using high-resolution neurosonography: technical note / P. Dömer, U. Janssen-Bienhold, B. Kewitz, T. Kretschmer, C. Heinen // *Sci. Rep.* 2021. Vol. 11, No 1. P. 13320. DOI: 10.1038/s41598-021-92643-9.

Статья поступила в редакцию 13.05.2022; одобрена после рецензирования 08.06.2022; принята к публикации 19.10.2022.

The article was submitted 13.05.2022; approved after reviewing 08.06.2022; accepted for publication 19.10.2022.

Информация об авторах:

1. Наталья Анатольевна Шудло – доктор медицинских наук, nshchudlo@mail.ru;
2. Андрей Евгеньевич Кобызов – доктор медицинских наук, andrey_kobizev@mail.ru;
3. Татьяна Николаевна Варсегова – кандидат биологических наук, varstn@mail.ru;
4. Татьяна Анатольевна Ступина – доктор биологических наук, stupinaSTA@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3434-0372>.

Information about the authors:

1. Natalia A. Shchudlo – Doctor of Medical Sciences, nshchudlo@mail.ru;
2. Andrey E. Kobyzov – Doctor of Medical Sciences, andrey_kobizev@mail.ru;
3. Tatyana N. Varsegova – Candidate of Biological Sciences, varstn@mail.ru;
4. Tatyana A. Stupina – Doctor of Biological Sciences, stupinaSTA@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3434-0372>.