

## ВЛИЯНИЕ АУТОТРАНСПЛАНТАЦИИ КОЖНОГО ЛОСКУТА И ПРЯМОЙ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА НА РЕГЕНЕРАЦИЮ НЕРВНЫХ ВОЛОКОН

© А. Н. Иванов,<sup>1</sup> И. Е. Шутров, В. Г. Нинель, Г. А. Коришунова, Е. В. Гладкова, О. В. Матвеева, И. А. Мамонова, Д. М. Пучиньян, А. С. Федонников, И. А. Норкин

*Научно-исследовательский институт травматологии, ортопедии и нейрохирургии Саратовского государственного медицинского университета им. В. И. Разумовского, Саратов, 410002;*

*<sup>1</sup> электронный адрес: lex558452@gmail.com*

На белых крысах-самцах изучали влияние аутотрансплантации полнослойного кожного лоскута и ее комбинации с прямой электростимуляцией седалищного нерва на морфофункциональное состояние его нервных волокон после перерезки и наложения эпинеуральных швов (нейрорафии). Изолированное выполнение аутотрансплантации полнослойного кожного лоскута в межлопаточную область, так же как и ее комбинация с прямой электростимуляцией нерва после нейрорафии, способствуют более интенсивному структурному и функциональному восстановлению нервных волокон. Это проявляется в меньшей выраженности дегенеративных изменений и сохранении большего числа неизмененных нервных волокон в проксимальном сегменте оперированного нерва, стимуляции прорастания аксонов и облегчении проведения по ним возбуждения через зону нейрорафии, а также ускорении реиннервации мышечных волокон. У животных после нейрорафии седалищного нерва аутотрансплантация полнослойного кожного лоскута пролонгирует продукцию нейротрофина 3, а ее комбинация с прямой электростимуляцией увеличивает продукцию этого фактора на ранних этапах процесса регенерации, что объясняет механизм наблюдаемых эффектов восстановления структуры и функции нервных волокон.

**Ключевые слова:** регенерация, нервные волокна, нейрорафия, кожный лоскут, электростимуляция, нейротрофические факторы.

**Принятые сокращения:** АТПКЛ — аутотрансплантация полнослойного кожного лоскута, ВП — вызванный потенциал, ЛП — латентный период, М-ответ — мышечный ответ, ПЭС — прямая электростимуляция, ЭНМГ — электронейромиография, NF-H — тяжелый белок нейрофиламентов (neurofilament heavy polypeptide), NT3 — нейротрофин 3.

В связи с высокой инвалидизацией больных с повреждениями периферических нервов их реабилитация является одной из наиболее сложных и до конца еще не решенных проблем современной медицины (Taylor et al., 2008; Древалл и др., 2015).

Ключевое значение при травме периферических нервов имеет хирургическое лечение, обеспечивающее направленную регенерацию нервных волокон (Siemionow, Brzezicki, 2009). В зависимости от типа повреждения и характера оперативного пособия эффективность хирургического лечения варьирует и составляет от 36 до 98 % (Губочкин, 2011; Terzis, Konofaos, 2011). Полное функциональное восстановление поврежденных периферических нервов не всегда достигается даже при использовании современных хирургических техник и методик (English et al., 2014). Основными причинами, препятствующими восстановлению, считаются медленное прорастание нервных волокон через место повреждения, относительно короткий период поддержки регенеративных процессов и развитие дистрофических изменений в денервированных

органах-мишенях, в частности мышечных волокнах (Sulaiman, Gordon, 2000).

Для решения комплекса проблем, возникающих при регенерации периферических нервов, значительные перспективы представляют различные виды биостимуляции. Ряд экспериментально разработанных методик для эффективной регенерации позволяет использовать стволовые клетки в качестве источника веществ, стимулирующих регенеративные процессы (Петрова, 2015). Однако широкое клиническое внедрение этих методик ограничено рядом существенных проблем, связанных с риском развития иммунного ответа на чужеродные клетки, развитием воспаления, а также нарушением дифференцировки и возможностью формирования новообразований (Castellone et al., 2013; Gaudin et al., 2016). Источником веществ, стимулирующих регенерацию, могут выступать не только стволовые клетки, но и собственные ткани организма. Так, при создании коротких эпизодов ишемии-реперфузии в тканях происходит накопление биологически активных веществ, которые при попадании в



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 соответствовало 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

Регенерация нервных волокон у крыс с полным пересечением седалищного нерва с его последующей нейрорафией. Установлено, что у животных этой группы в проксимальных отделах оперированного нерва в поле зрения при увеличении объектива 100× обнаруживали в среднем 46 (38; 50) нервных волокон, более 45 % которых имели дистрофические изменения (см. рисунок, *а*). Дистрофические изменения в нервных волокнах выражались в разрушении осевых цилиндров и потере миелиновой оболочки. При этом отмечали наличие менее 40 % неизмененных и менее 15 % регенерирующих нервных волокон (табл. 1). В дистальных отделах среднее число нервных волокон значимо снижалось и составляло 33 (28; 35) в поле зрения (табл. 1). Дистрофических волокон в дистальном отделе обнаружено в среднем 23 (20; 26), регенерирующих — 9 (6; 13), а неизмененные отсутствовали (см. рисунок, *б*).

Характер выявленных морфологических изменений свидетельствует о выраженных дегенеративных процессах, развивающихся в оперированном нерве, как в проксимальном, так и в дистальном его отделе. При этом более интенсивно эти процессы протекают в дистальном отделе.

На 21-е сут на дистальном отрезке удалось выделить ВП нерва с выраженным снижением показателя времени проведения импульса (ЛП) и амплитуды ВП. Регистрируемая на дистальном отрезке нерва средняя амплитуда ВП нерва не превышала 18 мкВ и составляла всего 8.1 % от величины ВП нерва в контрольной группе. Получить вызванный М-ответ при стимуляции нерва не удалось (табл. 2).

Изменения ЭНМГ-показателей свидетельствуют о том, что у животных при выполнении нейрорафии частичное восстановление проводимости через зону шва происходило к 21-м сут эксперимента. При этом реиннервации мышц не наблюдали.

Концентрации NT3 и NF-H в сыворотке крови животных данной группы на 7-е сут превышали таковые у контрольных крыс (табл. 3). На 21-е сут концентрация NT3 в сыворотке крови снижалась до контрольных значений, а концентрация NF-H оставалась повышенной (табл. 3).

Таким образом, согласно морфологическим данным, у животных, которым выполняли перерезку и нейрорафию, на 21-е сут эксперимента в седалищном нерве преобладали дегенеративные изменения, что согласуется с результатами биохимического определения NF-H, который характеризует дегенеративные процессы в нервной ткани. Изменения показателей ЭНМГ у этих животных отражают отсутствие на 21-е сут эксперимента формирования синаптических контактов растущих нервных волокон с мышечными (доимпульсная стадия регенерации).

Вместе с тем в течение этого срока после нейрорафии отмечался дефицит факторов, поддерживающих регенерацию, что проявлялось в снижении концентрации NT3 в сыворотке крови.

Регенерация нервных волокон у крыс, которым выполняли АТПКЛ в межлопаточную область на фоне нейрорафии седалищного нерва. При исследовании морфологических препаратов седалищных нервов животных этой группы было выявлено, что в проксимальном отделе нерва на 21-е сут эксперимента среднее число нервных волокон в 2 раза превышало аналогичный показатель крыс с нейрорафией, но без АТПКЛ, и составляло 96 (72; 112) в поле зрения (табл. 1). Неизмененных нервных волокон обнаруживалось около 69 (54; 78) в поле зрения, что в 4 раза превышало значение в группе крыс без АТПКЛ на фоне нейрорафии (см. рисунок, *в*). Также у животных данной группы отмечали значимое снижение числа дистрофических волокон — в среднем до 9 (6; 14) в поле зрения. Одновременно с этим значимо увеличивалось число регенерирующих волокон — до 17 (9; 22) в поле зрения (табл. 1).

Среднее число нервных волокон дистального отдела сшитого нерва у животных с АТПКЛ (см. рисунок, *г*) составляло 65 (52; 88) в поле зрения и вдвое превышало значение в группе крыс с нейрорафией без АТПКЛ (табл. 1). Дистрофических волокон в поле зрения обнаруживалось в среднем 11 (6; 16), что в 2 раза меньше, чем в группе крыс, которым выполняли только нейрорафию. Число регенерирующих волокон по отношению к проксимальному отделу резко увеличивалось и составляло в среднем 55 (42; 76) в поле зрения. На гистологических препаратах данной группы крыс, так же как и у крыс с нейрорафией без АТПКЛ, обнаружить неизмененные нервные волокна в дистальном отделе не удалось (см. рисунок, *з*).

В ходе исследования функционального восстановления нервных волокон у животных с АТПКЛ на фоне нейрорафии регистрировали низкоамплитудные невральные потенциалы: их амплитуда достигала только 33.7 % от величины контрольных значений. При этом амплитуда ВП значимо превышала значения группы крыс без АТПКЛ на фоне нейрорафии (табл. 2). ЛП-величины ВП нерва не имели значимых отличий от группы крыс, которым не выполняли АТПКЛ на фоне нейрорафии. Важной особенностью параметров ЭНМГ данной группы являлось наличие низкоамплитудного М-ответа, регистрируемого с икроножной мышцы при стимуляции нерва выше места пересечения (табл. 2).

Выявленные изменения параметров ЭНМГ свидетельствуют о более выраженном функциональном восстановлении поврежденных нейронов. Так как амплитуда ВП нерва является величиной, зависимой от количества нервных волокон, проводящих импульс, увеличение амплитуд ВП нерва при АТПКЛ может быть обусловлено прорастанием большего числа нейритов через линию шва. Наличие М-ответа у животных с одновременной нейрорафией и АТПКЛ отражает переход репаративных процессов в импульсную стадию, которая характеризуется интенсификацией формирования синапсов регенерирующими нейронами на мышечных волокнах.

В ходе биохимического исследования сыворотки крови было установлено, что на 7-е и 21-е сут после нейрорафии и АТПКЛ концентрация NF-H не превышала контрольных значений и была значимо ниже аналогичных по-

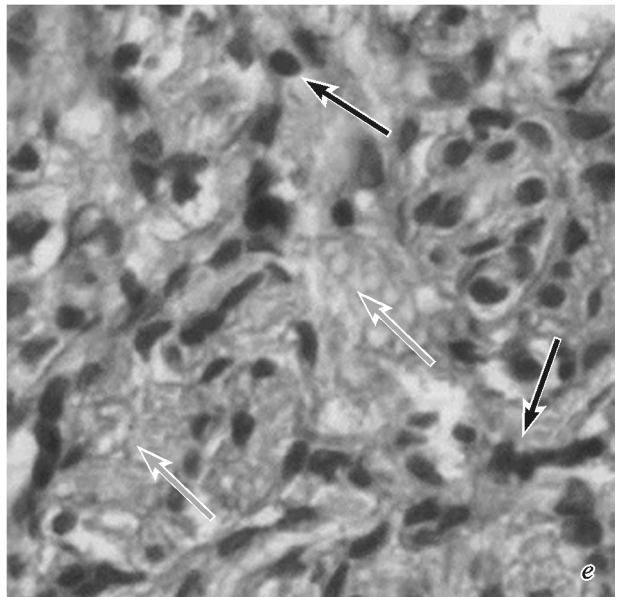
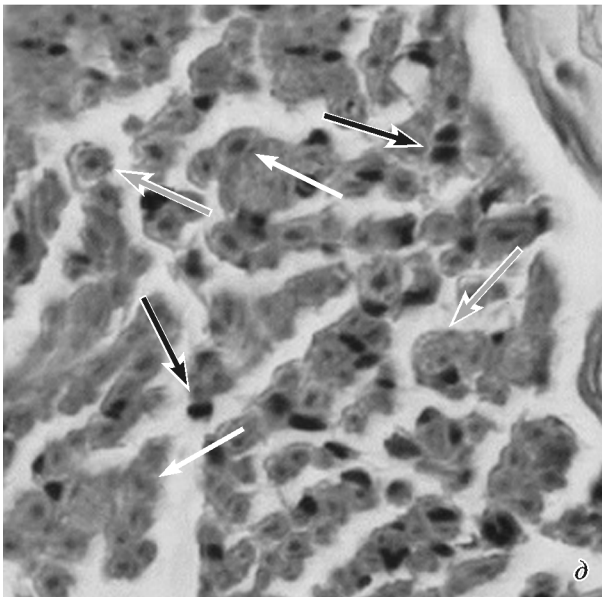
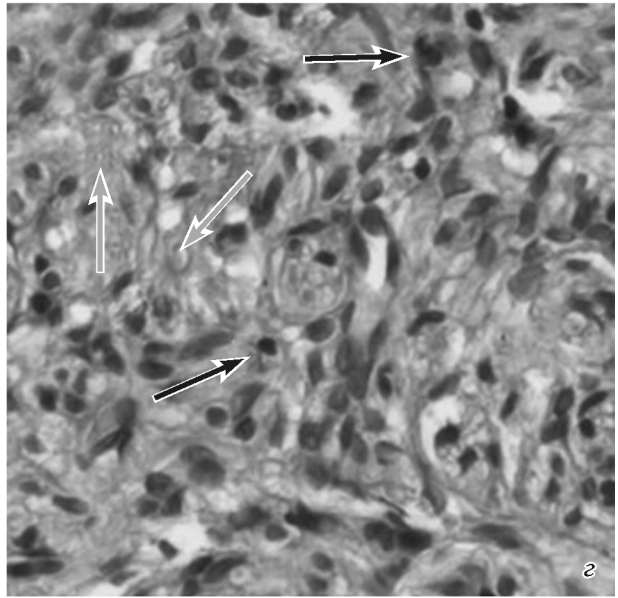
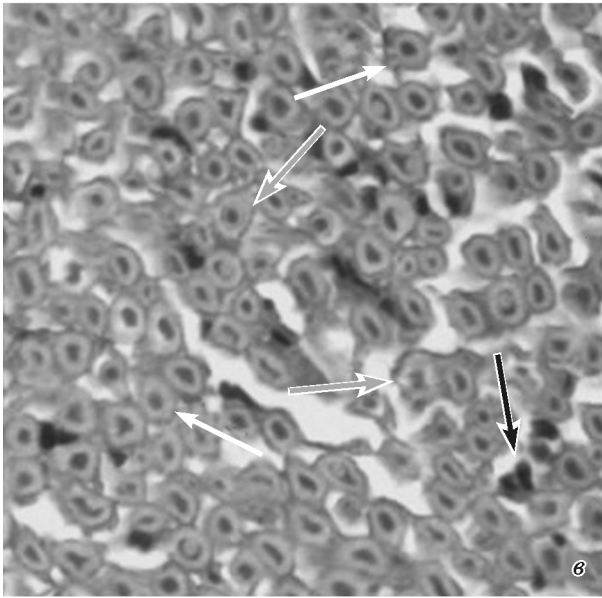
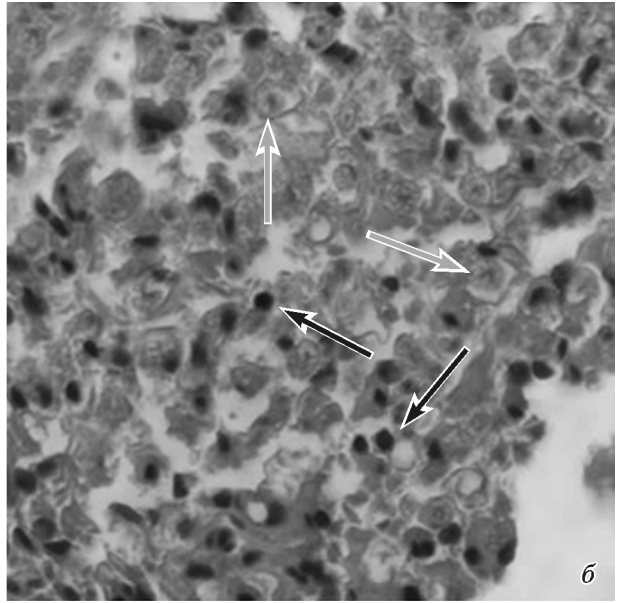
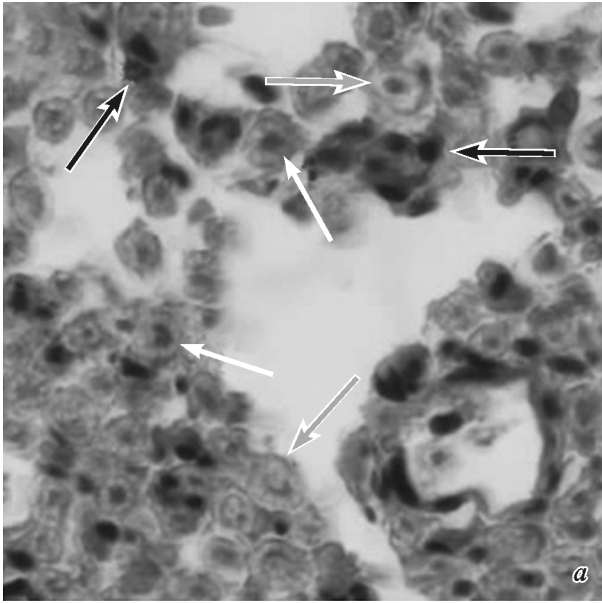


Таблица 1

**Численные изменения нервных волокон  
после нейрорафии (НР) при различных способах стимуляции**

Группа		Нервные волокна			
		неизмененные	дистрофические	регенерирующие	всего
НР (n = 15)	ПУ	17 (13; 21)	21 (16; 26)	7 (5; 10)	46 (38; 50)
	ДУ	0 (0; 0) $P_3 = 0.000001$	23 (20; 26) $P_3 = 0.395268$	9 (6; 13) $P_3 = 0.195792$	32 (28; 35) $P_3 = 0.000001$
НР + АТПКЛ (n = 15)	ПУ	69 (54; 78) $P_1 = 0.000001$	9 (6; 14) $P_1 = 0.000001$	17 (9; 22) $P_1 = 0.000424$	96 (72; 112) $P_1 = 0.000001$
	ДУ	0 (0; 0) $P_1 = 0.882420$ $P_3 = 0.000001$	11 (6; 16) $P_1 = 0.000001$ $P_3 = 0.445407$	55 (42; 76) $P_1 = 0.000001$ $P_3 = 0.000001$	65 (52; 88) $P_1 = 0.000001$ $P_3 = 0.000790$
НР + АТПКЛ + ПЭС (n = 16)	ПУ	62 (34; 86) $P_1 = 0.000003$ $P_2 = 0.308567$	9 (3; 17) $P_1 = 0.000648$ $P_2 = 0.906023$	22 (15; 35) $P_1 = 0.000002$ $P_2 = 0.079075$	103 (90; 108) $P_1 = 0.000040$ $P_2 = 0.701214$
	ДУ	0 (0; 0) $P_1 = 0.435007$ $P_2 = 0.494908$ $P_3 = 0.000002$	16 (7; 23) $P_1 = 0.003345$ $P_2 = 0.235669$ $P_3 = 0.139683$	56 (41; 75) $P_1 = 0.000001$ $P_2 = 0.797992$ $P_3 = 0.000022$	77 (56; 95) $P_1 = 0.000001$ $P_2 = 0.301924$ $P_3 = 0.029854$

Примечание. ПУ и ДУ — соответственно проксимальный (выше шва) и дистальный (ниже шва) участки нерва. Здесь и в табл. 2 и 3 в каждом случае указаны медиана и в скобках верхний и нижний квартили. Вероятность различий по сравнению с группой: НР ( $P_1$ ), АТПКЛ ( $P_2$ ), ПУ внутри группы ( $P_3$ ).

Таблица 2

**Изменения показателей ЭНМГ после нейрорафии (НР) с последующей стимуляцией**

Группа	ЛП нерва, мс	Амплитуда ВП нерва, мкВ	ЛП М-ответа, мс	Амплитуда М-ответа, мкВ
Контроль (n = 12)	1.8 (1.5; 2.7)	223 (199; 297)	3.5 (3.2; 4.85)	19608 (14163; 21372)
НР (n = 16)	11.3 (8.5; 13.6) $P_1 = 0.000014$	18 (12; 30) $P_1 = 0.000009$	Нет	Нет
НР + АТПКЛ (n = 8)	11.7 (9.9; 13.1) $P_1 = 0.000144$ $P_2 = 0.671126$	75 (43.7; 82.7) $P_1 = 0.000191$ $P_2 = 0.000498$	10.6 (10.5; 16.9) $P_1 = 0.000144$	65.3 (61.9; 124) $P_1 = 0.000144$
НР + АТПКЛ + ПЭС (n = 8)	10.9 (6.7; 11.4) $P_1 = 0.000144$ $P_2 = 0.380208$ $P_3 = 0.200412$	66 (46.3; 98.7) $P_1 = 0.000144$ $P_2 = 0.000058$ $P_3 = 0.964784$	14.4 (12.1; 15.4) $P_1 = 0.000144$ $P_3 = 0.757278$	122.6 (95.3; 180) $P_1 = 0.000144$ $P_3 = 0.016532$

Примечание. Вероятность различий по сравнению с группой: контрольной ( $P_1$ ), НР ( $P_2$ ), АТПКЛ ( $P_3$ ).

казателей животных с нейрорафией без АТПКЛ (табл. 3). Концентрация NTЗ у этих животных имела тенденцию к увеличению в период 7—21 сут и на 21-е сут значимо превышала таковую у животных с нейрорафией без АТПКЛ (табл. 3).

Таким образом, увеличение числа неизмененных нервных волокон в проксимальном отделе, сопровождающееся снижением числа дистрофических и увеличением

числа регенерирующих нервных волокон в дистальном отделе, свидетельствует о преобладании процессов регенерации в оперированном нерве при выполнении АТПКЛ в межплаточной области одновременно с нейрорафией. При этом отмечается интенсификация функционального восстановления поврежденных нейронов, что сопровождается формированием синаптических контактов между окончаниями их аксонов и мышечными волокнами. Ука-

Препараты седалищного нерва после нейрорафии (а, б), после нейрорафии с одновременной АТПКЛ (в, г) и нейрорафии с одновременной АТПКЛ и последующей ПЭС (д, е).

а, в, д — проксимальный участок нерва (выше шва); б, г, е — дистальный участок (ниже шва). Неизмененные нервные волокна показаны белыми стрелками, дистрофические — серыми, регенерирующие — черными. Окраска гематоксилин-эозином. Об. 40×.

**Концентрация нейроспецифических белков в сыворотке крови крыс на 7-е и 21-е сут после нейрорафии (НР) с последующей стимуляцией**

Группа	NF-H, пг/мл		NT3, нг/мл	
	7-е сут	21-е сут	7-е сут	21-е сут
Контроль (n = 11)	72.0 (39.86; 88.94)		0 (0; 0)	
НР (7-е сут: n = 9; 21-е сут: n = 6)	166.27 (130.13; 239.93) $P_1 = 0.000629$	219.12 (189.43; 299.29) $P_1 = 0.001089$ $P_2 = 0.345779$	0.0025 (0; 0.0040) $P_1 = 0.013544$	0 (0; 0) $P_1 = 0.959922$ $P_2 = 0.019561$
НР + АТПКЛ (7-е сут: n = 9; 21-е сут: n = 10)	63.97 (62.66; 80.85) $P_1 = 0.704043$ $P_3 = 0.000574$	71.84 (56.17; 81.99) $P_1 = 0.503515$ $P_2 = 0.806496$ $P_3 = 0.002857$	0.0046 (0; 0.0596) $P_1 = 0.040239$ $P_3 = 0.596242$	0.092 (0.059; 0.179) $P_1 = 0.002190$ $P_2 = 0.066193$ $P_3 = 0.010806$
НР + АТПКЛ + ПЭС (n = 8)	48.02 (42.85; 56.51) $P_1 = 0.302001$ $P_3 = 0.000636$ $P_4 = 0.014138$	67.23 (48.43; 96.9) $P_1 = 0.772579$ $P_2 = 0.127809$ $P_3 = 0.002415$ $P_4 = 0.689278$	0.1 (0.087; 0.124) $P_1 = 0.001089$ $P_3 = 0.001790$ $P_4 = 0.021557$	0 (0; 0) $P_1 = 0.967068$ $P_2 = 0.002415$ $P_3 = 0.948533$ $P_4 = 0.005129$

Примечание. Вероятность различий по сравнению с группой: контрольной ( $P_1$ ), с данными на 7-е сут внутри группы ( $P_2$ ), с НР ( $P_3$ ) и с АТПКЛ ( $P_4$ ).

занные изменения можно рассматривать как признаки стимулирующего влияния АТПКЛ на регенерацию поврежденных нервных волокон. Временные паттерны изменения концентраций нейроспецифических белков у животных этой группы свидетельствуют о более продолжительной, чем у животных без АТПКЛ, поддержке регенеративного процесса.

Регенерация нервных волокон у крыс, которым выполняли АТПКЛ и ПЭС на фоне нейрорафии. На морфологических препаратах проксимального отдела сшитого седалищного нерва в этой группе животных (см. рисунок, д) отмечали увеличение общего числа нервных волокон до 103 (90; 108), а числа регенерирующих — до 22 (15; 35) в поле зрения по сравнению с группой животных, которым выполняли только нейрорафию (табл. 1). Кроме того, происходило уменьшение числа дистрофических нервных волокон до 9 (3; 17) в поле зрения. При этом выявленные изменения значимых различий при сравнении с аналогичными показателями группы животных с АТПКЛ не имели (табл. 1).

Для дистального отдела оперированного седалищного нерва (см. рисунок, е) крыс данной группы было характерно увеличение общего числа нервных волокон в среднем до 77 (56; 95), а числа регенерирующих — до 56 (41; 75) в поле зрения (табл. 1) по сравнению с группой крыс только с нейрорафией. В дистальном отделе оперированного нерва крыс данной группы обнаружить неизмененные нервные волокна не удалось (см. рисунок, е). При сравнении с животными, которым выполняли только АТПКЛ одновременно с нейрорафией, у крыс, подвергнутых комплексной стимуляции, отмечали не достигающую статистической значимости тенденцию к увеличению общего числа нервных волокон в дистальном сегменте оперированного нерва (табл. 1).

Анализ параметров ЭНМГ у животных этой группы показал увеличение ЛП для ВП нерва, при этом амплитуда ВП составляла не более 30 % относительно контрольных значений (табл. 2). Амплитуда ВП нерва у животных данной группы превышала уровень значений в группе крыс с нейрорафией, но не имела отличий от аналогичного показателя в группе животных с одновременной с нейрорафией и АТПКЛ. Важным отличием этой группы животных являлось статистически значимое увеличение амплитуд М-ответа относительно аналогичных параметров в группе животных с изолированной АТПКЛ на фоне нейрорафии (табл. 2).

У животных, которым на фоне нейрорафии проводили комплексную стимуляцию, на 7-е и 21-е сут концентрация NF-H в сыворотке крови не отличалась от контрольных показателей и была значимо ниже аналогичных значений крыс только с нейрорафией (табл. 3). Концентрация NT3 у животных данной группы на 7-е сут эксперимента была статистически значимо выше как контрольных значений, так и аналогичных показателей в группе крыс, не подвергавшихся стимуляции, и животных, которым одновременно с нейрорафией выполняли АТПКЛ. При этом на 21-е сут NT3 в сыворотке крови не обнаруживался (табл. 3).

Таким образом, комплексная стимуляция на фоне нейрорафии способствует как морфологическому, так и функциональному восстановлению поврежденных нервных волокон. При этом функциональное восстановление протекает более интенсивно, чем в группе животных только с АТПКЛ, о чем свидетельствует увеличение амплитуд М-ответа при ЭНМГ. Комбинация АТПКЛ с ПЭС резко увеличивает концентрацию NT3 в крови на ранних этапах процесса регенерации, однако этот эффект нивелируется к 21-м сут.

## Обсуждение

Комплекс проведенных исследований позволяет заключить, что на 21-е сут после пересечения и нейрорафии седалищного нерва число дистрофически измененных нервных волокон как в проксимальном, так и дистальном отделах превалирует над относительно малым числом регенерирующих. Регенерирующие нервные волокна в дистальном отделе составляют 27 % от среднего числа всех подсчитанных, что соответствует данным, согласно которым при нейрорафии седалищного нерва через 1 мес количество регенерировавших нервных волокон составляет всего 31 % от общего числа (Горшков, 2009). Выявленные функциональные изменения отражают восстановление проводимости через зону нейрорафии, но при этом реиннервации мышечных волокон через 21 сут не происходит, что согласуется с данными литературы, которые свидетельствуют о появлении первых признаков восстановления двигательной активности у крыс при нейрорафии седалищного нерва только через 1.5—2 мес (Горшков, 2009).

Изменения концентраций нейроспецифических белков подтверждают данные морфологических и ЭНМГ-методов исследования. Увеличение концентраций NF-H характеризует дегенеративные процессы в нервной ткани (Guo et al., 2008; Boylan et al., 2013). В то же время подъем на 7-е сут уровня NT3 — одного из основных стимуляторов аксонального роста (Ramer et al., 2000; Daly et al., 2012) — и последующее снижение его концентраций через 21 сут свидетельствует о кратковременной поддержке регенеративных процессов данным фактором. Кроме того, следует отметить, что, согласно ранее опубликованным данным для белых крыс, к 21-м сут после перерезки и нейрорафии седалищного нерва развивается денервационная гиперчувствительность сосудов (Иванов и др., 2016б). Денервационная гиперчувствительность сосудов сопровождается уменьшением перфузии тканей оперированной конечности, что может объяснять как дегенеративные изменения нервных волокон, так и ограничения поддержки регенеративных реакций.

Таким образом, результаты собственных исследований позволяют заключить, что основными факторами, препятствующими восстановлению седалищного нерва, являются медленный рост, дегенеративные изменения аксонов и малая продолжительность поддержки регенеративных процессов ростовыми факторами.

При АТПКЛ в межлопаточную область животных одновременно с нейрорафией в проксимальном отделе седалищного нерва к 21-м сут эксперимента сохраняется больше неизмененных нервных волокон и увеличивается число регенерирующих нервных волокон как в проксимальном, так и в дистальном отделах при снижающемся числе дистрофических, что позволяет выделить регенеративный эффект примененного способа биостимуляции. Функциональное восстановление поврежденных нервных волокон при такой стимуляции протекает более интенсивно, что проявляется в ускорении начала процессов реиннервации мышц регенерирующими аксонами.

Нами обнаружен один из механизмов реализации регенеративного действия АТПКЛ на поврежденные нервные волокна, которое осуществляется за счет пролонгации продукции NT3. NT3 является одним из факторов, поддерживающих выживание нейронов при повреждении, важным стимулятором аксонального роста, а также

образования синаптических контактов (English et al., 2014; Wan et al., 2014). Пролонгация продукции NT3 может обуславливать уменьшение числа дистрофических нервных волокон в проксимальном отделе оперированного нерва и снижение уровня NF-H в крови под влиянием АТПКЛ, а также увеличение числа регенерирующих аксонов в дистальном сегменте и ускорение формирования ими синапсов на мышечных волокнах.

Механизм пролонгации продукции NT3 может быть связан с клеточными реакциями в зоне аутотрансплантации. Так, данные предыдущих исследований свидетельствуют о том, что в зоне аутотрансплантата накапливаются эозинофилы, макрофаги и лимфоциты (Иванов и др., 2016а), которые могут являться продуцентами широкого спектра биологически активных веществ, в том числе и NT3 (Barouch, Schwartz, 2002; Монастырская и др., 2008). Следует отметить, что регенеративный эффект АТПКЛ может быть также обусловлен дистантным стимулирующим влиянием на микроциркуляцию в пораженной конечности, что улучшает трофику и препятствует развитию дегенеративных изменений (Иванов и др., 2016б). Кроме того, не исключено прямое влияние на процесс регенерации компонентов разрушающегося аутотрансплантата, так как, согласно мнению ряда авторов, стимулирующее действие трансплантатов происходит за счет биологически активных веществ, остающихся после мембранолиза донорских тканей (Карушин, 2009; Канюков и др., 2015).

Регенеративное действие АТПКЛ у животных реализуется и усиливается ее комбинацией с ПЭС седалищного нерва после нейрорафии. При этом изолированное применение АТПКЛ и ее комбинация с ПЭС оказывают одинаковое влияние на функциональное состояние нерва, но различное по степени выраженности — на процессы реиннервации мышц. Учитывая, что амплитуда мышечного ответа представляет собой суммарный потенциал мышечных волокон стимулируемой мышцы, выявленная интенсификация реиннервации мышц под влиянием комплексной стимуляции может быть обусловлена более интенсивным спраутингом терминальных отделов регенерировавших аксонов (Кочетков и др., 2012; Naastert-Talini, Grothe, 2013). Следует также отметить различия по интенсивности и временному паттерну продукции NT3 при изолированном выполнении АТПКЛ и ее комбинации с ПЭС после нейрорафии. При комплексной стимуляции, включающей в себя АТПКЛ и ПЭС, наблюдается резкое увеличение уровня сывороточной концентрации NT3 на ранних этапах процесса регенерации. Наблюдаемое при этом снижение концентраций NT3 в период 7—21 сут при комплексной стимуляции может быть обусловлено ингибированием его выделения по механизму отрицательной обратной связи при интенсивном прорастании нервных волокон и активации реиннервации мышц.

Таким образом, как изолированная АТПКЛ, так и ее комбинация с ПЭС после нейрорафии седалищного нерва способствуют более интенсивному структурному и функциональному восстановлению нервных волокон. АТПКЛ пролонгирует продукцию NT3 у экспериментальных животных после нейрорафии седалищного нерва, а ее комбинация с ПЭС увеличивает продукцию этого фактора на ранних этапах процесса регенерации, что объясняет механизм наблюдаемого восстановления структуры и функции нервных волокон.

## Список литературы

- Горшков Р. П. 2009. Реабилитация больных с повреждением стволов плечевого сплетения (клинико-экспериментальное исследование): Автореф. докт. дис. Саратов. 45 с. (Gorshkov R. P. 2009. Rehabilitation of patients with damage to the trunk of the brachial plexus (clinical and experimental research). Doct. Thesis. Saratov. 45 p.)
- Губочкин Н. Г. 2011. Реконструктивно-восстановительное лечение раненых и пострадавших с сочетанными повреждениями сухожилий и нервов верхней конечности. Вестн. Балтийского федерального ун-та им. И. Канта. 7 : 45—50. (Gubochkin N. G. 2011. The reparative treatment of the wounded and injured with multisystem injuries to the tendons and nerves of the upper extremity. IKBFU's Vestnik. Ser. Natural and Medical sci. 7 : 45—50.)
- Древал О. Н., Кузнецов А. В., Джинджихадзе Р. С., Пучков В. Л., Берснев В. П. 2015. Клинические рекомендации по диагностике и хирургическому лечению повреждений и заболеланий периферической нервной системы. URL: [www.ruans.org/Files/Pdf/Guidelines/peripheral\\_nerves.pdf](http://www.ruans.org/Files/Pdf/Guidelines/peripheral_nerves.pdf). (Dreval O. N., Kuznetsov A. V., Dzhindzhikhadze R. S., Puchkov V. L., Bersnev V. P. 2015. Clinical recommendations for the diagnosis and surgical treatment of injuries and diseases of the peripheral nervous system. URL: [www.ruans.org/Files/Pdf/Guidelines/peripheral\\_nerves.pdf](http://www.ruans.org/Files/Pdf/Guidelines/peripheral_nerves.pdf).)
- Иванов А. Н., Матвеева О. В., Шутров И. Е., Лагутина Д. Д., Федонников А. С., Пучиньян Д. М., Козадаев М. Н., Норкин И. А. 2016а. Клеточные механизмы дистантного стимулирующего влияния ауто трансплантированного кожного лоскута на микроциркуляцию. Вестн. новых мед. технологий. 23 (2) : 72—78. (Ivanov A. N., Matveeva O. V., Shutrov I. E., Lagutina D. D., Fedonnikov A. S., Puchin'yan D. M., Kozadaev M. N., Norkin I. A. 2016a. Cellular mechanisms of skin autograft distant stimulating effect on microcirculation. J. New Med. Technol. 23 (2) : 72—78.)
- Иванов А. Н., Шутров И. Е., Нинель В. Г., Коршунова Г. А., Пучиньян Д. М., Норкин И. А. 2016б. Изменения микроциркуляции при комбинированной стимуляции в условиях нарушенной иннервации. Современные проблемы науки и образования. 3 : URL: [www.science-education.ru/ru/article/view?id=24630](http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24630). (Ivanov A. N., Shutrov I. E., Ninel V. G., Korshunova G. A., Puchin'yan D. M., Norkin I. A. 2016b. Microcirculation changes in conditions of impaired innervation and combined stimulation. Modern problems of science and education. 3 : URL: [www.science-education.ru/en/article/view?id=24630](http://www.science-education.ru/en/article/view?id=24630).)
- Каныков В. Н., Казан И. И., Санеева Ж. Х. 2015. Применение биоматериала в хирургическом лечении субатрофии глазного яблока. Вестн. Тамбов. ун-та. Сер.: Естественные и технические науки. 3 : 603—605. (Kanyukov V. N., Kagan I. I., Saneeva Z. K. 2015. Biomaterial application in surgical treatment of phthisis bulbi. Tambov Univ. Reports. Ser.: Natural and Technical Sci. 3 : 603—605.)
- Карушин О. И. 2009. Хирургическое лечение атрофии зрительного нерва при первичной глаукоме. Нац. журн. глаукома. 3 : 23—27. (Karushin O. I. 2009. Surgical treatment of the optic nerve atrophy in primary glaucoma. Nat. J. Glaucoma. 3 : 23—27.)
- Кочетков А. В., Москвин С. В., Карнеев А. Н. 2012. Лазерная терапия в неврологии. М.; Тверь: Триада. 360 с. (Kochetkov A. V., Moskvina S. V., Karneev A. N. 2012. Laser therapy in neurology. Moscow; Tver: Triada. 360 p.)
- Лямина Н. П., Карпова Э. С., Котельникова Е. В., Бизяева Е. А. 2015. Прекодиционирование на этапах инвазивного и восстановительного лечения больных ишемической болезнью сердца. Клини. мед. 93 (3) : 14—20. (Lyamina N. P., Karpova E. S., Kotelnikova E. V., Bizyaeva E. A. 2015. Preconditioning at the stages of invasive and rehabilitative treatment of patients with coronary heart disease. Klin. Med. 93 (3) : 14—20.)
- Монастырская Е. А., Лямина С. В., Мальшев И. Ю. 2008. M1 и M2 фенотипы активированных макрофагов и их роль в иммунном ответе и патологии. Патогенез. 6 (4) : 31—39. (Monastyrskaya E. A., Lyamina S. V., Malyshev I. Yu. 2008. M1 and M2 phenotypes of activated macrophages and their role in immune response and pathology. Pathogenesis. 6 (4) : 31—39.)
- Муслимов С. А., Лебедева А. И., Мусина Л. А., Соловьева Е. П. 2015. Восстановление баланса в системе «клетки—stroma» — ключевой фактор в регенерации тканей. Матер. 2-го нац. конгр. по регенеративной медицине. М.: Меди Экспо. 241 с. (Muslimov S. A., Lebedeva A. I., Musina L. A., Solovyeva E. P. 2015. Restoring the balance in the «cell—stroma» system is a key factor in the regeneration of tissues. Mater. of the 2nd Nat. Congr. on Regenerative Medicine. Moscow: Medi Expo. 241 p.)
- Пасечникова Е. В., Мальцев Э. В., Сотникова Е. П., Мороз О. А. 2011. Препараты тканевой терапии. Ч. 1. Общие положения и список литературы. Офтальмол. журн. 3 : 79—88. (Pasechnikova E. V., Maltsev E. V., Sotnikova E. P., Moroz O. A. 2011. Preparations of tissue therapy. Pt 1. General provisions and references. J. Ophthalmol. 3 : 79—88.)
- Петрова Е. С. 2015. Восстановление поврежденного нерва с помощью клеточной терапии (фундаментальные аспекты). Acta Naturae (русскоязычная версия). 7 (3) : 42—53. (Petrova E. S. 2015. Injured nerve regeneration using cell-based therapies: current challenges. Acta Naturae. 7 (3) : 38—47.)
- Шляхто Е. В., Баранцевич Е. Р., Щербак Н. С., Галагудза М. М. 2012. Молекулярные механизмы формирования ишемической толерантности головного мозга. Ч. 1. Вестн. ПАМН. 6 : 42—50. (Shlyakhto E. V., Barantsevich E. R., Shcherbak N. S., Galagudza M. M. 2012. Molecular mechanisms of development of cerebral tolerance to ischemia. Pt 1. Annals Russ. Acad. Med. Sci. 6 : 42—50.)
- Barouch R., Schwartz M. 2002. Autoreactive T-cells induce neurotrophin production by immune and neural cells in injured rat optic nerve: implications for protective autoimmunity. FASEB J. 16 : 1304—1306.
- Boylan K., Glass J., Crook J., Yang C., Thomas C., Desaro P., Johnston A., Overstreet K., Kelly C., Polak M., Shaw G. 2013. Phosphorylated neurofilament heavy subunit (pNF-H) in peripheral blood and CSF as a potential prognostic biomarker in amyotrophic lateral sclerosis. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. 84 : 467—472.
- Castellone M. D., Laatikainen L. E., Laurila J. P., Langelala A., Hematti P., Soricelli A., Salvatore M., Laukkanen M. O. 2013. Brief report: mesenchymal stromal cell atrophy in coculture increases aggressiveness of transformed cells. Stem Cells. 31 : 1218—1223.
- Daly W., Yao L., Zeugolis D., Windebank A., Pandit A. 2012. A biomaterials approach to peripheral nerve regeneration: bridging the peripheral nerve gap and enhancing functional recovery. J. Royal Soc. Interface. 9 : 202—221.
- English A. W., Wilhelm J. C., Ward P. J. 2014. Exercise, neurotrophins, and axon regeneration in the PNS. Physiol. 29 : 437—445.
- Gaudin R., Knipfer C., Henningsen A., Smeets R., Heiland M., Hadlock T. 2016. Approaches to peripheral nerve repair: generations of biomaterial conduits yielding to replacing autologous nerve grafts in craniomaxillofacial surgery. BioMed Res. Int. 2016 : 3856262. Doi: 10.1155/2016/3856262.
- Gordon T., Amirjani N., Edwards D., Chan K. M. 2010. Brief post-surgical electrical stimulation accelerates axon regeneration and muscle reinnervation without affecting the functional measures in carpal tunnel syndrome patients. Exper. Neurol. 223 : 192—202.
- Guy J., Shaw G., Ross-Cisneros F. N., Quiros P., Salomao S. R., Berezovsky A., Carelli V., Feuer W. J., Sadun A. A. 2008. Phosphorylated neurofilament heavy chain is a marker of neurodegeneration in Leber hereditary optic neuropathy (LHON). Mol. Vision. 14 : 2443—2450.
- Haastert-Talini K., Grothe C. 2013. Electrical stimulation for promoting peripheral nerve regeneration. Int. Rev. Neurobiol. 109 : 111—124.
- Ramer M., Priestley J., McMahon S. 2000. Functional regeneration of sensory axons into adult spinal cord. Nature. 403 : 312—316.
- Siemionow M., Brzezicki G. 2009. Current techniques and concepts in peripheral nerve repair. Int. Rev. Neurobiol. 87 : 141—172.



Sulaiman O., Gordon T. 2000. Effects of short- and long-term Schwann cell denervation on peripheral nerve regeneration, myelination, and size. *Glia*. 32 : 234—246.

Taylor C., Braza D., Rice J., Dillingham T. 2008. The incidence of peripheral nerve injury in extremity trauma. *Amer. J. Phys. Med. Rehabil.* 87 : 381—385.

Terzis J., Konofaos P. 2011. Radial nerve injuries and outcomes: our experience. *Plastic Reconstr. Surg.* 127 : 739—751.

Wan G., Gómez-Casati M. E., Gigliello A. R., Liberman M. C., Corfas G. 2014. Neurotrophin-3 regulates ribbon synapse density in the cochlea and induces synapse regeneration after acoustic trauma. *Elife*. 20 : 3.

Yin C., Salloum F. N., Kukreja R. C. 2009. A novel role of microRNA in late preconditioning: upregulation of endothelial nitric oxide synthase and heat shock protein 70. *Circ. Res.* 104 : 572—755.

Поступила 20 III 2017

THE INFLUENCE OF SKIN FLAP AUTOTRANSPLANTATION AND  
DIRECT ELECTROSTIMULATION OF SCIATIC NERVE ON NERVOUS FIBER REGENERATION

A. N. Ivanov,<sup>1</sup> I. E. Shutrov, V. G. Ninel', G. A. Korshunova, E. V. Gladkova, O. V. Matveeva,  
I. A. Mamonova, D. M. Puchin'yan, A. S. Fedonnikov, I. A. Norkin

Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery Saratov State Medical University  
of the Ministry of Health of Russia Saratov, 410002;

<sup>1</sup> e-mail: lex558452@gmail.com

The influence of full skin flap autotransplantation and its combination with direct electrostimulation on morphofunctional state of nervous fibers in sciatic nerve after its transection and neurorhaphy was studied in experiment on white male rats. Both full skin flap autotransplantation into interscapular region and full skin flap autotransplantation followed by direct electrostimulation after neurorhaphy correlate with better and more intense structural and functional restoration of nervous fibers. This manifested by less significant degenerative changes and raised number of preserved unaltered nervous fibers in the proximal segment of the operated nerve, as well as by promoted germination of axons, better conduction through the neurorhaphy area and accelerated muscular fiber reinnervation. After sciatic nerve neurorhaphy and full skin flap autotransplantation, laboratory rats demonstrated prolonged neurotrophin-3 production whereas those animals which underwent autotransplantation combined with direct electrostimulation showed increase in neurotrophin-3 production at the beginning of regenerative process which explicates the mechanism of revealed restorative effects on structure and functions of nervous fibers.

Key words: regeneration, nervous fibers, neurorhaphy, skin flap, electrostimulation, neurotrophic factors.