

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ ВНУТРЕННЕЙ ПАТОЛОГИИ

*ГЕРАСИМОВА Е.А., *ГЕРАСИМОВ А.А., **МЕНЬШИКОВА И.А.*

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ВНУТРИКАНЕВОЙ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ ПОЗВОНОЧНИКА ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ФУНКЦИИ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ НЕРВОВ

**Уральская государственная медицинская академия*

***ФГУН РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова, г. Курган*

Проблема лечения травматических поражений периферических нервов до настоящего времени остается актуальной, так как более 60% пострадавших с данными повреждениями становятся инвалидами 2-3 гр. Частота повреждений периферических нервов составляет от 1,5 до 10% от всех травм (В.Д. Свистов, 1998). При закрытых травмах конечностей - от 1,5 до 7,6 %, при открытых - от 10,6 до 35,6 % (К.А. Григорович, 1981).

Усовершенствование методов лечения травм нервов заключается в разработке средств и способов, направленных на ускорение ремислинизации, регенераторного и коллатерального спрутинга (ветвления), замедление денервационных изменений тканей, стимуляцию периферической нервной системы (P.S. Jackson, J. Diamont, 1981).

Применение электростимуляции при восстановлении функции периферических нервов, в настоящее время общепризнанно. Однако вопрос о применении электростимуляции после шва нерва до настоящего времени весьма противоречив. Одни авторы говорят о том, что электрическое поле, приложенное в месте роста нервных волокон, останавливает удлинение аксонов (D.M. Barnes, 1985). Другие авторы установили, что электростимуляция поврежденного нерва токами высокой частоты вызывает ускорение аксональной регенерации без каких-либо отрицательных эффектов для окружающих тканей (M.A. Bisby, 1985, F. Coria et all., 1987).

Профессором А.А. Герасимовым разработаны высокоэффективные методики восстановления проводимости периферических нервов (патент 1273120), ускоряющие восстановление функции конечности в 4-10 раз быстрее общепринятых методов. Отличительной особенно-

стью метода является воздействие током не только на ствол нерва, но и на спинномозговые нейроны.

Выявлены основные механизмы лечебного воздействия метода внутритканевой электростимуляции: общерефлекторный, заключающийся в воздействии на центры головного и спинного мозга; местный, заключающийся в воздействии тока на костную ткань, восстановлении её микроциркуляции и кровообращения; воздействие на периферические нервы, идущие к больной конечности или внутренним органам.

Однако на сегодняшний день отсутствуют работы по комплексному экспериментально-клиническому подтверждению эффективности применения внутритканевой электростимуляции для лечения больных ортопедо-травматологического профиля, а в частности, в качестве одного из методов реабилитации пациентов после микрохирургического шва нерва.

Цель исследования. Изучить морфо-функциональные характеристики седалищного нерва собаки, регенерирующего после эпинеурального микрохирургического шва, в условиях применения внутритканевой электростимуляции по А.А. Герасимову.

Материал и методы исследования. Проведено 14 опытов на взрослых беспородных собаках. Эксперимент включал выполнение операции (пересечение седалищного нерва и первичный шов - у всех 14 собак) и применение электростимуляции у 8 собак из 14.

Всем животным пересекали седалищный нерв в с/з бедра и сшивали эпинеуральным швом с использованием операционного микроскопа фирмы Opton с увеличением 8 нитью калибра 8/0 на атравматических иглах фирмы Ethicon. С учетом расположения эпинеуральных сосудов накладывали 6 узловых эпинеуральных швов, тщательно сопоставляя эпинеурит.

Методика внутритканевой электростимуляции. Всем животным каждый сеанс внутритканевой электростимуляции проводился с предварительной премедикацией. Двум животным (из 8) электростимуляцию проводили под тиопенталовым наркозом из расчета 20-25 мг на 1 кг веса животного. Иглу-электрод подводили к $L_1 - L_2 - L_3$ позвонкам и подводили отрицательный ток частотой 20 Гц периодами в 2 сек. (2 сек. интервал) в течение 30 мин. накожный пассивный электрод 2 см² укладывали в проекции нерва на голени.

Двум животным проводился один курс внутритканевой электростимуляции из 12 сеансов, который начинался через 1 месяц после операции и заканчивался через 2 месяца после операции (1-я группа животных). Двум животным проводился один курс ВЭС из 18 сеансов, который начинался через 1 месяц после операции (2-я группа животных). Трём животным через 3 недели после операции проводился пер-

воначальный курс ВЭС из 11 сеансов, а затем через 2,5 месяца выполнялся повторный курс из 11 сеансов, который заканчивался через четыре месяца после операции - в день забоя (3-я группа животных).

В контрольной серии (К) электростимуляцию не проводили.

Методы исследования. В процессе выполнения работы использованы: экспериментально-клинический, гистоморфометрический, электрофизиологический, (ЭНМГ), статистический методы исследования.

Экспериментально-клиническое исследование включало оценку общего, ортопедического и неврологического статуса животных. Изменения опорной функции, походки и трофического состояния конечности регистрировали в стандартные сроки (1, 2, 3, 4 месяца после операции). Опорная функция оценивалась при обычной ходьбе и при усилении динамической или статической нагрузки (после бега или ходьбы по лестнице, при перенесении веса тела на тазовые конечности - при стоянии "на задних лапах" легче выявить отсутствие или ослабление опоры оперированной конечности - дрожание или отдергивание от поверхности пола).

К настоящему времени из опыта выведено 8 животных из 10 (срок - 4 месяца). Иссекали участки оперированного седалищного нерва, включающие зону швов, длиной 4 см и аналогичные участки контрольного нерва (интактный нерв). После иммерсионной альдегидно-осмиевой фиксации материал заливали в эпоксидные смолы. Поперечные полутонкие (1,0 мкм толщиной) срезы нервов проксимальнее и дистальнее уровня швов изучали под микроскопом. Определяли численную плотность профилей мягкотных нервных волокон ($NA_{МНВ}$), рассчитывали индекс невротизации - отношение $NA_{МНВ}$ дистальнее и проксимальнее анастомоза. Измеряли диаметры мягкотных волокон и их аксонов, рассчитывали среднюю толщину миелина. Отношение аксон/миелин выражали как число G (частное от деления диаметра осевого цилиндра на диаметр волокна) [Schmitt F.O., Bear R.S., 1937]. Оценивали прецизионные гистограммы распределения мягкотных волокон по диаметру. Для контроля морфометрировали полутонкие срезы 3 интактных седалищных нервов.

Электрофизиологические исследования проведены по общепринятой методике (С. Байкушев и др., 1974). До начала эксперимента, перед повторной операцией (нейрорафия), и после нее ежемесячно в течение 4-5 месяцев.

Фоновую (в состоянии покоя) и вызванную (М-ответы) биоэлектрическую активность икроножной и передней большеберцовой мышц регистрировали с помощью цифровой ЭМГ-системы-1500 (фирма Dantec, Дания). В первом случае использовался биполярный игольча-

тый электрод 13К13.

Результаты исследований. После пересечения и первичного эпинеурального микрохирургического шва седалищного нерва у собак симптомы выпадения его функции максимально выражены в первые 2 месяца эксперимента. К третьему месяцу у большинства животных ликвидировались трофические расстройства, а к четвертому - опорно-двигательные (у некоторых животных полностью, а у некоторых - частично). В опытной серии функциональное выздоровление наступило у 7 собак из 8 через 3 мес., в контрольной серии только у 2 собак из 6.

Результаты гистоморфометрических исследований. Полученные нами гистоморфометрические характеристики интактного седалищного нерва собак (Щудло Н.А. и др., 2001) сопоставимы с таковыми у человека (Fiola M.R., 1985). Численная плотность нервных волокон в доминантных пучках варьировала от 9 до 12 тыс. на 1 мм^2 .

При аутопсии у всех животных отмечалась умеренная спаянность зоны повреждения/шва седалищного нерва с окружающими тканями. Поперечник нерва на уровне зоны швов, как правило, был утолщен по сравнению с проксимальным отрезком. Это утолщение составляло от 1,2 до 1,5 раз в контроле, а в опыте в отдельных случаях достигало 2,0. Оно определялось развитием эпи-перинеурального рубца и степенью нейроматоза. Через 4 месяца после операции (но не через 2,5 и не через 12 месяцев) отмечалось некоторое истончение дистального отрезка нерва в сравнении с проксимальным, которое было обусловлено выраженной именно в этот срок атрофией временно денервированных эндоневральных трубок.

У всех прооперированных животных в контрольной группе $NA_{\text{МНВ}}$ проксимальнее линии шва превысила интактную норму в 1,5-2 раза, поскольку срезы проксимального отрезка нерва помимо нервных зрелых волокон содержали большое количество новообразованных. Новообразованные мягкотные волокна отличались малым диаметром и повышенным индексом аксон/миелин.

К 4 месяцам после операции дистальный отрезок во всех опытах содержал большое количество мягкотных и безмякотных волокон. Численная плотность мягкотных волокон в дистальном отрезке нерва была выше не только в сравнении с интактной нормой, но и в сравнении с проксимальным отрезком.

Разницы между сериями по этому параметру не выявлено. Можно лишь сделать вывод о том, что ни в одном из опытов не было явлений «ареста» аксонального роста (когда индекс невротизации меньше 1), что обычно связывают с формированием грубого рубца в зоне швов и интраневральным фиброзом. На падящий характер выполненного оперативного

вмешательства указывает также и тот факт, что периневрий сохранял типичное тонколамеллярное строение. По-видимому, после микрохирургического шва между концами нерва не образуется грубого и протяжённого рубца, но в процессе репарации оболочек нерва (эпи-, пери- и эндоневрия) формируется определенное микроокружение нервных волокон, на что указывает высокий невротизационный индекс.

Практически во всех опытах встречаются немногочисленные вторично дегенерировавшие нервные волокна (как правило, от 1 до 4 в поле зрения). По-видимому, такой процесс вторичной дегенерации свидетельствует об элиминации избыточного количества регенерировавших волокон.

Характер гистограммы распределения мякотных нервных волокон по диаметру и средние морфометрические параметры свидетельствует о более выраженном преобладании мелкого калибра в популяции мякотных волокон через 4 месяца после операции в условиях серии первой по сравнению с серией контрольной.

Такая тенденция указывает на протекание хорошо известного синдрома «трофического перенапряжения нервных волокон», которому в большей степени подвержены именно «пионерские» нервные волокна, опережающие основной фронт регенерации и затем созревающие раньше других (известно, что рост осевого цилиндра регенерирующего волокна в толщину начинается уже тогда, когда он достигает периферии).

В условиях серии второй по сравнению с контролем вариативность нервных волокон больше (больше максимальный диаметр и шире гистограмма распределения по диаметру), средний диаметр мякотных волокон больше, пик гистограммы распределения по диаметру смещён вправо. Это позволяет сделать вывод о тенденции к более быстрому восстановлению популяции мякотных волокон.

По данным количественного анализа, через 12 месяцев после операции по сравнению с предыдущим сроком объёмная плотность нейральных элементов увеличивается как в опыте, так и в контроле (таблица 1). Разница между сериями по этому параметру нивелируется. Численная плотность мякотных волокон превышает показатель интактного нерва по-прежнему у всех животных, но не так значительно, как на предыдущем сроке (у некоторых собак - почти в вдвое, у некоторых - более чем вдвое). У животных с меньшими значениями численной плотности мякотные волокна более дифференцированы. Размерные морфометрические характеристики мякотных волокон по сравнению с предыдущим сроком увеличены. Не выявляется разницы между опытом и контролем по параметру "средняя толщина миелина". Показатели "средний диаметр мякотных волокон" и "средний диаметр аксонов" в опыте больше.

Таблица 1

Результаты морфометрического исследования регенерирующего седалищного нерва через 12 месяцев после операции

№ п. п.	№ собаки	Объемная плотность нейтральных элементов	Численная плотность (мм ⁻²)	Средний диаметр мякотных волокон (мкм)	Средняя толщина миелина (мкм)	Средний диаметр аксонов (мкм)
1.	S2610	81,4%	18852 ± 1404	6,74 ± 0,14	1,61 ± 0,03	3,53 ± 0,08
2.	S2654	78%	31095 ± 1737	5,15 ± 0,09	1,16 ± 0,02	2,84 ± 0,06
3.	S2684	72,1%	19636 ± 1545	5,44 ± 0,16	1,16 ± 0,02	3,12 ± 0,12
4.	K2309	68,6%	22360 ± 986	4,60 ± 0,08	1,11 ± 0,02	2,38 ± 0,06
5.	K2761	74,8%	35333 ± 2560	4,52 ± 0,09	1,06 ± 0,02	2,40 ± 0,06
6.	K2799	78,2%	30700 ± 3393	5,08 ± 0,12	1,16 ± 0,02	2,77 ± 0,08

Распределение регенерирующих мякотных волокон по диаметру через 12 месяцев после операции так же, как и в более ранние сроки после операции, не подчиняется нормальному закону. При сравнении центров эмпирических распределений с помощью W-критерия Вилкоксона различия между сериями достоверны ($p < 0,001$).

При анализе распределения мякотных волокон по спектру калибров проведено также сопоставление мер количества информации по Шеннону в опыте и контроле с соответствующими параметрами интактного нерва. Данные таблицы 2 свидетельствуют, что по всем количественным информационным показателям группа "опыт" занимает промежуточное положение между интактным нервом и группой "контроль". Сопоставление информационных характеристик нервов, регенерирующих в разных условиях (опыт и контроль) позволяет оценить степень зрелости (дифференцировки) их миелоархитектоники. По данным литературы (Леонток А.С. и др., 1981), в ходе онтогенетического развития спинномозговых нервов млекопитающих и человека их структурное разнообразие (энтропия) нарастает, а избыточность и структурная организация уменьшаются. С учётом имеющихся в литературе сведения об основной тенденции онтогенеза можно сказать, что в данном исследовании в условиях опыта достигается более продвинутый уровень дифференцировки мякотных волокон, чем в контроле.

Доля мякотных волокон ≥ 5 мкм диаметром в интактных нервах составляет в среднем 66,6%. В опытной серии этот показатель в сред-

нем равен 51,6%, а в контрольной серии - 41,2%. Применение точного критерия Фишера в качестве тетраэрического теста для проверки гипотезы о различиях опытной и контрольной серий по этому параметру даёт $p < 0,001$.

Таблица 2

Результаты информационного анализа мягкотных волокон в интактном нерве через 12 месяцев после операции в разных группах

Параметры	Выборки		
	Интактный	Опыт	Контроль
Классов	17	14	12
Вариант	0,998	1	1
Энтропия по Шеннону	3,70165	3,31716	2,8884
Максимальная энтропия	4,08746	3,80735	3,58496
Относительная энтропия	0,90561	0,87125	0,8057
Избыточность (%)	9,43888	12,8749	19,4302
Организация	0,38581	0,49019	0,69657

В целом данные таблицы 6 свидетельствуют, что в опытной серии крупные мягкотные волокна имеют в среднем более толстые миелиновые оболочки и более крупные осевые цилиндры, чем в контроле, причём средний диаметр осевых цилиндров оказывается сопоставимым с соответствующим параметром интактного нерва.

Результаты электрофизиологических исследований. В первый месяц после операции перед началом ВЭС в обеих мышцах голени регистрируются потенциалы фибрилляции (ПФ). При монополярном отведении М-ответы регистрируются во всех мышцах и у всех животных. Их амплитуда колеблется от нескольких сот микровольт до 5-8 милливольт.

На третий месяц после операции биоэлектрический фон отсутствует в обеих мышцах практически у всех экспериментальных животных, за исключением двух наблюдений. При монополярном отведении во всех случаях регистрируется хорошо выраженный М-ответ, амплитуда которого в большинстве наблюдений незначительно увеличилась по сравнению с предыдущими обследованиями.

Следует подчеркнуть, что денервационно-реиннервационный процесс носит волнообразный характер соответствующий колебательному переходному процессу (М.С. Сайфутдинов и др., 2001). Этим объясняется волнообразные изменения амплитуды М-ответа.

Таким образом, применение ВЭС у экспериментальных животных после шва нерва способствует более быстрому, по сравнению с контролем, исчезновению повышенной ЭМГ покоя, незначительному снижению в ранние сроки эксперимента, а затем (к 9-12 месяцу) повы-

плению амплитуды М-ответов мышц голени.

Обсуждение результатов. Исследование численно-размерного состава проводниковой части регенерирующего после пересечения и шва седалишного нерва собак свидетельствуют, что в условиях электростимуляции происходит ускорение роста осевых цилиндров и последующей дифференцировки нервных волокон. Нервные волокна, регенерировавшие в ранние сроки, могут подвергаться массовой вторичной дегенерации, повидимому, в результате нарушений трофического обеспечения.

В отдалённый срок (12 месяцев после операции - 9,5 месяцев после окончания курса электростимуляции) разница в объёмной плотности нейральных элементов по сравнению с контролем нивелируется, однако показатели дифференцировки мягкотных волокон (средние диаметры аксонов крупных волокон и толщина их миелиновых оболочек) оказываются достоверно лучшими, чем в контроле. Показатель "средний диаметр аксонов во фракции крупных мягкотных волокон" сопоставим с соответствующим параметром интактного нерва.

Картина денервационно-реиннервационного синдрома свидетельствует, что перерыв в электростимуляции в период от 1,5 до 2,5 месяцев после операции нежелателен: ведь именно в 2,5 месяца интенсивность денервационных изменений органов-мишеней максимальна. При этом сопоставление морфометрических показателей регенерации в группах О1 и О2 заставляет предположить, что оптимальная длительность первого курса электростимуляции превышает 12 сеансов. В сроки более 3 месяцев после операции проведение электростимуляции представляется напротив нерациональным, так как в это время у животных клинически выражена компенсация денервационных изменений, а некоторые находятся в состоянии функционального выздоровления. Всё вышеперечисленное определило длительность и сроки проведения электростимуляции в серии О3: единственный курс из 18 сеансов с окончанием в 2,5 месяца после операции.

У одной собаки из 3 отмечается практически полное совпадение гистограммы распределения по спектру калибров мягкотных волокон с интактной нормой, чего нет в контроле. Информационный анализ по Шеннону также свидетельствует о более эффективном восстановлении миелоархитектоники регенерирующего нерва в условиях электростимуляции по сравнению с контролем.

Таким образом, результаты опытов заставляют предположить, что внутритканевая электростимуляция позвоночника обладает стойким системообразующим влиянием на клеточные тела нейронов, модулирующим их структурно-функциональную активность в процессе денервации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Байкушев С. и др. Стимуляционная электромиография и электронейрография в клинике нервных болезней / С. Байкушев, Э.Х. Манович, В.П. Новикова. - М., 1974. -143с.
2. Белоярцев Ф.Ф. Электромиография в анестезиологии. - М.: Медицина, 1980.-232с.
3. Сайфутдинов М.С., Сизова Т.В., Чикорина Н.К., Щудло Н.А., Шамара А.В. Морфофункциональная характеристика мышц голени собак при регенерации пересеченного седалищного нерва в условиях distractionного остеосинтеза бедренной кости // Геней ортопедии. – 2001. - № 3. - С.64-71.
4. Щудло Н.А., Щудло М.М., Борисова И.В., Мещерягина И.А. Индекс невротизации и параметры восстановления популяции мягкотных волокон в пересеченном и регенерирующем нерве при использовании естественного плазматического склеивания торцов его отрезков и микрохирургического анастомозирования // Известия Челябинского центра УрО РАН. - 2001. - Вып. 4(13). - С.82-87.
5. Щудло Н.А., Щудло М.М., Кузнецова А.Б., Сайфутдинов М.С., Сизова Т.В. Электрофизиологическая и нейростологическая характеристика реиннервации мышц при сшивании удлинённых отрезков поврежденного нерва и при имплантации удлинённой проксимальной культы нерва в мышцу // Геней ортопедии. - 1995. - № 1. - С.21-25.
6. Fiola M.R. Peripheral nerve morphometry for daily practice. // Analytical and Quantitative Cytology and Histology; 1985.- V.7,N4, December- P.299-304.
7. Schmitt F.O., Bear R.S. The optical properties of vertebrate nerve axons related to fiber size // J.Cell Comp.Physiol. – 1937. - V.9, N3. - P.261-273.

***ГЕРАСИМОВ А.А., **МЕНЬШИКОВА И.А., ГУСАМОВ Ф.М.**

ВНУТРИКАНЕВАЯ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИЯ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ЗАМЕДЛЕННОГО ОСТЕОСИНТЕЗА

**Уральская государственная медицинская академия*

***ФГУН РИЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова, г. Курган*

Замедленная консолидация костей голени является не только следствием погрешностей в лечении и местного нарушения кровообращения, но и нарушения иннервации конечности. За трофическую функцию конечности отвечает симпатическая нервная система. Несмотря на множество методов, и приемов лечения электрическим током нарушений консолидации переломов (В.А.Ланда, 1980; Ж.М.Сиджанов, В.В.Рущкий, С.С.Ткаченко, 1989), в настоящее время сохраняется актуальность этой проблемы.