

## **ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ ПРИ КОМБИНИРОВАННОЙ СТИМУЛЯЦИИ В УСЛОВИЯХ НАРУШЕННОЙ ИННЕРВАЦИИ**

**Иванов А.Н., Шутров И.Е., Нинель В.Г., Коршунова Г.А., Пучиньян Д.М., Норкин И.А.**

*Саратовский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии, Саратов, e-mail: lex558452@rambler.ru*

Проведена оценка изменений микроциркуляции и механизмов ее модуляции, возникающих при перерезке и нейрографии седалищного нерва у крыс. Эксперименты выполнены на двух группах белых крыс: группа сравнения – животные, которым выполнялось пересечение и нейрография седалищного нерва, экспериментальная группа – животные, которым осуществлялась аутотрансплантация полнослойного кожного лоскута (АТПКЛ) в межлопаточную область, и прямая электростимуляция (ПЭС) седалищного нерва после его пересечения и нейрографии. Микроциркуляцию кожи анализировали с помощью лазерной доплеровской флоуметрии. Было установлено, что перфузия кожи и нормированные амплитуды нейрогенных колебаний в послеоперационном периоде снижаются, что свидетельствует о развитии денервационной гиперчувствительности сосудов в зоне нарушенной иннервации. Было установлено, что сочетание АТПКЛ и ПЭС обеспечивают быстрое восстановление кровотока в условиях нарушенной иннервации. Влияние комбинированной стимуляции на микроциркуляцию связано с изменениями активных механизмов модуляции кровотока и характеризуется эндотелиальной вазодилатацией и уменьшением нейрогенного тонуса микрососудов.

Ключевые слова: нейрография, микроциркуляция, аутотрансплантация кожного лоскута, электростимуляция, лазерная доплеровская флоуметрия.

## **MICROCIRCULATION CHANGES IN CONDITIONS OF IMPAIRED INNERVATION AND COMBINED STIMULATION**

**Ivanov A.N., Shutrov I.E., Ninel V.G., Korshunova G.A., Puchinyan D.M., Norkin I.A.**

*Saratov Research Institute of Traumatology and Orthopaedics, Saratov, e-mail:lex558452@rambler.ru*

Microcirculation and its modulation mechanisms changes in condition of sciatic nerve transection and neurotomy in rats were evaluated. The experiments were conducted on two groups of white rats: comparison group – the animals with sciatic nerve transection and neurotomy and experimental – animals exposed to skin flap autografting (SFA) in interscapular region and direct electrical stimulation (DES) of sciatic nerve after its transection and neurotomy. Skin microcirculation was analyzed by laser Doppler flowmetry. It was established that skin perfusion and normalized amplitudes of neurogenic oscillations during postoperative period was decreased, which indicated a development of vascular hypersensitivity in the zone of impaired innervation. It was found that the combination of SFA and DES improved recovery of blood flow in condition of impaired innervation. The effect of combined stimulation on microcirculation was associated with changes in the active control mechanisms and was characterized by endothelial vasodilation and reduction of neurogenic microvascular tone.

Keywords: neurotomy, microcirculation, skin flap autografting, electrical stimulation, laser Doppler flowmetry.

При повреждении периферических нервов происходит нарушение вегетативной иннервации и развитие денервационной гиперчувствительности, сопровождающиеся спазмом сосудов микроциркуляторного русла [5,6,8,10]. Адекватное функционирование микроциркуляторного русла в свою очередь является необходимым условием для репаративных процессов [3]. В предыдущих исследованиях было установлено, что аутотрансплантация кожного лоскута способна оказывать дистантный стимулирующий эффект на систему микроциркуляции [4]. В литературных источниках имеются сведения о положительном влиянии электрического тока не только на поврежденный нервный

проводник – аксон, но и на периневрально расположенные ткани [2,7]. В этой связи целью настоящего исследования являлось экспериментальное исследование комбинированного влияния аутотрансплантации полнослойного кожного лоскута и прямой электростимуляции на микроциркуляторное русло в условиях нарушенной иннервации.

### **Материалы и методы исследования**

Экспериментальные исследования выполнены на 30 белых беспородных крысах-самцах массой 200–250 г., разделенных на 2 группы. Животным первой опытной группы выполнялась только пересечение и нейрорафия седалищного нерва (группа сравнения). Животным второй опытной группы одновременно с нейрорафией седалищного нерва осуществлялась аутотрансплантация полнослойного кожного лоскута в межлопаточную область и установка электродов на седалищный нерв для электростимуляции (группа комбинированной стимуляции).

При проведении экспериментов на животных соблюдались этические принципы в соответствии с Женевской конвенцией (Geneva, 1990). За 5 минут до проведения манипуляций животным вводилась внутримышечно комбинация золетила («Virbac Sante Animale», Франция) в дозе 0,1 мл/кг и ксилазина («Interchemie», Нидерланды) в дозе 1 мг/кг для достижения наркоза.

Под наркозом производили пересечение седалищного нерва на уровне средней трети бедра, после чего осуществляли его нейрорафию путём наложения эпиневральных швов с применением микрохирургической техники, атравматических игл и шовного материала 10/0 или 8/0 USP.

Аутотрансплантацию полнослойного кожного лоскута проводили в области холки. Для этого полнослойный кожный лоскут размером 0,1 % от площади поверхности тела иссекали на депилированном участке кожи в асептических условиях. Иссеченный лоскут поочередно обрабатывали 3 %-ным раствором H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 70 %-ным – C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH и 0,9 %-ным – NaCl с целью удаления разрушенных клеток и дезинфекции. В ране между кожей и собственной фасцией формировали канал, в который помещали обработанный лоскут. Для фиксации лоскута в сформированном канале рану ушивали послойно наглухо.

Установку электродов для прямой электростимуляции выполняли в зону нейрорафии. Для этого на расстоянии порядка 10 мм выше и ниже зоны нейрорафии к дистальному и проксимальному концам поврежденного нерва эпиневрально подводили активные концы электродов, представляющие собой освобожденные от изоляции на протяжении не менее 2–5 мм участки многожильных проводов диаметром порядка 0,5 мм. Во избежание перемещения электродов по стволу нерва или потери контакта с нервным стволом электроды фиксировали к эпиневральному с помощью хирургической губки «Тахокомб» (фирма «Никомед»), обладающей

адгезивными свойствами. Свободные концы – провода электродов выводили наружу, на поверхность кожного покрова к источнику электрических сигналов, фиксируя их на ней.

Стимуляцию нервного ствола осуществляли в период с 3-х по 21-е сутки после проведения нейрорафии при помощи аппарата «Миоволна» (рег. удостоверение № ФСР 210/06873 от 01.03.2010 г.) с амплитудой стимулирующего тока 0.5–2.0 мА, частотой 25–30 Гц, длительностью 0.1 мс биполярными электрическими импульсами прямоугольной формы в течение 20 минут 3 раза в день.

Микроциркуляцию исследовали методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) с помощью компьютеризированного лазерного анализатора микроциркуляции крови «ЛАКК-ОП» (производство НПП «Лазма», Россия) с использованием программы LDF 3.0.2.395. Световодный зонд фиксировали на коже тыльной поверхности стопы оперированной конечности. Длительность записи составляла 8 минут. Регистрацию ЛДФ-грамм проводили на 14 и 21 сутки после нейрорафии седалищного нерва. В качестве контроля использованы записи (n=15), сделанные до оперативного вмешательства (интактные животные).

Статистическую обработку данных осуществляли средствами программ MSExcel 2013 и Statistica 10.0. Большинство наших данных имеют распределение отличное от нормального, поэтому при сравнении групп использовали U-критерий Манна – Уитни.

### **Результаты**

При анализе микроциркуляторных показателей на 14 сутки после оперативного вмешательства было установлено, что у животных, которым выполнялась только нейрорафия седалищного нерва, происходит статистически значимое снижение перфузионного показателя (табл. 1). При этом происходят изменения в работе активных механизмов контроля микроциркуляции. Нормированные амплитуды эндотелиальных и нейрогенных колебаний статистически значимо снижены относительно контрольных показателей. Нормированные амплитуды миогенных колебаний отличий от контрольных показателей не имеют (табл.1).

На 21 сутки после оперативного вмешательства у животных данной группы при сравнении с контрольными значениями отмечается статистически значимо низкий уровень перфузионного показателя (табл.1). При сравнении с аналогичным показателем на 14 сутки, отмечается статистически значимое повышение перфузионного показателя. Нормированные амплитуды эндотелиальных колебаний к 21 суткам от контрольных значений и показателей на 14 сутки не отличаются. Нормированные амплитуды нейрогенных колебаний сохраняют статистически значимый низкий уровень относительно контроля. Нормированные амплитуды миогенных колебаний существенных изменений как по отношению к

контрольным значениям, так и по отношению к показателям на 14 сутки не претерпевают (табл. 1).

**Таблица 1**

**Динамика микроциркуляторных показателей  
у животных группы сравнения**

Показатели		Группа Контроль	14 сутки	21 сутки
Показатель перфузии, перф. ед.		11,6 (10,1;13,3)	7,45(6,65;8,45) $p_1=0,000006$	8,15 (7,75; 10,00) $p_1=0,000126$ $p_2=0,048308$
Нормированные амплитуды колебаний, отн. ед.	Эндотелиальных	13,01 (10,33;17,93)	9,41(8,34;11,76) $p_1=0,005960$	11,71 (8,59;13,32) $p_1=0,059656$ $p_2=0,323482$
	Нейрогенных	11,3 (10,52;12,62)	7,1(5,43;7,96) $p_1=0,000005$	7,64 (6,80;8,58) $p_1=0,000051$ $p_2=0,133284$
	Миогенных	6,55 (5,00;7,88)	6,83(5,27;8,1) $p_1=0,828468$	7,19 (6,47;10,32) $p_1=0,064314$ $p_2=0,189545$

**Примечания:** в каждом случае приведены медиана, верхний и нижний квартили;  $p_1$ ,  $p_2$  – по сравнению с контролем и 14 сутками эксперимента.

При анализе микроциркуляторных показателей животных, которым выполнялась комбинированная стимуляции, было установлено, что на 14 сутки после оперативного вмешательства перфузионный показатель статистически значимо ниже контрольных значений, при этом статистически значимо выше, чем в группе сравнения (табл. 2). Изменения в работе активных механизмов контроля микроциркуляции характеризуются повышением нормированных амплитуд эндотелиальных колебаний как относительно контроля, так и относительно показателей группы сравнения. В то же время нормированные амплитуды нейрогенных колебаний на 14 сутки после оперативного вмешательства отличий от контроля не имеют, при этом статистически значимо выше, чем в группе сравнения. Нормированные амплитуды миогенных колебаний отличий от контрольных значений и показателей группы сравнения не имеют (табл. 2).

**Таблица 2**

**Динамика микроциркуляторных показателей у животных  
при комбинированной стимуляции**

Группа		Контроль	Группа КС 14 сутки	Группа КС 21 сутки
Показатели				
Показатель перфузии, перф.ед.		11,6 (10,1;13,3)	9,65 (8,4;11,1) $p_1=0,005630$ $p_{cp}=0,000090$	10,4 (9,4;17,1) $p_1=0,386294$ $p_2=0,072187$ $p_{cp}=0,000604$
Нормированные амплитуды колебаний, отн. ед.	Эндотелиальных	13,01 (10,33;17,93)	18,36 (16,88;22,54) $p_1=0,000986$ $p_{cp}=0,000001$	18,57 (16,3;19,4) $p_1=0,004293$ $p_2=0,742910$ $p_{cp}=0,000078$
	Нейрогенных	11,3 (10,52;12,62)	13,26 (10,57;16,67) $p_1=0,086006$ $p_{cp}=0,000018$	12,37 (8,3;14,69) $p_1=0,700202$ $p_2=0,313309$ $p_{cp}=0,002946$
	Миогенных	6,55 (5,00;7,88)	5,45 (3,94;6,09) $p_1=0,056014$ $p_{cp}=0,104294$	5,05 (4,06;6,38) $p_1=0,050309$ $p_2=0,874514$ $p_{cp}=0,000604$

**Примечания:** в каждом случае приведены медиана, верхний и нижний квартили;  $p_1$ ,  $p_2$ ,  $p_{cp}$  – по сравнению с контролем, 14 сутками эксперимента, по сравнению с группой сравнения в тот же срок.

На 21 сутки после оперативного вмешательства у животных, которым проводилась комбинированная стимуляция, перфузионный показатель отличий от контроля не имеет, но статистически значимо выше аналогичного показателя группы сравнения (табл. 2). Нормированные амплитуды эндотелиальных колебаний сохраняют статистически значимый высокий уровень относительно контроля. Нормированные амплитуды нейрогенных колебаний отличий от контроля не имеют, при этом статистически значимо выше аналогичного показателя группы сравнения. Нормированные амплитуды миогенных колебаний данной группы не имеют различий с контролем, но статистически значимо ниже, чем в группе сравнения на 21 сутки эксперимента (табл. 2).



## Список литературы

1. Галимова В.У., Камилов Ф.Х., Газдалиева Л.М., Нураева А.Б. Влияние хирургического лечения посттравматической субатрофии глаза на уровень оксида азота в плазме крови и слёзной жидкости // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2007. – № 78. – С.58-60.
2. Горшков Р.П., Нинель В.Г., Коршунова Г.А. Способ лечения повреждения периферического нерва // Патент РФ № 2176529, 10.12.2001.
3. Иванов А.Н., Федонников А.С., Норкин И.А., Пучиньян Д.М. Коррекция микроциркуляторных нарушений в стратегиях менеджмента остеоартрита и остеохондропатий // Российский медицинский журнал. – 2015. – Т. 21, № 1. – С. 18-23.
4. Иванов А.Н., Шутров И.Е., Норкин И.А. Аутооттрансплантация полнослойного кожного лоскута как способ биостимуляции микроциркуляции в условиях нормальной и нарушенной иннервации // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2015. – Т 14, № 3 (55). – С. 59-65.
5. Крупаткин А.И., Сидоров В.В. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови. Руководство для врачей. – М.: Медицина, 2005. – 256 с.
6. Миронов С.П., Крупаткин А.И., Голубев В.Г., Панов Д.Е. Диагностика и выбор тактики лечения при повреждениях периферических нервов // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. – 2005. – № 2. – С. 33-39.
7. Нинель В.Г., Горшков Р.П., Коршунова Г.А., Джумагишиев Д.К. Способ лечения повреждения периферического нерва // Патент РФ № 2254884, 27.06.2005.
8. Особенности изменений микроциркуляции при регенерации седалищного нерва в условиях эксперимента/ А.Н. Иванов, И.А. Норкин, В.Г. Нинель и др. // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 4–2. – С. 281-285.
9. Пасечникова Н.В., Мальцев Э.В., Сотникова Е.П., Мороз О.А. Препараты тканевой терапии. Ч. 2. Наиболее широко применяющиеся представители // Офтальмологический журнал. – 2011. – № 4 (441). – С. 83-91.
10. Петрова Е.С., Павлова Н.В., Коржевский Д.Э. Современные морфологические подходы к изучению регенерации периферических нервных проводников // Медицинский академический журнал. – 2012. – Т. 12, № 3. – С. 15-16.
11. Gao F., Liu Y., He Y. et al. Hyaluron an oligosaccharides promote excision al wound healing through enhanced angiogenesis // Matrix Biol. 2010. V. 29. № 2. P. 107-116.