

Оригинальная статья / Original article

DOI: <https://doi.org/10.38025/2078-1962-2024-23-6-62-70>

Связанные с полом различия регенерации седалищного нерва крыс после аутопластики и интраоперационной электроннойростимуляции

Щудло Н.А., Варсегова Т.Н.*, Кубрак Н.В., Ступина Т.А.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. академика Г.А. Илизарова» Минздрава России, Курган, Россия

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. По данным литературы, интраоперационная электроннойростимуляция (ИЭС) после аутонейропластики (АН) ускоряет регенерационный рост аксонов. Неизвестно, проявляется ли половой диморфизм в регенерации периферических нервов после АН и при применении однократной ИЭС.

ЦЕЛЬ. Выявить возможные связанные с полом отличия регенерации седалищного нерва после АН резекционного дефекта его большеберцовой порции и однократной ИЭС у крыс зрелого возраста.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Выполнена резекция и АН большеберцовой порции седалищного нерва 72 крысам мужского ($n = 39$) и женского ($n = 33$) пола. Серия 1 — нестимулированный контроль, серия 2 — сеанс ИЭС 40 минут. По следам-отпечаткам лап рассчитывали большеберцовый функциональный индекс (TFI); определяли гистоморфометрические параметры миелиновых нервных волокон (МВ) большеберцового нерва.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. В серии 1 через 2 месяца после операции у самцов выявлены большие значения численной плотности МВ большеберцового нерва и диаметров аксонов, чем у самок. Через 4 месяца диаметры аксонов и диаметры МВ больше у самок. Через 6 месяцев у самок больше толщина миелиновых оболочек (МО). TFI в серии 1 снижается к концу опыта, особенно у самцов. В серии 2 через 2 и 4 месяца после операции у самок диаметры аксонов, МО и диаметры МВ больше значений серии 1, через 6 месяцев больше только МО и диаметры МВ. У самцов серии 2 через 2 и 4 месяца после операции МО и диаметр МВ больше, чем в серии 1, а через 6 месяцев все размерные параметры у самцов серии 2 выше, чем у самцов серии 1. TFI в серии 2 больше значений в серии 1 и возрастает к концу опыта, особенно у самцов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Через 2 месяца после АН у самцов рост и дифференцировка нервных волокон осуществляются быстрее, чем у самок, далее отличия инвертируются. Несмотря на увеличение гистоморфометрических показателей регенерации, у нестимулированных животных к концу опыта TFI снижается, особенно у самцов. У стимулированных крыс по сравнению с нестимулированными морфофункциональные показатели регенерации на всех сроках опыта лучше, в большей мере у самцов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: крыса, седалищный нерв, аутонейропластика, интраоперационная электростимуляция, большеберцовый нерв, гистоморфометрия

Для цитирования / For citation: Щудло Н.А., Варсегова Т.Н., Кубрак Н.В., Ступина Т.А. Связанные с полом различия регенерации седалищного нерва крыс после аутопластики и интраоперационной электроннойростимуляции. Вестник восстановительной медицины. 2024; 23(6):62-70. <https://doi.org/10.38025/2078-1962-2024-23-6-62-70> [Shchudlo N.A., Varsegova T.N., Kubrak N.V., Stupina T.A. Gender-related Differences in Rat Sciatic Nerve Regeneration after Autoplasty and Intraoperative Electroneurostimulation. Bulletin of Rehabilitation Medicine. 2024; 23(6):62-70. <https://doi.org/10.38025/2078-1962-2024-23-6-62-70> (In Russ.)]

* **Для корреспонденции:** Варсегова Татьяна Николаевна, E-mail: varstn@mail.ru, office@rncvto.ru

Статья получена: 27.04.2024
Статья принята к печати: 08.08.2024
Статья опубликована: 16.12.2024

©2024, Щудло Н.А., Варсегова Т.Н., Кубрак Н.В., Ступина Т.А.

Nathalia A. Shchudlo, Tatyana N. Varsegova, Nadezhda V. Kubrak, Tatyana A. Stupina

Эта статья открытого доступа по лицензии CC BY 4.0. Издательство: ФГБУ «НМИЦ РК» Минздрава России.

This is an open article under the CC BY 4.0 license. Published by the National Medical Research Center for Rehabilitation and Balneology.

Gender-related Differences in Rat Sciatic Nerve Regeneration after Autoplasty and Intraoperative Electroneurostimulation

 **Nathalia A. Shchudlo**,  **Tatyana N. Varsegova***,  **Nadezhda V. Kubrak**,  **Tatyana A. Stupina**

National Ilizarov Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russia

ABSTRACT

INTRODUCTION. According to the literature, intraoperative electrical neurostimulation (IES) after autoneuroplasty (AN) accelerates the regenerative growth of axons. It is unknown whether sexual dimorphism occurs in peripheral nerve regeneration after AN and with single-dose IES.

AIM. To identify possible gender-related differences in the regeneration of the sciatic nerve (SN) after AN resection of the defect of its tibial portion and a single IES in mature rats.

MATERIALS AND METHODS. 72 male ($n = 39$) and female ($n = 33$) rats underwent resection and AN of the tibial portion of the SN. Series 1 — non-stimulated control, series 2 — IES session 40 minutes. The tibial functional index (TFI) was calculated from the paw prints; Histomorphometric parameters of myelinated nerve fibers (MF) of the tibial nerve (TN) were determined.

RESULTS AND DISCUSSION. In series 1, 2 months after surgery, males were found to have higher values of the numerical density of MVs of the WBN and axon diameters (DA) than in females. After 4 months, YES and MV diameters are larger in females. After 6 months, females have greater myelin sheath (MS) thickness. TFI in series 1 decreases towards the end of the experiment, especially in males. In series 2, 2 and 4 months after surgery, in females the DA, MS, and MF diameters were greater than the values in series 1; after 6 months, only MS and MF diameters were greater. In series 2 males, 2 and 4 months after surgery, the MS and MF diameter are greater than in series 1, and after 6 months, all dimensional parameters in series 2 males are higher than in series 1 males. TFI in series 2 is greater than the values in series 1 and increases towards the end of the experiment, especially in males.

CONCLUSION. 2 months after AN, the growth and differentiation of nerve fibers in males is faster than in females, then the differences are inverted. Despite the increase in histomorphometric indicators of regeneration, in unstimulated animals, by the end of the experiment, TFI decreases, especially in males. In stimulated rats, compared to unstimulated ones, the morpho-functional indicators of regeneration at all periods of the experiment are better, to a greater extent in males.

KEYWORDS: rat, sciatic nerve, autoneuroplasty, intraoperative electrical stimulation, tibial nerve, histomorphometry

For citation: Shchudlo N.A., Varsegova T.N., Kubrak N.V., Stupina T.A. Gender-related Differences in Rat Sciatic Nerve Regeneration after Autoplasty and Intraoperative Electroneurostimulation. Bulletin of Rehabilitation Medicine. 2024; 23(6):62-70. <https://doi.org/10.38025/2078-1962-2024-23-6-62-70> (In Russ.).

***For correspondence:** Tatyana N. Varsegova, E-mail: varstn@mail.ru, office@rncvto.ru

Статья получена: 27.04.2024
Статья принята к печати: 08.08.2024
Статья опубликована: 16.12.2024

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на хорошо документированные регенераторные потенциалы волокон периферической нервной системы [1], повреждения нервов остаются мировой клинической проблемой из-за широкой распространенности и недостаточной эффективности существующих методов лечения, особенно при анатомических перерывах нервов, поскольку удовлетворительное восстановление функций поврежденного нерва у взрослых часто не достигается [2] из-за недостаточной скорости и специфичности регенерации и необратимых изменений органов-мишеней. На различных моделях повреждения и регенерации нервов продемонстрированы связанные с полом отличия нейрорегенерации, однако полученные данные носят противоречивый характер. Pham T.L. et al. в эксперименте на мышах доказали, что у самок нервы роговицы регенерируют быстрее, чем у самцов [3]. Аналогичные данные получил Jones K.J. в опытах с лицевым нервом хомячков [4]. Однако Tetzlaff J., Tanzer L., Jones K.J. при аксотомии лицевого нерва грызунов доказали, что введение тестостерона ускоряет функциональное восстановление и увеличивает скорость регенерации не-

рвов [5]. Kovacic U. et al. обнаружили, что у самок крыс регенерация аксонов икроножного нерва после его раздавливания начиналась раньше, отрастающие аксоны были длиннее на 15 %, ноцицепция стопы в течение 24 недель была на 20 % обширнее, чем у самцов при одинаковом количестве регенерирующих аксонов [6]. Однако после перерезки и шва седалищного нерва более быстрая регенерация наблюдалась у самцов [7].

В настоящее время для стимуляции роста нейритов активно используется внешнее электрическое поле — электростимуляцию — активирующие нейротрофические факторы, способствующие более избирательному прорастанию аксонов к органам-мишеням [8–11], что позволяет ускорить и улучшить восстановление двигательных и чувствительных функций [12–14]. Ряд авторов выявили специфическую для пола реакцию на электростимуляцию. Maffioletti N.A. et al. при поверхностной стимуляции четырехглавой мышцы бедра 20 мужчин и 20 женщин обнаружили более низкий сенсорный порог и более высокую сенсорную и супрамоторную возбудимость у женщин по сравнению с мужчинами, что считают доказательством нейрофизиологического объяснения более выраженного

восприятия боли. [15]. Ye X. et al. не выявили половые различия абсолютной силы сгибания локтевого сустава после сеансов высокочастотной нервно-мышечной электростимуляции, но относительная вызванная сила была почти в два раза выше у женщин по сравнению с мужчинами, что указывает на необходимость дальнейшего поиска факторов или механизмов наблюдаемых половых различий [16]. При электростимуляции проксимальной культы пересеченного лицевого нерва и введении пропионата тестостерона электростимуляция сокращала латентный период регенерации — временную задержку образования нейритов, а тестостерон ускорял общую скорость регенерации [17].

Особое место в клинической практике занимает однократная интраоперационная электростимуляция (ИЭС). Экспериментальные исследования регенерации нервных волокон после аутонейропластики (АН) показали, что 10-минутный и 60-минутный сеансы ИЭС ускоряли рост аксонов из места восстановления и способствовали функциональному восстановлению [18, 19]. Остается неизученным вопрос, проявляется ли половой диморфизм в регенерации периферических нервов через аутонейротрансплантаты и при применении однократной ИЭС.

ЦЕЛЬ

Выявить возможные связанные с полом отличия регенерации большеберцового нерва после АН резекционного дефекта большеберцовой порции седалищного нерва и однократной ИЭС у крыс зрелого возраста.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент выполнен на 72 лабораторных крысах линии Wistar мужского ($n = 39$) и женского ($n = 33$) пола (возраст — 8–15 месяцев, вес — 360–460 г). Животные содержались в контролируемых гигиенических условиях, имели доступ к воде и 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; ГОСТу 33217-2014; ГОСТу 33215-2014. Дизайн исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. академика Г.А. Илизарова» Минздрава России (протокол № 2 (57) от 17.05.2018). Для наркоза и обезболивания животным внутримышечно вводили 0,8 мг гидрохлорида ксилазина и 0,4 мг тилетамина/золазепам на 100 г массы тела, после чего на правом бедре и голени выстригали шерстный покров.

В условиях операционной после обработки кожи йодно-спиртовой настойкой и внепроекторного разреза кожи осуществляли доступ к правому седалищному нерву на уровне средней трети бедра остро-тупым способом через двуглавую мышцу. Используя 8-кратное увеличение операционного микроскопа (OPMI-6, Германия), острым сосудистым микрозондом и ножницами для иридэктомии выполняли эпифасцикулярные продольные эпиневрономические разрезы для выделения большеберцовой порции седалищного не-

рва. После резекции ее участка протяженностью 6 мм осуществляли интерфасцикулярную аутологичную пластику получившегося дефекта с использованием микрохирургического шовного материала калибра 9-0 и 10-0. В серии 1 по окончании АН рану послойно ушивали рассасывающимся шовным материалом калибра 3-0. В серии 2 сразу после АН на проксимальный участок нерва устанавливали электроды. Используя систему для электростимуляции «НейСи-3М»¹, в течение 40 минут интраоперационно проводили стимуляцию проксимального отрезка нерва монополярными электрическими импульсами прямоугольной формы с амплитудой 0,25 мА, частотой 20 Гц и длительностью 100 мкс. Рану ушивали по окончании сеанса ИЭС. Серия 1 — нестимулированный контроль — серия АН; серия 2 — серия АН + ИЭС.

После 2, 4 и 6 месяцев опыта оценивали функциональное восстановление конечности посредством анализа следов-отпечатков лап крыс на пешеходной дорожке. Для этого проводили ручные измерения следующих параметров (в мм): PL — длина отпечатка стопы от пятки до 3-го пальца; TS — расстояние между 1-м и 5-м пальцами; IT — расстояние между 2-м и 4-м пальцами; KPL, KTS и KIT — данные контралатеральной конечности; OPL, OTS и OIT — данные оперированной конечности. Рассчитывали TFI — индекс функции большеберцового нерва, который при нормальной функции равен 0, а при полной потери функции равен 100. Bain J.R. et al. (1989) применяли модифицированную [20] формулу:

$$TFI = -37,2 (OPL - KPL) / KPL + 104,4 \times (OTS - KTS) / KTS + 45,6 (OIT - KIT) / KIT - 8,8.$$

Через 2, 4 и 6 месяцев после операции крыс выводили из эксперимента. Иссеченные образцы большеберцовых нервов на уровне средней трети голени после альдегидно-осмиевой фиксации заключали в аралдит. Полутонкие срезы изготавливали на ультрамикротоме Nova (LKB, Швеция), окрашивали полихромным методом — метиленовым синим, азуром II и основным фуксином. Микроскопию срезов и получение цифровых изображений осуществляли с помощью микроскопа AxioScore.A» и цифровой камеры AxioCam (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Германия). Гистоморфометрировали 400–500 миелинизированных нервных волокон у каждого животного при увеличении $\times 1000$. Определяли их численные плотности в 1 мм² площади пучка, измеряли диаметры волокон, их аксонов и толщину миелинизированных оболочек. Для сравнения с нормой использовали гистоморфометрические данные от 10 взрослых интактных самок и самцов крыс, близких по возрасту к оперированным крысам на момент эвтаназии — 16–18 месяцев (в данной группе отсутствуют статистически значимые различия между исследуемыми количественными показателями).

¹ Регистрационное удостоверение № ФСЗ 2011/10004 от 28.04.2017, ООО «Медицинские системы», г. Челябинск

Статистическую обработку данных выполнили в компьютерной программе Attestat версии 9.3.1². Проверку выборки на нормальность распределения значений осуществляли критерием Колмогорова, попарное сравнение экспериментальных серий между собой и с контролем — критерием Манна — Уитни. Значения

параметров представляли в виде медиан и квартилей — Me [Q1; Q3].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Светооптическое исследование показало, что через 2 месяца после АН седалищного нерва в большеберцовом нерве на уровне средней трети голени во всех сериях и у самок (рис. 1А, 1В), и у самцов (рис. 1С, 1D) выявляются регенерировавшие миелинизированные

² Разработчик — И.П. Гайдышев, сертификат о регистрации в Роспатенте № 2002611109

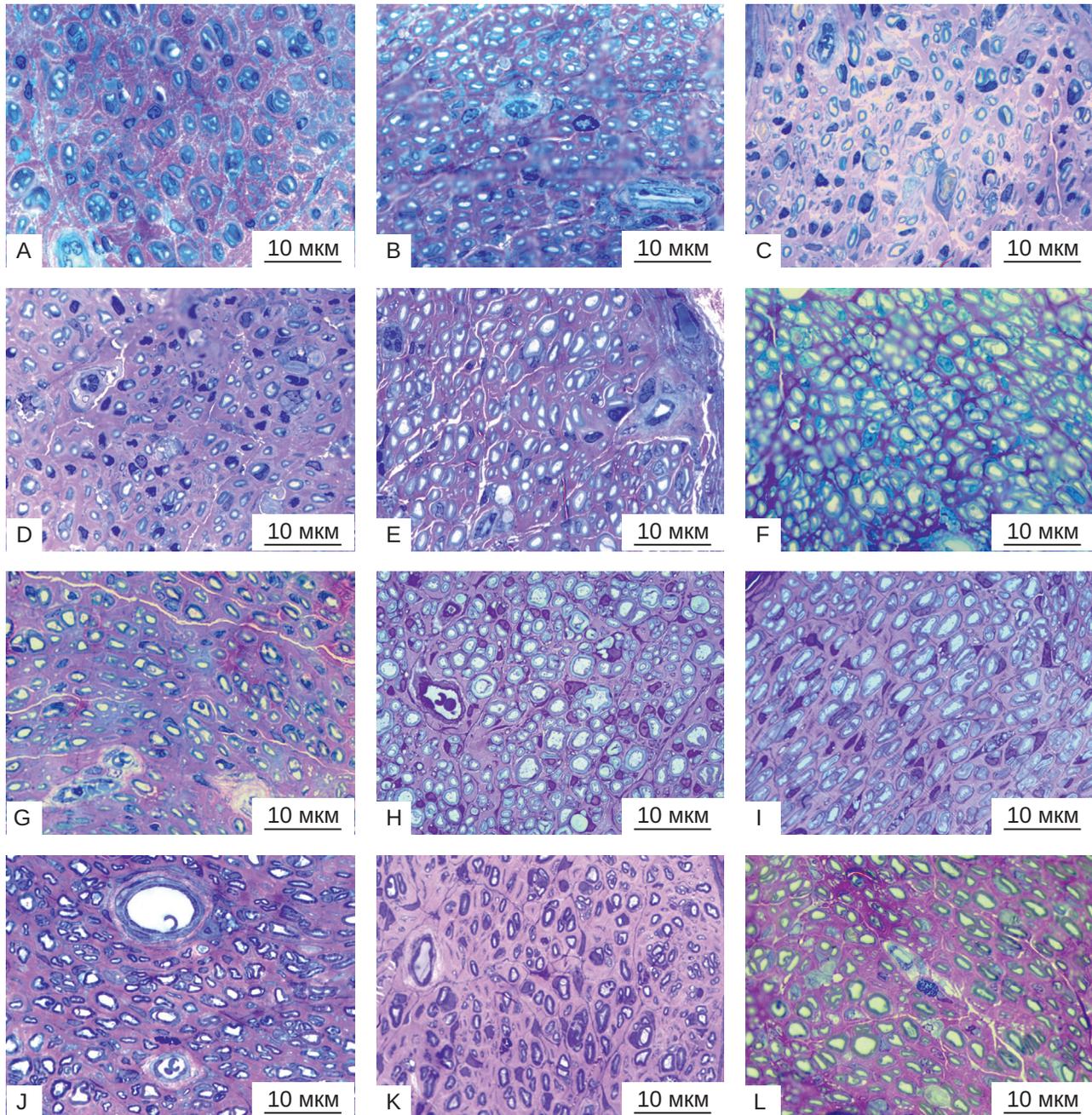


Рис. 1. Фрагменты поперечных полутонких срезов большеберцовых нервов крыс
Fig.1. Fragments of transverse semi thin sections of the tibial nerves of rats

Примечание: 2 месяца опыта: самки серии АН (А), АН + ИЭС (В), самцы АН (С), АН + ИЭС (D); 4 месяца опыта: самки АН (Е), АН + ИЭС (F), самцы АН (G), АН + ИЭС (H); 6 месяцев опыта: самки АН (I), АН + ИЭС (J), самцы АН (K), АН + ИЭС (L). Окраска метиленовым синим, азуром II и основным фуксином, x1000.

Note: 2 months of experience: females of the AN series (A), AN + IES (B), males AN (C), AN + IES (D); 4 months of experience: females AN (E), AN + IES (F), males AN (G), AN + IES (H); 6 months of experience: females AN (I), AN + IES (J), males AN (K), AN + IES (L). Stained with methylene blue, azure II and basic fuchsin, x1000.

и безмиелиновые нервные волокна, а также регенерационные кластеры. Через 4 и 6 месяцев после операции визуально отмечается увеличение размеров миелинизированных волокон (рис. 1E–L), что более заметно в сериях АН + ИЭС (рис. 1F, 1H, 1J, 1L).

Количественные исследования большеберцового нерва показали, что численная плотность регенерировавших миелинизированных волокон через 2 месяца после операции в сериях без ИЭС не достигает нормы (рис. 2), особенно у самок: численная плотность волокон у самок составляет всего 44 % ($p = 0,0002$) от нормы, а у самцов — 74 % ($p = 0,0406$). В сериях с электростимуляцией данный параметр на этом сроке сопоставим с нормой как у самок ($p = 0,8452$), так и у самцов ($p = 0,6461$).

Через 4 месяца численность волокон возрастает и превышает норму, что более выражено у самцов обеих серий: в серии АН она превышает норму на 63 % ($p = 0,0003$), в серии АН + ИЭС — на 58 % ($p = 0,00005$), а у самок превышает норму в серии АН на 38 % ($p = 0,0005$), серии АН + ИЭС — на 32 % ($p = 0,00576$).

Через 6 месяцев численная плотность волокон у самок обеих серий не изменяется (рис. 2) и остается значимо выше нормы: в серии АН — на 33 % ($p = 0,00001$), серии АН + ИЭС — на 36 % ($p = 0,00006$). У самцов в серии АН снижается до значений самок ($p = 0,145$), а в серии с ИЭС превышает норму на 47 % ($p = 0,00007$).

В серии АН (табл. 1) через 2 месяца после операции диаметры аксонов регенерирующих МВ больше у самцов на 6 % ($p = 0,037$), а через 4 месяца у самок — на 6 % ($p = 0,045$), диаметры МВ — на 8 % ($p = 0,008$). Через 6 месяцев толщина миелиновых оболочек регенерирующих МВ больше у самок — на 16 % ($p = 0,014$). TFI в серии АН снижается к концу опыта, особенно у самцов (рис. 4).

В серии АН + ИЭС (табл. 1 и рис. 3) через 2 месяца после операции у самок диаметры аксонов, толщина МО и диаметры МВ больше значений серии АН на 8 % ($p = 0,02$), 17 % ($p = 0,029$) и 12 % ($p = 0,02$), через 4 месяца — на 4 % ($p = 0,045$), 22 % ($p = 0,034$) и 12 % ($p = 0,038$), через 6 месяцев толщина миелиновых оболочек и диаметры МВ больше на 13 % ($p = 0,039$) и 11 % ($p = 0,013$). У самцов серии АН + ИЭС через 2 месяца после операции толщина миелиновых оболочек и диаметр МВ больше серии АН на 29 % ($p = 0,0523$) и 9 % ($p = 0,029$), через 4 месяца — на 17 % ($p = 0,008$) и 12 % ($p = 0,003$), а через 6 месяцев все размерные параметры у самцов серии АН + ИЭС выше, чем у самцов серии АН на 11 % ($p = 0,005$), 24 % ($p = 0,02$) и 15 % ($p = 0,009$) соответственно.

TFI в серии АН + ИЭС больше значений серии АН и возрастает к концу опыта, особенно у самцов (рис. 4).

Нужно отметить, что в конце опыта с серии АН у самок и самцов диаметры аксонов составляют 55 % от нормы, толщина миелина — 61 % и 51 %, а диаметр волокон 54 % и с 51 % от нормы соответственно. В серии АН + ИЭС через 6 месяцев диаметры аксонов у самок и самцов составляют 57 % и 61 %, а толщина миелина — 69 % и 64 % от нормы соответственно, а значения диаметров волокон сопоставимы — 61 % от нормы (см. табл. 1).

При анализе следов-отпечатков стоп крыс на пешеходной дорожке установлено существенное снижение TFI. В серии АН функциональный индекс ниже, чем в серии АН + ИЭС на протяжении всего опыта, особенно у самцов (см. рис. 4). К 6 месяцам после операции и у самцов, и у самок он оказывается еще более низким, чем через 2 и 4 месяца (см. рис. 4), что свидетельствует о регрессировании двигательной функции

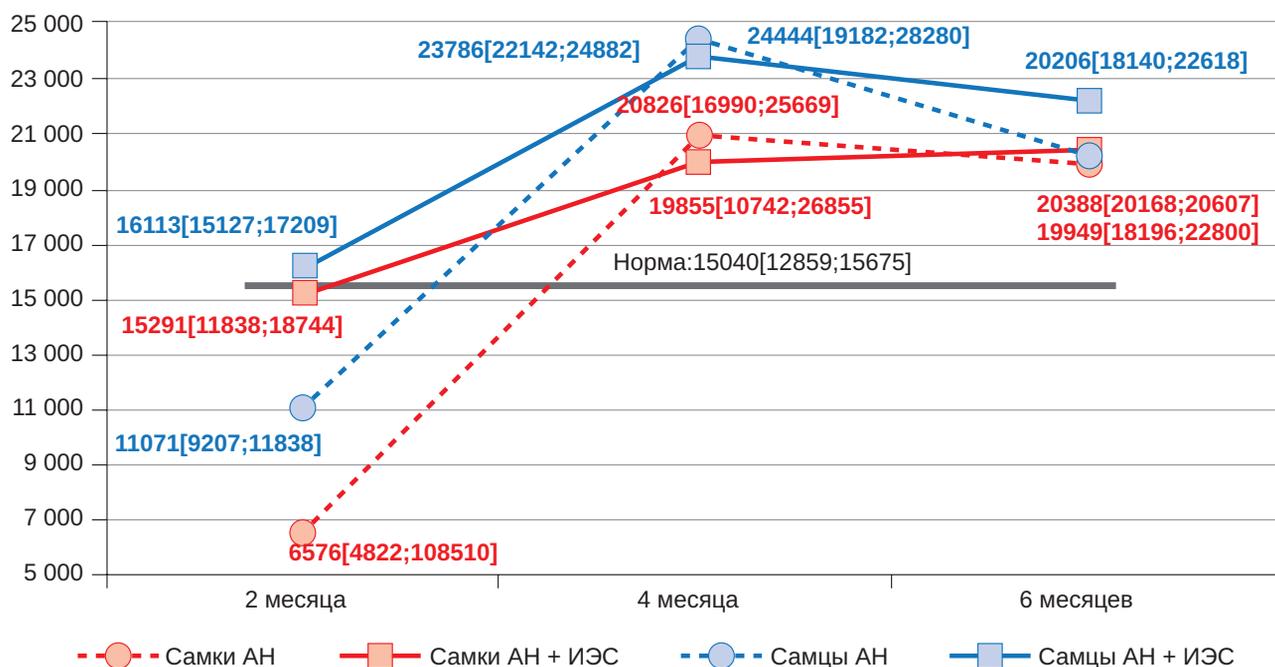


Рис. 2. Численная плотность миелинизированных нервных волокон большеберцового нерва (в 1 мм²) через 2, 4 и 6 месяцев после операции — Me [Q₁; Q₃]

Fig. 2. Numerical density of myelinated nerve fibers of the tibial nerve (in 1 mm²), 2, 4 and 6 months after surgery — Me [Q₁; Q₃]

Таблица 1. Размерные характеристики (мкм) миелинизированных нервных волокон большеберцового нерва самок и самцов крыс в норме и опыте Me [Q₁; Q₃]: Dax — диаметры аксонов, Lmyel — толщина миелиновых оболочек, Dmf — диаметры миелинизированных волокон

Table 1. Dimensions (μm) of myelinated nerve of the fibers tibial nerve of female and male rats in norm and the Me experiment [Q₁; Q₃]: Dax- axonal diameters, Lmyel — myelin sheaths thickness, Dmf — myelin nerve fibers diameters

Срок / Пол Term / Gender	Серия / Series	Dax	Lmyel	Dmf
2 месяца/самки / 2 months/females	Серия 1 / Series 1 n = 3	1,77 [1,45; 2,15] $p^{1-2} = 0,0209$ $p^{1f-1m} = 0,0373^*$	0,46 [0,42; 0,52] $p^{1-2} = 0,0292$ $p^{1f-1m} = 0,7133$	2,68 [2,25; 3,18] $p^{1-2} = 0,0209$ $p^{1f-1m} = 0,3271$
	Серия 2 / Series 2 n = 3	1,92 [1,56; 2,33] $p^{2f-2m} = 1,000$	0,54 [0,46; 0,63] $p^{2f-2m} = 0,02092$	3,01 [2,51; 3,60] $p^{2f-2m} = 0,2482$
2 месяца/самцы / 2 months/males	Серия 1 / Series 1 n = 6	1,88 [1,41; 2,40] $p^{1-2} = 0,0663$	0,41 [0,32; 0,50] $p^{1-2} = 0,0523$	2,71 [2,15; 3,31] $p^{1-2} = 0,0461$
	Серия 2 / Series 2 n = 3	1,89 [1,47; 2,35]	0,53 [0,46; 0,61]	2,94 [2,41; 3,55]
4 месяца/Самки / 4 months/females	Серия 1 / Series 1 n = 9	2,38 [1,81; 3,00] $p^{1-2} = 0,0496$ $p^{1f-1m} = 0,0454^*$	0,58 [0,46; 0,65] $p^{1-2} = 0,0348$ $p^{1f-1m} = 0,3797$	3,51 [2,83; 4,26] $p^{1-2} = 0,0342$ $p^{1f-1m} = 0,0081$
	Серия 2 / Series 2 n = 6	2,48 [1,94; 3,08] $p^{2f-2m} = 0,04543$	0,71 [0,65; 0,79] $p^{2f-2m} = 0,0376$	3,94 [3,22; 4,78] $p^{2f-2m} = 0,0376$
4 месяца/самцы / 4 months/males n=15	Серия 1 / Series 1 n = 9	2,23 [1,65; 2,87] $p^{1-2} = 0,07364т$	0,53 [0,40; 0,63] $p^{1-2} = 0,0084$	3,24 [2,52; 4,03] $p^{1-2} = 0,00268$
	Серия 2 / Series 2 n = 6	2,35 [1,82; 2,94]	0,62 [0,50; 0,75]	3,62 [2,91; 4,37]
6 месяцев/самки / 6 months/females	Серия 1 / Series 1 n = 7	2,42 [2,35; 2,58] $p^{1-2} = 0,07186т$ $p^{1f-1m} = 0,9233$	0,64 [0,60; 0,68] $p^{1-2} = 0,03876$ $p^{1f-1m} = 0,01413^*$	3,65 [3,58; 3,90] $p^{1-2} = 0,01368$ $p^{1f-1m} = 0,0675т$
	Серия 2 / Series 2 n = 5	2,55 [2,00; 3,27] $p^{2f-2m} = 0,1000$	0,72 [0,60; 0,89] $p^{2f-2m} = 0,10034$	4,04 [3,21; 5,06] $p^{2f-2m} = 0,4652$
6 месяцев/самцы / 6 months/ males	Серия 1 / Series 1 n = 9	2,42 [1,84; 2,84] $p^{1-2} = 0,0045$	0,54 [0,44; 0,62] $p^{1-2} = 0,02013$	3,50 [2,79; 4,04] $p^{1-2} = 0,0098$
	Серия 2 / Series 2 n = 6	2,71 [2,02; 3,53]	0,67 [0,53; 0,83]	4,05 [3,14; 5,12]
Норма (интактные крысы) / Norm (intact rats) n = 10		4,44 (4,17; 4,60)	1,05 [0,89; 1,16]	6,81 [6,50; 6,89]

Примечание: Серия 1 — АН, серия 2 — АН и ИЭС, p^{1-2} — уровень значимости отличий при попарном сравнении серий 1 и 2, p^{1f-1m} — уровень значимости отличий самок (f) и самцов (m) серии уровень значимости отличий 1, p^{2f-2m} — уровень значимости отличий самок и самцов серии уровень значимости отличий 2 по критерию Манна — Уитни, различия достоверны при $p < 0,05$.

Note: Series 1 — AN, series 2 — AN and intraoperative electrical stimulation. p^{1-2} — level of significance of differences in pairwise comparison of series 1 and 2, p^{1f-1m} — level of significance of differences females and males of series 1, p^{2f-2m} — level of significance of differences females and males of series 2 according to the Mann-Whitney test, differences are significant at $p < 0.05$.

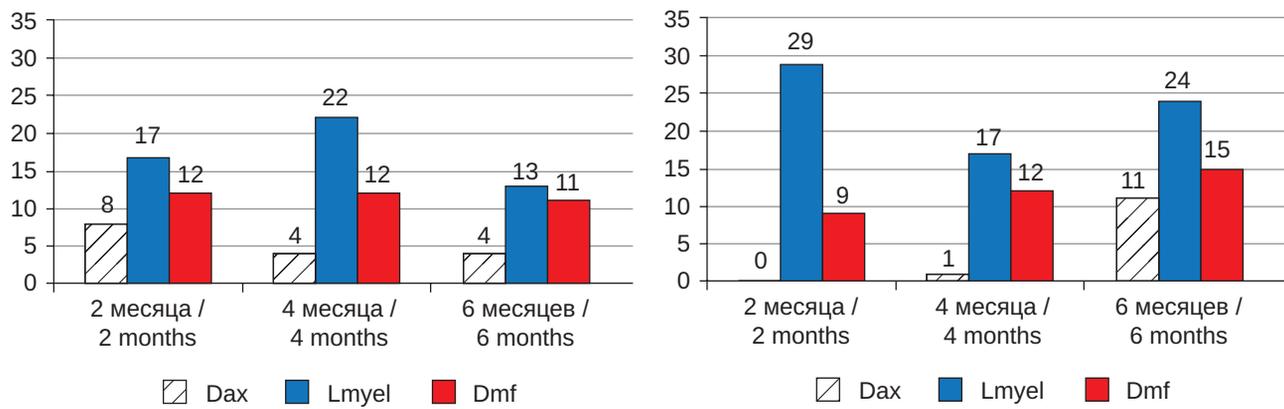


Рис. 3. Диаграммы, отражающие разницу значений (%) диаметров аксонов (Dax), толщины миелиновых оболочек (Lmyel) и диаметров миелиновых нервных волокон (Dmf) на этапах эксперимента серии AN + ИЭС в сравнении с серией AN. F — самки, M — самцы

Fig. 3. Diagrams reflecting the difference in values (%) of axon diameters (Dax), thickness of myelin sheaths (Lmyel) and diameters of myelin fibers (Dmf) at the stages of the experiment of the AN + IES series in comparison with the AN series. F — females, M — males

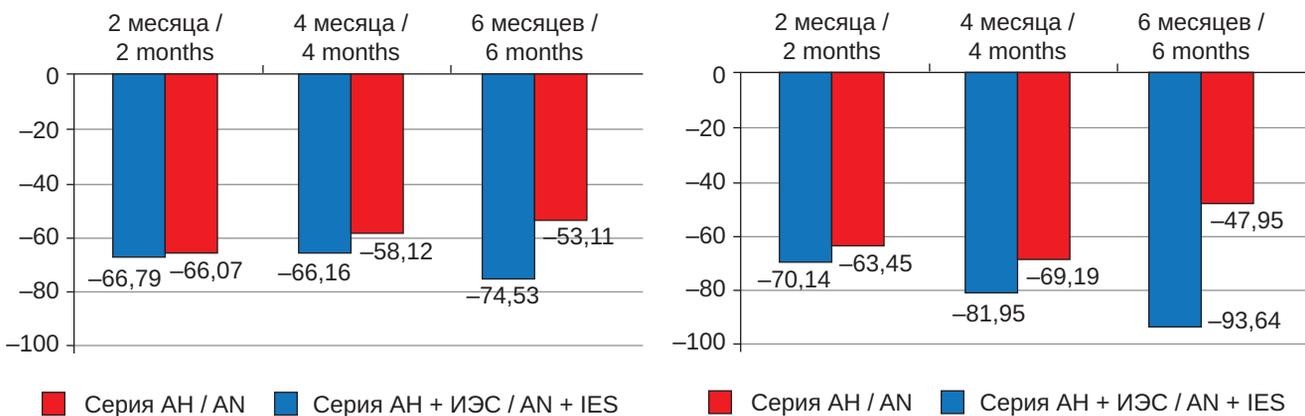


Рис. 4. Динамика индекса функции большеберцового нерва, где TFI = 0 — нормальная функция, TFI = -100 — полная потеря функции. F — самки, M — самцы

Fig. 4. Dynamics of the tibial nerve function index, where TFI = 0 — normal function, TFI = -100 — complete loss of function. F — females, M — males

в серии AN. Связанная с полом разница показателей TFI в серии AN подтверждается статистически через 4 месяца после операции ($p = 0,0473$).

В серии AN + ИЭС крыс обоего пола наблюдается положительная динамика TFI, к 6 месяцам он повышается (см. рис. 4), что расценивается как положительная динамика. TFI к концу опыта в серии AN + ИЭС выше у самцов, значимость отличия от самок на уровне статистической тенденции ($p = 0,0568$).

В силу выраженной межиндивидуальной вариативности TFI разница этого показателя в сериях AN и AN + ИЭС подтвердилась статистически только у самцов в срок 6 месяцев после операции ($p = 0,0338$).

Анализ экспериментальных данных показал, что через 2 и 4 месяца после пересечения большеберцовой порции седалищного нерва крыс у нестимулированных самцов по сравнению с самками большее количество регенерирующих аксонов достигает уровня средней трети голени, о чем свидетельствуют более высокие значения численной плотности миелинизированных волокон большеберцового нерва. Это согласуется с данными других авторов, выявивших после перерезки и шва седалищного не-

рва более быстрое отрастание регенерировавших аксонов у самцов [7]. Кроме того, в выполненном нами исследовании через 2 месяца после операции у самцов по сравнению с самками регенерировавшие миелинизированные волокна имеют большие диаметры аксонов. Однако в последующие сроки опыта регенерировавшие нервные волокна становятся крупнее у самок (через 4 месяца после операции это отличие достоверно, а через 6 — на уровне статистической тенденции), при этом через 4 месяца у самок крупнее аксоны, а через 6 месяцев достоверно больше толщина МО регенерирующих волокон. Отличия структурных параметров регенерирующих волокон согласуются с результатами исследования двигательной функции конечности: через 4 месяца после операции большеберцовый функциональный индекс достоверно ниже у самцов. С другой стороны, более выраженное снижение большеберцового функционального индекса у самцов в наших опытах согласуется с результатами исследования других авторов — в экспериментах с подвешиванием нижней конечности у самок лучше, чем у самцов, сохранялась функция мышц [21].

В выполненном исследовании связанные с полом отличия выявлены также и в стимулированных подгруппах животных. Диаметры регенерирующих нервных волокон в сериях с ИЭС на всех сроках опыта были крупнее, чем у нестимулированных животных как у самок, так и у самцов. При этом прирост диаметров аксонов через 2 и 4 месяца после операции был статистически значимым только у самок, а через 6 месяцев — только у самцов. Прирост толщины МО регенерирующих нервных волокон при ИЭС по сравнению с нестимулированными животными был статистически значимым и у самцов, и у самок. Наиболее выраженный прирост размерных параметров регенерирующих нервных волокон отмечен через 6 месяцев после операции в группе самцов. Именно в этот срок

опыта выявлено достоверное отличие подгруппы стимулированных самцов от подгруппы стимулированных самок по величине большеберцового функционального индекса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Через 2 месяца после АН у самцов рост и дифференцировка нервных волокон осуществляется быстрее, чем у самок, далее отличия инвертируются. Несмотря на увеличение гистоморфометрических показателей регенерации, у нестимулированных животных к концу опыта снижается TFI, особенно у самцов. У стимулированных крыс по сравнению с нестимулированными морфофункциональные показатели регенерации на всех сроках опыта лучше, в большей мере у самцов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Щудло Наталья Анатольевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник экспериментальной лаборатории, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. академика Г.А. Илизарова» Минздрава России.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9914-8563>

Варсегова Татьяна Николаевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории морфологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. академика Г.А. Илизарова» Минздрава России.

E-mail: varstn@mail.ru, office@rncvto.ru;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5430-2045>

Кубрак Надежда Владимировна, младший научный сотрудник экспериментальной лаборатории, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. академика Г.А. Илизарова» Минздрава России.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7494-8342>

Ступина Татьяна Анатольевна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник экспериментальной лаборатории, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. академика Г.А. Илизарова» Минздрава России.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3434-0372>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства согласно международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию

перед публикацией). Наибольший вклад распределен следующим образом: Щудло Н.А. — руководство проектом, научное обоснование, методология, проведение исследования, курация данных, написание и редактирование текста статьи; Варсегова Т.Н. — проведение исследования, анализ данных, написание черновика рукописи; Кубрак Н.В. — проведение исследования, анализ данных; Ступина Т.А. — проведение исследования, анализ данных.

Источники финансирования. Данное исследование не было поддержано никакими внешними источниками финансирования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие других явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Этическое утверждение. Авторы заявляют, что все процедуры, использованные в данной статье, соответствуют этическим стандартам учреждений, проводивших исследование, и соответствуют 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; ГОСТу 33217-2014; ГОСТу 33215-2014. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. академика Г.А. Илизарова» Минздрава России (протокол № 2 (57) от 17.05.2018).

Доступ к данным. Данные, подтверждающие выводы этого исследования, можно получить по обоснованному запросу у корреспондирующего автора.

ADDITIONAL INFORMATION

Nathalia A. Shchudlo, D.Sc. (Med.), Leading Researcher of the Experimental Laboratory, National Ilizarov Medical Research Center for Traumatology and Ortopedics.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9914-8563>

Tatyana N. Varsegova, Ph.D. (Biol.), Senior Researcher of the Laboratory of Morphology, National Ilizarov Medical Research Center for Traumatology and Ortopedics.

E-mail: varstn@mail.ru, office@rncvto.ru;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5430-2045>

Nadezhda V. Kubrak, Junior Researcher of the Experimental

Laboratory, National Ilizarov Medical Research Center for Traumatology and Ortopedics.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7494-8342>

Tatyana A. Stupina, Ph.D. (Biol.), Leading Researcher of the Laboratory of Morphology, National Ilizarov Medical Research Center for Traumatology and Ortopedics.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3434-0372>

Author Contributions. All authors confirm their authorship according to the international ICMJE criteria (all authors

contributed significantly to the conception, study design and preparation of the article, read and approved the final version before publication). Special contributions: Shchudlo N.A. — project administration, conceptualization, methodology, investigation, data curation, writing and editing the text of the article; Varsegova T.N. — investigation, formal analysis, writing – original draft; Kubrak N.V. — investigation, formal analysis; Stupina T.A. — investigation, formal analysis.

Funding. This study was not supported by any external funding sources.

Disclosure. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Ethics Approval. The authors declare that all procedures used

in this article are in accordance with the ethical standards of the institutions that conducted the study and are consistent with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals, Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union on the protection of animals used for scientific purposes and SP 2.2.1.1.3218-14; GOST 33217-2014; GOST 33215-2014. The study was approved by the Local Ethics Committee of the National Ilizarov Medical Research Center for Traumatology and Orthopedics, Protocol No. 2 (57) dated 17.05.2018.

Data Access Statement. The data that support the findings of this study are available on reasonable request from the corresponding author.

Список литературы / References

- Clements M.P., Byrne E., Camarillo Guerrero L.F., et al. The wound microenvironment reprograms schwann cells to invasive mesenchymal-like cells to drive peripheral nerve regeneration. *Neuron*. 2017; 96: 98–114. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.09.008>
- Palispis W.A., Gupta R. Surgical repair in humans after traumatic nerve injury provides limited functional neural regeneration in adults. *Exp. Neurol*. 2017; 290: 106–114. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.01.009>
- Pham T.L., Kakazu A., He J., Bazan H.E.P. Mouse strains and sexual divergence in corneal innervation and nerve regeneration. *FASEB J*. 2019; 33(3): 4598–4609. <https://doi.org/10.1096/fj.201801957R>
- Jones K.J. Recovery from facial paralysis following crush injury of the facial nerve in hamsters: differential effects of gender and androgen exposure. *Exp Neurol*. 1993; 121(1): 133–138. <https://doi.org/10.1006/exnr.1993.1079>
- Tetzlaff J., Tanzer L., Jones K.J. Cellular localization of androgen and estrogen receptors in mouse-derived motoneuron hybrid cells and mouse facial motoneurons. *Dev Neurobiol*. 2007; 67(10): 1362–1370. <https://doi.org/10.1002/dneu.20505>
- Kovacic U., Zele T., Osredkar J., et al. Sex-related differences in the regeneration of sensory axons and recovery of nociception after peripheral nerve crush in the rat. *Exp Neurol*. 2004; 189(1): 94–104. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2004.05.015>
- Stenberg L., Dahlin L.B. Gender differences in nerve regeneration after sciatic nerve injury and repair in healthy and in type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *BMC Neurosci*. 2014; 15: 107. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-15-107>
- Huang J., Ye Z., Hu X., Lu L., Luo Z. Electrical stimulation induces calcium-dependent release of NGF from cultured Schwann cells. *Glia*. 2010; 58(5): 622–631. <https://doi.org/10.1002/glia.20951>
- Koppes A.N., Nordberg A.L., Paolillo G.M., et al. Electrical stimulation of schwann cells promotes sustained increases in neurite outgrowth. *Tissue Eng Part A*. 2014; 20(3–4): 494–506. <https://doi.org/10.1089/ten.TEA.2013.0012>
- Patel N., Poo M.M. Orientation of neurite growth by extracellular electric fields. *J. Neurosci*. 1982; 2(4): 483–496. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.02-04-00483.1982>
- McCaig C.D., Sangster L., Stewart R. Neurotrophins enhance electric field-directed growth cone guidance and directed nerve branching. *Dev Dyn*. 2000; 217(3): 299–308. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0177\(200003\)217:3<299::AID-DVDY8>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0177(200003)217:3<299::AID-DVDY8>3.0.CO;2-G)
- Худяев А.Т., Мартель И.И., Самылов В.В. и др. Малоинвазивные методы лечения повреждений периферических нервов. *Гений ортопедии*. 2012; 1: 85–88. [Khudyaev A.T., Martel I.I., Samylov V.V., et al. Little-invasive techniques of treating peripheral nerve injuries. *Genij Ortopedii*. 2012; 1: 85–88 (In Russ.)]
- Бажанов С.П., Шувалов С.Д., Бахарев Р.М. и др. Сравнительный анализ ближайших результатов хирургического лечения пациентов с закрытыми тракционными повреждениями плечевого сплетения. *Гений ортопедии*. 2022; 28(5): 631–635. <https://doi.org/10.18019/1028-4427-2022-28-5-631-635> [Bazhanov S.P., Shuvalov S.D., Bakharev R.M., et al. Comparison of short-term surgical outcomes of patients with closed brachial plexus traction injury. *Genij Ortopedii*. 2022; 28(5): 631–635. <https://doi.org/10.18019/1028-4427-2022-28-5-631-635> (In Russ.)]
- Щурова Е.Н., Прудникова О.Г., Качесова А.А. и др. Улучшение функционального состояния пациентов с последствиями позвоночно-спинномозговой травмы при эпидуральной электростимуляции: проспективное исследование. *Вестник восстановительной медицины*. 2023; 22(6): 28–41. <https://doi.org/10.38025/2078-1962-2023-22-6-28-41> [Shchurova E.N., Prudnikova O.G., Kachesova A.A., et al. Improvement of Functional State of Patients after Spinal Cord Injury During Epidural Electrical Stimulation: Prospective Study. *Bulletin of Rehabilitation Medicine*. 2023; 22(6): 28–41. <https://doi.org/10.38025/2078-1962-2023-22-6-28-41> (In Russ.)]
- Maffioletti N.A., Herrero A.J., Jubeau M., et al. Differences in electrical stimulation thresholds between men and women. *Ann Neurol*. 2008; 63(4): 507–512. <https://doi.org/10.1002/ana.21346>
- Ye X., Gockel N., Vala D., et al. Wide-Pulse High-Frequency Neuromuscular Electrical Stimulation Evokes Greater Relative Force in Women Than in Men: A Pilot Study. *Sports (Basel)*. 2022; 10(9): 134. <https://doi.org/10.3390/sports10090134>
- Sharma N., Marzo S.J., Jones K.J., Foecking E.M. Electrical stimulation and testosterone differentially enhance expression of regeneration-associated genes. *Exp. Neurol*. 2010; 223(1): 183–191. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2009.04.031>
- Calvey C., Zhou W., Stakeff K.S., et al. Short-term electrical stimulation to promote nerve repair and functional recovery in a rat model. *J. Hand Surg. Am*. 2015; 40(2): 314–322. <https://doi.org/10.1016/j.jhssa.2014.10.002>
- Koh G.P., Fouad C., Lanzinger W., et al. Effect of Intraoperative Electrical Stimulation on Recovery after Rat Sciatic Nerve Isograft Repair. *Neurotrauma Rep*. 2020; 1(1): 181–191. <https://doi.org/10.1089/neur.2020.0049>
- Bain J.R., Mackinnon S.E., Hunter D.A. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plastic and reconstructive surgery*. 1989; 83(1): 129–138.
- Mortreux M., Rosa-Caldwell M.E., Stiehl I.D., et al. Hindlimb suspension in Wistar rats: Sex-based differences in muscle response. *Physiol Rep*. 2021; 9(19): e15042. <https://doi.org/10.14814/phy2.15042>