

УДК 616.748.3/7-091:616.833.58-089.844

DOI: <https://doi.org/10.17816/PAVLOVJ456407>

Морфофункциональная оценка мышц голени и стопы после аутонейропластики резекционного дефекта большеберцовой порции седалищного нерва взрослых крыс и однократной интраоперационной электронейростимуляции

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

Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г. А. Илизарова, Курган, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Введение. В литературе отсутствуют данные о влиянии однократной интраоперационной электростимуляции (ИЭС) на состояние мышц голени и стопы в отдалённые сроки после аутопластики седалищного нерва у взрослых крыс.

Цель. Изучить морфофункциональные характеристики мышц голени и стопы после аутонейропластики резекционного дефекта большеберцовой порции седалищного нерва взрослых крыс и однократной ИЭС.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен на 30 крысах линии Wistar, которым после резекции участка большеберцовой порции седалищного нерва была выполнена аутонейропластика (АН). 14 крысам провели 40-минутный сеанс ИЭС (серия АН + ИЭС). 16 крысам ИЭС не проводили (серия АН). Через 4 и 6 месяцев после операции методом анализа следов-отпечатков лап крыс на пешеходной дорожке рассчитали индекс функции большеберцового нерва (англ.: *tibial nerve function index*, TFI). В эти же сроки провели световую микроскопию и гистоморфометрию парафиновых и эпиксидных срезов икроножных и подошвенных межкостных мышц. Условный контроль — мышцы интактных конечностей.

Результаты. В икроножной мышце серии АН + ИЭС по сравнению с серией АН менее выражена атрофия мышечных волокон и фиброз эндомизия, эффект опосредован усилением васкуляризации. В подошвенных межкостных мышцах через 4 месяца после операции объёмная плотность кровеносных сосудов в серии АН + ИЭС составила 7,35 (5,49; 8,69), что больше, чем в серии АН — 3,43 (2,02; 5,59), $p = 0,0196$. Диаметры мышечных волокон и объёмная плотность эндомизия были сопоставимы. Через 6 месяцев после операции в обеих сериях прогрессировал фиброз эндомизия, однако в серии с АН + ИЭС миопатически изменённые мышечные волокна встречались реже. Через 6 месяцев наблюдения в серии АН + ИЭС TFI повысился (-47,95) и стал больше ($p = 0,0339$), чем в серии АН, в которой TFI стал ещё более низким (-93,64), чем был через 4 месяца (-81,95) опыта.

Заключение. Однократная ИЭС позволяет уменьшить связанные с повреждением нерва и взрослением денервационные изменения икроножных и межкостных подошвенных мышц, а также улучшить большеберцовый функциональный индекс в отдалённые сроки после аутонейропластики.

Ключевые слова: крысы; нерв; аутонейропластика; интраоперационная электростимуляция; икроножные, подошвенные межкостные мышцы; гистоморфометрия

Для цитирования:

Щудло Н.А., Варсегова Т.Н., Ступина Т.А., Кубрак Н.В. Морфофункциональная оценка мышц голени и стопы после аутонейропластики резекционного дефекта большеберцовой порции седалищного нерва взрослых крыс и однократной интраоперационной электронейростимуляции // Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. 2024. Т. 32, № 4. С. 615–626. DOI: <https://doi.org/10.17816/PAVLOVJ456407>

DOI: <https://doi.org/10.17816/PAVLOVJ456407>

Morphofunctional Assessment of Muscles of the Lower Leg and Foot after Autoneuroplasty of Resection Defect of Tibial Portion of the Sciatic Nerve and Single Intraoperative Electrical Neurostimulation in Adult Rats

Natal'ya A. Shchudlo, Tat'yana N. Varsegova[✉], Tat'yana A. Stupina, Nadezhda V. Kubrak

National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russian Federation

ABSTRACT

INTRODUCTION: There are no data in the literature on the effect of a single intraoperative electrical stimulation (IES) on the condition of the muscles of the lower leg and foot in the long-term period after autoplasty of the sciatic nerve in adult rats.

AIM: To study morphofunctional characteristics of muscles of the lower leg and foot after autoneuroplasty of a resection defect of the tibial portion of the sciatic nerve and a single IES in adult rats.

MATERIALS AND METHODS: The experiment was performed on 30 Wistar rats who underwent autoneuroplasty (AN) after resection of the tibial portion of the sciatic nerve. Fourteen rats underwent a 40-minute IES session (AN + IES series). In 16 rats IES was not conducted (AN series). At 4 and 6 months after the operation, the tibial nerve function index (TFI) was calculated by analyzing rats' paw traces on a walking track. At the same time, light microscopy and histomorphometry of paraffin and epoxy sections of gastrocnemius and plantar interosseous muscles were performed. A conventional control was muscles of intact limbs.

RESULTS: Atrophy and endomysial fibrosis were less expressed in the gastrocnemius of the AN + IES series in comparison with AN series, the effect was mediated by enhancement of vascularization. In plantar interosseous muscles at 4 months after the operation, the volume density of blood vessels in the AN + IES series was 7.35 (5.49; 8.69), which was greater than in the AN series — 3.43 (2.02; 5.59), $p = 0.0196$. Diameters of muscle fibers and volume density of endomysium were comparable. At 6 months after the operation, endomysial fibrosis progressed in both series, but in the AN + IES series, myopathically altered muscle fibers were less common. After 6-month observation, TFI increased (-47.95) in the AN + IES series and became higher ($p = 0.0339$) than in the AN series, in which TFI became even lower (-93.64) than it was after 4 months (-81.95) of the experiment.

CONCLUSION: A single IES permits to reduce the denervation alterations in the gastrocnemius and plantar interosseous muscles conditioned by damage to the nerve and maturation, and also to improve the tibial nerve function index in the long term after autoneuroplasty.

Keywords: rats; nerve; autoneuroplasty; intraoperative electrical stimulation; gastrocnemius, plantar interosseous muscles; histomorphometry

For citation:

Shchudlo NA, Varsegova TN, Stupina TA, Kubrak NV. Morphofunctional Assessment of Muscles of the Lower Leg and Foot after Autoneuroplasty of Resection Defect of Tibial Portion of the Sciatic Nerve and Single Intraoperative Electrical Neurostimulation in Adult Rats. *I. P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2024;32(4):615–626. DOI: <https://doi.org/10.17816/PAVLOVJ456407>

Received: 23.05.2023

Accepted: 10.07.2023

Published: 31.12.2024

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АН — аутонейропластика

ИЭС — интраоперационная электростимуляция

TFI — tibial nerve function index (индекс функции большеберцового нерва)

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на способность волокон периферической нервной системы к регенерации и явления нейральной пластичности, повреждения периферических нервов существенно снижают качество жизни пациентов, вызывая длительные расстройства чувствительности и движений. Анатомические перерывы нервов требуют хирургического вмешательства, и если прямое сшивание проксимального и дистального концов пересечённого нерва оказывается невыполнимым, то золотым стандартом восстановительной операции считается аутонейропластика [1].

Полное функциональное восстановление после первичного шва нерва достигается только в 10% случаев [2], а после аутонейропластики хорошие результаты возможны у пациентов не старше 25 лет [3]. Результаты аутопластики нервов нижней конечности хуже, чем верхней конечности [4].

Наряду с совершенствованием методов реконструктивной хирургии нервов, в экспериментах на животных разрабатываются многочисленные молекулярные и биоинженерные стратегии улучшения нейрорегенерации, в т. ч. методы электростимуляции [5]. Особый интерес для клинической практики представляет однократная интраоперационная электростимуляция (ИЭС). При разных видах повреждений нервов тазовой конечности крыс доказано её положительное воздействие на нейрорегенерацию и восстановление функциональных параметров [6].

Влияние ИЭС на результаты пластики дефектов нервов показало неоднозначные результаты. При регенерации нерва сквозь кондуит с коллагеновым гелем репарация нерва и восстановление функции конечности были улучшены в сериях с 10-минутной и 60-минутной ИЭС по сравнению с нестимулированным контролем на протяжении 12 недель эксперимента [7]. В аналогичных опытах с аутопластикой 10-минутная ИЭС выявила достоверную разницу толщины регенерировавших нервных волокон через 6 недель после операции, однако ИЭС не влияла на выраженность атрофии икроножной мышцы [8].

В доступной литературе мы не встретили данных о влиянии однократной ИЭС на состояние мышц голени и стопы в отдалённые сроки после аутопластики седалищного нерва у взрослых крыс.

Цель — изучить морфофункциональные характеристики мышц голени и стопы после аутонейропластики резекционного дефекта большеберцовой порции седалищного нерва взрослых крыс и однократной интраоперационной электростимуляции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В условиях операционной 30 лабораторным крысам линии Wistar (мужской пол, возраст 8–15 мес., вес 360–460 г) осуществляли внепроекторный разрез кожи на уровне средней трети бедра для доступа к правому седалищному нерву остро-тупым способом через двуглавую мышцу. При 8-кратном увеличении операционного микроскопа (OPMI-6, Германия) острым сосудистым микрозондом и ножницами для иридектотомии выполняли эпифасцикулярные продольные эпинеуротомические разрезы для выделения большеберцовой порции седалищного нерва. После резекции её участка протяжённостью 6 мм осуществляли интерфасцикулярную аутологичную пластику получившегося дефекта с использованием микрохирургического шовного материала калибра 9–0 и 10–0.

16 крыс составили нестимулированный контроль — по окончании аутонейропластики (АН) рану послойно ушивали рассасывающимся шовным материалом калибра 3–0 — **серия АН**. 14 крысам сразу после АН на проксимальный участок нерва устанавливали электроды. Используя систему электростимуляции периферических нервов «НейСи-3М» (рег. удостоверение № ФСЗ 2011/10004), в течение 40 мин. проводили ИЭС проксимального отрезка нерва монополярными электрическими импульсами прямоугольной формы с амплитудой 0,25 мА, частотой 20 Гц и длительностью 100 мкс, затем рану ушивали — **серия АН + ИЭС**.

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 Этическим комитетом учреждения (Протокол № 2 (57) от 17.05.2018). Животные содержались в контролируемых гигиенических условиях, имели доступ к воде и корму. Для наркоза и обезболивания животным

вводили внутримышечно 0,8 мг гидрохлорида ксилазина и 0,4 мг тилетамина/золазепам на 100 г массы тела, на правом бедре и голени выстригали шерстный покров.

Чтобы обеспечить сопоставимость опытных групп по возрасту, в каждый операционный день оперировали пару крыс: одну без стимуляции, другую со стимуляцией, в одной паре восьмимесячных крыс были обе без стимуляции.

Животных выводили из эксперимента через 4 и 6 мес. после операции. Образцы икроножных мышц и фрагменты стоп после фиксации в 10% растворе нейтрального формалина и декальцинации стоп в смеси соляной и муравьиной кислот заливали по стандартной методике в парафин. Поперечные парафиновые срезы (5–7 мкм) икроножных мышц и тотальные срезы фрагментов стоп, сохраняющие топографию и гистоархитектонику мышц, готовили на микротоме HM 450 (Thermo Scientific, США), окрашивали трехцветным методом по Массону, гематоксилином и эозином. Часть образцов после альдегидно-осмиевой фиксации заключали в аралдит, алмазными ножами на ультрамикротоме Nova LKB (Швеция) изготавливали полутонкие срезы (1 мкм), окрашивали метиленовым синим, азуром II и основным фуксином.

Микроскопию срезов и получение полноцветных цифровых изображений осуществляли с помощью микроскопа AxioScore.A1 и цифровой камеры AxioCam (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Германия). В программе «ВидеоТесТ Мастер-Морфология, 4.0» при увеличении 400× измеряли средние диаметры мышечных волокон (200–400 волокон у каждого животного). В программе «PhotoFiltre 7» при увеличении 400× с помощью тестовой решетки равноудаленных точек с прозрачными центрами методом точко-счетной объеметрии определяли количественное соотношение (%) мышечных волокон, эндомизия и кровеносных сосудов.

Контроль — 9 взрослых интактных крыс, близких по возрасту к оперированным крысам на момент эвтаназии — 16–18 мес. (в данной группе отсутствуют статистически значимые различия между исследуемыми количественными показателями).

Оценку функционального восстановления конечности проводили через 4 и 6 мес. после операции методом анализа следов-отпечатков лап крыс на пешеходной дорожке (рис. 1) и расчета индекса функции большеберцового нерва (англ.: *tibial nerve function index*, TFI). TFI = 0 — нормальная функция, TFI = -100 — полная потеря функции. Использовали формулу, модифицированную J. R. Bain, et al. [9]:

$$TFI = -37,2 (EPL - NPL)/KPL + 104,4 (ETS - NTS)/NTS + 45,6 (EIT - NIT)/NIT - 8,8,$$

где PL — длина отпечатка стопы от пятки до третьего пальца, TS — расстояние между первым и пятым пальцами, IT — расстояние между вторым и четвертым пальцами, NPL, NTS и NIT — данные неоперированной (контралатеральной) конечности, EPL, ETS и EIT — данные экспериментальной (оперированной) конечности (рис. 1). Для расчета применяли данные ручных измерений параметров в мм.

Статистическую обработку данных выполняли в компьютерной программе Attestat, версия 9.3.1 (разработчик И. П. Гайдышев, сертификат о регистрации в Роспатенте № 2002611109). Проверку выборок на нормальность распределения значений осуществляли с помощью критерия Колмогорова. Для попарного сравнения групп животных использовали критерии Манна-Уитни и χ^2 . Значения параметров представляли в виде медиан и квартилей Me (Q₁; Q₃). Отличия считали значимыми при $p \leq 0,05$.

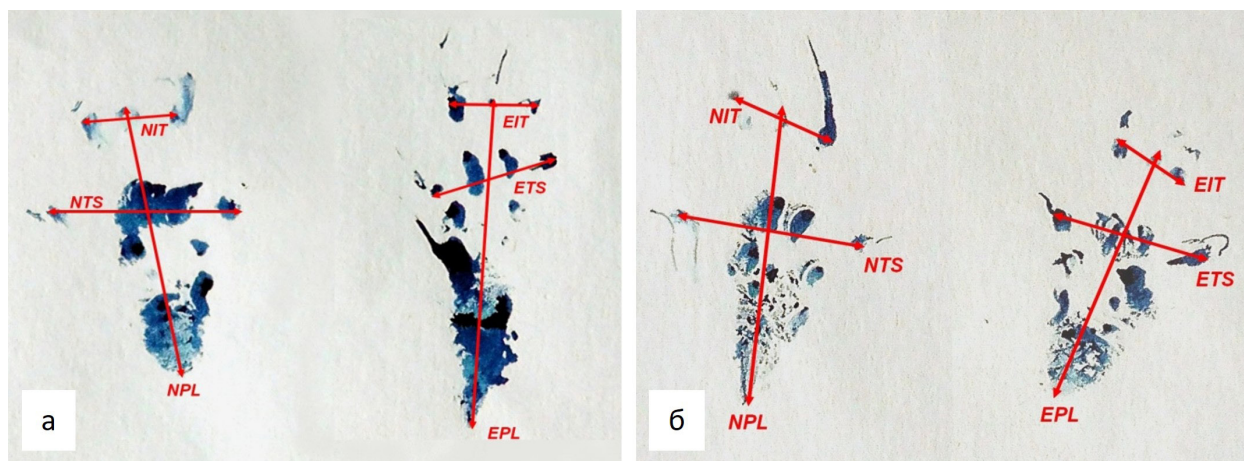


Рис. 1. Следы-отпечатки стоп крыс на пешеходной дорожке: а — серия АН, б — серия АН + ИЭС.

Примечания: PL — расстояние от пятки до третьего пальца, TS — расстояние между первым и пятым пальцами, IT — расстояние между вторым и четвертым пальцами; EPL, ETS и EIT — измерения экспериментальной конечности; NPL, NTS и NIT — неоперированной конечности; АН — аутонейропластика, ИЭС — интраоперационная электростимуляция.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В икроножных и подошвенных межкостных мышцах оперированных крыс выявлены схожие, связанные с длительным денервационно-реиннервационным процессом, изменения мышечных волокон и соединительнотканых оболочек. В икроножной мышце перимизий и прослойки эндомизия утолщены в сравнении с интактной икроножной мышцей крысы (рис. 2, 3). В части нервных стволиков имеются эпи- и эндоневральные отеки, а также реактивно-деструктивно измененные нервные волокна (рис. 2в).

Мышечные волокна икроножных мышц и подошвенных межкостных мышц варьибельны по размерам и формам поперечных профилей: встречались атрофированные и гипертрофированные волокна, часть теряла полигональность, приобретая округлую форму, а часть ангулярную (рис. 2–5), изменения формы чаще регистрировали в подошвенных межкостных мышцах. Реактивно-деструктивные изменения части мышечных волокон включали появление мелких вакуолей, неровных контуров, исчезновение поперечной исчерченности, неравномерное окрашивание (рис. 2в, 2е), смещение ядер к центру (рис. 2б, 2д, 4б, 4в, 5б).

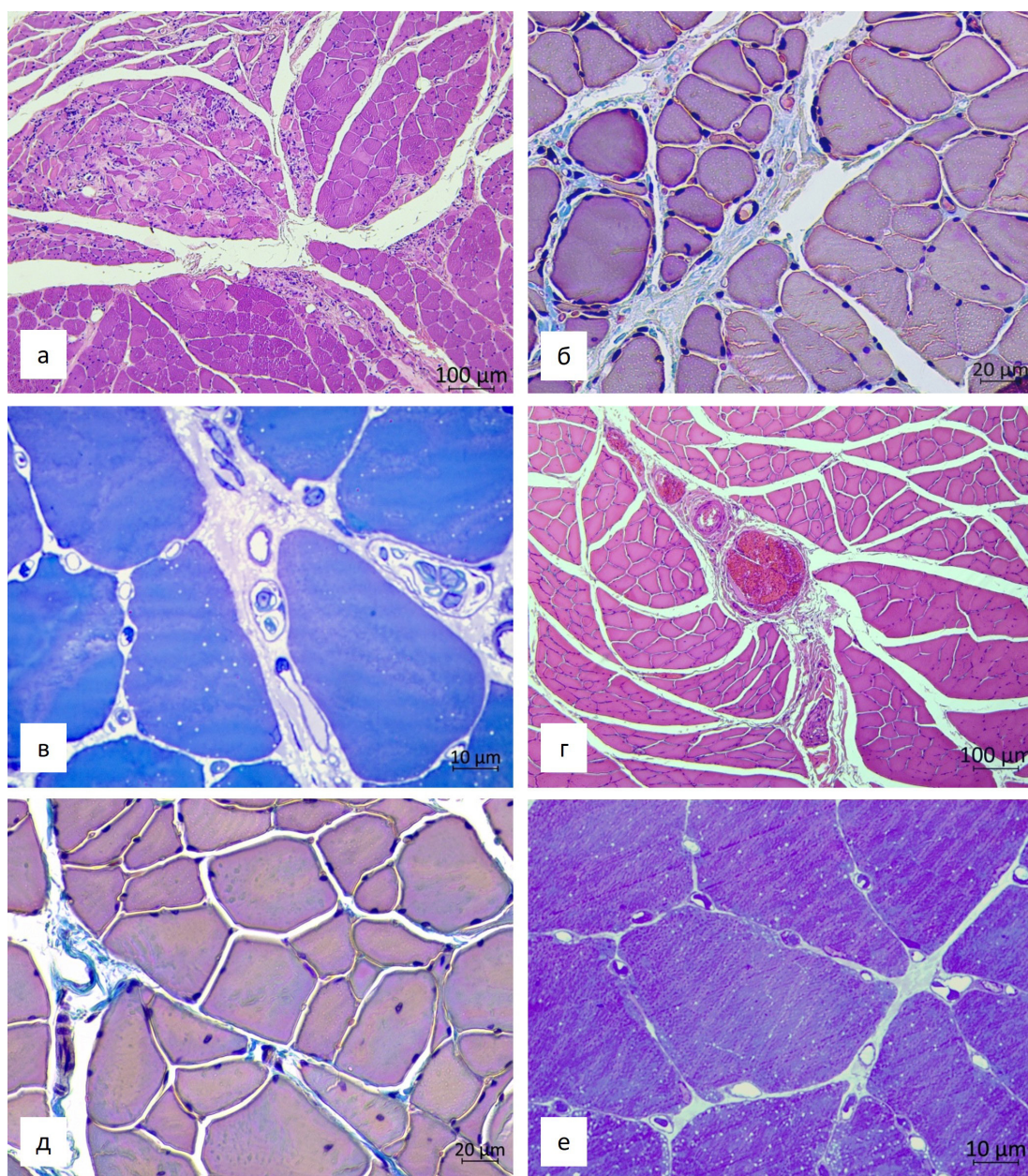


Рис. 2. Икроножная мышца крыс через 4 месяца опыта: а–в — серия АН; г–е — серия АН + ИЭС.

Примечания: поперечные парафиновые срезы, окраска гематоксилином и эозином, увеличение 100× (а, г), окраска трехцветным методом по Массону, увеличение 400× (б, д); поперечные полутонкие срезы, окраска метиленовым синим, азуром II и основным фуксином, увеличение 1000× (в, е).

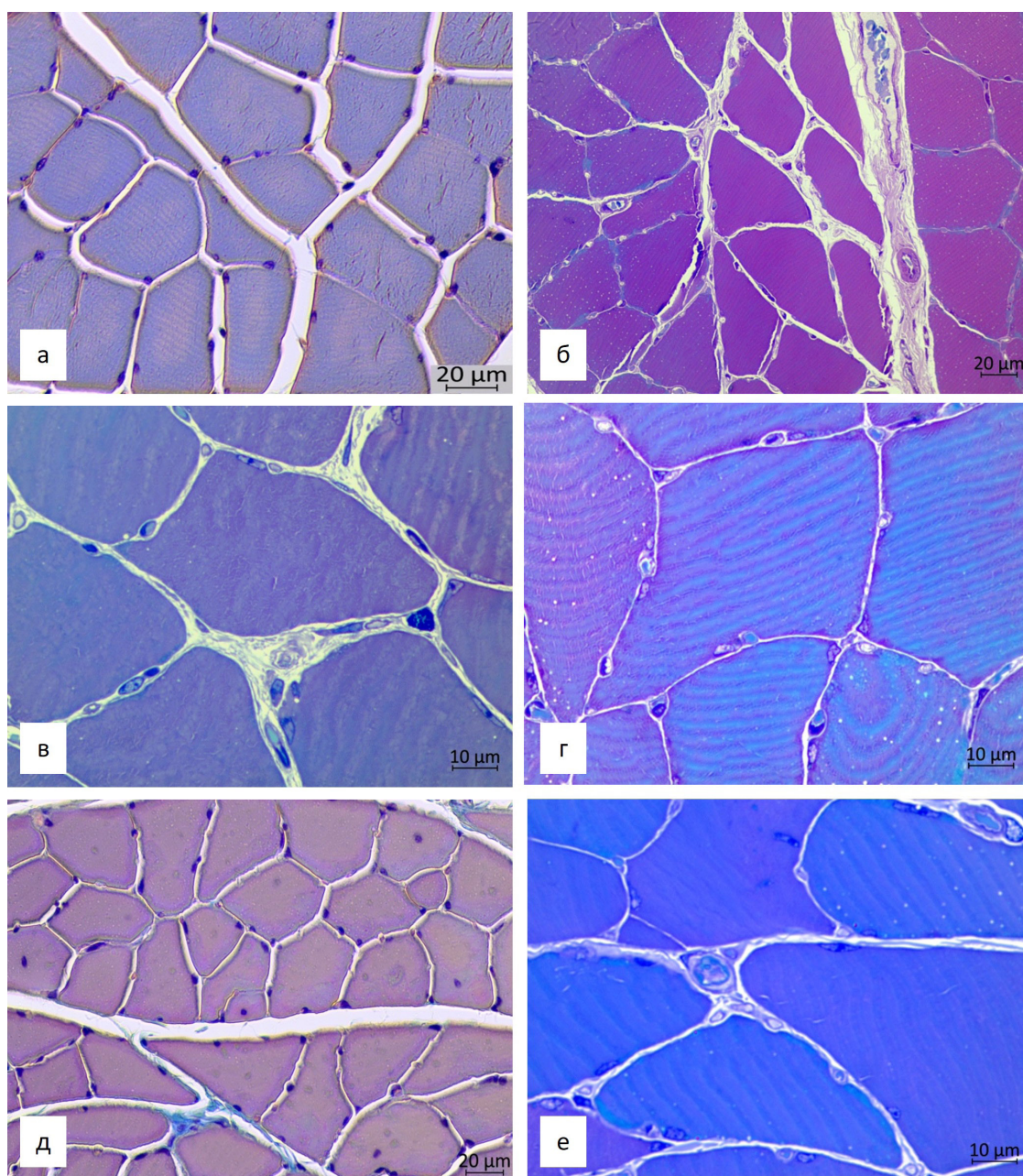


Рис. 3. Икроножная мышца крыс через 6 месяцев опыта: а, г — контроль; б, в — серия АН; д, е — серия АН + ИЭС.

Примечания: поперечные парафиновые срезы, окраска трехцветным методом по Массону, увеличение 400× (а, д); поперечные полутонкие срезы, окраска метиленовым синим, азуром II и основным фуксином, увеличение 400× (б), 1000× (в, г, е).

Через 4 мес. отмечены отдельные участки мышц с выраженной атрофией и некробиотическим распадом ряда мышечных волокон, отеками оболочек, повышенным количеством микрососудов, отдельными очагами кровоизлияний, скоплением клеток фибробластического ряда и лимфоцитов. Такие участки (рис. 2а, 4б) более характерны для серии АН и значительно реже обнаруживались в мышцах крыс серии АН + ИЭС.

Через 6 мес. эксперимента в подошвенных межкостных мышцах в обеих сериях прогрессировали

признаки фиброзного замещения пучков мышечных волокон (рис. 5а, 5в). Гистоморфометрическое исследование икроножных мышц (табл. 1) показало, что через 4 мес. после аутонейропластики большеберцовой порции седалищного нерва снижение среднего диаметра мышечных волокон по сравнению с контролем более выражено в серии АН на 43% ($p < 0,05$), а в серии АН + ИЭС на 24% ($p < 0,05$). Объемная плотность капилляров в серии со стимуляцией превышает контроль и показатели серии АН в два раза (табл. 1),

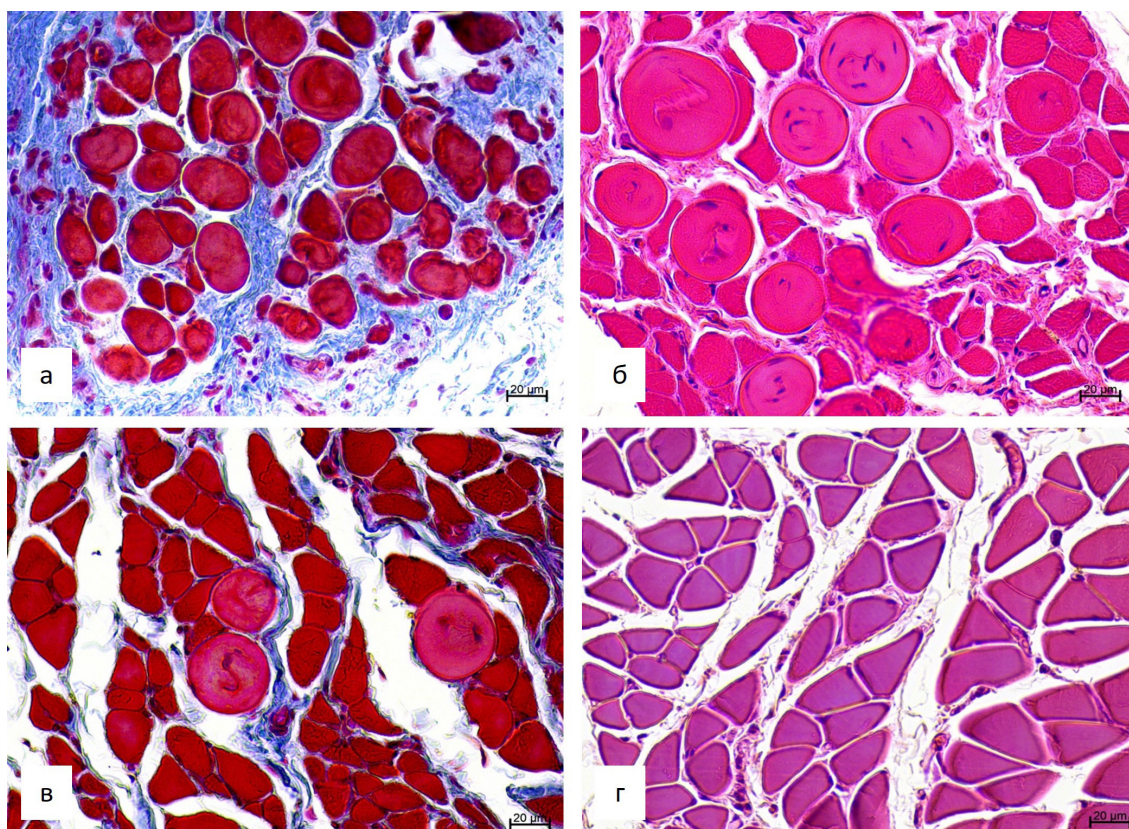


Рис. 4. Подошвенная межкостная мышца крыс через 4 месяца опыта: а, б — серия АН; в, г — серия АН + ИЭС.

Примечания: Поперечные парафиновые срезы, окраска трехцветным методом по Массону (а, в), гематоксилином и эозином (б, г); увеличение 400×.

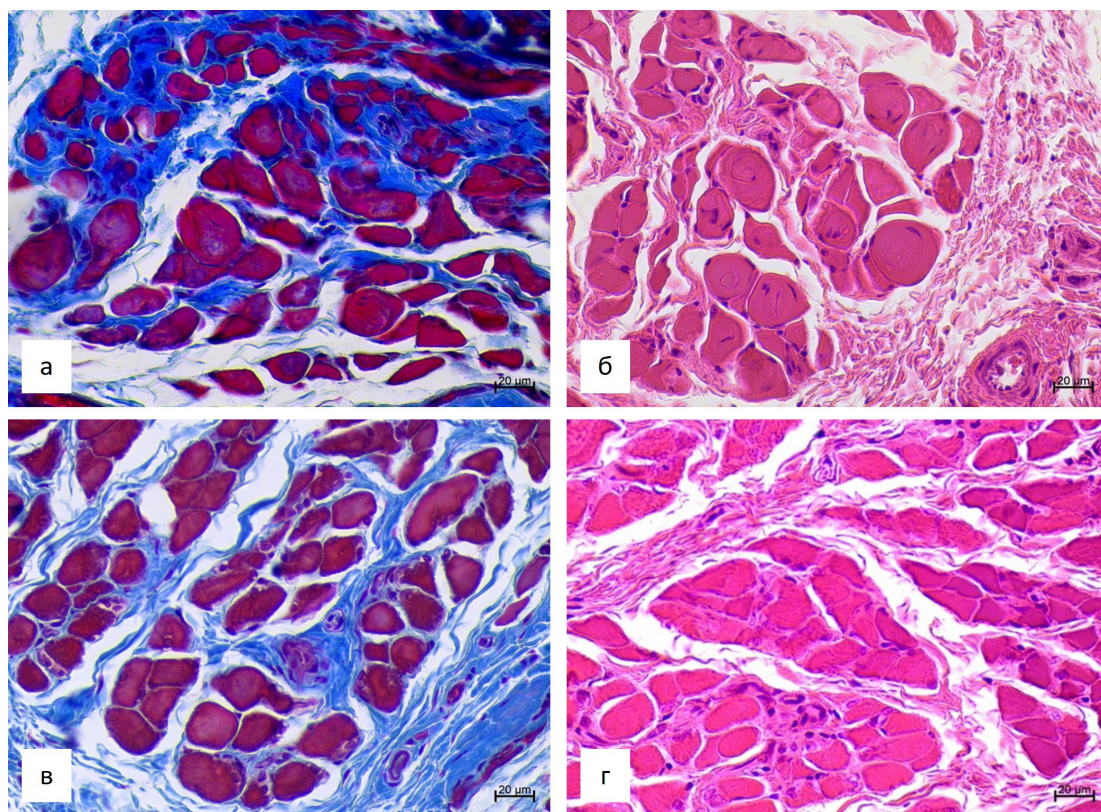


Рис. 5. Подошвенная межкостная мышца крыс через 6 месяцев опыта: а, б — серия АН; в, г — серия АН + ИЭС.

Примечания: Поперечные парафиновые срезы, окраска трехцветным методом по Массону (а, в), гематоксилином и эозином (б, г); увеличение 400×.

свидетельствуя о лучшем кровоснабжении мышц. Объемная плотность эндомизия по сравнению с контролем возрастает в обеих сериях ($p < 0,05$), но в серии АН в 2,2 раза, а в серии АН + ИЭС только в 1,4 раза.

Через 6 мес. после операции средние диаметры мышечных волокон остаются сниженными относительно контроля (табл. 1). Объемная плотность капилляров

у стимулированных животных, как и через 4 мес. опыта, превышает контроль и значения нестимулированных в 2 раза. Объемная плотность эндомизия в икроножной мышце превышает контроль только в серии АН, а у стимулированных животных параметр не отличается от контроля (табл. 1).

Таблица 1. Количественные характеристики икроножных мышц

4 месяца эксперимента		6 месяцев эксперимента		Контроль, n = 9
Серия 1 (АН), n = 8	Серия 2 (АН и ИЭС), n = 7	Серия 1 (АН), n = 8	Серия 2 (АН и ИЭС), n = 7	
Диаметр мышечных волокон, Me (Q ₁ ; Q ₃), мкм				
28,68 (19,91; 37,68) $p^{1-\kappa} = 0,00052^*$ $p^{1-2} = 0,00195^*$	39,92 (33,24; 46,90) $p^{2-\kappa} = 0,00146^*$	37,22 (29,27; 41,91) $p^{1-\kappa} = 0,00053^*$ $p^{1-2} = 0,04914^*$	41,10 (34,33; 47,15) $p^{2-\kappa} = 0,00085^*$	52,80 (44,20; 60,93)
Объемная плотность кровеносных сосудов, Me (Q ₁ ; Q ₃), %				
2 (2; 3) $p^{1-\kappa} = 0,023845$ $p^{1-2} = 0,004078$	4 (3; 5) $p^{2-\kappa} = 3,27 \times 10^{-7}$	2 (1; 3) $p^{1-\kappa} = 0,09758$ $p^{1-2} = 0,004026$	4 (3; 5) $p^{2-\kappa} = 0,000017$	2 (1; 3)
Объемная плотность эндомизия, Me (Q1; Q3), %				
11 (8; 14) $p^{1-\kappa} = 7 \times 10^{-9}$ $p^{1-2} = 2 \times 10^{-9}$	7 (5; 8) $p^{2-\kappa} = 0,015757$	6 (5; 11) $p^{1-\kappa} = 0,001678$ $p^{1-2} = 0,00193$	5 (4; 7) $p^{2-\kappa} = 0,76819$	5 (3; 6)

Примечания: применяли критерий Манна–Уитни; p^{k-1} — сравнение контроля и серии 1 (АН); p^{k-2} — сравнение контроля и серии 2 (АН и ИЭС); p^{1-2} — сравнение серии 1 и серии 2; АН — аутонейропластика; ИЭС — интраоперационная электростимуляция

Таблица 2. Количественные характеристики подошвенных межкостных мышц

4 месяца эксперимента		6 месяцев эксперимента		Контроль, n = 9
Серия 1 (АН), n = 8	Серия 2 (АН и ИЭС), n = 7	Серия 1 (АН), n = 8	Серия 2 (АН и ИЭС), n = 7	
Диаметр мышечных волокон, Me (Q ₁ ; Q ₃), мкм				
17,07 (13,54; 22,87) $p^{k-1} = 2 \times 10^{-10}$ $p^{1-2} = 0,4532$	19,01 (13,81; 24,39) $p^{k-2} = 3 \times 10^{-9}$	17,01 (11,43; 20,52) $p^{k-1} = 0,0001$ $p^{1-2} = 7 \times 10^{-5}$	14,1 (9,41; 16,79) $p^{k-2} = 0,0001$	21,52 (17,13; 25,31)
Объемная плотность кровеносных сосудов, Me (Q ₁ ; Q ₃), %				
3,43 (2,02; 5,59) $p^{k-1} = 0,0007$ $p^{1-2} = 0,0196$	7,35 (5,49; 8,69) $p^{k-2} = 0,3088$	6,66 (5,01; 7,51) $p^{k-1} = 0,0266$ $p^{1-2} = 0,2234$	5,72 (4,06; 6,56) $p^{k-2} = 0,0006$	8,18 (6,51; 11,45)
Объемная плотность эндомизия, Me (Q ₁ ; Q ₃), %				
28,51 (19,32; 41,58) $p^{k-1} = 0,0009$ $p^{1-2} = 0,0121$	20,51 (17,99; 29,29) $p^{k-2} = 0,0708$	40,68 (30,66; 56,68) $p^{k-1} = 2,01 \times 10^{-5}$	46,33 (44,25; 54,33) $p^{k-2} = 1,98 \times 10^{-6}$ $p^{1-2} = 0,3544$	18,15 (17,01; 19,79)

Примечания: применяли критерий Манна–Уитни; p^{k-1} — сравнение контроля и серии 1 (АН); p^{k-2} — сравнение контроля и серии 2 (АН и ИЭС); p^{1-2} — сравнение серии 1 и серии 2; АН — аутонейропластика; ИЭС — интраоперационная электростимуляция

Гистоморфометрический анализ подошвенных межкостных мышц показал, что через 4 мес. после операции диаметр мышечных волокон снижен относительно контроля в серии АН на 20,6%, в серии АН + ИЭС на 11,6%, между сериями статистические различия не выявлены (табл. 2). Через 6 мес. после операции в обеих сериях сохранялись сниженные значения данного параметра относительно контроля, у нестимулированных животных значения диаметра мышечных волокон выше ($p < 0,05$) значений стимулированных крыс (табл. 2), что связано с гипертрофией большей части волокон (рис. 5а, 5б). Объёмная плотность сосудов микроциркуляторного русла в серии АН + ИЭС больше, чем в серии АН только через 4 мес. после операции, через 6 мес. различия по этому параметру статистически незначимы (табл. 2). Объёмная плотность эндомизия через 4 мес. после операции у стимулированных животных уменьшена по сравнению со нестимулированными, а через 6 мес. в обеих сериях параметр существенно увеличивается, превышая контроль более чем в 2 раза (табл. 2).

Анализ следов-отпечатков стоп крыс на пешеходной дорожке выявил значительное нарушение функции оперированных конечностей обеих серий через 4 мес. после аутонейропластики большеберцовой порции седалищного нерва, более выраженное ($p = 0,1649$) у нестимулированных животных: в серии АН функциональный индекс составил $-81,95 \pm 15,85$, а в серии АН + ИЭС составил $-69,19 \pm 8,57$. Через 6 мес. наблюдения в серии АН + ИЭС функциональный индекс повышается до $-47,95 \pm 20,76$, что расценивается как положительная динамика, и становится достоверно больше ($p = 0,0339$), чем в серии АН, в которой функциональный индекс оказывается еще более низким, чем через 4 мес., и составляет $-93,64 \pm 12,51$, что свидетельствует о сохранении регресса двигательной функции у нестимулированных животных.

ОБСУЖДЕНИЕ

В большинстве экспериментальных разработок новых способов реконструкции нервов используются либо юные крысы [10], либо очень старые [11]. По данным эпидемиологического анализа повреждений нервов в клинике, средний возраст пострадавших превышает 40 лет, но выделяется два пика — 24 и 56 лет [12]. Периодизация возраста крыс относительно возраста человека детально не изучена, однако известно, что у двенадцатимесечных крыс линии Wistar по сравнению с восьмимесечными снижена антиоксидантная активность крови [13] и выражен метаболический синдром [14]. Для улучшения трансляруемости результатов экспериментальных исследований в клиническую практику мы старались учитывать

эти данные при определении возрастного состава экспериментальных групп.

Клиническая релевантность исследований регенерации седалищного нерва экспериментальных животных обусловлена его частыми повреждениями во время боевых действий [15] и при эндопротезировании тазобедренного сустава [16, 17].

В нашем исследовании впервые получены доказательства влияния однократной интраоперационной электростимуляции на морфофункциональные характеристики мышц голени и стопы в отдалённые сроки (4 и 6 мес.) после аутопластики резекционного дефекта большеберцовой порции седалищного нерва. Установлено, что в икроножной мышце стимулированных животных по сравнению с нестимулированными менее выражена атрофия мышечных волокон и фиброз эндомизия, эффект опосредован усилением васкуляризации. Наиболее клинически значимый результат, полученный в данном исследовании, — у стимулированных животных седалищный функциональный индекс улучшен по сравнению с нестимулированными вплоть до 6 мес. после операции, несмотря на то что в это время многие животные либо приближаются к возрасту связанной со старением саркопении, либо даже превышают его. Известно, что у крыс линии Wistar снижение массы мышц голени, дисфункция нейромышечных соединений, нарушения походки и изменения численно-размерного состава мышечных волокон выявляются уже в восемнадцатимесечном возрасте [18], причём у людей в мышцах голени выявляются аналогичные изменения [19].

Седалищный функциональный индекс зависит от состояния мышц не только голени, но и стопы. В подошвенных межкостных мышцах через 4 мес. после операции объёмная плотность кровеносных сосудов у стимулированных животных, также как и в икроножной мышце, достоверно больше, чем у нестимулированных, но диаметры мышечных волокон и объёмная плотность эндомизия сопоставимы. Через 6 мес. после операции в обеих сериях прогрессирует фиброз эндомизия. Однако в серии с электростимуляцией миопатически изменённые мышечные волокна встречались реже.

Прогрессирование фиброза эндомизия межкостных подошвенных мышц через 6 мес. после операции, вероятно, связано с развитием возрастной саркопении. По данным других авторов, у взрослых крыс по сравнению с юными снижен уровень экспрессии нейральной молекулы межклеточной адгезии NCAM1 и повышен уровень белка Gadd45a, регулирующего биогенез митохондрий и дифференцировку преадипоцитов, что документирует связанную с взрослением денервацию подошвенных мышц [20], однако доказано, что высокоинтенсивные упражнения предотвращают связанную с возрастом денервационную атрофию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Однократная интраоперационная электростимуляция позволяет уменьшить связанные с повреждением нерва и взрослением денервационные изменения икроножных и межкостных подошвенных мышц, а также улучшить большеберцовый функциональный индекс в отдалённые сроки после аутонейропластики.

Авторы считают актуальными дальнейшие поиски новых способов повышения эффективности результатов аутонейропластики дефектов периферических нервов. Перспективны дальнейшие разработки комплекса реабилитационных мероприятий, направленные на улучшение морфофункциональных параметров мышц стопы и результатов аутонейропластики.

ДОПОЛНИТЕЛЬНО

Финансирование. Работа поддержана программой Министерства здравоохранения Российской Федерации в рамках государственного задания ФГБУ «НМИЦ ТО им. акад. Г. А. Илизарова» Минздрава России для выполнения НИР (номер в ЕГИСУ НИОКТР 021062800186-1) на 2021–2023 гг.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов: *Щудло Н. А.* — руководство проектом, научное обоснование, методология, проведение исследования, написание текста, редактирование; *Варсегова Т. Н.* — проведение исследования, анализ данных, написание текста; *Ступина Т. А.* — проведение исследования, анализ данных, написание текста; *Кубрак Н. В.* — проведение исследования, анализ данных. Авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Funding. The work was supported by the program of the Ministry of Health of the Russian Federation within the framework of the state assignment of the National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics to carry out the research works (No. 021062800186-1) for 2021–2023.

Conflict of interests. The authors declare no conflicts of interests.

Contribution of authors: *N. A. Shchudlo* — management of project, scientific justification, methodology, conducting of study, writing the text, editing; *T. N. Varsegova* — conducting of study, analysis of data, writing the text; *T. A. Stupina* — conducting of study, analysis of data, writing the text; *N. V. Kubrak* — conducting of study, analysis of data. The authors confirm the correspondence of their authorship to the ICMJE International Criteria. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Kornfeld T., Vogt P.M., Radtke C. Nerve grafting for peripheral nerve injuries with extended defect sizes // *Wien. Med. Wochenschr.* 2019. Vol. 169, No. 9–10. P. 240–251. doi: [10.1007/s10354-018-0675-6](https://doi.org/10.1007/s10354-018-0675-6)
- Scholz T., Krichovsky A., Sumarto A., et al. Peripheral nerve injuries: an international survey of current treatments and future perspectives // *J. Reconstr. Microsurg.* 2009. Vol. 25, No. 6. P. 339–344. doi: [10.1055/s-0029-1215529](https://doi.org/10.1055/s-0029-1215529)
- Kuffler D.P., Foy C. Restoration of Neurological Function Following Peripheral Nerve Trauma // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. Vol. 21, No. 5. P. 1808. doi: [10.3390/ijms21051808](https://doi.org/10.3390/ijms21051808)
- Matejčík V., Steno J., Benetin J., et al. Results of peripheral nerve reconstruction by autograft // *Bratisl. Lek. Listy.* 2001. Vol. 102, No. 2. P. 92–98.
- Grinsell D., Keating C.P. Peripheral nerve reconstruction after injury: a review of clinical and experimental therapies // *Biomed Res. Int.* 2014. Vol. 2014. P. 698256. doi: [10.1155/2014/698256](https://doi.org/10.1155/2014/698256)
- Roh J., Schellhardt L., Keane G.C., et al. Short-Duration, Pulsatile, Electrical Stimulation Therapy Accelerates Axon Regeneration and Recovery following Tibial Nerve Injury and Repair in Rats // *Plast. Reconstr. Surg.* 2022. Vol. 149, No. 4. P. 681e–690e. doi: [10.1097/prs.00000000000008924](https://doi.org/10.1097/prs.00000000000008924)
- Calvey C., Zhou W., Stakleff K.S., et al. Short-term electrical stimulation to promote nerve repair and functional recovery in a rat model // *J. Hand Surg. Am.* 2015. Vol. 40, No. 2. P. 314–322. doi: [10.1016/j.jhsa.2014.10.002](https://doi.org/10.1016/j.jhsa.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. Vol. 1, No. 1. P. 181–191. doi: [10.1089/neur.2020.0049](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 // *Plast. Reconstr. Surg.* 1989. Vol. 83, No. 1. P. 129–138. doi: [10.1097/00006534-198901000-00024](https://doi.org/10.1097/00006534-198901000-00024)
- Contreras E., Bolívar S., Nieto-Nicolau N., et al. A novel decellularized nerve graft for repairing peripheral nerve long gap injury in the rat // *Cell Tissue Res.* 2022. Vol. 390, No. 3. P. 355–366. doi: [10.1007/s00441-022-03682-1](https://doi.org/10.1007/s00441-022-03682-1)
- Kaneko A., Naito K., Nakamura S., et al. Influence of aging on the peripheral nerve repair process using an artificial nerve conduit // *Exp. Ther. Med.* 2021. Vol. 21, No. 2. P. 168. doi: [10.3892/etm.2020.9599](https://doi.org/10.3892/etm.2020.9599)
- Aman M., Zimmermann K.S., Thielen M., et al. An Epidemiological and Etiological Analysis of 5026 Peripheral Nerve Lesions from a European Level I Trauma Center // *J. Pers. Med.* 2022. Vol. 12, No. 10. P. 1673. doi: [10.3390/jpm12101673](https://doi.org/10.3390/jpm12101673)
- Kumar D., Rizvi S.I. Age-dependent paraoxonase 1 (PON1) activity and LDL oxidation in Wistar rats during their entire lifespan // *ScientificWorldJournal.* 2014. Vol. 2014. P. 538049. doi: [10.1155/2014/538049](https://doi.org/10.1155/2014/538049)
- Ghezzi A.C., Cambri L.T., Botezelli J.D., et al. Metabolic syndrome markers in Wistar rats of different ages // *Diabetol. Metab. Syndr.* 2012. Vol. 4, No. 1. P. 16. doi: [10.1186/1758-5996-4-16](https://doi.org/10.1186/1758-5996-4-16)
- Jones P.E., Meyer R.M., Faillace W.J., et al. Combat Injury of the Sciatic Nerve — An Institutional Experience // *Mil. Med.* 2018. Vol. 183, No. 9–10. P. e434–e441. doi: [10.1093/milmed/usy030](https://doi.org/10.1093/milmed/usy030)

16. Пронских А.А., Харитонов К.Н., Корыткин А.А., и др. Тотальное эндопротезирование у пациентов с последствиями переломов вертлужной впадины // *Гений ортопедии*. 2021. Т. 27, № 5. С. 620–627. doi: [10.18019/1028-4427-2021-27-5-620-627](https://doi.org/10.18019/1028-4427-2021-27-5-620-627)

17. Шнайдер Л.С., Голеньков О.И., Тургунов Э.У., и др. Укорачивающая подвертельная остеотомия бедренной кости при эндопротезировании тазобедренного сустава у пациентов с врожденным вывихом бедра // *Гений ортопедии*. 2020. Т. 26, № 3. С. 340–346. doi: [10.18019/1028-4427-2020-26-3-340-346](https://doi.org/10.18019/1028-4427-2020-26-3-340-346)

18. Pannérec A., Springer M., Migliavacca E., et al. A robust neuromuscular system protects rat and human skeletal muscle from

sarcopenia // *Aging* (Albany NY). 2016. Vol. 8, No. 4. P. 712–729. doi: [10.18632/aging.100926](https://doi.org/10.18632/aging.100926)

19. Janssen I., Heymsfield S.B., Wang Z.M., et al. Skeletal muscle mass and distribution in 468 men and women aged 18–88 yr // *J. Appl. Physiol.* (1985). 2000. Vol. 89, No. 1. P. 81–88. doi: [10.1152/jappl.2000.89.1.81](https://doi.org/10.1152/jappl.2000.89.1.81)

20. Tayebi S.M., Siahkhouhian M., Keshavarz M., et al. The Effects of High-Intensity Interval Training on Skeletal Muscle Morphological Changes and Denervation Gene Expression of Aged Rats // *Monten. J. Sports Sci. Med.* 2019. Vol. 8, No. 2. P. 39–45. doi: [10.26773/mjssm.190906](https://doi.org/10.26773/mjssm.190906)

REFERENCES

- Kornfeld T, Vogt PM, Radtke C. Nerve grafting for peripheral nerve injuries with extended defect sizes. *Wien Med Wochenschr.* 2019;169(9–10):240–51. doi: [10.1007/s10354-018-0675-6](https://doi.org/10.1007/s10354-018-0675-6)
- Scholz T, Krichevsky A, Sumarto A, et al. Peripheral nerve injuries: an international survey of current treatments and future perspectives. *J Reconstr Microsurg.* 2009;25(6):339–44. doi: [10.1055/s-0029-1215529](https://doi.org/10.1055/s-0029-1215529)
- Kuffler DP, Foy C. Restoration of Neurological Function Following Peripheral Nerve Trauma. *Int J Mol Sci.* 2020;21(5):1808. doi: [10.3390/ijms21051808](https://doi.org/10.3390/ijms21051808)
- Matejčík V, Steno J, Benetin J, et al. Results of peripheral nerve reconstruction by autograft. *Bratisl Lek Listy.* 2001;102(2):92–8. (In Engl., Slovak.).
- Grinsell D, Keating CP. Peripheral nerve reconstruction after injury: a review of clinical and experimental therapies. *Biomed Res Int.* 2014;2014:698256. doi: [10.1155/2014/698256](https://doi.org/10.1155/2014/698256)
- Roh J, Schellhardt L, Keane GC, et al. Short-Duration, Pulsatile, Electrical Stimulation Therapy Accelerates Axon Regeneration and Recovery following Tibial Nerve Injury and Repair in Rats. *Plast Reconstr Surg.* 2022;149(4):681e–90e. doi: [10.1097/prs.0000000000008924](https://doi.org/10.1097/prs.0000000000008924)
- Calvey C, Zhou W, Stakleff KS, et al. Short-term electrical stimulation to promote nerve repair and functional recovery in a rat model. *J Hand Surg Am.* 2015;40(2):314–22. doi: [10.1016/j.jhssa.2014.10.002](https://doi.org/10.1016/j.jhssa.2014.10.002)
- Koh GP, Fouad C, Lanzinger W, et al. Effect of Intraoperative Electrical Stimulation on Recovery after Rat Sciatic Nerve Isograft Repair. *Neurotrauma Rep.* 2020;1(1):181–91. doi: [10.1089/neur.2020.0049](https://doi.org/10.1089/neur.2020.0049)
- Bain JR, Mackinnon SE, Hunter DA. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast Reconstr Surg.* 1989;83(1):129–38. doi: [10.1097/00006534-198901000-00024](https://doi.org/10.1097/00006534-198901000-00024)
- Contreras E, Bolívar S, Nieto-Nicolau N, et al. A novel decellularized nerve graft for repairing peripheral nerve long gap injury in the rat. *Cell Tissue Res.* 2022;390(3):355–66. doi: [10.1007/s00441-022-03682-1](https://doi.org/10.1007/s00441-022-03682-1)
- Kaneko A, Naito K, Nakamura S, et al. Influence of aging on the peripheral nerve repair process using an artificial nerve conduit. *Exp Ther Med.* 2021;21(2):168. doi: [10.3892/etm.2020.9599](https://doi.org/10.3892/etm.2020.9599)
- Aman M, Zimmermann KS, Thielen M, et al. An Epidemiological and Etiological Analysis of 5026 Peripheral Nerve Lesions from a European Level I Trauma Center. *J Pers Med.* 2022;12(10):1673. doi: [10.3390/jpm12101673](https://doi.org/10.3390/jpm12101673)
- Kumar D, Rizvi SI. Age-dependent paraoxonase 1 (PON1) activity and LDL oxidation in Wistar rats during their entire lifespan. *Scientific World Journal.* 2014;2014:538049. doi: [10.1155/2014/538049](https://doi.org/10.1155/2014/538049)
- Ghezzi AC, Cambri LT, Botezelli JD, et al. Metabolic syndrome markers in Wistar rats of different ages. *Diabetol Metab Syndr.* 2012;4(1):16. doi: [10.1186/1758-5996-4-16](https://doi.org/10.1186/1758-5996-4-16)
- Jones PE, Meyer RM, Faillace WJ, et al. Combat Injury of the Sciatic Nerve — An Institutional Experience. *Mil Med.* 2018;183(9–10):e434–41. doi: [10.1093/milmed/usy030](https://doi.org/10.1093/milmed/usy030)
- Pronskikh AA, Kharitonov KN, Korytkin AA, et al. Total hip arthroplasty in patients with acetabular fractures. *Genij Ortopedii.* 2021;27(5):620–7. (In Russ). doi: [10.18019/1028-4427-2021-27-5-620-627](https://doi.org/10.18019/1028-4427-2021-27-5-620-627)
- Shneider LS, Golenkov OI, Turgunov EU, et al. Shortening subtrochanteric osteotomy of the femur in total hip arthroplasty in patients with congenital hip dislocation. *Genij Ortopedii.* 2020;26(3):340–6. (In Russ). doi: [10.18019/1028-4427-2020-26-3-340-346](https://doi.org/10.18019/1028-4427-2020-26-3-340-346)
- Pannérec A, Springer M, Migliavacca E, et al. A robust neuromuscular system protects rat and human skeletal muscle from sarcopenia. *Aging* (Albany NY). 2016;8(4):712–9. doi: [10.18632/aging.100926](https://doi.org/10.18632/aging.100926)
- Janssen I, Heymsfield SB, Wang ZM, et al. Skeletal muscle mass and distribution in 468 men and women aged 18–88 yr. *J Appl Physiol* (1985). 2000;89(1):81–8. doi: [10.1152/jappl.2000.89.1.81](https://doi.org/10.1152/jappl.2000.89.1.81)
- Tayebi SM, Siahkhouhian M, Keshavarz M, et al. The Effects of High-Intensity Interval Training on Skeletal Muscle Morphological Changes and Denervation Gene Expression of Aged Rats. *Monten J Sports Sci Med.* 2019;8(2):39–45. doi: [10.26773/mjssm.190906](https://doi.org/10.26773/mjssm.190906)

ОБ АВТОРАХ

Щудло Наталья Анатольевна, д.м.н.;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9914-8563>;
eLibrary SPIN: 3795-4250; e-mail: nshchudlo@mail.ru

* **Варсегова Татьяна Николаевна**, к.б.н.;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5430-2045>;
eLibrary SPIN: 1974-8274; e-mail: varstn@mail.ru

Ступина Татьяна Анатольевна, д.б.н.;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3434-0372>;
eLibrary SPIN: 7598-4540; e-mail: stupinasta@mail.ru

Кубрак Надежда Владимировна;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7494-8342>;
eLibrary SPIN: 7310-3380; e-mail: kubrak2@mail.ru

AUTHORS' INFO

Natal'ya A. Shchudlo, MD, Dr. Sci. (Med.);
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9914-8563>;
eLibrary SPIN: 3795-4250; e-mail: nshchudlo@mail.ru

* **Tat'yana N. Varsegova**, Cand. Sci. (Biol.);
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5430-2045>;
eLibrary SPIN: 1974-8274; e-mail: varstn@mail.ru

Tat'yana A. Stupina, Dr. Sci. (Biol.);
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3434-0372>;
eLibrary SPIN: 7598-4540; e-mail: stupinasta@mail.ru

Nadezhda V. Kubrak;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7494-8342>;
eLibrary SPIN: 7310-3380; e-mail: kubrak2@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author