

УДК 616-003.93-611.835.8-615.83

## ГИСТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ПЕРЕМЕННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ И ИМПУЛЬСНОГО ТОКА НА РЕГЕНЕРАЦИЮ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА КРЫС В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

**Нинель В.Г., Норкин И.А., Пучиньян Д.М., Богомолова Н.В., Коршунова Г.А.,  
Матвеева О.В., Айтемиров Ш.М.**

*Саратовский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии  
Минздрава России, Саратов, e-mail: sarniito@yandex.ru*

Цель работы – изучить эффективность воздействия переменного магнитного поля и электрических импульсов на процесс регенерации пересечённого седалищного нерва крысы после его нейрорафии. В эксперименте на 90 белых крысах с полным пересечением и последующей нейрорафией седалищного нерва (контрольная серия) изучено влияние переменного магнитного поля (1-я опытная серия) и электрических импульсов (2-я опытная серия) на процесс регенерации нервного ствола. Результаты гистоморфологических исследований показали, что у животных 2-й опытной серии, по сравнению с контрольной, наблюдалось достоверное ( $p < 0,05$ ) ускорение регенераторных процессов в аксонах повреждённого нерва и более полное восстановление их функций.

**Ключевые слова:** седалищный нерв, регенерация, переменное магнитное поле, электроимпульсная стимуляция

## HISTOMORPHOLOGICAL EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF THE IMPACT OF ALTERNATING MAGNETIC FIELD AND PULSE CURRENT ON THE REGENERATION OF THE SCIATIC NERVE IN RATS IN THE EXPERIMENT

**Ninel V.G., Norkin I.A., Puchinyan D.M., Bogomolova N.V., Korshunova G.A.,  
Matveeva O.V., Aytemirov S.M.**

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

The objective of the work is to study the efficiency of the impact of alternating magnetic field and electrical pulses on the process of regeneration of the transected sciatic nerve in rats after its neurotomy. In the experiment in 90 white rats with the complete transection and neurotomy of the sciatic nerve (reference series) following next the impact of alternating magnetic field (1<sup>st</sup> experimental series) and electrical pulses (2<sup>nd</sup> experimental series) on the process of regeneration of the nerve trunk are studied. The results of the histomorphological studies have shown that in the animals of the 2<sup>nd</sup> experimental series, compared to the control one, significant ( $p < 0,05$ ) acceleration of regenerative processes in axons of the damaged nerve and complete restoration of their functions were observed.

**Keywords:** sciatic nerve, regeneration, alternating magnetic field, electropulse stimulation

Лечение пациентов с травматическими поражениями периферической нервной системы является одной из наиболее сложных и до конца ещё не решённых проблем современной медицины [1, 7]. Актуальность данной проблемы, с одной стороны, обусловлена все увеличивающимся количеством травм периферической нервной системы, длительными сроками восстановительного лечения и высоким процентом инвалидности у этого контингента пострадавших, с другой, – имеющимися сложностями морфологической структуры нервной ткани и недостаточной полнотой изученностью патофизиологических закономерностей восстановительных процессов в центральной и периферической нервной системе [2]. Несмотря на способность периферических нервов к регенерации, функциональные результаты их восстановления нельзя назвать удовлетворительными, в связи с чем проблема улучшения результатов посттравматической реабилитации пациентов

с повреждениями периферических нервных проводников сохраняет свою актуальность до настоящего времени. В этом плане определённые перспективы возлагают на использование с лечебной целью таких физических факторов, как магнитные и электрические поля. Однако эффективность этих методик до сих пор изучена недостаточно [3].

**Цель работы.** Изучить эффективность воздействия переменного магнитного поля и электрических импульсов на процесс регенерации пересечённого седалищного нерва крысы после его нейрорафии.

### **Материалы и методы исследования**

Основу данной работы составили результаты экспериментальных исследований на 90 белых беспородных крысах обоего пола, массой 200–250 г. Все животные находились в одинаковых условиях вивария. Опыты проводились в отдельной лаборатории, исключающей посторонние раздражители, при постоянной температуре воздуха 18–22°C, со стандартным уровнем освещения и влажности. При

содержании в виварии животных обеспечивали сбалансированным кормом и водой. Проведены 3 серии опытов по 30 крыс в каждой, при этом соблюдались все условия, предусмотренные Хельсинской декларацией (1964) и документом «Положение об использовании животных в биомедицинских исследованиях», принятым 41-й Генеральной Ассамблеей Всемирной медицинской ассоциации (1989), и касающиеся этических моментов проведения экспериментов на животных.

Животным всех 3-х серий под перитонеальным тиопенталовым наркозом обнажали седалищный нерв и производили полную его перерезку на уровне средней трети бедра, после чего осуществляли нейрорафию путём наложения эпиперинеуральных швов с применением микрохирургической техники, атравматических игл и шовного материала 10/0 или 8/0 USP.

В 1-й опытной серии место операции (средняя треть бедра) подвергали в течение 30 дней воздействию переменного магнитного поля напряженностью от 5 до 30 мТл, частотой в 10–50 Гц и длительностью 15 мин 3 раза в сутки. Для этих целей использовали аппарат «МАГ-30» (Россия).

Во 2-й опытной серии экспериментов животных после нейрорафии на ствол нерва накладывали два электрода, представляющие собой освобожденные от изоляции на протяжении 2 мм концы многожильного провода диаметром 0,5 мм, при этом один электрод устанавливали на проксимальном, а другой – на дистальном отрезках сшитого седалищного нерва, располагая их на расстоянии 1 см от места эпиперинеуральных швов. Электроды фиксировали к эпинеурю с помощью хирургической губки «Тахокомб» (фирма «Никомед»), обладающей хорошими адгезивными свойствами. Вторые концы электродов по подкожному тоннелю выводили наружу в затылочную область крысы для предотвращения скусывания их животными. Стимуляцию нервного ствола осуществляли в течение 30 дней по 15 минут 3 раза в сутки биполярными электрическими импульсами прямоугольной формы, длительностью 0,2 мс, частотой 8 Гц и амплитудой тока, при которой визуализировалось четкое сокращение мышц в дистальных отделах конечностей. Для этих целей использовали генератор импульсного тока от электромиографа «Keypoint» фирмы «Dantek» (Дания-США). Электростимуляцию сшитого седалищного нерва проводили под общим эфирным обезболиванием. В контрольной серии животных пересекли седалищный нерв, а затем производили восстановление целостности ствола нерва с помощью эпиперинеуральных швов.

По 10 животных из каждой серии выводили из опыта через 30, 60 и 90 суток после операции. Для приготовления гистологических препаратов извлекали участок седалищного нерва длиной от 10 до 15 мм, включавший зону нейрорафии, проксимальный и дистальный отрезки нерва, и немедленно фиксировали в 10%-м растворе формалина. Препараты готовили по стандартным гистоморфологическим методикам и окрашивали гематоксилином и эозином, а также по Ван-Гизон и Бильшовскому-Гросс. Количество окрашенных регенерирующих аксонов выявляли путем прямого их подсчета в 10 полях зрения при увеличении в 1000 раз и определяли среднее значение. Процесс регенерации седалищного нерва оценивали по процентному содержанию регенери-

рующих аксонов, проросших через зону нейрорафии в периферический отрезок. За 100% принимали количество регенерирующих нейронов в центральном отрезке на 30 сутки после нейрорафии пересеченного нерва в каждой серии животных.

Числовой материал, полученный в процессе исследования, подвергнут статистической обработке методом вариационной статистики с определением достоверности по критерию Стьюдента.

### Результаты исследования и их обсуждение

У всех животных после операции наблюдались двигательные нарушения. Крысы щадили оперированную конечность, избегали на неё опираться, при подъёме по лестнице не пользовались пальцами стопы. У одной трети животных контрольной серии уже через 7–10 суток развивались трофические нарушения (отёк стопы, выпадение волос и изъязвления на коже).

Результаты изучения интенсивности процесса регенерации седалищного нерва по гистологической картине поперечных срезов его центрального и периферического отрезков. В таблице представлены средние величины количества регенерирующих аксонов в поле зрения через 30, 60 и 90 суток после наложения шва на седалищный нерв животных.

У животных 1-й опытной серии, которым применялось локальное воздействие переменным магнитным полем, на 30 сутки опыта среднее количество регенерирующих аксонов в поле зрения в центральном отрезке составило  $115,0 \pm 3,9$  (100%), а в дистальном – только  $36,1 \pm 4,2$  (31,4%). У животных 2-й серии, которым проводилось электроимпульсное воздействие, среднее количество регенерирующих аксонов в проксимальном участке нерва составило  $119,4 \pm 14,0$  (100%), а в дистальном –  $80,0 \pm 11,7$  (67,0%). У животных контрольной серии, которым выполнялось только сшивание нерва, количество регенерирующих аксонов в проксимальном отрезке составило  $110,2 \pm 11,0$  (100%), в дистальном –  $31,6 \pm 3,2$  (28,7%) (рис. 1).

Через 60 суток после операции в 1-й опытной серии (10 животных) число аксонов в дистальном отрезке нерва было  $78,1 \pm 3,6$  (67,9%), во 2-й серии –  $99,16 \pm 2,9$  (83,1%), и в контрольной серии аксонов, проросших в дистальный отрезок, насчитывалось –  $70,6 \pm 7,1$  (64,1%).

Через 90 суток число проросших аксонов у крыс 1-й опытной серии оказалось равным  $79,1 \pm 3,4$  (68,8%), 2-й серии –  $104,0 \pm 4$  (87,4%), контрольной серии – только  $71,2 \pm 3,1$  (64,6%).

Изменения количества регенерирующих аксонов (в расчёте на поле зрения микроскопа) в поперечных срезах центрального и периферического отрезков седалищного нерва крыс через 30, 60 и 90 суток после нейрорафии (контрольная серия) в комбинации с воздействием переменного магнитного поля (1-я опытная серия) или с прямой электростимуляцией (2-я опытная группа)

Сроки наблюдения	Контрольная серия		1-я опытная серия		2-я опытная серия	
	центральный отрезок нерва	периферический отрезок нерва	центральный отрезок нерва	периферический отрезок нерва	центральный отрезок нерва	периферический отрезок нерва
30 суток	110,2 ± 11,0	31,6 ± 3,2 $P_1 < 0,001$	115,0 ± 3,9	36,1 ± 4,2 $P_1 < 0,001$	119,4 ± 14,0	80,0 ± 11,7 $P_1 > 0,05$
60 суток		70,6 ± 7,1 $P_1 < 0,02$ $P_2 < 0,001$		78,1 ± 3,6 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$		99,2 ± 2,9 $P_1 > 0,05$ $P_2 > 0,05$
90 суток		71,2 ± 3,1 $P_1 < 0,01$ $P_2 < 0,001$ $P_3 > 0,05$		79,1 ± 3,4 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$ $P_3 > 0,05$		104,0 ± 4,0 $P_1 > 0,05$ $P_2 > 0,05$ $P_3 > 0,05$

**Примечание:**  $P_1$  – достоверность по отношению к количеству регенерирующих аксонов в центральном отрезке нерва в серии;  $P_2$  – достоверность по отношению к количеству регенерирующих аксонов в периферическом нерве по сравнению с их числом на 30 сутки после сшивания седалищного нерва;  $P_3$  – достоверность по отношению к количеству регенерирующих аксонов в периферическом нерве по сравнению с их числом на 60 сутки после сшивания седалищного нерва.

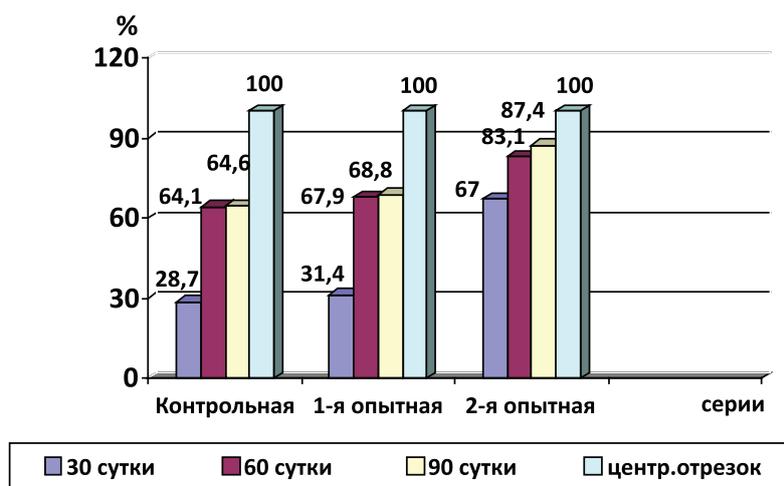


Рис. 1. Динамика прорастания регенерирующих аксонов из проксимального в дистальный отрезок седалищного нерва крыс в контрольной (шов нерва), 1-й опытной (шов нерва + воздействие магнитного поля) и 2-й опытной (шов нерва + прямая электростимуляция ствола нерва) сериях

Макроскопически в этой группе через 90 суток после операции в зоне нейрорафии наблюдавшееся в ранние сроки утолщение и уплотнение, уменьшается в объеме и приобретает более четкие контуры. Микроскопически соединительнотканые структуры в области соединения нерва представлены проросшими аксонами, импрегнированными серебром по Бильшовскому-Гросс в черный цвет. Большая часть нервных волокон прорастает в дистальный отрезок нерва в виде спиралевидных полос неравномерной толщины с единичными утолщениями.

Однако единичные аксоны, встречающиеся на своем пути коллагеновые волокна, изменяют продольное направление, извиваются и ветвятся (рис. 2).

Макроскопически место сшивания седалищного нерва через 30 суток у животных 2-й опытной серии после операции было представлено в виде незначительного утолщения эластической консистенции, рыхло спаянного с окружающими мягкими тканями. При микроскопическом исследовании продольных срезов сшитого нерва обнаружено, что эпи- и эндоневрий утол-

щены за счет разрастаний грануляционной ткани с участками формирования волокнистых структур. Хорошо ориентированные по ходу нервного ствола многочисленные аксоны прорастают по ходу соединительнотканых волокон в периферический отрезок. К 60 суткам процесс репаративной регенерации как соединительнотканых,

так и нервных элементов продолжался: образовались ориентированные по ходу нервного ствола коллагеновые волокна, большая часть аксонов к этому сроку сформировалась в пучки, отграниченные друг от друга прослойками волокнистой соединительной ткани и прорастающие в дистальный отрезок (рис. 3).

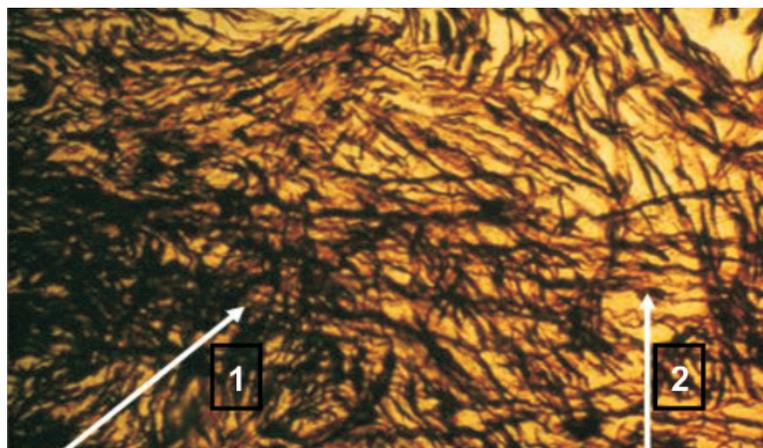


Рис. 2. Микрофотография препарата седалищного нерва крысы, импрегнация серебром по Бильшовскому-Гросс:

1 – формирующаяся неврома в зоне нейрорафии;  
2 – регенерирующие аксоны, проросшие в дистальный конец нерва. Ув. x200

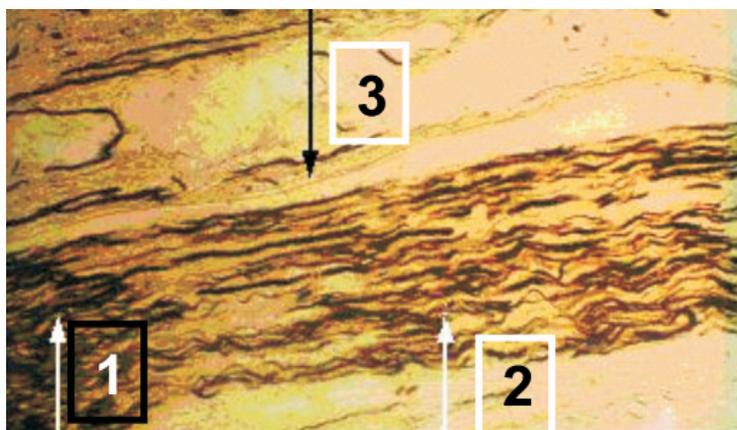


Рис. 3. Микрофотография препарата седалищного нерва крысы, импрегнация серебром по Бильшовскому-Гросс:

1 – регенерирующие аксоны в проксимальном отрезке нерва;  
2 – проросшие аксоны в дистальный конец нервного ствола; 3 – утолщенный эпиневррий. Ув. x80

Через 90 суток после операции у животных 2-й опытной серии место бывшей нейрорафии макроскопически определяется в виде незначительного утолщения нервного ствола. Микроскопически среди коллагеновых волокон соединительнотканного регенерата хорошо видны регенерирующие нервные волокна, идущие от проксимального к дистальному отрезку нерва (рис. 4).

Сравнивая гистоморфологические результаты, полученные у животных 2-й опытной серии, с данными 1-й опытной и кон-

трольной сериями, можно констатировать, что прямая электростимуляция ствола нерва реально ускоряет рост аксонов через зону нейрорафии, что способствует более раннему и полному восстановлению нервного ствола крыс. Эти данные получили подтверждение в работах других авторов [6]. Нами не получены положительные результаты при воздействии переменного магнитного поля на регенерацию седалищного нерва крысы. В доступной литературе, несмотря на достаточно длительное применение маг-

нитных полей с лечебной целью, нет единой точки зрения относительно их влияния на процессы регенерации и до настоящего вре-

мени этот вопрос остаётся открытым [4, 5]. В связи с чем работы в этом направлении представляются весьма перспективными

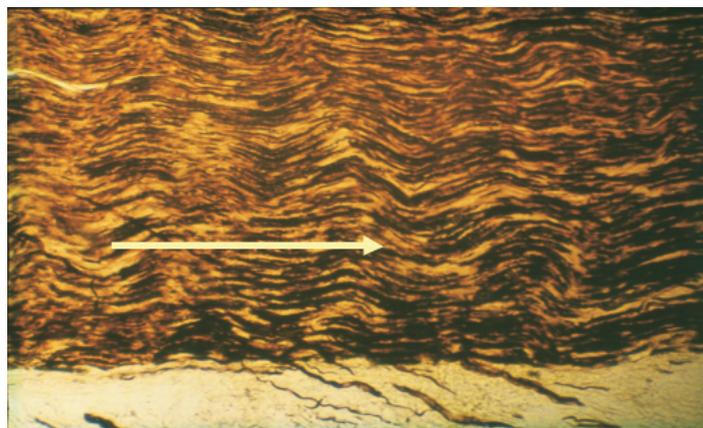


Рис. 4. Микрофотография препарата седалищного нерва крысы, импрегнация серебром по Бильшовскому-Гросс: среди коллагеновых волокон хорошо видны растущие аксоны от проксимального к дистальному участку нерва (стрелка указывает направление роста аксонов). Ув. х 200

### Заключение

В результате проведенных экспериментальных исследований установлено отсутствие заметного влияния на регенеративные процессы переменного магнитного поля при его воздействии на поврежденный периферический нерв. Стимуляция нервного ствола электрическим током прямоугольной формы приводит к ускорению регенеративных процессов. Полученные экспериментальные данные обосновывают применение прямой электростимуляции при повреждении периферических нервов.

### Список литературы

1. Берснев В.П. Практическое руководство по хирургии нервов / В.П. Берснев, Г.С. Кокин, Т.О. Извекова. – СПб: ФГУ «РНХИ им. проф. А.Л. Поленова Росмедтехнологий», 2009. – Т.1. – 296 с.
2. Одинак М.М. Патологические закономерности, определяющие восстановление утраченных функций при травматических невропатиях и плексопатиях / М.М.Одинак, С.А.Живолупов, Н.А.Рашидов и др. // Клиническая патофизиология. – 2008. – № 1–2. – С. 12–27.
3. Системы комплексной электромагнитотерапии: учебное пособие для вузов / под ред. А.М. Беркутова, В.И. Жулёва, Г.А. Кураева и др. – М.: Лаборатория базовых знаний, 2000. – 376 с.
4. Baptista A.F. PEMF fails to enhance nerve regeneration after sciatic nerve crush lesion / A.F. Baptista, B.T. Goes, D. Menezes et al. // J. Peripher. Nerv. Syst. – 2009. – Vol. 14, № 4. – P. 285–293.
5. Kelleher M.O. Use of a static magnetic field to promote recovery after peripheral nerve injury / M.O. Kelleher, R.K. Al-Abri, D.V. Lenihan et al. // J. Neurosurg. – 2006. – Vol. 105, № 4. – P. 610–615.
6. Lee T.H. Functional Regeneration of a Severed Peripheral Nerve With a 7-mm Gap in Rats Through the Use of An Implantable Electrical Stimulator and a Conduit Electrode With Collagen Coating / T.H. Lee, H. Pan, I.S. Kim et al. // Neuro-modulation. – 2010. – Vol. 13, № 4. – P. 299–305.
7. Rajaram A. Strategic Design and Recent Fabrication Techniques for Bioengineered Tissue Scaffolds to Improve Peripheral

Nerve Regeneration / A. Rajaram, X.B. Chen, D.J. Schreyer // J. Trauma Acute Care Surg. – 2012. – Vol. 72, № 1. – P. 199–205.

### References

1. Bersnev V.P., Kokin G.S., Izvekova T.O. Prakticheskoe rukovodstvo po hirurgii nervov. Sankt-Peterburg, FGU «RNHI im. prof. A.L. Polenova Rosmedtehnologii», 2009, T.1. 296 p.
2. Odnak M.M., Zhivolupov S.A., Rashidov N.A. i dr. Patofiziologicheskie zakonomernosti, opredeljavuie voss-tanovlenie utrachennyh funkciy pri travmaticheskikh nevro-patijah i pleksopatijah. Klinicheskaja patofiziologija, no. 1–2, pp. 12–27.
3. Sistemy kompleksnoj jelektromagnitoterapii: Uchebnoe posobie dlja vuzov / Pod red. A.M. Berkutova, V.I. Zhuljova, G.A. Kuraeva i dr. Moscow, Laboratorija bazovyh znaniy, 2000. 376 p.
4. Baptista A.F., Goes B.T., Menezes D. et al. PEMF fails to enhance nerve regeneration after sciatic nerve crush lesion. J. Peripher. Nerv. Syst., 2009, Vol. 14, no. 4, pp. 285–293.
5. Kelleher M.O., Al-Abri R.K., Lenihan D.V. et al. Use of a static magnetic field to promote recovery after peripheral nerve injury. J. Neurosurg., 2006, Vol. 105, no. 4, pp. 610–615.
6. Lee T.H., Pan H., Kim I.S. et al. Functional Regeneration of a Severed Peripheral Nerve with a 7-mm Gap in Rats Through the Use of An Implantable Electrical Stimulator and a Conduit Electrode With Collagen Coating. Neuromodulation, 2010, Vol. 13, no. 4, pp. 299–305.
7. Rajaram A., Chen X.B., Schreyer D.J. Strategic Design and Recent Fabrication Techniques for Bioengineered Tissue Scaffolds to Improve Peripheral Nerve Regeneration. J. Trauma Acute Care Surg., 2012, Vol. 72, no. 1, pp. 199–205.

### Рецензенты:

Островский Н.В., д.м.н., профессор, главный врач ММУ «Городская больница № 7. Саратовский центр термических поражений» Министерства здравоохранения Саратовской области, г. Саратов;

Шоломов И.И., д.м.н., профессор, зав. кафедрой нервных болезней Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского, г. Саратов.

Работа поступила в редакцию 20.09.2012.