

УДК 616-003.93-611.835.8-615.83

## ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ ПРИ ОТСРОЧЕННОЙ НЕЙРОРАФИИ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА

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

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

Проведена оценка изменений микроциркуляции и механизмов ее модуляции, возникающих при перерезке и отсроченной на 21 день нейрорафии седалищного нерва у крыс. Установлено, что в послеоперационном периоде возникает снижение перфузионного показателя и его среднеквадратичного отклонения, абсолютных и нормированных амплитуд нейрогенных и миогенных колебаний, а также показателя шунтирования. Изменения микроциркуляции, выявленные при отсроченной нейрорафии у белых крыс, соответствуют локальным нарушениям кожного кровотока при травмах периферических нервов у человека. Для анализа восстановления кровообращения в иннервируемой зоне повреждаемого нерва и процессов регенерации нервной ткани более перспективным является моделирование травмы периферического нерва путем его перерезки и отсроченной на 21 день нейрорафией, по сравнению с моделью, при которой шов нерва выполняется непосредственно после его пересечения.

**Ключевые слова:** нейрорафия, микроциркуляция, лазерная доплеровская флоуметрия

## THE INVESTIGATION OF MICROCIRCULATORY CHANGES IN THE CONTEXT OF SCIATIC NERVE DELAYED NEURORRHAPHY IN EXPERIMENTAL CONDITIONS

Ivanov A.N., Shutrov I.E., Ninel V.G., Korshunova G.A., Puchin'yan D.M., Norkin I.A.  
*Saratov Research Institute of Traumatology and Orthopaedics, Saratov, e-mail: lex558452@rambler.ru*

The study is based on the evaluation of microcirculatory changes and its modulating mechanisms appearing after rat sciatic nerve transection and 21-day-delayed neurorrhaphy. The findings show that there is reduction of perfusion index and its mean-square deviation as well as the reduction of absolute and normalized amplitudes of neurogenic and myogenic oscillations and shunting indicator in the postsurgical period. Microcirculatory changes defined by delayed neurorrhaphy in white rats correlate with local disorders of skin blood flow in presence of peripheral nerves damages in humans. While analyzing blood circulation regeneration in the innervated area of the damaged nerve and regenerating processes in the nervous tissue peripheral nerve trauma modelling with the help of its transection and 21-day-delayed neurorrhaphy is more preferable than the modelling where nerve stitching happens immediately after its transection.

**Keywords:** neurorrhaphy, microcirculation, lazer doppler flowmetry

Система микроциркуляции находится в тесном физиологическом и патогенетическом сопряжении с параметрами тканевого гомеостаза как в условиях нормы, так и при различной патологии [5, 6, 7]. Повреждение периферических нервов обуславливает нарушение вегетативной иннервации и развитие денервационной гиперчувствительности, сопровождающиеся спазмом микроциркуляторного сосудистого русла, что приводит к нарушениям процессов регенерации [7, 8, 9]. Поэтому изучение процессов микроциркуляции в ходе реиннервации при повреждении периферических нервов остается актуальным направлением экспериментальных и клинических исследований [2, 3, 4].

Одним из современных методов оценки состояния микроциркуляции является лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ), которая, в частности, позволяет проводить сравнение моделируемых сдвигов при повреждениях периферических нервов в условиях эксперимента [4, 6, 7]. В предыдущих исследованиях с помощью ЛДФ было

установлено, что при нейрорафии непосредственно после пересечения периферического нерва развивается денервационная гиперчувствительность, сопровождающаяся снижением активности модуляции микротока преимущественно за счет эндотелиального и нейрогенного механизмов, при сохранении исходного уровня миогенного контроля [8].

Выполнить полноценное хирургическое вмешательство с последующей нейрорафией непосредственно после повреждения стволов периферических нервов, как показывает клинический опыт, удаётся крайне редко, поскольку в специализированный нейрохирургический стационар по разным причинам эти пациенты поступают через месяц и более, а нередко и через год, после травмы [1]. Следовательно, при моделировании микроциркуляторных нарушений с целью их максимального приближения к клиническим условиям очага поражения целесообразно проводить нейрорафию поврежденного нерва в отсроченный период. Однако

в литературе нет описания особенностей динамики микроциркуляторных нарушений, возникающих при отсроченной нейрорафии у животных. В связи с этим целью настоящего исследования являлось установление особенностей изменений микрокровотока и механизмов его модуляции у крыс-самцов при перерезке седалищного нерва и его нейрорафии в отсроченном периоде.

### Материалы и методы исследования

Экспериментальные исследования выполнены на 15 белых беспородных крысах-самцах массой 200–250 г. При проведении экспериментов на животных соблюдались этические принципы в соответствии с Женевской конвенцией (Geneva, 1990). Всем животным за 5 минут до проведения манипуляций вводилась внутримышечно комбинация зоветила («Virbac Sante Animale», Франция) в дозе 0,1 мл/кг и ксилазина («Interchemie», Нидерланды) в дозе 1 мг/кг для достижения наркоза.

Под наркозом обнажали седалищный нерв и производили полную его перерезку на уровне средней трети бедра, после чего через 21 сутки осуществляли нейрорафию путём наложения эпинеуральных швов с применением атравматических игл и шовного материала 7/0 или 8/0 USP. Выполнение нейрорафии на 21 сутки обусловлено тем, что в ходе предыдущих исследований максимальные изменения микроциркуляции были выявлены в период с 14 по 21 сутки после острой нейрорафии [8].

Микроциркуляцию исследовали методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) с помощью компьютеризированного лазерного анализатора микроциркуляции крови «ЛАКК-ОП» (производство НПП «Лазма», Россия) с использованием программы LDF 3.0.2.395. Световодный зонд фиксировали на коже тыльной поверхности стопы. Длительность записи составляла 8 минут. Регистрацию ЛДФ-грамм проводили до перерезки седалищного нерва, на 14-е и 21-е сутки после его нейрорафии (на 35 и 42 сутки после его перерезки соответственно).

На первом этапе оценки микроциркуляции рассчитывались показатель перфузии в перфузионных единицах (М, перф.ед.) и его среднеквадратическое отклонение ( $\sigma$ , перф.ед.). На втором этапе с помощью спектрального вейвлет-анализа проводилось определение абсолютных и нормированных амплитуд эндотелиальных (0,01–0,076 Гц), нейрогенных (0,076–0,2 Гц) и миогенных (0,2–0,74 Гц) осцилляций микрокровотока [10], а также показателя шунтирования [7].

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

### Результаты исследования и их обсуждение

У белых крыс на 14-е сутки после отсроченной нейрорафии седалищного нерва происходит в среднем 20%-ое снижение перфузионного показателя. К 21-м суткам после нейрорафии снижение перфузионного показателя достигает в среднем 35%.

Значения показателя перфузии на 14 и 21 сутки после отсроченной нейрорафии при сравнении между собой статистически достоверного отличия не имеют (табл. 1). Однако на 21 сутки после отсроченной нейрорафии уменьшение перфузионного показателя сопровождается снижением его среднеквадратического отклонения, которое статистически значимо как по сравнению с контрольными значениями, так и с уровнем, зарегистрированным на 14 сутки (табл. 1). Снижение величины среднеквадратического отклонения перфузионного показателя отражает угнетение общей активности модуляции микрокровотока.

В ходе амплитудно-частотного анализа ЛДФ-грамм на 14 сутки после отсроченной нейрорафии выявлено статистически значимое снижение абсолютных амплитуд нейрогенных и миогенных колебаний, что отражает угнетение данных механизмов контроля микроциркуляции. На 21 сутки после отсроченной нейрорафии абсолютная величина нейрогенных колебаний остается сниженной относительно значений группы контроля, не претерпевая статистически значимой динамики по сравнению с 14 сутками (табл. 2). В период с 14 по 21 сутки после отсроченной нейрорафии отмечается снижение величины абсолютных амплитуд миогенных колебаний (табл. 2). Величина абсолютных амплитуд эндотелиальных колебаний имеет тенденцию к уменьшению, которая, однако, не достигает статистической значимости (табл. 2).

На 14 сутки после отсроченной нейрорафии у белых крыс выявлено статистически значимое уменьшение нормированных амплитуд нейрогенных и миогенных колебаний, что отражает уменьшение вклада данных механизмов в модуляцию микрокровотока (табл. 3). В период с 14 по 21 сутки после отсроченной нейрорафии отмечается тенденция к увеличению значений нормированных амплитуд нейрогенных колебаний, а также статистически значимое увеличение нормированной амплитуды колебаний в миогенном диапазоне. В то же время, как было описано выше, абсолютные величины амплитуд колебаний в данных диапазонах снижаются (табл. 2). Следовательно, повышение нормированных амплитуд в указанных регуляторных диапазонах, вероятно, обусловлено снижением среднеквадратического отклонения перфузии, отражающего общее угнетение механизмов модуляции микроциркуляции. Величины нормированных амплитуд эндотелиальных колебаний как на 14, так и на 21 сутки после отсроченной нейрорафии не имеют статистически значимых отличий от уровня контроля (табл. 3).

Показатель шунтирования на 14-е сутки после отсроченной нейрорафии статистически значимо снижается по сравнению с контрольным уровнем (табл. 3). Значения показателя шунтирования на 21-е сутки

после нейрорафии характеризуются высокой вариабельностью, которая значительно перекрывает квартиль-диапазоны как группы контроля, так и данных, полученных на 14-е сутки (табл. 3).

Таблица 1

Показатели микроциркуляции при отсроченной нейрорафии седалищного нерва у белых крыс

Показатели Группа		Показатель перфузии, перф. ед.	Сигма, перф. ед.
Контроль		11,6 (10,1; 13,3)	0,8 (0,7; 1,1)
После отсроченной нейрорафии	14-е сутки	9,2 (7,75; 10,2) $p_1 = 0,002291$ .	0,9 (0,7; 1,3) $p_1 = 0,660549$ .
	21-е сутки	7,5 (6,4; 8,3) $p_1 = 0,001175$ ; $p_2 = 0,166145$ .	0,4 (0,4; 0,8) $p_1 = 0,030516$ ; $p_2 = 0,034858$ .

Примечания. В каждом случае приведены медиана, верхний и нижний квартили;  $p_1$ ,  $p_2$  – по сравнению с контролем и 14 сутками после нейрорафии соответственно.

Таблица 2

Абсолютные амплитуды колебаний кровотока в основных регуляторных диапазонах у белых крыс при отсроченной нейрорафии седалищного нерва

Показатели Группа		Абсолютная амплитуда колебаний, перф. ед.		
		эндотелиальных	нейрогенных	миогенных
Контроль		0,32 (0,27; 0,46)	0,29 (0,22; 0,42)	0,16 (0,14; 0,18)
После отсроченной нейрорафии	14-е сутки	0,31 (0,22; 0,43) $p_1 = 0,434968$ .	0,16 (0,13; 0,2) $p_1 = 0,000582$ .	0,12 (0,09; 0,17) $p_1 = 0,038099$ .
	21-е сутки	0,25 (0,19; 0,34) $p_1 = 0,101764$ ; $p_2 = 0,575157$ .	0,01 (0,08; 0,24) $p_1 = 0,001724$ ; $p_2 = 0,322629$ .	0,08 (0,08; 0,13) $p_1 = 0,000428$ ; $p_2 = 0,032115$ .

Примечания. Те же, что и в табл. 1.

Таблица 3

Нормированные амплитуды колебаний кровотока в основных регуляторных диапазонах и показатель шунтирования (ПШ) у белых крыс при отсроченной нейрорафии седалищного нерва

Показатели Группа		Нормированная амплитуда колебаний, отн. ед.			ПШ, отн. ед.
		эндотелиальных	нейрогенных	миогенных	
Контроль		13,01 (10,33; 17,93)	11,3 (10,52; 12,62)	6,55 (5,00; 7,88)	1,81 (1,64; 2,16)
После отсроченной нейрорафии	14-е сутки	12,04 (8,11; 15,83) $p_1 = 0,510068$ .	6,3 (4,7; 8,31) $p_1 = 0,000037$ .	4,95 (3,86; 6,43) $p_1 = 0,029903$ .	1,29 (1,00; 1,61) $p_1 = 0,003693$
	21-е сутки	17,99 (11,08; 21,58) $p_1 = 0,174143$ ; $p_2 = 0,198517$ .	8,61 (6,33; 9,39) $p_1 = 0,000646$ ; $p_2 = 0,080576$ .	6,31 (4,41; 7,30) $p_1 = 0,304800$ ; $p_2 = 0,248536$ .	1,25 (1,00; 1,85) $p_1 = 0,080585$ ; $p_2 = 0,531046$

Примечания. Те же, что и в табл. 1.

При отсроченной нейрорафии седалищного нерва кожный кровоток в зоне его иннервации характеризуется снижением перфузионного показателя. Снижение среднеквадратического отклонения перфузионного показателя указывает на общее угнетение механизмов активного контроля микрокровоотока на 21 сутки после нейрорафии. Статистически значимое снижение нейрогенных и миогенных колебаний отражает увеличение тонуса артериол и прекапиллярных сфинктеров, что свидетельствует о развитии денервационной гиперчувствительности, и соответствует клиническим наблюдениям в работах А.И. Крупаткина и соавторов [7]. Кроме того, развитие гиперчувствительности сосудов микроциркуляторного русла к циркулирующим катехоламинам подтверждает снижение перфузионного показателя на 14-е сутки после нейрорафии [7].

В предшествующих работах было установлено, что при острой нейрорафии седалищного нерва также происходит развитие денервационной гиперчувствительности, сопровождающееся преимущественным угнетением эндотелиального и нейрогенного механизма контроля микроциркуляции при относительном сохранении вклада миогенной регуляции в тонус сосудов микроциркуляторного русла [8].

Динамика микроциркуляторных параметров при отсроченной нейрорафии в большей степени, чем при острой, соответствует нарушениям, обнаруженным в ходе клинических исследований у больных с травмами периферических нервов. В частности, для данной категории больных является характерным сочетание нарушений миогенного и нейрогенного тонуса, что было обнаружено при отсроченной, но не острой нейрорафии.

### Заключение

Изменения микроциркуляции при отсроченной нейрорафии у белых крыс отражают нарушения, возникающие при характерных травмах у человека. Для анализа процессов восстановления кровообращения в иннервируемой зоне повреждаемого нерва и регенерации нервной ткани более перспективным является моделирование травмы периферического нерва путем его перерезки и отсроченной на 21 день нейрорафией по сравнению с моделью, при которой шов нерва выполняется непосредственно после его пересечения.

### Список литературы

1. Берснев В.П., Кокин Г.С., Извекова Т.О. Практическое руководство по хирургии нервов. – СПб.: ФГУ «РНХИ им. проф. А. Л. Поленова», 2009. – Т. 1. – С. 32–42.
2. Варсегова Т.Н. Патогистологические изменения седалищного нерва при сочетанных травмах таза и бедра в эксперименте // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2012. – Т. 33, № 1–1. – С. 92–95.

3. Гистоморфологическая оценка эффективности воздействия переменного магнитного поля и импульсного тока на регенерацию седалищного нерва крыс в эксперименте / В.Г. Нинель, И.А. Норкин, Д.М. Пучиньян и др. // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 12–2. – С. 336–340.

4. Диагностика и выбор тактики лечения при повреждениях периферических нервов / С.П. Миронов, А.И. Крупаткин, В.Г. Голубев, Д.Е. Панов // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. – 2005. – № 2. – С. 33–39.

5. Коррекция микроциркуляторных нарушений в стратегиях менеджмента остеоартрита и остеохондропатий / А.Н. Иванов, А.С. Федонников, И.А. Норкин, Д.М. Пучиньян // Российский медицинский журнал. – 2015. – Т. 21, № 1. – С. 18–23.

6. Крупаткин А.И. Новые возможности оценки иннервации микрососудов кожи с помощью спектрального анализа колебаний микрогемодинамики // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2004. – Т. 3, № 4. – С. 52–59.

7. Крупаткин А.И., Сидоров В.В. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови. Руководство для врачей. – М.: Медицина, 2005. – 256 с.

8. Особенности изменений микроциркуляции при регенерации седалищного нерва в условиях эксперимента / А.Н. Иванов, И.А. Норкин, В.Г. Нинель и др. // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 4–2. – С. 281–285.

9. Петрова Е.С., Павлова Н.В., Коржевский Д.Э. Современные морфологические подходы к изучению регенерации периферических нервных проводников // Медицинский академический журнал. – 2012. – Т. 12, № 3. – С. 15–16.

10. Time-frequency analysis of laser Doppler flowmetry signals recorded in response to a progressive pressure applied locally on anaesthetized healthy rats / A. Humeau, A. Koitka, P. Abraham et al. // Phys. Med. Biol. – 2004. – Vol. 49, № 5. – P. 843–857.

### References

1. Bersnev V.P., Kokin G.S., Izvekova T.O. Prakticheskoe rukovodstvo po hirurgii nervov (A Practical Guide to Surgery nerves) Saint Petersburg, 2009, V.1, pp. 32–42.

2. Varshegova T.N. Izvestija Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta, 2012, V. 33, no. 1–1, pp. 92–95.

3. Ninel V.G., Norkin I.A., Puchinyan D.M., Bogomolova N.V., Korshunova G.A., Matveeva O.V., Aytemirov S.M. Fundamental research (Fundamentalnie issledovaniâ), 2012, no. 12–2, pp. 336–340.

4. Mironov S.P., Krupatkin A.I., Golubev V.G., Panov D.E. Vestnik travmatologii i ortopedii im. N.N. Priorova, 2005, no. 2, pp. 33–39.

5. Ivanov A.N., Fedonnikov A.S., Norkin I.A., Puchinyan D.M. Rossijskij medicinskij zhurnal, 2015, V. 21, no 1, pp. 18–23.

6. Krupatkin A.I. Regionalnoe krovoobrashhenie i mikro-cirkuljacija, 2004, V. 3, no. 4, pp. 52–59.

7. Krupatkin A.I., Sidorov V.V. Lazernaja dopplerovskaja floumetrija mikro-cirkuljacji krvi. Rukovodstvo dlja vrachej (Laser Doppler flowmetry of microcirculation. Guidance for doctors). Moscow, 2005, 256 p.

8. Ivanov A.N., Norkin I.A., Ninel V.G., Schanitsyn I.N., Shutrov I.E., Puchinyan D.M. Fundamental research (Fundamentalnie issledovaniâ), 2014, no. 14–2, pp. 281–285.

9. Petrova E. S., Pavlova N. V., Korzhevsky D. E. Medicinskij akademicheskij zhurnal, 2012, V. 12, no. 3, pp. 15–16.

10. Humeau A., Koitka A., Abraham P., Saumet J.L., L'Huillier J.P. Time-frequency analysis of laser Doppler flowmetry signals recorded in response to a progressive pressure applied locally on anaesthetized healthy rats. Phys Med Biol., 2004, Vol. 49, no. 5, pp. 843–857.

### Рецензенты:

Антипова О.Н., д.м.н., профессор кафедры нормальной физиологии им. И.А. Чувевского, ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, г. Саратов;

Шоломов И.И., д.м.н., заведующий кафедрой нервных болезней, ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, г. Саратов.