

УДК 616.833.191:612.818.92:617-089

© Коллектив авторов, 2013

ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛОЙ ТРУБКИ СПИННОМОЗГОВОГО КОРЕШКА ДЛЯ УКУТЫВАНИЯ МЕСТА СШИВАНИЯ НЕРВА

В. Н. Куница, Н. П. Барсуков, Н. А. Новосельская, О. Я. Яровая, В. П. Шкуренко

Кафедра нормальной анатомии человека (зав.— проф., д. мед. н. Пикалюк В. С.), ГУ «Крымский Государственный медицинский университет имени С. И. Георгиевского». 95006 Украина, г. Симферополь. ул. А. Невского, 27 а. E-mail: kunitsa-victor@mail.ru

A SPINAL ROOT'S HOLLOW TUBE USE FOR THE NERVE STITCHING AREA COATING
V. N. Kunitsa, N. P. Barsukov, N. A. Novoselskaya, O. Y. Yarovaya, V. P. Shkurenko

SUMMARY

35 mongrels were operated by left side thoracotomy. Both vagal trunks is separated from surrounding tissues, a nerve intersected between ligatures. The preservated hollow tube select from spinal root of the beef cattle was put on the peripheral part of a nerve. The end of nerves were compared with two provisory epineurial sutures. It was done with atraumatic needle. The end of experiment was according to a rules of biological ethics. (3, 7, 14, 30, 60, 90, 180 days). Histological, histochemistry, neuromorphological research of place when the end of nerves were connected. Even the initial step of experiment had first signs of regeneration of the vagus nerves. In a month after neurolysis a regenerating nerve fibers has ingrowed through a scar. In 180 days the distal end of nerve is fully filled by regenerating axons. Loose nature of scar assists the intensive germination of fibres through him, and late terms does not result in development of secondary degenerative changes.

ЗАСТОСУВАННЯ ПОРОЖНИСТОЇ ТРУБКИ СПИННОМОЗГОВОГО КОРИНЦЯ ДЛЯ ОБГОРТУВАННЯ МІСЦЯ ЗШИВАННЯ НЕРВА

В. М. Куница, М. П. Барсуков, Н. О. Новосельська, О. Я. Ярова, В. П. Шкуренко

РЕЗЮМЕ

35 собакам під гексеналовим наркозом робили лівосторонню торакотомію по 7-му міжребер'ю зліва. Обидва стовбури блукаючого нерва виділяли з докколишніх тканин, нерв перетинали між лігатурами. На периферичний кінець нерва одягали консервовану порожнисту трубку оболонки спинномозгового корінця. Кінці нерва з'єднали двома провізорними швами та покривали медичним клеєм для її фіксації. Тварин виводили з досліду на 3, 7, 14, 30, 60, 90, 180 добу. Застосовували загальноприйнятні морфологічні методи дослідження місця з'єднання кінців нерва. Перші ознаки регенерації з'єднаних кінців блукаючих нервів спостерігаються вже в початкові терміни експеримента. Через місяць після нейрорафії края трансплантата приобірають нечіткі очертання, несколько спаяны с поверхностью эпинеурія. Регенерируючі нервові волокна проростають через рихлий гліосполучнотканинний рубець і ростуть у дистальному напрямку. На 180 добу новостворена сполучна тканина, яка вросла зі сторони епинеурія заміщає тканину трансплантата. Дистальний кінець нерва повністю заповнюється аксонами, які регенерували. Рихла природа рубця сприяє інтенсивному проростанню волокон через нього, що в пізні терміни не приведе до розвитку вторинних дегенеративних порушень.

Ключевые слова: регенерация нерва, нейрорафия, спинномозговой корешок.

Актуальность проблемы восстановления функции нервных проводников обусловлена широким кругом патологических состояний в которые вовлечены периферические нервные волокна. Повреждение нерва составляет почти половину неврологических заболеваний пациентов [6, 7]. Несмотря на способность периферических нервов к регенерации, функциональные результаты лечения поврежденных периферических нервов нельзя назвать удовлетворительными. В большой степени неудовлетворительные результаты обусловлены ишемией поврежденного нерва, интра- и периневральным фиброзом, а также образованием регенерационной невромы [2]. Для улучшения восстановления поврежденных нервов предложено множество методик. Отмечаются две основные стратегии, разрабатываемые для лучшего сращения соединенных сегментов поврежденного нерва. Согласно первой, в качестве источников ростовых и трофических факторов применяются различные медикаментозные, физиотерапевтические методики, под-

садка стволовых клеток и т. д. [4, 5, 7, 8]. Вторая стратегия направлена на профилактику внесволовых разрастаний соединительной ткани путем создания современных инженерных конструкций из биodeградируемых материалов, всевозможных методов «укутывания» нерва. С этой целью применяли декальцинированные трубчатые кости животных, трубки из магния, танталовую фольгу, целлофан, парафин, сосудистые трубки из артерий и вен животных, препараты брюшины, амниотическую оболочку, коллагеновую пленку, хорду осетровых рыб. В. И. Зяблов и А. А. Бабанин [1, 11] предложили укутывать периферический нерв участками из твердой мозговой оболочки.

Все вышеназванные исследования проводились экспериментально на разных видах животных, основным объектом были седалищные, лучевые, локтевые нервы. Работ, посвященных моделированию операций на блуждающем нерве (БН) немного. И до настоящего времени в отношении регенерации БН мнения различны. Одни

авторы отрицают возможность регенерации отростков БН [2, 9, 10]. Одновременно, другими исследователями приводятся доказательства регенерации БН и без каких-либо воздействий на этот процесс [3].

Цель исследования. В рамках проводимой на кафедре анатомии человека научно-исследовательской темы по регенерации нервной системы, нами проведен эксперимент по изучению регенерации БН. При этом, для изоляции нерва применяли полые трубки спинномозговых корешков крупного рогатого скота.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С полным соблюдением требований биоэтики, 35 взрослым беспородным собакам обоего пола под гексеналовым наркозом из расчета 0,3 мг на 1 кг веса мы проводили левостороннюю торакотомию по седьмому межреберью. Вскрывали париетальную плевру на 2–3 см выше диафрагмы. Оба ствола БН выделялись из окружающих тканей. В стерильных условиях обнажали оба ствола нерва, которые брались на «держалки» – нити из шелка на атравматической игле. Острой бритвой нерв пересекался между лигатурами, вводя предварительно под эпиневрив 2% раствор новокаина. На периферический конец нерва надевали консервированную полую трубку спинномозгового корешка крупного рогатого скота. Концы нерва сопоставляли двумя провизорными эпиневривальными швами из супрапидной нити на атравматической игле. Края трубки для ее фиксации покрывали медицинским клеем. Рану послойно ушивали наглухо, пневмоторакс устранялся вакуумотсосом. В послеоперационном периоде производили постоянный тщательный контроль над состоянием животных, состоянием отдельных функций организма. Проводили парентеральное введение антибиотиков, анальгетиков, симптоматическая терапия. В течение первой недели собаки находились на специальной молочной диете. Животных выводили из опыта с учетом требований биоэтики на 3, 7, 14, 30, 60, 90, 180 сутки. Проводили общепринятые гистологические (гематоксилин-эозин, по ван Гизон), гистохимические (ШИК-реакция, определение ферментов лактат- и сукцинатдегидрогеназы), нейроморфологические (импрегнация серебром по Бильшовскому-Гросс, окраска по Нислю) исследования места соединения концов нерва.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На 3–7 сутки после нейрорафии концов БН в зоне «тубажа» полый консервированной трубкой спинномозгового корешка отмечается равномерно пальпируемое утолщение. Место соединения укрыто плеврой, но не спаяно с окружающими тканями, легко от них отделяется. Трубка видна хорошо, она покрыта тонким слоем фибриновых наложений. Микроскопически трубка выглядит мало измененной, без грубых структурных нарушений. Можно отчетливо различить отечную и инфильтрованную поверхность нерва, вплотную прилежащую к «тубажу», на который эти явления не распространяются.

Диастаз между периферическим и центральным концами нерва, в среднем, составляет около 0,5 см. Наступаю-

щие после перерезки изменения касаются всех элементов БН: сосудов, оболочек, соединительнотканых структур, нервных волокон. Видны расширенные и утолщенные вне- и внутривольные сосуды, заполненные кровью, их эндотелий набухший, с разрыхленным коллагеново-эластическим остовом. Соединительная ткань эндо-, пери- и эпиневрив также изменена; в ней отмечается отек, набухание волокнистых элементов, возрастает количество клеточных структур, в том числе и клеток фибробластического ряда.

С первых же дней после операции наблюдаются выраженные изменения нервного аппарата в виде восходящей и нисходящей дегенерации. Степень реакции нервных волокон различна: от совершенно интактных до грубо измененных, как в дистальной, так и в проксимальной культях нерва. Уже в эти начальные сроки, на фоне продолжающегося процесса деструкции нервных волокон, обнаруживаются единичные тонкие с четкой импрегнацией аксоны, у части которых на концах видны наплывы нейроплазмы и колбовидные утолщения. Рубец представлен, в основном, клеточными элементами фибробластического ряда, тонкими фуксифильными соединительноткаными волокнами. Вокруг супрапидных нитей отмечается резкое увеличение содержания лимфоцитов, плазмочитов, клеток фибробластического ряда, выраженные гемодинамические расстройства.

К 14–30 суткам после сшивания сегмент соединенного нерва также свободно отделим от окружающих тканей, спаек нет. Фибриновый слой, покрывающий трансплантат, частично замещается новообразованной соединительной тканью. Края трансплантата приобретают нечеткие очертания, несколько спаяны с поверхностью эпиневрив. Окружающие ткани без видимых признаков воспаления.

При микроскопическом исследовании трансплантата выявляется сохранность его слоистого строения, равномерное окрашивание кислотными красителями. Но вместе с тем, начинаются признаки дистрофических изменений в нем. Так в фибриновом слое содержится множество фибробластов, лимфоцитов. Нарушается монолитность рядов волокнистых структур поверхностного слоя трансплантата, что заключается в гомогенизации коллагеновых волокон поверхностного слоя, истончении и фрагментации эластических мембран.

Отмечается сохранение и даже усиление изменений различных компонентов БН. Так, внутривольные сосуды расширены, стенка их утолщена за счет отека эндотелия, в просвете сосудов видны скопления форменных элементов, местами наблюдается диапедез. Вместе с тем, экссудативно-пролиферативные изменения соединительной ткани эндо-, пери- и эпиневрив приобретают тенденцию к уменьшению. Появляются признаки регенерации соединительной ткани с пролиферацией малодифференцированных элементов и клеток фибробластического ряда. Наблюдается нежная новообразованная сеть аргирофильных волокон. Утолщенные внутривольные соединительнотканые прослойки инфильтрированы лимфогистиоцитарными

элементами. Проксимальный и дистальный концы нерва разъединены узкой прослойкой рыхлой неоформленной соединительной ткани. В рубце большое количество пролиферирующих шванновских клеток, которые образуют подобие тяжей, имеющих продольное направление. Часть шванновских клеток свободно лежит в рубце, не имея признаков группирования. В проксимальной культе нерва отчетливо наблюдаются два идущих параллельно процесса: де- и регенерации нервно-волоконистого компонентов. На первый план выходят явления продолжающейся деструкции, достигшей к этому сроку максимальной выраженности. На этом фоне хорошо видно усиление процесса регенерации. На всем протяжении проксимального отрезка нерва, преимущественно в продольном направлении, отмечается интенсивный рост регенерирующих нервных волокон, тонких, хорошо импрегнированных. Они имеют четко выраженные очертания и этим хорошо отличаются от сохранившихся нервных волокон с “размытостью контура”, импрегнированных более слабо. В месте перехода в рубец регенерирующие волокна приобретают извилистый, штопорообразный ход. В процессе продвижения к рубцу некоторые из волокон как бы группируются и лежат почти параллельно относительно друг друга. Если нервные волокна не могут прорасти рубец, они заворачиваются, образуя неврому. На части волокон отмечаются конусы, колбы роста. Нервные волокна, идущие к рубцу и прорастающие через него, окружены тяжами шванновских клеток. Не окруженные такими глиальными образованиями волокна, как правило, не имеют продольной направленности и образуют переплетения, напоминающие неврому.

В дистальной культе нервные волокна на разных стадиях деструкции. Много запустевших периневральных влагалищ. В некоторых полях зрения находятся волокна с признаками роста в сторону проксимальной культуры, они имеют на концах наплывы нейроплазмы, напоминавшие колбы роста. В месте перехода рубца в дистальную культуру нерва много нежных тонких волоконцев, веерообразно расходящихся.

К 60–90 суткам после операции отмечается незначительное утолщение в месте сшивания нерва. Сегмент соединенного нерва не спаян с плеврой и окружающими органами, легко смещается. Виден непрерывных переход соединительной ткани с поверхности эпинеургии перерезанных концов нерв анна поверхность трансплантата, граница между ними определяется с трудом. Дистрофические изменения волоконистых структур трансплантата нарастают. По его обеим сторонам сформировались тонкие слои молодой соединительной ткани с нежными коллагеновыми и ретикулиновыми волокнами. В поверхностных слоях трансплантата обнаруживаются макрофаги, видимо, внедрившиеся из окружающих тканей. Они берут на себя функцию рассасывания трубки. Из клеточных элементов преобладают клетки фибробластического ряда. Отмечается появление новообразованных сосудов типа капилляров и синусоидов. Глиосоединительнотканый рубец ограни-

чен непрерывным эпинеуральным слоем. Между рыхло расположенными коллагеновыми волокнами содержатся пролиферирующие элементы эндоневрия, а также, как и в предыдущие сроки, тяжи шванновских клеток с продольной направленностью. Многие из этих тяжей окружают пучки тонких регенерирующих нервных волокон и сопровождают их на всем протяжении. Последние растут пучками и поодиночке. На отдельных препаратах регенерация нервных волокон настолько мощная, что опережает пролиферацию элементов эндо- и эпинеургии и растущие в рубец нервные волокна не всегда бывают окружены соединительноткаными прослойками и оболочками. Регенерирующие нервные волокна растут по-разному: часть их, следуя параллельно ходу ствола, вырастает в дистальный конец нерва, другая часть, незначительная, выходит из состава нервных стволов, входя в окружающую соединительную ткань над трансплантатом, иногда образуя там целые сплетения. Проросшие сквозь рубец волокна вырастают в дистальный конец нерва. К концу третьего месяца наблюдения аксоны, в основном, заполняют исследуемый дистальный отрезок нерва.

К этим срокам, в основном, произошла резорбция продуктов распада. На месте бывших нервных волокон видны лишь контуры неврилеммы, лишенной осевых цилиндров. Пролиферация глиальных элементов выражена, образуются мощные скопления их тяжей. Гемомикроциркуляторные расстройства в это время значительно уменьшаются, по сравнению с предыдущими сроками, однако сосуды еще расширены, просвет венулярного звена заполнен кровяными элементами.

К 180 суткам после операции внестволовые сращения нерва представлены незначительным количеством тонких прозрачных спаек, которые легко отделяются. Внешне найти место трансплантата трудно и можно лишь догадываться о его локализации по незначительному утолщению эпинеургии. Продолжает нарушаться монолитность трансплантата. Происходит его разрыхление и истончение вследствие начинающегося и прогрессирующего в дальнейшем внествокового рассасывания и резорбции. Вырастающая со стороны эпинеургии новообразованная соединительная ткань, в основном, состоящая из тонких коллагеновых волокон, фибробластов, фиброцитов и лимфоидных и плазматических клеток, замещала ткань трансплантата. Пальпируемое нами утолщение эпинеургии, лишенное каких-либо признаков воспаления, было за счет рыхлой соединительной ткани. Полного замещения ткани трансплантата, несмотря на отдаленность сроков после операции, не наступало. В этот срок диастаз между концами нерва незначителен, представлен узкой полоской соединительной ткани, состоящей из извитых коллагеновых волокон, клеток фибробластического ряда. Рубец пронизан продольно ориентированными тяжами шванновских клеток, идущих к нему в перпендикулярном направлении. Между этими тяжами видны регенерирующие проводники. Параллельно нервным пучкам идет рост большого числа новообразованных сосудов. Гемомикроциркуляторные расстройства сглажены, в сравнении с предыдущими сро-

ками, количество внутривольных сосудов превышало их число в интактном нерве. Количество воспалительных элементов и продуктов распада вокруг шовных нитей уменьшается. Остатки нитей далеко смещаются от места их наложения, окружены соединительной тканью, вокруг них встречается abortивный ход части нервных волокон.

Преобладающая часть нервных волокон проксимального конца нерва имеет продольную направленность. Сохраняется отставание роста соединительнотканых элементов эндо- и периневрия от регенерирующих проводников, часть их, не разделяясь прослойками, образовывало сплошные нервные тяжи. Значительная часть нервных волокон собрана в пучки по 5–8 аксонов, они активно обмениваются между собой волокнами, между пучками встречаются и одиночно идущие волокна. К этому сроку отмечается непрерывное соединение центрального и периферического концов нерва вновь образованными нервными волокнами вдоль всего глиосоединительнотканного рубца. По периферии, в области швов, ход волокон меняет свою направленности, некоторые заворачивают обратно, часть штопорообразно извивается или имеет на концах булавовидные утолщения. Благодаря своей рыхлой структуре, рубец не создает непреодолимых препятствий растущим проводникам, поэтому волокон с рекуррентным ходом мы почти не встречали.

Проросшие сквозь рубец нервные волокна к шестому месяцу, в основном, заполняют исследуемый дистальный конец нерва. В большинстве своем они сохраняют свой ход в пучках и продольную направленность по отношению к стволу БН. Видны параллельно расположенные пучки регенерировавших нервных волокон, не отличающихся от входящих в рубец. В основной своей массе они тонкие, безмиелиновые. В периферическом конце нерва заметны признаки утолщения эндо- и периневрия. Сохраняется повышенное содержание пролиферирующих глиальных элементов. К этому сроку картина в дистальном отрезке нерва мало отличимая от интактного нерва. В основном, это отличие выражалось однородностью диаметра нервных волокон и их концентрацией в крупные пучки.

Таким образом, к максимальному сроку наблюдения нами не отмечались процессы склероза и гиалиноза нервного рубца, ведущие к ухудшению процессов регенерации. Рыхлая природа рубца способствовала интенсивному прорастанию волокон сквозь него, что в поздние сроки не приводило к развитию вторичных дегенеративных изменений.

ВЫВОДЫ

1. Методика «тубажа» полыми спинномозговыми оболочками отрезков соединяемых концов перерезанных нервов обеспечивает механическую их фиксацию и изоляцию от окружающих тканей, способствуя сохранению рыхлой структуры рубца.

2. Свойством спинномозговой оболочки является ее разрыхление и истончение с замещением растущей со стороны эпиневирия новообразованной соединительной ткани что приводит к замещению ткани трансплантата.

3. Методика «тубажа» отрезков соединяемых концов перерезанных нервов способствует их регенерации. Первые признаки регенерации соединенных концов нерва отмечаются уже на 7 сутки после нейрорафии. На 30 сутки регенерирующие нервные волокна прорастают через рыхлый глиосоединительнотканый рубец и растут в дистальном направлении, продолжая свой прямолинейный ход. К 180 суткам дистальный конец нерва полностью заполняется регенерирующими аксонами.

4. Учитывая хорошие регенераторные способности стволов БН, рекомендуется проведение сшивания его концов при повреждениях, травмах с использованием предложенной нами методики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зяблов В.И. Проблемные вопросы регенерации нервной системы.– Симферополь.– 1986.– 40 с.

2. Науменко Л.Ю. Морфологическая оценка влияния нейрорафии с миотизацией анастомоза на регенерацию периферического нерва в эксперименте / Л.Ю. Науменко, А.Н. Доманский, В.И. Шпонька // Морфология.– 2010.– Т. IV. № 1.– С. 26–32.

3. Павлович Е.Р. Различия в структурном гомеостазе в ходе регенерации нервных волокон после правосторонней шейной ваготомии у крысы в синоаурикулярной и атриоventрикулярной областях сердца / Е.Р. Павлович // Успехи современного естествознания.– 2004.– № 3.– С.26–27.

4. Петрова Е.С. Применение стволовых клеток для стимуляции регенерации поврежденного нерва / Е.С. Петрова // Морфология.– 2011.– 139 (2) – С.22–26.

5. Федяков А.Г. Экспериментально-клиническое обоснование применения биодеградируемых имплантатов в хирургическом лечении поражений периферических нервов / А.Г. Федяков, О.Н. Древал, В.И. Севастьянов [и др.] // Вопросы нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко – 2010.– № 3.– С.15–20.

6. Чайковский Ю.Б. Регенерация периферического нерва крысы в условиях применения нейропептидных средств / Ю.Б. Чайковский, А.С. Демидчук, С.Н. Шамало [и др.] // Материалы II Всероссийского конгресса «Медицина для спорта» Москва 2012.– С.184–185.

7. Чумасов Е.И. Разработка методов соединения поврежденных стволов с целью восстановления их целостности / Е.И. Чумасов, К.М. Светикова, В.И. Гусихина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.– 1986.– № 9.– С.374–377.

8. Щудло Н.А. Морфометрическая оценка эффективности посттравматической регенерации периферического нерва при однократном и повторном курсах электростимуляции / Н.А. Щудло, И.В. Борисова, М.М. Щудло // Морфология.– 2012.– Т.142.№ 6 – С.030–035.

9. Dornseyfer U. Surgical therapy of peripheral nerve lesions: current status and new perspectives / U. Dornseyfer, K. Matiassek, M.A. Fichter [et al.] // Zentralbl. Neurochir.– 2007.– Vol. 68.– P.101–110.

10. Siemionow M. Chapter 8: Current techniques and concepts in peripheral nerve repair / M. Siemionow, G. Brzezicki // Int. Rev. Neurobiol.– 2009.– Vol.87 – P. 141–172.

11. Ziablow W.I. Regeneration of the severed sciatic afferent its experimental reconnection / Ziablow W.I., Babanin A.A. // Folia morfol.– 1981–29, № 1.– P.104–106.