

Conclusions. 1. Clinical and morphologic changes in lymphatic drainage channel of testicles during the course of the diseases are manifested by developing of lymphostasis that may lead to sclerotic changes in the stroma of the spermatic cord, strain ductus deferens.

2. Results of surgical correction of vaginal obliteration of germ peritoneum confirm the relevance and high efficiency of the proposed method.

3. It has been proved that timely and reasonable pathogenetic surgical treatment of vaginal obliteration of germ peritoneum during childhood is an important part in the prevention of male infertility, that is why treatment program as established in pediatric surgery will facilitate the development of surgical treatment of diseases of the testicles, preventing infertility in males during reproductive period.

УДК 616.833.58-089.844-092.9

Гайович В.В., Макаренко О.М., Савосько С.І.

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ЗМІН СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ ГОМІЛКИ ЩУРА ПРИ ТРАВМАТИЧНОМУ УШКОДЖЕННІ СІДНИЧОГО НЕРВА РІЗНОЇ ЛОКАЛІЗАЦІЇ

Інститут травматології та ортопедії НАМН України

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

Метою дослідження була кількісна оцінка змін нейро-судинно-м'язових змін при значних дефектах сідничого нерва в проксимальній і дистальній зоні нерва. В дослідженні відтворено модель високого і дистального пошкодження сідничого нерва із значним діастазом (1 см). Дослідження включало гістологічне та морфометричне вивчення сідничого нерва, скелетних м'язів та мікроциркуляторного русла м'язів. Для контролю функціонального відновлення сідничого нерва використали «Тест ходьби на доріжці» ("Walking track analysis"). Виявлено, що структурно-функціональні порушення м'язів гомілки загострюються при високій травмі сідничого нерва, що підтверджено функціональним тестуванням, але не досягає ступеню тотальної атрофії. Використання функціонального індексу сідничого нерва (SFI) дозволяє достовірно оцінити ефективність реіннервації та відновлення функції м'язів кінцівки, зокрема для оцінки дії лікарських засобів.

Ключові слова: травма сідничого нерва, скелетні м'язи, мікроциркуляторне русло, гістоморфометричне дослідження, функціональний індекс сідничого нерва.

Вступ

Травматичні ушкодження периферійних нервів досить часто зустрічаються в мирний і воєнний час, спостерігається стійка тенденція до збільшення їх частоти. Інвалідність внаслідок травматичного пошкодження периферичних нервів становить 1,5-5,3%, а стійка втрата працездатності відповідно 10-11%. У 30% пацієнтів вона стає причиною радикальної зміни профілю трудової діяльності, або фаху [2,3,5].

Ушкодження периферичної нервової системи призводить до порушення не лише функції скелетних м'язів, але і до змін їх структури та розладів мікроциркуляції. При цьому більшість досліджень розглядають зміни в периферійних нервах [17,19], а також способи їх регенерації, зокрема сідничого нерва [7,12,16]. У свою чергу клінічні дослідження описують переважно симптоми, викликані ушкодженням структури нервів і їх гілок [1,6,10], не приділяючи достатньої уваги змінам скелетних м'язів і їх судинного русла [4]. Найбільш прогностично несприятливим в цьому плані є високі пошкодження нерва [20], що спричинюють значну атрофію м'язів, втратою працездатності, а в деяких випадках вимагають проведення ампутації кінцівки на рівні гомілки [14,17].

На сьогодні відсутні порівняльні функціональні і морфологічні дослідження, в яких проводиться аналіз змін в скелетних м'язах при високих (проксимальних) і дистальних травмах пе-

риферійного нерва. В зв'язку із цим дослідження змін скелетної мускулатури, нейро-судинно-м'язових взаємодій є важливим в вивченні травматичної хвороби периферійного нерва та розробки методів впливу на посттравматичне відновлення.

Мета роботи

Дослідити в порівняльному аспекті особливості структурних змін денервованих м'язів задніх кінцівок щурів після травматичного ушкодження периферійних нервів.

Матеріали і методи

Досліди були виконані на 36 білих нелінійних щурах-самцях вагою 190-225г. Всі оперативні втручання були виконані під відповідною премедикацією (тіопентал натрію, 60 мг/кг, внутрішньочеревинно). Доступ виконували в середньо-верхній третині стегна. Після оброблення операційного поля розсікали м'які тканини, за допомогою затискача типу "москіт" виділяли сідничий нерв.

Для досягнення поставленої мети в експерименті були відтворені два різні варіанти ушкодження сідничого нерва. В групі 1 (n=10) проводили хірургічну невротомію та видалення фрагмента нерва довжиною 1 см в безпосередній близькості від денервованих м'язів (табл. 1); в групі 2 (n=10) подібну модель відтворено на рівні верхньої третини сідничого нерва. Контрольну групу склали інтактні щури (n=5).

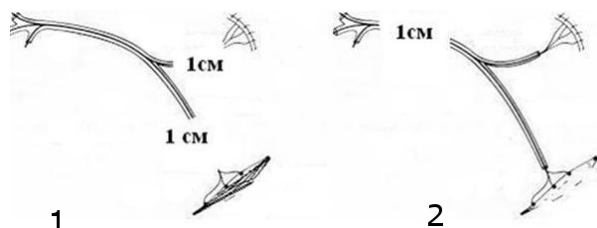


Рис. 1. Модель відтворення травматичного ушкодження сідничого нерва.
Умовні позначення: 1 - дистальна травма; 2 - проксимальна травма на рівні верхньої третини стегна.

Після невротомії рани зрощували розчином антибіотиків (Біцилін-3, «Київмедпрепарат») і зашивали наглухо. Рани у тварин після операції загоювались первинним натягом. Тварини знаходились у віварії на стандартному раціоні. Всі маніпуляції проводили з дотриманням існуючих норм біоетики [13].

Через 1 місяць проводилось гістологічне і морфометричне дослідження м'язових волокон і мікроциркуляторного русла великогомілкового м'язу (*m. tibialis caud.*), ступінь регенерації сідничого нерва і ступінь функціонального відновлення нерва. Для гістологічного дослідження фрагменти скелетних м'язів і нервів фіксували в 10% нейтральному формаліні, після чого на кріотомії виготовляли гістологічні зрізи товщиною 15-20 мкм. Із гістологічних методик фарбування були використані імпрегнація азотнокислим сріблом і гематоксилін-пікрофуксіном. Мікроскопічне дослідження та фотографування зрізів сідничого нерва виконано за допомогою світлового мікроскопу Olympus BX41. Морфометричні дослідження проводили за допомогою напівавтоматичного пристрою для обробки графічних зображень (UTHSCSA ImageTool, Version 2.0, alpha 3).

Статистичний аналіз морфометричних даних здійснювали після обчислення середніх значень величин, середнього квадратичного відхилення, похибки середнього арифметичного. Міжгрупову різницю отриманих даних оцінювали за допомогою параметричного t-критерію Стьюдента та непараметричного U-критерію Вілкоксона-Манна-Уїтні.

Для оцінки ступіню функціонального відновлення сідничого нерва використовували «Тест ходьби на доріжці» ("Walking track analysis") за методикою R.B. Johnston та співавторів [15], як фарбник використовували спиртовий розчин метиленового синього. Після одержання відбитків обох стоп визначали наступні показники лівої (іпсилатеральної — E) та правої (контралатеральної — N) кінцівки в однієї тварини (рис. 2): PL (print length) — відстань від п'ятки до III пальця; TS (toe spread) — відстань від I до V пальця; ITS (intermediate toe spread) — відстань від II до IV пальця. Дані обчислювали за формулою Bain-Mackinnon-Hunter [8] та оцінювали функціональний індекс сідничого нерва (SFI — sciatic functional index):

$$SFI = -38,3((EPL-NPL)/NPL) + 109,5((ETS-NTS)/NTS) + 13,3((EIT-NIT)/NIT) - 8,8$$

Отримані дані систематизували, визначали середнє та середньоквадратичне відхилення показника в усіх групах тварин. Після обчислення SFI оцінювали отримані результати, за «0» вважали нормальну функцію сідничого нерва, «-100» — повне порушення функції [9,11]. Достовірність різниці показників SFI між групами визначали за U-критерію Вілкоксона-Манна-Уїтні.

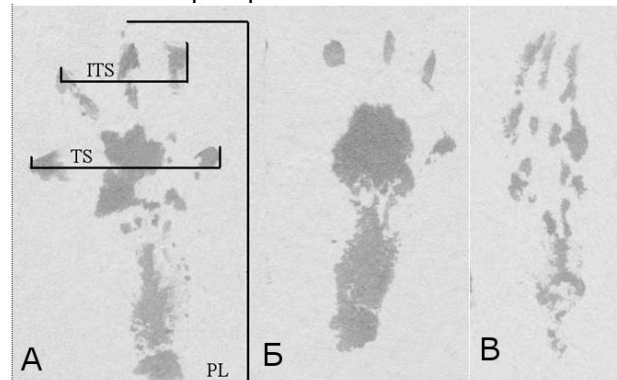


Рис. 2. Відбитки стоп щурів за методикою R.B. Johnston ("Walking track analysis") через 30 днів після травми сідничого нерва. Умовні позначення: А - відбиток контралатеральної (неушкодженої) кінцівки; Б - відбиток стопи при дистальній травмі сідничого нерва; В - відбиток стопи при проксимальній травмі сідничого нерва.

Результати та їх обговорення

При гістологічному дослідженні м'язів гомілки щурів після травматичного ушкодження сідничого нерва встановлено структурні зміни м'язових волокон і зміни мікроциркуляції. Як відомо, скелетна мускулатура передпліччя та гомілки складається з групи м'язів, кожна з яких представлена м'язовими пучками (міонами), що об'єднані сполучною тканиною. В ендо-, епі- і перимізії локалізуються кровоносні судини, що утворюють мікроциркуляторне русло м'язу. Венули і артеріоли в більшій мірі мають поздовжню орієнтацію відносно м'язових волокон в епі- і перимізії. Внутрішньом'язові гемокапіляри розташовуються в ендомізії, формуючи сплетення з мікросудинами перимізії. Характер мікроциркуляції в м'язі визначається станом іннервації та ступенем травмування і варіює залежно від локалізації та ступеню ушкодження.

На гістологічних зрізах мікросудини денервованих скелетних м'язів мали округлу та овальну форму, більшість характеризувались стазом формених елементів крові та вираженою дилатацією. Особливо різке кровонаповнення відзначено в посткапілярних венулах і венулах перимізії. Площа поперечного перерізу судин гематоциркуляторного русла відрізнялась в залежності від типу ушкодження периферійного нерва.

Площа гемокапілярів при дистальній травмі нерва збільшилась на 31,7% ($p < 0,05$), а венул в 2,7 разів, при проксимальному ушкодженні сідничого нерва встановлено лише збільшення площі поперечного перерізу венул в 2,3 рази ($p < 0,05$) (табл. 1). При цьому при дистальній травмі відмічено збільшення інтерстиційного простору, порів-

няно із другою дослідною групою. Найбільш виражені морфологічні зміни скелетних м'язів гомілки відмічено в умовах венозного повнокров'я. Скелетні м'язи характеризувались різким збільшенням інтерстиційного простору, що є ознакою гіперперфузії денервованого м'яза. При цьому площа поперечного перерізу м'язових волокон при дистальній травмі збільшилась в середньому на 27,5% ($p < 0,05$), а при проксимальній - на 18,3% ($p < 0,05$), що пов'язано із розвитком атрофічних змін при "високій" травмі.

Аналізуючи гістологічні та морфометричні зміни дистального відділу травмованого сідничого нерва відмічено ознаки регенераційних процесів без утворення чітко вираженої невромі. При дистальній травмі сідничого нерва дистальний відрізок був елімінований внаслідок некрозу, а регенеруючі нервові волокна формували но-

воутворені терміналі (щільність нервових волокон складала 32,8% від контрольних значень, $p < 0,01$). У випадку проксимальної невротомії лише у двох щурів відмічено регенерацію нервових волокон до дистального відділу, у інших випадках дистальний відділ був некротизований, і за цих умов регенерація нервових волокон була відсутня. Проте відносне збільшення кількості регенеруючих нервових волокон сідничого нерва в другій дослідній групі не супроводжувалось якісним функціональним відновленням (рис. 2, табл. 1). Показник SFI в групі із дистальною невротомією склав - $51,7 \pm 11,5$, в групі із проксимальною невротомією - $77,3 \pm 2,7$ ($U_{емп} = 0$, $U_{кр} = 1$, $p < 0,01$). Відносне зменшення функціонального дефіциту (псевдорегрес) може бути пов'язано із пристосуванням щурів до денервованої гомілки.

Таблиця 1.
Морфометричні показники великогомілкового м'яза і сідничого нерва.

Показник	Контроль	Травма сідничого нерва	
		Дистальна травма	Проксимальна травма
Щільність волокон, шт/мм ²	10731,0±416,9	Проксимальний	9150,3±683,2a
		Дистальний	8247,1±452,4a,b
Площа поперечного перерізу м'язового волокна, мкм ²	3204,6±238,4	4079,2±351,8a	2615,79±534,5a,b
	188,3±28,6	247,6±32,6a	228,5±16,5
ГМЦР м'яза, мкм ²	Капіляр	343,5±51,1	935,4±66,4a
	Венула	527,1±75,8	601,3±53,0
	Артеріола	-	571,5±41,3
Функціональний індекс сідничого нерва (SFI)	-7,3±3,9	-51,7±11,5a	-77,3±2,7a,b

Умовні позначення: a - достовірно до показників контрольної групи ($p < 0,05$);
b - достовірно до показників групи з дистальною травмою ($p < 0,05$).

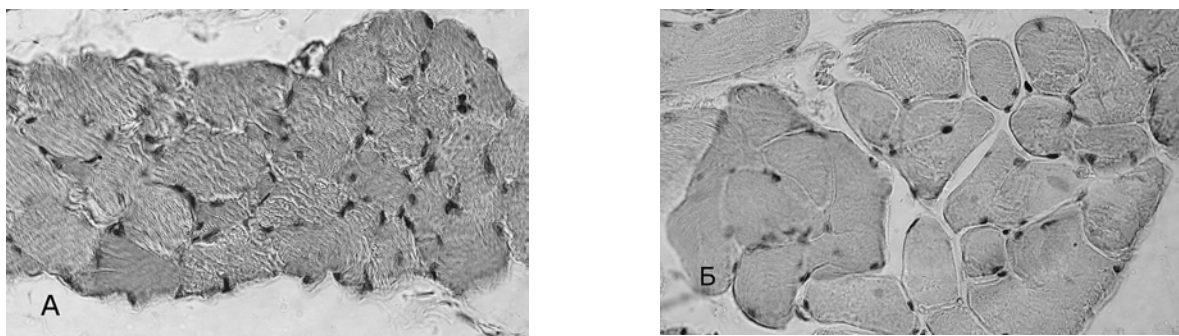


Рис. 3. Морфологічні зміни скелетних м'язів гомілки щура при проксимальному (А) і дистальному (Б) травмуванні сідничого нерва. Гематоксилін-пікрофуксин. Об. 20, ок. 10.

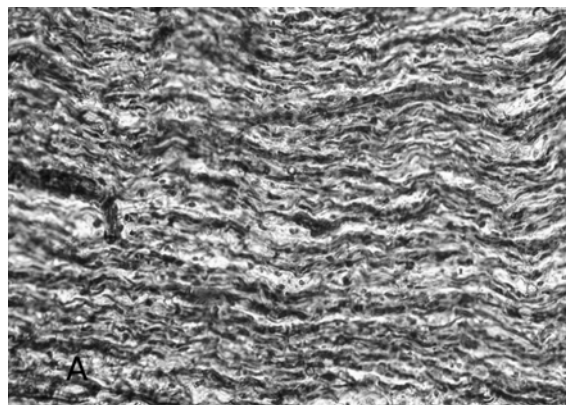


Рис. 4. Зміни дистального відрізка травмованого сідничого нерва щура при проксимальному (А) і дистальному (Б) ушкодженні. Збільшення просвіту посткапілярних венул при дистальній травмі, активація нейролемоцитів, поодинокі нервові волокна. Імпрегнація сріблом. Об. 20, ок. 10.

Отже, при травматичне ушкодження сідничого нерва із великим дефектом (діастаз 1 см і більше) викликає функціональні і структурні зміни скелетних м'язів задньої кінцівки. Динаміка змін мікроциркуляторного русла м'язів і регенерації сідничого нерва залежить від зони травмування. При дистальному травмуванні відмічено відносне збільшення набряку м'язової тканини на тлі кровонаповнення мікросудин та низьку регенерацію нерва. При високій травмі сідничого нерва регенерацію нерва відмічено лише в окремих випадках, що не відзначилось на функціональному відновленні м'язів кінцівки і спричинило розвиток атрофічних змін.

Висновки

1. Використання функціонального індексу сідничого нерва (SFI) дозволяє достовірно оцінити ефективність реіннервації та відновлення функції м'язів кінцівки, що розширює арсенал комплексного аналізу процесів відновлення сідничого нерва в експерименті.

2. Структурні і функціональні зміни скелетних м'язів гомілки залежать від зони травми сідничого нерва. При дистальній невротомії в м'язах відмічається кровонаповнення гематоциркуляторного русла і регенерація поодиноких кластерів нервових волокон. При високому травмуванні сідничого нерва атрофічні процеси м'язів виражені в більшій мірі, що підтверджено функціональним тестуванням.

3. Ступінь функціонального відновлення залежить від повноти реіннервації та ступеню регіонарної гемодинаміки, що визначають ступінь атрофії та відновлення м'язових елементів.

Перспективи подальших розробок передбачають удосконалення методів фізичного та фармакологічного впливу на механізми адаптації та відновлення скелетних м'язів при високих і дистальних травмуваннях периферійних нервів верхніх і нижніх кінцівок. Вивчення чинників, що визначають некурабельні порушення в денервованих м'язах дозволять покращити способи лікування ушкоджень периферійної нервової системи та скоротити терміни фізичної та соціальної реабілітації.

Література

1. Варсегова Т.Н. Морфологическое исследование седалищного нерва при лечении сочетанной травмы таза и бедра методом чрескостного остеосинтеза в эксперименте / Т.Н. Варсегова, В.В. Краснов // Гений ортопедии. – 2010. – №4. – С. 36-40.

2. Науменко Л.Ю. Відновна хірургія і реабілітація при поєднанні пошкоджених нервів та сухожиль передпліччя і кисті / Л.Ю. Науменко, В.В. Варін, А.М. Доманський, В.М. Хомяков // Травма. – 2010. – Т. 11, № 2. – С. 213-217.

3. Сидорович Р.Р. Результаты оперативных вмешательств на структурах плечевого сплетения при последствиях его травматического повреждения / Р.Р. Сидорович // Известия национальной академии наук Беларуси / Серия медицинских наук. – 2011. – №3. – С. 5-17.

4. Царев А.А. Макро-микроскопическая характеристика скелетной мускулатуры задней конечности крыс в норме и при травме ее нерва / А.А. Царев, А.В.Кривошапов // Морфология. – 2008. – Т. II, № 2. – С. 66-70.

5. Цимбалюк В.І. Результати хірургічного лікування пошкодження периферичних нервів нижніх кінцівок в умовах, несприятливих для регенерації нерва / В.І. Цимбалюк, О.О. Гончарук // Український нейрохірургічний журнал. – 2004. – №4. – С. 59-64.

6. Arnaoutoglou C.M. Maximum intraoperative elongation of the rat sciatic nerve with tissue expander: functional, neurophysiological, and histological assessment / C.M. Arnaoutoglou, A. Sakellariou, M. Vekris, G.I. Mitsionis [et al.] // Microsurgery. – 2006. – V. 26. – P. 253-261.

7. Butt A.J. Sciatic nerve palsy secondary to postoperative haematoma in primary total hip replacement / A.J. Butt, T. McCarthy, I.P. Kelly [et al.] // J. Bone Jt. Surg.-Br. – 2005. – V.87. – P. 1465-1467.

8. Bain J.R. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat / J.R. Bain, S.E. Mackinnon, D.A. Hunter // Plast. Reconstr. Surg. – 1989. – V.83. – P.129-138.

9. Carleton J.M. Quantitating integrated muscle function following reinnervation / J.M. Carleton, N.H. Goldberg // Surg. Forum. – 1986. – V.37. – P.611-614.

10. Crawford J.R. Compression of the sciatic nerve by wear debris following total hip replacement: a report of three cases / J.R. Crawford, L. Van Rensburg, C. Marx // J. Bone Joint Surg. – 2003. – V. 85. – P. 1178-1180.

11. De Koning P. Org.2766 improves functional and electrophysiological aspects of regenerating sciatic nerve in the rat / P. De Koning, W.H. Gispen // Peptides. – 1987. – V.8. – P.415-422

12. Feinberg J. Sciatic Neuropathy: Case Report and Discussion of the Literature on Postoperative Sciatic Neuropathy and Sciatic Nerve Tumors / J. Feinberg, S. Sethi // HSS J. – 2006. – V. 2. – P. 181-187.

13. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (1996).

14. Imbelloni L.E. A new, lateral, continuous, combined, femoral-sciatic nerve approach via a single skin puncture for postoperative analgesia in intramedullary tibial nail insertion / L.E. Imbelloni // Local Reg Anesth. – 2013. – V. 6. – P. 9-12.

15. Johnston R.B. Improved imaging of rat hindfoot prints for walking track analysis / R.B. Johnston, L. Zachary, A.L. Dellon [et al.] // J. Neurosci. Methods. – 1991. – V.38. – P.111-114.

16. Kaiser R. Surgery for sciatic nerve injuries / R. Kaiser, L. Houšťava, P. Haninec // Acta Chir Orthop Traumatol Cech. – 2012. – V. 79. – P. 437-441.

17. Kim D.H. Management and outcomes in 318 operative common peroneal nerve lesions at the Louisiana State University Health Sciences Center / D.H. Kim, J.A. Murovic, R.L. Tiel [et al.] // Neurosurgery. – 2004. – V.54. – P. 421-429.

18. Shum G.L. Tibial nerve excursion during lumbar spine and hip flexion measured with diagnostic ultrasound / G.L. Shum, A.S. Attenborough, J.F. Marsden, A.D. Hough // Ultrasound Med Biol. – 2013. – V.39. – P. 784-790.

19. Stein B.E. Lower-extremity peripheral nerve blocks in the perioperative pain management of orthopaedic patients: AAOS exhibit selection / B.E. Stein, U. Srikumaran, E.W. Tan, M.T. Freehill // J Bone Joint Surg Am. – 2012. – V. 94. – P. 167.

20. Wu C. Lower extremity nerve decompression in burn patients / C. Wu, C.T. Calvert, B.A. Cairns, C.S. Hultman // Ann Plast Surg. – 2013. – V. 70. – P. 563-567.

Реферат

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЙ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ ГОЛЕНИ КРЫСЫ ПРИ ТРАВМАТИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА РАЗЛИЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ

Гайович В.В., Макаренко А.Н., Савосько С.И.

Ключевые слова: травма седалищного нерва, скелетные мышцы, микроциркуляторное русло, гистоморфометрическое исследование, функциональный индекс седалищного нерва.

Целью исследования была количественная оценка изменений нейро-сосудисто-мышечных изменений при больших дефектах седалищного нерва в проксимальной и дистальной зоне нерва. В исследовании воспроизведена модель высокого и дистального повреждения седалищного нерва с больших диастазом (1 см). Исследование включало гистологическое и морфометрические изучения седалищного нерва, скелетных мышц и микроциркуляторного русла мышц. Для контроля функционального восстановления седалищного нерва использовали «Тест ходьбы на дорожке» ("Walking track

analysis") . Выявлено, что структурно-функциональные нарушения мышц голени обостряются при высокой травме седалищного нерва, что подтверждено функциональным тестированием, но не достигает степени тотальной атрофии. Использование функционального индекса седалищного нерва (SFI) позволяет достоверно оценить эффективность реиннервации и восстановление функции мышц конечности, в частности для оценки действия лекарственных средств.

Summary

COMPARATIVE ANALYSIS OF CHANGES IN RAT TIBIA SKELETAL MUSCLE IN THE TRAUMATIC INJURY OF SCIATIC NERVE AT VARIOUS LOCATIONS

Gayovich V.V., Makarenko A.N., Savosko S.I.

Key words: sciatic nerve injury, skeletal muscle, microcirculatory histomorphometrical study, sciatic nerve functional index.

To date, no comparative functional and morphological studies that analyzes changes in skeletal muscle in the proximal and distal peripheral nerve injuries. The study conducted a quantitative assessment of neurovascular-muscular changes with significant defects in the sciatic nerve proximal and distal nerve area. Experiments were performed on 36 white male rats nonlinear weighing 190-225 g after 1 month was performed histological and morphometric study of muscle fibers and microvasculature tibial muscle (m. tibialis caud.). The degree of regeneration of the sciatic nerve and the degree of functional nerve regeneration after proximal and distal injury. To control the sciatic nerve functional recovery "Walking track analysis" was used. The degree of functional recovery of sciatic nerve and skeletal muscle atrophy vary by area neurotomy. At proximal damages nerve regeneration impossible due to significant diastase, at distal nerve injury possible only functionally insignificant reinnervation. The area of the capillaries in the distal nerve injury increased by 31,7% ($p < 0,05$), and venules of 270%, while the proximal sciatic nerve injury found only an increase in cross-sectional area venules by 230% ($p < 0,05$). In this case, the distal injury marked increase in interstitial space compared with the other research groups. The most pronounced morphological changes in skeletal muscle seen in venous hyperemia. Skeletal muscles are characterized by a sharp increase in the interstitial space, which is a sign of hypoperfusion denervated muscle. In this cross-sectional area of muscle fibers in the distal injury increased on average by 27,5% ($p < 0,05$), and in proximal - by 18,3% ($p < 0,05$), which is associated with atrophic changes in the proximal sciatic nerve injury. At the distal sciatic nerve injury distal segment was eliminated due to necrosis and regenerating nerve fibers newly formed terminal (density of nerve fibers was 32.8 % of control values $p < 0,01$). In experimental group with proximal neurotomy only two rats observed regeneration of nerve fibers to distal, in other cases, distal was necrotic, and under these conditions the regeneration of nerve fibers was absent. However, the relative increase in the number of regenerating nerve fibers of the sciatic nerve in the second experimental group was not accompanied by qualitative functional recovery. SFI index in the group with distal neurotomy was $-51,7 \pm 11,5$, in the group with proximal neurotomy $-77,3 \pm 2,7$ ($p < 0,01$). Structural and functional disruption of shin muscles are exacerbated at high sciatic nerve injury, as confirmed by functional testing, but does not reaches to level of total atrophy. The degree of functional recovery depends on the degree of completeness reinnervation and regional hemodynamic determining the degree of atrophy and regeneration of muscle cells. Use sciatic nerve functional index (SFI) to reliably assess the effectiveness reinnervation and restore limb muscle function, particularly for evaluation of medicinal products. Prospects for further development include improved methods of physical and pharmacological effects on mechanisms of adaptation and recovery of skeletal muscle at high and peripheral nerve injury distal upper and lower extremities. The study of factors that determine incurable disorders in denervated muscles will improve ways to treat peripheral nervous system damage and shorten the physical and social rehabilitation.