

УДК 57.012.4::616.8-091.935+616.833-001.35+[616.833-089.84+616.72]:616.833-003.93

Корсак А.В.

**Ультраструктура епіневрію травмованого периферійного нерва після оперативного лікування з використанням високочастотної електрозварювальної технології на ранніх етапах регенерації**

Кафедра гістології та ембріології, Національний медичний університет імені О.О.Богомольця, м. Київ, Україна, Alina.korsak@mail.ru

**Резюме.** Використання електрохірургічних приладів є розповсюдженим в клінічній практиці, проте недостатність відомостей про особливості їх впливів на органи нервової системи обмежує застосування цих приладів в нейрохірургії.

Метою дослідження було встановити ультраструктурні зміни епіневрію на ранніх етапах регенерації після оперативного лікування травми периферійного нерва з використанням ВЧ-електрозварювальної технології.

Експеримент проводили на щурах-самцях лінії Вістар. В даному дослідженні вивчали морфологію епіневрію травмованого периферійного нерва після з'єднання кінців нерва різними способами. Цілісність нервового стовбура відновлювали за допомогою епіневральних швів, високочастотної електрохірургічного інструмента в режимі біполярної коагуляції, та в режимі біполярної коагуляції. Через 1, 3, 7, 21 днів та безпосередньо після операції проводили електронномікроскопічне дослідження фрагментів епіневрію із місця травми.

За результатами дослідження встановлено, що перша підготовча фаза регенерації епіневрію, яка полягає в очищенні місця травми від нежиттєздатних тканин відбувається різними шляхами в залежності від вибору метода зєднання ушкодженого епіневрію під час оперативного лікування з метою відновлення цілості нервового стовбура. Більш перспективним для застосування в клінічній практиці є ВЧ електрозварювальна технологія, так як в результаті впливу на епіневрій не відбувається утворення великої кількості та об'єму тканинного детриту, що пришвидшує процес відновлення.

При застосуванні ВЧ електрозварювальної технології для відновлення цілості епіневрію травмованого нервового стовбура під час елімінації пошкодженої тканини переважає денатурація білків, що не супроводжується утворенням великої кількості та об'єму тканинного детриту та згодом і дефекту, що сприяє утворенню ніжного сполучнотканинного рубця.

**Ключові слова:** травми периферійних нервів, електрохірургія, ультраструктура.

**Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень.**

Електрохірургічні прилади (ЕХВЧ-прилади) мають широкий спектр дії та з успіхом застосовуються у медичній практиці. За допомогою вищезгаданих приладів можливо безкровне роз'єднання або зварювання живої тканини.

Морфологічна характеристика впливу ЕХВЧ-приладів в режимі електрозварювання на нервову тканину практично не відображено в літературі. Важливими є дані про характер ультраструктурних змін у нервовій тканині за умов використання високочастотної електрозварювальної технології (ВЧ-електрозварювальної технології), так як це може сприяти розробці нових методів оперативного лікування у нейрохірургії. Хірургічне втручання при поєднаних ураженнях нервових стовбурів іноді триває до десяти годин. Використання ЕХВЧ-приладів в режимі електрозварювання може знизити крововтрату та скоротити час оперативних втручань з метою відновлення цілості травмованого периферійного нерва. При класичному методі хірургічного лікування травми периферійного нерва успіх відновлення нервового стовбура багато в чому залежить від якості епіневральних швів, тому актуальним є детальне порівняльне дослідження саме змін епіневрію за умов різних впливів.

**Мета дослідження.** Встановити ультраструктурні зміни епіневрію на ранніх етапах регенерації після оперативного лікування травми периферійного нерва з використанням ВЧ-електрозварювальної технології.

**Матеріал і методи дослідження**

Аналіз ультраструктури епіневрію у невромі ушкодженого периферійного нерва за умов впливу ВЧ-електрозварювальної тех-

нології проводили на білих щурах – самцях лінії Вістар, вагою 150-200 г. Експериментальні тварини були розподілені на 3 групи: I група — псевдооперовані щури, II група - щури, яким була відтворена травма периферійного нерва та проводилось оперативне лікування із застосуванням ВЧ-електрозварювальної технології за допомогою використання ЕХВЧ — приладу ЕКВЗ – 300 «ПАТОН-МЕД» та біполярного інструменту в ручному та автоматичному режимах зварювання вітчизняного виробництва, інституту електрозварювання імені С.О. Патона НАН України, який дозволяє проводити зварювання м'яких тканин організму струмом високої частоти; III група - щури, яким була відтворена травма периферійного нерва та проводилось оперативне лікування із застосуванням біполярної коагуляції за допомогою використання приладу електрохірургічного високочастотної „Еконт-0201” вітчизняного виробництва фірми „Контакт”, який дозволяє проводити електро-томію, монополярну та біполярну коагуляцію м'яких тканин організму струмом високої частоти.

Всі оперативні втручання проводили з дотриманням правил асептики та антисептики. Використовували тіопенталовий наркоз.

Тваринам I групи було відтворено доступ до сідничного нерва, проведена його мобілізація, пошаровий шов рани.

Тваринам II групи було відтворено доступ до сідничного нерва, проведена його мобілізація та здійснено перетин в середній його третині, накладено два окремих вузлових епіневральних шва ниткою “Ethicon” 7/0, після чого з метою відновлення цілості нервового стовбура та герметичності епіневрію в місці приєднання центрального та периферійного відрізків травмованого нерва по колу проводили з'єднання ушкодженого епіневрію в режимі високочастотної зварювання за допомогою спеціально розробленого біполярного пінцета з використанням ЕХВЧ — приладу ЕКВЗ-300 «ПАТОНМЕД», пошаровий шов рани.

Тваринам III групи було відтворено доступ до сідничного нерва, проведена його мобілізація та здійснено перетин в середній його третині, накладено два окремих вузлових епіневральних шва ниткою “Ethicon” 7/0, після чого з метою відновлення цілості нервового стовбура та герметичності епіневрію в місці приєднання центрального та периферійного відрізків травмованого нерва по колу проводили з'єднання ушкодженого епіневрію в режимі біполярної коагуляції за допомогою використання ЕХВЧ — приладу „Еконт-0201”, пошаровий шов рани.

Матеріалом для дослідження був епіневрій невромі травмованого сідничного нерва через 1,3, 7, 21 добу та безпосередньо після операції. Перед забором матеріалу тваринам застосовувався тіопенталовий наркоз. Для електронномікроскопічного дослідження невеликі фрагменти відповідних відрізків сідничного нерва фіксували в 1%-му розчині чотириокису осмію за Колфільдом протягом 2 годин при температурі +4°C. Об'єкти зневоднювали в етанолі зростаючої концентрації, в ацетоні і заливали в суміш епону з аралдитом за загальноприйнятою методикою. Ультратонкі зрізи одержували на ультратомі LKB-8800 (Швеція), контрастували їх 2%-м розчином уранілацетату в 50-70% етанолі протягом 15 хв і азотнокислим свинцем стільки ж часу, а потім зрізи вивчали та фотографували в електронному мікроскопі ЭМВ 125К.

**Результати дослідження**

При електронномікроскопічному дослідженні епіневрію псевдооперованих щурів встановлено, що він складається із сполучної тканини, в якій переважають колагенові волокна, зустрічаються еластичні волокна, фіброласти, жирові клітини та судини нерва, що відповідає даним літератури [Сандерленд]. Структура колагенових волокон збережена, чітко розпізнається періодичність чергування світлих та темних смуг, такі колагенові волокна розташовані хаотично. Структура фіброластів теж збережена, такі фіброласти мають відростки, цитоплазма збагачена добре вираженими каналцями гранулярної ендоплазматичної сітки, чисельними мітохондріями з наявними кристами, цистерни комплексу

Гольджі зібрані в діктіосоми. Просвіт судин ендоневрію збережений, ендотелій соковитий, його плазмолема має ви-  
рости.

Безпосередньо після впливу на епіневрій ЕХВЧ у режимі зварювання виявляються його зміни у вигляді наявної одно-  
рідної напівпрозорої маси без чітких контурів, зникнення  
просвіту судин. Відбувається руйнування структури колагено-  
вих волокон. Колагенові волокна, що визначаються, гомо-  
генізовані, вони втрачають свою посмугованість та форму,  
зближуються один до одного завдяки втраті міжклітинної  
речовини. Виникає ефект “склеювання” за рахунок втрати  
їх границь та денатурації білка. Епіневрій виглядає більш  
менш однорідним. Клітинні елементи не визначаються. Ли-  
ше іноді виявляються залишки зруйнованих фібробластів у  
вигляді розпаду їх на гомогенізовані глибки. Через 1 добу  
після впливу на епіневрій ЕХВЧ у режимі зварювання спо-  
стерігається поява помірної кількості нейтрофільних лейко-  
цитів та макрофагів. Лейкоцити та макрофаги приймають  
участь в елімінації денатурованого білка. На 3 добу в епінев-  
рії цієї групи тварин знижується кількість лейкоцитів, зали-  
шаються макрофаги, з’являються фібробласти та молоді  
новоутворені судини. Кількість фібробластів помірна. Для  
таких фібробластів характерна звичайна будова. Вони мають  
впорядковано розташовані цистерни гранулярної ендоплаз-  
матичної сітки та комплексу Гольджі, в помірній кількості  
вільні рибосоми, середнього розміру видовжені мітохондрії  
із вираженими кристами. Вищезгадані характеристики  
фібробласта свідчать про наявні синтетичні процеси у клі-  
тині. На 7 добу у тварин цієї групи з’являються новоутворені  
колагенові волокна та збільшується кількість судин, поде-  
куди визначаються еластичні волокна, серед клітинних еле-  
ментів з’являються тучні клітини. Кількість молодих ново-  
утворених колагенових волокон помірна. Молоді колагенові  
волокна розташовані впорядковано, структура їх збережена,  
прослідковується чітка періодичність темних та світлих смуг.  
На 21 добу відбувається підвищення кількості новоутво-  
рених колагенових волокон та судин, наявні поодинокі елас-  
тичні волокна, кількість макрофагів, фібробластів, тучних  
клітин знижується. Новоутворені колагенові волокна мають  
тенденцію до рівномірного розташування. У тварин цієї гру-  
пи кількість клітин фібробластичного ряду незначна, синтез  
колагену виражено помірно, наявні еластичні волокна, що  
є ознаками початку формування нижньої рубцової тканини.

Безпосередньо після впливу на епіневрій ЕХВЧ у режимі  
біполярної коагуляції виявляються його зміни у вигляді наяв-  
ного детрита та пустот. Відбувається більше за обсягом та  
глибиною руйнування структури тканини епіневрію у порів-  
нянні з попередньою групою тварин в цей термін. Спосте-  
рігається значний набряк епіневрію. Він виглядає неоднорід-  
ним, зони із зниженою електронною щільністю і відсутністю  
залишків клітин та волокон чергуються з ділянками, де спо-  
стерігаються їх локальні скупчення. У деяких місцях залиш-  
ки колагенових волокон та фібробластів, утворюють пухку  
тіню у вигляді крупнопетлистої сітки за рахунок вакуолі-  
зації. Через 1 добу після впливу на епіневрій ЕХВЧ у режимі  
біполярної коагуляції спостерігаються ознаки однотипності  
патоморфологічної картини. В ділянці травми виявлено ве-  
лику кількість нейтрофільних лейкоцитів та макрофагів у  
порівнянні з тваринами попередньої групи цього ж терміну.  
Лейкоцити та макрофаги приймають участь в лізисі детриту,  
який ще наявний у великій кількості. На 3 добу в епіневрії  
цієї групи тварин знижується кількість лейкоцитів та клітин-  
ного детриту, залишаються макрофаги, з’являються у вели-  
кій кількості фібробласти та молоді новоутворені судини.  
Кількість фібробластів значно вища за їх кількість у поперед-  
ньої групи тварин в цей термін. Для таких фібробластів  
характерно ознаки підвищеної активності. Вони мають  
гіпертрофовану гранулярну ендоплазматичну сітку з впо-  
рядкованими та розширеними цистернами, вільні рибосоми,  
великі округлі або видовжені мітохондрії із гіпертрофова-

ними кристами та електроннощільним матриксом, скупчен-  
ня цистерн та пухирців апарату Гольджі. Вищезгадані  
характеристики фібробласта свідчать про підвищені синтетичні процеси у клітині. На 7 добу у тварин цієї групи з’явля-  
ються новоутворені колагенові волокна та збільшується  
кількість судин, еластичні волокна не визначаються, серед  
клітинних елементів з’являються тучні клітини. Кількість  
молодих новоутворених колагенових волокон перевищує  
таку у тварин попередньої групи в цей термін. Молоді колагенові  
волокна розташовані невпорядковано, структура їх  
збережена, прослідковується чітка періодичність темних та  
світлих смуг. На 21 добу залишається підвищеним синтез  
колагену у порівнянні з тваринами попередньої групи в цей  
термін, кількість макрофагів, фібробластів, тучних клітин  
знижується. Новоутворені колагенові волокна мають тенден-  
цію до скупчення в пучки та хаотичного розташування. У  
тварин цієї групи виявлено значну кількість клітин фібро-  
бластичного ряду, синтез колагену переважає його руйну-  
вання, відсутні еластичні волокна, що є ознаками початку  
формування грубої рубцової тканини.

### Обговорення

Аналіз проведеного дослідження показав, що при за-  
стосуванні ВЧ електрозварювальної технології для віднов-  
лення цілісності епіневрію травмованого нервового стовбура  
в першій фазі регенерації під час елімінації пошкодженої  
тканини переважає денатурація білків. Це відбувається за  
рахунок мінімальної пошкоджуючої дії електричного струму  
на живу тканину, що не супроводжується утворенням великої  
кількості та об’єму тканинного детриту та згодом і дефекту,  
що сприяє пришвидшенню відновлення та утворенню ніж-  
ного сполучнотканинного рубця. Навпаки при застосуванні  
ЕХВЧ приладу в режимі біполярної коагуляції для віднов-  
лення цілісності епіневрію травмованого нервового стовбура  
в першій фазі регенерації під час елімінації пошкодженої  
тканини переважає процес ферментативного переравлення.  
Це відбувається за рахунок іншого сигналу електричного  
струму, що виходить з приладу у вигляді коливань відповід-  
ного типу та частоти ніж при використанні ВЧ-електро-  
зварювальної технології, в наслідок чого відбувається більша  
глибина пошкоджуючої дії на живу тканину, що супровод-  
жується утворенням великої кількості та об’єму тканинного  
детриту та згодом і значного дефекту, що гальмує відновлен-  
ня та сприяє утворенню грубого сполучнотканинного рубця.

Відносну стійкість сполуки при з’єднанні епіневрію за  
допомогою ВЧ-електрозварювальної технології та за допо-  
могою біполярної коагуляції можна пояснити відсутністю  
чіткого переходу від фази елімінації нежиттєздатних тканин  
до фази утворення грануляційної тканини та згодом спо-  
лучнотканинного рубця.

### Висновки

За результатами дослідження встановлено, що перша під-  
готовча фаза регенерації епіневрію, яка полягає в очищенні місця  
травми від нежиттєздатних тканин відбувається різними  
шляхами в залежності від вибору методу з’єднання ушкодженого  
епіневрію під час оперативного лікування з метою відновлення  
цілісності нервового стовбура. Більш перспективним для  
застосування в клінічній практиці є ВЧ електрозварювальна  
технологія, так як в результаті впливу на епіневрій не відбувається  
утворенням великої кількості та об’єму тканинного детриту, що  
пришвидшує процес відновлення.

### Перспективи подальших досліджень

Планується за допомогою методу імуногістохімії про-  
вести більш детальний аналіз змін епіневрію за умов різних  
режимів впливу ЕХВЧ-приладу.

### Література

1. Dahlin L.B. Techniques of peripheral nerve repair / L. B. Dahlin

// Scandinavian Journal of Surgery. 2008. - Vol. 97. - P. 310-316.

2. Noble J. Analysis of upper and lower extremity peripheral nerve injuries in a population of patients with multiple injuries / J. Noble, C.A. Munro, V.S. Prasad, R. Midha // J. Trauma. - 1998. - №1 (45) . P. 116-122.

3. Guena S. Histology of peripheral nerve and changes occurring during nerve regeneration / S. Guena, S. Raimondo, G. Ronchi, F. Di Scipio, P. Tos, K. Czaja et al. / International review of neurobiology. 2009. - Vol. 87. - P. 27-44.

*Корсак А.В.*

**Ультраструктура епинеурія травмированого периферического нерва после оперативного лечения с применением высокочастотной электросварочной технологии на ранних этапах регенерации**

Кафедра гистологии и эмбриологии, Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, г. Киев, Украина, Alina.korsak@mail.ru

**Резюме.** Электрохирургические устройства широко применяются в клинической практике, однако, недостаток сведений об особенностях их воздействия на органы нервной системы ограничивает применение подобных устройств в нейрохирургии.

Целью исследования являлось установить ультраструктурные изменения епинеурія на ранних этапах регенерации после оперативного лечения травмы периферического нерва с использованием высокочастотной электросварочной технологии.

Эксперимент проводили на крысах-самцах линии Вистар. В данном исследовании изучали морфологию епинеурія травмированного периферического нерва после соединения концов нерва разными способами. Целостность нервного ствола восстанавливали при помощи эпиневральных швов, высокочастотного электрохирургического инструмента в режиме сваривания и в режиме биполярной коагуляции. Через 1, 3, 7, 21 день и непосредственно после операции проводили электронномикроскопическое исследование фрагментов епинеурія из места травмы. Установлено, что применение высокочастотного электрохирургического инструмента в режиме сваривания приводит к формированию нежного рубца в месте травмы, что делает этот метод перспективным для внедрения в клиническую практику

**Ключевые слова:** травмы периферических нервов, электрохирургия, ультраструктура.

*Korsak A.V.*

**Epineurium Ultrastructure in Injured Peripheral Nerve after Operative Treatment Using High-Frequency Electrosurgical Welding Technologies at Early Regeneration Stage**

**Abstract.** Histology and embryology department, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine, Alina.korsak@mail.ru

Electrosurgical devices are widely used in clinical practice, but lack of evidence in their effects on organs of nervous system restricts their usage in neurosurgery.

The aim of the study was to evaluate ultrastructural changes in epineurium at damage site of injured peripheral nerve treated with high-frequency electrosurgical technologies.

In current study we performed an experiment on mature Wistar rats and compared epineurium morphological features in transected sciatic nerve after nerve stumps coaptation in different ways. For nerve repair we used epineurial sutures, sutures with high-frequency electrosurgical device in welding mode and sutures with bipolar electrocautery device at 1, 3, 7, 21 days postoperatively and directly after treatment the transmission electron microscopy examination performed.

According to obtained results, the first preliminary stage of epineurium regeneration appears as trauma site cleaning from nonviable tissue and occurs by different ways that depends on epineurium coaptation method during nerve injury operative treatment. High-frequency electrosurgical welding technology is more perspective for implementation to clinical practice due to less tissue debris formation after its application that enhances nerve regeneration.

High-frequency electrosurgical devices in welding mode application for epineurium sealing in transected peripheral nerve leads to protein denaturation during damaged tissue elimination from trauma site that is not accompanied by large quantity of tissue debris formation and results in soft scar tissue formation at damage site.

**Key words:** peripheral nerve injuries, electrosurgery, ultrastructure.

Надійшла 22.06.2015 року.

УДК 611.316+616.379-008.64+616-092.9

*Котик Т.Л.*

**Характеристика перебудови вивідних проток піднижньощелепної залози за умови розвитку експериментального цукрового діабету з використанням аналізу головних компонент**

Кафедра анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії (зав. кафедрою д. мед. н., проф. Попович Ю. І.) ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»

**Резюме.** З використанням аналізу головних компонент визначені особливості перебудови вставних, гранулярних і посмугованих проток піднижньощелепної залози щура при стрептозототициновому діабеті. Встановлено, що перебудова і пріоритетність змін проток залежать від терміну експерименту. Дисфункція проток спостерігається з 28-ої доби досліді, що підтверджується перебудовою структури головних компонент. Найбільш чутливими до патогенних факторів, які супроводжують діабет, є функціональна здатність епітеліоцитів гранулярних і посмугованих проток. Виявлені також черговість і ступінь змін, які мають найбільший вплив на розвиток дисфункції проток.

**Ключові слова:** піднижньощелепна залоза, протоки, стрептозототициновий діабет, аналіз головних компонент.

**Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень.** Процес утворення слини відбувається у дві стадії [8]. Перша – це синтез клітинами кінцевих відділів первинної слини, яка за електролітним складом нагадує плазму крові та є ізотонічною. Друга стадія – це переміщення первинної слини по системі вивідних проток, які модифікують її склад. Перебудова внутрішньочасточкових проток при цукровому діабеті (ЦД) вивчена недостатньо, а дані щодо пріоритетності змін вивідної здатності проток і морфофункціонального стану

їх епітеліоцитів на етапах розвитку ЦД в літературі відсутні.

**Мета дослідження:** визначити особливості перебудови вставних, гранулярних і посмугованих проток піднижньощелепної залози щура на етапах розвитку експериментального ЦД.

**Матеріал і методи дослідження**

Використано 25 щурів-самців лінії Вистар. ЦД моделювали стрептозототицином (60 мг/кг маси тіла). Протоки піднижньощелепної залози (ПНЦЗ) – вставні (ВстП), гранулярні (ГранП) і посмуговані (ПосмП) – вивчали на 14-ту, 28-му, 42-ту, 56-ту і 70-ту доби експерименту (по 5 тварин на термін) на гістологічних зрізах, забарвлених гематоксином і еозинном. Програмою ImageJ визначали площу просвіту проток і висоту їх епітеліоцитів. Електронномікроскопічне дослідження проводили за рекомендацією E. Gresik [7]. Статистичну обробку проводили в статистичному програмному середовищі R v.3.0 з використанням непараметричних методів. Аналіз головних компонент виконували за допомогою програми «psych» для R.

**Результати дослідження та їх обговорення**

В інтактних тварин (норма) [3] у системі внутрішньочасточкових проток, які представлені ВстП, ГранП і ПосмП, були виділені три головні компоненти (ГК) (рис. 1). ГК вивід-