

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «КАЗАНСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

БОГОВ

Алексей Андреевич

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ
КЛЕТОК СТРОМАЛЬНО-ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ
АУТОЖИРОВОЙ ТКАНИ ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ НЕЙРОРЕГЕНЕРАЦИИ
В ХИРУРГИИ ПОВРЕЖДЕНИЙ ПЛЕЧЕВОГО СПЛЕТЕНИЯ

3.1.8. Травматология и ортопедия

3.1.10. Нейрохирургия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:
д.м.н. профессор Ахтямов И.Ф.
д.м.н. профессор Данилов В.И.

Санкт-Петербург

2022

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. Обзор литературы. Современные представления по проблеме хирургического лечения повреждений плечевого сплетения	16
1.1. Причины и механизмы травматического повреждения плечевого сплетения	16
1.2. Виды травматических повреждений плечевого сплетения	18
1.3. Современные способы диагностики повреждений и клинические проявления повреждений плечевого сплетения	20
1.4. Методы хирургического лечения посттравматических поражений плечевого сплетения	25
1.4.1. Невролиз стволов плечевого сплетения	27
1.4.2. Нейрорафия поврежденных стволов плечевого сплетения	28
1.4.3. Невротизация поврежденных стволов плечевого сплетения	29
1.4.4. Создание проводников для восстановления дефектов периферических нервов	35
1.5. Методы стимуляции регенерации при травматических повреждениях плечевого сплетения	37
1.5.1. Механизмы регенерации нервных волокон	38
1.5.2. Регенераторный потенциал клеток стромальной васкулярной фракции	42
1.5.3. Применение аутологичной стромально-васкулярной фракции жировой ткани при травматических повреждениях периферических нервов	44
1.5.4. Применение генных технологий при травматических повреждениях периферических нервов	46
1.6. Резюме	48
ГЛАВА 2. Материалы и методы исследования	50
2.1. Структура и общая характеристика диссертационной работы	50
2.2. Материалы и методы экспериментального исследования	51
2.2.1. Забор жировой ткани и выделение стромально-васкулярной фракции	51
2.2.2. Эксперименты с плазмидой pBUD-VEGF165-FGF2	52
2.2.3. Операции на седалищном нерве крысы	52
2.2.4. Электромиографическое исследование седалищного нерва	54
2.2.5. Забор материала и гистологическое исследование	55
2.2.6. Методики статистического анализа количественных данных	55

2.3. Материалы и методы первой клинической части диссертационного исследования	56
2.3.1. Характеристики наблюдавшихся пациентов	56
2.3.2. Клиническое обследование пациентов	56
2.3.3. Исследование чувствительной функции поврежденной конечности	58
2.3.4. Исследование двигательной функции поврежденной конечности	59
2.3.5. Оценка болевого синдрома	61
2.3.6. Дополнительные инструментальные методы исследования (ЭНМГ, УЗИ, МРТ)	61
2.3.7. Методы хирургического лечения повреждений плечевого сплетения	64
2.3.8. Группы исследования и количество пациентов	64
2.3.9. Показания и противопоказания к аутотрансплантации клеток СВФ-ЖТ при хирургическом лечении повреждений плечевого сплетения	69
2.3.10. Забор жировой ткани пациентов и выделение клеток стромально-васкулярной фракции	69
2.3.11. Трансплантация клеток стромально-васкулярной фракции к области травмы плечевого сплетения	71
2.4. Материалы и методы второй части клинического исследования	72
2.4.1. Разработка метода дозированной дистракции стволов плечевого сплетения	72
2.4.2. Техника проведения операции на плечевом сплетении и установка аппарата для дистракции реконструированного нерва	74
2.4.3. Алгоритм выведения плеча в физиологическое положение	76
2.5. Методы оценки посттравматического восстановления пациентов с тракционным повреждением плечевого сплетения	81
2.6. Методики статистического анализа количественных клинических данных	82
ГЛАВА 3. Результаты экспериментального исследования	85
3.1. Результаты электромиографического исследования у животных	85
3.2. Микроскопический анализ седалищного нерва после аутонервной вставки	87
3.3. Микроскопический анализ и количество нейронов спинального ганглия L5	91
3.4. Обсуждение результатов исследования	93
3.5. Резюме	97

ГЛАВА 4. Результаты хирургического лечения повреждений плечевого сплетения с применением клеток стромальной васкулярной фракции	99
4.1. Распределение клинических форм паралича верхней конечности у пациентов в основной и контрольной группах исследования	99
4.2. Оценка посттравматического восстановления после невролиза плечевого сплетения	100
4.3. Оценка посттравматического восстановления после невротизации плечевого сплетения	108
4.4. Результаты клинической апробации разработанного аппарата для distraction стволы плечевого сплетения после нейрорафии	121
4.5. Обсуждение результатов исследования	124
ГЛАВА 5. Экспериментально-клиническое обоснование и показания к применению клеток стромальной васкулярной фракции для хирургического лечения повреждений плечевого сплетения	132
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	138
ВЫВОДЫ	142
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	143
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	144
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	145

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования.

Повреждения плечевого сплетения (ППС) и его ветвей составляют от 60 до 81% от общего числа повреждений периферической нервной системы (Яриков А.В., 2019). ППС сопряжены с тяжелыми, порой необратимыми функциональными нарушениями, значительно ухудшающими качество жизни пациентов и часто приводящими к стойкой утрате трудоспособности (Горшков Р.П. и соавт., 2009; Rasulić L. et al., 2017). Наиболее частой причиной ППС являются дорожно-транспортные происшествия – 81% из общего числа повреждений, при этом в 46% случаев происходят отрывы верхнего ствола плечевого сплетения (ПС) и в 17% – полный отрыв стволов (Горбунов Н.С. и соавт., 2020). К другим причинам ППС относят производственные, бытовые, спортивные, криминальные травмы и повреждения, полученные в результате военных действий (Razaq S. et al., 2015).

Хирургическое лечение травматических ППС является одной из наиболее сложных реконструктивных операций в микрохирургической практике и требуют технически сложных многоэтапных вмешательств (Menorca R.M et al., 2013). Точность восстановления анатомических структур нервных стволов во многом определяет функциональный исход операции и качество восстановления пациента после травмы (Baradaran A. et al., 2021). Стратегия оперативного вмешательства на плечевом сплетении (ПС) зависит от типа и вида травмы, локализации и степени ее тяжести, а также от срока давности травматического повреждения.

Существующие в клинической практике методы терапии поврежденных нервных стволов позволяют восстановить функцию после легкой травмы, однако, при тяжелых, застарелых или сочетанных травмах эти подходы малоэффективны (Карагяур М.Н. и соавт., 2017). Зачастую даже высокотехнологичная микрохирургическая техника не позволяет восстановить двигательную и/или чувствительную функцию поврежденной верхней конечности в полном объеме (Endo T. et al., 2019). Поэтому разработка методов стимуляции регенерации для

повышения эффективности хирургического лечения пациентов с ППС представляется весьма актуальной.

Степень разработанности темы исследования.

В современной профильной научной литературе описаны различные экспериментальные и клинические стратегии стимуляции регенерации поврежденных нервных стволов (Щаницын И.Н и соавт., 2017). Например, с целью улучшения восстановления моторных и сенсорных волокон с успехом применяют сочетание аутонейропластики с десимпатизирующими вмешательствами, что способствует нормализации кровотока в микроциркуляторном русле и термотопографии поврежденного сегмента конечности (Меркулов М.В. и соавт., 2015). В рамках реализации персонифицированной эффективной терапии постоянно ведется изучение способов стимуляции регенерации периферической нервной системы, основанных на использовании биоинженерных технологий и клеточной терапии (Faroni A. et al., 2015). Некоторые инновационные методы лечения в настоящее время все шире применяются в клинике, в то время как другие требуют дальнейшего изучения и клинической апробации.

По современным представлениям стимулятор регенерации должен обладать нейротрофическим и нейропротекторным действием, способствовать росту поврежденных аксонов, стимулировать ангиогенез в области повреждения и способствовать восстановлению утраченных функций. Заявленным требованиям в полной мере соответствуют стволовые клетки, успешно применяемые с целью усиления естественных процессов посттравматической регенерации и улучшения достижимых клинических результатов (Chato-Astrain J. et al., 2018; Tremp M. et al., 2018; Bucan V. et al., 2019). В частности, стволовые клетки, входящие в состав стромально-васкулярной фракции, выделенной из жировой ткани (СВФ-ЖТ), представляют собой мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки, аналогичные стволовым клеткам, полученным из костного мозга, которые, как считается, обладают нейротрофическими свойствами.

Обладая широким спектром терапевтического применения, СВФ-ЖТ способны дифференцироваться в клетки, подобные Шванновским, что делает их наиболее перспективными для нейрорегенерации (Zavan B. et al., 2010; Hopf A., et al., 2020). Они повсеместно распространены в жировой ткани и могут быть забраны в достаточном количестве при липосакции, выделены в кратчайшие сроки и введены в область травмы нерва с целью стимуляции посттравматической регенерации (De la Rosa M.B., 2018). Показано, что СВФ-ЖТ способны стимулировать регенерацию нервной ткани путем секреции биологически активных молекул (Trempe M. et al., 2018) и нейротрофических факторов (Araújo-Filho N. et al., 2016). Однако, несмотря на значимый терапевтический потенциал, в специально научной литературе практически отсутствуют данные о клиническом применении клеток СВФ-ЖТ с целью стимуляции посттравматической регенерации при ППС.

Для обоснования применения в клинической практике клеток СВФ-ЖТ, целесообразно проведение предварительного экспериментального доклинического исследования с использованием лабораторных животных в условиях, наиболее приближенных к клинике, позволяющих оценить регенераторный потенциал исследуемых клеток. При оценке терапевтических свойств в экспериментальных условиях сравнение эффективности целесообразно проводить с еще одним многообещающим подходом к решению проблем регенерации периферического нерва – генной терапией, способствующей выработке биологически активных молекул в клетках-мишенях реципиента (Ren Z. et al., 2015; Trempe M. et al., 2018). Наиболее изученными для этого представляются терапевтические гены, кодирующие фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) и фактор роста фибробластов 2 (FGF2). Указанные факторы обладают одновременно ангиогенной и нейротрофической активностью и успешно применяются с целью стимулирования посттравматической нейрорегенерации (Dumrich M. and Theiss C., 2015; Muratori L. et al., 2018).

Продолжить изучение терапевтических свойств клеток СВФ-ЖТ целесообразно в клинических условиях в ходе различных реконструктивных

операций и, соответственно, при разных типах тракционных повреждений ПС, применяя подходы, позволяющие комплексно оценить эффективность проводимой терапии. Подобные комплексные исследования по этой теме на сегодняшний день отсутствуют, хотя их результаты могут раскрыть неисследованные ранее фундаментальные механизмы, послужить основой в решении проблем регенеративной медицины и улучшить результаты регенерации после травмы плечевого сплетения.

Цель исследования: оценить эффективность интраневральной трансплантации клеток стромально-васкулярной фракции, выделенной из жировой ткани человека, для стимуляции посттравматической регенерации в хирургии плечевого сплетения.

Задачи исследования:

1. Исследовать влияние клеток стромально-васкулярной фракции, выделенной из жировой ткани человека, при интраневральной ксенотрансплантации в область аутонервной вставки седалищного нерва крысы.
2. В экспериментальных условиях провести сравнительную оценку эффективности посттравматической регенерации седалищного нерва крысы в условиях замещения дефекта нерва аутонервной вставкой и интраоперационной ксенотрансплантации клеток стромально-васкулярной фракции, выделенной из жировой ткани человека и интраоперационной инъекции генно-терапевтической плазмиды pBUD-VEGF165-FGF2, коэкспрессирующей гены VEGF и FGF2.
3. Оценить эффективность посттравматического восстановления функции при тракционных повреждениях плечевого сплетения в условиях интраоперационной интраневральной аутооттрансплантации клеток стромально-васкулярной фракции, выделенной из жировой ткани, при невролизе, нейрографии и невротизации.
4. Разработать и апробировать устройство для distraction реконструированных стволов плечевого сплетения при нейрографии в сочетании с

интраоперационной интраневральной аутотрансплантацией клеток стромально-васкулярной фракции, выделенной из жировой ткани. Оценить возможность его применения для посттравматического восстановления двигательной и чувствительной функций верхней конечности в условиях клинической практики.

Научная новизна исследования.

1. Впервые в экспериментальных условиях показан терапевтический эффект ксенотрансплантации клеток СВФ-ЖТ, сравнимый по эффективности с генной терапией плазмидой pBud-VEGF-FGF2, при введении в область аутонервной вставки седалищного нерва крысы. Показано, что клетки СВФ-ЖТ введенные интраневрально в область травмы седалищного нерва крысы поддерживают выживание чувствительных нейронов спинального ганглия L5 и стимулируют регенерацию аксонов.

2. В клинических условиях была проведена интраоперационная аутотрансплантация клеток СВФ-ЖТ для стимуляции регенерации при хирургическом лечении тракционных повреждений плечевого сплетения. Впервые было показано сокращение сроков посттравматического восстановления двигательной и чувствительной функции травмированной конечности пациентов при аутотрансплантации в область травмы плечевого сплетения клеток СВФ-ЖТ при реконструкции повреждений методами невролиза, невротизации и нейрорафии.

3. В ходе работы было разработано устройство, позволяющее осуществлять нейрорафию стволов плечевого сплетения при диастазе, без натяжения с возможностью неинвазивной дистракции нерва в послеоперационном периоде и показано сокращение сроков посттравматического восстановления поврежденных стволов плечевого сплетения в условиях дозированной дистракции. На указанное устройство получен патент РФ на изобретение «Устройство для лечения поврежденных стволов плечевого сплетения» № 2772539 от 23.05.2022.

Практическая значимость диссертационной работы.

1. В работе получены данные, обосновывающие целесообразность поиска новых клеточных типов, предназначенных для трансплантации с целью стимулирования регенерации при повреждениях периферических нервов.

2. Показана эффективность и безопасность применения клеток СВФ-ЖТ при реконструкции тракционных повреждений плечевого сплетения методами невролиза, нейрорафии и невротизации.

3. Проведенное исследование позволяет рассматривать СВФ-ЖТ в качестве стимулятора регенерации при травматических повреждениях плечевого сплетения.

4. Описан метод замещения дефекта нерва с помощью разработанного устройства, позволяющего осуществить нейрорафию при наличии диастаза между концами нерва с последующей дозированной дистракцией нерва.

Методология и методы исследования.

Проведенное диссертационное исследование включало три последовательные и взаимосвязанные части: экспериментальное исследование с использованием лабораторных животных терапевтических свойств аутологичных клеток стромально-васкулярной фракции, выделенной из жировой ткани (СВФ-ЖТ), клиническую апробацию в качестве стимулятора регенерации поврежденных стволов плечевого сплетения клеток СВФ-ЖТ пациентов, а также разработку и клиническую апробацию аппарата для дозированной дистракции стволов плечевого сплетения, реконструированных после травматического повреждения.

Предварительно был проведен анализ научных публикаций по теме исследования. На первом этапе были проанализированы работы, подтверждающие высокий регенераторный потенциал и безопасность СВФ-ЖТ в разных областях регенеративной медицины. Вторым этапом было проведено экспериментальное исследование на седалищном нерве крысы с целью оценки терапевтических свойств ксенотрансплантированных в область аутонервной

вставки СВФ-ЖТ. В ходе этого эксперимента оценивали нейропротекторные свойства клеток в отношении чувствительных нейронов спинального ганглия L5 и стимулирующее влияние на рост аксонов в динамике посттравматического процесса путем оценки изменения максимальной амплитуды М-ответа икроножной мышцы крыс на протяжении 56 дней после аутонервной вставки седалищного нерва протяженностью 5 мм.

С целью всесторонней оценки нейрорегенераторного влияния клеточной терапии полученные результаты сравнивали с результатами посттравматической регенерации седалищного нерва крыс, реконструированных после травмы в тех же условиях, но при стимуляции регенерации с помощью генно-терапевтической плазмиды pBUD-VEGF165-FGF2, независимо экспрессирующей фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) и фактор роста фибробластов 2 (FGF2). Эти факторы роста обладают одновременно ангиогенной и нейротрофической активностью и успешно применяются с целью стимулирования посттравматической нейрорегенерации в клинической практике (Muratori L. et al., 2018, Idrisova K.F. et al., 2022).

В результате проведенного экспериментального исследования были получены обнадеживающие результаты, сопоставимые по эффективности с генной терапией, что послужило основанием для разработки следующего этапа диссертационного исследования, оценивающего влияние СВФ-ЖТ на посттравматическую регенерацию стволов ПС в клинических условиях. Для этого были проанализированы результаты лечения пациентов после закрытых тракционных ППС, реконструированных в отделении Травматологии №2 (микрохирургии) ГАУЗ "РКБ" МЗ РТ в период с 2005 по 2010 годы. Ретроспективно по материалам медицинской документации пациентов с аналогичными травматическими ППС изучили случаи лечения без использования симуляторов регенерации нервной ткани. Всего в группе сравнения было проанализировано 35 случаев традиционного хирургического лечения ППС.

В период с 2013 по 2019 год, в основную группу пациентов было отобрано 32 случая. Этим пациентам были выполнены восстановительные операции на

поврежденных структурах ПС (невролиз, невротизация или нейрорафия) с использованием клеток стромально-васкулярной фракции из жировой ткани пациента. Проспективная часть исследования включала сравнительный анализ исходов лечения пациентов с использованием клеток стромально-васкулярной фракции для стимуляции регенерации ППС с результатами аналогичных ретроспективных групп больных, в которых выполнялись традиционные микрохирургические реконструктивные операции.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Клетки стромально-васкулярной фракции, выделенные из жировой ткани человека и плазида pBud-VEGF-FGF2, введенные в область повреждения седалищного нерва крысы, поддерживают выживание нейронов спинального ганглия L5 и стимулируют рост аксонов.

2. Аутологичные клетки стромально-васкулярной фракции, выделенные из жировой ткани пациента, введенные в область травмы нерва, реконструированного после тракционного повреждения плечевого сплетения, улучшают восстановление двигательной и чувствительной функции поврежденной конечности.

3. Применение разработанного устройства для дистракции стволов плечевого сплетения после нейрорафии в сочетании с интраоперационной интраневральной аутотрансплантацией клеток стромально-васкулярной фракции, выделенной из жировой ткани пациента, позволяет в условиях диастаза до 5 см сократить сроки восстановления утраченных функций.

Степень достоверности результатов исследования.

Выводы и рекомендации, представленные в диссертационной работе, основаны на анализе профильных научных публикаций и результатах собственных экспериментов на животных и сравнительного клинического исследования. Экспериментальная часть диссертационного исследования была реализована с использованием 45 белых лабораторных однополых крыс

стандартизированного веса. На седалищном нерве животных был смоделирован диастаз протяженностью 5 мм, после чего нерв был реконструирован через аутонервную пластику. Животные были разделены на 3 группы по 15 крыс в каждой, что позволило достоверно оценить результаты в исследуемых группах. Животным первых двух групп применяли стимуляторы нейрорегенерации, сопоставимые задачам диссертационной работы.

В клинической части работы были проанализированы функциональные исходы оперативного лечения пациентов с различными техниками оперативного лечения повреждений периферических нервов (невролиз, невротизация и нейрорафия) за разные периоды времени. Пациенты были разделены на две группы, сопоставимые по численности и характеру травмы, но отличавшиеся по применяемой методике лечения. Группа сравнения включала 35 случаев традиционного хирургического лечения ППС. В основную группу исследования вошли 32 случая со стимуляцией посттравматической регенерации поврежденных структур ПС с использованием клеток СВФ-ЖТ пациента на трех операционных моделях: невролиз, невротизация и нейрорафия, использованных по показаниям. Оценку функционального восстановления оценивали в динамике через 6, 12, 18, 24 и 36 месяцев после операции. Полученные количественные данные были подвергнуты адекватной статистической обработке. С учетом вышеизложенного, результаты выполненного диссертационного исследования представляются достоверными, а сделанные выводы – обоснованными.

Апробация и реализация результатов исследования.

По теме диссертационного исследования опубликованы 15 печатных работ, включая 3 статьи в журналах, входящих в перечень рекомендуемых ВАК для публикаций диссертантов, статьи в зарубежных журналах, тезисы в материалах профильных научных конференций, патенты РФ на изобретения «Способ замещения дефекта периферического нерва» №2499565 от 27.11.2013 и «Устройство для лечения поврежденных стволов плечевого сплетения» № 2772539 от 23.05.2022.

Материалы диссертационного исследования доложены на Поволжской с Российским участием мультидисциплинарной научно-практической конференции «Современные методы диагностики и лечения заболеваний и повреждений опорно-двигательного аппарата» (Казань, 2020); Ежегодной научно-практической конференции, посвященной актуальным вопросам травматологии и ортопедии детского возраста «Турнеровские чтения» (СПб, 2020); Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы диагностики и лечения заболеваний и повреждений опорно-двигательного аппарата» (Казань, 2019); VIII национальном конгрессе «Пластическая хирургия, эстетическая медицина и косметология» (М., 2019); IV Всероссийском конгрессе с международным участием «Медицинская помощь при травмах и неотложных состояниях в мирное и военное время. Новое в организации и технологиях» (СПб, 2019); Евразийском ортопедическом форуме (М., 2017); VI Евразийском конгрессе Травматологов-ортопедов (Казань, 2017); VI Всероссийском съезде общества кистевых хирургов, (Нижний Новгород, 2016); IV Национальном конгрессе «Пластическая хирургия, эстетическая медицина и косметология» (М., 2015).

Результаты диссертационного исследования внедрены в практику работы травматологических отделений ГАУЗ РКБ МЗ РТ, ГКБ №7 г. Казани, а также применяются в Казанском ГМУ при обучении ординаторов, аспирантов и травматологов-ортопедов, проходящих усовершенствование по программам дополнительного образования.

Личный вклад автора.

Диссертант самостоятельно провел анализ профильной отечественной и зарубежной научной литературы, изучил и проанализировал истории болезней пациентов ретроспективной части исследования. Лично выполнил экспериментальные исследования на животных и участвовал в работе с клеточными культурами *in vitro*. Он принимал непосредственное участие в лечении профильных пациентов, являясь их лечащим врачом, в частности, проводил хирургические вмешательства у пациентов проспективной части

исследования, провел сбор первичных данных, их статистическую обработку, интерпретацию полученных результатов исследований. Диссертант принимал активное участие в подготовке публикаций и заявок на изобретения по теме диссертации, а также выступал с научными докладами по результатам проведенных исследований. Он также предложил соответствующий алгоритм, сформулировал выводы и практические рекомендации, написал все главы диссертации и автореферат.

Объем и структура диссертации.

Материалы диссертационного исследования представлены на 164 страницах. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы по материалам и методам исследования, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы. Работа содержит 11 таблиц и 30 рисунков. Список литературы включает 177 источников: из них 66 – отечественных и 111 – иностранных авторов.

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ПО ПРОБЛЕМЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО
ЛЕЧЕНИЯ ПОВЕРЖДЕНИЙ ПЛЕЧЕВОГО СПЛЕТЕНИЯ
(ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Причины и механизмы травматического повреждения плечевого сплетения.

Плечевое сплетение сложное анатомическое образование с множеством образующих его структур. Повреждения плечевого сплетения (ППС) являются одним из наиболее серьезных видов травм опорно-двигательного аппарата, так как сопряжены с тяжелыми необратимыми функциональными нарушениями, которые проявляются в снижении чувствительности кожи поврежденной руки вплоть до анестезии, атрофии мышц конечности, формировании контрактур суставов. Все это приводит к снижению или полной утрате работоспособности руки на стороне повреждения (Горшков Р.П. и соавт., 2009). Согласно статистическим данным чаще всего ППС наблюдаются у лиц трудоспособного возраста обоего пола от 16 до 40 лет. В 80-90% случаев данный вид травмы встречается у мужчин в возрасте 18-35 лет (Dubuisson A.S. et al., 2002; Varadaran A. et al., 2021). ППС оказывают отрицательное влияние на функцию верхних конечностей, сопровождаются значительными болями, психосоциальным стрессом и снижением качества жизни пациентов (Bucknor A. et al., 2019).

Плечевые плексопатии могут быть первичными и вторичными, развивающимися вследствие какой-либо патологии (Ильина Е.Н. и соавт., 2004). К первичным плексопатиям ПС относятся ишемические, демиелинизирующие, наследственно-обусловленные, аутоиммунные поражения, невриномы ветвей сплетения. Наиболее распространенная причина ППС у взрослых – это дорожно-транспортные происшествия. Например, травмы, полученные при авариях с участием мотоцикла, составляют до 95% от всех несчастных случаев (Rezende M.R. et al., 2013). Другие травматические причины включают в себя спортивные травмы, резаные раны, огнестрельные ранения, тяжелый рюкзак и

несоответствующее оперативное позиционирование. Наиболее частыми формами травматической плексопатии являются сотрясение, ушиб, сдавление, растяжение, разможнение ствола нерва (аксонотмезис, невропраксия). У 50-60% больных с травматическим ППС имеются сопутствующие поражения прилежащих сосудов, костей, связочного аппарата, внутренних органов. Так в литературе описываются случаи ППС при переломах ключицы (Liu Y. et al., 2014). При этом тяжелыми повреждениями являются ишемические поражения нервных стволов, вследствие ранений сосудов нерва, которые приводят к его выраженному отёку (Ильина Е.Н. и соавт., 2004).

К нетравматическим причинам возникновения ППС относятся опухоли, облучение и врождённые аномалии строения тела (Hye Ran Park et al., 2017). Более редкие причины возникновения вторичных плексопатий являются инфекция и аллергическая реакция (на введение антирабических и других сывороток), сдавление сплетения аневризмой подключичной артерии и т.д. Ятрогенные травмы нервов у взрослых пациентов, по статистическим данным, составляют от 8 до 16% от общего числа травм (Давлятов А.А. и соавт., 2000; Вишневский В.А. et al., 2015; Laumonerie P. et al., 2018). Поражение ПС может быть следствием общих заболеваний: сахарного диабета, гипертонической болезни, инсульта, токсических воздействий. Тяжелые травмы ПС, в виде полного анатомического перерыва и отрыва корешков (невротмезис) встречаются редко (Левин О.С. и соавт., 2013; Черенько Т.М. и соавт., 2014; Халяпин Д.В. и соавт., 2016; Callaghan V.C. et al., 2012).

Из общего числа травм нервных стволов туннельные синдромы встречаются в 41% случаев от общего числа повреждений, открытые травмы составляют 20,5%, закрытые травмы - 38,5% (Ильина Е.Н. и соавт., 2004).

Механизмом повреждения ПС, чаще является чрезмерная тракция нерва, прямой удар или сдавление нервных стволов костными отломками. Выделяют три типа травм ПС, основанных на растяжении:

1. Наклон шеи и опущение плеча (натяжение всех пучков, с преимущественной тракцией верхних пучков нервных волокон).

2. Тракция за верхнюю конечность в положении максимального отведения (наибольшее повреждение нижних пучков нервных волокон).

3. Повреждения ПС, обусловленные вывихом плеча (повреждение вторичных стволов, главным образом заднего).

Примерно 60% травм ПС относятся к травмам с закрытыми тракциями, которые приводят к худшим результатам, чем открытые острые рваные раны. Большинство таких травм поражают надключичное сплетение, и почти половина травм надключичного плечевого сплетения — это повреждения верхнего плечевого сплетения, затрагивающие нервные корешки С5, С6, а иногда и С7, приводящие к отсутствию функции плеча и локтя. Парез плеча встречается более чем в 95% случаев повреждения ПС. Основным функциональным приоритетом в данном случае является восстановление сгибания локтя с последующим отведением плеча (Yang L.J. et al., 2012).

Повреждение ветвей сплетения в отдаленный период может быть связано с вовлечением их в костную мозоль (чаще при переломе ключицы), со сдавлением рубцом или смещенным фрагментом кости. Острая и хроническая компрессия периферического нерва приводит к ишемии аксонов с последующим формированием отёка и вредит аксональному транспорту. Это способствует появлению клинических признаков ухудшения функции нерва (Fang Y. et al., 2010).

1.2. Виды травматических повреждений плечевого сплетения.

Травма является одной из наиболее распространенных причин плечевой плексопатии. Эти травмы обычно возникают в результате несчастного случая на мотоцикле или дорожно-транспортного происшествия с высокой скоростью, падения с существенной высоты или удара. Это может произойти с проникающими травмами и огнестрельными ранениями. Также это может быть результатом ятрогенной травмы.

Повреждения плечевого сплетения могут быть закрытыми и открытыми. При закрытой травме на теле нет раны, но в результате травматического

воздействия нервы могут растянуться (тракционное повреждение) или оторваться от спинного мозга (авульсия), что чаще всего происходит у мотоциклистов. При таких поражениях парализация поврежденной конечности происходит немедленно. При открытых травмах, может быть, повреждение больших кровеносных сосудов и легких, и в этом случае необходимо срочное оперативное вмешательство.

Среди типов повреждения ПС выделяют

1) Отрыв – состояние, при котором нерв оторван от места прикрепления к спинному мозгу. Данная патология является самой бесперспективной для посттравматического восстановления утраченных функций. Об отрыве нижнего плечевого сплетения может свидетельствовать опущение века (синдром Горнера).

2) Разрыв – патологическое состояние, в результате которого нерв разорван, но не в месте прикрепления спинного мозга.

3) Неврома – патологическое состояние, вызывающее формирование рубцовой ткани с разрастанием вокруг места повреждения, оказывающее давление на поврежденный нерв и препятствуя передаче сигналов от нерва к мышцам.

В литературе описано несколько видов (типов) повреждений плечевого сплетения, среди которых представлена модифицированная патологическая классификация повреждения плечевого сплетения и его характеристики методом магнитно-резонансной визуализации (Yang J. et al., 2014).

Было классифицировано на пять типов:

(I) непрерывное повреждение нервного корешка (включая повреждение I-IV степени по Сандерленду);

(II) постганглионарный разрыв спинномозгового нерва с проксимальной культей или без нее;

(III) повреждение преганглионарного корешка (видимое);

(IV) повреждение преганглионарных нервных корешков и постганглионарных спинномозговых нервов;

(V) повреждение преганглионарного корешка (невидимое).

1.3. Современные способы диагностики повреждений и клинические проявления повреждений плечевого сплетения.

По мнению ряда российских и зарубежных авторов, эффективность лечения повреждений периферических нервов напрямую зависит от качества средств диагностики (Айтемиров Ш.М. и соавт., 2015; Chin V. et al., 2018). Обследование пострадавших с травмой ПС начинается с изучения неврологической симптоматики. При этом необходимо определить зону, характер расстройств чувствительности, степень и глубину двигательных, а также трофических нарушений. Клинико-неврологические проявления травматического ППС очень разнообразны. Симптомы ППС зависят от степени, характера, уровня, особенностей анатомо-топографических взаимоотношений их в каждом конкретном случае (Рассел С.М. и соавт., 2009). Для однотипной интерпретации степени и глубины чувствительных и двигательных нарушений может применяться система баллов, усовершенствованная и модифицированная в РНХИ им. А.Л. Поленова (Горшков Р.П. и соавт., 2009).

При сборе анамнеза следует обратить особое внимание на наличие повреждений спинного мозга, подключичных и подмышечных сосудов, травмы груди на стороне ППС. Открытые повреждения или операции в проекции магистральных нервных стволов на уровне плеча или предплечья указывают на возможность двухуровневого поражения (например, остеосинтез диафиза плечевой кости может указывать на возможность повреждения лучевого нерва на уровне перелома).

На отрыв корешков C8 и/или Th при наличии симптома Горнера у пациента указывают жалобы на острую приступообразную жгучую боль в анестезированном участке кисти. Наличие «крыловидной» лопатки — является признаком отрыва корешков C5, C6 и C7.

Путём пальпаторно-визуального определения сокращения отдельной мышцы или натяжения её сухожилия проводятся мануальное тестирование мышц. Так как однонаправленные движения обеспечиваются несколькими мышцами, поэтому определение силы производится по отношению к группе мышц, часто

иннервируемых различными нервами. Оценивание силы проводится по системе M0-M5, где M0 — сокращение мышцы отсутствует, M5 — нормальная сила мышц (Aids et al., 2000).

В мировой литературе выделяют 3 типа ППС:

- 1) преганглионарное повреждение;
- 2) постганглионарное повреждение;
- 3) сочетание 2-х вышеперечисленных (Hye Ran Park et al., 2017).

Российские авторы в зависимости от клинических проявлений выделяют следующие виды ППС - верхний паралич (паралич Дюшена-Эрба); нижний паралич (паралич Дежерин-Клюмпке), а также тотальный паралич. Клинические проявления описанных видов ППС отражены в таблице 1.

На практике, у части больных наблюдается мозаичная картина функциональных нарушений. Это связано с неоднородностью патологических изменений в ПС. В большинстве случаев детализация топического диагноза из-за вариантной анатомии ПС пациентов и часто встречающегося смешанного механизма закрытых повреждений возможна только во время операции. Однако для определения тактики ведения пациента еще на этапе планирования операции нужно иметь представление имеются ли отрывы корешков от спинного мозга и есть ли возможность спонтанной регенерации повреждённых структур (Новиков М.Л. и соавт., 2012).

В целях уточнения уровня, характера и степени травматического ППС и выявления сопутствующих повреждений опорно-двигательного аппарата, применяются инструментальные методы обследования. Например, электронейромиография, обзорная рентгенография, реовазография, миелорадикулография и современные нейровизуализационные методики: компьютерная томография (КТ) и магнитно-резонансная томография (МРТ). Также для диагностики ППС применяется нейрография. Её проводят путём введения неионного водорастворимого контраста под эпиневрив ствола нерва (Горшков Р.П. и соавт., 2009; Hye Ran Park et al., 2017; Rezende M.R. et al., 2013).

Виды повреждений плечевого сплетения и их клинические проявления.

Название	Повреждённые структуры ПНС	Клинические проявления
Паралич Дюшена-Эрба	Верхний ствол ПС или образующие его спинномозговые нервы С5 и С6.	Нарушено отведение и наружная ротация плеча. Сгибание предплечья. Имеется расстройство чувствительности на передненаружной поверхности плеча, предплечья, тыльной и ладонной поверхностям I пальца, лучевого края кисти. При повреждении С5—С7 становится невозможным разогнуть предплечье, кисть и пальцы. Нет чувствительности ладонной и тыльной поверхностей II пальца.
Паралич Дежерин-Клюпке	Повреждение изолированно затрагивает нижний ствол ПС или С8 и Th1 спинномозговые нервы.	Движения в плечевом и локтевом суставах не нарушены, но сложно согнуть кисть и пальцы. Имеются расстройства чувствительности по внутренней поверхности нижней трети плеча, всего предплечья и локтевому краю кисти.
Тотальный паралич	Повреждены все отделы ПС.	Наблюдается отсутствие активных движений во всех суставах верхней конечности. Отмечается полная анестезия конечности.

Применение данного метода связано с тем, что в практике имеют место ситуации, когда во время ревизии повреждённых нервных стволов они оказываются анатомически не прерванными. Это особенно часто встречается у больных с закрытыми повреждениями мягких тканей плечевого пояса (Джумагишиев Д.К. и соавт., 2007).

Одним из наиболее информативных и признанных инструментальных методов обследования является электронейромиография (Barrington M.J. et al., 2014; Caporrino F.A. et al., 2014). Игольчатая и стимуляционная электромиографии позволяют определить характер и степень повреждения аксонов, локализацию повреждения нерва, выраженность реинервации и денервации в мышце. Так же в послеоперационном периоде, с помощью электромиографии осуществляется оценка проведенного лечения (Бехтерев А.В. и соавт., 2017; Mansukhani K.A. et al., 2013).

Согласно ряду авторов, одним из основных методов дооперационной диагностики разрыва корешков ПС должен являться метод шейной миелорадикулографии (Беришвили К.Ш. и соавт., 2009; Muradov M. et al., 2014).

Метод компьютерной томографии (КТ) по мнению многих авторов должен входить в стандарт обследования при травме периферических нервов. Достоверность диагноза при использовании КТ достигает 75% (Берснев В.П. и соавт., 2009). Однако, по сравнению с КТ, магнитно-резонансная томография (МРТ) имеет определённые преимущества. Это неинвазивный метод, который может визуализировать большее количество повреждений. МРТ может предоставить почти полное изображение ПС. Этот метод позволяет выявить посттравматические невромы, а также сопутствующее воспаление и отёк окружающих тканей. МРТ способна точно диагностировать локализацию повреждения периферического нерва: наличие контузий, внутривольных изменений или полного разрыва. Наибольшую ценность проведение данного исследования представляет при травме передних и задних корешков спинного мозга. МРТ позволяет локализовать их по сегментам, выявить частичный и полный отрыв (Унжаков В.В. и соавт., 2008; Sureka J. et al., 2009; Zhang L. et al., 2018). Однако, при использовании этого метода, возможно возникновение артефактов, вызванных движением, таким как, например, глотание, тремор, дыхательные и сердечные движения грудной клетки (Sakellariou V.I. et al., 2014).

Рентгенографическое исследование является дополнением ко всем вышеперечисленным инструментальным методам диагностики ППС.

Рентгенография, сделанная в 3-х проекциях, позволяет уточнить диагноз пострадавшего. Например, наличие переломов, вывихов, лишних ребер, псевдоартроз ключицы и др. (Bhandari P.S. et al., 2012).

Некоторые российские и зарубежные авторы для диагностики ППС рекомендуют использовать ультразвуковое исследование (УЗИ). По их данным УЗИ является эффективным методом в диагностике травматических повреждений периферических нервов конечностей (Салтыкова В.Г. и соавт., 2007). Показано, что использование интраоперационного УЗИ как способа поиска повреждённых периферических нервов является простым в исполнении, позволяет в полном объёме оценить локализацию и характер повреждения, сократив при этом время выполнения оперативного вмешательства и повысив его эффективность (Гайворонский А.И. и соавт., 2015). УЗИ с чувствительностью 91,9% и специфичностью 74,7% позволяет выявить повреждения, при которых всегда показано оперативное лечение или подтвердить анатомическую целостность нервного ствола, при которой повреждение является обратимым, и операция не показана (Журбин Е.А. и соавт., 2018; Chin V. et al., 2018).

Следующий алгоритм проведения диагностики при подозрении на повреждение стволов ПС предлагает Беришвили К.Ш. (2010): во-первых, необходимо тщательное неврологическое обследование. Во-вторых, уточнение степени проводимости по нервным стволам можно провести с помощью нейромиографии и электродиагностики. Затем для уточнения локализации ППС, повреждений костей и магистральных сосудов рекомендуется применение нейровизуализационных методов: КТ, МРТ, миелография (Беришвили К.Ш. и соавт., 2010).

Таким образом, диагностика травм ПС и периферических нервов предполагает использование комплексного подхода, совмещающего клиническую диагностику и все доступные инструментальные методы исследования.

1.4. Методы хирургического лечения посттравматических поражений плечевого сплетения.

В российской и зарубежной литературе хорошо прослеживается сложность и разноречивость решения вопроса о лечебной тактике при ведении больных с ППС. Особенно отчётливо выражена противоречивость ведения при закрытых повреждениях, которые преобладают в структуре такого рода травм. Это связано с тем, что, несмотря на большое количество методов обследования данных больных, достоверно судить о степени и глубине повреждения ПС чрезвычайно сложно (Горшков Р.П. и соавт., 2009).

Вопрос тактики ведения пациентов с ППС требует учёта многих факторов и вызывает определённые дискуссии в среде специалистов, занимающихся данной патологией. Согласно литературным данным, самостоятельное восстановление функций верхних конечностей при закрытых повреждениях ПС составляет 40-43% случаев и наблюдается в течение трёх месяцев после получения травмы (Сидорович Р.Р. и соавт., 2012). Когда нет признаков отрыва корешков C5-Th1 от спинного мозга или нейропраксии, или отсутствуют повреждения, требующие неотложных оперативных вмешательств целесообразно применять консервативное лечение. Как правило, в этом случае рекомендуется устранение боли и начало реабилитации. При этом медикаментозное лечение, носящее преимущественно патогенетический и симптоматический характер, направлено на улучшение процессов метаболизма, уменьшение ишемических и воспалительных явлений, болевого синдрома.

Динамическое врачебное наблюдение включает в себя проведение диагностических процедур, например, электромиография может проводиться через 3 или 4 недели после получения травмы, а КТ / миелография или МРТ - через 6–8 недель, если денервация сохраняется (Sakellariou V.I. et al., 2014). Применение физиотерапии, кинезиотерапии, а также лечебной физкультуры в данный период имеет большое значение (Новиков М.Л. и соавт., 2012, часть 2). При отсутствии функционального восстановления или потери неврологического восстановления хирургическое лечение может быть проведено через 3–6 месяцев

(Богов А.А. (ст) и соавт., 2008; Feinberg J.H. et al., 2008; Sakellariou V.I. et al., 2014). Если клинический осмотр предполагает наличие предганглионарных поражений, подтверждённых результатами визуализации, стратегия лечения, вероятно, потребует переноса нерва (Sakellariou V.I. et al., 2014).

Характер проведения хирургического лечения при ППС зависит от показаний, локализации и тяжести поражения. При положительной динамике заболевания, например, в виде продвижения знака Тинеля в дистальном направлении, восстановления функции проксимально расположенных мышц от операции следует воздержаться. В этом случае рекомендуется продолжать динамическое наблюдение с детальным клиническим обследованием и проведением электромиографии (Новиков М.Л. и соавт., 2012, часть 2). В то же время, согласно литературным данным, реконструкция повреждённых нервов должна быть выполнена как можно раньше (Богов А.А. ст. и соавт., 2008; Feinberg J.H. et al., 2008).

Хирургические вмешательства при лечении больных с ППС прошли путь от ампутации пострадавшей конечности до современных сложных микрохирургических реконструктивных вмешательств. При принятии решения о хирургическом лечении открытых ППС должен соблюдаться дифференцированный подход к выбору метода хирургического вмешательства с учетом характера и времени, прошедшего после травмы, данных предоперационных клинических осмотров и интраоперационной ревизии структуры ПС (Muradov M. et al., 2014).

Все операции, выполняемые при ППС, можно разделить на 2 группы. Первичные реконструкции – восстановление повреждённых структур ПС. Вторичные реконструкции на верхней конечности – операции на сухожильно-мышечном аппарате, костях и суставах, выполняемые в поздние сроки при последствиях повреждения плечевого сплетения.

Методы восстановления протяженных дефектов периферических нервов, можно разделить на три большие группы, которые дифференцированы по виду и особенностям технологии хирургического вмешательства:

1. Аутотрансплантация нерва;
2. Аутотрансплантация тканей для создания направления регенерации нерва;
3. Создание искусственных проводников и (или) ксенотрансплантатов для создания направления регенерации нерва.

К основным хирургическим процедурам, используемым при операциях, на ПС относятся (Новиков М.Л. и соавт., 2012, часть 2):

1. Невролиз – освобождение нервных структур от рубцов;
2. Нейрорафия – шов элементов плечевого сплетения «конец-в-конец»;
3. Невротизация – перемещение нервов.

1.4.1. Невролиз стволов плечевого сплетения.

Эффективным способом хирургического лечения травматического ППС является метод наружного и внутреннего невролиза. Невролиз проводится при выявлении патологического процесса, вызывающего компрессию нервных структур ПС, которые сохранили свою анатомическую целостность (Сидорович Р.Р. и соавт., 2005). При проведении наружного невролиза рубцовая ткань иссекается как внутри элементов ПС, так и снаружи повреждённых нервов. Внутренний невролиз включает в себя: продольную эпиневриотомию, эпиневриэктомию и освобождение пучков от сдавливающих рубцов (Terzis J.K. et al., 2000).

Выбор объема и вида невролиза определяется опытом хирурга. Внутренний невролиз является сложной процедурой. Такие операции выполняют только с применением микрохирургической техники. Особое внимание обращают на то, что распространенный внутренний невролиз приводит к нарушению кровоснабжения нервного ствола и повреждению функционирующих проводников, переходящих от пучка к пучку, количество и состав которых на протяжении ПС существенно меняется. Как самостоятельная процедура невролиз проводится крайне редко, так как наличие показаний к операции уже говорит о

тяжести повреждения, требующего радикальных техник. Невролиз может являться компонентом более серьезной реконструкции ПС (Новиков М.Л. и соавт., 2012, часть 2).

Необходимо отметить, что внутренний невролиз может вызывать дополнительное травмирование сосудов эпи-, пери-, эндоневрия и фасцикул, анастомозирующих нервных волокон, следствием чего может быть полное нарушение их проводимости. Наиболее эффективным является невролиз проксимальных отделов длинных нервов и дистальных отделов вторичных стволов по сравнению с невролизом первичных стволов и проксимальных отделов вторичных стволов ПС (Сидорович Р.Р. и соавт., 2005).

1.4.2. Нейрорафия поврежденных стволов плечевого сплетения.

Достичь наилучшего результата при травматическом повреждении ПС удается при помощи шва «конец в конец». Это возможно в случае наличия «свежих» открытых повреждений с ровным пересечением нервов и хорошей перспективой гладкого заживления раны. Шов выполняется при первичной хирургической обработке раны или в отсроченном порядке (Новиков М.Л. и соавт., 2012, часть 2; Liao W. et al., 2009; Yu Q. et al., 2017). К сожалению, по данным ряда авторов, при травмах периферических нервов выполнить прямой шов удается менее чем в 50 % случаев (Geldmacher J. et al., 1982). Но, несмотря на это в настоящее время шов нерва «конец в конец» остается основным оперативным приемом при травмах периферических нервов конечностей, а восполнение дефекта нерва аутооттрансплантатом является «золотым стандартом» реконструктивной хирургии периферических нервов (Байтингер В.Ф. и соавт., 2013, часть 2). Долгое время эпиневральный шов нервов по типу «конец в конец» в клинической практике был единственным способом реконструкции при полном перерыве нервных стволов. Развитие микрохирургии привело к усовершенствованию техники эпи/периневрального шва нервов и внедрению методики аутонервной пластики, которая коренным образом не только изменила

хирургическую тактику, но и стала ведущим способом восстановления повреждённых нервных стволов (Ходжамурадов Г.М. и соавт., 2011).

1.4.3. Невротизация поврежденных стволов плечевого сплетения.

Основоположником аутонервной пластики является Н. Millesi (Millesi H. et al., 1969). Данные виды реконструктивных операция проводят с целью сопоставления концов нерва через вставку, в случае их разрыва и при невозможности сопоставить концы без натяжения. На практике травматическое повреждение нерва часто сопровождается появлением диастаза. Согласно литературным данным, диастаз между отрезками повреждённого нервного ствола может сформироваться через 2 недели после его ровного пересечения острым предметом (Yu Q. et al., 2017). Диастаз — это расстояние между проксимальным и дистальным концами нерва. Он появляется в результате полного анатомического разрыва нерва и является закономерным итогом эластического сокращения его концов. Диастаз между концами при утрате вещества нерва может увеличиваться. Это принято называть дефектом нерва. Уменьшить диастаз можно путём пересечения связей, соединяющих нерв с окружающими тканями. При этом его концы существенно смещаются навстречу друг другу. Данные манипуляции сопровождаются снижением уровня внутривольного кровообращения в нерве. Что, в свою очередь, может ухудшить условия регенерации аксонов. Поэтому в каждом отдельном случае следует учитывать тип кровоснабжения нерва, а также конкретные особенности техники операции. В ряде работ была показана важность минимального натяжения нерва при наложении шва (Борода Ю.И. и соавт., 2000).

В российской и зарубежной литературе нами найдено достаточное количество научно-исследовательских работ показывающих, что количество пролиферирующей соединительной ткани между концами нерва прямо пропорционально степени натяжения. Замечено, что из-за сдавления рубцовой тканью регенерация аксонов может нарушаться. Сгибание конечности и мобилизация нерва смогут способствовать сопоставлению концов нерва. Однако, когда конечность начнет двигаться, регенерирующие аксоны могут повреждаться

из-за гипертрофии и растяжения рубцовых тканей. Исследователи утверждают, что растяжение нерва на 15% приводит к прекращению кровообращения на всем его протяжении. Этот отрицательный эффект начинает проявляться, когда увеличение натяжения нерва достигает 8%. При этом неблагоприятного воздействия на регенерацию нерва не отмечалось в тех случаях, когда нервные пучки сшивали с нормальным натяжением (О'Брайен Б. и соавт., 1981).

Как правило, среди травм ПС преобладают травмы с обширным многоуровневым повреждением структур. При таком характере повреждений структур ПС невротизация является основным методом хирургического лечения. Она заключается в имплантации отдельных ветвей нерва (сохранного анатомически и функционально) в структуру повреждённого ПС (Меркулов М.В. и соавт., 2014). Для восстановления функции дистальных отделов при частичных повреждениях ПС перемещение нервов представляется перспективным направлением. Однако при тотальных параличах верхних конечностей данные об эффективности применения данной методики носят противоречивый характер (Меркулов М.В. и соавт., 2014; Gao Y. et al., 2013). Как правило, этот тип операций проводят при преганглионарном, обширном и многоуровневом повреждении элементов ПС. Выделяют интра- и экстраплексальный методы невротизации. Показанием для проведения интраплексальной невротизации является повреждение структур ПС на преганглионарном уровне или большом протяжении и проводится при наличии неповреждённых коротких ветвей ПС. В качестве нервов-невротизаторов используются передние грудные нервы, длинный грудной нерв, подлопаточный нерв и другие. Интраплексальную невротизацию рекомендуется выполнять на уровне проксимальных отделов длинных нервов ПС. Невротизацию стволов ПС дистальнее повреждения осуществляют только при их полном анатомическом разрыве (Сидорович Р.Р. и соавт., 2012).

Согласно данным, полученным Сидорович Р.Р. (2005) при проведении данной операции наиболее эффективным было восстановление силы в мышцах проксимальных отделов верхней конечности. При этом эффективность восстановления функции кисти не превышала удовлетворительного и

функционально значимого результата (МЗ). Автор также не выявил значительной зависимости результатов оперативного вмешательства от уровня повреждения ПС, невротизируемых нервов и использовавшихся нервов-невротизаторов. При этом он отмечает, что необходимость невротизации нескольких нервов приводит к использованию большего количества нервов-невротизаторов и проведение операций на ПС методом интраплексальной невротизации эффективно в сроки до 1 года после получения травмы (Сидорович Р.Р. и соавт., 2005).

Повреждение структур ПС на пре- и постганглионарном уровне, протяженностью более 7 см или сочетание повреждений на пре- и постганглионарном уровнях является показанием для экстраплексальной невротизации, которую выполняют при сохранности функции только одного грудно-спинного или передних грудных нервов. При этом в качестве невротизаторов повреждённых коротких ветвей ПС используют нервы, не относящиеся к данному ПС. Диафрагмальными, двигательными нервами из шейного сплетения целесообразно проводить невротизацию первичных стволов. Межреберные нервы используют для невротизации проксимальных отделов длинных нервов ПС (Сидорович Р.Р. и соавт., 2012).

Важным условием для выполнения экстраплексальной невротизации является сохранность анатомически близкорасположенных нервов-невротизаторов, не относящихся к структурам ПС, если невозможно использование в качестве невротизаторов коротких ветвей ПС вследствие их повреждения. При восстановлении повреждённых структур ПС с помощью экстраплексальной невротизации используются следующие дифференцированные принципы:

1) при субтотальном параличе руки операция невротизации проводится на том нерве, чья функция полностью нарушена;

2) очередность восстановления нервов ПС при полном нарушении их функции, в первую очередь, определяется их функциональной значимостью;

3) при проведении операции по методу невротизации на стволах ПС отдельными двигательными ветвями шейного сплетения реиннервируются фасцикулярные группы, представляющие разные нервы верхней конечности;

4) межреберные нервы имплантируются согласно очередности: сначала нервы, иннервирующие мышцы-синергисты, потом – антагонисты.

При этом отмечается, что наиболее эффективно идет восстановление силы в мышцах проксимальных отделов верхней конечности, в то время как восстановление функции кисти не превышало удовлетворительного функционально значимого результата (МЗ) (Сидорович Р.Р. и соавт., 2006).

При выборе оптимального вида реконструктивного хирургического вмешательства по восстановлению нервного ствола хирург должен принять во внимание не только величину дефекта нерва, а также учитывать совокупность ряда факторов, таких как локализация повреждения, способ сближения его концов и объективная оценка степени натяжения в зоне шва (Тутуров А.О. и соавт., 2017).

В настоящий период стандартом лечения повреждения нерва при наличии диастаза между концами более 4 см является аутонервная пластика (Говенько Ф.С. и соавт., 1988). Аутонервные трансплантаты могут быть не кровоснабжаемыми и кровоснабжаемыми. Основным методом реконструкции нервов в настоящее время является пластика нервов с использованием не кровоснабжаемых невральных трансплантатов (Ельшина М.И. и соавт., 2017). Для замещения дефектов нервов используют исключительно кожные нервы, так как потеря чувствительности в функционально малозначимой зоне переносится больным значительно легче, чем дефицит моторной функции (Черных А.В. и соавт., 2014).

Не кровоснабжаемые трансплантаты формируются из икроножного и скрытого нерва бедра, медиальных кожных нервов плеча и предплечья, латерального кожного нерва предплечья, поверхностного лучевого нерва (Новиков М.Л. и соавт., 2012, часть 2; Черных А.В. и соавт., 2016; Colbert S.H. et

al., 2008). Также для трансплантации используют межреберный или диафрагмальные нервы (Liu Y. et. al., 2015).

Согласно данным некоторых авторов, одним из лучших донорских трансплантатов является икроножный нерв. Он позволяет достичь максимальной длины при минимальном ущербе для донорского места (Rezende M.R. et. al., 2012). Но у пациентов с протяжёнными сочетанными дефектами травматического ППС (электротравме, огнестрельных ранениях, переломах костей, контрактуре Фолькмана) когда исчерпываются ресурсы икроножного нерва, остаются спорным вопрос о подборе оптимального донорского трансплантата (Ходжамурадов Г.М. и соавт., 2011). Согласно ряду зарубежных авторов, стратегия реконструкции при ППС должна опираться на приоритеты с точки зрения функциональных целей, поскольку хирург должен учитывать ограниченную доступность донорских нервов. У пациентов с верхним или полным параличом ПС стабилизация плеча, динамическая функция (отведение плечевой кости и внешнее вращение) и сгибание локтя должны иметь наивысший приоритет, после чего следует восстановление функций запястья и пальцев (Addas V.M. et. al., 2009).

Длина тонкого не кровоснабжаемого трансплантата не влияет на его реваскуляризацию. Это связано с тем, что соотношение объема пересаженных нервов и площади их поверхности остается прежним. Хорошее кровоснабжение окружающих тканей в месте пересадки и тщательное удаление параневральных тканей самих трансплантатов является основным условием приживаемости. Если в области пластики нерва имеется выраженный рубцовый процесс, может наступить некроз центральной части трансплантата. В этой ситуации предпочтение следует отдавать кровоснабжаемым ауотрансплантатам (Черных А.В. и соавт., 2014).

Основной принцип пересадки кровоснабжаемого неврального трансплантата является создание для него полноценного и хорошо кровоснабжаемого ложа. Нужно принимать во внимание, что возможности любого донорского сосудисто-нервного пучка имеют ограничения, зависящие от длины нерва и особенностей взаимоотношения нерва с питающими

кровеносными сосудами (Черных А.В. и соавт., 2014). При формировании кровоснабжаемого неврального трансплантата донорский нерв забирают комплексно с другими элементами сосудисто-нервного пучка (артерией, веной), затем эти элементы соединяют с соответствующими элементами реципиентного участка. Этот метод, при соответствующих показаниях, с точки зрения быстрого восстановления кровоснабжения трансплантата, является наиболее перспективным. Так как отмечается увеличение количества нервных волокон в 2-4 раза и их более ориентированный рост, по сравнению с не кровоснабжаемым невральным трансплантатом. С первых же часов после операции налаживается кровоснабжение васкуляризированного трансплантата. В не кровоснабжаемом невральном трансплантате кровоток начинает восстанавливаться, начиная с 5 суток и заканчивая 10 сутками после операции. Кровоснабжение появляется в основном за счет анастомозов его сосудов с сосудами обоих отрезков нерва (Попович М.И. и соавт., 2013).

При проведении реконструктивных операций на ППС Новиков и др. (2012) рекомендуют применять только один вид кровоснабжаемого трансплантата – локтевой нерв со стороны повреждения. Данный нерв при тотальных повреждениях ПС с отрывом корешков C8 и Th1 становится свободным пластическим материалом из-за бесперспективности восстановления функции иннервируемых им мышц кисти. Локтевой нерв может быть взят как островковый или как свободный лоскут на одной из возможных сосудистых ножек, образованных ветвями плечевых сосудов, отходящими в средней или верхней трети плеча. Пластика нервов выполняется только с использованием микрохирургической техники. Во время межпучковой пластики крупных нервов множественными ауто трансплантатами для повышения точности сопоставления пучков и увеличения скорости операции Новиков и др. (2012) рекомендуют использовать биологический клей (Новиков М.Л. и соавт., 2012, часть 2).

Методика восстановления целостности поврежденного нерва с помощью аутоневральных трансплантатов подвержена критике с точки зрения отдаленных результатов. К осложнениям после проведения такого рода операций относят

повреждённого нерва (Пятин В.Ф. и соавт., 2019; Николаев С.И. и соавт., 2014; Schlosshauer B. et. al., 2006).

В экспериментальных исследованиях показан ряд преимуществ применения трубок-проводников для замещения дефекта нерва перед аутонервной вставкой (Bushnell B.D. et. al., 2008; Wangensteen K.J. et. al., 2010). Исследователями показано, что использование трубки снижает вероятность формирования рубца в повреждённом нерве, т.к. ограничивается врастание соединительной ткани в область шва. Вместе с этим конduit предотвращает отклонение роста аксонов от нужного направления в регенерирующих нервных волокнах (Schlosshauer B. et. al., 2006). Данные тканеинженерные конструкции находятся сейчас на этапе внедрения в клиническую практику. Так, например, тубулированная тканеинженерная конструкция - конduit из очищенного коллагена известна под торговой маркой «NeuraGen» Integra активно и успешно применяется для лечения повреждений периферических нервов в клинике. Согласно литературным данным при применении этого коллагенового проводника существенно сократилось операционное время по сравнению с проведением аутонервной пластики или стандартной нейрорафии с получением лучших результатов (Ханнанова И.Г. и соавт., 2017).

В 2013 г была опубликована статья о клиническом испытании кондуита для восстановления целостности периферических нервов на основе биodeградируемого материала деацетилхитина. Исследование было проведено в травматологических центрах Китая при участии 50 пациентов. Результаты, опубликованные в прессе, говорят об отличной биосовместимости кондуита с тканями человека и лучшей регенерации повреждённого участка нерва по сравнению с классическим оперативным вмешательством. При этом время, операции, было сокращается на 20% (Zhang P. et. al., 2013).

В настоящее время материалы для кондуитов, которые используются в зарубежных клиниках, одобрены Food and Drug Administration and European Union. Они включают в себя изделия из коллагеновых волокон I типа (NeuraGen,

Neuro-flex, NeuroMatrix, NeuraWrap, NeuroMend), полигликолевой кислоты (Neurotube) и кондуит из поли-DL-лактид-ε-капролактона (Neurolac) (Zhang P. et. al., 2019).

Развитие технологий производства кондуитов ведет к улучшению терапевтического эффекта с увеличением выбора материала проводников, разработкой новых конструкций и/или включением в полость проводников нейротрофических факторов, шванновских или стволовых клеток (Muheremu A. et. al., 2015; Zhang P. et. al., 2019).

1.5. Методы стимуляции регенерации при травматических повреждениях плечевого сплетения.

Неудовлетворенность хирургов результатами оперативных вмешательств на стволах ПС побуждает к поиску новых средств и методик для реабилитации больных этой категории. С этой целью в клиническую практику, например, с тем или иным успехом внедряются методы эндогенной стимуляции (Меньшикова И.А. и соавт., 2009), применяются методы лечебной электростимуляции и воздействие лазерного излучения (Нинель В.Г. и соавт., 2002). Некоторые инновационные методы лечения травматически поврежденных периферических нервов шире применяются в клинической практике, в то время как другие требуют дальнейшего изучения и клинической апробации. На сегодняшний день с целью сохранения жизнеспособности чувствительных нейронов применяют гормональную терапию, а также методы генной и клеточной терапии с целью доставки к области травмы нейротрофических факторов. С целью стимуляции посттравматической регенерации аксонов чувствительных и двигательных нейронов применяют хирургические методы, кондуиты из натуральных и синтетических материалов, методы бесшовного соединения отрезков нерва с целью создания благоприятных условий на направленного роста нервных волокон. С целью усиления аксонального спраутинга применяют методы прямой электростимуляции, электромагнитной стимуляции, ударно-волновой терапии, лазерной фототерапии (Щаницын И.Н. и соавт., 2017). Помимо этого,

совершенствуются методы традиционного шва нитью при нейрорафии и нейропластике, а также применяют меры для снижения воспалительного процесса в области травмы периферического нерва нервного ствола что в какой-то степени позволяет избежать рубцового перерождения аксонов в области шва (Лалаян Т.В. и соавт., 2000; Щудло Н.А. и соавт., 2006).

Знание анатомии структур ПС, а также механизмов его регенерации позволит улучшить диагностику повреждений, поможет выбрать адекватную тактику лечения и постоперационного ведения (Говенько Ф.С. и соавт., 2010; 2012; Кобер К.В. и соавт., 2021).

1.5.1. Механизмы регенерации нервных волокон.

Периферические нервы человека являются продолжением спинномозговых корешков и состоят из аксонов - длинных отростков нервных клеток, миелинизирующих шванновских клеток и концевой терминали аксона. Общеизвестно, что тела нервных клеток не способны к регенерации. Однако они могут восстанавливать свои периферические окончания или утраченные отростки, при условии, что их тело жизнеспособно и на пути прорастания повреждённого нерва не имеется препятствий для роста регенерирующего аксона.

Известно, что частичное повреждение нерва на любом уровне вызывает восстановление исходного паттерна иннервации путём сохранившихся и активно разрастающихся и ветвящихся аксонов. Причем последние начинают давать многочисленные волокна, направляющиеся к денервированным участкам тела. Таким образом, при наличии благоприятных условий происходит восстановление «собственной или первичной» иннервации (Heine W. et. al., 2004; Knight M. et. al., 2004).

После травматического повреждения нерва, в результате пережатия или перерезки, в его дистальном отделе начинаются деструктивные процессы: разрушение миелиновых оболочек, дегенерация осевых цилиндров нервных волокон, распад миелина, активация макрофагов. Процессы, происходящие в повреждённом нерве, носят название «валлеровская дегенерация». Параллельно в

повреждённом нерве начинаются репаративные процессы, такие как рост нервных волокон из проксимального отдела в периферические отделы нервного ствола. При этом в проксимальной культе формируются аксональные выросты, так называемые наплывы аксоплазмы или «колбы роста». Они начинают продвигаться дистально и вращать в эндоневральные трубки в тех случаях, когда трубки сохранили свою целостность. Миелиновая оболочка нового нервного волокна формируется из тяжёлых шванновских клеток. Скорость регенерации аксонов составляет приблизительно 1.5–2 мм в день. Для достижения хорошего восстановления повреждённого нерва растущие аксоны должны присоединиться к дистальной культе до того, как в ней наступят выраженные пери- и эндоневральные рубцовые сращения. Ведь одновременно в месте повреждения нерва происходит образование соединительно-тканного рубца, который впоследствии препятствует направленному росту регенерирующих аксонов и приводит к формированию невромы (Халяпин Д.В. и соавт., 2016; Петрова Е.С. и соавт., 2015).

Несмотря на способность периферической нервной системы к регенерации, обширные травмы периферических нервов, могут привести к параличам дистальных отделов конечностей или всей конечности. Прогнозировать успешное восстановления функций конечности при травмах периферических нервов можно лишь в случае минимального повреждения (Масгутов Р.Ф. и соавт., 2013). Следует отметить, что шванновские клетки являются особенно чувствительными к ишемии (Fang Y. et. al., 2010) и начинают играть основную роль в процессах регенерации сразу же после повреждения нерва. Они стимулируют рекрутирование макрофагов и инициируют процесс фагоцитоза. Предполагается, что выведение клеточных остатков повреждённой ткани является важным шагом для облегчения последующей регенерации аксонов (Khuong H. и соавт., 2013). Шванновские клетки не пролиферируют в неактивном состоянии. При повреждении нейронов они приобретают некоторые свойства малодифференцированных клеток и формируют своеобразный «мост» между

поврежденными частями нерва и участвуют в процессе миелинизации (Parrinello S. et. al., 2010).

В основе навигации роста аксонов лежит процесс узнавания, который обеспечивают молекулы адгезии, встроенные в плазмолемму ламеллоподий и филоподий и взаимодействующие с комплементарными молекулами (ламинин, коллаген, фибронектин, тенасцин и др.) во внеклеточном матриксе (Vampton E.T. et. al., 2005). Общеизвестной является концепция «меченых путей», которые образованы молекулярными метками (знаки навигации), закономерно распределёнными в потенциальном пространстве роста аксонов. По мере роста регенерирующий аксон последовательно считывает одну за другой метки, расположенные в межклеточном пространстве или на поверхности клеток и растёт в определенном направлении. Следующие за ним отростки других аксонов, в совокупности формируют нервные пучки (Живолупов С.А. и соавт., 2013). Таким образом, важную роль в регенерации периферических нервов играют гуморальные факторы, которые участвуют в создании микроокружения, необходимого для роста аксонов. К ним относятся нейротрофические и ростовые факторы, белки внеклеточного матрикса и цитокины (Петрова Е.С. и соавт., 2015).

Исходя из всего вышеизложенного, трансплантация шванновских клеток при повреждениях периферических нервов и спинного мозга является очевидной и биологически эффективной стратегией, но она практически не применима в клинике из-за дефицита трансплантационного материала (Walsh S. et. al., 2012) и как показал в своих исследованиях S. Parrinello с соавт. (2010) шванновских клеток недостаточно для полноценной регенерации повреждённых нервов. Ключевой механизм восстановления периферических нервов – это запуск совокупности процессов, приводящих к экспрессии различных факторов роста, таких как фактор роста нервов (nerve growth factor, NGF), сосудистый эндотелиальный фактор роста (vascular endothelial growth factor, VEGF), основной фактор роста фибробластов (fibroblast growth factor b, bFGF) и др. Все эти биологически активные вещества экспрессируются шванновскими клетками и микроокружением. Фибробласты посылают специализированный сигнал (ephrin-B

signal) к шванновским клеткам, те, в свою очередь, реагируя на него, образуют бунгеровские ленты, которые служат основанием для роста аксона в повреждённых участках периферического нерва из центральной части к периферической. Шванновские клетки не могут организованно мигрировать без этого сигнала, и как вследствие, регенерация аксонов оказывается неполноценной. Ответ на полученный сигнал находится в зависимости от активности фактора транскрипции Sox2. Этот фактор известен способностью репрограммировать взрослые клетки обратно в состояние стволовых (Parrinello S. et. al., 2010).

Известно, что уровень экспрессии белков семейства FGF увеличивается после травмы или ишемии центральной нервной системы. По отношению к зрелым чувствительным и моторным нейронам белок FGF2 обладает нейропротективным эффектом. Белки FGF, посредством запуска каскада реакций, начинающихся со связывания этого протеина с тирозинкиназными рецепторами FGFR1-3, оказывают протективное действие на нейроны, стимулируя рост их аксонов и адгезию к матриксу. Представители семейства VEGF стимулируют регенерацию нерва как непосредственно (нейротрофическая активность), так и опосредованно (через стимуляцию ангиогенеза). Эффект связывания протеина VEGF с рецепторами Flk-1 и NP1 проявляется в увеличении выживаемости моторных и чувствительных нейронов, а также нейронов симпатического отдела нервной системы и шванновских клеток, а также в стимуляции миграции и пролиферации последних (Zachary I. et. al., 2005).

Известно, что после травмы без внешней стимуляции усиление продукции нейротрофических факторов носит непродолжительный характер. И, как правило, через месяц процесс регенерации повреждённого нерва прекращается (Goldberg J.L. et. al., 2003). Даже в самых благоприятных условиях за это время аксоны успевают вырасти на несколько сантиметров. Таким образом, если к этому времени нервные волокна не успевают сформировать контакты с их мишенями или имеется повреждение нерва на высоком уровне, то аксоны останавливаются

свой рост, при этом происходит гибель или атрофия нейронов из-за недостатка трофики (Карагяур М.Н. и соавт., 2017).

Однако, основываясь на современных разработках в области биомедицины, этот недостаток биологически активных веществ может быть компенсирован разработкой и применением геннотерапевтических и клеточных препаратов из стволовых клеток (СК). Данные препараты могут обеспечить повышение уровня белков внеклеточного матрикса и ключевых регуляторов роста нервов - нейротрофических факторов локально, в области повреждения. Это подтверждается литературными данными, которые говорят, о том, что секретом стволовых и прогениторных клеток содержит разнообразный набор биологически активных молекул. Так в состав секрета входят нейротрофические и ангиогенные факторы роста, такие как NGF, глиальный нейротрофический фактор (glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF), VEGF, bFGF, матриксные белки и протеазы, стимулирующие регенеративные процессы в повреждённом нерве (Kalinina N. et. al., 2015; Makridakis M. et. al., 2013).

1.5.2. Регенераторный потенциал клеток стромальной васкулярной фракции.

Клетки СВФ-ЖТ получают в результате ферментативного расщепления липоаспирата и данная фракция клеток является шагом в протоколе для культивирования МСК-ЖТ. СВФ-ЖТ представляют собой гетерогенную смесь клеток, которая содержит мультипотентные стволовые клетки, эндотелиальные клетки, гладкомышечные клетки, тучные клетки, перициты и несколько типов лейкоцитов (Bowles A.C. et. al., 2017, El-Habta R. et. al., 2018). Клетки СВФ-ЖТ за последнее десятилетие приобрели широкое применение и продемонстрировали многообещающие результаты в регенеративной и реконструктивной медицине (Casteilla L. et. al., 2011, Suzuki E. et. al., 2015). При этом, недавние достижения в области регенерации тканей поставили клетки СВФ-ЖТ по эффективности на один уровень с МСК-ЖТ, а в ряде исследований даже выше (Charles-de-Sá L. et. al., 2015, Mohammadi R. et. al., 2015). В отличие от МСК-ЖТ, клетки СВФ гораздо

легче получить, без необходимости дополнительной подготовки клеток или условий культивирования. Таким образом, терапевтический клеточный продукт получается мгновенно и имеет минимальный контакт с реагентами, что делает его сравнительно более безопасным и легкодоступным.

В недавнем исследовании было показано, что инъекции СВФ-ЖТ сохраняют целостность мышечных волокон в период регенерации нервов, на основании чего было высказано предположение, что клетки СВФ-ЖТ обладают антиапоптотическими свойствами (El-Habta R. et. al., 2018).

Преимущества использования СВФ в регенеративной медицине первоначально объяснялись способностью мезенхимальных стволовых клеток жирового происхождения дифференцироваться в клетки поврежденных тканей. Однако другие типы клеток, которые можно обнаружить в фракции СВФ, такие как эндотелиальные клетки (и их предшественники) и перициты, являются важными модуляторами регенерации тканей (El-Habta, R. et. al., 2021). Терапевтические функции СВФ описаны во многих исследованиях. Например, в одном исследовании внутрисухожильные инъекции СВФ у пациентов с тендинопатией ахиллова сухожилия показали значительное клиническое улучшение с точки зрения снижения посттравматической болевой чувствительности и восстановления утраченных функций (Usuelli F.G. et. al., 2018), а в другом исследовании внутрисуставные инъекции в колено у пациентов с остеоартритом также уменьшали боль и способствовали восстановлению хрящевой ткани (Bansal H. et. al., 2017). Однако, в данных исследованиях остался открытым вопрос механизма их терапевтического действия, а именно, дифференцировались ли трансплантированные клетки в новую ткань или стимулировали заживление за счет паракринного эффекта, который мог достигаться подавлением посттравматической воспалительной реакции. За последние два десятилетия объем литературы, поддерживающей терапию на основе клеточного секрета, вырос в геометрической прогрессии (El-Habta, R. et. al., 2021). Эта гипотеза постулирует, что сами вводимые клетки через собственный секрет выполняют трофические функции, важные для

ремоделирования внеклеточного матрикса и регенерации тканей (Kingham P.J., 2014). Известно, что клетки СВФ-ЖТ экспрессируют множество факторов роста, которые могут оказывать терапевтический эффект в условиях воспаления и мышечной атрофии (El-Habta R. et. al., 2018). Данные эффекты, могут в разы превосходить эффективность культивированных клеток. Например, к таким факторам относится фактор роста гепатоцитов – белковая молекула, необходимая для самовосстановления поврежденных мышечных волокон (Xiao G.H. et. al., 2001). При этом, антиапоптотические свойства СВФ не так широко, как способность дифференцироваться в другие типы клеток. Можно выделить исследования описывающие как инъекции SVF значительно снижали апоптоз клеток почек крыс (Lee C., 2017) и снижали объем некротизированных тканей после их реконструкции (Tenenhaus M. et. al., 2018). Понимание молекулярных механизмов, лежащих в основе терапевтического действия СВФ-ЖТ являются интересным направлением исследований с фундаментальными и трансляционными последствиями (Moisan A. et. al., 2014).

1.5.3. Применение аутологичной стромальной васкулярной фракции жировой ткани при травматических повреждениях периферических нервов.

Многообразие функций жировой ткани широко изучено. Она представляет собой метаболический субстрат для аккумуляции энергии необходимой для жизнедеятельности и участвует в метаболизме гормонов. В результате механического измельчения, ферментативного расщепления и дифференциального центрифугирования из жировой ткани можно выделить зрелые адипоциты и гетерогенную клеточную массу, представленную клетками крови, фибробластами, перицитами, эндотелиальными клетками, преадипоцитами, а также гематопоетическими СК (Zuk P.A. et. al., 2001). Данный клеточный пул принято называть стромальной васкулярной фракцией (СВФ). Исследования показали, что именно СВФ является резервуаром мезенхимных стволовых клеток, способных к дифференциации в разных направлениях, в зависимости от окружающих условий. Показано, что СВФ-ЖТ обладают

огромным потенциалом для терапевтического применения, однако на сегодняшний день не исследована их способность стимулировать регенерацию при применении в качестве стимулятора регенерации при тракционных поврежденных стволов ПС.

Способность СВФ-ЖТ стимулировать регенерацию поврежденных нервов обусловлена неоднородностью составляющих фракции. В экспериментальных исследованиях терапии аутоиммунного энцефалита СВФ-ЖТ были показаны аналогичные СК нейропротекторные эффекты и более высокие иммуномодулирующие свойства, чем СК. Эти исследования демонстрируют, что лечение с применением СВФ-ЖТ не только сопоставимо, но в некоторых случаях даже предпочтительнее, чем терапия СК (Semon J.A. et. al., 2013). Исследования на добровольцах показали наличие положительного эффекта при лечении СВФ-ЖТ невром поверхностного лучевого нерва (Calcagni M. et. al., 2018; Zimmermann S. et. al., 2018).

В мировой практической медицине случаи успешного применения СВФ-ЖТ для терапии заболеваний, включая терапию повреждённых периферических нервов также единичные. Одним из первых в России клинических опытов применения аутотрансплантации клеток стромальной васкулярной фракции жировой ткани при восстановлении дефекта периферического нерва стала работа Масгутова Р.Ф (2014), в которой описан клинический случай оперативного лечения пациента с повреждением локтевого нерва с применением аутонервной вставки из икроножного нерва. В работе описаны позитивные эффекты восстановления двигательной и чувствительной функции через 1 год после операции (Масгутов Р.Ф. и соавт., 2014). В работе было отмечено, что согласно проведенной электронейромиографии, амплитуда моторного ответа через год после лечения почти полностью восстановилась относительно контралатеральной конечности, что косвенно может указывать на увеличение количества регенерирующих двигательных волокон. Скорость распространения возбуждения по двигательным волокнам приблизилась к норме. Обычно, даже при прямом шве

нерва «конец в конец», первые признаки реиннервации мышц кисти и появление чувствительности наблюдается на сроках не менее 8-10 месяцев после операции (Масгутов Р.Ф. и соавт., 2014). Также известно, что проведение стандартной невротизации мышечно-кожного нерва межреберными нервами для восстановления функции двуглавой мышцы плеча с использованием СВФ-ЖТ значительно сокращает сроки восстановления и улучшает функциональные результаты (Ханнанова И.Г. и соавт., 2015). Обширные доклинические и клинические исследования безопасности и эффективности СВФ-ЖТ открывают большие горизонты для применения в реконструктивной хирургии травматических повреждений периферических нервов в целом и реконструкции ПС в частности. Однако работ исследующих стимулирующее воздействие клеток СВФ-ЖТ для стимуляции нейрорегенерации в хирургии ППС в литературе не представлено.

1.5.4. Применение генных технологий при травматических повреждениях периферических нервов.

Экзогенное введение белковых нейротрофических факторов в острый период пациентам с травмами периферических нервов позволяет увеличить количество выживших нейронов и ускорить регенерацию. Но высокая стоимость рекомбинантных белков в сочетании с их кратковременным действием и необходимостью многократного введения высоких доз из-за их нестабильности ограничивает применение данных препаратов в клинической практике. Пролонгированную экспрессию терапевтического фактора способна вызвать генная терапия, которая позволяет локально и специфично изменять активность определенного типа клеток при необходимости (Карагяур М.Н. и соавт., 2017).

Клинические исследования (I и II фазы) показали безопасность генной терапии в лечении заболеваний нервной системы: болезнь Канавана, болезнь Паркинсона, нейродегенерация сетчатки, болезнь Альцгеймера. Эти успехи подталкивают к исследованиям в области генотерапии повреждений периферической нервной системы (Сапронова М.Р. et. al., 2015).

Одним из наиболее перспективных подходов к стимулированию нейрорегенерации является доставка генов нейротрофических факторов в область повреждения. В основном доставка генов осуществляется при помощи вирусных векторов. Этот метод вызывает серьезные опасения относительно безопасности для реципиента из-за возможности выраженного воспалительного и иммунного ответов, инсерционного мутагенеза и токсичности (Mason M.R. et. al., 2011).

Многие авторы отмечают, что в клинических исследованиях эффективность монокомпонентных плазмидных препаратов для стимуляции терапевтического ангиогенеза и регенерации ткани оказалась ниже ожидаемой, включая такие мощные митогены и общепризнанные стимуляторы регенерации, как VEGF165 и bFGF (Gupta R. et. al., 2009; Beazley-Long N. et. al., 2013; Makarevich P.I., et. al., 2015).

При проведении литературного обзора мы нашли ряд работ, где авторы рекомендуют применять для прямой генной терапии повреждённого нерва гены VEGF и FGF2 (fibroblast growth factor 2). Оба фактора роста, кодируемые этими генами, рассматриваются ими как ангиогенные и одновременно нейротрофические. Это имеет большое значение для поддержания процесса регенерации. В экспериментах на крысах было показано, что при локальном введении в центральную и периферическую части повреждённого седалищного нерва, а также в аутонервную вставку плазмиды pBud-VEGF-FGF2 происходит стимуляция регенеративных процессов в нерве и восстановление двигательной функции конечности (Николаев С.И., и соавт., 2013).

Согласно литературным источникам в клинике при хирургических лечениях повреждений ПС как метод стимуляции регенерации применяется прямая генная терапия двухкассетной плазмидой, содержащей гены белков VEGF и FGF2. Данные, полученные при лечении 73 пациентов, демонстрируют ранние сроки появления первых признаков реинервации в сочетании с ускорением процесса регенерации поврежденной нервной ткани. Стимуляция регенерации происходит из-за того, что сверхэкспрессия фактора роста VEGF содействует выживанию двигательных и чувствительных нейронов. Стимулирует пролиферацию

нейральных СК, астроцитов и шванновских клеток – основных типов клеток необходимых для регенерации периферического нерва. Все эти клетки обладают хорошо выраженным влиянием на процесс неоваскуляризации. Они увеличивают рост эндотелиальных клеток. FGF2 является узловым белком в патофизиологии травмы периферических нервных структур. Известно, что шванновские клетки выделяют FGF2 и его экспрессия увеличивается при повреждениях периферических нервов. Оба эти фактора роста FGF2 и VEGF отвечают не только за рост эндотелиальных клеток, но и за увеличение роста сосудистых гладкомышечных клеток (Idrisova K.F. et. al., 2022).

1.6. Резюме.

Травма ПС представляет собой тип повреждения периферических нервов, который чаще проявляется сенсорной и двигательной дисфункцией верхних конечностей. В большинстве случаев травмы ПС не представляет опасности для жизни, но провоцируют серьезные функциональные потери, снижающие качество жизни пациентов.

За последние десятилетия результаты восстановления ПС значительно улучшились благодаря внедрению новых диагностических и микрохирургических методов. Внедрение микрохирургических техник при невролизе, нейрорафии, а также трансплантации и переносе нервов позволило улучшить результаты посттравматического восстановления функций конечности у многих пациентов с ППС, что считалось трудной или невыполнимой задачей.

Используемые сегодня в клинической практике хирургические методы лечения варьируются в зависимости от места травмы, типа травмы, тяжести травмы и времени, которое прошло после травмы. Целью лечения всегда является снижение невропатической боли и восстановление или улучшение функции верхних конечностей. Однако добиться полного восстановления утраченных функций удается не всегда. Процесс репарации связан со многими факторами, такими как формирование регенеративной микросреды вокруг повреждения, прораствание и удлинение аксонов, реиннервация нерва к ткани-мишени и

т.д. Необходимо отметить, что формирование регенерационного микроокружения является важным фактором, влияющим на репарацию повреждений плечевого сплетения (Yang L. et al., 2021). Было показано, что реакции внеклеточного матрикса и клеток на изменения биомеханического микроокружения после травмы периферических нервов непосредственно запускают серию каскадов организованного процесса регенерации (Kong L. et al., 2022).

В профильной научной литературе описаны различные стратегии стимуляции регенерации поврежденных нервных стволов. В рамках реализации персонализированной эффективной терапии постоянно ведется изучение способов стимуляции регенерации периферической нервной системы, основанных на использовании тканевой инженерии и клеточной терапии. Некоторые инновационные методы лечения в настоящее время все шире применяются в клинике, в то время как другие требуют дальнейшего изучения и клинической апробации. С точки зрения стимуляции регенерации и создания оптимального для регенерации микроокружения, хорошо зарекомендовали себя клетки СВФ-ЖТ, которые обладают нейротрофическими свойствами и способны стимулировать регенерацию нервной ткани путем секреции биологически активных молекул (Trempe M. et al., 2018). Показано, что СВФ-ЖТ способны дифференцироваться в клетки подобные Шванновским, что делает их наиболее перспективными для нейрорегенерации (Zavan B. et al., 2010; Hopf A., et al., 2020). Однако, несмотря на значимый терапевтический потенциал, в литературе отсутствуют данные о клиническом применении клеток СВФ-ЖТ для стимуляции посттравматической регенерации при ППС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Структура и общая характеристика диссертационной работы.

Исследование выполнялось по этапам. Первично с помощью интернет-ресурсов PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>) и Elibrary (<https://www.elibrary.ru>) были изучены научные публикации, посвященные проблеме травмы плечевого сплетения. Всего было проанализировано порядка 200 научных статей и методических рекомендаций отечественных и зарубежных авторов. Основным звеном изучения являлись современные методики хирургии плечевого сплетения, а также современные методы стимуляции нейрорегенерации в условиях эксперимента и клинических внедрений. В целом, проведенный анализ специальной научной литературы позволил определить актуальность диссертационного исследования, уточнить его цель и задачи, лучше спланировать применение клеток СВФ-ЖТ в условиях экспериментальной модели на животных и последующего внедрения в клинику.

Далее нами были проведены серии экспериментов на животных, для оценки терапевтических свойств представленных методов нейрорегенерации с применением клеточной и генной терапии. В качестве стимуляторов нейрорегенерации применяли клетки СВФ-ЖТ и генно-терапевтическую плазмиду pBUD-VEGF165-FGF2. В результате экспериментальных исследований, оценивая гистологические и электрофизиологические данные, мы зафиксировали значительные признаки усиления регенерации нервов в группах со стимуляцией регенерации. Тем самым нам удалось обосновать целесообразность применения клеток СВФ-ЖТ в клинической практике и решить первые две задачи диссертационного исследования.

Далее было проведено ретроспективное и проспективное клинические исследования, включавшие 67 наблюдений лечения пациентов с травмой плечевого сплетения. Выполнялась клиническая функциональная оценка эффективности применения клеток СВФ-ЖТ в качестве стимулятора

нейрорегенерации. С целью оценки терапевтических свойств трансплантированных клеток проводили сравнение с функциональными результатами пациентов с сопоставимыми травмами и способом реконструкции, но в условиях посттравматической регенерации без применения стимуляторов. В этой части исследования, оценивали степень и сроки восстановления чувствительной и двигательной функции поврежденной конечности, а также проводили оценку количества двигательных единиц, согласно данных электромиографии.

Следующим этапом в рамках реализации плана диссертационной работы было разработано неинвазивное устройство для дозированной дистракции стволов плечевого сплетения и доказана целесообразность его клинического применения в сравнении с ближайшим прототипом. Кроме того, была продемонстрирована возможность проведения при помощи предложенного устройства прямой нейрорафии плечевого сплетения в условиях сформировавшегося диастаза. Это позволило решить четвертую задачу диссертационного исследования.

2.2. Материалы и методы экспериментального исследования.

2.2.1. Забор жировой ткани человека и выделение стромально-васкулярной фракции.

Экспериментальная часть диссертационной работы была выполнена на базе научного отдела и отделения травматологии №2 (микрохирургии и кисти) ГАУЗ РКБ МЗ РТ совместно с научным отделом ФГАОУ ВПО К(П)ФУ в научно-образовательном центре фармацевтики ФГАОУ ВО КФУ.

Выделение стромально-васкулярной фракции производили в два этапа. На первом этапе забирали жировую ткань пациентов в ходе плановой липосакции. Вторым этапом из жировой ткани пациентов, в стерильных условиях в ламинара проводили выделение стволовых клеток. Для этого, жировую ткань промывали в PBS 3 раза по 5 минут. После аспирации буфера жировую ткань расщепляли в растворе 0,1% коллагеназы в течение 40 минут в шейкере при 37°C. После

отмывки ткани от коллагеназы зрелые адипоциты и соединительную ткань отделяли от стромально-васкулярной фракции путём центрифугирования (800 об/мин., 10 мин.). Для удаления эритроцитов клеточный осадок ресуспендировали в лизирующем буфере (155 mM NH₄Cl, 10 mM KHCO₃, 0.1mM EDTA) в течение 5 минут при комнатной температуре. Клетки промывали в PBS при центрифугировании в режиме 800 об/мин., 10 минут. Подсчитывали количество клеток в камере Горяева с использованием трипанового синего для определения количества жизнеспособных клеток.

2.2.2. Эксперименты с плазмидой pBUD-VEGF165-FGF2.

Клонирование генов сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) и основного фактора роста фибробластов (FGF2) человека в двухкассетные экспрессионные плазмидные вектора с помощью методов генной инженерии проводили в научно-образовательном центре фармацевтики ФГАОУ ВПО К(П)ФУ. Рекомбинантные плазмидные конструкции производили по технологии cGMP с использованием «Plasmid Select Xtra Starter Kit».

Рекомбинантные плазмидные конструкции, на основе двухкассетной плазмиды *pBudCE4.1* (Invitrogen), ко-экспрессирующей гены *FGF2* и *VEGF* (изоформа *vegfl65*) для проведения исследования были любезно предоставлены доктором биологических наук, профессором Ризвановым А.А. В работе использованы плазмидные конструкции в концентрации 45 мкг на одно животное.

2.2.3. Операции на седалищном нерве крысы.

Для проведения экспериментальной части диссертационного исследования были использованы 45 белых лабораторных крыс самцов, стандартизированного возраста и весом 200-250 гр. Животных перед включением в исследование адаптировали в течение двух недель. Содержали животных в отдельных клетках, со стандартным суточным режимом, без ограничения в воде и пище. Содержание манипуляции с животными проводили

в соответствии с методическими рекомендациями по содержанию лабораторных животных в вивариях научно-исследовательских институтов и учебных заведений Министерства сельского хозяйства Российской Федерации (Москва, 2009), приказом Министерства здравоохранения РФ от 1 апреля 2016 г. № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики», Проектом Федерального закона «О защите животных от жестокого обращения». Проведение исследования одобрено на заседании локального этического комитета ГОУВПО «КГМУ» МЗ и социального развития РФ, от 04 апреля 2011 г.

Для наркотизации экспериментальных животных использовали внутрибрюшинные инъекции раствора хлоралгидрата 400 мг/кг. У всех животных осуществляли оперативный доступ к левому седалищному нерву, в котором формировали дефект протяжённостью 5 мм двумя параллельными разрезами, после чего дефект реконструировали аутонервным трансплантатом с соблюдением конуса роста нерва и фиксировали с помощью 4-х эпинеуральных швов хирургическими нитями «Пролен» (10/0) (рис. 1). Травматическое повреждение седалищного нерва было идентичным у каждого животного в исследуемых группах.



Рисунок 1. Аутонервная пластика седалищного нерва крысы.

Животных, после формирования аутонервной вставки седалищного нерва разделили на три равные по количеству испытуемых группы. Первой группе животных ($n=15$) вводили клетки СВФ-ЖТ в три точки - проксимальный и дистальный концы нерва, а также в область аутонервной вставки. Количество клеток СВФ-ЖТ на одно животное составило не менее 1 млн. Клетки были предварительно ресуспендированы в фосфатном буфере (PBS), общим объемом около 15 мкл и введены интраневрально в равных долях с использованием шприца Гамильтона.

Животным второй группы ($n=15$) вводили плазмиду pBUD-VEGF165-FGF2, общим объемом 45 мкг плазмидной ДНК в 15 мкл PBS. В каждую точку введения, описанную выше, доставлялось около 5 мкл раствора.

Третья группа (контрольная) ($n=15$) - животным, в условиях описанных выше, вводили 15 мкл PBS.

После оперативных вмешательств на седалищном нерве животным всех групп было выполнено послойное ушивание раны с дальнейшим переводом животных в отдельные клетки до пробуждения.

2.2.4. Электромиографическое исследование седалищного нерва.

Животным групп исследования на протяжении всего эксперимента проводили электромиографическое исследование с целью установления динамики проводимости по нервной ткани. Контрольные обследования проводили на 3, 14, 28, 42, 56 сутки после операции. Для оценки максимальной амплитуды М-ответа икроножной мышцы прооперированного животного проводили электромиографическое исследование помощью электромиографа МГ-42 (Венгрия), совмещенного с системой компьютерного анализа данных.

Для седации животных перед проведением исследования внутривенно вводили хлоралгидрат (200 мг/кг). Игольчатые электроды вводили в мышцу в зону проекции седалищного нерва. Раздражение осуществляли прямоугольными импульсами длительностью 1-2 мс, сила стимуляции варьировала от 0,2 до 2В. Регистрировали ответы с помощью биполярных игольчатых электродов, введённых в медиальную икроножную мышцу. Контролем служил седалищный нерв исследуемого животного контралатеральной стороны.

2.2.5. Забор материала и гистологическое исследование.

Животных выводили из эксперимента через 56 суток после операции летальной дозой хлоралгидрата. С целью оценки посттравматической выживаемости чувствительных нейронов производили забор спинального ганглия L5 на стороне операции. С целью исследования морфологических структур седалищного нерва на фоне проводимых мероприятий проводили забор фрагмента нерва с областью вставки. Материал фиксировали в 4% нейтральном формалине и заливали в парафин по стандартной методике. Образцы седалищного нерва нарезали на продольные и поперечные срезы, окрашивали гематоксилином и эозином и оценивали посттравматическую морфологию нерва и васкуляризацию в области анастомоза нерва в каждой группе исследования. Для этого в области швов седалищных нервов случайным образом были выбраны 4 области для исследования и оценены микроскопически с помощью микроскопа ICC50E Leica (Германия). Образцы спинального ганглия L5 нарезали на срезы

толщиной 7 мкм и в каждом пятом срезе оценивали количество нейронов с видимыми ядрышками с помощью микроскопа ICC50E Leica (Германия) и окуляра с сеткой.

Описанные методы исследования в полной мере позволили провести оценку посттравматической регенерации седалищного нерва крысы.

2.2.6. Методики статистического анализа количественных данных.

По полученным данным выводили среднее значение по каждому параметру, обрабатывали по t-критерию Стьюдента и строили графики в программе Excel. Различия между опытными и контрольными сериями считали достоверными при пороге вероятности 95% ($p < 0,05$).

2.3. Материалы и методы первой клинической части диссертационного исследования.

2.3.1. Характеристика наблюдавшихся пациентов.

В рамках клинического раздела исследованы данные по оперативному лечению пациентов с закрытыми тракционными повреждениями плечевого сплетения выполненных в отделении Травматологии №2 (микрохирургии) ГАУЗ "РКБ" МЗ РТ. В период с 2005 по 2010 гг. вошли пациенты группы сравнения ретроспективного исследования, где применялись классические методы хирургического лечения поврежденного плечевого сплетения. В основную группу исследования вошли пациенты, проходившие лечение в клинике в период с 2013 по 2019 гг. которым были выполнены восстановительные операции на повреждённых нервных структурах плечевого сплетения с использованием клеток стромально-вазкулярной фракции, выделенной из жировой ткани. Из 67-ми пациентов 32 были включены в основную группу, 35 составили группу сравнения.

Этиология травматического повреждения плечевого сплетения представлена на рис. 2 а. Соотношение количества пациентов с травмой плечевого сплетения в результате ДТП к прочим видам травм (затягивание конечности в работающий механизм, падение с высоты, удар по надплечию тяжелым предметом) составило 42 (67,3%) к 20 (33,7%) соответственно. Возраст пациентов от 18 до 63 лет, при распределении пациенты в возрасте от 18 до 40 лет - (40 чел.) - 64,5%; в возрасте от 41 до 63 лет (22 чел.) - 35,5% (рис. 2 б). Соотношение распределения пациентов по полу: мужчины (55 чел.) - 88,7%; женщины (7 чел.) - 11,3% (рис. 2 в).

2.3.2. Клиническое обследование пациентов.

Диагноз повреждение плечевого сплетения выставляли на основании клинико-неврологического обследования при обращении пациента в ГАУЗ "РКБ" МЗ РТ на догоспитальном этапе. Решающее значение имели сбор анамнеза с выявлением причины, даты получения и механизма травмы, сроки поступления в лечебное учреждение.



Рисунок. 2. **А.** Этиология травм плечевого сплетения. ДТП – дорожно-транспортные происшествия. Прочие травмы – затягивание конечности в работающий механизм, падение с высоты и удар по надплечию тяжелым предметом. **Б.** Распределение пациентов по возрасту. **В.** Распределение пациентов по полу.

Оценивали клинические проявления повреждения в виде нарушений двигательных функций и чувствительности. Подавляющее большинство пациентов имели тракционный характер повреждения, что приводило к сотрясению, ушибу, сдавливанию, растяжению, разможению нервных стволов. ППС и нередко сопровождалось поражениями близлежащих сосудов, костей, связочного аппарата и внутренних органов.

Диагностический комплекс состоял из внешнего осмотра пораженной конечности, выявляющего её положение, сохранение оси, степень гипотрофии мышц, тщательного мануального тестирования с определением силы мышцы в баллах, оценки болевой, температурной, статической и динамической дискриминационной чувствительности. Также учитывали результаты теста Тинеля, наличие или отсутствие симптома Горнера. Пальпаторно определялось отсутствие или наличие невромы, ее размеры. Разнообразие клинических проявлений зависело от локализации повреждения плечевого сплетения: преганглионарное, постганглионарное, над- и позаключичное (стволы и их разделение), подключичное (пучки

и нервы) повреждения (по классификации H.Millesi, 1988). Наблюдали верхний паралич Дюшена-Эрба, нижний паралич Дежерин-Клюмпке, тотальный паралич, а также мозаичную картину функциональных нарушений.

Общее клиническое обследование позволило оценить соматический и неврологический статус, степень выраженности проявлений травмы, установить предварительный диагноз с выявлением предполагаемого уровня поражения.

2.3.3. Изучение чувствительной функции поврежденной конечности.

Оценку чувствительности проводили при поступлении в отделение и после операции по дерматомам шейного и плечевого сплетений. Определяли болевую и температурную, динамическую и статическую двухточечную дискриминационную чувствительность. При анализе показателей чувствительной функции конечности опирались на шкалу классификаций, представленную в таблице 2.

Таблица 2.

Классификация показателей чувствительности после травмы

Степень	Восстановление чувствительности
S0	Отсутствие чувствительности в автономной зоне нерва
S1	Восстановление глубокой болевой чувствительности внутри автономной зоны нерва
S2	Некоторое восстановление поверхностной болевой и тактильной чувствительности внутри автономной зоны нерва
S3	Восстановление поверхностной болевой и тактильной чувствительности во всей автономной зоне с полным исчезновением гиперпатии
S3+	То же, что S3, но с некоторым восстановлением двухточечной дискриминационной чувствительности внутри автономной зоны (от 12 до 15 мм)
S4	Нормальная чувствительность (дискриминационная чувствительность менее 12 мм, нормальный стереогноз)

При верхнем типе паралича нарушение чувствительности локализовалось на задне-наружной поверхности плеча и предплечья, ладонной и тыльной поверхностях лучевого края кисти и 1,2 пальцев, при нижнем параличе – на обеих поверхностях кисти и всех пальцев, при мозаичной картине поражения – различные сочетания вышеперечисленных нарушений. При тотальном повреждении плечевого сплетения наблюдалась анестезия по всей верхней конечности до верхней трети плеча.

2.3.4. Исследование двигательной функции повреждённой конечности.

Оценку двигательной функции проводили при поступлении в отделение и на разных сроках после операций. Для исследования утраты и восстановления двигательной функции пораженных мышц применяли классификацию Санкт-Петербургского научно-исследовательского нейрохирургического института им. проф. А.Л. Поленова (Берснев В.П., 2017). Классификация степени двигательной функции травмированной конечности представлена в таблице 3.

Таблица 3.

Классификация показателей двигательной функции после травмы.

Степень	Восстановление двигательной функции
M0	Отсутствие сокращений (паралич)
M1	Едва заметные сокращения
M2	Отчетливые сокращения без движений в суставах
M3	Слабые движения в суставах (полезная степень восстановления)
M4	Движения с преодолением некоторого сопротивления
M5	Нормальная сила

На дооперационном этапе было важно выяснить степень травматизации и клинические проявления. Наиболее часто имело место изолированное повреждение отдельных структур плечевого сплетения у 23 пациентов (37,0%). Типичные признаки паралича Дюшена-Эрба наблюдались у 15 (24,0%),

Дежерина-Клюмпке у 10 (16,6%), тотального повреждения у 14 пациентов (22,5%).

При оценке мышечной силы у 6 пациентов с параличом Дюшена-Эрба отсутствовало сокращение (M0) дельтовидной мышцы и двуглавой мышцы плеча, отмечалось сокращение трехглавой мышцы плеча без признаков движения в суставах. У 5 пациентов сила дельтовидной мышцы соответствовала M0, двуглавой мышцы плеча – M2, у 4 пациентов сокращение дельтовидной мышцы и двуглавой мышцы плеча – M1. У 6 пациентов с клиникой паралича Дежерин-Клюмпке, отсутствовала функция сгибателей и разгибателей кисти и вся собственная мускулатура кисти до степени M0, у трёх пациентов сохранилось минимальное разгибание кисти и пальцев до степени M2, у двух пациентов сила сгибателей и разгибателей кисти соответствовала M1. У 2 пациентов субтотальным параличом было характерно снижение силы двуглавой мышцы плеча и трехглавой мышцы плеча, а также разгибателей кисти и пальцев до показателя M1 - M2, с сохранением функции сгибателей кисти и пальцев. У 4 пациентов с изолированным повреждением отдельных структур плечевого сплетения клиническим проявлением было нарушение функции дельтовидной мышцы до степени M0 - M2, у трёх пациентов были нарушены функция разгибателей кисти и пальцев, двух пациентов – разгибателей пальцев кисти и трехглавой мышцы плеча до M0 - M2 у двух пациентов – сгибателей кисти, у одного пациента – сгибателей кисти и пальцев. Нарушение функции отведения плеча со снижением силы дельтовидной мышцы до M1 наблюдалось у 4 пациентов, до M0 – у одного пациента. Полное отсутствие сокращений разгибателей кисти и пальцев M0 имело место у трёх пациентов, снижение силы в этих мышцах до M2 у одного пациента. У одного пациента отмечено снижение силы трехглавой мышцы плеча и разгибателей кисти и пальцев до M2. Снижение силы локтевого сгибателя кисти до M2 и сгибателей 4-5 пальцев до M0 наблюдалось у одного пациента. При тотальном повреждении плечевого сплетения у 10 пациентов отсутствовало сокращение мышц M0 проксимальных и дистальных отделов верхней конечности. У 5 пациентов тотальное повреждение

проявлялось отсутствием сокращений дельтовидной мышцы, двуглавой мышцы плеча, сгибателей и разгибателей кисти и пальцев (M0) со слабыми сокращениями трехглавой мышцы плеча без функции разгибания в локтевом суставе.

2.3.5. Оценка болевого синдрома.

Интенсивность боли и степень её купирования после оперативного лечения оценивали по визуальной аналоговой шкале (ВАШ) (Visual Analogue Scale - VAS). С помощью оценки ВАШ проводили измерение расстояния (в см) по 10-сантиметровой линии между точкой привязки «без боли» и отметкой «сильная боль» у пациента, обеспечивая диапазон значений от 0 до 10. Более высокий балл указывал на большую интенсивность боли. Основываясь на распределении оценок боли по ВАШ у послеоперационных пациентов, определяли интенсивность послеоперационной боли как нулевую, слабую, умеренную или сильную. Использовали показатели отсутствие боли (0–2 см), легкая боль (3–4 см), умеренная боль (5–7 см) и сильная боль (8–10 см). При данном типе диагностики нормативные значения отсутствовали и определялись субъективными ощущениями пациента.

2.3.6. Дополнительные инструментальные методы исследования.

Электронейромиографическое исследование. В работе использовали электромиограф «Нейрософт МВП-4». Методом стимуляционной электронейромиографии регистрировали амплитудно-временные характеристики моторных ответов с исследуемых мышц в ответ на стимуляцию из искомых точек поражения структур плечевого сплетения. Количество двигательных единиц определяли путём вычисления соотношения амплитуд максимального и минимального М-ответа для каждой мышцы на повреждённой и интактной конечности. Также определялась скорость распространения возбуждения по стволам и длинным ветвям плечевого сплетения. Данные, полученные на интактной конечности, использовали в качестве контроля.

Для регистрации моторных ответов использовали отводящие поверхностные электроды, активный электрод устанавливали на мышцу, референтный отводящий электрод на костный выступ или сухожильную часть. Стимуляция нервов проводили вилочковым электродом в наиболее доступной точке. При этом электрод располагали таким образом, что катод находился более дистально. Стимуляцию выполняли прямоугольным импульсом длительностью 0,1-0,5 мс. Силу тока измеряли в миллиамперах и изменяли с установленным шагом в 1мА. Для получения достоверного М-ответа при непрямой стимуляции нерва сила стимула постепенно наращивали до регистрации максимального и стойкого ответа.

При обследовании в основной группе до операции, у 11 пациентов было зарегистрировано значительное снижение скорости распространения возбуждения со снижением максимального М-ответа, вплоть до его отсутствия, уменьшение количества двигательных единиц в денервированной мышце было менее чем на 30% по сравнению с аналогичными показателями интактной конечности. У 19 пациентов эти показатели приближались к 50%.

Метод ультразвуковой диагностики. Метод ультразвукового исследования (УЗИ) проводили на ультразвуковом аппарате «Vivid 4» (GE) широкополосным линейным датчиком с частотами сканирования 5–12 МГц и широкополосным конвексным датчиком с частотой сканирования 2,0–5,0 МГц. УЗИ проводили для уточнения локализации, вида и протяженности повреждения структур плечевого сплетения. При выполнении исследования датчик располагали как поперечно, так и продольно, на переднебоковой поверхности шеи, в над- и подключичной областях. При продольном сканировании оценивали состояние первичных стволов у места выхода корешка С5 до уровня выхода корешка С8. Визуализация структуры корешков С5-С8, первичных и вторичных стволов плечевого сплетения с оценкой степени и протяженности поражения определяло оптимальную тактику оперативного лечения.

Магнитно-резонансное исследование. Магнитно-резонансное исследование (МРТ) было проведено 18 пациентам на аппарате Philips Ingenia 1,5T. Точность диагностики и прогностическая значимость была оценена в ходе выполнения оперативного вмешательства. Рентгенографическое исследование, явилось дополнением к вышеперечисленным инструментальным методам диагностики ППС, позволило уточнить наличие сопутствующих переломов, вывихов, распространение костной мозоли, а также псевдоартроз ключицы (рис. 3).

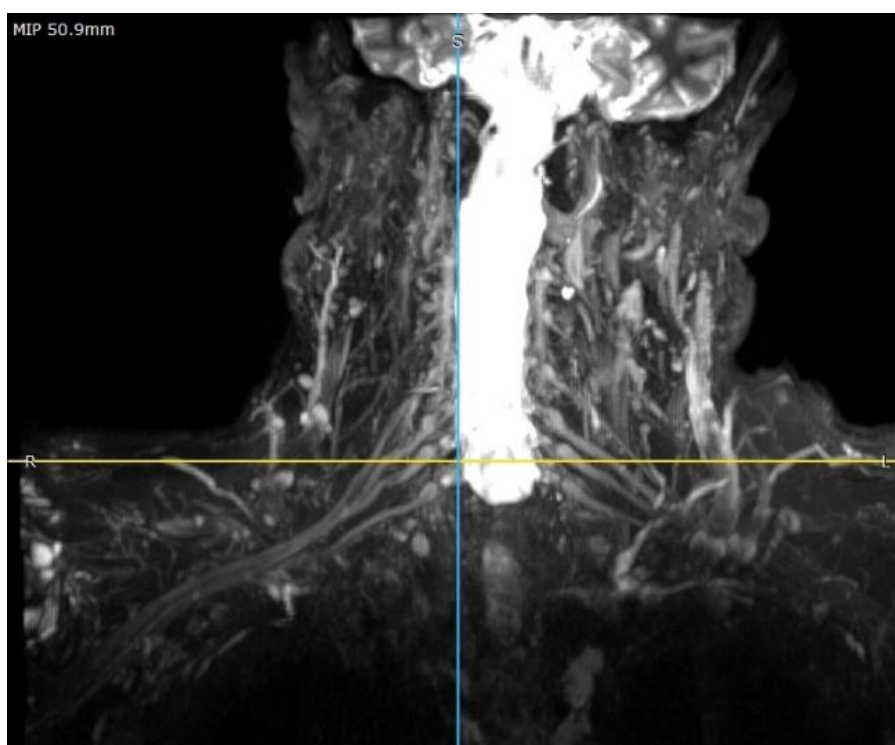


Рисунок 3. Результат магнитной резонансной томографии плечевого сплетения.

Таким образом, для диагностики травм плечевого сплетения использовали комплексный подход, совмещающий клиническую диагностику и все доступные инструментальные методы исследования. На основании полученных диагностических данных определяли тактику лечения пациентов с ППС и вид реконструктивной хирургической манипуляции.

2.3.7. Методы хирургического лечения повреждений плечевого сплетения.

Пациентам групп исследования с повреждениями плечевого сплетения, выполняли восстановительные оперативные вмешательства, из них 40 пациентам был осуществлен невролиз стволов плечевого сплетения, 22 пациентам выполнены реконструктивные операции для восстановления функции отдельных мышц плеча и верхнего плечевого пояса с использованием различных вариантов невротизации, 5 пациентам была проведена нейрорафия. Пациентам основной группы исследования во время операции невролиза или невротизации проводили трансплантацию клеток СВФ-ЖТ с целью стимуляции процесса регенерации. Показания к конкретному виду оперативного вмешательства определяли по данным представленного выше комплекса обследований, в который входили клинические и инструментальные методы. Исследуемые группы в плане сравнения были соизмеримыми. На каждый клинический случай с клетками подбирали аналогичный архивный случай с идентичным повреждением, сроками после травмы, клиникой и данными ЭНМГ. Критериями сравнительной оценки являлись сроки и качество восстановления функции.

2.3.8. Группы исследования и количество пациентов

В исследование были включены 40 пациентов с невролизом плечевого сплетения из них 20 пациентов с трансплантацией СВФ-ЖТ и 20 пациентов с невролизом, регенерация у которых проходила в естественных условиях составили в контрольную группу исследования. Показания к выполнению невролиза и эндоневролиза основывали на данных клинического и электрофизиологического обследования: отсутствие убедительной положительной динамики функционального восстановления после проведенных курсов консервативной терапии, снижение скорости проводимости по отдельным нервным стволам, снижение амплитуды М-ответа и уменьшение количества ДЕ в денервированной мышце, согласно данным электромиографии. Сроки обращения пациентов составили более 6 месяцев после получения травмы.

При выполнении оперативного вмешательства на плечевом сплетении большое значение имеет интраоперационная ревизия, в ходе которой выявляется степень нарушения его целостности, наличие и обширность распространенности фиброзной ткани. В ходе оперативного вмешательства у 9 пациентов (22,5%) был обнаружен рубцовый процесс с компрессией верхних первичных стволов плечевого сплетения (надключичный уровень повреждения). Подключичный уровень повреждения отмечен у 31 пациента (77,5%). У 4 пациентов (10%) имело место поражение вторичных стволов плечевого сплетения (в 2 случаях заднего вторичного ствола и в 2 – всех трех вторичных стволов). У 13 пациентов (32,5%) в патологический процесс были вовлечены проксимальные отделы периферических нервов (в 6 случаях – подмышечного, в 4 случаях – лучевого, в 3 случаях – лучевого, локтевого и срединного нервов). Сочетание компрессии дистальных отделов вторичных стволов плечевого сплетения и проксимальных отделов периферических нервов имело место у 9 пациентов (22,5%). В 3 случаях выявлено вовлечение в рубцовый процесс одного вторичного ствола и периферических нервов: вторичного медиального ствола и локтевого нерва, вторичного заднего ствола и лучевого нерва, вторичного заднего ствола, подмышечного и лучевого нервов. В 2 случаях отмечено сочетание поражения двух вторичных стволов (медиального и латерального) и срединного нерва. У 5 пациентов (12,5%) имела место компрессия всех трех вторичных стволов плечевого сплетения и периферических нервов (2 – лучевого и срединного, 1 – локтевого и срединного, 1 – лучевого, локтевого и срединного и 1 – срединного и локтевого).

Невролиз, как метод лечения травм плечевого сплетения, требует соблюдения принципа минимальной травматизации нервных структур и кровоснабжающих сосудов. По этой причине при выполнении невролиза использовали микрохирургическую оптику соответствующего увеличения. Также широко применяли гидропрепаровку как на этапах наружного, так и внутреннего невролиза, щадящее удаление фиброзной ткани межфасцикулярных пространств, с максимальным сохранением питающих сосудов.

Основное условие выполнения невролиза – это обеспечение сохранности анатомической целостности структур плечевого сплетения, подвергшихся компрессии. Следует отметить, что одним из важных нюансов внутреннего невролиза, является применение максимально щадящих технических приемов, позволяющих избежать травматизацию с нарушением проводящих свойств нервных волокон в ходе их выделения из субэпинеуральной фиброзной ткани. Нарушение этих условий способствует рецидиву фиброзного процесса в послеоперационном периоде. Наружный невролиз выполняли щадящим удалением параневральной фиброзной ткани. Особое внимание уделяли тщательному гемостазу во избежание скопления крови, для предотвращения развития послеоперационного фиброза.

По завершению вмешательств на стволах плечевого сплетения, пациентам основной группы исследования проводили аутотрансплантацию ранее выделенных клеток СВФ-ЖТ в количестве от 7 до 10 млн. Клетки вводили шприцом с инсулиновой иглой эндоневрально в зону поражения и параневрально. Зону трансплантации покрывали тонким слоем фибринового клея Tissucol-Kit (Baxter AG, Австрия)) и завершали операцию ушиванием операционной раны.

Также, в исследовании принимали участие 22 пациента с различными видами невротизаций из них 10 пациентам выполняли реконструкцию плечевого сплетения методом невротизации в сочетании с аутотрансплантацией клеток СВФ-ЖТ и 12 пациентов вошли в группу сравнения, где регенерация проходила в естественных условиях.

С этой целью были осуществлены следующие варианты невротизации:

1. Добавочный нерв – надлопаточный нерв

Внутриствольный пучок локтевого нерва – мышечно-кожный нерв

2. Добавочный нерв – надлопаточный нерв

3,4,5 межреберные нервы – мышечно-кожный нерв

3. Добавочный нерв – мышечно-кожный нерв

3,4,5 межреберные нервы – подмышечный нерв

4. Добавочный, двигательные ветви шейного сплетения – корешок С6 (изолированное повреждение корешка С6).

У 5 пациентов с тотальным повреждением плечевого сплетения выполнена невротизация мышечно-кожного нерва межреберными нервами в 2 случаях и добавочным нервом в 3 случаях. Такая тактика была выбрана из-за наличия у всех пациентов паралитического подвывиха плеча. В перспективе этим пациентам возможно выполнение ортопедической коррекции в виде транспозиции мышцы, артродеза плечевого сустава, аутотрансплантации мышцы.

Наибольшее количество невротизаций в нашем исследовании выполнено для восстановления функции мышечно-кожного нерва с использованием в качестве невротизатора добавочного нерва и межреберных нервов. При выполнении операции осуществляли ревизию плечевого сплетения и невролиз зоны поражения. Выделяли мышечно-кожный нерв, далее приступали к выделению 3,4,5 межреберных нервов от средне ключичной линии до проекции подмышечной линии, затем отсекали от места начала выделения и реверсировали к проксимальному отсеченному концу мышечно-кожного нерва, с последующим микрохирургическим сшиванием их концов нитью Prolen 10.0. Далее в зону шва инъекционно трансплантировали от 7 до 10 млн клетки СВФ-ЖТ с последующим нанесением фибринового клея Тиссукол для сохранности клеток. Преимуществом использования межреберных нервов в качестве невротизатора, является постоянство их топографии, что практически исключает их повреждение во время травмы ПС, при этом основным преимуществом является возможность выполнения прямой нейрорафии с мышечно-кожным нервом.

4. Распределение пациентов в группах исследований, виды реконструктивных операций на плечевом сплетении, количество пациентов и количество наблюдений в исследуемых группах представлены в таблице 4.

Таблица 4.

Виды реконструктивных операций на плечевом сплетении, количество пациентов и количество наблюдений

Тип операции	К-во пациентов	К-во наблюдений
Группа сравнения:		
Невролиз	20	20
Нейрорафия	3	3
Невротизация	12	12
Всего:	35	35
Основная группа:		
Невролиз + СВФ-ЖТ	20	20
Нейрорафия + СВФ-ЖТ	2	2
Невротизация + СВФ-ЖТ:	10, из них:	13
Добавочный – надлопаточный пучок локтевого – мышечно-кожный	1	2
Добавочный – надлопаточный 3,4,5, межреберный локтевого – мышечно-кожный	1	1
Добавочный – мышечно-кожный 3,4,5, межреберный – подмышечный	1	1
Добавочный – двигательные ветви шейного сплетения) – корешок С5	1	1
3,4,5, межреберный – мышечно-кожный	3	4
Добавочный – мышечно-кожный	3	4
Всего:	32	35

2.3.9. Показания и противопоказания к аутотрансплантации клеток СВФ-ЖТ при хирургическом лечении повреждений плечевого сплетения.

На основании характеристики наблюдаемых пациентов были сформулированы показания и противопоказания к трансплантации клеток СВФ-ЖТ.

Показания к аутотрансплантации клеток СВФ-ЖТ:

1. Сроки после травмы нерва более 7 месяцев
2. Неудовлетворительное состояние тканей, окружающих зону повреждения – обширность распространения параневральных и интраневральных фиброзных изменений.
3. Значительный диастаз между отрезками нерва с необходимостью использования аутонервного трансплантата длиной более 10 см.

Противопоказания к аутотрансплантации СВФ-ЖТ:

1. Возраст пациентов младше 18-ти лет,
2. Наличие онкологических заболеваний, вирусных гепатитов, ВИЧ инфекции,
3. Беременность у женщин.

2.3.10. Забор жировой ткани пациентов и выделение стромально-васкулярной фракции.

Забор жировой ткани пациентов основной группы исследования проводили в условиях стационара в ходе плановой липосакции. Под интубационным наркозом забирали жировую клетчатку с области передней брюшной стенки, ягодичной области и наружной поверхности бедер. Для этого выполняли разрез кожи длиной около 5 мм, через который подкожно вводили липосактор (4.0 мм) соединенным со стерильным сосудом и вакуум-насосом и производили забор 150-200 мл фрагментированной жировой ткани (рис. 4). Дальнейшие манипуляции с жировой тканью проводили в условиях лаборатории научно-образовательного центра фармацевтики ФГАОУ ВО КФУ.



Рисунок 4. Жировая ткань пациента, забранная в стерильных условиях в ходе плановой липосакции.

Выделение СВФ-ЖТ производили в стерильных условиях в ламинара с использованием одноразовых расходных материалов. Жировую ткань промывали в PBS 3 раза по 5 минут. После аспирации буфера жировую ткань расщепляли в растворе 0.1% коллагеназы в течение 40 минут в шейкере при 37°C. После отмывки ткани от коллагеназы зрелые адипоциты и соединительную ткань отделяли от стромально-васкулярной фракции путём центрифугирования (800 об/мин., 10 мин.). Для удаления эритроцитов клеточный осадок ресуспендировали в лизирующем буфере (155 mM NH₄Cl, 10 mM KHCO₃, 0.1mM EDTA) в течение 5 минут при комнатной температуре. Клетки промывали в PBS при центрифугировании в режиме 800 об/мин., 10 минут. Подсчитывали количество клеток в камере Горяева с использованием трипанового синего для определения

количества жизнеспособных клеток. В среднем из 150-200 мл исходного жира получали 7-10 млн. клеток СВФ.

2.3.11. Трансплантация клеток стромально-васкулярной фракции к области травмы плечевого сплетения.

Введение СВФ-ЖТ осуществляли интраоперационно, интраневрально. После завершения вмешательств на стволах плечевого сплетения, пациентам основной группы исследования проводили аутотрансплантацию ранее выделенных клеток СВФ-ЖТ в количестве 7-10 млн. для каждого пациента. Клетки предварительно ресуспензировали в 3-10 мл физиологического раствора (с подбором оптимальной дозы в каждом конкретном случае). Затем равномерно вводили шприцем с инсулиновой иглой эндоневрально в зону поражения и параневрально. С целью удержания клеток в зоне трансплантации, нерв покрывали тонким слоем фибринового клея. Операцию завершали ушиванием операционной раны.

С целью предотвращения дегенерации и рубцового перерождения парализованных мышц в постоперационном периоде пациентам была назначена чрезкожная электронейростимуляция. Также пациенты получали ЛФК, массаж и физиотерапию – электрофорез, ультразвук, Дарсонваль и озокерит.

Во всех описанных случаях пациенты получали послеоперационную медикаментозную терапию, которая была направлена на улучшение обменных процессов в нервной ткани, повышение сократительной способности мышц. Также пациентам были назначены сосудистые препараты, витамины группы В, антихолинэстеразные, болеутоляющие и противовоспалительные препараты.

Для оценки качества посттравматического восстановления пациентов основной и контрольной групп проводили клинико-инструментальные методы исследования, включавшие оценку восстановления двигательной и чувствительной функции, а также электронографическое исследование с целью оценки количества двигательных единиц. Методы оценки в послеоперационном периоде соответствовали методам диагностики при поступлении в отделение и описаны выше.

2.4. Материалы и методы второй части клинического исследования.

Во второй части исследования проводили клиническую апробацию разработанного в рамках диссертационного исследования аппарата для неинвазивной дистракции нервных стволов после нейрорафии. Патент РФ на изобретение «Устройство для лечения поврежденных стволов плечевого сплетения» № 2772539 от 23.05.22. Реконструкция поврежденных стволов плечевого сплетения с последующей тракцией и использованием СВФ-ЖТ была применена у двух пациентов основной группы. В группу сравнения вошли три ретроспективно обследованных пациента, которым была проведена нейрорафия стволов плечевого сплетения с последующей тракцией в АВФ без стимуляторов регенерации.

2.4.1. Разработка метода дозированной дистракции стволов плечевого сплетения.

Вытяжение нерва после нейрорафии осуществляли с помощью разработанного устройства для дистракции нервов. Устройство для лечения поврежденных стволов плечевого сплетения включает фиксирующие элементы для установки на голову и проксимальный отдел плеча пациента и соединение их штангами АВФ. Устройство предполагает изготовление индивидуального по форме и размерам для каждого пациента шлема и фиксирующего плечевой сустав кольца. Шлем и кольцо соединяли двумя резьбовыми штангами из набора АВФ Илизарова, для чего на боковой поверхности шлема, со стороны поврежденного нерва, симметрично средней линии плеча, на расстоянии, превышающем ширину ушной раковины, винтами закрепили два кронштейна, в каждом из которых установили и шарнирно закрепили своими концами по резьбовой штанге. Противоположный, свободный, конец каждой из упомянутых штанг установили в соответствующую втулку. Втулки диаметрально противоположно закрепили на наружной боковой поверхности фиксирующего кольца с помощью винтов, при этом концы штанг оснастили двумя гайками, установленными последовательно (рис. 5).

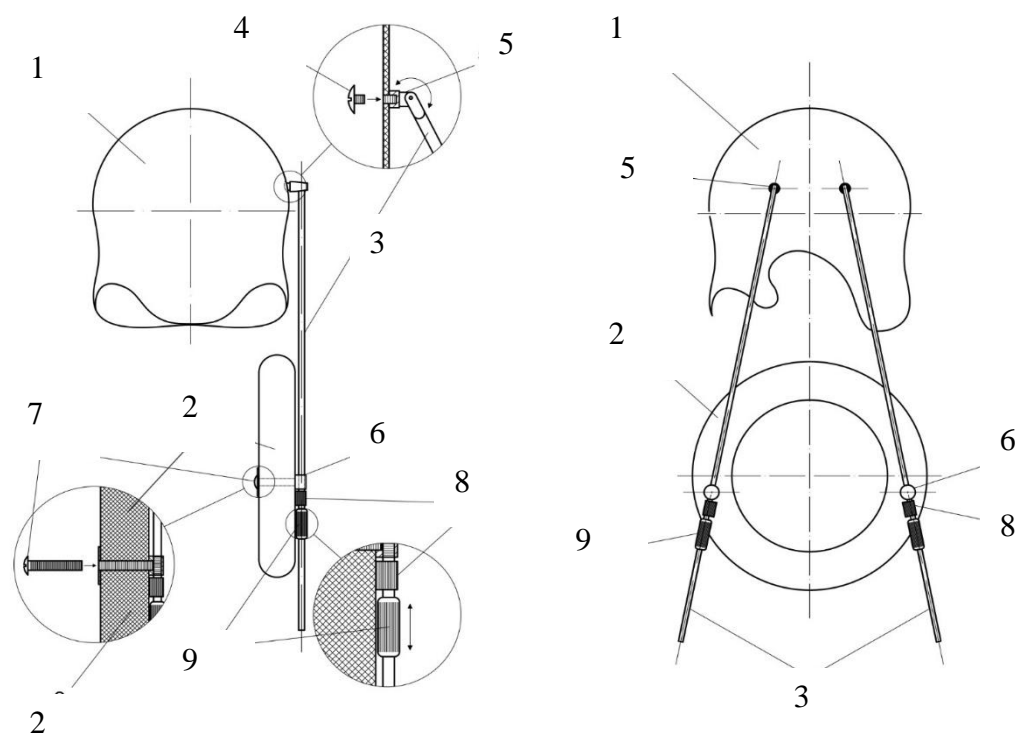


Рисунок 5. Конструкция устройства для лечения поврежденных стволов плечевого сплетения. А - вид устройства спереди; В - вид устройства сбоку. 1- шлем, 2- фиксирующее кольцо, 3- резьбовые штанги, 4 - винты, 5- кронштейны, 6- втулки, 7- винты, 8 и 9 - гайки (8 и 9).

Шлем был изготовлен из полиэтилена низкой плотности по индивидуальным размерам головы пациента; фиксирующее кольцо – из листа пенополимера (Педилин) оба материала разрешены к использованию в производстве медицинских протезов. Индивидуальное изготовление шлема, по форме и размерам головы пациента, обеспечило наилучшую фиксацию на голове, а изготовление фиксирующего кольца по форме и размерам плечевого сустава пациента обеспечило его наилучшую фиксацию в области плеча. Изготовление шлема из полиэтилена низкой плотности, за счет пластичности на этапе моделирования, позволило получить в готовом состоянии изделие, имеющее твердую форму, которое надежно, но без сдавливания, было зафиксировано на голове пациента. Изготовление фиксирующего кольца из Педилина позволило

повторить анатомические изгибы тела пациента, что обеспечило предотвращение точечного избыточного давления на мягкие ткани конечности в процессе его эксплуатации.

С целью фиксации угла при отведении конечности в послеоперационном периоде, было предусмотрено соединение шлема и кольца резьбовыми штангами из набора АВФ Илизарова, установленными по боковой поверхности шлема, со стороны поврежденного нерва, с возможностью дальнейшей тракции нерва при его удлинении. Закрепление кронштейнов симметрично средней линии плеча на расстоянии, превышающем ширину ушной раковины, и шарнирная установка в них концов резьбовых штанг, позволило соединить шлем и фиксирующее кольцо, разнесенные друг от друга в пространстве и четко контролировать тракцию нерва при выведении плеча в физиологическое положение. Установка свободных концов штанг во втулки, диаметрально противоположно закрепленные винтами на наружной боковой поверхности фиксирующего кольца, оснащение концов каждой штанги двумя гайками, установленными последовательно, обеспечило возможность соединения шлема и кольца под необходимым углом и позволило осуществлять ежедневную тракцию нерва с фиксацией достигнутого положения, с предотвращением саморазвинчивания.

2.4.2. Техника проведения операций на плечевом сплетении и установка аппарата для дозированной дистракции реконструированного нерва

До операции пациенту П. выполнили рентгенограмму плеча в прямой проекции, индивидуально изготовили шлем и фиксирующее кольцо. Оперативное вмешательство на левом плечевом сплетении выполняли под эндотрахеальным наркозом. Был осуществлен доступ к поврежденному первичному нервному стволу, после иссечения рубцово-измененной ткани, дефект составил 5 см, что не позволило осуществить сшивание концов нерва между собой. Чтобы избежать использования аутонервного трансплантата, положение верхней конечности было изменено. Для этого приблизили надплечье к шейному отделу позвоночника так,

чтобы концы нервного ствола удалось сшить с использованием микрохирургической техники.

Во время оперативного лечения провели ревизию зоны повреждения нервного ствола, мобилизовали проксимальный и дистальный концы поврежденного нерва, обеспечили приведение плеча к голове, и выполнили микрохирургическую эпипериневральную нейрорафию. (рис.6).

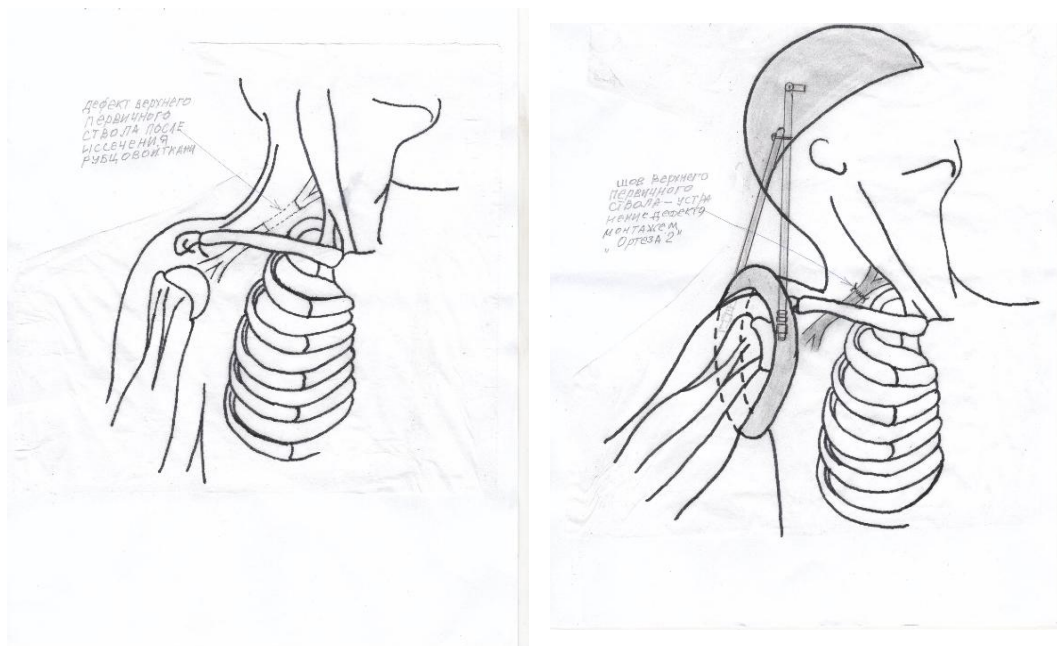


Рисунок 6. Схема шва плечевого сплетения с установкой аппарата для дистракции стволлов плечевого сплетения.

Конечность в приведенном положении фиксировали в устройстве. После окончания операции пациенту, с целью сохранения достигнутого положения нервных окончаний, на сегменте конечности, с опорой в подмышечной впадине, закрепили фиксирующее кольцо и надели на голову шлем (рис. 7).

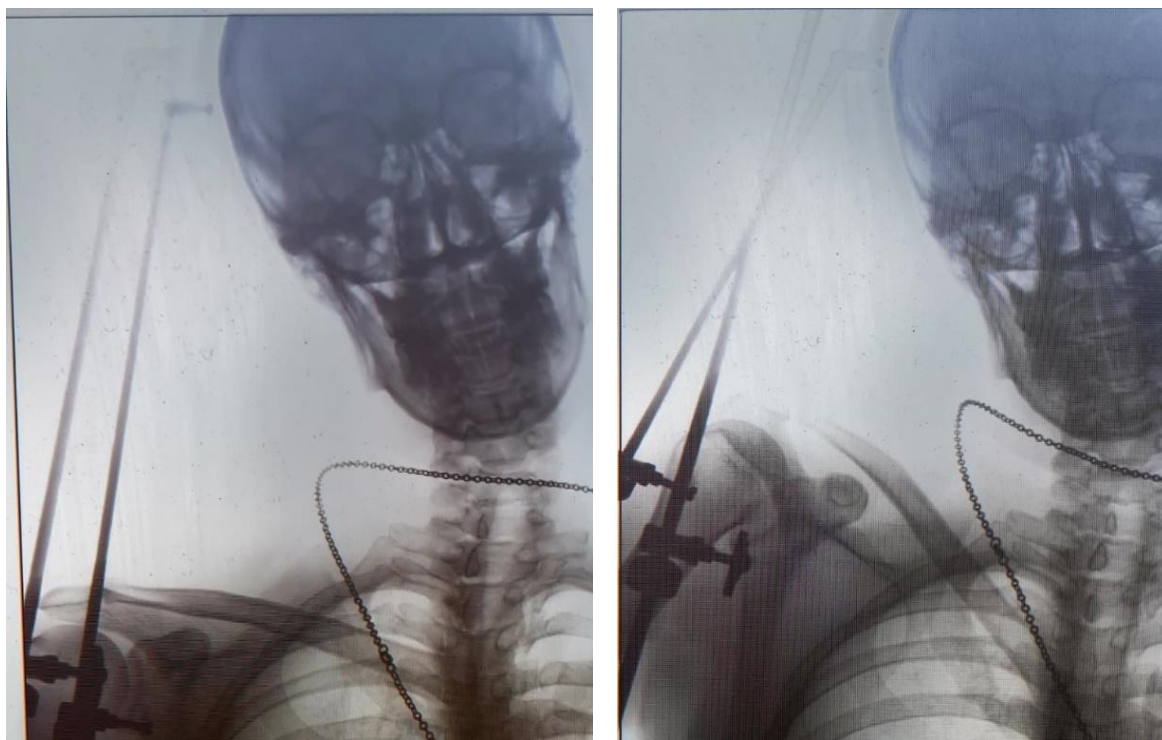


Рисунок 7. Рентгенограмма пациента П-ва. А - разметка до лечения (плечо в исходном (нормальном) положении); Б - разметка сразу после операции, до начала выведения плеча в нормальное положение.

Через 4 недели конечность начали выводить в физиологическое положение перемещением гаек по резьбовым штангам. Удлиняли обе опоры аппарата, соединенные со шлемом, таким образом, что при опускании плеча и отдалении надплечья от шеи производилась дистракция нерва.

2.4.3. Алгоритм выведения плеча в физиологическое положение.

С целью проведения точных расчетов для контролируемой дистракции реконструированного ствола плечевого сплетения пациенту до операции проводили рентгенограмму. На рентгенограмме плеча пациента наносили точки А, В и O_1 . Измеряли длину отрезка АВ. Этот отрезок представляет собой длину штанги устройства после выведения плеча в нормальное положение из верхнего положения. Измеряют длины отрезков O_1A и O_1B . Отмечают точки O_2 и С. Проводят и измеряют отрезки O_1C и O_2C .

Для простоты изложения введем обозначения, используемые при изложении алгоритма вычислений.

Точка O_1 – точка крепления ключицы к груди, точка вращения.

Точка A – точка крепления штанги на головной части устройства.

Точка B – точка крепления штанги на плечевой части устройства в конечной стадии послеоперационного ведения пациента, когда плечо находится в нормальном положении (перед демонтажем устройства).

Точка $B_{\text{НАЧ.}}$ - точка крепления штанги на плечевой части устройства в начальной стадии послеоперационного ведения пациента, когда плечо находится в верхней точке (после операции).

Точка O_2 – точка крепления нерва в области выхода из шейного отдела позвоночника, точка вращения.

Точка C - точка крепления нерва в области ключицы в конечной стадии послеоперационного ведения пациента, когда плечо находится в нормальном положении.

Точка $C_{\text{НАЧ.}}$ - точка крепления нерва в области ключицы в начальной стадии послеоперационного ведения пациента, когда плечо находится в верхнем положении.

После операции выполняют повторную рентгенограмму плеча пациента в прямой проекции с наложенным устройством, в таком же положении пациента, что и до операции. На рентгенограмме наносят точки A , O_1 и $B_{\text{НАЧ.}}$. Измеряют длину отрезка $AB_{\text{НАЧ.}}$, который является длиной штанги устройства на момент начала выведения плеча в нормальное положение. Измеряют длину отрезка $O_2C_{\text{НАЧ.}}$ - длину нерва на момент начала выведения плеча в нормальное положение. $O_1B_{\text{НАЧ.}} = O_1B$.

Для произвольного треугольника известно выражение (теорема косинусов):

$$c^2 = a^2 + b^2 - 2 \times a \times b \times \cos C$$

где a , b и c – стороны треугольника, C – угол между сторонами a и b .

Для треугольника $AO_1B_{\text{НАЧ.}}$ с помощью вышеприведенного выражения можно вычислить угол $B_{\text{НАЧ.}}O_1A$ (обозначим его α):

$$\cos \alpha = \frac{AO_1^2 + B_{\text{НАЧ.}}O_1^2 - AB_{\text{НАЧ.}}^2}{2 \times AO_1 \times O_1B_{\text{НАЧ.}}} \Rightarrow \alpha = \arccos(\alpha)$$

Таким же образом можно вычислить угол AO_1B (обозначим его β) в треугольнике AO_1B . В этом треугольнике длина отрезков AB (длина штанги устройства), O_1A и O_1B измерены на рентгенограмме, сделанной до установки устройства. Имеем:

$$\cos \beta = \frac{AO_1^2 + BO_1^2 - AB^2}{2 \times AO_1 \times O_1B} \Rightarrow \beta = \arccos(\beta) \quad (2)$$

Разность углов β и α (обозначим ее γ) – угол, на который повернулась ключица пациента при смещении плеча из нормального (исходного) положения в верхнее, в процессе установки устройства:

$$\angle \beta - \angle \alpha = \angle \gamma$$

Геометрические построения удобно проводить на схеме без рентгенограммы, взяв за основу положение до операции. При переводе плеча в ходе операции в верхнее положение, и в процессе лечения – обратно в исходное, плечо вращается единым блоком вокруг точки O_1 . Отрезок O_1B при переходе плеча в верхнее положение поворачивается на угол γ . От отрезка O_1B по часовой стрелке откладывают угол γ , по лучу откладывают отрезок $O_1B_{\text{НАЧ.}}$, который равен O_1B . Отрезок O_1C при этом также поворачивается на угол γ . От отрезка O_1C по часовой стрелке откладывают угол γ , по лучу – отрезок $O_1C_{\text{НАЧ.}}$, который равен O_1C . Проводят отрезок $CC_{\text{НАЧ.}}$, который является расстоянием, на которое переместится точка прикрепления нерва в области ключицы, при перемещении плеча из нормального (исходного) положения в верхнее, в то, в котором установлено устройство, и в ходе лечения – обратно, в нормальное (исходное) положение. Точку O_2 соединяют с точками C и $C_{\text{НАЧ.}}$, с образованием отрезков CO_2 и $C_{\text{НАЧ.}}O_2$.

Можно определить в треугольнике $O_2C_{\text{НАЧ.}}C$ угол $CC_{\text{НАЧ.}}O_2$ (обозначим его δ):

$$\cos \delta = \frac{CC_{\text{НАЧ.}}^2 + C_{\text{НАЧ.}}O_2^2 - CO_2^2}{2 \times CC_{\text{НАЧ.}} \times C_{\text{НАЧ.}}O_2} \Rightarrow \delta = \arccos(\delta) \quad (3)$$

На этом этап предварительных расчетов заканчивается.

В ходе послеоперационного ведения пациента длина штанги АВ (на начальном этапе ее длина равна $AB_{\text{НАЧ.}}$) постепенно увеличивается. Ключица поворачивается против часовой стрелки вокруг точки вращения O_1 , а точка крепления нерва перемещается из положения $C_{\text{НАЧ.}}$ в положение С. Нерв, при этом, постепенно удлиняется.

Предположим, что ежедневно нерв удлиняется на величину Δ .

Рассмотрим исходное состояние, когда плечо находится в верхнем положении. При удлинении нерва на величину Δ , точка его крепления переместится в положение C_1 . Длина отрезка O_2C_1 будет равна:

$$O_2C_1 = O_2C_{\text{НАЧ.}} + \Delta. \quad (4)$$

Для произвольного треугольника известно выражение (теорема синусов):

$$\frac{a}{\sin A} = \frac{b}{\sin B} = \frac{c}{\sin C}$$

где a, b, c – стороны треугольника, $\sin A, \sin B, \sin C$ – синусы противолежащих углов.

Для треугольника $O_2C_{\text{НАЧ.}}C_1$ известны стороны $O_2C_{\text{НАЧ.}}$ и O_2C_1 , а также угол δ . Обозначим угол $C_{\text{НАЧ.}}C_1O_2$ через ε . Можем записать:

$$\frac{O_2C_{\text{НАЧ.}}}{\sin \varepsilon} = \frac{C_1O_2}{\sin \delta}. \quad (5)$$

Тогда

$$\sin \varepsilon = \frac{O_2C_{\text{НАЧ.}}}{C_1O_2} \sin \delta. \Rightarrow \varepsilon = \arcsin\left(\frac{O_2C_{\text{НАЧ.}}}{C_1O_2} \sin \delta\right) \quad (6)$$

Обозначим угол $C_1O_2C_{\text{НАЧ.}}$ через η . Величина этого угла будет:

$$\angle \eta = 180^\circ - \angle \delta - \angle \varepsilon. \quad (7)$$

Тогда имеем:

$$\frac{O_2C_{\text{НАЧ.}}}{\sin \varepsilon} = \frac{C_1C_{\text{НАЧ.}}}{\sin \eta}. \quad (8)$$

Откуда $C_1C_{\text{НАЧ.}}$ будет:

$$C_1C_{\text{НАЧ.}} = \frac{O_2C_{\text{НАЧ.}}}{\sin \varepsilon} \sin \eta. \quad (9)$$

Величина отрезка CC_1 будет равна:

$$CC_1 = CC_{\text{НАЧ.}} - C_1C_{\text{НАЧ.}} \quad (10)$$

Из треугольника C_1O_1C можно определить величину угла C_1O_1C – это угол γ_1 , который получится при изменении угла γ за сутки:

$$\cos \gamma_1 = \frac{c_1 o_1^2 + c o_1^2 - c c_1^2}{2 \times c_1 o_1 \times o_1 c_1} \Rightarrow \gamma_1 = \arccos(\gamma_1) \quad (11)$$

Угол C_1O_1C (γ_1) равен углу B_1O_1B , так как в процессе лечения плечо вращается единым блоком вокруг точки O_1 ,

Можно определить угол AO_1B_1 (α_1), который получится при удлинении нерва за сутки на Δ :

$$\angle \alpha_1 = \angle \beta - \angle \gamma_1 \quad (12)$$

Из треугольника B_1O_1A можно определить длину отрезка AB_1 :

$$AB_1 = \sqrt{(B_1O_1)^2 + (AO_1)^2 - 2 \times B_1O_1 \times AO_1 \times \cos \gamma_1} \quad (13)$$

Разность длин отрезков AB_1 и $B_{\text{НАЧ.}}A$ – это изменение длины штанги устройства $\Delta_{\text{ШТ.}}$, которое необходимо произвести для увеличения длины нерва за сутки на Δ :

$$\Delta_{\text{ШТ.}} = AB_1 - B_{\text{НАЧ.}}A. \quad (14)$$

За время послеоперационного ведения пациента длина штанги устройства увеличится от $AB_{\text{НАЧ.}}$ до AB . Разделив разность этих величин на $\Delta_{\text{ШТ.}}$ можно определить время (в сутках), необходимое для выведения плеча пациента в нормальное положение:

$$t = (AB - AB_{\text{НАЧ.}}) / \Delta_{\text{ШТ.}} \quad (15)$$

По результатам замеров на рентгенограмме пациента в исходном (нормальном) положении имеем:

$$O_1A = 324 \text{ мм}, O_1B = 184 \text{ мм}, AB = 314 \text{ мм}, O_1C = 88 \text{ мм}.$$

По результатам замеров на рентгенограмме пациента после операции высчитывали:

$$AB_{\text{НАЧ.}} = 228 \text{ мм}. O_1B_{\text{НАЧ.}} = O_1B = 184 \text{ мм}.$$

Проведем вычисления с использованием выражений (1) и (14).

$$(1): \cos \alpha = 0,7284 \Rightarrow \angle \alpha = 43,2^\circ$$

$$(2): \cos \beta = 0,3375 \Rightarrow \angle \beta = 70,3^\circ$$

$$\angle \gamma = \angle \beta - \angle \alpha = 70,3^\circ - 43,2^\circ = 27,1^\circ$$

После построений на фиг. 5 получаем: $CC_{\text{НАЧ.}} = 42$ мм, $O_2C = 80$ мм, $O_2C_{\text{НАЧ.}} = 52$ мм.

$$(3): \cos \delta = -0,5086 \Rightarrow \angle \delta = 120,6^\circ$$

Предположим, что ежедневно нерв удлиняется на $\Delta = 1$ мм.

$$(4): O_2C_1 = O_2C_{\text{НАЧ.}} + \Delta = 52 + 1 = 53 \text{ мм}$$

$$(6): \sin \varepsilon = 0,8607 \Rightarrow \angle \varepsilon = 56,0^\circ$$

$$(7): \angle \eta = 180^\circ - \angle \delta - \angle \varepsilon = 180^\circ - 56,0^\circ - 120,6^\circ = 3,4^\circ$$

$$(9) \quad C_1C_{\text{НАЧ.}} = 3,6 \text{ мм}$$

$$(10): CC_1 = CC_{\text{НАЧ.}} - C_1C_{\text{НАЧ.}} = 42,0 - 3,6 = 38,4 \text{ мм}$$

$$(11): \cos \gamma_1 = 0,9048 \Rightarrow \angle \gamma_1 = 25,2^\circ$$

$$(12): \angle \alpha_1 = \angle \beta - \angle \gamma_1 = 70,3^\circ - 25,2^\circ = 45,1^\circ$$

$$(13): AB_1 = 233,8 \text{ мм}$$

$$(14): \Delta_{\text{ШТ.}} = AB_1 - B_{\text{НАЧ.}}A = 233,8 - 228,0 = 5,8 \text{ мм}$$

$$(15): t = (AB - AB_{\text{НАЧ.}}) / \Delta_{\text{ШТ.}} = (314 - 228) / 5,8 = 14,8 \approx 15 \text{ дней}$$

В результате вычислений получили, что для выведения плеча в нормальное состояние понадобится около 15 дней. При этом удлинение нерва в сутки составит примерно 1 мм. Этот алгоритм был реализован на практике.

Через 4 недели после операции пациент самостоятельно, по заранее определенной врачом программе, параллельно по двум резьбовым штангам, производил дозированный поворот гаек, расположенных на концах резьбовых штанг, перемещая фиксирующее кольцо в дистальном направлении, до полного выведения конечности в физиологическое положение. Темп разгибания выдерживался 1 мм в сутки, что соответствовало полному обороту гайки.

2.5. Методы оценки посттравматического восстановления пациентов с тракционными повреждениями плечевого сплетения.

С целью оценки эффективности посттравматической регенерации на фоне проводимой терапии пациентов основной и контрольных групп с невролизом, невротизацией и нейрорафией на сроках 6-12, 12-18, 18-24 и 24-36 месяцев после

операций на плечевом сплетении проводили оценку восстановления двигательной функции верхней конечности с использованием международной шестибальной шкалы M0-M5. Оценку восстановления чувствительной функции конечности по шкале S0-S5 проводили в группах с нейрорафией и невролизом на тех же сроках. В настоящем исследовании невротизацию поврежденных структур плечевого сплетения целенаправленно выполняли для восстановления двигательной функции денервированной мышцы, а в качестве донорского использовались двигательные или смешанные нервы. При оценке результатов после невротизации исследование чувствительной сферы не проводилось, так как лишено смысла. Учитывали купирование болевого синдрома по визуальной аналоговой шкале ВАШ. Также при оценке степени восстановления после травмы оценивали данные электромиографического исследования.

2.6. Методики статистического анализа количественных клинических данных.

Статистический анализ и визуализация полученных данных проводили с использованием среды для статистических вычислений R 4.1.2 (R Foundation for Statistical Computing, Вена, Австрия). Описательные статистики представлены в виде наблюдаемого числа наблюдений (относительная частота) для качественных переменных и среднего (стандартное отклонение) и медианы (первый и второй квартили) – для количественных в зависимости от результатов проверки соответствия выборочного распределения закону нормального распределения. Проверка на нормальность распределения проводилась с использованием теста Шапиро-Уилка.

Для сравнения 3 групп в отношении количественных переменных использовался тест Краскела-Уоллиса, в качестве post-hoc метода применялся тест Данна с поправкой Холма для множественных сравнений. Для сравнения нормально распределенных связанных наблюдений использовался t-тест Стьюдента. Для оценки различий в динамике количественных переменных использовались смешанные линейные регрессионные модели с включением термина

взаимодействия, для post-hoc сравнений использовались контрасты Тьюки. Сравнение групп в отношении номинативных переменных использовались тест χ^2 Пирсона и точный тест Фишера (при минимальном количестве наблюдений в таблице сопряженности < 5). Для сравнения групп в отношении порядковых показателей (применяли при оценке ВАШ, чувствительной и двигательной функций) использовались модели пропорциональных шансов с оценкой отношения пропорциональных шансов. Различия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Результаты электромиографического исследования у животных.

При исследовании М-ответа икроножной мышцы с использованием регрессионного анализа нами была выявлена статистически значимая разница между группами в отношении динамики данного показателя ($p < 0,0001$). Так, до проведения вмешательства нами не было установлено статистически значимых различий между группами в отношении амплитуды М-ответа икроножной мышцы. После проведения аутонервной вставки седалищного нерва во всех трех группах отмечено статистически значимое снижение максимальной амплитуды М-ответа ($p < 0,0001$).

Сравнительное исследование амплитуды М-ответа через 3, 14, 28, 42, 56 суток после аутонервной вставки седалищного нерва позволила зафиксировать статистически значимо большую амплитуду М-ответа у животных первой и второй групп уже на ранних сроках наблюдения (3 сутки) по сравнению с контрольной группой после проведения вмешательства, статистически значимые отличия наблюдались на всем периоде наблюдения. Статистически значимых отличий между первой и второй группами в результате сравнительного анализа выявлено не было (таблица 5).

Средняя амплитуда М-ответа увеличивалась по мере роста срока наблюдения после операции, и к 56 суткам, практически, достигла нормального уровня, зафиксированного на контралатеральной стороне тела экспериментальных животных ($4,41 \pm 1,05$ мВ против $4,8 \pm 0,59$ мВ, $p = 0,3151$ и $4,23 \pm 1,03$ мВ против $4,64 \pm 0,55$ мВ, $p = 0,1719$ в первой и второй группах соответственно). Интенсивность увеличения амплитуды М-ответа у животных групп сравнения была менее выражена и к 56 суткам не достигла и половины нормального уровня ($1,99 \pm 0,92$ мВ против $4,53 \pm 0,59$ мВ, $p < 0,0001$) (рис. 8).

Таблица 5.

Максимальная амплитуда М-ответа (среднее \pm стандартное отклонение) икроножной мышцы животных после аутонервной вставки седалищного нерва разных сроках после травмы нерва и результаты сравнительного анализа.

Период	Группа			Сравнения		
	СВФ-ЖТ	pBUD-VEGF165-FGF2	Контроль	p ¹	p ²	p ³
До операции	5,51 \pm 0,51	5,50 \pm 0,71	5,49 \pm 0,66	0,9993	0,9976	0,9995
3 сутки	3,50 \pm 1,02	3,61 \pm 0,96	1,06 \pm 1,01	0,9220	<0,0001	<0,0001
14 сутки	2,86 \pm 0,58	3,06 \pm 0,59	1,24 \pm 0,57	0,7658	<0,0001	<0,0001
28 сутки	2,28 \pm 0,55	2,41 \pm 0,70	1,52 \pm 0,90	0,8942	0,0249	0,0066
42 сутки	2,72 \pm 0,84	2,79 \pm 0,59	1,84 \pm 0,69	0,9707	0,0072	0,0034
56 сутки	4,41 \pm 1,05	4,23 \pm 1,03	1,99 \pm 0,92	0,8102	<0,0001	

p¹ – сравнение группы СВФ-ЖТ против группы pBUD-VEGF165-FGF2; p² – сравнение группы СВФ-ЖТ против контроля; p³ – сравнение группы pBUD-VEGF165-FGF2 против контроля.

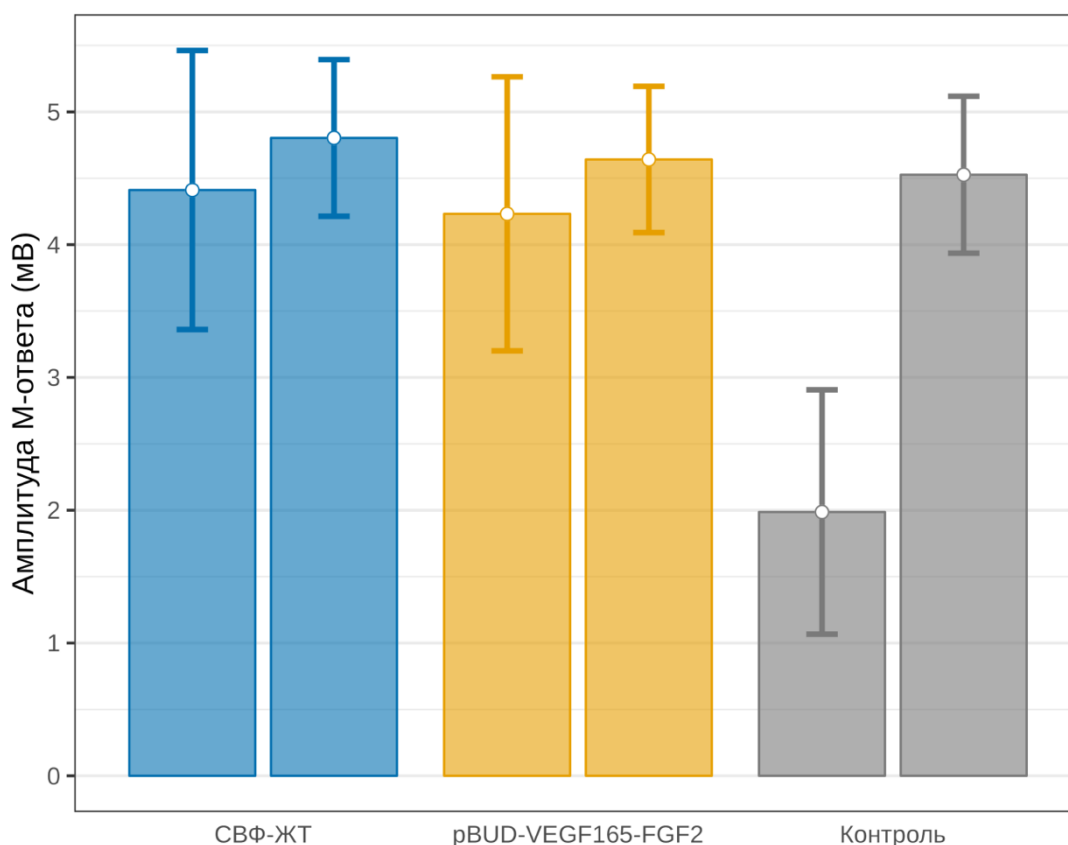


Рисунок 8. Максимальная амплитуда М-ответа (среднее \pm стандартное отклонение) икроножной мышцы животных после аутонервной вставки седалищного нерва через 56 суток со стороны травмы нерва (левый столбик) и с контралатеральной стороны (правый столбик).

3.2. Микроскопический анализ седалищного нерва после аутонервной вставки.

Визуальный осмотр седалищного нерва через 56 суток после аутонервной вставки в группах с введением СВФ-ЖТ и плазмиды pBUD-VEGF165-FGF2 выявил анатомическую целостность нерва с непрерывным эпиневрием и с элементами соединительной ткани. Области швов аутонервной вставки нерва визуализировались, наблюдалось сужение кондуита в диаметре в центральной области вставки по сравнению с проксимальным и дистальными фрагментами. Морфологическая оценка продольных срезов седалищного нерва, окрашенных гематоксилином и эозином, выявила существенное утолщение эпиневрия и

обрастание нерва соединительной тканью с большим количеством кровеносных сосудов и клеточных элементов (рис. 9).



Рисунок 9. Эпиневрй и соединительная ткань на поверхности седалищного нерва через 56 суток после аутонервной вставки. Окрашивание гематоксилином и эозином. Световая микроскопия. Шкала 100 мкм.

В областях швов нерва были выявлены зрелые соединительнотканые рубцы (рис. 10 слева), а также обнаружены незначительные участки образования внутриствольных невром, преимущественно, у шва проксимальной области нерва (рис. 10 справа). Количество невром в образцах продольных срезов седалищных нервов животных, у которых применяли СВФ-ЖТ, было меньше, чем у животных группы сравнения.

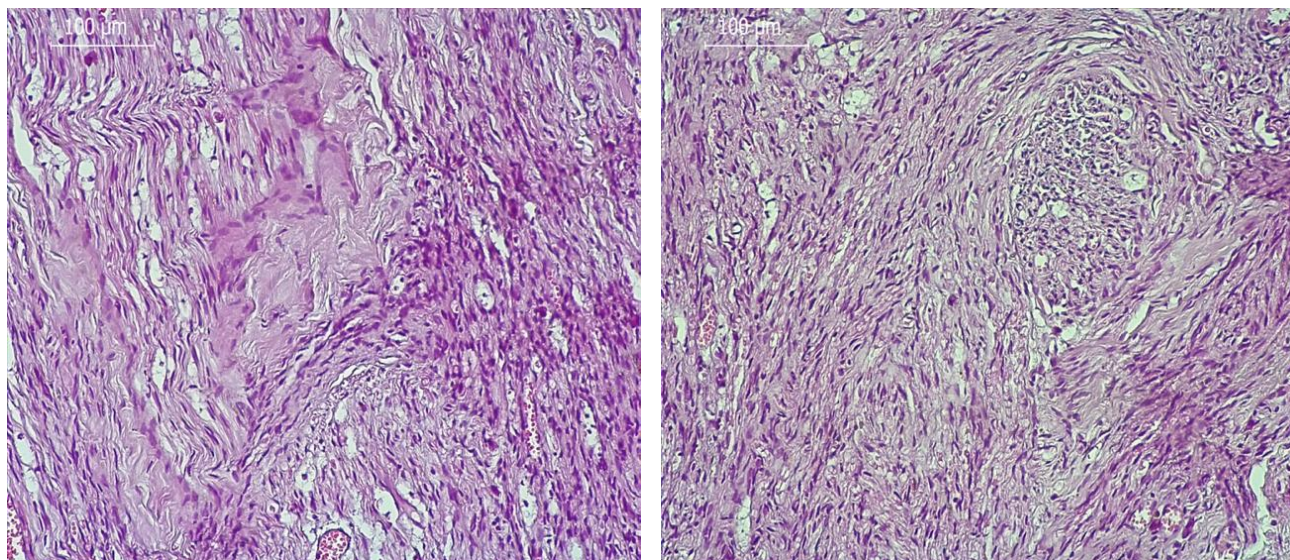


Рисунок 10. Продольный срез центрального отрезка седалищного нерва через 56 суток после аутонервной вставки. Слева – соединительнотканый рубец в области центрального шва нерва, справа – неврома в центральной области шва нерва. Окрашивание гематоксилином и эозином. Световая микроскопия. Шкала 100 мкм.

Микроскопический анализ гистологических продольных и поперечных срезов седалищных нервов животных в исследуемых группах выявил, что продольные волокна в образцах нервов животных первой и второй групп расположены более прямолинейно, чем в образцах животных третьей группы. Кроме того, у животных двух первых групп рубцовый процесс в области шва был менее выражен. В исследуемых областях были обнаружены внутривольные невромы. Важно отметить, что в образцах животных второй группы, которым в ходе операции вводили плазмиду pBUD-VEGF165-FGF2, визуализировался выраженный процесс неоваскуляризации области швов нерва и аутонервной вставки.

Дистальнее дистального шва нерва миелиновые волокна были расположены упорядоченно и имели извитой ход (рис. 11 слева). Сохранялись участки с пустыми цилиндрами, чего не было в центральной области шва нерва. Кровоснабжение нерва было полноценно во всех группах исследования, осуществлялось с неупорядоченными кровеносными сосудами разного диаметра (рис. 11 справа).

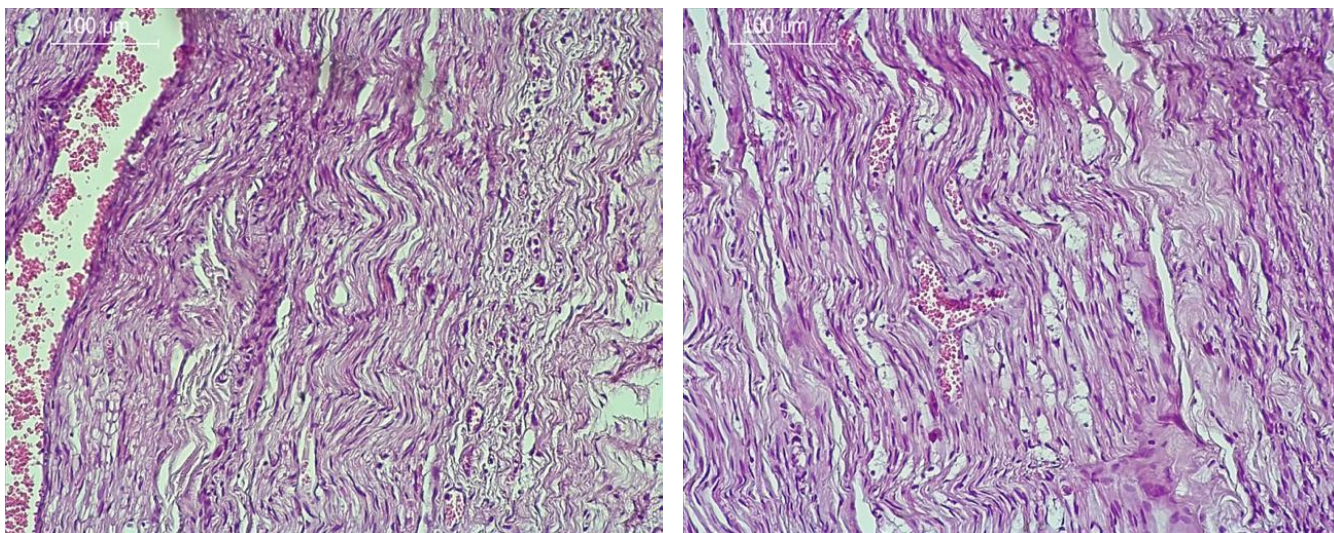


Рисунок 11. Дистальный отрезок седалищного нерва через 56 суток после аутонервной вставки. слева – упорядоченные извитые миелиновые волокна с сохраняющимися пустыми осевыми цилиндрами, справа – обильное кровоснабжение периферического отрезка нерва. Окрашивание гематоксилином и эозином. Световая микроскопия. Шкала 100 мкм.

На продольных срезах седалищного нерва регенерирующие аксоны во всех группах были миелинизированы. В группах с введением СВФ-ЖТ и плазмиды рBUD-VEGF165-FGF2 плотность расположения волокон существенно превышала плотность расположения волокон в группе контроля. В группе контроля волокна были представлены более утолщенными структурами, однако, исходя из показателей выживания нейронов, достоверно можно говорить, что данный показатель не является определяющим при оценке качества регенерации. В ряде работ толщина волокон считается признаком более качественной регенерации (Jiang W. et al., 2016), однако, опираясь на полученные нами данные, можно предположить, что лишь количественные показатели и плотность расположения волокон являются показателем качества регенерации. Кроме того, у животных двух первых групп рубцовый процесс в области шва был менее выражен. Однако, количество невром в образцах животных, у которых применяли СВФ-ЖТ, было меньше, чем у животных группы сравнения. Важно отметить, что в образцах животных второй группы при использовании плазмиды рBUD-VEGF165-FGF2

наблюдался выраженный процесс неоваскуляризации в области шва нерва и аутонервной вставки.

3.3. Микроскопический анализ и количество нейронов спинального ганглия L5.

Подсчет количества нейронов с видимыми ядрышками в спинальных ганглиях L5 исследуемых групп животных выявил, что в группе с введением в область травмы седалищного нерва СВФ-ЖТ (медианное количество клеток – 1396 (1147-1587)) статистически значимо не отличается от группы с введением pBUD-VEGF165-FGF2 (1422 (1098-1902) клеток) ($p = 0,7459$, рис. 12). При этом количество нейронов в контрольной группе, где процесс регенерации проходил в естественных условиях, данный показатель статистически незначимо, однако снижен, по сравнению с экспериментальными группами (медианное количество клеток – 1059 (839-1462) клеток, $p = 0,1322$ и $p = 0,0673$ при сравнении с первой и второй группами соответственно). В группах с использованием СВФ-ЖТ и плазмиды pBUD-VEGF165-FGF2, количество выживающих нейронов было больше на 28,1% ($p = 0,0197$) и 26,8% ($p = 0,0447$), соответственно, по сравнению с животными посттравматическое восстановление которых происходило без стимуляции его регенерации. При этом, между экспериментальными группами со стимуляцией регенерации достоверных отличий зафиксировано не было. В группе контроля количество нейронов было меньше на 45,5% ($p = 0,0001$) по сравнению с интактными животными (рис. 13).

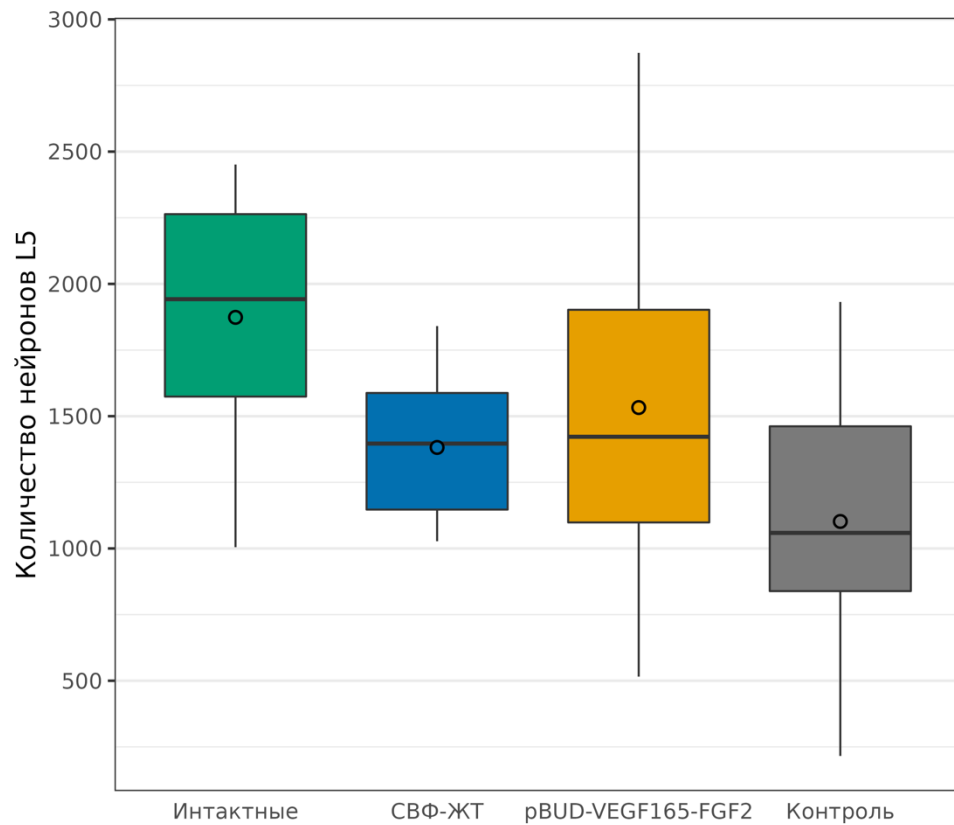


Рисунок 12. Количество нейронов спинального ганглия L5 через 56 суток после аутонервной вставки седалищного нерва крысы.

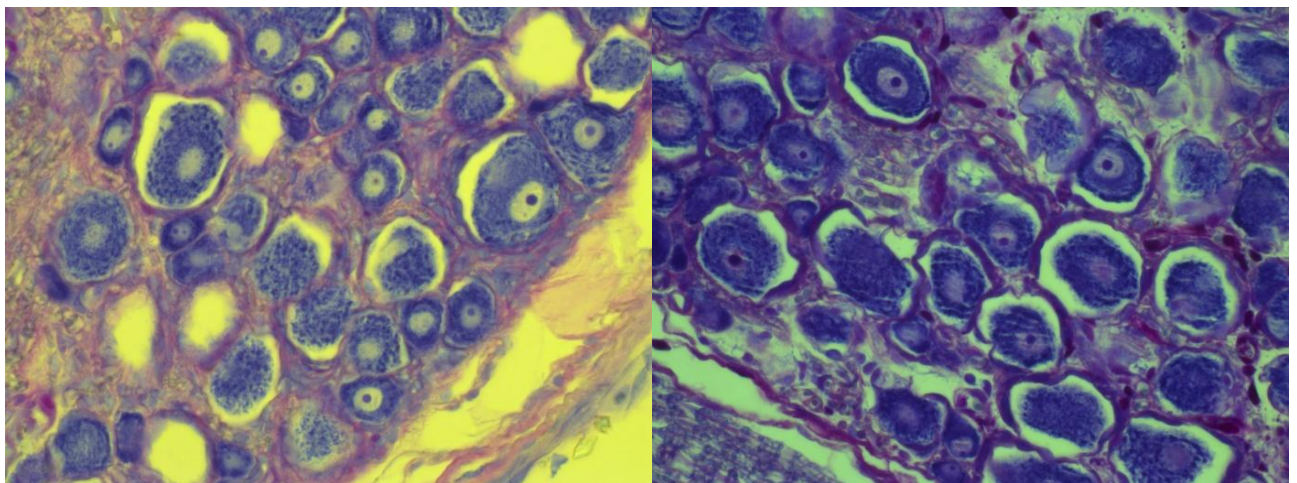


Рисунок 13. Нейроны спинального ганглия L5 через 56 суток после аутонервной вставки седалищного нерва крысы. Слева - группа с введением в область травмы СВФ-ЖТ. Справа - группа с введением в область травмы pBUD-VEGF165-FGF2. Окрашивание метиленовым синим. x40.

3.4. Обсуждение результатов исследования.

Несмотря на существенный прогресс в хирургии повреждений плечевого сплетения, обусловленный развитием науки и внедрением микрохирургической техники, позволившим значительно обогатить арсенал оперативных вмешательств, не всегда удается добиться успешного исхода лечения пациентов. Для повышения эффективности хирургического лечения повреждений плечевого сплетения необходимо создание условий для усиления естественных процессов посттравматической регенерации восстанавливаемого нервного ствола, однако проблема регенерации периферического нерва остается одной из сложно решаемых. Для достижения этой цели перспективным представляется применение стимуляторов регенерации.

Главная цель любого подхода к стимуляции регенерации поврежденных периферических нервов - создать наиболее благоприятную среду для регенерации аксонов в течение длительного периода времени. В современном контексте восстановление нервов больше не рассматривается как вопрос исключительно микрохирургической реконструкции (Rebowe R. et al., 2018). Для этого активно развивающегося направления все чаще используется термин тканевая инженерия, поскольку он отражает поиск междисциплинарных и комплексных стратегий лечения, направленных на поддержание выживания нейронов, стимуляцию роста аксонов и восстановление утраченных функций (Kobayashi E. and Haga J., 2016; Zhang P. X. et al., 2019).

Тканевая инженерия объединяет фундаментальные и клинические исследования основных научных дисциплин, таких как реконструктивная микрохирургия, трансплантация, биоинженерия, физиотерапия и фармакотерапия. Ключевой дисциплиной, несомненно, является реконструктивная микрохирургия, имеющая в своем арсенале научно-технические инновации с целью стимулирования регенерации поврежденной нервной ткани пациента (Wang E. W. et al., 2015; Kou Y. H. et al., 2019). Это сложный процесс, включающий в себя разработку дизайна научных экспериментов и внедрение успешных методов в клиническую практику, так как успешное клиническое применение является

последним звеном получения продуктов тканевой инженерии (Mozafari R. et al., 2018; Zhang P. X. et al., 2019).

Несомненным и обязательным шагом на пути к этому являются экспериментальные исследования на лабораторных животных. В настоящей работе, в ходе комплексного подхода, включающего микрохирургические, гистологические и морфологические методы исследования были проанализированы результаты собственного экспериментального исследования. В работе мы сосредоточили усилия на поиске безопасного и эффективного метода стимуляции регенерации ПНС сопоставимого по своей эффективности с современными генными технологиями. Таким образом, в экспериментальных условиях, наиболее приближенных к клинической практике, были исследованы и зафиксированы стимулирующие свойства СВФ-ЖТ, выделенных из жировой ткани человека на регенерацию периферического нерва крысы. Было проведено сравнение эффективности ксенотрансплантации СВФ-ЖТ с эффектами, полученными при стимуляции аналогичной травмы с помощью генно-терапевтической плазмиды pBud-VEGF165-FGF2 включающей комбинацию терапевтических генов VEGF165 и FGF2.

Применение прямой генной терапии в данный период времени является наиболее перспективным направлением. Различные эндотелиальные факторы активно распространяются в клинической практике. Как наиболее успешно зарекомендовавший себя пример, является препарат «Неоваскулоген». Препарат был зарегистрирован в России в 2012 г. Неоваскулген представляет собой кольцевую ДНК (плазмиду), несущую человеческий ген VEGF 165, кодирующий синтез фактора роста эндотелия сосудов VEGF. Согласно данным авторов, препарат стимулируя образование и рост коллатеральных сосудов, увеличивает ишемизированных тканях капиллярную сеть. Согласно результатам исследований, применение препарата в практическом здравоохранении ведет к статистически значимому снижению числа ампутаций (Плавинский С.Л. и соавт., 2014). Плазида pBUD-VEGF165-FGF2 несущая в себе аналоговые факторы роста Неоваскулогена, дополненная основным фактором роста фибробластов несмотря

на то что не являлась напрямую объектом исследования, а лишь выступала как активный контроль с целью оценки терапевтических свойств СВФ-ЖТ, несомненно, в перспективе займет достойное место в клинической практике лечения травм периферических нервов и плечевого сплетения. В данный период научно-образовательный центр фармацевтики ФГАОУ ВПО К(П)ФУ проходит процесс регистрации препарата для использования в клинической практике. При сравнении двух групп не было выявлено статистически достоверных различий в показателях электромиографического исследования и количества выживающих нейронов спинального ганглия L5. В послеоперационном периоде электромиографическое исследование групп животных со стимуляцией регенерации с помощью СВФ-ЖТ и плазмиды pBud-VEGF165-FGF2 на всех сроках тестирования не выявило достоверных различий в показателях максимальной амплитуды М-ответа икроножных мышц. Однако, данный параметр у обеих экспериментальных групп животных значительно превышал показатель животных контрольной группы. Напротив, исследуемый показатель у животных контрольной группы был намного ниже, чем в группах со стимуляцией регенерации седалищного нерва. Таким образом, принимая во внимание, что показатель максимальной амплитуды М-ответа отражает количество активных мышечных волокон в мышце, тем самым косвенно отражает количество функционирующих аксонов в нерве мы можем заключить, что интраоперационная аутоотрансплантация СВФ-ЖТ и прямая генная терапия с использованием плазмиды pBUD-VEGF165-FGF2 в равной степени стимулируют посттравматическую регенерацию седалищного нерва крысы. Это важное открытие позволило применить аутологичные клетки СВФ-ЖТ в клинической практике с целью ускорения результатов посттравматического восстановления пациентов с травмами плечевого сплетения.

Для понимания механизмов влияния клеточной и генной терапии мы исследовали количество нейронов в спинальном ганглии L5 отражающих количество выживающих нейронов в чувствительном узле, а также провели морфологическое исследование фрагментов седалищных нервов в области

аутонервной вставки. Морфологический анализ продольных срезов седалищного нерва после аутонервной вставки подтвердил данные электромиографического исследования. Миелинизированные аксоны седалищного нерва животных групп со стимуляцией регенерации располагались упорядоченно, тогда как в группе без стимуляции регенерации были обнаружены невномы в области анастомоза нерва создающие препятствия для роста аксонов. Полученные нами данные коррелируют с данными Shimizu M, 2018. В работе авторов толщина нервных волокон при применении в качестве стимулятора регенерации СВФ-ЖТ превосходила группу с использованием мезенхимных стволовых клеток полученных в ходе культивирования СВФ-ЖТ (Shimizu M. et al., 2018). Помимо нейротрофического влияния, прямая генная терапия стимулировала процесс васкуляризации седалищного нерва.

Таким образом, трансплантация СВФ-ЖТ и прямая генная терапия с помощью плазмиды pBUD-VEGF165-FGF доказали свою способность к нейропротекторному действию в отношении чувствительных нейронов, обладают способностью взаимодействовать с нативными шванновскими клетками, вероятно, секретировав нейротрофические факторы, такие как фактор роста нервов (NGF), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) и нейротрофический фактор мозга (BDNF) (Man A.J. et al., 2016), а также стимулируя ангиогенез и реваскуляризацию травмированного нерва (Xu M. et al., 2019) и представляют собой многообещающие подходы для применения в клинической практике.

Трансплантация СВФ-ЖТ способствует регенерации аксонов и их миелинизации и восстановлению атрофированных мышц. Мы не обнаружили дифференцировку трансплантированных в область травмы седалищного нерва крысы клеток СВФ-ЖТ, однако клеточная терапия способствует ускорению темпа регенерации нервов в повреждённой области. В свою очередь прямая генная терапия с использованием плазмиды pBUD-VEGF165-FGF2 так же направленная на увеличение количества миелиновых волокон в области травмы нерва за счет, вероятно, стимуляции процессов васкуляризации. Отсутствие достоверных различий в исследуемых показателях доказывают аналогичное влияние клеток

СВФ-ЖТ, что позволяет рассматривать данные клетки в качестве стимуляторов регенераторных процессов в клинической практике. В связи с этим мы делаем вывод, что данный подход может входить в арсенал хирургов, практикующих хирургическое лечение посттравматического повреждения периферической нервной системы (Spanholtz T.A. et al., 2011). Учитывая полученные данные, мы можем заключить, что стволовые клетки, полученные из жировой ткани пациента, на недифференцированной стадии могут использоваться в качестве альтернативного источника клеток для аутологичной клеточной терапии у пациентов с повреждением периферических нервов.

В литературном обзоре мы подробно описываем возможные клинические модели травматического повреждения стволов периферических нервов, особое внимание уделяя способам реконструкции поврежденных нервных стволов. Модель аутологичного замещения дефекта периферического нерва, признана во всем мире «золотым» стандартом лечения травмированных стволов (Wu R. et al., 2016; Roberts S.E. et al., 2017; Endo T. et al., 2019; Masgutov R. et al., 2019). Вышеописанная экспериментальная модель далека от клинической, так как для восполнения дефекта нерва у человека, в качестве донорского фрагмента используется другой нерв, не совпадающий по диаметру, типу и количеству миелиновых волокон, а также имеющих разные скорости передачи нервного импульса. Однако, данная модель представляется адекватной для оценки безопасности методики и прогнозирования клинических результатов.

3.5. Резюме.

Проведенные экспериментальные исследования показали, что у животных в группах исследований, где применялись стимуляторы регенерации, скорость мышечного ответа при электростимуляции была существенно выше по сравнению с животными, у которых регенерация нерва после аутонервной вставки проходила в естественных условиях. Кроме того, морфологические методы исследования позволили нам заключить, что клеточная терапия с помощью СВФ-ЖТ и генная терапия с помощью плазмиды pBUD-VEGF165-FGF2 позитивна в отношении

уменьшения области рубцовой ткани, что несомненно окажет необходимый эффект для посттравматического восстановления двигательной функции.

Также мы можем заключить, что предлагаемые нами подходы с применением клеточной и генной терапии оказывают нейропротекторный эффект по отношению к чувствительным нейронам спинального ганглия L5, что позитивно сказывается на восстановлении функций поврежденной конечности. Применение СВФ-ЖТ в качестве стимулятора регенерации по своей эффективности не уступает прямой генной терапии. Данные эффекты способствуют регенерации аксонов, миелинизации и восстановлению атрофированных после травмы мышц, что в итоге приводит к восстановлению утраченных функций. Учитывая легкодоступность СВФ-ЖТ и выраженные терапевтические качества, сопоставимые по результативности с прямой генной терапией, данная технология может входить в арсенал хирурга, занимающегося оперативным лечением травматических повреждений периферической или центральной нервной системы.

**РЕЗУЛЬТАТЫ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ПОВРЕЖДЕНИЙ
ПЛЕЧЕВОГО СПЛЕТЕНИЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ КЛЕТОК
СТРОМАЛЬНОЙ ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ**

4.1. Распределение клинических форм паралича верхней конечности у пациентов в основной и контрольной группах исследования.

Было выявлено отсутствие статистически значимых различий в отношении клинических форм паралича при сравнении пациентов основной и контрольной групп ($p = 0,9974$). Подробная клиническая характеристика паралича верхней конечности при повреждении плечевого сплетения представлена в таблице 6.

Таблица 6.

Характеристика паралича при повреждении плечевого сплетения.

Тип паралича	Основная группа	Группа сравнения	p
Верхний паралич Дюшена-Эрба (C5-C6 верхний ствол)	7 (23,3%)	8 (25,0%)	0,8783
Нижний паралич Дежерин-Клюмпке (C7-C8, Th1 нижний ствол)	5 (16,6%)	5 (15,6%)	0,9113
Мозаичная картина (изолированное повреждение отдельных структур ПС)	11 (36,6%)	12 (37,5%)	0,9459
Тотальный паралич (C5-Th1)	7 (23,3%)	7 (21,9%)	0,891

Таким образом группы сравнения были представлены статистически равнозначными по количеству пациентов и степени травматического повреждения. В зависимости от показаний, пациентам были проведены реконструктивные (невролиз и невротизация, по показаниям) операции на плечевом сплетении.

4.2 Оценка посттравматического восстановления после невролиза плечевого сплетения.

Восстановление двигательной функции. После выполнения невролиза плечевого сплетения положительный функциональный результат был получен у большинства пациентов. У четырех пациентов из группы контроля и двух пациентов из группы Невролиз + СВФ-ЖТ функция конечности после оперативного вмешательства не восстановилась. Через 3-6 месяцев после операции функционального восстановления до уровня М4 в группе контроля достигли четыре пациента (20% от общего количества пациентов в данной группе), тогда как в группе Невролиз + СВФ-ЖТ восемь пациентов, что составило 40% от общего количества пациентов в данной группе. Ускорение восстановления двигательной функции у пациентов, которым был проведен невролиз с трансплантацией клеток СВФ-ЖТ, был зафиксирован и на сроке 6-12 месяцев. Так, функционально значимый показатель М4 достигли девять пациентов (45%) группы контроля, тогда как в группе Невролиз + СВФ-ЖТ этот показатель был достигнут у 14 пациентов, что составило 70% от общего количества пациентов в данной группе. Через 12-18 месяцев в группе контроля у четырех пациентов (20%) двигательная функция не восстановилась, у трех пациентов (15%) двигательная функция восстановилась до показателя М3 и у 13 пациентов (65%) функция восстановилась до показателя М4. На данном сроке исследования в группе Невролиз + СВФ-ЖТ у двух пациентов (10%) двигательная функция не восстановилась, у пятнадцати пациентов (75%) двигательная функция восстановилась до показателя М4 и у двух пациентов (10%) функция восстановилась до показателя М5. На сроке 18-24 месяца после невролиза в группе контроля, восстановление двигательной функции до показателя М4 зафиксировано у 14 пациентов (70%). При изначально равнозначных по количеству пациентов и степени травматического повреждения плечевого сплетения между группами, у пациентов из группы Невролиз + СВФ-ЖТ показателя М4 достигли восемь пациентов (40%) и у десяти пациентов

восстановление двигательной функции достигло уровня М5, что составило 50% от количества пациентов в группе. Таким образом, при сравнительном анализе скорости и степени восстановления двигательной функции нами была выявлена значимо большая доля пациентов с восстановленной двигательной функцией к концу периода наблюдения в основной группе при сравнении с контрольной (таблица 7).

Таблица. 7.

Показатели восстановления двигательной функции верхней конечности на разных сроках после невролиза ПС (* - $p < 0,0001$).

Группа		До операции	3-6 месяцев	6-12 месяцев	12-18 месяцев	18-24 месяца
Невролиз	М0	20 (100%)	12 (60%)	8 (40%)	4 (20%)	4 (20%)
	М1	–	–	–	–	–
	М2	–	4 (20%)	1 (5%)	–	–
	М3	–	–	2 (10%)	3 (15%)	2 (10%)
	М4	–	4 (20%)	9 (45%)	13 (65%)	14 (70%)
	М5	–	–	–	–	–
Невролиз + СВФ-ЖТ:	М0	20 (100%)	7 (35%)	2 (10%)	2 (10%)	2 (10%)
	М1	–	–	–	–	–
	М2	–	–	–	–	–
	М3	–	5 (25%)	2 (10%)	–	–
	М4	–	8 (40%) *	14 (70%) *	15 (75%) *	8 (40%) *
	М5	–	–	2 (10%)	3 (15%)	10 (50%)

Процентное распределение клинических проявлений восстановления двигательной функции после невролиза плечевого сплетения представлено на рис. 14.

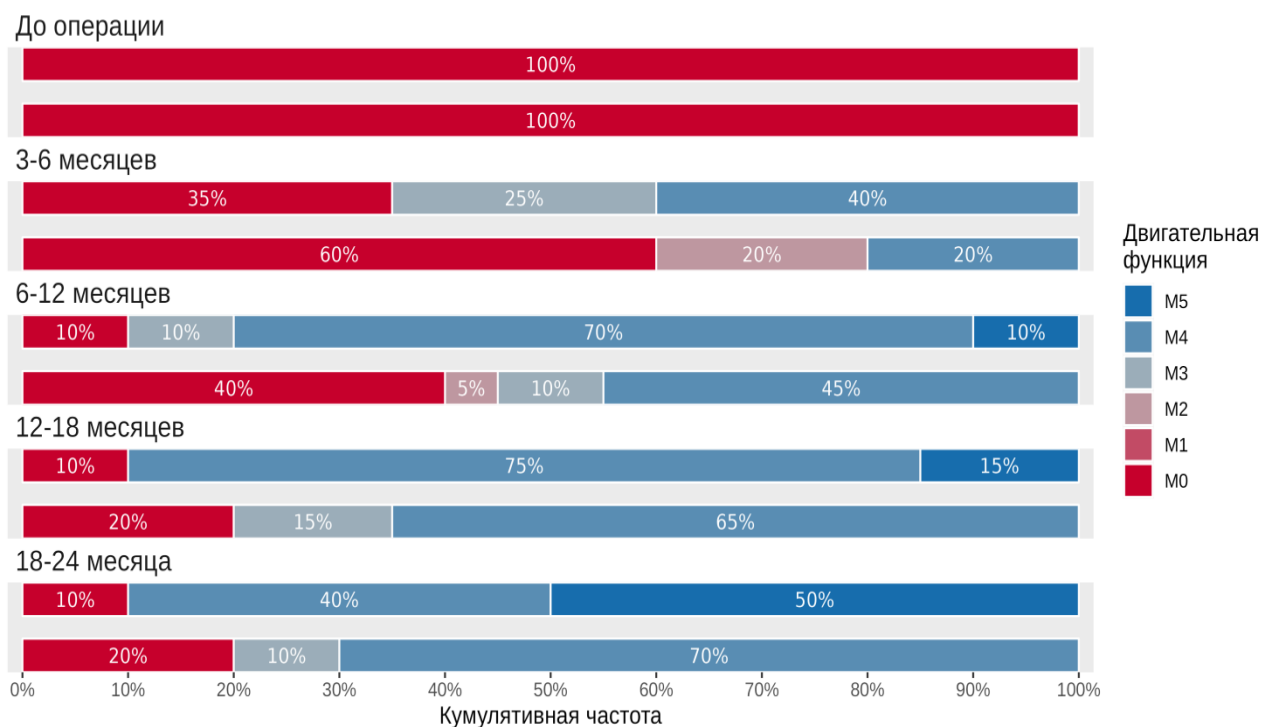


Рисунок 14. Показатели восстановления двигательной функции конечности вместе с предшествующими значениями после невролиза.

Восстановление чувствительной функции. Особое внимание уделялось оценке посттравматического восстановления чувствительности оперированной конечности по шкале S0-S4. Проявление чувствительной функции опережало по срокам восстановления двигательной функции. В ходе анализа полученных данных было зафиксировано, что через 3-6 месяцев после операции функционального восстановления до уровня S3 в группе контроля достигли четыре пациента (20% от общего количества пациентов в данной группе), тогда как в группе Невролиз + СВФ-ЖТ девять пациентов, что составило 45% от общего количества пациентов в данной группе. Ускорение восстановления чувствительной функции у пациентов, которым был проведен невролиз с трансплантацией клеток СВФ-ЖТ, был зафиксирован также на сроке 6-12 месяцев. Так, в группе контроля, функционального результата до уровня S3 достигли 5 пациентов (25%), тогда как в основной группе исследования данного показателя достигли 15 пациентов (75%). Существенную разницу мы обнаружили

на более поздних сроках исследования. Так, через 12-18 месяцев, у пациентов группы с применением СВФ-ЖТ уровня S3 достигли 13 пациентов из группы (65%), а в группе контроля 9 пациентов (45%). На сроках 18-24 месяцев, уровня S4 достигли 10 пациентов 50% группы исследования, и лишь 6 пациентов (30%) из группы контроля. Представленные различия в показателях восстановления чувствительности между группами были статистически значимыми ($p < 0,0001$) (табл. 8).

Таблица 8.

Результаты восстановления чувствительной функции на разных сроках после невролиза в контрольной и основной группах исследования (* - $p < 0,0001$).

Группа		До операции	3-6 месяцев	6-12 месяцев	12-18 месяцев	18-24 месяца
Невролиз	S0	20 (100%)	12 (60%)	8 (40%)	4 (20%)	4 (20%)
	S1	–	1 (5%)	1 (5%)	–	–
	S2	–	3 (15%)	2 (10%)	3 (15%)	2 (10%)
	S3	–	4 (20%)	5 (25%)	9 (45%)	8 (40%)
	S4	–	–	4 (20%)	4 (20%)	6 (30%)
Невролиз + СВФ-ЖТ	S0	20 (100%)	7 (35%)	2 (10%)	2 (10%)	2 (10%)
	S1	–	–	–	–	–
	S2	–	4 (20%)	1 (5%)	–	–
	S3	–	9 (45%) *	15 (75%) *	13 (65%) *	8 (40%)
	S4	–	–	2 (10%)	5 (25%)	10 (50%) *

Процентное распределение клинических проявлений восстановления чувствительной функции после невролиза плечевого сплетения представлено на рис. 15.

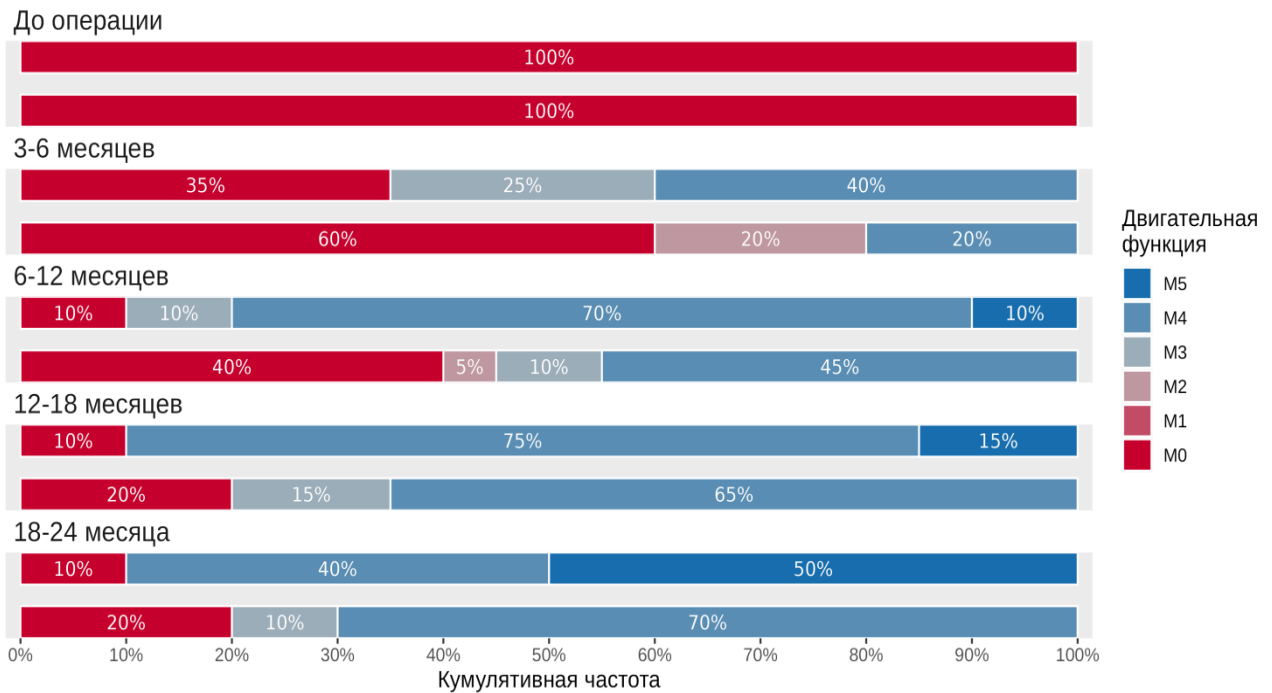


Рисунок 15. Показатели восстановления чувствительной функции конечности вместе с предшествующими значениями после невролиза.

Оценка болевого синдрома (ВАШ). Степень купирования болевого синдрома оценивалась по шкале ВАШ. Было показано, что к итоговому осмотру пациентов контрольной группы после невролиза болевой синдром в среднем снижался на 3-4 пункта. При этом, в основной группе исследования болевой синдром в среднем снижался на 2-3 пункта. Купировать болевой синдром в процессе наблюдения удалось в контрольной группе у 79,1% (19 из 24 пациентов), а в основной группе у 90% (18 из 20 пациентов), у остальных пациентов удалось добиться снижения болевых ощущений. Различия в частоте купирования болевого синдрома между пациентами контрольной и опытной группы не были статистически значимыми ($p = 0,4279$).

Электромиографическое исследование. У пациентов после невролиза оценивали электрофизиологические параметры, отражающие динамику функционального восстановления с подсчетом КДЕ в процентном отношении к контралатеральной конечности. В основной группе первые признаки М-ответа

регистривались на сроке 0-6 месяцев после операции и достигали показателей интактной конечности к 18-24 месяцам. В группе контроля КДЕ было значительно ниже, по сравнению с основной группой исследования (рис. 16). В контрольной группе, где посттравматическое восстановление проходило в естественных условиях КДЕ было значительно ниже, по сравнению с основной группой исследования (рис. 16).

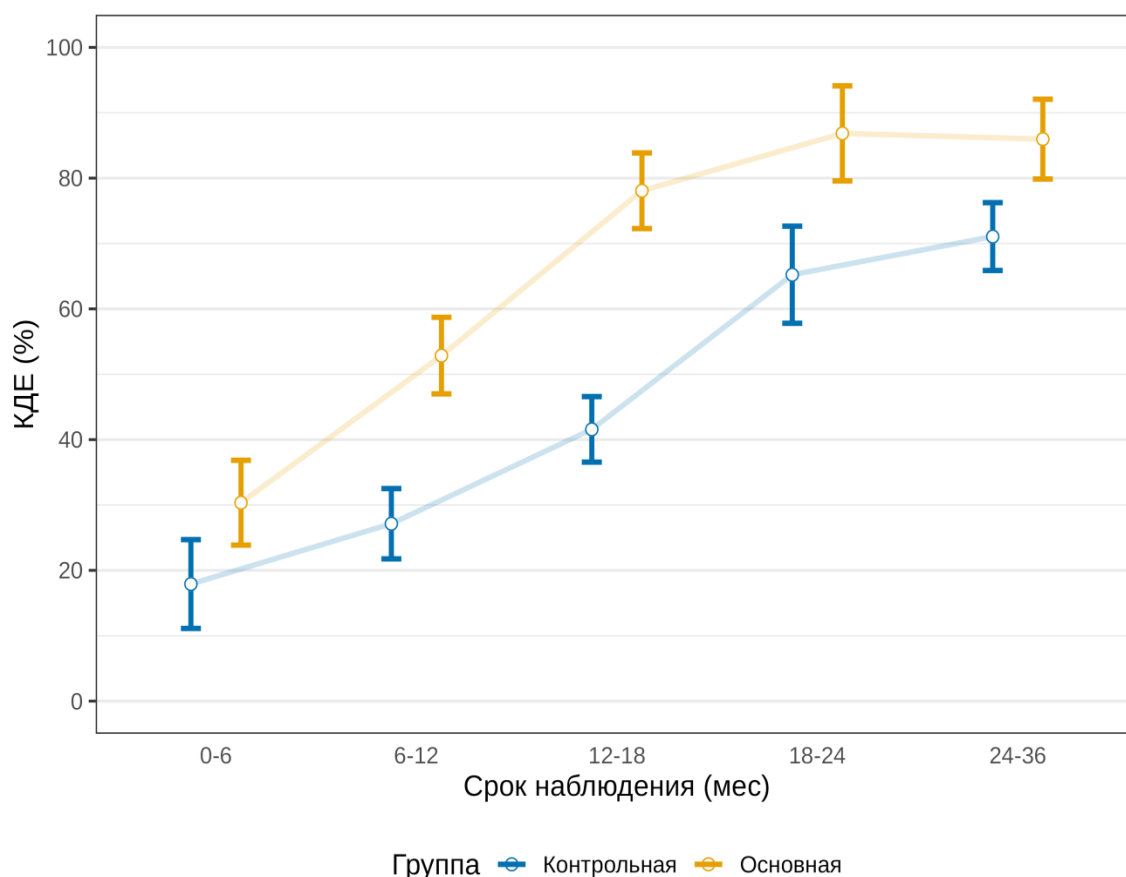


Рисунок 16. Результаты электромиографического исследования пациентов после невролиза плечевого сплетения в контрольной и основной группах на разных сроках исследования. КДЕ – количество двигательных единиц. * - $p < 0,0001$.

Клинический пример 1. Пациент Д, 29 лет, диагноз: закрытое тракционное повреждение правого плечевого сплетения. Травма получена в результате автоаварии, поступил в отделение на сроке 8 месяцев после получения травмы. Клинические проявления: гипотрофия мышц верхнего плечевого пояса и плеча, нарушение функции надостной, подостной, передней зубчатой, дельтовидной,

трехглавой, плечелучевой мышц и двуглавой мышцы плеча с показателями M2 - M3. Данные ЭНМГ: снижение скорости распространения возбуждения, максимального M-ответа, уменьшение количества двигательных единиц в денервированных мышцах в пределах 38 - 52%. Пациенту выполнены невролиз и эндоневролиз верхнего и среднего первичного стволов с иссечением фиброзной ткани параневрально и из межфасцикулярных пространств с введением в область травмы нерва СВФ-ЖТ 8 млн. клеток (рис. 17).

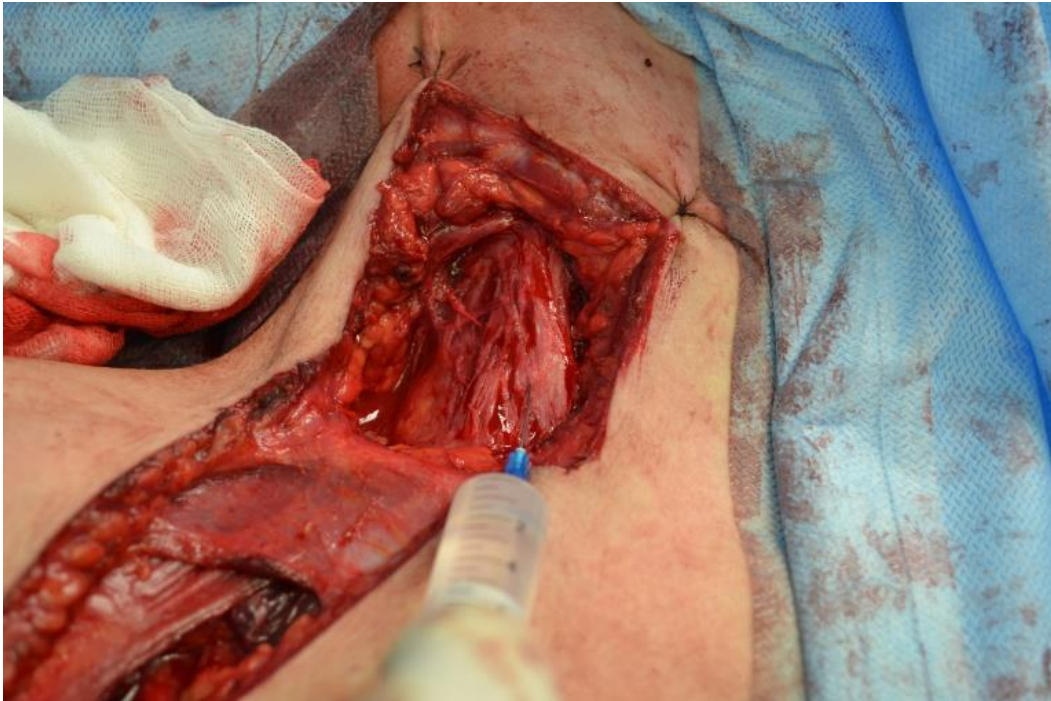


Рисунок 17. Невролиз и эндоневролиз верхнего и среднего первичного стволов плечевого сплетения. Выполнено иссечение фиброзной ткани параневрально и из межфасцикулярных пространств, с последующим введением клеток СВФ-ЖТ.

Оценка функционального восстановления пациента выявила восстановление двигательной функции до уровня M5 и чувствительной функции до уровня S4 на сроке 9 месяцев после операции (рис. 18).



Рисунок 18. Функциональный результат на сроке 5 месяцев после невролиза и эндоневролиза верхнего и среднего первичного стволов плечевого сплетения с введением клеток СВФ-ЖТ.

В ходе проведения электромиографического исследования первые признаки М-ответа были зафиксированы на сроке 4 месяца. Количество двигательных единиц на сроке 6-12 месяцев превысило аналогичный показатель на сроках 0-6 месяцев на 70,65% (рис. 19)

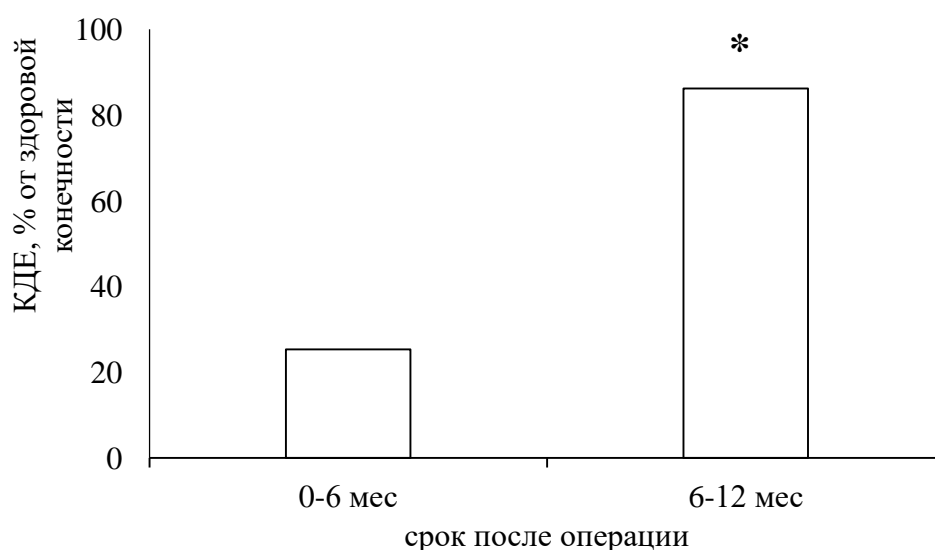


Рисунок 19. Результаты электромиографического исследования пациента Д. после невролиза и эндоневролиза верхнего и среднего первичного стволов плечевого сплетения. По оси x – количество двигательных единиц (КДЕ). По оси y- сроки обследования. * - $p < 0,0001$.

Резюме. Несмотря на существенные сроки между травмой и операцией, которые составили от 7 до 13 месяцев, обширность зоны повреждения, сопровождавшаяся фиброзными изменениями параневральных и интраневральных тканей при использовании клеток СВФ-ЖТ в качестве стимулятора нейрорегенерации позволило ускорить и улучшить регенераторный процесс и получить положительные функциональные результаты лечения в более короткие сроки с опережением на 4-6 месяцев.

В сравнительной группе аналогичные результаты лечения были получены в 68% случаев, а сроки восстановления составили 6-13 месяцев. Положительные результаты лечения пациентов методом невролиза с аутотрансплантацией клеток СВФ-ЖТ получены у 18 пациентов – 90%, при том что «хорошие» и «отличные» функциональные результаты получены в 65% случаев, «удовлетворительные» - 25% случаев.

Таким образом, невролиз плечевого сплетения с применением клеток СВФ-ЖТ позволил улучшить результаты лечения на 22% и сократить сроки восстановления на 4-6 месяцев.

4.3. Оценка посттравматического восстановления после невротизации плечевого сплетения.

Восстановление двигательной функции. Оценку эффективности восстановления двигательной функции в основной группе исследования и группе сравнения оценивали на всех сроках исследования. Восстановление двигательной функции в группе с применением СВФ-ЖТ опережало по срокам группу сравнения. Так, на сроках 12-18 месяцев после невротизации показателя М4 в группе контроля достиг 1 пациент (n=12, (8.3%)), при этом в группе с применением СВФ-ЖТ данного показателя достигли 9 пациентов (90%). На сроках 24-36 месяцев показатели по данному параметру не были достоверными, 9 пациентов (75%) из контрольной группы и 7 пациентов (70%) из основной группы достигли показателя восстановления двигательной функции до уровня М4.

Однако только в опытной группе на этом сроке, 3 пациента (30%) достигли восстановления двигательной функции до уровня М4. Показатели параметров восстановления двигательной функции после невротизации плечевого сплетения в основной группе (с введением СВФ-ЖТ) и группе сравнения представлены в таблице 9.

Таблица 9.

Результаты восстановления двигательной функции в основной и контрольной группах исследования на разных сроках после невротизации.

Группа		До операции	3-6 месяцев	6-12 месяцев	12-18 месяцев	18-24 месяца
Контрольная	М0	12 (100%)	12 (100%)	10 (83.3%)	4 (33.3%)	–
	М1	–	–	–	–	–
	М2	–	–	2 (16.7%)	6 (50%)	–
	М3	–	–	–	1 (8.3%)	3 (25%)
	М4	–	–	–	1 (8.3%)	9 (75%)
	М5	–	–	–	–	–
Основная	М0	10 (100%)	6 (60%)	1 (10%)	–	–
	М1	–	–	–	–	–
	М2	–	3 (30%)	1 (10%)	–	–
	М3	–	–	4 (40%)	1 (10%)	–
	М4	–	1 (10%)	4 (40%) *	9 (90%) *	7 (70%) *
	М5	–	–	–	–	3 (30%) *

Процентное распределение клинических проявлений восстановления двигательной функции конечности после невротизации плечевого сплетения представлено на рис. 20.

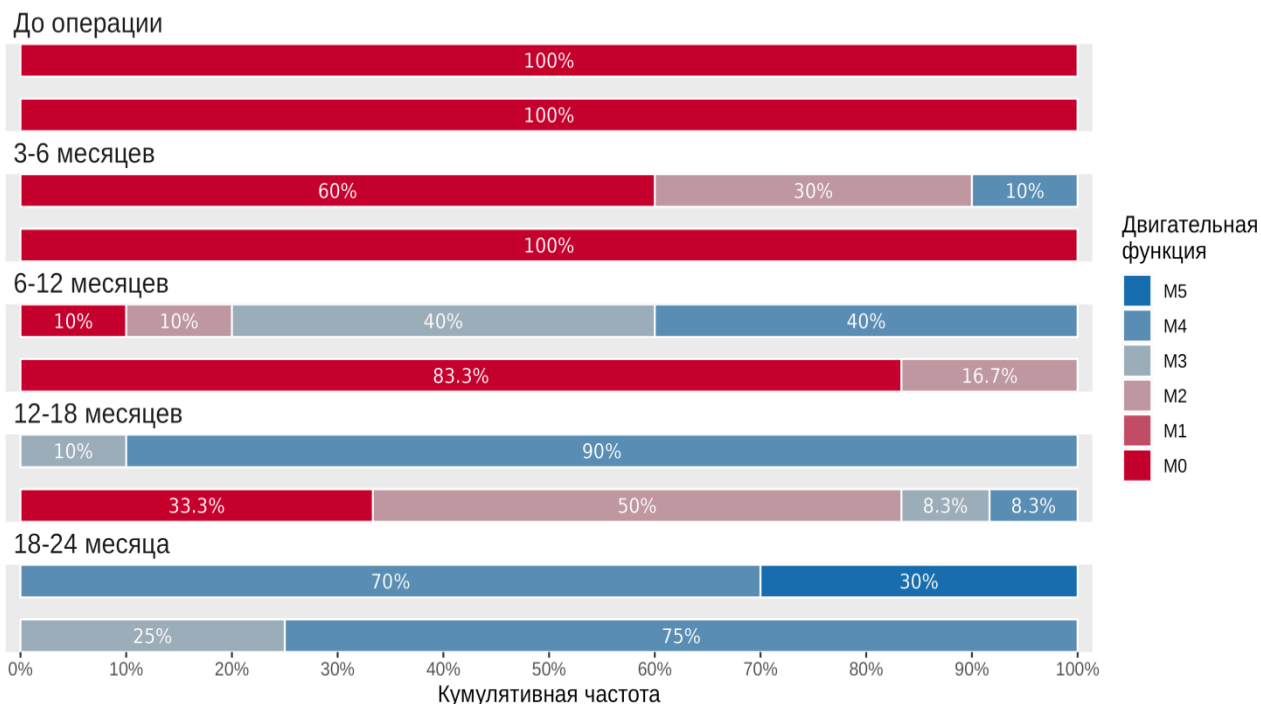


Рисунок 20. Показатели восстановления двигательной функции конечности вместе с предшествующими значениями после невротизации.

В работе отдавали приоритет восстановлению функции отведения в плечевом и сгибания в локтевом суставах как в контрольной так и в основной группах исследования. Для получения функции отведения и наружной ротации плеча осуществлялась невротизация надлопаточного нерва 2 пациентам, в качестве невротизатора использовался добавочный нерв, этим же пациентам выполнена невротизация двигательной ветви мышечно-кожного нерва в одном случае – внутренним пучком локтевого нерва, в другом – 3, 4, 5 межреберными нервами.

Результаты сравнительного анализа восстановления чувствительной и двигательной функций.

Период	Чувствительная функция		Двигательная функция	
	ОШ [95% ДИ]	p	ОШ [95% ДИ]	p
Невролиз ПС				
3-6 месяцев	3,08 [0,94; 10,69]	0,0677	3,34 [1,01; 11,68]	0,0515
6-12 месяцев	2,87 [0,86; 10,20]	0,092	5,86 [1,59; 25,66]	0,0113
12-18 месяцев	2,29 [0,68; 8,26]	0,1889	6,11 [1,34; 44,19]	0,034
18-24 месяца	2,62 [0,81; 8,98]	0,1138	12,88 [2,87; 93,31]	0,0027
Невротизация ПС				
3-6 месяцев	–	–	–	0,0065
6-12 месяцев	–	–	92,27 [9,02; 2611,63]	0,0009
12-18 месяцев	–	–	150,92 [12,09; 6272,39]	0,0009
18-24 месяца	–	–	–	0,0038

Одному пациенту выполнялась невротизация подмышечного нерва 3,4,5 межреберными нервами, мышечно-кожного добавочным. В другом случае имело место изолированное повреждение корешка C5, который был невротизирован двигательными ветвями шейного сплетения и добавочным нервом. У 6 наиболее тяжелых пациентов имел место преганглионарный отрыв корешков C5–Th1 без возможности спонтанного восстановления. Однако, эту группу пациентов можно считать самой достоверной для получения результата выполненной реконструкции. Поскольку реиннервация дистальных отделов верхней конечности малоперспективна и не всегда удается достичь ожидаемый результат. В дальнейшем возможна ортопедическая коррекция в виде трансплантации мышц, сухожильно-мышечной пластики, тено- и артродеза. На наш взгляд в наиболее целесообразным было выполнение мононевротизации мышечно-

кожного нерва добавочным нервом в 3 случаях и 3,4,5 межреберными нервами в следующих 3 случаях.

В результате невротизации надлопаточного нерва добавочным нервом (2 наблюдения) удалось достичь восстановление функции отведения и наружной ротации плеча до показателя М4 в 1 наблюдении на сроке 5 месяцев, в другом наблюдении на сроке 8 месяцев функция соответствовала показателю М3, в обоих наблюдениях был устранен подвывих головки плечевой кости.

В одном из наблюдений результатов невротизации подмышечного нерва 3,4,5 межреберными нервами удалось получить функцию дельтовидной и малой круглой мышцы до степени М3 с отведением плеча до 60 градусов, наружной ротацией 15 градусов.

Восстановление корешка С5 при его изолированном повреждении осуществлялось невротизацией добавочным нервом и двигательными ветвями шейного сплетения, полученный результат соответствовал показателю М4 с восстановлением функции надостной, подостной и дельтовидной мышц с возможностью отведения плеча на 90 градусов.

Одним из вариантов восстановления мышечно-кожного нерва являлась его невротизация внутренним пучком локтевого нерва. Данный вид невротизации способствовал восстановлению функции двуглавой мышцы плеча до степени М4 со сгибанием в локтевом суставе до 90 градусов и с супинацией предплечья.

Наилучшие функциональные результаты были получены после невротизации мышечно-кожного нерва межреберными нервами с введением в область травмы СВФ-ЖТ – 4 наблюдения и добавочным нервом – 4 наблюдения. Во всех наблюдениях достигнуто восстановление функции двуглавой мышцы плеча до степени М4 в 5 наблюдениях, М5 – в 3 наблюдениях.

Восстановление чувствительной функции в группах с невротизацией не исследовали в виду того что в настоящем исследовании невротизация поврежденных структур плечевого сплетения целенаправленно выполнялась для восстановления двигательной функции денервированной мышцы, а в качестве донорского использовались двигательные или смешанные нервы. При оценке

результатов после невротизации ПС исследование чувствительной сферы не проводилось, так как лишено смысла.

Электромиографическое исследование. В послеоперационном периоде оценивали электрофизиологические параметры, отражающие динамику функционального восстановления с подсчетом КДЕ в процентном отношении к интактной конечности. В основной группе первые признаки М-ответа регистрировались на сроке 4-6 месяцев после операции и достигали показателей интактной конечности к 18-24 месяцам, в отличие от группы контроля где первые признаки М-ответа были зарегистрированы к 9-12 месяцам и достигали показателей неповрежденной конечности к 24-36 месяцам. Исходя из полученных данных было подсчитано количество двигательных единиц (рис. 21). При сравнительном анализе нами была установлено статистически значимо большее относительное количество двигательных единиц в основной группе по сравнению с контрольной на всех сроках наблюдения (таблица 11).

Таблица 11.

Результаты электромиографического исследования пациентов после невротизации плечевого сплетения в контрольной и основной группах на разных сроках исследования

Срок наблюдения	Группа		p
	Контрольная	Основная	
0-6 мес.	1,94±1	12,36±7,32	<0,0001
6-12 мес.	14,77±7,13	32,86±5,87	<0,0001
12-18 мес.	31,64±6,14	48,06±5,5	<0,0001
18-24 мес.	54,25±7,48	86,77±6,77	<0,0001
24-36 мес.	76,06±5,11	85,13±6,32	0,0001

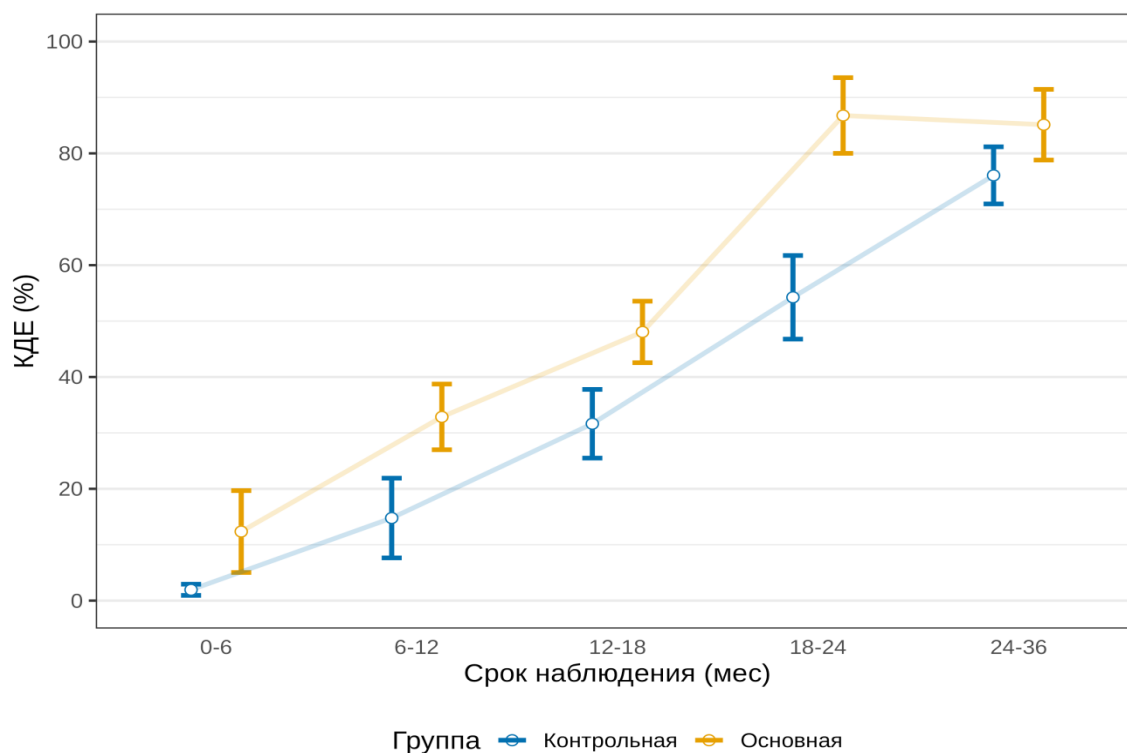


Рисунок 21. Результаты электромиографического исследования пациентов после невротизации плечевого сплетения в контрольной и основной (с введением СВФ-ЖТ) группах на разных сроках после операции.

Клинический пример 1. Пациент Б., 32 года, поступил в отделение с диагнозом Повреждение левого плечевого сплетения. Пострадал в результате ДТП. В посттравматическом периоде пациент отмечал отсутствие функций отведения в плечевом суставе, сгибания в локтевом суставе, а также наружной ротации плеча левой верхней конечности. В течение восьми месяцев после травмы получал консервативную терапию в ЦРБ по месту жительства. В результате реабилитационного лечения наблюдали восстановление функции отведения руки в плечевом суставе и наружной ротации плеча.

При поступлении в отделение жалобы на отсутствие функции сгибания в локтевом суставе. При осмотре отмечалась атрофия двуглавой мышцы плеча. По данным электронейромиографического исследования отмечена полная денервация мышцы плеча, М-ответ не был зарегистрирован. На основании анамнеза, клинических данных и результатов ЭМНГ принято решение о проведении реконструктивной операции: невротизации мышечно-кожного нерва

3, 4, 5 межреберными нервами с аутотрансплантацией клеток СВФ-ЖТ (рис. 22). Для этого у пациента перед операцией на плечевом сплетении была забрана жировая ткань и произведено выделение клеток СВФ-ЖТ в количестве 7,5 миллионов.

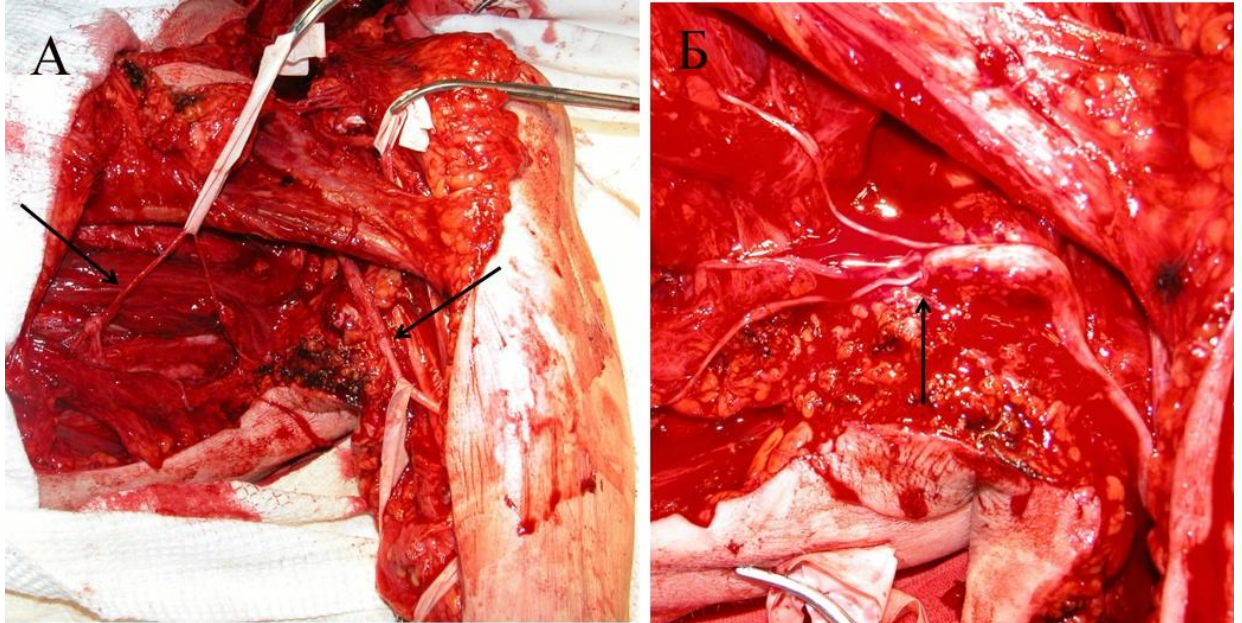


Рисунок 22. Невротизация мышечно-кожного нерва 3, 4, 5 межреберными нервами с аутотрансплантацией клеток СВФ-ЖТ. А -выделение межреберных и мышечно-кожного нерва. Б – подготовка к нейрорафии. Стрелками указаны межреберные и мышечно-кожный нерв и зона шва.

Под эндотрахеальным наркозом был выполнен доступ к мышечно-кожному нерву, последний был проксимально отсечен и реверсирован в подмышечную область. Далее субпериостально, внеплеврально были выделены и отсечены 3, 4, 5 межреберные нервы от средне-ключичной линии с реверсией их в подмышечную область. Произведено их периневральное сшивание с проксимальным концом мышечно-кожного нерва и последующей интраневральной трансплантацией СВФ-ЖТ как в межреберные, так и мышечно-кожный нерв. Операцию завершали послойным ушиванием раны.

Послеоперационный период протекал без особенностей, рана зажила первичным натяжением, на восьмые сутки после операции пациент был выписан из стационара. При контрольном осмотре пациента на сроке 4 месяца после

операции выявлены: первые признаки реиннервации двухглавой мышцы плеча — пациент осуществляет сгибание руки в локтевом суставе в положении лежа, с оценкой функции M1. На сроке 10 месяцев после операции отмечено сгибание верхней конечности в локтевом суставе в положении стоя с преодолением силы тяжести, с оценкой функции M2-M3 (рис. 23 слева). На отдаленном сроке, 3 года после операции, пациент удерживал гирию весом 3 кг. Функция мышцы соответствовала оценке M4-M5 (рис. 23 справа).



Рисунок 23. Функциональный результат восстановления функции верхней конечности после невротизации мышечно-кожного нерва 3, 4, 5 межреберными нервами с ауто трансплантацией клеток СВФ-ЖТ. Слева - через 10 месяцев (слева) и справа - через 36 месяцев (справа) после операции.

В ходе проведения электромиографического исследования на сроках 0-6 месяцев, 6-12 месяцев, 12-24 месяца и 24-36 месяцев было выявление увеличение количества двигательных единиц (рис. 24).

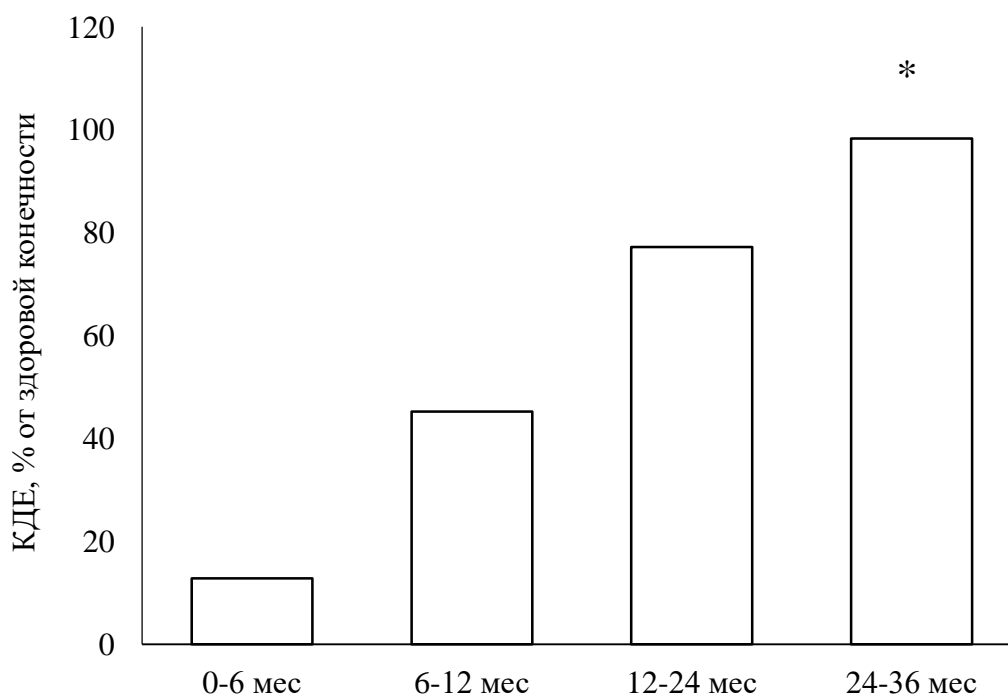


Рисунок 24. Результаты электромиографического исследования пациента Б. после невротизации. По оси x – количество двигательных единиц (КДЕ). По оси y – сроки после операции.

При стандартной невротизации мышечно-кожного нерва межреберными нервами, первые признаки реиннервации мышцы наступали на сроках 8-10 месяцев. В данном наблюдении мы получили первые признаки реиннервации мышцы на сроке 4 месяца, которые подтверждались данными ЭНМГ. Несмотря на позднее обращение пациента (на сроке 8 месяцев с момента травмы), в динамике наблюдалось нарастание амплитуды М-ответа, и на сроке 3 года достигла данный показатель повысился и составил 74% относительно здоровой конечности, с получением функции двухглавой мышцы плеча с оценкой М4-М5.

Клинический пример 2. Пациент Г., поступил в отделение микрохирургии с диагнозом: Повреждение правого плечевого сплетения на сроке 7 месяцев после получения травмы. Повреждение получено в результате упавшего железного бруса на плечо. Имела место клиника повреждения верхнего первичного ствола, подтверждённая данными клинических и инструментальных методов исследования.

Было выполнено оперативное вмешательство на правом плечевом сплетении, под эндотрахеальным наркозом был осуществлен доступ к повреждённому первичному стволу, после иссечения рубцово-измененной части нервного ствола дефект составил 12 см. Выполнена невротизация мышечно-кожного нерва добавочным через аутонервную вставку длиной 12 см. В качестве аутотрансплантата использован п. suralis. Аутонервная вставка сшита с использованием микрохирургической техники. Далее в дистальные и проксимальные концы нерва, а также в саму вставку произведена аутотрансплантация клеток СВФ-ЖТ в количестве 6,5 млн. (рис. 25). Операция завершена послойным ушиванием операционной раны.

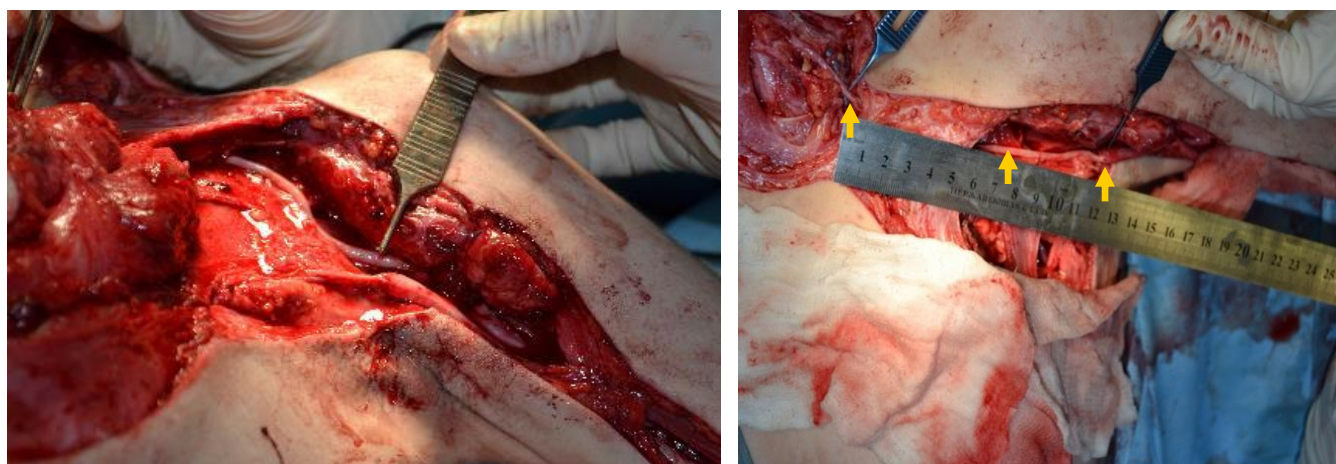


Рисунок 25. Невротизация мышечно-кожного нерва добавочным п. suralis через аутонервную вставку длиной 12 сантиметров, которая отмечена стрелками.

Послеоперационный период протекал без особенностей, рана зажила первичным натяжением, на десятые сутки после операции пациент выписан из стационара. При контрольном осмотре пациента на сроке 5 месяцев после операции выявлены первые признаки реиннервации двухглавой мышцы плеча. Пациент осуществляет сгибание руки в локтевом суставе в положении лежа, с оценкой функции M1 (рис. 26). На сроке 11 месяцев после операции было отмечено сгибание верхней конечности в локтевом суставе в положении стоя с преодолением силы тяжести, с оценкой функции M2-M3. Через 2 года после

операции, пациент удерживал гирю весом 3 кг. На данном сроке функция мышцы соответствовала оценке М4-М5.



Рисунок 26. Функциональный результат восстановления функции верхней конечности после невротизации мышечно-кожного нерва добавочным *n. suralis* через аутонервную вставку на сроке 5 месяцев после операции.

В ходе проведения электромиографического исследования на сроках 0-6 месяцев, 6-12 месяцев, 12-24 месяца и 24-36 месяцев было выявлено регистрация М-ответа на сроке 4 месяца после операции с дальнейшей положительной динамикой (рис. 27).

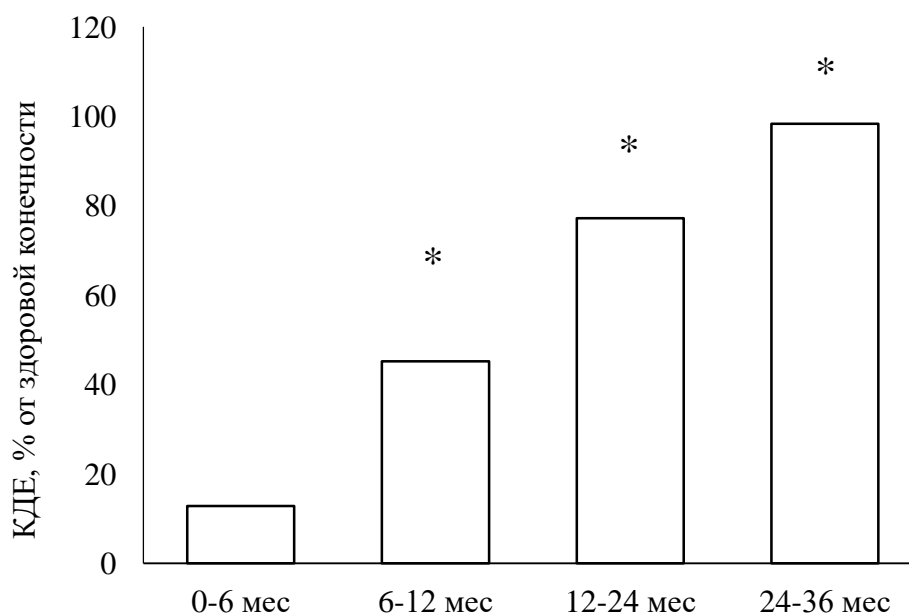


Рисунок 27. Электромиографическое исследование пациента Г. после невротизации мышечно-кожного нерва добавочным n. suralis через аутонервную вставку. По оси x – количество двигательных единиц (КДЕ), по оси y – сроки обследования.

Резюме. Послеоперационное динамическое наблюдение пациентов с оценкой клинических и электрофизиологических данных в основной группе пациентов, указало на более ранние сроки появления первых признаков реинервации с последующим ускорением процессов регенерации, что способствовало улучшению результатов лечения и свидетельствовало об эффективности использования клеточной терапии в хирургии повреждения плечевого сплетения. В основной группе пациентов процесс ранней регенерации прогнозирует снижение ишемизации мышц после травмы. Это является ключевым звеном, в достижении получения полезной функции в группе с применением СВФ-ЖТ на 30-35%.

Два клинических случая в основной группе проходили с осложнениями. В первом случае наблюдались признаки гематомы после невротизации плечевого сплетения. После ревизии и санации раны, признаки гематомы устранены. Во втором случае при невротизации плечевого сплетения, присутствовали признаки

ишемии операционной раны на фоне воспалительного процесса. Выполнена некроэктомия, санация и хирургическая обработка раны, антибиотикотерапия. В последствии ни одно из двух осложнений не повлияли на процесс регенерации.

4.4. Результаты клинической апробации разработанного аппарата для distraction стволів плечевого сплетения после нейрорафии.

В основную группу исследования пациентов с нейрорафией стволів плечевого сплетения, стимуляцией регенерации с применением клеток СВФ-ЖТ и последующей distraction стволів с помощью разработанного устройства было включено два пациента. Посттравматическое восстановление пациентов проходило без осложнений. Оперированная конечность была выведена в физиологическое положение через полтора месяца после операции. На сроке 9,5 месяцев случае получено восстановление функции отведения плеча и сгибание предплечья в локтевом суставе, с функциональным результатом M5-S4. В ходе проведения электромиографического исследования на сроках 0-6 месяцев, 6-12 месяцев и 12-24 месяца после нейрорафии и установки аппарата для дозированной distraction стволів плечевого сплетения с применением клеток СВФ-ЖТ было зафиксировано увеличение КДЕ на 76,54% и 28,13%, соответственно (рис. 28). Аналогичные показатели были получены у второго пациента основной группы.

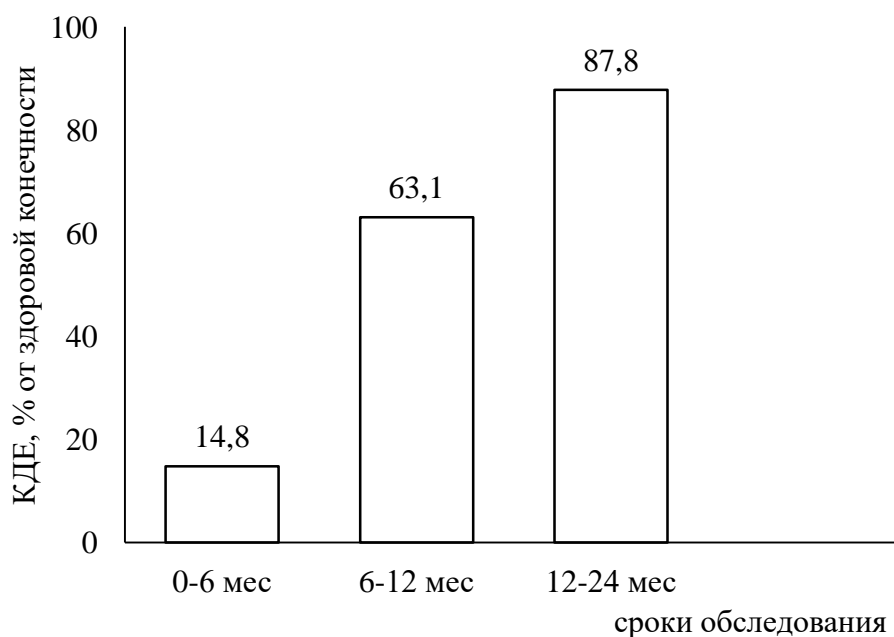


Рисунок 28. Результаты электромиографического исследования пациента П. на сроках 0-6, 6-12 и 12-24 месяцев, после нейрорафии и введения СВФ-ЖТ. По оси х – количество двигательных единиц (КДЕ). По оси у – сроки обследования.

Клинический пример. Пациент П-ов, 35 лет, поступил в отделение микрохирургии 12.04.2018 с диагнозом: Повреждение правого плечевого сплетения на сроке 5 месяцев после получения травмы в результате дорожно-транспортного происшествия. Диастаз между концами нерва составил 5 см, что не позволило соединить концы поврежденного нерва без применения разработанного устройства. Имела место клиника повреждения верхнего первичного ствола, подтвержденная данными клинических, и инструментальных, методов исследования. Пациенту был выполнен рентгеновский снимок при поступлении, изготовлено устройство для лечения поврежденных стволов плечевого сплетения. Индивидуально, по форме, и размерам головы пациента, из Полиэтилена низкой плотности, был изготовлен шлем, а по форме, и размерам, плечевого сустава - фиксирующее кольцо из педилина. Установку устройства и дистракцию нерва осуществили согласно протоколу, описанному выше (рис. 28).



Рисунок 29. Пациент П-ов после нейрорафии стволов плечевого сплетения и установки устройства для их последующей дистракции.

Через 4 недели после операции пациент самостоятельно, по заранее определенному режиму, параллельно по двум резьбовым штангам, производил дозированный поворот гаек, расположенных на концах резьбовых штанг, перемещая фиксирующее кольцо в дистальном направлении, до полного выведения конечности в физиологическое положение. Темп разгибания выдерживался в режиме 1 мм в сутки, что соответствовало полному обороту гайки.

На сроке 9,5 месяцев получено восстановление функции отведения плеча и сгибание предплечья в локтевом суставе, с функциональным результатом M5-S4 (рис. 30). Поскольку разработанное устройство, позволяющее осуществить нейрорафию с последующей дистракцией для устранения диастаза между концами нервных стволов, является альтернативой выполнению аутонервной пластики, полученные результаты лечения с использованием данного метода мы сравнивали с результатами аутонервной пластики стволов плечевого сплетения.

Предложенный способ в среднем позволил сократить сроки реиннервации на 4,5 месяца, тем самым улучшить функциональный результат посттравматического восстановления двигательной и чувствительной функции верхней конечности после тракционного повреждения и реконструкции методом нейрорафии.



Рисунок 30. Функциональный результат на сроке 9 месяцев после нейрорафии стволов плечевого сплетения и дистракции нервов с использованием разработанного устройства.

4.5. Обсуждение результатов исследования.

Клиническая часть исследования основана на данных хирургического лечения 62 пациентов с тракционным повреждением плечевого сплетения, которым выполнялись различные восстановительные оперативные вмешательства. ПС сложное анатомическое образование с множеством образующих его структур. Исследуемые группы в плане сравнения были соизмеримыми. На каждый клинический случай с клетками подбирали аналогичный архивный случай с идентичным повреждением, сроками после травмы, клиникой и данными ЭНМГ. Критериями сравнительной оценки являлись сроки и качество восстановления функции. Интересным является эпидемиология травматического повреждения ППС среди исследуемых пациентов. Травма стволов в 67% случаев происходила в результате ДТП. В 64%

случаев травма происходила у лиц в возрасте от 18 до 40 лет. Мужчины значительно чаще страдали от данного вида травмы – 88,7% случаев, тогда как на долю женщин приходилось только 11,3% случаев. Полученные результаты согласуются с данными других исследователей.

В зависимости от типа травмы пациентам была проведена реконструкция поврежденных стволов плечевого сплетения. 40 пациентам осуществлен невролиз, 22 пациентам – реконструктивные операции для восстановления функции отдельных мышц верхнего плечевого пояса и плеча с использованием различных вариантов невротизации, 5 пациентам выполнена нейрорафия стволов плечевого сплетения. Показания к конкретному виду оперативного вмешательства определялись по данным клинических инструментальных методов исследования, учитывались сроки после получения травмы, которые составили 6-7 и более месяцев.

Пациентам основной группы вовремя операции на нервных стволах выполнялась аутотрансплантация клеток СВФ-ЖТ с целью стимуляции регенерации. У пациентов группы сравнения с аналогичными оперативными вмешательствами регенерация происходила в естественных условиях.

В послеоперационном периоде клиническую эффективность СВФ-ЖТ оценивали, анализируя восстановление двигательной и чувствительной функции и скорости их восстановления в группах с невролизом, невротизацией и нейрорафией стволов плечевого сплетения.

Выполнение невролиза и эндоневролиза стволов плечевого сплетения с обширным фиброзным поражением со стимуляцией регенерации с аутотрансплантацией клеток СВФ-ЖТ позволила достичь полезное восстановления функции конечности у 18 пациентов из 20–90%, при этом «хорошие» и «отличные» результаты получены в 65%, «удовлетворительные» - у 25%, с опережением сроков восстановления на 4-6 месяцев по сравнению с группой контроля.

После выполнения различных вариантов невротизации с аутотрансплантацией клеток СВФ-ЖТ полезное восстановление функции М3-М5

получено на сроке 12–18 месяцев у всех пациентов. Наилучшие функциональные результаты были достигнуты после невротизации мышечно-кожного нерва межреберными с аутотрансплантацией клеток СВФ-ЖТ -4 наблюдения и добавочным нервом через аутонервную вставку – 4 наблюдения. Во всех наблюдениях достигнуто восстановление функции двуглавой мышцы плеча до показателя М4 в 5 наблюдениях, М5 – в 3 наблюдениях

Необходимо подчеркнуть, что первые признаки реиннервации мышц наружных ротаторов плеча в виде видимого сокращения наблюдали на 41-е сутки после невротизации надлопаточного нерва добавочным с применением стимулятора регенерации в 1 наблюдении, а функция мышцы М4 была получена на сроке 5 месяцев после операции.

У всех пациентов опытных групп вне зависимости от длины вставки восстановилась чувствительная функция. Восстановление чувствительной функции опережало сроки восстановления двигательной функции и в ходе анализа полученных данных было установлено, что при невротизации в группе с введением СВФ-ЖТ первые признаки чувствительности были зафиксированы на сроке 4-6 месяцев после операции, в отличие от группы контроля, где восстановление чувствительной функции было зафиксировано на сроках 9-12 месяцев после операции. Полученные нами данные коррелируют с данными ранее проведенных исследований, доказывающих стимулирующий эффект клеток СВФ-ЖТ на регенераторные процессы в организме (Mohammadi R. et. al., 2015). Данные эффекты могут достигаться в том числе за счет антиапоптотического эффекта СВФ-ЖТ (Tenenhaus M. et. al., 2018).

Дополнительным методом исследования функциональной диагностики посттравматического состояния является исследование биоэлектрической проводимости нервной ткани с помощью электронейромиографии. Стимуляционная электронейромиография - один из основных инструментальных методов исследования проведения возбуждения по периферическому нерву, позволяющий определить реакцию нервных проводников на патологический процесс, приводящую к поражению миелинового футляра и аксонального

стержня нерва. Анализ параметров ЭНМГ позволяет установить различный тип поражения нервных стволов: невропатия демиелинизирующего типа, невропатия аксонального типа, смешанное поражение, а также оценить динамику регенераторного процесса после реконструктивной операции на периферическом нерве. Оценка электрофизиологических параметров, отражающих динамику функционального восстановления, выявила, что в группе с СВФ-ЖТ М-ответ регистрируется на сроке 0-6 месяцев после операции и достигает показателей контралатеральной конечности к 18-24 месяцам. При этом количество двигательных единиц в группе контроля было значительно меньше, по сравнению с показателями пациентов, которым проводили интраоперационную трансплантацию СВФ-ЖТ.

Несмотря на существенные сроки между травматическим повреждением и реконструктивной операцией, которые составили от 7 до 13 месяцев, обширность зоны повреждения, сопровождается фиброзными изменениями параневральных и интраневральных тканей, использование клеток СВФ-ЖТ в качестве стимулятора нейрорегенерации позволило ускорить и улучшить регенераторный процесс и получить положительные функциональные результаты лечения в более короткие сроки, с опережением на 4-6 месяцев.

В данном исследовании мы доказали клиническую эффективность интраоперационной ауто трансплантации клеток СВФ-ЖТ, однако механизм их терапевтического действия остался открытым вопросом. Для понимания молекулярных взаимодействий между нервной тканью и компонентами СВФ-ЖТ необходимо провести дополнительные исследования, в ходе которых поставить задачу выяснить, дифференцировались ли трансплантированные клетки в нервную ткань или стимулировали заживление за счет паракринного эффекта, который мог достигаться подавлением посттравматической воспалительной реакции.

Сочетание оперативных вмешательств (невролиз, нейрорафия и аутонервная пластика) с одновременным введением в область повреждения СВФ-ЖТ при лечении повреждений периферических нервов верхних и нижних

конечностей приводит к значительному ускорению сроков регенерации и улучшению функциональных результатов. Пациенты отмечали появление болевой чувствительности на ранних сроках после операции в промежутке от 4 до 15 дней после операции. Средние сроки восстановления двигательной функции у людей, получивших лечение, превышали на 30% по сравнению с классическими методами терапии. Наши наблюдения указывают, что наибольший эффект от применения СВФ-ЖТ наблюдался при аутонервной пластике. Известно, что процент выживаемости аутонервного трансплантата минимален при длине вставки более 5-7 см. Применение данной методики создало условия для реваскуляризации аутонервного трансплантата.

За последние два десятилетия объем литературы, поддерживающей терапию на основе клеточного секрета, вырос в геометрической прогрессии (El-Habta, R. et. al., 2021). Эта гипотеза постулирует с тем, что сами вводимые клетки через собственный секрет, выполняют трофические функции, важные для ремоделирования внеклеточного матрикса и регенерации тканей (Kingham P.J. et. al., 2014). Известно, что клетки СВФ-ЖТ экспрессируют множество факторов роста, которые могут оказывать терапевтический эффект в условиях воспаления и мышечной атрофии (El-Habta R. et. al., 2018). Данные эффекты, могут в разы превосходить эффективность культивированных клеток (Mohammadi R. et. al., 2015). Например, к таким факторам относится фактор роста гепатоцитов - белковая молекула, необходимая для самовосстановления поврежденных мышечных волокон (Xiao G.H. et. al., 2001). При этом, антиапоптотические свойства СВФ не так широко изучены, как способность дифференцироваться в другие типы клеток. Однако, можно выделить проведенные исследования, описывающие как инъекции СВФ-ЖТ значительно снижали апоптоз клеток почек крыс (Lee C. et. al., 2017), а также снижали объем некротизированных тканей после их реконструкции (Tenenhaus M. et. al., 2018). Нельзя также не отметить исследование о положительном эффекте трансплантации СВФ при черепно-мозговой травме (Berman S. et. al., 2018) и лечение диабетической стопы (Zhao X. et. al., 2020).

Понимание молекулярных механизмов, лежащих в основе терапевтического действия СВФ-ЖТ являются интересным направлением исследований с фундаментальными и трансляционными последствиями (Moisan A. et. al., 2014). Полученные результаты позволяют утверждать о том, что метод трансплантации СВФ в сочетании с хирургическими методами лечения в значительной степени повышает приживаемость аутоневрального трансплантата, стимулирует его реваскуляризацию, восстановление чувствительной и двигательной активности, и тем самым может значительно повышать эффективность операций при реконструкции периферических нервов.

Во второй части клинического исследования, с целью сшивания концов нервного ствола без применения аутонервной пластики, использовали сконструированное устройство для дозированной дистракции стволов плечевого сплетения. Альтернативой разработанному способу нейрорафии является установка аппарата Илизарова для приведения плеча, однако недостаточность эффективности данного способа обусловлена дополнительной травматизацией акромиального конца ключицы и головки плечевой кости при его установке. При этом применение металлоконструкции влечет за собой все классические осложнения, свойственные применению аппарата внешней фиксации.

Учитывая, что самым эффективным методом лечения является прямой шов для сокращения диастаза между концами нерва, в работе был исследован способ приведения конечности с помощью разработанного устройства для восстановления поврежденных стволов плечевого сплетения, позволяющего снизить травматичность оперативного вмешательства за счет не инвазивного замещения дефекта нерва, при сокращении сроков лечения. На сроке 9,5 месяцев получено восстановление функции отведения плеча и сгибание предплечья в локтевом суставе, с функциональным результатом M5-S4. Полученные эффекты несомненно были достигнуты за счет нейрорафии последующей дозированной дистракцией стволов плечевого сплетения, исключая дополнительную травматизацию.

При всестороннем исследовании эффектов дозированной тракции стволов плечевого сплетения было проведено электромиографическое исследование на сроках 0-6 месяцев, 6-12 месяцев и 12-24 месяца после нейрорафии и установки аппарата. Было зафиксировано достоверное увеличение количества двигательных единиц, что дает нам основание заключить, что данный хирургический подход можно рассматривать как возможную альтернативу аутонервной пластике нерва при протяженных диастазах между концами нерва, а также метода не инвазивной стабилизации конечности на этапе осуществления дозированной тракции.

В литературе отчетливо прослеживается сложность и разноречивость в решении вопросов лечебной тактики у пострадавших с травмой стволов плечевого сплетения, особенно при закрытых повреждениях, которых большинство в общем количестве травм данного отдела нервной системы. Это обстоятельство во многом связано с тем, что, несмотря на обилие методов обследования этих пострадавших, достоверно судить о степени и глубине поражения стволов плечевого сплетения чрезвычайно сложно. Также, это во многом связано с недостаточной изученностью динамики регенерации нервов после травмы. Для исследования воздействия модулирующих средств на посттравматический процесс необходимы более полные данные о динамике репаративной регенерации поврежденного нерва и морфологические данные позволяющие оценить эффективность регенерации на клеточном уровне

Следующим этапом в рамках реализации плана диссертационной работы разработали устройство для дозированной дистракции стволов плечевого сплетения. Разработанное в рамках диссертационного исследования устройство, позволило осуществить нейрорафию стволов плечевого сплетения при наличии диастаза протяженностью 5 см, без натяжения с возможностью не инвазивной дистракции нерва в послеоперационном периоде. Доказана его малоинвазивность в сравнение с ближайшим прототипом. А также продемонстрирована при его помощи, возможность проведения прямой нейрорафии плечевого сплетения в условиях сформировавшегося диастаза. Это позволило решить третью задачу диссертационного исследования.

Таким образом, сконструированное устройство, может быть использовано для сокращения диастаза между концами поврежденного плечевого сплетения с целью нейрорафии без натяжения и с возможностью дальнейшей дозированной тракции нервного ствола, включало шлем, изготовленный по индивидуальным параметрам, и фиксирующее кольцо, соответствующее форме и размеру плечевого сустава пациента.

По данным ретроспективного анализа, функциональный результат при использовании АВФ для замещения дефекта нервных стволов, достигался МЗ к сроку полтора года. Мы получили положительную функцию уже до года после операции, что на 30% процентов сокращает сроки восстановления. В связи с небольшой группой пациентов на данный момент статистический анализ не проводился, однако на основании сравнения имеющихся клинических случаев считаем использование данного метода перспективным.

Представленные в настоящей работе положительные результаты экспериментальных и клинических исследований свидетельствуют о перспективности использования предложенных методик при лечении повреждений плечевого сплетения.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ
И ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ КЛЕТОК СТРОМАЛЬНОЙ
ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ ДЛЯ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ
ПОВРЕЖДЕНИЙ ПЛЕЧЕВОГО СПЛЕТЕНИЯ

Проведенные в рамках диссертационного исследования эксперименты обеспечили условия и предоставили необходимую информацию для успешной клинической апробации предложенного нами способа стимуляции посттравматической регенерации стволов плечевого сплетения. В свою очередь, проспективное клиническое исследование, проведенное у 67 пациентов, подтвердили достоверность и клиническую значимость предварительных экспериментов. В результате обобщения всего собранного материала были сформулированы экспериментально-клинические обоснования для применения клеток СВФ-ЖТ в качестве стимулятора регенерации при хирургическом лечении повреждений плечевого сплетения.

Проведенные экспериментальные исследования показали, что у животных в группах исследований, где применялись стимуляторы регенерации, скорость мышечного ответа при электростимуляции была существенно выше по сравнению с животными, у которых регенерация нерва после аутонервной вставки проходила в естественных условиях. Морфологические методы исследования седалищного нерва и спинального ганглия показали, что клеточная терапия с помощью СВФ-ЖТ и генная терапия с помощью плазмиды pBUD-VEGF165-FGF2 позитивны в отношении уменьшения области рубцовой ткани и оказывают нейропротекторный эффект по отношению к чувствительным нейронам спинального ганглия L5, что несомненно окажет необходимый эффект для посттравматического восстановления двигательной функции. Полученные результаты позволили нам сделать вывод, что предлагаемые нами подходы с применением клеточной и генной терапии оказывают сопоставимый положительный эффект, а применение СВФ-ЖТ в качестве стимулятора

регенерации по своей эффективности не уступает прямой генной терапии. Данные эффекты способствуют регенерации аксонов, миелинизации и восстановлению атрофированных после травмы мышц, что в итоге приводит к восстановлению утраченных функций. Учитывая легкодоступность СВФ-ЖТ и выраженные терапевтические качества дальнейшие исследования предлагаемой методики в условиях клинической практики были целесообразны. Преимущества доклинических исследований с применением животной модели состоит в наличии мультимодальных подходов и различных комбинаций методов для изучения регенерации аксонов. Оценка регенерации нервов с использованием животных предоставляет информацию для трансляционных исследований и будущих терапевтических возможностей, доступных для людей (Maugeri G. et al., 2021). Применение трансдисциплинарных стратегий может улучшить знания о благополучии животных, людей и окружающей среды (Franco-Martinez L. et al., 2020). При исследовании различных механизмов посттравматической регенерации периферической нервной системы использование животных в качестве моделей помогает достичь большего количества результатов в отношении различных методов лечения, поскольку клинические данные о людях могут иметь экономические, практические или этические ограничения. По этой причине использование животных в доклинических моделях является ценным для последующего проведения клинических исследований.

Полученный выраженный терапевтический эффект СВФ-ЖТ в регенерации периферических нервов, вероятно, был обеспечен благодаря их способности продуцировать и высвобождать нейротрофические факторы, вызывающие рост аксонов, их способности к самообновлению, способности дифференцироваться в миелинизирующие клеточные линии и в шванноподобные клетки (Yousefi F. et al., 2019; Saffari S. et al., 2021). СВФ-ЖТ обладают способностью секретировать биологически активные факторы, что способствует паракринной активности, подавлению воспалительной реакции в ответ на повреждение и способствует регенерации нервов (Kumar P. et al., 2019). Кроме того, они предотвращают гибель клеток, уменьшая экспрессию проапоптотических факторов при

одновременном повышении антиапоптотической активности (Kumar P. et al., 2019). Некоторые из многофункциональных характеристик данного клеточного пула, а также их легкодоступность делают их идеальными для терапевтического применения (Jahromi M. et al., 2019). По этим причинам исследование СВФ-ЖТ было продолжено в клинике при хирургическом лечении повреждений плечевого сплетения.

Проведение клинических исследований в отделении Микрохирургии кисти РКБ МЗ РТ стало возможным после тщательного изучения возможных терапевтических свойств СВФ-ЖТ описанных в литературе и полученных положительных результатов на модели экспериментальной травмы с участием лабораторных животных. СВФ-ЖТ широко изучаются и используются в качестве основного источника клеток с регенеративным потенциалом, с характеристиками, аналогичными МСК (Bora P. et al., 2017). СВФ-ЖТ и МСК продемонстрировали многообещающие результаты в регенеративной и реконструктивной медицине (Bony C. et al., 2017; Suzuki E. et al., 2017), а недавние достижения в области регенерации тканей поставили СВФ-ЖТ на уровень выше, чем МСК (Silva F.J. et al., 2014; Mohammadi R. et al., 2015; You D. et al., 2015; Charles-de-Sá L. et al., 2015). Считается, что это преимущество заключается в двух основных областях. Во-первых, несмотря на схожие свойства, такие как иммуномодуляция, противовоспалительное действие и ангиогенез, гетерогенный клеточный состав СВФ может быть ответственным за лучший терапевтический результат, наблюдаемый в сравнительных исследованиях на животных (Charles-de-Sá L. et al., 2015; Bora P. et al., 2017). Во-вторых, СВФ-ЖТ гораздо легче получить, без необходимости какого-либо разделения клеток или условий культивирования. Таким образом, терапевтический клеточный продукт получается мгновенно и имеет минимальный контакт с реагентами, что делает его сравнительно более безопасным и требует выполнения меньших нормативных критериев (Bora P. et al., 2017). Однако, следует отметить, что из-за присутствия различных типов клеток, которые, как известно, вызывают иммунологическое отторжение, применение СВФ-ЖТ подходит только для аутологичного лечения (Bora P. et al.,

2017). При этом это ограничение не сужает спектр действия и с успехом позволяет применять данные технологии в различных областях медицины. Существенными ограничениями для развития данного направления являются инфраструктура, оборудование, опыт персонала и расходные материалы, необходимые для выделения СВФ-ЖТ, которые не являются обычным явлением в большинстве медицинских учреждений.

В настоящем исследовании благодаря междисциплинарному подходу удалось оценить результаты посттравматического восстановления пациентов после хирургического лечения повреждений плечевого сплетения с применением аутологичных клеток СВФ-ЖТ. В клинической части исследования были изучены результаты восстановления 67 пациентов с тракционным повреждением плечевого сплетения, которым выполнялись различные восстановительные оперативные вмешательства в зависимости от типа травмы. Было показано, что выполнение неврוליза и эндоневрוליза стволов плечевого сплетения с обширным фиброзным поражением со стимуляцией регенерации с ауто трансплантацией клеток СВФ-ЖТ позволило достичь полезное восстановление функции конечности у 90% пациентов, при этом «хорошие» и «отличные» результаты получены в 65%, «удовлетворительные» - у 25%, с опережением сроков восстановления на 4-6 месяцев по сравнению с пациентами, восстановление которых происходило в естественных условиях.

После выполнения различных вариантов невротизации с ауто трансплантацией клеток СВФ-ЖТ полезное восстановление двигательной функции было получено на сроке 12-18 месяцев. Наилучшие функциональные результаты были достигнуты после невротизации мышечно-кожного нерва межреберными с ауто трансплантацией клеток СВФ-ЖТ и добавочным нервом через ауто нервную вставку. Во всех наблюдениях достигнуто восстановление функции двуглавой мышцы плеча до показателя M4 и M5. Необходимо подчеркнуть, что первые признаки реиннервации мышц наружных ротаторов плеча в виде видимого сокращения наблюдали уже на 41-е сутки после

невротизации надлопаточного нерва добавочным с применением СВФ-ЖТ, а функция мышцы до уровня М4 была получена на сроке 5 месяцев после операции.

У пациентов опытных групп вне зависимости от длины вставки восстановилась чувствительная функция. Восстановление чувствительной функции опережало сроки восстановления двигательной функции. В ходе анализа полученных данных было установлено, что при невролизе в группе с введением СВФ-ЖТ первые признаки чувствительности были зафиксированы на сроке 4-6 месяцев после операции, в отличии от группы контроля, где восстановление чувствительной функции было зафиксировано только на сроках 9-12 месяцев после операции. Полученные нами данные коррелируют с данными ранее проведенных исследований, доказывающих стимулирующий эффект клеток СВФ-ЖТ на регенераторные процессы в организме (Mohammadi R. et. al., 2015). Данные эффекты могут достигаться в том числе за счет антиапоптотического эффекта СВФ-ЖТ (Tenenhaus M. et. al., 2018).

Таким образом, тщательный мониторинг динамики посттравматического восстановления чувствительной и двигательной функции показал, что при применении клеток СВФ-ЖТ были значительно сокращены сроки регенерации и улучшена функция. У большинства пациентов была получена болевая чувствительность уже на ранних сроках после операции. Что касается двигательной функции, то средние сроки восстановления в группе исследования существенно превышали сроки группы сравнения. Несмотря на существенные сроки между травмой и операцией, которые составили от 7 до 13 месяцев, обширность зоны повреждения, сопровождавшаяся фиброзными изменениями параневральных и интраневраль-ных тканей при использовании клеток СВФ-ЖТ в качестве стимулятора нейрорегенерации позволило ускорить и улучшить регенераторный процесс и получить положительные функциональные результаты лечения в более короткие сроки с опережением на 4-6 месяцев. В сравнительной группе аналогичные результаты лечения были получены в 68% случаев, а сроки восстановления составили 6-13 месяцев. Положительные результаты лечения пациентов методом невролиза с аутотрансплантацией клеток СВФ-ЖТ получены

у 18 пациентов – 90%, при том что «хорошие» и «отличные» функциональные результаты получены в 65% случаев, «удовлетворительные» - 25% случаев. Таким образом, невролиз плечевого сплетения с применением клеток СВФ-ЖТ позволил улучшить результаты лечения на 22% и сократить сроки восстановления на 4-6 месяцев.

Послеоперационное динамическое наблюдение пациентов с оценкой клинических и электрофизиологических данных в основной группе пациентов с применением СВФ-ЖТ, указало на более ранние сроки появления первых признаков реинервации с последующим ускорением процессов регенерации, что способствовало улучшению результатов лечения и свидетельствовало об эффективности использования клеточной терапии в хирургии повреждения плечевого сплетения. В основной группе пациентов процесс ранней регенерации прогнозирует снижение ишемизации мышц после травмы. Это является ключевым звеном, в достижении получения полезной функции в группе с применением СВФ-ЖТ.

Необходимо отметить, что два клинических случая в основной группе проходили с осложнениями. В первом случае наблюдались признаки гематомы после невролиза плечевого сплетения. После ревизии и санации раны, признаки гематомы устранены. Во-втором случае при невротизации плечевого сплетения, присутствовали признаки ишемии операционной раны на фоне воспалительного процесса. Выполнена некротомия, санация и хирургическая обработка раны, антибиотикотерапия. Однако, в последствии ни одно из двух осложнений не повлияли на процесс регенерации.

На основании полученных результатов нами были сформулированы показания и противопоказания к аутотрансплантации клеток СВФ-ЖТ значительно расширяющие возможности для их терапевтического применения с целью улучшения результатов посттравматического восстановления стволов плечевого сплетения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационное исследование было проведено с целью оценки эффективности применения клеток СВФ-ЖТ в клинической практике в качестве стимулятора регенерации при реконструкции тракционных повреждений плечевого сплетения в ходе сравнительного клинического исследования. При этом предварительно была обоснована целесообразность применения СВФ-ЖТ посредством проведенного в первую очередь доклинического исследования на модели травматического повреждения периферического нерва с использованием экспериментальных животных (крыс). Кроме того, нами была выполнена клиническая апробация предложенного оригинального аппарата для distraction реконструированных стволов плечевого сплетения.

Таким образом, диссертационное исследование представляет совокупность взаимосвязанных частей, включающих доклиническое исследование и два раздела клинических исследований. Для достижения цели были сформулированы четыре конкретные задачи, которые последовательно решались в ходе проведения диссертационного исследования.

Перед проведением клинической апробации методов клеточной стимуляции регенерации периферических нервов посредством анализа профильных научных публикаций было установлено, что предварительное экспериментальное исследование с использованием лабораторных животных является целесообразным. Для проведения доклинического исследования была разработана схема эксперимента, позволяющая в ходе сравнительного исследования оценить терапевтические свойства трансплантируемых клеток.

Предварительный анализ литературы показал, что 90% всех клинических и экспериментальных исследований в области регенерации периферических нервов сравниваются с аутонервной вставкой, как с «золотым стандартом» нервной пластики для выявления позитивных репаративных свойств исследуемого метода. Аутонервная пластика седалищного нерва крысы была выбрана как стандартная

модель травматического повреждения для оценки терапевтических свойств ксенотрансплантированных СВФ-ЖТ.

В ходе проведенного исследования нами была поставлена задача исследовать в динамике амплитуду М-ответа икроножной мышцы животных после аутонервной вставки седалищного нерва на разных сроках после травмы, а также оценить количество выживающих нейронов в спинальном ганглии L5 через 56 суток после травмы и реконструкции нерва. Данному вопросу посвящена первая задача диссертационного исследования, которую удалось решить в ходе экспериментальной части нашей диссертационной работы.

При исследовании терапевтических свойств СВФ-ЖТ сравнение эффективности предлагаемого подхода целесообразно проводить с методами стимуляции с прогнозируемыми терапевтическими свойствами. В качестве активного контроля в диссертационном исследовании изучали терапевтические свойства СВФ-ЖТ при сравнении с применением в качестве стимулятора регенерации генной конструкции. В нашем случае, в работе применяли плазмиду pBUD-VEGF165-FGF2, коэкспрессирующую факторы роста VEGF и FGF2.

При постановке второй задачи мы полагали, что доставка к области травмы седалищного нерва крысы указанных факторов роста окажет выраженный нейропротекторный эффект и позволит объективно оценить эффективность СВФ-ЖТ. Сравнительной оценке эффективности СВФ-ЖТ относительно генной терапии факторами роста VEGF и FGF2 посвящена вторая задача диссертационной работы. Нам удалось доказать сопоставимый с генной терапией регенераторный потенциал СВФ-ЖТ, что позволило обосновать продолжение исследования и перейти ко второй части – клинической апробации СВФ-ЖТ с целью стимуляции регенерации поврежденных стволов плечевого сплетения.

Третья задача настоящего исследования состояла в клинической апробации клеток СВФ-ЖТ, аутоотрансплантированных в область травмы плечевого сплетения при реконструкции травматического повреждения методами невролиза, нейрорафии и невротизации по соответствующим показаниям. Для решения этой

задачи была продумана методология клинического исследования, позволившая сделать обоснованный вывод об эффективности применения СВФ-ЖТ.

Для решения третьей задачи нами был проведен анализ историй болезни пациентов, прооперированных за предшествующий период с целью получения данных о качестве восстановления утраченных после травмы функций. Далее был произведен отбор и всестороннее обследование пациентов, соответствующих заданным параметрам. Этих пациентов распределили в группы по виду реконструкции стволов плечевого сплетения (невролиз, нейрорафия, невротизация). При этом все пациенты были разделены на две клинические группы, сопоставимые по количеству и характеристикам травмы, но отличающиеся по применяемой методике лечения (пациенты со стимуляцией регенерации с применением СВФ-ЖТ и пациенты, которым была проведена реконструкция стволов плечевого сплетения без стимуляторов регенерации).

В результате работы над третьей задачей была проведена оценка в динамике восстановления двигательной и чувствительной функции верхней конечности, а также элетромиографические исследования в динамике, которые позволили оценить количество двигательных единиц в поврежденном стволе плечевого сплетения. Полученные количественные данные были подвергнуты адекватной статистической обработке. При этом было показано, что интраоперационная аутотрансплантация СВФ-ЖТ в область травмы плечевого сплетения стимулирует регенерацию и способствует восстановлению утраченных функций.

В клинической практике при нарушении целостности стволов плечевого сплетения наилучших результатов посттравматической регенерации удается добиться при сопоставлении отрезков поврежденного нерва конец в конец. Однако протяженность дефекта не всегда позволяет выполнить нейрорафию без натяжения. Для сокращения протяженности дефекта нервной ткани оправдано приведение конечности, однако данная техника требует этапа выведения конечности в физиологическое положение.

Реабилитация больных с травматическими повреждениями стволов плечевого сплетения является одной из наиболее сложных и до конца еще

нерешенных проблем современной регенеративной медицины. С этой целью, для стандартизированной дистракции реконструированных нервных стволов нами было разработано и апробировано оригинальное неинвазивное устройство, на которое был получен патент РФ на изобретение № 2772539.

Благодаря этому устройству, удалось осуществить нейрорафию конец в конец при протяженности дефекта не менее 4 см и добиться значительных улучшений в отношении сроков восстановления функций после травмы. Разработке и клинической апробации неинвазивного устройства для дозированной тракции нерва была посвящена четвертая задача нашего диссертационного исследования, которую, по нашему мнению, также удалось решить. Кроме того, в ходе выполненного клинического исследования нами были проведены математические расчеты, необходимые для функционального выведения плеча в физиологическое положение.

В целом, следует отметить, что в ходе выполнения экспериментальной и двух клинических частей нашего диссертационного исследования, на наш взгляд, удалось решить все четыре поставленные в нашей работе задачи, а также реализовать ее общую цель. Основные полученные нами результаты суммированы далее в выводах и практических рекомендациях.

ВЫВОДЫ

1. Клетки стромально-васкулярной фракции, выделенные из жировой ткани человека и введенные в область травмы седалищного нерва крысы, стимулируют регенерацию нерва и поддерживают выживание нейронов спинального ганглия L5.

2. Ксенотрансплантация клеток стромально-васкулярной фракции в область травматического повреждения седалищного нерва по своей эффективности не уступает эффектам генно-терапевтической плазмиды pBUD-VEGF165-FGF2, экспрессирующей сосудистый эндотелиальный фактор роста и фактор роста фибробластов 2.

3. Аутоотрансплантация клеток стромально-васкулярной фракции в сочетании с хирургическими методами лечения в значительной степени повышает приживаемость аутоневрального трансплантата, стимулирует его реваскуляризацию, восстановление чувствительной и двигательной активности и тем самым значительно повышает эффективность операций при реконструкции плечевого сплетения.

4. Дозированная дистракция стволов плечевого сплетения с применением разработанного устройства позволяет проводить нейрорафию в сочетании с интраоперационной интраневральной аутоотрансплантацией клеток стромально-васкулярной фракции, выделенных из жировой ткани, при диастазе не более 5 см, тем самым сокращая сроки восстановления двигательной и чувствительной функции при выполнении оперативного пособия с наименьшей травматизацией.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При планировании операции на плечевом сплетении, необходима тщательная предоперационная диагностика с целью выявления степени, уровня повреждения плечевого сплетения, а также окружающих его атомических структур.

2. С целью достижения наилучших функциональных результатов приступать к оперативному лечению пациентов изученного профиля следует в максимально ранние сроки с учетом отсутствия положительной динамики от консервативной терапии.

3. На основании экспериментальных исследований на животных, выполняя хирургическое лечение при повреждениях плечевого сплетения, целесообразно учитывать обоснованную нами модель применения клеток СВФ-ЖТ в клинической практике для стимуляции восстановления нарушенных функций.

4. При возможности прямой нейрорафии поврежденного плечевого сплетения может быть рекомендован оригинальный способ дозированной distraction стволы плечевого сплетения с применением разработанного устройства (патент РФ на изобретение № 2772539 от 23.05.22.), позволяющего сократить сроки восстановления двигательной и чувствительной функции.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АВФ – аппарат внешней фиксации.

КТ – компьютерная томография.

МРТ – магнитно-резонансная томография.

МСК – мезенхимальные стволовые клетки.

ППС – повреждение плечевого сплетения.

ПС – плечевое сплетение.

СВФ – стромально-васкулярная фракция.

СВФ-ЖТ – стромально-васкулярная фракция, выделенная из жировой ткани.

СК – стволовые клетки.

УЗИ – ультразвуковое исследование.

bFGF – фактор роста фибробластов (fibroblast growth factor b).

GDNF – глиальный нейротрофический фактор (glial cell line-derived neurotrophic factor).

NGF – фактор роста нервов (nerve growth factor).

PBS – фосфатный буфер.

VEGF – фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Айтемиров Ш. М. Высокоразрешающая ультразвуковая диагностика в хирургии периферических нервов конечностей (обзор литературы) / Ш. М. Айтемиров, В. Г. Нинель, Г. А. Коршунова, И. Н. Щаницын // Травматология и ортопедия России. – 2015. – Т. 3, № 77. – С. 116-122.
2. Афина Э. Т. Клинико-электромиографическая характеристика травматической плечевой плексопатии / Э. Т. Афина, М. В. Надеждина, А. В. Сорока, М. В. Митяшина // Бюллетень сибирской медицины. – 2010. – № 4. – С. 23-27.
3. Байтингер В. Ф. Шов нерва конец-в-бок: стратегия «получения» аксонов из интактного нерва (Часть II) / В. Ф. Байтингер, А. В. Байтингер // Вопросы реконструктивной и пластической хирургии. – 2013. – № 2. – С. 13-19.
4. Беришвили К. Ш. Результаты комплексного лечения повреждений плечевого сплетения: диссертация доктора медицинских наук: 14.03.11 – нервные болезни / Беришвили Кахабер Шотаевич; Российский научно-исследовательский нейрохирургический институт им. проф. А. Л. Поленова. – Санкт-Петербург, 2010. – 152 с.
5. Беришвили К. Ш. Современные подходы к диагностике и лечению больных с сочетанными повреждениями стволов плечевого сплетения и магистральных сосудов / К. Ш. Беришвили, И. И. Шамелашвили, Г. С. Кокин // Актуальные вопросы практической нейрохирургии: материалы юбилейной научно-практической конференции. – Балаково, 2009. – С. 160-163.
6. Берснев В. П. Практическое руководство по хирургии нервов: в 2-х томах / В. П. Берснев, Г. С. Кокин, Т. О. Извекова. – Санкт-Петербург, 2009. – Т. 1. – 291 с. – ISBN 978-5-900356-47-1.
7. Бехтерев А. В. Тактика при повреждении периферических нервов верхней конечности / А. В. Бехтерев, С. А. Ткаченко, В. Д. Машталов // Главный врач Юга России. – 2017. – № 4. – С. 28-31.

8. Богов А. А. (ст) Тактика хирургического лечения повреждений плечевого сплетения / А. А. Богов, И. Г. Ханнанова // Практическая медицина. – 2008. – № 1. – С. 64-66.
9. Борода Ю. И. Выбор реконструктивных операций на нерве в зависимости от степени натяжения в зоне шва / Ю. И. Борода // Гений ортопедии. – 2000. – № 2. – С. 32-33.
10. Вишневский В. А. Некоторые вопросы лечения травм периферических нервов конечностей / В. А. Вишневский // Scientific Journal «ScienceRise». – 2015. – № 11. – С. 60-65.
11. Гайворонский А. И. Интраоперационное ультразвуковое исследование в хирургии периферических нервов верхней конечности / А. И. Гайворонский, Е. А. Журбин, В. С. Декан [и др.] // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2015. – № 2(50). – С. 56-59.
12. Говенько Ф. С. Аутопластика при повреждении нервов у детей / Ф. С. Говенько // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 1988. – Т. 140, № 2. – С. 77-81.
13. Горбунов Н. С. К вопросу о строении плечевого сплетения: современные взгляды в хирургии / Н. С. Горбунов, С. И. Ростовцев, П. А. Самотесов [и др.] // Сибирское медицинское обозрение. – 2020. – № 2. – С. 13-19.
14. Горшков Р. П. Возможности тендомиопластики в реабилитации больных с грубыми повреждениями стволов плечевого сплетения / Р. П. Горшков, В. Г. Нинель, И. А. Норкин // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2009. – Т. 5, № 3. – С. 403-407.
15. Горшков Р. П. Реабилитация больных с повреждением стволов плечевого сплетения: диссертация доктора медицинских наук: 14.00.22 - травматология и ортопедия / Горшков Роман Петрович; Саратовский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии. – Саратов, 2009. – 221 с.
16. Давлятов А. А. Ятрогенные повреждения нервных стволов верхних конечностей / А. А. Давлятов, З. А. Курбанов, Г. М. Ходжамурадов // Материалы III съезда хирургов Республики Таджикистан. – Душанбе, 2000. – С. 147-148.

17. Джумагишиев Д. К. Способ и возможности интраоперационного контрастирования нервных стволов в эксперименте / Д. К. Джумагишиев, И. А. Норкин, Р. П. Горшков, В. Г. Нинель // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2007. – № 1. – С. 80-83.
18. Ельшина М. И. Современный взгляд на аутопластику нервных стволов / М. И. Ельшина // Центральный научный вестник. – 2017. – № 12. – С. 16-18
19. Живолупов С. А. Современные представления о регенерации нервных волокон при травмах периферической нервной системы / С. А. Живолупов, Н. А. Рашидов, И. Н. Самарцев, Е. В. Яковлев // Вестник российской военно-медицинской академии. – 2013. – Т. 3, № 43. – С. 190-198.
20. Журбин Е. А. Возможности ультразвукового исследования в диагностике и хирургическом лечении повреждений периферических нервов конечностей: диссертация кандидата медицинских наук: 14.01.13 – лучевая диагностика, лучевая терапия; 14.01.18 – нейрохирургия / Журбин Евгений Александрович; Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова. – Санкт-Петербург, 2018. – С.180.
21. Затолокина М. А. К вопросу о микроструктурных особенностях периферических нервов плечевого сплетения в области средней трети плеча / М. А. Затолокина, Е. Мишина // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2015. – №2. – С. 27-29.
22. Иванов А. Н. Комплексная стимуляция регенерации периферического нерва после отсроченной нейрорафии / А. Н. Иванов, Г. А. Коршунова, О. В. Матвеева [и др.] // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2017. – № 3. – С. 732-737.
23. Ильина Е. Н. Лечение травматических повреждений плечевого сплетения методом внутритканевой электростимуляции: диссертация кандидата медицинских наук: 14.00.22 - травматология и ортопедия / Елена Николаевна Ильина; Уральский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии. – Курган, 2004. – С. 158.

24. Карагяур М. Н. Современные подходы к регенерации периферических нервов после травмы: перспективы генной и клеточной терапии / М. Н. Карагяур, П. И. Макаревич, Е. К. Шевченко [и др.] // Гены и клетки. – 2017. – Т. 12, № 1. – С. 6-14
25. Кардаш А. М. Магнитная стимуляция и регенерация периферических нервов: основные понятия / А. М. Кардаш, В. Ф. Дроботько // Украинский нейрохирургический журнал. – 2000. – № 4. – С. 110-117.
26. Кобер К. В. Вариантная анатомия плечевого сплетения и грудоспинного нерва человека: диссертация кандидат медицинских наук: 3.3.1. - анатомия человека / Кобер Кристина Владимировна; Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого. – Красноярск, 2021.
27. Левин О. С. Диабетическая полиневропатия: современные подходы к диагностике и патогенетической терапии / О. С. Левин // Клиницист. – 2013. – № 2. – С. 54-62.
28. Маргасов А. В. Актуальные проблемы травмы периферических нервов / А. В. Маргасов // РМЖ. – 2018. – № 12-1. – С. 21-24.
29. Меркулов М. В. Влияние симпатэктомии на регенерацию периферических нервов после аутонейропластики у человека / М. В. Меркулов, И. О. Голубев, А. И. Крупаткин // Физиология человека. – 2015. – Т.41. – № 2. – С. 91–97.
30. Меркулов М. В. Оптимизация восстановления иннервации тканей при повреждениях периферических нервов конечностей: диссертация доктора медицинских наук: 14.01.15 - травматология и ортопедия; 14.03.03 - патологическая физиология / Меркулов Максим Владимирович; Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова. – Москва. – 2014. – 364 с.
31. Николаев С. И. Конduit нерва на основе поли(ε-капролактона) и локальная доставка генов vegf и fgf2 стимулируют нейрорегенерацию / С. И.

Николаев, А. Р. Галлямов, Г. В. Мамин [и др.] // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2014. – № 1. – С. 44-49.

32. Николаев С. И. Локальная доставка генов *vegf* и *fgf2*, стимулирующая регенерацию нерва / С. И. Николаев, А. Р. Галлямов, Ю. А. Чельшев // Астраханский медицинский журнал. – 2013. – № 3. – С. 170-174.

33. Новиков М. Л. Травматические повреждения плечевого сплетения и современные способы хирургической коррекции. Часть 2. Тактика лечения повреждений плечевого сплетения / М. Л. Новиков, Т. Э. Торно // Нервно-мышечные болезни. – 2012. – № 4. – С. 19-27.

34. О'Брайен Б. Микрососудистая восстановительная хирургия / Б. О'Брайен; перевод с англ. Г. В. Говорунова. – Москва: Медицина, 1981. – С. 422.

35. Петрова Е. С. Восстановление повреждённого нерва с помощью клеточной терапии (фундаментальные аспекты) / Е. С. Петрова // Acta naturae. – 2015. – Т. 7, № 3. – С. 42-53.

36. Плавинский С. Л. Оценка стоимости эффективности генно-терапевтического препарата Неуваскулген в лечении хронической ишемии нижних конечностей / С. Л. Плавинский, П. И. Шабалкин, А. А. Исаев, Р. В. Деев // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. – 2014. – Т. 6, № 2. – С. 53-59.

37. Попович М. И. Сравнительная оценка пластики нервов некровоснабжаемыми (свободными) и кровоснабжаемыми аутонейротрансплантатами / М. И. Попович // Вопросы реконструктивной и пластической хирургии. – 2013. – № 2. – С. 29-33.

38. Пятин В. Ф. Значение состава внутренней среды кондуитов для активации роста аксонов при протяженных дефектах периферических нервов / В. Ф. Пятин, А. О. Тутуров // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2019. – № 4. – С. 100-105.

39. Рассел С. М. Диагностика повреждений периферических нервов / С. М. Рассел. – Москва: БИНОМ, 2009. – 251 с.

40. Салтыкова В. Г. Ультразвуковая диагностика повреждения периферических нервов верхних конечностей / В. Г. Салтыкова, В. Н. Меркулов, И. А. Дорохин. – Москва: ЦИТО им. Приорова Росздрава, 2007.
41. Сапронова М. Р. Перспективы генной терапии в регенерации периферических нервов / М. Р. Сапронова, Н. А. Шнайдер // Вестник Клинической больницы № 51. – 2015. – С. 15-21.
42. Серяков В. И. Влияние d, L-карнитина на регенерацию периферического нерва при его полном перерыве / В. И. Серяков // Травматология и Ортопедия России. – 2008. – № 4. – С. 15-20.
43. Сидорович Р. Р. Алгоритм хирургического лечения последствий травматического повреждения плечевого сплетения с учётом результатов оперативных вмешательств на его структурах и реконструктивных операций мышечной и сухожильно-мышечной транспозиций / Р. Р. Сидорович, А. Ф. Смянович // Доклады национальной академии наук Беларуси. – 2012. – Т. 56, № 4. – С. 83-92.
44. Сидорович Р. Р. Метод аутонейропластики в лечении посттравматических дефектов структур плечевого сплетения / Р. Р. Сидорович, А. Ф. Смянович // Новости хирургии. – 2011. – № 4. – С. 83-88.
45. Сидорович Р. Р. Особенности анатомии плечевого сплетения в аспекте выполнения хирургических вмешательств на его структурах / Р. Р. Сидорович, А. Ф. Смянович, С. А. Гузов, О. А. Юдина // Вестник Витебского ГМУ. – 2011. – № 2. – С. 127.
46. Сидорович Р. Р. Особенности хирургического лечения последствий травматического повреждения плечевого сплетения методом экстраплексальной невротизации / Р. Р. Сидорович // Медицинский журнал. – 2006. – № 3. – С. 83-87.
47. Сидорович Р. Р. Применение невролиза в хирургическом лечении последствий травматического повреждения плечевого сплетения / Р. Р. Сидорович // Вестник Витебского ГМУ. – 2005. – № 2. – С. 63-69.
48. Сидорович Р. Р. Применение сочетаний методов оперативных вмешательств на структурах плечевого сплетения при его обширном повреждении

/ Р. Р. Сидорович, А. Ф. Смянович // Вестник Витебского ГМУ. – 2011. – № 3. – С. 86-92.

49. Сидорович Р. Р. Реконструктивные операции мышечной и сухожильно-мышечной транспозиции в реабилитации пациентов с последствиями травматического повреждения плечевого сплетения / Р. Р. Сидорович // Доклады национальной академии наук Беларуси. – 2011. – Т. 55, № 4. – С. 79-88

50. Сидорович Р. Р. Хирургическое лечение последствий травматического повреждения плечевого сплетения методом интраплексальной невротизации / Р. Р. Сидорович // Медицинский журнал. – 2005. – № 4. – С. 102-107.

51. Третьяк И. Б. Повреждение плечевого сплетения с преимущественным поражением верхнего ствола / И. Б. Третьяк // Украинский нейрохирургический журнал. – 2009. – № 2. – С. 72-74.

52. Тутуров А. О. Перспективы развития технологий восстановления протяженных дефектов нервов с помощью кондуитов / А. О. Тутуров, С. М. Сергеев // Политравма. – 2019. – № 2. – С. 95-101.

53. Тутуров А. О. Современные тенденции в восстановлении протяжённых дефектов нервов. Развитие технологий использования регенераторного потенциала нервных волокон, их сущность, недостатки и преимущества / А. О. Тутуров // Международный студенческий научный вестник. – 2017. – № 1. – С. 10.

54. Унжаков В. В. Особенности повторных хирургических вмешательств на нервных стволах: показания к операциям и результаты оперативных вмешательств: автореферат диссертации кандидата медицинских наук: 14.00.28 - нейрохирургия / Унжаков Владимир Витальевич; Российский научно-исследовательский нейрохирургический институт им. А.Л. Поленова. – Санкт-Петербург, 2007. – 24 с.

55. Халяпин Д. В. Механизмы восстановления функций при повреждении периферических нервов и сплетений / Д. В. Халяпин, В. В. Бельчинский. А. В. Плетнев, М. В. Кочукова // Молодой ученый. – 2016. – № 9. – С. 412-415.

56. Ханнанова И. Г. Восстановление функции двуглавой мышцы плеча методом невротизации в сочетании с аутотрансплантацией клеток стромальной васкулярной фракции жировой ткани / И. Г. Ханнанова, Р. Ф. Масгутов, А. А. Богов [и др.] // Практическая медицина. – 2015. – № 4. – С. 197-199.
57. Ходжамурадов Г. М. Применение нервных трансплантатов при пластике дефектов нервных стволов верхних конечностей / Г. М. Ходжамурадов, М. Ф. Одинаев, М. М. Исмоилов [и др.] // Доклады академии наук республики Таджикистан. – 2011. – Т. 54, № 12. – С. 1023-1027.
58. Ходжамурадов Г. М. Реконструкция посттравматических дефектов нервных стволов плечевого сплетения / Г. М. Ходжамурадов, М. Ф. Одинаев, М. М. Исмоилов // Вестник Авиценны. – 2012. – № 1. – С. 22-30.
59. Цимбалюк В. И. Хирургическое лечение поврежденного плечевого сплетения / В. И. Цимбалюк. – Тернопіль, 2001. – 212 с.
60. Черенько Т. М. Постинсультный болевой синдром / Т. М. Черенько // Український неврологічний журнал. – 2014. – № 1. – С. 11-18.
61. Черных А. В. Анатомическое обоснование модификации опосредованной пластики пахового канала / А. В. Черных, Е. Н. Любых, В. Г. Витчинкин, Е. И. Закурдаев // Новости хирургии. – 2014. – Т. 22, № 4. – С. 403-407.
62. Черных А. В. Конституциональные и топографо-анатомические особенности строения подчревной области передней брюшной стенки / А. В. Черных, Е. Н. Любых, Ю. В. Малеев, Е. И. Закурдаев // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2014. – Т. 7, № 1. – С. 25-31.
63. Черных А. В. Аутотрансплантация икроножным нервом в микрохирургии верхних конечностей у пациентов с сахарным диабетом 2 типа / А. В. Черных, Д. В. Судаков, Н. В. Якушева // Прикладные информационные аспекты медицины. – 2016. – Т. 19, № 3. – С. 107-112.
64. Щаницын И. Н. Стимуляция регенерации периферических нервов: современное состояние, проблемы и перспективы / И. Н. Щаницын, А. Н. Иванов,

С. П. Бажанов [и др.] // Успехи физиологических наук. – 2017. – Т. 48, № 3. – С. 92-112.

65. Щудло М. М. Реакция нервов на растяжение и их структурная адаптация к удлинению конечности / М. М. Щудло, Н. А. Щудло, Т. Н. Варсегова, И. В. Борисова // Гений ортопедии. – 2009. – № 4. – С. 48-55.

66. Яриков А. В. Травматическое повреждение плечевого сплетения / А. В. Яриков, А. В. Туткин, В. А. Леонов [и др.] // Сибирский медицинский журнал. – 2019. – № 4. – С. 14-18.

67. Addas B. M. Nerve transfers for severe nerve injury / B. M. Addas R. Midha // Neurosurg Clin N Am. – 2009. – № 1. – P. 27–38.

68. Bampton E. T. Effects of Schwann cell secreted factors on PC 12 cell neuritogenesis and survival / E. T. Bampton, J. S. Taylor // J. neurobiol. – 2005. – № 63. – P. 29–48.

69. Bansal H. Intra-articular injection in the knee of adipose derived stromal cells (stromal vascular fraction) and platelet rich plasma for osteoarthritis / H. Bansal, K. Comella, J. Leon [et al.] // J Transl Med. – 2017. – № 15. – P. 141.

70. Baradaran A. Peripheral Nerve Healing: So Near and Yet So Far / A. Baradaran, H. El-Hawary, J. Efanov, L. Xu // Semin Plast Surg. – 2021. – № 3. – P. 204-210.

71. Barrington M. J. Case scenario: postoperative brachial plexopathy associated with infraclavicular brachial plexus blockade: localizing postoperative nerve injury / M. J. Barrington, W. Morrison, T. Sutherland [et al.] // Anesthesiology. – 2014. – № 2. – P. 383-387.

72. Beazley-Long N. VEGF-A165b is an endogenous neuroprotective splice isoform of vascular endothelial growth factor A in vivo and in vitro / N. Beazley-Long, J. Hua, T. Jehle [et al.] // J Pathol. – 2013. – № 3. – P. 918-929.

73. Berman S. Effective Treatment of Traumatic Brain Injury in Rowett Nude Rats with Stromal Vascular Fraction Transplantation / S. Berman, T. L. Uhlendorf, M. Berman, E. B. Lander // Brain Sci. – 2018. – № 6. – P. 112.

74. Bhandari P. S. Management strategy in post traumatic brachial plexus injuries / P. S. Bhandari, H. S. Bhatoe, M. K. Mukherjee, P. Deb // *The indian journal of neurotrauma*. – 2012. – № 1. – P. 19-29.
75. Bhangra K. S. Using stem cells to grow artificial tissue for peripheral nerve repair / K. S. Bhangra, F. Busuttil, J. B. Phillips, A. A. Rahim // *Stem Cells International*. – 2016. – № 1. – P. 1-18.
76. Bony C. Adipose mesenchymal stem cells isolated after manual or water-jet-assisted liposuction display similar properties / C. Bony, M. Cren, S. Domergue [et al.] // *Front Immunol*. – 2016. – № 6. – P. 1–8.
77. Bora P. Adipose tissue-derived stromal vascular fraction in regenerative medicine: a brief review on biology and translation / P. Bora, A. S. Majumdar // *Stem Cell Res Ther*. – 2017. – № 1. – P. 145.
78. Bowles A. C. Adipose stromal vascular fraction-mediated improvements at late-stage disease in a murine model of multiple sclerosis / A. C. Bowles, A. L. Strong, R. M. Wise [et al.] // *Front Immunol*. – 2017. – № 35. – P. 532–544.
79. Bucan V. Effect of Exosomes from Rat Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells on Neurite Outgrowth and Sciatic Nerve Regeneration After Crush Injury / V. Bucan, D. Vaslaitis, C.T. Peck [et al.] // *Mol Neurobiol*. – 2019. – №56(3). – P. 1812-1824.
80. Bucknor A. Socioeconomic disparities in brachial plexus surgery: a national database analysis / A. Bucknor, A. Huang, W. Wu [et al.] // *Plast Reconstr Surg Glob Open*. – 2019. – № 2. – P. e2118.
81. Bushnell B. D. Early clinical experience with collagen nerve tubes in digital nerve repair / B. D. Bushnell, A. D. McWilliams, G. B. Whitener, T. M. Messer // *J. Hand Surg. Am*. – 2008. – № 33. – P. 1081-1087.
82. Calcagni M. The novel treatment of SVF-enriched fat grafting for painful end-neuromas of superficial radial nerve / M. Calcagni, S. Zimmermann, M. F. Scaglioni [et al.] // *Microsurgery*. – 2018. – Vol. 38, № 3. – P. 264-269.

83. Callaghan B. C. Diabetic neuropathy: clinical manifestations and current treatments / B. C. Callaghan, H. T. Cheng, C. L. Stables [et al.] // *The Lancet Neurology*. – 2012. – Vol. 11, № 6. – P. 521-534.
84. Caporrino F. A. Brachial plexus injuries: diagnosis performance and reliability of everyday tools / F. A. Caporrino, L. Moreira, V. Y. Moraes [et al.] // *Hand Surg*. – 2014. – № 1. – P. 7-11.
85. Casteilla L. Adipose-derived stromal cells: their identity and uses in clinical trials, an update / L. Casteilla // *World J Stem Cells*. – 2011. – № 3. – P. 25-33.
86. Chalidapong P. Restoration of elbow flexor in brachial plexus injured patients / P. Chalidapong, K. Sananpanich, K. Chiengthong, V. Sakares // *Hand Surgery*. – 2011. – № 2. – P. 345-348.
87. Charles-de-Sá L. Antiaging treatment of the facial skin by fat graft and adipose-derived stem cells / L. Charles-de-Sá, N. F. Gontijo-de-Amorim, C. Maeda Takiya [et al.] // *Plast Reconstr Surg*. – 2015. – № 135. – P. 999–1009.
88. Chato-Astrain J. *In vivo* Evaluation of Nanostructured Fibrin-Agarose Hydrogels With Mesenchymal Stem Cells for Peripheral Nerve Repair / J. Chato-Astrain, F. Campos, O. Roda [et al.] // *Front Cell Neurosci*. – 2018. – № 12. – P. 501.
89. Chin B. Efficient Imaging: Examining the Value of Ultrasound in the Diagnosis of Traumatic Adult Brachial Plexus Injuries, A Systematic Review / B. Chin, M. Ramji, F. Farrokhyar, J. R. Bain // *Neurosurgery*. – 2018. – Vol. 83, № 3. – P. 323-332.
90. Colbert S. H. Nerve transfers for brachial plexus reconstruction / S. H. Colbert, S. E. Mackinnon // *Hand Clin*. – 2008. – Vol. 24, № 4. – P. 341-361.
91. De la Rosa M. B. Adult Stem Cell-Based Strategies for Peripheral Nerve Regeneration / M. B. De la Rosa, E. M. Kozik, D. S. Sakaguchi // *Adv Exp Med Biol*. – 2018. – № 1119. – P. 41-71.
92. Dubuisson A. S. Brachial plexus injury: a survey of 100 consecutive cases from a single service / A. S. Dubuisson, D. G. Kline, A. P. Amar [et al.] // *Neurosurgery*. – 2002. – Vol. 51, № 3. – P. 673–683.

93. El-Habta R. Anti-apoptotic effect of adipose tissue-derived stromal vascular fraction in denervated rat muscle / R. El-Habta, G. Andersson, P. J. Kingham [et al.] // *Stem Cell Res Ther.* – 2021. – № 1. – P. 162.
94. El-Habta R. The adipose tissue stromal vascular fraction secretome enhances the proliferation but inhibits the differentiation of myoblasts / R. El-Habta, M. Sloniecka, P. J. Kingham, L. J. Backman // *Stem Cell Res Ther.* – 2018. – № 9. – P. 352.
95. Endo T. A Novel Experimental Model to Determine the Axon-Promoting Effects of Grafted Cells After Peripheral Nerve Injury / T. Endo, K. Kadoya, Y. Suzuki [et al.] // *Front Cell Neurosci.* – 2019. – № 13. – P. 280.
96. Fang Y. A new type of Schwann cell graft transplantation to promote optic nerve regeneration in adult rats / Y. Fang, X. Mo, W. Guo // *J. Tissue Eng. Regen. Med.* – 2010. – Vol. 4, № 8. – P. 581-589.
97. Faroni A. Peripheral nerve regeneration: experimental strategies and future perspectives / A. Faroni, S.A. Mobasseri, P.J. Kingham [et al.] // *Adv Drug Deliv Rev.* – 2015. – № 82-83. – P. 160-7.
98. Feinberg J. H. Brachial plexopathy/nerve root avulsion in a football player: the role of electrodiagnostics / J. H. Feinberg, J. Radecki, S. W. Wolfe [et al.] // *HSS J.* – 2008. – Vol. 4, № 1. – P. 87-95.
99. Franco-Martinez L. Biomarkers of health and welfare: A One Health perspective from the laboratory side / L. Franco-Martinez, S. Martinez-Subiela, J. J. Ceron [et al.] // *Res. Vet. Sci.* – 2020. – № 128. – P. 299-307.
100. Gao Y. Changes in nerve microcirculation following peripheral nerve compression / Y. Gao, C. Weng, X. Wang // *Neural Regen Res.* – 2013. – № 8. – P. 1041-1047.
101. Geldmacher J. The microsurgical restoration of peripheral nerves / J. Geldmacher, W. Albers // *Chir. plastica.* – 1982. – № 6. – P. 243-248.

102. Gene therapy for the peripheral nervous system: a strategy to repair the injured nerve / M. R. Mason, M. R. Tannemaat, M. J. Malessy [et al.] // *Curr. Gene. Ther.* – 2011. – Vol. 11, № 2. – P. 75-89.
-
103. Goldberg J. L. How does an axon grow? / J. L. Goldberg // *Genes & Development.* – 2003. – Vol. 17, № 8. – P. 941-958.
104. Gupta R. Human studies of angiogenic gene therapy / R. Gupta, J. Tongers, D. W. Losordo // *Circ. Res.* – 2009. – № 8. – P. 724-736.
105. Heine W. Transplanted neural stem cells promote axonal regeneration through chronically denervated peripheral nerves / W. Heine, K. Conant, J. W Griffin, A. Höke // *Exp. neurol.* – 2004. – № 2. – P. 231–240.
106. Hopf A. Schwann Cell-Like Cells: Origin and Usability for Repair and Regeneration of the Peripheral and Central Nervous System / A. Hopf, D.J. Schaefer, D.F. Kalbermatten [et al.] // *Cells.* – 2020. – № 9(9). – P. 1990.
107. Idrisova K. F. Application of neurotrophic and proangiogenic factors as therapy after peripheral nervous system injury / K. F. Idrisova, A. K. Zeinalova, G. A. Masgutova // *Neural Regen Res.* – 2022. – № 6. – P. 1240-1247.
108. Jahromi M. The advances in nerve tissue engineering: From fabrication of nerve conduit to in vivo nerve regeneration assays / M. Jahromi, S. Razavi, A. Bakhtiari // *J. Tissue Eng. Regen. Med.* – 2019. – № 13. – P. 2077–2100.
109. Kalinina N. Characterization of secretomes provides evidence for adipose-derived mesenchymal stromal cells subtypes / N. Kalinina, D. Kharlampieva, M. Loguinova [et al.] // *Stem Cell Res. Ther.* – 2015. – № 6. – P. 221-232.
110. Khuong H. Advances in Nerve Repair / H. Khuong, R. Midha // *Current Neurology and Neuroscience Reports.* – 2013. – № 13. – P. 322.
111. Kingham P. J. Stimulating the neurotrophic and angiogenic properties of human adipose-derived stem cells enhances nerve repair / P. J. Kingham, M. K. Kolar, L. N. Novikova [et al.] // *Stem Cells Dev.* 2014. – № 23. – P. 741–754.
112. Knight M. Tissue engineering: progress and challenges / M. Knight, G. R. Evans // *Plast. reconstr. surg.* – 2004. – № 114. – P. 26–37.

113. Kong L. Biomechanical microenvironment in peripheral nerve regeneration: from pathophysiological understanding to tissue engineering development / L. Kong, X. Gao, Y. Qian [et al.] // *Theranostics*. – 2022. – 12 – №11. – P. 4993-5014
114. Kumar P. The mesenchymal stem cell secretome: A new paradigm towards cell-free therapeutic mode in regenerative medicine / P. Kumar, S. Kandoi, R. Misra [et al.] // *Cytokine Growth Factor Rev.* – 2019. – № 46. – P. 1–9.
115. Laumonerie P. Peripheral Nerve Injury Associated with a Subdermal Contraceptive Implant: Illustrative Cases and Systematic Review of Literature / P. Laumonerie, L. Blasco, M. Tibbo [et al.] // *World Neurosurg.* – 2018. – Vol. 111. – P. 317-325.
116. Lee H. Adipose tissue derived stromal vascular fraction as an adjuvant therapy in stroke rehabilitation / H. Lee, S. W. Park, I.-K. Kim [et al.] // *Medicine*. – 2020. – № 34. – P. e21846.
117. Lee C. Recovery of renal function after administration of adipose-tissue-derived stromal vascular fraction in rat model of acute kidney injury induced by ischemia/reperfusion injury / C. Lee, M. J. Jang, B. H. Kim [et al.] // *Cell Tissue Res.* – 2017. – № 368. – P. 603-613.
118. Liao W. The efficacy of end-to-end and end-to-side nerve repair (neurorrhaphy) in the rat brachial plexus / W. Liao, J. Chen, Y. Wang, G. Tseng // *J Anat.* – 2009. – № 5. – P. 506–521.
119. Liu Y. Comparative study of phrenic and intercostal nerve transfers for elbow flexion after global brachial plexus injury / Y. Liu, J. Lao, X. Zhao // *Injury*. – 2015. – № 4. – P. 671-675.
120. Liu Y. Early microsurgical management of clavicular fracture combined with brachial plexus injury / Y. Liu, W. Wang, A. M. Regmi, Ahemaitijiang-Yusufu // *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*. – 2014. – № 11. – P. 1329-1332.
121. Makarevich P. I. Therapeutic angiogenesis using growth factors: current state and prospects for development / P. I. Makarevich, K. A. Rubina, D. T. Diykanov [et al.] // *Kardiologiya*. – 2015. – № 9. – P. 59-71.
-

122. Makridakis M. Stem cells: insights into the secretome / M. Makridakis, M. G. Roubelakis, A. Vlahou // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2013. – № 11. – P. 2380-2384.
123. Mansukhani K. A. Electrodiagnosis in traumatic brachial plexus injury / K. A. Mansukhani // *Ann Indian Acad Neurol.* – 2013. – Vol. 16, № 1. – P. 19–25.
-
124. Maugeri G. The role of exercise on peripheral nerve regeneration: From animal model to clinical application / G. Maugeri, V. D'Agata, B. Trovato [et al.] // *Heliyon.* – 2021. – № 7. – P. e08281.
125. Melief S. M. Adipose tissue-derived multipotent stromal cells have a higher immunomodulatory capacity than their bone marrow-derived counterparts / S. M. Melief, J. J. Zwaginga, W. E. Fibbe, H. Roelofs // *Stem Cells Transl. Med.* – 2013. – № 2. – P. 455–463.
126. Menorca R. M. Nerve physiology: mechanisms of injury and recovery / R. M. Menorca, T. S. Fussell, J. C. Elfar // *Hand Clin.* – 2013. – № 3. – P. 317-330.
127. Merolli A. Development of a Device-Assisted Nerve-Regeneration Procedure in Disruptive Lesions of the Brachial Plexus / A. Merolli, M. L. Manunta, Y. Mao [et al.] // *J Reconstr Microsurg.* – 2018. – № 6. – P. 389-398.
128. Millesi H. Wiederherstellung durchtrennter peripherer nerven und nerven transplantation / H. Millesi // *Munch. Med. Wochensehr.* – 1969. – № 52. – P. 2659-2674.
129. Mohammadi R. Stromal vascular fraction combined with silicone rubber chamber improves sciatic nerve regeneration in diabetes / R. Mohammadi, N. Sanaei, S. Ahsan [et al.] // *Chinese J. Traumatol.* – 2015. – № 18. – P. 212-218.
130. Moisan A. White-to-brown metabolic conversion of human adipocytes by JAK inhibition / A. Moisan, Y-K. Lee, J. D. Zhang [et al.] // *Nat Cell Biol.* – 2014. – № 17. – P. 57-67.
131. Muheremu A. Past, Present, and Future of Nerve Conduits in the Treatment of Peripheral Nerve Injury / A. Muheremu, A. Qiang // *BioMed Research International.* – 2015. – № 21. – P. 1-6.
-

132. Muradov M. Functional outcome after microsurgical reconstruction of the nerve trunks of plexus brachialis / M. Muradov, T. Sadykov // Вестник хирургии Казахстана. – 2014. – № 4. – С. 18-20.

133. Nakamura T. The discovery of hepatocyte growth factor (HGF) and its significance for cell biology, life sciences and clinical medicine / T. Nakamura, S. Mizuno // Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci. – 2010. – № 6. – P. 588-610.

134. Papalia I. Repairing nerve gaps by vein conduits filled with lipoaspirate-derived entire adipose tissue hinders nerve regeneration / I. Papalia, S. Raimondo, G. Ronchi [et al.] // Annals of Anatomy. – 2013. – № 195. – P. 225–230.

135. Park H. R. Brachial Plexus Injury in Adults / H. R. Park, G. S. Lee, S. Kim, J-C. Chang // The Nerve. – 2017. – № 1. – P. 1-11.

136. Park H.R. Nucleus accumbens deep brain stimulation for a patient with self-injurious behavior and autism spectrum disorder: functional and structural changes of the brain: report of a case and review of literature / H.R. Park, I.H. Kim, H. Kang [et al.] // Acta Neurochir (Wien). – 2017. – 159(1). – P. 137-143.

137. Parrinello S. EphB signaling directs peripheral nerve regeneration through Sox2-dependent Schwann cell sorting / S. Parrinello, I. Napoli, S. Ribeiro [et al.] // Cell. – 2010. – Vol. 143, № 1. – P. 145-155.

138. Rasulić L. Outcome after brachial plexus injury surgery and impact on quality of life / L. Rasulić, A. Savić, B. Živković [et al.] // Acta Neurochirurgica. – 2017. – № 7. – P. 1257-1264.

139. Razaq S. The pattern of peripheral nerve injuries among Pakistani soldiers in the war against terror / S. Razaq, R. Yasmeen, A. W. Butt [et al.] // Journal of the College of Physicians and Surgeons. – 2015. – № 5. – P. 363-366.

140. Rezende M. R. News in brachial plexus surgery / M. R. Rezende, G. B. Silva, E. Paula [et al.] // Clinics. – 2013. – Vol. 68, № 3. – P. 411-418.

141. Rezende M. R. Results of ulnar nerve neurotization to biceps brachii muscle in brachial plexus injury / M. R. Rezende, N. Rabelo C. C. Silveira [et al.] // Acta Ortop Bras. – 2012. – Vol. 20, № 6. – P. 317-323.

142. Roberts S.E. To reverse or not to reverse? A systematic review of autograft polarity on functional outcomes following peripheral nerve repair surgery / S.E. Roberts, S. Thibaudeau, J.C. Burrell [et al.] // *Microsurgery*. – 2017. – 37(2). – P. 169-174.
143. Saffari S. The interaction of stem cells and vascularity in peripheral nerve regeneration / S. Saffari, T. M. Saffari, D. J. O. Ulrich [et al.] // *Neural Regen. Re.* – 2021. – № 16. – P. 1510–1517.
144. Sakellariou V. I. Brachial plexus injuries in adults: evaluation and diagnostic approach / V. I. Sakellariou, N. K. Badilas, G. A. Mazis [et al.] // *ISRN Orthopedics*. – 2014. – № 1. – P. 1-9.
145. Sakellariou V. I. Treatment Options for Brachial Plexus Injuries / V. I. Sakellariou, N. K. Badilas, N. A. Stavropoulos [et al.] // *ISRN Orthopedics*. – 2014. – № 2014. – P. 314137.
146. Schaakxs D. Regenerative cell injection in denervated muscle reduces atrophy and enhances recovery following nerve repair / D. Schaakxs, D. F. Kalbermatten, W. Raffoul [et al.] // *Muscle Nerve*. – 2013. – № 47. – P. 691-701.
147. Schlosshauer B. Synthetic nerve guide implants in humans: a comprehensive survey / B. Schlosshauer, L. Dreesmann, H. E. Schaller, N. Sinis // *Neurosurgery*. – 2006. – № 59. – P. 740-747.
148. Semon J. A. Administration of murine stromal vascular fraction ameliorates chronic experimental autoimmune encephalomyelitis / J. A. Semon, X. Zhang, A. C. Pandey [et al.] // *Stem Cells Translational Medicine*. – 2013. – Vol. 2, № 10. – P. 789-796.
149. Shen C. C. Effects of large-area irradiated laser phototherapy on peripheral nerve regeneration across a large gap in a biomaterial conduit / C. C. Shen, Y. C Yang, B. S. Liu // *J. Biomed. Materials Res*. – 2013. – Vol. 101, № 1. – P. 239-252.
150. Shimizu M. Adipose-derived stem cells and the stromal vascular fraction in polyglycolic acid-collagen nerve conduits promote rat facial nerve regeneration / M. Shimizu, H. Matsumine, H. Osaki [et al.] // *Wound Repair Regen*. – 2018. – № 6. – P. 446-455.

151. Silva F. J. Metabolically active human brown adipose tissue derived stem cells / F. J. Silva, D. J. Holt, V. Vargas [et al.] // *Stem Cells*. – 2014. – № 32. – P. 572-581.
152. Spanholtz T. A. Vascular endothelial growth factor (VEGF165) plus basic fibroblast growth factor (bFGF) producing cells induce a mature and stable vascular network a future therapy for ischemically challenged tissue / T. A. Spanholtz, P. Theodorou, T. Holzbach [et al.] // *J Surg Res*. – 2011. – Vol. 171, № 1. – P. 329-338.
153. Strioga M. Same or Not the Same? Comparison of Adipose Tissue-Derived Versus Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem and Stromal Cells / M. Strioga, S. Viswanathan, A. Darinkas [et al.] // *Stem Cells Dev*. – 2012. – № 21. – P. 2724–2752.
154. Sureka J. MRI of brachial plexopathies / J. Sureka, R. A. Cherian, M. Alexander // *Clin. Radiol*. – 2009. – Vol. 64. – P. 208-218.
155. Suzuki E. Adipose tissue-derived stem cells as a therapeutic tool for cardiovascular disease / E. Suzuki, D. Fujita, M. Takahashi [et al.] // *World J Cardiol*. – 2015. – № 7. – P. 454-465.
156. Tenenhaus M. Injection of SVF combined with HBO2 improves viability of unfavorably designed flaps / M. Tenenhaus, N. A. Gaid, S. Hayes [et al.] // *Undersea Hyperb Med*. – 2018. – № 45. – P. 381–388.
157. Terzis J. K. The surgical treatment of brachial plexus injuries in adults / J. K. Terzis, K. C. Papakonstantinou // *Plast Reconstr Surg*. – 2000. – № 106. – P. 1097-1118.
158. Tremp M. Regeneration of nerve crush injury using adipose-derived stem cells: A multimodal comparison / M. Tremp, L. Sprenger, L. Degrugillier [et al.] // *Muscle Nerve*. – 2018. – № 58(4). – P. 566-572.
159. Ucuzian A. Molecular mediators of angiogenesis / A. Ucuzian, A. Gassman, A. T. East, H. P. Greisler // *J Burn Care Res*. – 2010. – Vol. 31, № 1. – P. 158-175.
160. Usuelli F. G. Intratendinous adipose-derived stromal vascular fraction (SVF) injection provides a safe, efficacious treatment for Achilles tendinopathy: results of a randomized controlled clinical trial at a 6-month follow-up / F. G. Usuelli, M.

Grassi, C. Maccario [et al.] // *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* – 2018. – № 26. – P. 2000–2010.

161. Walsh S. Fate of stem cell transplants in peripheral nerves / S. Walsh, R. Kumar, J. Grochmal [et al.] // *Stem Cell Research.* – 2012. – Vol. 8, № 2. – P. 226-238.

162. Wangenstein K. J. Collagen tube conduits in peripheral nerve repair: a retrospective analysis / K. J. Wangenstein, L. K. Kalliainen // *Hand.* – 2010. – № 5. – P. 273-277.

163. Xiao G. H. Anti-apoptotic signaling by hepatocyte growth factor/Met via the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt and mitogen-activated protein kinase pathways / G. H. Xiao, M. Jeffers, A. Bellacosa [et al.] // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2001. – № 98. – P. 247–252.

164. Yang J. Modified pathological classification of brachial plexus root injury and its MR imaging characteristics / J. Yang, B. Qin, G. Fu [et al.] // *J Reconstr Microsurg.* – 2014. – № 3. – P. 171-178.

165. Yang L. J. A systematic review of nerve transfer and nerve repair for the treatment of adult upper brachial plexus injury / L. J. Yang, K. W. Chang, K. C. Chung // *Neurosurgery.* – 2012. – Vol. 71, № 2. – P. 417-429.

166. Yang L. The Role of Functional Electrical Stimulation in Brachial Plexus Injury Repair / Yang, L., Li, Y., Zhang, Q., [et al.] // *Brachial Plexus Injury* – 2021. – 13 – № 5. – P. 4939-4948.

167. You D. Comparative study of autologous stromal vascular fraction and adipose-derived stem cells for erectile function recovery in a rat model of cavernous nerve injury / D. You, M. J. Jang, B. H. Kim [et al.] // *Stem Cells Transl Med.* – 2015. – № 4. – P. 351-358.

168. Yousefi F. Novel approaches using mesenchymal stem cells for curing peripheral nerve injuries / F. Yousefi, F. Lavi Arab, K. Nikkhah [et al.] // *Life Sci.* – 2019. – № 221. – P. 99-108.

169. Yu Q. End-to-side neurorrhaphy repairs peripheral nerve injury: sensory nerve induces motor nerve regeneration / Q. Yu, S. H. Zhang, T. Wang [et al.] // *Neural Regen Res.* – 2017. – Vol. 12, № 10. – P. 1703-1707.

170. Zachary I. Neuroprotective role of vascular endothelial growth factor: signalling mechanisms, biological function, and therapeutic potential / I. Zachary // *Neurosignals*. – 2005. – Vol. 14. – № 5. – P. 207-221.
171. Zavan B. Neural potential of adipose stem cells / B. Zavan, Vindigni V, Gardin C. [et al.] // *Discov Med*. – 2010. – № 10(50). – P. 37-43.
172. Zhang L. Clinical Value and Diagnostic Accuracy of 3.0T Multi-Parameter Magnetic Resonance Imaging in Traumatic Brachial Plexus Injury / L. Zhang, T. Xiao, Q. Yu [et al.] // *Med Sci Monit*. – 2018. – №24. – P. 7199-7205.
173. Zhang N. Biodegradable Conduit Small Gap Tubulization for Peripheral Nerve Mutilation: A Substitute for Traditional Epineurial Neuroorrhaphy / P. Zhang, N. Han, T. Wang[et al.] // *Int J Med Sci*. – 2013. – Vol. 10, № 2. – P. 171-175.
174. Zhang P. Tissue engineering for the repair of peripheral nerve injury / P. Zhang, H. Na, Y. Kou [et al.] // *Neural Regen Res*. – 2019. – Vol. 14. – № 1. – P. 51-58.
175. Zhao X. Therapeutic application of adipose-derived stromal vascular fraction in diabetic foot / X. Zhao, J. Guo, F. Zhang [et al.] // *Stem Cell Res Ther*. – 2020. – № 1. – P. 394.
176. Zimmermann S. Outcome of Stromal Vascular Fraction-Enriched Fat Grafting Compared to Intramuscular Transposition in Painful End-Neuromas of Superficial Radial Nerve: Preliminary Results / S. Zimmermann, R. M. Fakin, P. Giovanoli, M. Calcagni // *Front Surg*. – 2018. – № 16. – P. 5-10.
177. Zuk P. A. Multilineage cells from human adipose tissue: Implications for cell-based therapies / P. A. Zuk, M. Zhu, H. Mizuno [et al.] // *Tissue Engineering*. – 2001. – № 7. – P. 211-228.