

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ  
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

*На правах рукописи*

Бацаленко Николай Петрович

**Методика микрохирургической невротизации мышцы**

14.01.17 – Хирургия

Диссертация

на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

**Научный руководитель:**

Академик РАН,  
доктор медицинских наук, профессор  
Решетов Игорь Владимирович

Москва - 2021

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1. Обзор литературы.....	13
1. Повреждения диафрагмы таза.....	13
1.1. Проблема каловой инконтиненции.....	13
1.2. Методики реконструкции запирающего аппарата прямой кишки.....	14
1.3. История возникновения прямой невротизация мышцы.....	20
1.4. Понятие невротизации, техника выполнения.....	22
1.5. Механизм невротизации.....	29
1.6. Применение невротизации в клинической практике.....	32
1.6.1. Применение невротизации при реконструкции плечевого сплетения....	32
1.6.2. Применение невротизации при реконструктивных операциях на лице .	34
1.6.3. Применение невротизации при реконструктивных операциях на молочной железе.....	35
1.7. Способы оценки результатов невротизации.....	36
1.8. Способы стимуляции регенерации аксонов.....	39
Глава 2. Материалы и методы.....	48
2.1. Дизайн исследования.....	48
2.2. Характеристика проводимых оперативных вмешательств.....	51
2.3. Показатели для оценки.....	61
2.4. Методика макроскопического и функционального исследования состояния неосфинктера.....	61
2.5. Методика проведения гистологических исследований.....	65
2.6. Методика проведения морфометрических исследований.....	67
2.7. Методика статистических исследований.....	67
Глава 3. Результаты.....	69
3.1. Характеристика экспериментальных животных.....	69

3.2. Результаты макроскопического исследования .....	69
3.3. Результаты функционального исследования состояния неосфинктера .....	72
3.4. Результаты морфологического исследования .....	76
3.5. Результаты статистического исследования.....	81
Глава 4. Обсуждение полученных результатов .....	86
4.1. Пластика диафрагмы таза путем формирования неосфинктера прямой кишки без выполнения прямой мышечной невротизации .....	86
4.2. Пластика диафрагмы таза путем формирования неосфинктера прямой кишки с выполнением прямой мышечной невротизации без создания градиентов нейротрофинов.....	88
4.3. Пластика диафрагмы таза путем формирования неосфинктера прямой кишки с выполнением прямой мышечной невротизации и созданием градиента нейротрофинов.....	90
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	95
ВЫВОДЫ .....	97
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	99
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	100

## ВВЕДЕНИЕ

### *Актуальность и степень разработанности темы исследования*

Функциональные расстройства, полученные в результате повреждения диафрагмы таза, приводят к снижению уровня социальной адаптации и ухудшению психоэмоционального состояния пациентов. Проблема каловой инконтиненции, возникшей на фоне повреждения диафрагмы таза оказывает негативное влияние на качество жизни, помещая больных в рамки социальных ограничений.

Охватывая все слои населения, встречаясь с одинаковой частотой, как у мужчин, так и у женщин, среди лиц взрослого и детского возраста, каломазание и недержание кишечного содержимого приводит к нарушению социальной адаптации пациентов, ухудшению взаимоотношений с окружающими, исключению из активной социальной деятельности в связи с возникшими ограничениями.

В настоящее время существует множество реконструктивно-пластических операций, направленных на восстановление диафрагмы таза, но ни одна из них в полном объеме не отвечает клиническим требованиям и ожиданиям пациента, и данная проблема по сегодняшний день остается актуальной.

С началом применения микрохирургической техники при выполнении реконструктивных операций отмечается рост качества отдаленных результатов восстановления двигательной и чувствительной иннервации.

В данной работе проведена оценка эффективности прямой невротизации мышцы при выполнении реконструктивно-пластических операций, направленных на восстановление диафрагмы таза на примере создания управляемого запирающего аппарата прямой кишки.

Создание градиента нейротрофинов является перспективным направлением в стимуляции роста аксонов. В настоящее время создание градиента нейротрофинов активно применяется при повреждении периферических нервов в виде наполнения кондуитов. Наиболее часто встречаются биodeградируемые кондуиты марки NeuroGen. Актуальным остается оценка влияния создания градиента нейротрофинов при выполнении прямой невротизации мышцы. В настоящем исследовании произведена оценка влияния создания градиента нейротрофинов в толще мышцы и влияние его на аксональный рост, и скорость формирования нейромышечных синапсов при выполнении прямой невротизации мышцы

Всё вышеизложенное определяет актуальность изучения особенностей выполнения пластики диафрагмы таза на примере оценки влияния прямой мышечной невротизации в комбинации с нейротрофинами на функциональность сформированного неосфинктера прямой кишки и является условием для постановки целей и задач настоящего исследования.

### ***Цель настоящей работы***

Разработать оптимальную методику пластики диафрагмы таза путем создания в эксперименте неосфинктера прямой кишки и дать оценку влияния прямой мышечной невротизации в комбинации с нейротрофинами на его функциональность

### *Задачи исследования*

1. Разработать экспериментальную модель, позволяющую оценить влияние прямой мышечной невротизации в комбинации с нейротрофинами на восстановление функции диафрагмы таза.
2. На экспериментальной модели изучить основные проблемы в восстановлении нервно-мышечной передачи у пациентов с повреждениями и нарушениям функции диафрагмы таза
3. На экспериментальной модели оценить эффективность разработанной методики пластики диафрагмы таза без прямой мышечной невротизации по функциональным и морфологическим критериям.
4. На экспериментальной модели оценить эффективность разработанной методики пластики диафрагмы таза с применением прямой мышечной невротизации по функциональным и морфологическим критериям
5. На экспериментальной модели оценить эффективность разработанной методики пластики диафрагмы таза с применением прямой мышечной невротизации в комбинации с нейротрофинами по функциональным и морфологическим критериям
6. Разработать способ оценки функциональных показателей восстановленной диафрагмы таза.
7. Сравнить между собой методики пластики диафрагмы таза (пластика диафрагмы таза без прямой мышечной невротизации, пластика диафрагмы таза с применением прямой мышечной невротизации и пластика диафрагмы таза с применением прямой мышечной невротизации в комбинации с нейротрофинами) и выбрать оптимальную с учетом полученных функциональных и морфологических показателей.

### ***Научная новизна***

Разработана новая методика пластики диафрагмы таза. Впервые охарактеризовано применение прямой мышечной невротизации в комбинации с формированием градиента нейротрофинов при выполнении пластики диафрагмы таза. Разработан, запатентован и испытан в лабораторных условиях аппарат для оценки эффективности работы, сформированного неосфинктера. (заявка на патент № 2020135964).

### ***Теоретическая и практическая значимость работы***

По итогам выполненной работы разработана новая методика пластики диафрагмы таза путем формирования неосфинктера прямой кишки с выполнением прямой мышечной невротизации в комбинации с нейротрофинами, позволяющая увеличить эффективность работы сформированного неосфинктера, уменьшить число послеоперационных осложнений и ускорить сроки реабилитации пациентов. Сформулированы практические рекомендации для применения данной методики в клинической практике.

С целью оценки эффективности проводимой методики разработан и применен в лабораторных условиях аппарат, оценивающий импульсную работу сформированного неосфинктера.

Разработанный аппарат для оценки эффективности сформированного неосфинктера запатентован (заявка на патент № 2020135964).

### *Методология и методы исследования*

В основе диссертации лежит экспериментальное исследование с использованием лабораторных животных и применением клинических, морфологических, лабораторных и статистических методов. Настоящее исследование одобрено Локальным комитетом по этике ГБОУ ВПО Первого МГМУ им И.М. Сеченова (протокол № 03-16 от 02.03.2016).

### *Основные положения, выносимые на защиту*

1. После проведения пластики диафрагмы таза путем формирования неосфинктера прямой кишки без проведения прямой мышечной невротизации по сравнению со здоровыми животными выявлено: нарушение функционального состояния сформированного неосфинктера, изменение физиологии акта дефекации с формированием компенсаторного механизма, наличие морфологических нарушений в области сформированного неосфинктера
2. После проведения пластики диафрагмы таза путем формирования неосфинктера прямой кишки с выполнением прямой мышечной невротизации без применения нейротрофинов по сравнению со здоровыми животными выявлено: состоятельность сформированного неосфинктера, минимальное количество морфологических изменений в области сформированного неосфинктера, формирование механизма акта дефекации близкому к нормальной физиологии.
3. После проведения пластики диафрагмы таза путем формирования неосфинктера прямой кишки с выполнением прямой мышечной невротизации в комбинации с нейротрофинами по сравнению со здоровыми животными выявлено: полное соответствие морфофункциональных

показателей контрольной группе, формирование нормальной физиологии акта дефекации, сокращение сроков формирования нейромышечных синапсов.

4. Наиболее оптимальной является методика пластики диафрагмы таза путем формирования неосфинктера прямой кишки с выполнением прямой мышечной невротизации в комбинации с нейротрофинами, которая позволяет добиться полной состоятельности сформированного неосфинктера в короткий срок, восстановления нормального физиологического акта дефекации, отсутствия морфофункциональных нарушений со стороны сформированного неосфинктера и имеет преимущества перед методиками, применяемыми у животных первой и второй группы.

#### *Степень достоверности и апробация результатов*

Достоверность полученных в ходе работы данных определяется достаточным числом исследований, комплексным подходом к проведению исследований, выполненным с использованием современных методов и статистическим анализом полученных результатов. Все выводы и практические рекомендации диссертации логично вытекают из полученных результатов и соответствуют цели и задачам исследования.

Основные положения диссертации были освещены на VII международном междисциплинарном конгрессе по заболеваниям органов головы и шеи (2019 год, Москва).

Апробация диссертации состоялась на заседании кафедры онкологии, радиотерапии и пластической хирургии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) 25.10.2019 года

### ***Соответствие диссертации паспорту научной специальности***

Диссертация соответствует формуле и направлениям исследований, указанных в паспорте научной специальности «Хирургия» (шифр специальности 14.01.17) пункт 4.

Хирургия – область медицинской науки, изучающая заболевания и повреждения, в лечении которых важнейшее значение приобретают методы кровавого и бескровного оперативного вмешательства. Создание новой хирургической техники, разработка новых оперативных вмешательств и новых хирургических технологий, а также совершенствование методов профилактики, ранней диагностики и лечения хирургических болезней будут способствовать сохранению здоровья населения, сокращению сроков временной нетрудоспособности и восстановлению трудоспособности.

Направление исследований пункт 4 паспорта специальности «Хирургия»: экспериментальная и клиническая разработка методов лечения хирургических болезней и их внедрение в клиническую практику.

### ***Личное участие автора в получении результатов***

Автором самостоятельно проведен обзор отечественной и зарубежной литературы по изучаемой теме, обобщены и проанализированы результаты клинических, морфологических, лабораторно-инструментальных исследований. Лично автором разработаны и выполнены все операции, а именно: пластика диафрагмы таза путем формирования неосфинктера прямой кишки без выполнения прямой мышечной невротизации, пластика диафрагмы таза путем формирования неосфинктера прямой кишки с выполнением прямой мышечной невротизации без применения нейротрофинов, пластика диафрагмы таза путем формирования неосфинктера прямой кишки с выполнением прямой мышечной невротизации в комбинации с нейротрофинами. При участии автора создан аппарат, оценивающий эффективность проводимой методики. Самостоятельно

проведена статистическая обработка полученных данных исследования и подготовлены материалы к публикациям.

### *Публикации*

Результаты диссертационного исследования представлены в 3 публикациях, в том числе 3 - в рецензируемом журнале из списка, рекомендованного Высшей аттестационной комиссией.

### *Объём и структура диссертации*

Материалы диссертации изложены на 114 страницах машинописного текста. Работа включает: введение, 4 главы, заключение, выводы, практические рекомендации. Библиографический указатель содержит 112 источников литературы (42 отечественных и 70 зарубежных авторов). Диссертация иллюстрирована 20 рисунками.

## **Глава 1. Обзор литературы**

### **1. Повреждения диафрагмы таза**

Функциональные расстройства, полученные в результате повреждения диафрагмы таза, приводят к снижению уровня социальной адаптации и ухудшению психоэмоционального состояния пациентов. Проблема каловой инконтиненции и недержания мочи оказывает негативное влияние на качество жизни, помещая больных в рамки социальных ограничений.[3,6]

#### **1.1. Проблема каловой инконтиненции**

Острую социальную значимость имеет проблема каловой инконтиненции. Охватывая все слои населения, встречаясь с одинаковой частотой, как у мужчин, так и у женщин, среди лиц взрослого и детского возраста, каломазание и недержание кишечного содержимого приводит к нарушению социальной адаптации пациентов, ухудшению взаимоотношений с окружающими.[28]

Проблема недержания калового содержимого встречается и у взрослого населения, и у детей. У взрослых каловая инконтиненция, как правило, возникает на фоне перенесенных травм или злокачественных заболеваний прямой кишки, которые сопровождаются её экстирпацией. У детей, зачастую, недержание кала возникает на фоне сопутствующих аноректальных пороках развития [28]. В настоящее время существует множество методик по устранению каловой инконтиненции, но ни одна из них в полном объеме не отвечает клиническим требованиям и ожиданиям пациента, и данная проблема на сегодняшний день остается актуальной.

## 1.2. Методики реконструкции запирающего аппарата прямой кишки

Для реконструкции запирающего аппарата прямой кишки условно выделяют шесть типов пластических операций:[6,7,14,29.30]

1. сфинктеропластика, леваторопластика;
2. транспозиция поперечнополосатых мышц;
3. свободная аутотрансплантация мышц;
4. операции по созданию искусственного внутреннего сфинктера;
5. использование полимерных материалов для создания сфинктера.
6. комбинированная пластика;

Однако в литературе имеются единичные исследования по коррекции аноректального угла – важнейшего функционального механизма удержания.

В настоящее время наиболее активно в реконструктивно-восстановительных операциях запирающего аппарата прямой кишки используется несколько методов: [6,7,14,29.30,31]

1. Глютеопластика
  - Сфинктероглютеопластика коротким лоскутом большой ягодичной мышцы
  - Сфинктероглютеопластика длинным лоскутом большой ягодичной мышцы
  - Сфинктероглютеопластика + пластика широкой фасцией бедра
2. Грациллопластика
  - Односторонняя грациллопластика
  - Двусторонняя грациллопластика
  - Грациллопластика + лейомиопластика

- Грациллопластика + лейомиопластика + кишечный резервуар
3. Пластика медиальной порцией большой приводящей мышцы бедра
  4. Пластика лобково-копчиковой мышцей

Определение тактики лечения повреждений сфинктера прямой кишки напрямую зависит от степени его поражения. Таким образом, современная тактика лечения складывается из объема повреждения окружности сфинктера. Сфинктеропластика является операцией выбора при повреждении  $1/4$  окружности, либо при выявлении недоразвитости анального жома. Технически операция выполняется следующим образом: На расстоянии около двух сантиметров от кожно-слизистого края заднего прохода, выполняется два симметричных разреза по передней и задней полуокружности. Поэтапно выполняется выделение передней и задней полуокружности сфинктера с последующим наложением отдельных узловых швов, затягивание которых приводит к гофрированию наружного сфинктера. Послойный шов раны.

При повреждении  $1/3$  окружности, либо при выполнении операций, направленных на восстановление нормального аноректального угла операцией выбора будет являться сфинктеролеваторопластика. На расстоянии около двух сантиметров от кожно-слизистого края задней полуокружности заднего прохода, выполняется Т-образный разрез. Выполняется выделение ножек леваторов, после чего они сшиваются отдельными узловыми швами. Послойный шов раны.

При больших повреждениях от  $1/2$  объема и более – сфинктероглютеопластика. Такая операция имеет несколько вариантов исполнения. Наиболее оптимальным вариантом является выполнение пластики коротким лоскутом большой ягодичной мышцы, выделенным по боковой окружности.

В качестве альтернативного варианта допустимо применение пластики длинным лоскутом большой ягодичной мышцы. Забор лоскута для такого типа пластики может быть односторонним или двусторонним. Варианты расположения мышцы после транспозиции зависят от величины и необходимости формирования аноректального угла, а также от необходимости укрепления тазового дна. Также эта операция имеет и ряд ограничений. В случае проявления осложнений в виде присоединения инфекции и возникновения процессов нагноения, при выполнении биглютеальной пластики существует опасность распространения процесса на ягодичные мышцы с обеих сторон.

В случае выявления больших повреждений сфинктера прямой кишки, которые сопровождаются стойким болевым синдромом, наиболее оптимальным будет являться выполнение реконструктивных операций, направленных на воссоздание сфинктера из ягодичных мышц, либо нежной мышцы бедра.[1,20,25,32,34] В тех случаях, когда для выполнения реконструктивных операций, направленных на восстановление запирающего аппарата прямой кишки, использование ягодичных мышц не представляется возможным, наиболее оптимальным будет применение нежной мышцы бедра. Это обусловлено анатомическими особенностями мышцы. Нежная мышца бедра имеет широкое основание, автономный кровоток и иннервацию.

Пластика с применением тканей нежной мышцы бедра представляет собой трехэтапную операцию. Первый этап включает в себя выделение нежной мышцы бедра и анальных сфинктеров. Второй этап – формирование подкожного туннеля с бедра на промежность и проведение выделенной мышцы через него. Третий этап – собственно пластика с укладыванием тканей по окружности ануса и их подшиванием.

В тех случаях, когда наблюдаются аномалии развития лобково-прямокишечной мышцы, либо в случае её стойкого повреждения, когда восстановление мышцы при помощи сшивания её концов не представляется возможным, рядом авторов было предложено два типа реконструктивных

операций: транспозиция мышц в положение лобково - прямокишечной и её восстановление при помощи синтетических материалов или фасциальных лоскутов.[6,7]

Одним из вариантов выполнения реконструктивных операций, направленных на восстановление запирающего аппарата является леваторопластика лобково – копчиковой мышцей. Технически, эта операция выполняется следующим образом: пациент в положении на животе, выполняется широкий разрез, лежащий основанием к анусу, после чего выполняется выделение задней поверхности прямой кишки, подлеваторного пространства и копчика. Выполняется резекция копчика, после резекции его фрагмент, вместе с ножками леваторов сдвигают книзу. Далее выполняется отсечение ножек леваторов от копчика, после этого их перекрещивают и фиксируют швами, контролируя степень сжатия пальцем, введенным в прямую кишку. Главным критерием правильно выполненной операции является смыкание просвета прямой кишки.[26,32]

Всё чаще авторы пытаются разработать реконструктивные операции, направленные на восстановление запирающего аппарата, которые будут соответствовать критериям нормальной физиологии. Одним из таких способов восстановления анального сфинктера является создание удерживающего аппарата из мобилизованной мышечной стенки прямой кишки. Одним из минусов данной методики является недержание содержимого в связи с возникновением пропульсивных волн во внутреннем сфинктере. По этой причине у пациентов, которым была выполнена данная операция, наблюдалось неконтролируемое выделение содержимого из прямой кишки. Для решения этой проблемы была разработана вторая часть этой методики, направленной на уход от возникающих пропульсивных волн и воссоздание волевого сокращения. Это достигается при помощи выполнения миотомии выше уровня сформированного неосфинктера. За счет циркулярного рассечения серозно-мышечного слоя прямой кишки,

исключается распространение пропульсивных волн ниже уровня рассечения, тем самым обеспечивая стабильную работу сформированного сфинктера.

Варианты восстановления запирающего аппарата прямой кишки из фасциальных лоскутов разрабатываются уже длительное время. Одним из первых, кто предложил эту методику, является Р.Р. Вреден. Именно он предложил использование широкой фасции бедра в качестве элементов запирающего аппарата. Предварительно подготовленные полоски, выделенные из широкой фасции бедра, по типу манжеты опоясывали прямую кишку, и подшивались к ягодичным мышцам. При сокращении ягодичных мышц полоски натягивались и сужали просвет прямой кишки, тем самым обеспечивая момент удержания содержимого. Позже эта операция получила модификацию, разработанную А.М. Аминевым, которая заключалась в том, что выделенные из широкой фасции бедра полоски проводились через специально сформированные каналы, которые предварительно обрабатывались антибиотиком. Позже было достоверно установлено, что эта модификация не состоятельна, в связи с тем, что полоски со временем срастаются со стенками каналов и тогда механизм удержания содержимого становится ограниченным, что приводит к возникновению нарушения удержания содержимого прямой кишки.

Неоднократно предпринимались попытки восстановления запирающего аппарата прямой кишки при помощи синтетических материалов. Одним из разработчиков данной методики является Horn, Schoetz. Именно он в 1985 году предложил использовать в качестве материала для восстановления лобково – прямокишечной мышцы силатик. Технически эта операция выполнялась следующим образом: Предварительно подготовленная полоска из силатика фиксировались к лонным костям, прямой кишке и оставшимся фрагментам лобково - прямокишечной мышцы по типу U-образной петли. Механизм удержания содержимого прямой кишки практически идентичен физиологическому. В момент наполнения содержимым прямой кишки, возникает рефлекс сокращения сфинктера, оставшиеся фрагменты лобково –

прямокишечной мышцы сокращаются, тем самым, приводя в движение, петлю из силастика, которая сдвигается вперед и вверх, таким образом, обеспечивая функцию удержания. В качестве альтернативы использования силастика, рядом авторов было предложено применение трансплантата из перикарда телят. Длительное время он применяется в кардиохирургии. Зарекомендовал себя, как материал устойчивый к инфекции, не вызывающий патологических реакций со стороны организма.

В тех ситуациях, когда нет возможности выполнения реконструктивных операций, направленных на восстановление запирающего аппарата прямой кишки, либо при наличии прямых противопоказаний к выполнению оперативного лечения, либо у пациентов с длительным ношением колостомы, рядом авторов рекомендуется установка магнитного запирающего устройства в область промежности. По структуре устройство представлено силиконовым кольцом, в котором содержится шесть намагниченных сегментов самаро-кобальтового сплава, специальные заглушки, вид которых зависит от анатомических особенностей промежности и конечной точки установки кольца. Особенности устройства заключается в его гибкости, за счет которой оно может легко изменять форму. За счет низкой массы конструкции, а также её гибкости, пациенты не испытывают трудности во время физических нагрузок. Также структура кольца имеет еще одну интересную особенность. Оно может быть пересечено между магнитными сегментами, без потери функциональности, а сформированное полукольцо может быть расправлено.

Установка магнитного запирающего устройства осуществляется в область промежности и сопряжена с выполнением транспозиции лоскута большой ягодичной мышцы. Положение пациента – на животе. Разрез выполняется в двух сантиметрах от края ануса. Остро и тупо на расстоянии шести сантиметров выделяется прямая кишка, на которую выполняется установка с дальнейшей фиксацией магнитного устройства. После установки имплантирующего устройства разрез в области промежности продляется на ягодичную область,

выполняется забор лоскута большой ягодичной мышцы на сосудистой ножке. После подготовки лоскута осуществляется его транспозиция в область промежности с таким расчетом, что бы он покрывал две трети магнитного устройства. Послойный шов раны.

Несмотря на обилие предложенных методик, ни одна из них не позволяет решить проблему каловой инконтиненции. Все проводимые операции по устранению дефектов аноректальной области требуют дополнительно проведение тренировок и прохождение длительной реабилитации пациентов. [6,7,14,28]

С нашей точки зрения, все недостатки предлагаемых методик обусловлены тем, что направлены исключительно на формирование запирающего аппарата прямой кишки, с расчетом на естественное переобучение мышцы. Но, к сожалению, для этого требуется слишком длительный период и высок процент негативных результатов.

В качестве решения проблемы мы можем предложить проведение реконструктивных операций, направленных на формирование неосфинктера с одномоментным выполнением прямой мышечной невротизации.

### **1.3. История возникновения прямой невротизация мышцы**

С началом применения микрохирургической техники при выполнении реконструктивных операций отмечается рост качества отдаленных результатов восстановления двигательной и чувствительной иннервации. Использование в работе методик с применением операционной оптики, тонкого шовного материала, микрохирургического инструментария значительно расширило возможности хирурга, позволяя ему работать на очень мелких структурах и тем самым улучшая отдаленные результаты. Одной из таких методик является невротизация мышцы. [2,10]

Рядом авторов указывается, что впервые успешная техника выполнения прямой невротизации трапециевидной мышцы добавочным нервом спины была выполнена Хейнике в 19 веке.[12,23,33,78]

При проведении экспериментов на собаках Стендлером и Эльсбергом были установлены сроки восстановления двигательной активности денервированной мышцы после проведения невротизации. Было выявлено и гистологически доказано, что в течение восьми недель от момента выполненной невротизации происходит формирование новых концевых пластин с ацетилхолинэстеразой в образованных нейромышечных соединениях. Возникновение данного механизма было объяснено имплантацией здорового нерва в мышцу. Но сам механизм формирования нейро-мышечного синапса при прямой невротизации мышцы до сих пор остается неясным.[10,11,78]

Взаимосвязь между степенью атрофии мышцы и скоростью восстановления функции при выполнении прямой невротизации впервые была описана Гутманом и Янгом в середине двадцатого века.

В своих работах, посвященных невротизации, Эйткен установил, что рост имплантированного нерва в денервированной мышце происходит сразу в нескольких направлениях вокруг места невротизации. Также для уменьшения травматизации и с целью создания условий для роста нерва в денервированной мышце, Эйткен предлагал использовать крупнотелые иглы для формирования каналов для нерва между мышечными пучками и человеческий фибриноген для фиксации места имплантации.[11,78]

Была описана успешная методика применения нервных трансплантатов при выполнении невротизации мышцы. Пациентам с длительно текущим односторонним параличом круговой мышцы рта была выполнена прямая невротизация мышцы с применением невральных трансплантатов. Функция была восстановлена. При помощи гистологического исследования было установлено формирование нейро-мышечных соединений в месте невротизации.[10,11,33,35]

С целью восстановления двигательной функции плечевого сустава при повреждении плечевого сплетения Таттл впервые применил частичную трансплантацию диафрагмального нерва для невротизации дельтовидной мышцы. [37]

#### **1.4. Понятие невротизации, техника выполнения**

С целью восстановления двигательной функции денервированной мышцы применяется прямая невротизация. Особенностью техники выполнения является вшивание нервных волокон в толщу мышцы. [78] Перед имплантацией нерва в толщу мышцы, он разделяется на фасцикулы. Для ускорения процессов невротизации и расширения площади воздействия на мышцу, культя нерва предварительно иссекается под острым углом, с этой же целью выполняются дополнительные надрезы по боковой поверхности на  $1/3$  радиуса. Этот технический прием способствует ускорению процессов формирования концевых пластин с ацетилхолином в новых нейромышечных синапсах. Минусом методики являются длительные сроки формирования нейромышечных соединений и отсутствие управляемости процесса. [21,40,42]

При выполнении невротизации существует несколько вариантов типа шва. Самым физиологичным признан шов нерва по типу «конец-в-конец». При его выполнении отмечается прорастание проксимального конца в дистальный, с дальнейшим восстановлением функции.

При всех своих плюсах, тип шва нерва по типу «конец-в-конец» обладает и рядом минусов, возникновение которых ставят под угрозу результат выполненной операции. Одним из таких недостатков является возникающее натяжение между проксимальным и дистальным концами нерва. В дальнейшем, из-за технических ошибок связанных с натяжением между концами нерва, возможно возникновение стойких изменений, которые могут послужить причиной нарушения функции конечности. Критичным для восстановления нерва диастазом между концами

нерва является три сантиметра. При таком расстоянии полноценное восстановление функции сомнительно, так как натяжение является определяющим фактором в дальнейшем развитии осложнений. Но, к сожалению, даже при дефектах между концами нерва более трех сантиметров, некоторые хирурги продолжают применять шов нерва по типу «конец-в-конец». Для сокращения диастаза и удержания концов нерва вынужденно применяются нити крупного размера, без применения операционной оптики, что приводит к нарушению внутринеуральной анатомии и в дальнейшем – к рубцеванию. С целью сокращения диастаза между концами нерва, часть хирургов прибегает к дополнительным приемам в виде скелетизации, выделения концов нерва на большом протяжении, фиксации конечности в вынужденном положении. Но, при большом диастазе, это также приводит к возникновению ишемии нерва, его рубцеванию и нарушению функции.

Для исключения опасности натяжения при наложении шва нерва по типу «конец-в-конец», существует определяющий технический прием. Если при фиксации концов нерва нитью размером 8\0 невозможно их удержание, то все дальнейшие действия могут поставить под угрозу результат операции и нужно искать альтернативные варианты.[4,5].

Альтернативной методикой является применение аутоневральной пластики. Чаще всего она применяется в случае дефекта нерва более трех сантиметров, когда прямое соединение проксимального и дистального конца не возможно.

Выполнение аутоневральной пластики имеет ряд своих особенностей. Наиболее важным моментом в технике выполнения является точный расчет длины трансплантата. Это обусловлено тем, что в процессе регенерации, аксоны должны прорасти в дистальный фрагмент нерва, преодолев всю длину аутоневральной вставки, до конца завершения фибропластических процессов в дистальном конце нерва. Поэтому, с учетом всех этих особенностей, рядом авторов предполагается, что максимальная длина аутоневральной вставки может быть не более пяти сантиметров.[15,18]

Существует точка зрения о том, что технически, при применении аутоневральных вставок, исключено использование приемов, направленных на сокращение диастаза между концами нерва. Однако опыт определенных авторов показал, что использование технических приемов, направленных на сокращение диастаза между концами нерва, приводит в результате к применению более коротких аутоневральных вставок. Это обусловлено тем, что, физиологически, нервы обладают определенного уровня экскурсией, которая позволяет при выделении нерва из окружающих тканей сократить диастаз между проксимальным и дистальным концом нерва до одного сантиметра. Также в качестве дополнительного приема рекомендовано применение разгрузочных швов с целью снятия напряжения с линии шва нерва. При помощи этого приема концы нерва максимально сближаются между собой, задействовав все эластичные особенности структуры нерва.

С целью сокращения диастаза между проксимальным и дистальным концами нерва, вне зависимости от типа шва, с целью дополнительного способа снятия натяжения, рядом авторов предложено применение эпиневральных лоскутов, которые выкраиваются с обоих концов нерва. Применение эпиневральных лоскутов разгружает линию шва, способствует сближению концов нерва, укрепляет линию анастомоза.

Несмотря на очевидные показания к наложению швов по типу «конец-в-конец» и применению аутоневральной пластики, рядом авторов продолжается сравнение эффективности этих совершенно разных типов шва. Хотя, как уже было сказано, показаниями для выполнения шва нерва по типу «конец-в-конец», является диастаз между проксимальным и дистальным концом нерва не более трех сантиметров, а применение аутоневральной пластики подразумевается при наличии диастаза между концами нерва более трех сантиметров, но не более пяти. При этом считается, что применение аутоневральных вставок является более прогнозируемым, по сравнению с наложением швов по типу «конец-в-конец».

Рядом авторов выделены следующие недостатки шва нерва по типу «конец-в-конец»:

1. Опасность возникновения натяжения между концами нерва приводит к тому, что зачастую применяется крупный шовный материал без применения операционной оптики и нарушением внутривольной анатомии.
2. В связи с натяжением возможно развитие ишемии и рубцевания.
3. Возможно развитие ограничений экскурсии со стороны смежных структур.
4. В связи с осложнениями, возникающими в результате натяжения концов нерва, функциональные результаты трудно прогнозируемы.
5. В случае неудачи при выполнении повторных операций возникает опасность увеличения диастаза между концами нерва
6. В случае чрезмерного натяжения существует опасность прорастания шовного материала в толщу нерва.
7. При использовании вынужденного положения конечностей с целью релаксации линии шва нерва, существует опасность развития контрактуры.
8. В связи с процессами рубцевания возникает опасность появления и хронизации болевого синдрома.
9. Существует опасность позднего выявления развития осложнений, результатом которых является атрофия мышцы.

В качестве сравнения применение аутоневральной пластики несет в себе следующие недостатки:

1. Необходимость точных расчетов длины аутоневральной вставки.
2. Количество накладываемых анастомозов больше двух.
3. Удлинение времени операции в связи с большим числом действий.
4. Необходимость забора донорского трансплантата.

Несмотря на все плюсы и минусы представленных методик наложения шва нерва, дальнейшие гистологические исследования показали, что рост нерва осуществляется вне зависимости от типа анастомоза. [8,36]

Рядом авторов, при наличии продолжительного дефекта нерва, в случае невозможности применения шва по типу «конец-в-конец» или применения

аутоневральной пластики, с целью ликвидации дефекта было предложено применение кондуитов. Кондуиты позволяют задать направление росту аксонов, дополнительно могут применяться различные вспомогательные вещества, стимулирующие рост нерва. По структуре кондуиты могут быть биологическими: сосуды, сосуды + мышца. Использование биологических материалов исключает опасность аллергических реакций, либо реакции отторжения. Также кондуиты могут выполняться из синтетических материалов (Хитозан).[36,60,82]

В более ранних исследованиях установлено: «В случае дефекта ткани, которая не позволяет одномоментно провести имплантацию нерва в толщу мышцы производят операционную ревизию денервированных мышц и их двигательного нерва. Мобилизуют на протяжении 4-5 см и определяют расстояние от культи нерва до денервированной мышцы. Если это не позволяет расположить фасцикулы на мышце свободно, то используют трансплантат из кожных нервов соответствующей длины, при этом соединяют микрохирургическим невральным швом проксимальную культю нерва с трансплантатами кожных нервов. Затем производят разделение культи нерва или свободных концов трансплантата на фасцикулы на протяжении, в 1,5 раза превышающей толщину невротизируемой мышцы. Дальнейший этап операции выполняют под операционным микроскопом при увеличении 20-25 крат. Проводят надрезы на фасцикулах на глубину не более трети их диаметра, что позволяет вскрыть периневрий и пересечь группу аксонов, расположенных под периневрием по периферии фасцикулы. При этом надрезы производят в таком порядке, что бы они в вертикальной проекции не накладывались друг на друга. Протяженность участка, на котором нанесены надрезы на фасцикулах, примерно равна толщине мышцы в зоне иннервации. После этого концы фасцикул срезают под углом 45 градусов для увеличения среза конца фасцикулы. В денервированной мышце в месте предполагаемой невротизации тупо с помощью сосудистого диссектора формируют канал на глубину  $\frac{3}{4}$  толщины мышцы. Не извлекая из канала бранши диссектора, в него погружают подготовленную фасцикулу и острым микрососудистым диссектором с двухзубыми браншами производят

разволоknение перимизия, а за ним и эндомизия до пролабирования собственно мышечной ткани за пределы перимизия и появления точечных капиллярных кровотечений. После разволоknения эндомизия и перимизия в области срезов и надрезов на фасцикуле последнюю фиксируют отдельными узлами нитью 9\0-10\0 в канале для сохранения созданных пространственных взаимоотношений».[4,5,112]

Отмечается прямая взаимосвязь между длительностью периода денервации мышцы и её весом. Чем длительнее период, тем активнее происходит потеря массы мышцы. Потеря массы может составлять от 50 процентов и выше. Установлено, что выполнение прямой невротизации денервированной мышцы способствует восстановлению и дальнейшему поддержанию её массы.[21,38,46]

Одним из основоположников разработки оперативных вмешательств, направленных на восстановление нервной ткани является выдающийся нейрохирург А.С.Лурье. Именно он разработал операцию, при которой выполняется сшивание дистального участка здорового нерва с проксимальным концом поврежденного нерва. Данная техника успешно применяется в случае отрывов корешков спинного мозга. А.С. Лурье разработал и предложил способы транспозиции нервов дистальной зоны повреждения, дал обоснование их применения, ввел термин «невротизация».

Зачастую, выполнение невротизации является единственной альтернативой лечения, особенно в случае множественных отрывов корешков спинномозговых нервов с развитием полного паралича конечности. Невротизация значительно сокращает сроки реабилитации пациентов с восемнадцати месяцев до шести. После выполнения невротизации появляется необходимость обучения пациента новому стереотипу положения.

Во время выполнения невротизации довольно широко применяются различные донорские нервы. В случае забора нерва - донора со стороны повреждения очень часто используются межреберные нервы, ветви шейного сплетения, добавочный нерв, диафрагмальный нерв. В случае забора нерва –

донора с противоположной стороны от повреждения, свою эффективность проявили седьмой спинномозговой нерв и латеральный грудной нерв.

Транспозиция нервов для выполнения невротизации может быть осуществлена и в пределах самого плечевого сплетения. Перемещение осуществляется между проксимальным концом поврежденного ствола и оторванными спинномозговыми нервами. Во время транспозиции предпочтение отдается прямому невральному шву, но, в случае, возникновения дефекта на протяжении, требующего дополнительных действий, возможно применение дополнительных невральных вставок.

Как прямая невротизация мышцы, так и шов нерва могут самостоятельно увеличивать количество нервных волокон, но эти два механизма невротизации могут работать лучше, взаимно дополняя друг друга.

В случае длительно протекающего периода денервации и наличием дефекта нервов максимальную эффективность показала прямая мышечная невротизация в комбинации с применением невральных вставок. Данная методика показала хорошие отдаленные результаты при выполнении отсроченных до десяти месяцев реконструктивных операциях, что говорит в пользу того, что прямая мышечная невротизация может считаться основной методикой лечения при хронических состояниях.[14]

## 1.5. Механизм невротизации

В основе механизма прямой невротизации мышцы лежит ряд физиологических явлений, последовательность которых приводит к восстановлению функции мышцы. [78]

После выполнения имплантации нерва в толщу денервированной мышцы, отмечается увеличение стимулирующих рост аксонов факторов. Причем, отмечается тот факт, что в мышцах с более коротким периодом денервации либо с его отсутствием, процессы стимуляции аксонального роста проявляют себя более активно. [24,107]

Ряд авторов отмечает то факт, что повреждение структуры нервных волокон является причиной нарушения питания не только самих нейронов, но и денервированных тканей. При длительном периоде денервации возможна потеря массы мышцы до пятидесяти процентов. Повреждение нервных волокон запускает механизм процессов регенерации за счет активации действия факторов роста и их рецепторов.

Процесс восстановления аксона имеет ряд физиологических особенностей. Одной из таких особенностей является формирование конуса роста со стороны поврежденного конца аксона. Конус роста, фактически, выступает в качестве системы, которая определяет направление роста нерва, а наличие на его поверхности множества чувствительных рецепторов к различным нейротрофинам, белкам матрикса, навигационным молекулам, является фактором, отвечающим за управление процессами роста.

Второй особенностью является работа шванновских клеток после полученного повреждения. На фоне полученного повреждения, шванновские клетки, содержащиеся в дистальном фрагменте поврежденного нерва, приобретают пролиферирующий характер действия, начинают активно делиться и перемещаются в зону повреждения. Находясь в зоне повреждения, активируют процессы интенсивного поглощения макроцитами остатков миелина, после чего начинают активно выделять нейротрофические факторы и, тем самым, привлекать

к себе проксимальный конец поврежденного нерва. Таким образом, возможно восстановление нерва на расстоянии в два с половиной сантиметра между проксимальным и дистальным концами без применения невралных вставок. В процессе регенерации, растущий нейрит покрывается миелином – этот механизм обусловлен действием шванновских клеток, направленным на формирование перехватов Ранвье. По мере достижения точки-мишени, прекращается рост нейрита и активизируются процессы синаптогенеза. [45,54,67,109]

Имплантированный в толщу мышцы-мишени нерв может быть принят через феномен «усыновления». Один двигательный аксон способен реиннервировать несколько мышечных волокон вокруг себя.

В процессе «принятия» мышцей-мишенью аксона двигательного нерва в процессе регенерации, наблюдается его внутримышечное прорастание, что приводит к группированию мышечных волокон и, в дальнейшем, к изменению их состава гистологически. Эти изменения происходят отсрочено, на фоне уже сформированных нейро-мышечных синапсов. [48,51,106]

Прорастая в денервированные мышцы, нерв активизирует процессы, направленные на увеличение чувствительности мышц к ацетилхолину, что в результате приводит к формированию концевых пластин. [15,98,101,103] Также имплантированный нерв вызывает местные изменения поверхностных волокон мышцы, за счет процессов синаптогенеза. При выполнении гистохимических исследований выявлено, что процессы синаптогенеза являются стимулирующим фактором для появления точечных изменений поверхности мышечных волокон, приводящим к дальнейшему привлечению ацетилхолинэстеразы. Дальнейшая стимуляция мышечных волокон имплантированным нервом, вызывает формирование концевых пластин за счет связывания сформированной ацетилхолинэстеразы. В местах контакта нерва с мышечными волокнами формируются складки для увеличения площади синаптической щели. [46,104]

Эти комплексные изменения способствуют формированию новых нейро-мышечных синапсов. Ацетилхолинэстераза оказывает позитивное влияние на мышечную активность денервированной мышцы, что по принципу обратной

связи стимулирует дальнейшее её появление, метаболизм и применение в нейромышечных соединениях.[36,94,102]

В свою очередь ацетилхолин оказывает позитивное влияние на атрофию мышцы и фиброзно-дистрофические изменения в ней, за счет подавления синтеза лизосомальных протеаз и коллагена.[17,19,21,22]

Процессы восстановления нерва носят непродолжительный характер и без дополнительной стимуляции прекращаются, как правило, через месяц.[89]. Средняя скорость восстановления нерва, при благоприятных условиях, составляет до одного миллиметра в сутки. И, в случае, если за месяц нерву не удалось сформировать контакт с органом-мишенью, то рост прекращается, и нейроны атрофируются и погибают.[85,110]

Несмотря на большой объем исследований, посвященных процессам невротизации, детальному изучению механизмов восстановления нервного волокна, механизмов репарации и восстановления функции, до сих пор не изучены в полной мере факторы, вызывающие стимуляцию аксонального роста, а также методы воздействия на различные этапы восстановления нерва.

Примером может служить регулирование экспрессии и активности металлопротеиназ - это семейство ферментов, которое, вместе с их эндогенными тканевыми ингибиторами участвует в ремоделировании внеклеточного матрикса и вызывает регуляцию регенерации аксона.[47,59,62,70,111]

## **1.6. Применение невротизации в клинической практике**

В клинической практике определено несколько направлений использования операции невротизации. Наиболее часто невротизация выполняется при выполнении операций направленных на восстановление функции плечевого сустава и верхней конечности, а также при выполнении восстановительных операций на лице и теле.[3,10,11,13,39]

### **1.6.1. Применение невротизации при реконструкции плечевого сплетения**

Травматическое повреждение плечевого сплетения остаётся одной из проблем, требующих повышенного внимания. Причиной тому является тот факт, что в основном страдают лица трудоспособного возраста, а процент инвалидизации остается достаточно высоким и составляет более шестидесяти процентов.

Травматические повреждения плечевого сплетения могут быть разрушительными, приводя к частичной или полной денервации мышц верхних конечностей [10,11,36,39,50,58]

При повреждениях плечевого сплетения с целью восстановления поврежденных нервов применяется транспозиция аксонов как в пределах самого плечевого сплетения, так и взятых извне.

Невротизация может обеспечить более тесный контакт нерва в мышце-мишени, тем самым повышая качество и скорость восстановления.[61]

Выбор нервов-невротизаторов производится с учетом содержания в них миелинизированных волокон и локализацией невротизируемых структур. При неполном повреждении плечевого сплетения производят невротизацию проксимальных отделов длинных нервов, иннервировавших парализованные нервы. При тотальном параличе – невротизируют стволы. При их повреждении

проксимальные отделы. Невротизация стволов производится с учетом внутривольного строения.[68]

При восстановлении функции двуглавой мышцы плеча путем невротизации мышечно-кожного нерва, нервом-невротизатором, как правило, выступают либо межреберные нервы, либо добавочный нерв.

Так же рядом авторов для невротизации кожно-мышечного нерва предлагалось использование медиального грудного нерва. Его применение было успешно использовано для восстановления локтевого сгибания у пациентов с повреждениями плечевого сплетения.[79,81] Пациентам с хроническим болевым синдромом выполняется невротизация структур плечевого сплетения двигательными нервами шейного сплетения, межреберными, добавочным передне-грудным, диафрагмальным нервами, преимущественно на преганглионарном уровне. В меньшей степени на постганглионарном уровне на большом протяжении. [88]

Однако отмечают существенный недостаток этого метода-повреждение нервов-доноров. Например, рассечение всего диафрагмального нерва может привести к ухудшению легочной вентиляции. Одним из возможных вариантов является использование только нескольких пучков диафрагмального нерва, оставляя основные функции нетронутой.[92,96]

В качестве дополнительных методов воздействия, направленных на улучшение качества отдаленных результатов выполняемой невротизации, использовались такие операции, как невролиз и нейрорафия. Результатом стало улучшения качества отдаленных результатов, снижения процента осложнений.[52, 70,73,95]

Невротизацию сочетали с невролизом при наличии фиброзного рубца. Укрепление линии шва производилось фасциальными лоскутами, которые подшивались за эпиневрй. Производилось окутывание центрального и периферического отрезков жировой тканью на сосудистой ножке, чтобы избежать формирования рубца.[56,69,91]

### 1.6.2. Применение невротизации при реконструктивных операциях на лице

При невротизации лицевой нерв сшивается с подъязычным или дополнительным черепными нервами. Как следствие у пациентов развивается явление дизартрии и девиации языка, но через один-два месяца пациенты привыкают и речевые нарушения регрессируют. В дальнейшем может развиваться атрофия языка со стороны нерва донора, но на функцию это не влияет. По диаметру лицевой и подъязычные нервы практически совпадают, что положительно влияет на результаты. [13,49,55]

Невротизация применялась также у пациентов с нарушением анатомической функции лицевого нерва при лагофтальме и при отсутствии клинической и электронейромиографической динамики лечения (пятая степень по шкале Hous-Brackmann)[63]

Также для прямой невротизации мышц при восстановлении функции самостоятельного моргания может быть использован передний глубокий височный нерв, который является универсальным донором. При его использовании наблюдается значительное усиление функции длительно парализованной мышцы на фоне неврита лицевого нерва. Невротизация прилегающих мимических мышц вызывает прорастание аксонов трансплантата нерва в оставшиеся мышечные волокна, что приводит к восстановлению сократительной функции мышц на парализованной стороне.[65]

Для восстановления парализованного сфинктера глаз активно применяется прямая невротизация круговой мышцы рта. Прямая невротизация круговой мышцы рта лучше всего подходит для случаев острого паралича лицевого нерва. На фоне невротизации круговой мышцы рта наблюдается спонтанное прорастание аксонов к интактной контралатеральной стороне. [71,76,90]

Частичная денервация мышц стимулирует прорастание сохранившихся аксонов и постепенно мышца становится реиннервированной полностью или частично. В отличие от этого частичная денервация круговой мышцы рта, иннервируемой лицевым нервом с обеих сторон, не показала внутреннего

прорастания с одной стороны к другой стороне, если последняя денервированна. Это удивительно, так как с анатомической точки зрения эта мышца представляет собой единое целое [49,77]

### **1.6.3. Применение невротизации при реконструктивных операциях на молочной железе**

Для улучшения отдаленных результатов, при проведении реконструктивных операций, направленных на восстановление молочных желез, применяется выполнение прямой невротизации мышцы. Для выполнения невротизации могут применяться, как межреберные нервы, так и нервы из плечевого сплетения.[43,66,80]

Невротизация имеет тенденцию к улучшению чувствительности при пластике *diap*-лоскутом.[80] Чувствительность нормальной молочной железы обеспечивается боковыми и передними ветвями второго-шестого межреберных нервов, чувствительность сосково-ареолярного комплекса обеспечивается преимущественно ветвями четвертого межреберного нерва. Во время мастэктомии, эти нервы повреждаются, что приводит к нарушению чувствительности[80]

С целью восстановления чувствительности в молочной железе выполнялась невротизация мышц брюшной стенки четвертым или пятым межреберным нервом, T10–T12 , торакоабдоминальным нервом. После выполнения невротизации наблюдается увеличение скорости восстановления и улучшение чувствительности молочной железы [80,87]

Тем не менее, во всех случаях реконструкции молочной железы, даже при невротизации *diap*-лоскута среднее ощущения реконструированной молочной железы более чем в десять раз менее чувствительна, чем нормальная грудь.[80]

## 1.7. Способы оценки результатов невротизации

Наиболее доступным методом оценки состояния нервов признана электронейромиография. [23,27]

При помощи выполнения стимуляционной или игольчатой электронейромиографии появилась возможность оценить состояние аксонов, степень их повреждения и восстановления, локализацию и уровень повреждения, состояние иннервируемых ими мышц, степень их дистрофии в случае длительной денервации.[6]

Результаты оцениваются при помощи электронейромиографии по силе М ответа. При расположении реципиентного нерва близко к воротам мышцы первые мышечные потенциалы появляются через 1,5 – 2 месяца. ЭНМГ показало, что увеличение нервной ножки мышечного трансплантата на каждые 2,5- 3 см увеличивало продолжительность появления мышечных потенциалов на один месяц. [97,100]

В ходе предоперационной подготовки, а также на этапах долечивания и реабилитации методом максимально эффективной визуализации изменений со стороны применяемого нерва для невротизации будет являться электронейромиография. Именно она в комбинации компьютерной томографией позволяет выбрать необходимый нерв для невротизации, а также в дальнейшем, в динамике, оценить степень его восстановления.[41,74,75]

Использование нейрофизиологических методов обследования, включая различные исследования нервной проводимости, оценка таких показателей как скорость проводимости, дистальная латентность, вызов сенсорных и моторных потенциалов, а также специальные стимуляционные методики, как транскраниальная магнитная стимуляция также являются обязательными.

В качестве дополнительных методов исследования, на этапе подготовки к операции, успешно применяются УЗИ и МРТ. Что дает дополнительную возможность для достижения необходимых результатов.

Выполнение ультразвуковой диагностики, а также лучевых методов исследования, в частности МРТ, широко используются во время предоперационной подготовки на этапе планирования операции. При помощи этих методов исследования появилась возможность оценки состояния нервов и окружающих тканей, появилась возможность детального описания структуры нервного ствола, его ход, структуру. В случае выявления компрессии нерва, появилась возможность указать её причину, описать факторы, способствующие этому явлению, в случае компрессии нерва образованиями, описать их структуру, кровоток, отношение к окружающим тканям. Что расширяет возможность определения тактики лечения и улучшает качество отдаленных результатов.

При помощи выполнения ультразвуковой диагностики существует возможность оценки структуры нерва, её целостности и окружающих тканей. Также УЗИ является методом выбора для измерения диастаза между проксимальным и дистальным концами нерва, оценки наличия невром на концах поврежденного нерва.[7].

Выполнение МРТ позволяет широко оценить, как структуру самого нерва, так и окружающих тканей. При помощи МРТ исключают компрессию нерва со стороны окружающих тканей. Также данные, полученные во время выполнения МРТ, помогают оценить проксимальный и дистальный концы нервов, степень посттравматических или дистрофических изменений мышц, локализацию их повреждений.

Комплексная диагностика различными инструментальными методами исследования, значительно расширило возможности предоперационной подготовки и оценки отдаленных результатов выполненной операции. При помощи различных инструментальных методов исследования появилась возможность определения места и возможные причины повреждения нервов, оценить состояние окружающих тканей, разработать тактику хирургической коррекции возникшей ситуации.

Выполнение функциональной оценки поврежденных структур позволяет оценить степень патологических изменений, исходя из полученной информации, разработать тактику лечения и дать прогноз по отдаленным результатам.

## 1.8. Способы стимуляции регенерации аксонов

Вопрос улучшения отдаленных результатов при выполнении невротизации мышцы остается актуальным до сих пор. С нашей точки зрения детальное изучение способов стимуляции аксонального роста позволит улучшить качество выполненной операции, снизить процент осложнений, сделать процесс невротизации более управляемым.

Способы воздействия на отдаленные результаты невротизации можно условно разделить на несколько направлений:

1. Факторы, влияющие на скорость аксонального роста и формирование нейро - мышечных соединений.
2. Факторы, предупреждающие развитие рубцовых изменений.
3. Факторы, стимулирующие восстановление денервированных мышц.

Среди способов воздействия на скорость аксонального роста, наиболее эффективным в настоящее время считается применение мезенхимальных стволовых клеток. За счет применения стволовых клеток происходит увеличение чувствительности мышечных волокон к ацетилхолину, что приводит к стимуляции формирования концевых пластин и, как следствие, нейро - мышечных соединений.[45]

Одним из методов стимуляции аксонального роста и увеличения скорости восстановления нервов, является применение прямой генной терапии. Прямая генная терапия обеспечивает прямые поставки стимулирующих регенерацию аксонов факторов в зону повреждения. За счет факторов, стимулирующих процессы восстановления аксонов, запускаются процессы невротизации.

С целью стимуляции аксонального роста и восстановления, рядом авторов применяется комбинация VEGF (Vascular endothelial growth factor) и FGF2(basic fibroblast growth factor). VEGF стимулирует процессы восстановления двигательных и чувствительных нейронов, выступает стимулятором клеточных

процессов, направленных на восстановления структурно-важных элементов, необходимых для регенерации.

При повреждении периферических нервов шванновские клетки начинают активно вырабатывать FGF2, который в свою очередь является стимулирующим фактором роста сосудистых гладкомышечных клеток и отвечает за рост эндотелиальных клеток.

Среди факторов, направленных на предупреждение рубцовых изменений, наиболее интересным является применение стефаглабрина сульфата. Его использование приводит к уменьшению соединительной ткани. Пучки соединительной ткани содержат меньшее количество волокон, они располагаются более рыхло, преобладает клеточный компонент. Механизм действия Стефаглабрина сульфата заключается в ингибировании истинной и ложной холинэстеразы. Он обеспечивает улучшение функциональных результатов за счет предупреждения роста грубой соединительной ткани. [53,86]

Среди факторов, направленных на стимуляцию восстановления денервированных мышц, наиболее актуальным является применение стероидных гормонов. Введение стероидных гормонов в больших дозировках является стимулятором мышечной активности, ускоряет процессы белкового обмена, увеличивается количество рибосом в мышцах. [15,69,93]

### 1.3.1. Нейротрофины

Одним из перспективных направлений в стимуляции роста аксонов может являться применение нейротрофинов.

Нейротрофины – это полипептидный тип соединений, которые активно принимают участие в обеспечении жизнеспособности, стимуляции процессов роста и дифференцировки нервной ткани. Первооткрывателями нейротрофинов являются ученые – обладатели Нобелевской премии: Стенли Коэн и Рита Леви-Монтальчини. Именно они в 1968 году выделили фактор роста нервов.

Существует три основных группы нейротрофических факторов — классические нейротрофины, нейротрофины глиальных клеток и семейство инсулиноподобных факторов роста. Классические нейротрофины включают фактор роста нервов, нейротрофический фактор мозга (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) и нейротрофины 3–7 (NT3, 4, 5, 6, 7) [27]. Наиболее изученными нейротрофинами в настоящее время являются: нейротрофический фактор мозга (brain derived neurotrophic factor –BDNF), нейротрофин-3,6,4\5 (NT-3,NT6,NT 4\5). Также у нейротрофинов существует две подгруппы: подгруппа глиального фактора и подгруппа цилиарного фактора (glial cell derived neurotrophic factor – GDNF, ciliary neurotrophic factor – CNTF)

С целью стимуляции процессов активного роста аксона и ветвления дендритов, клеткой-мишенью выделяются нейротрофины, которые направляются в сторону нейрона. При достижении нейрона, нейротрофины связываются с рецепторами на его поверхности. В результате стимуляции роста, аксон устанавливает синаптический контакт с клеткой-мишенью. Нейротрофины могут действовать локально в месте выделения, могут распространяться с током крови.[2] Нейротрофины обладают определенной степенью специфичности: синтез нейротрофического фактора мозга и нейротрофинов 4-5 выполняется не только нейронами, но и рядом других тканей организма. В то время как NGF, NT-3 и GDNF производятся только нейронами и клетками астроглии.

Взаимодействие между нейроном и нейротрофином осуществляется по средствам установки контакта между лигандами полипептидов, рецептором p75 (p75NTR) и тирозинкиназными рецепторами (Trk-A, Trk-B, Trk-C). Нейротрофины при помощи контакта с рецептором p75NTR могут инициировать апоптоз. Все остальные функции активизируются при взаимодействии нейротрофинов с тирозинкиназными рецепторами Trk-A, Trk-B и Trk-C.[4] При этом существует система рецепторных перекрытий, то есть нейротрофин может взаимодействовать не только со специфичными к нему рецепторами, но и, также, с другими типами тирозинкиназных рецепторов. Ряд авторов предполагает, что активизация системы рецепторных перекрытий обусловлена действиями низкоафинного рецептора p75, который усиливает восприимчивость тирозинкиназных рецепторов к лигандам нейротрофинов. Отмечается, что результатом действий рецептора p75 является активация производства полипептидов, которые относятся к факторам некроза опухоли (TNF) и оказывают влияние на активность иммунной системы, помимо этого, при помощи рецепторов p75 выполняется передача от ряда веществ, содержащих в себе инсулин, тромбоцитарный и эпидермальный факторы роста (EGF и PDGF) При помощи нейротрофинов выполняется активирование механизма каскада протеинкиназ, направленного на регуляцию и дифференцировку роста клеток, в результате чего запускаются процессы поддержки жизнедеятельности нейрона.

Восстановление поврежденных нейронов осуществляется не за счет большого набора факторов, воздействующих на клетку, а за счет формирования разнообразных комбинаций связи между ограниченным количеством нейроспецифических белков и рецепторами нейронов, что в результате приводит к восстановлению утраченных неврологических функций. Результатом взаимодействия между этими белками и рецепторами является предупреждение дегенерации и гибели нейронов и дальнейшая стимуляция их активности, что в свою очередь позволяет в перспективе рассматривать нейротрофины в качестве лекарственных препаратов, направленных на устранение последствий заболеваний и повреждений нервной системы. Выраженный нейропротекторный

эффект нейротрофинов выражается в способности регрессирования неврологических нарушений, даже при сохранении фактора, который их вызвал.

### **1.3.2. Характеристика нейротрофинов**

BDNF. Ведущей ролью данного нейротрофина является нейропротекция. Защита нейронов от ишемического воздействия, либо в случае механического повреждения, также он участвует в процессах формирования, развития и дифференцировки нейронов. Помимо этого, BDNF активно участвует в процессах формирования синапсов.

NT-3, NT-4. Имеют мультифункциональную роль. Особенностью белков NT заключается в способности передавать отдельным клеткам сигнал о необходимости роста, дифференцировки клеток-предшественников для стимуляции процессов образования нейронов, способны предотвратить апоптоз в нейроне, циркулируют в крови, специфичны к нейронам центральной и периферической нервной системы. Через систему активации тирозинкиназных рецепторов активируют максимальное количество нейронов, принимают участие в регенерации нейронов, участвуют в формировании и развитии симпатической нервной системы.

NT-4. Обеспечивают сохранение, выживание и дифференцировку нейронов в центральной и периферической нервной системе. Специфичен к спинальным нейронам, холинергическим нейронам переднего мозга, гранулярным клеткам мозжечка и нейронам гиппокампа.

GDNF. Выступает в качестве регулятора нейро-мышечной активности, способен оказывать влияние на аксональный рост и нейрональную регенерацию. Имеет специфичность к различным видам клеток центральной и периферической нервной системы, в особенности к клеткам Пуркинье, мотонейронам спинного мозга, допаминергическим нейронам среднего мозга, нейронам зрительной системы.

CNTF. Основная функция заключается в обеспечении трофики поврежденных нейронов, обеспечение выживания нейронов при повреждении нерва. Имеет специфичность к сенсорным нейронам заднекорешковых ганглиев, симпатическим нейронам и мотонейронам. Принимают активное участие в дифференцировке глиальных клеток, находясь в избытке могут стимулировать апоптоз.

### 1.3.3. Кондуиты

В настоящее время создание градиента нейротрофинов активно применяется при повреждении периферических нервов в виде наполнения кондуитов.

Главным назначением кондуитов является создание условий для стимуляции процессов восстановления поврежденного нерва и создания навигации роста аксонов.

Первая попытка разработать и внедрить в клиническую практику кондуиты, состоялась еще в девятнадцатом веке. Но все попытки создания ни к чему не привели в виду того, что в хирургической практике того времени прослеживалась тенденция к применению методик максимального выделения нерва и, в случае, выявления дефекта, препятствующему наложению анастомоза «конец-в-конец», фрагменты нерва сшивались в натяжении. Позже от этой практики отказались, установив, что натяжение препятствует процессам регенерации нерва. Начиная с 1980 года, кондуиты внедряются в практику, как медицинские изделия, и начинают активно применяться в работе [9].

К кондуитам, в настоящее время, существует ряд требований, так как на них лежит ответственная роль в создании условий для полного восстановления нерва. Кондуит должен обладать высоким уровнем биосовместимости с окружающими тканями, быть прочным и эластичным. Помимо этого, при помощи кондуита должны быть созданы условия для стимуляции роста аксонов и защиты их от воздействия иммунной системы.

Процесс восстановления поврежденного нерва при помощи применения кондуитов включает в себя несколько этапов восстановления:

1. Жидкостная фаза. Наблюдается в первые сутки. Первая фаза, при которой происходит наполнение кондуита жидкостью с нейротрофинами.
2. Матриксная фаза. Наблюдается в диапазоне от двух до шести суток. На этом этапе активно формируется матрикс, содержащий в себе фибрин.

3. Клеточная фаза. Протекает в диапазоне от семи до четырнадцати суток. В этот период происходит активная миграция шванновских клеток совместно с эндотелиальными клетками.
4. Аксональная фаза. Протекает в диапазоне от пятнадцати до двадцати суток. В этот период наблюдается активный рост аксона, увеличение его длины.

Применение кондуитов значительно увеличивает скорость восстановления поврежденного нерва. Например, в условиях применения кондуитов, срок полного восстановления поврежденного нерва с дефектом ткани тридцать миллиметров, сокращается до семнадцати недель [26].

Обобщая имеющиеся данные, можно сказать, что прямая мышечная невротизация, выполняемая при формировании неосфинктера прямой кишки, является наиболее перспективным направлением для исследования. Это объясняется тем, что прямая мышечная невротизация будет способствовать формированию управляемого запирающего аппарата прямой кишки.

Также остается открытым вопрос стимуляции роста аксонов и формирования нейромышечных синапсов. Наиболее перспективным в данном направлении является применение нейротрофинов, так как они являются наиболее перспективным механизмом по созданию управляемой невротизации мышцы.

## Глава 2. Материалы и методы

### 2.1. Дизайн исследования

Настоящее исследование одобрено Локальным комитетом по этике ГБОУ ВПО Первого МГМУ им И.М. Сеченова (протокол № 03-16 от 02.03.2016).

Эксперимент был проведен в централизованном виварии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова. Экспериментальные исследования проводились на животных: 24 самца крыс линии Wistar средним весом 350 г и возрастом 4-6 месяцев. Во время проведения эксперимента было выделено четыре группы животных:

0. Контрольная группа – здоровые животные.
1. Группа крыс, которым выполнялась пластика диафрагмы таза путем формирования неосфинктера прямой кишки без прямой невротизации мышцы
2. Группа крыс, которым выполнялась пластика диафрагмы таза путем формирования неосфинктера прямой кишки с прямой невротизацией мышцы
3. Группа крыс, которым выполнялась пластика диафрагмы таза путем формирования неосфинктера прямой кишки с прямой мышечной невротизацией и созданием градиента нейротрофинов

Спустя девяносто суток после проведенной операции, производилась визуальная макроскопическая оценка состояния сформированного неосфинктера. При помощи разработанного нами аппарата для выполнения сфинктероманометрии, производилась оценка функции сформированного неосфинктера путем измерения силы сжатия, частоты сокращений, а также последовательность периодов расслабления и напряжения.

Далее животных выводили из эксперимента под наркозом при помощи высоких доз раствора магния сульфата, и проводилось морфологическое

исследование на предмет характера процессов заживления, степени воспалительных изменений, исследование зоны сфинктера, а также морфометрическая оценка роста аксонов и формирования нейромышечных синапсов. (Рисунок 1)



Рисунок 1 - Дизайн исследования

## 2.2. Характеристика проводимых оперативных вмешательств

Все операции были выполнены согласно заданному дизайну исследования и проведены в рамках выделенных групп животных. Все оперативные вмешательства проводились под общим наркозом препаратом «Золетил-100» (0,1мл на 1 кг тела внутривентриально). Антибактериальная терапия проводилась инъекциями препарата «Байтрил» (0,1 мл в течение 5 дней внутримышечно).

1. Группа крыс, которым выполнялась пластика диафрагмы таза путем формирования неосфинктера прямой кишки без прямой мышечной невротизации.

Первым этапом, после трехкратной обработки растворами антисептиков, под общей внутривентриальной анестезией препаратом Золетил-100 с дорсальной стороны по срединной линии выполнен линейный разрез. Остро и тупо выделена с обеих сторон длинная мышца, отводящая хвост. Контроль гемостаза – сухо. Рана тампонируется салфетками с тёплым физраствором.

Вторым этапом, выполнено тотальное иссечение сфинктера прямой кишки, краевая резекция прямой кишки на уровне 2 сантиметра от уровня кожи. Выполнено низведение прямой кишки в физиологическое положение, кишка фиксируется временными швами-держалками.

Третьим этапом, выполнена ревизия с обеих сторон длинной мышцы, отводящей хвост. Контроль гемостаза – сухо. Выполнено двустороннее отсечение длинной мышцы, отводящей хвост от места крепления её в области хвоста. Мышца фиксируется временными швами-держалками с обеих сторон. При помощи тоннелера сформирован канал в полость малого таза. Через этот канал выполнена транспозиция длинной мышцы, отводящей хвост на швах-держалках в область низведенной в физиологическое положение, прямой кишки. Выполнено формирование неосфинктера по типу манжеты вокруг прямой кишки,

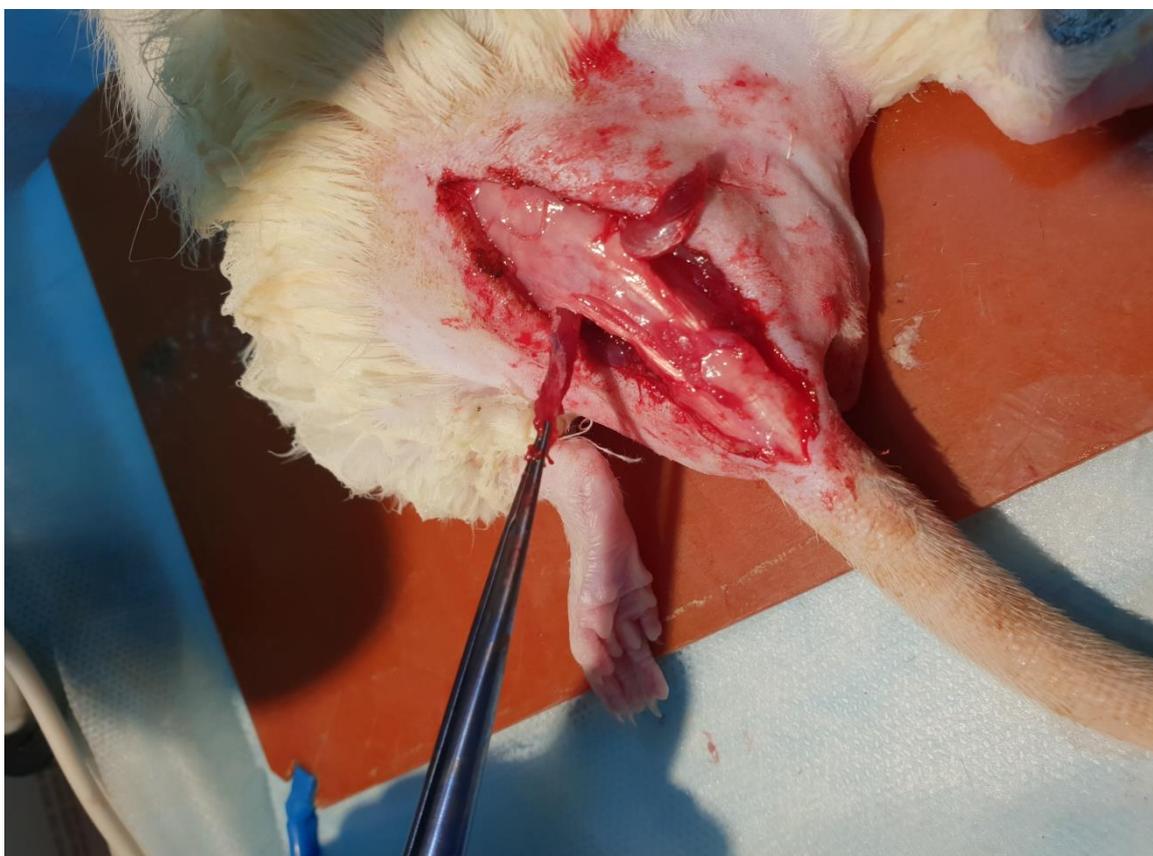
предварительно два конца, низведенной мышцы, фиксированы между собой и подшиты к прямой кишке. Контроль гемостаза – сухо. Послойный шов раны.



**Рисунок 2 - Разрез по срединной линии дорзальной поверхности**



**Рисунок 3 - Выделение длинной мышцы, отводящей хвост**



**Рисунок 4 - Длинная мышца, отводящая хвост отделена от точки крепления, прошита для транспозиции**



**Рисунок 5 - Вид неосфинктера после операции**

2. Группа крыс, которым выполнялась пластика диафрагмы таза путем формирования неосфинктера прямой кишки с прямой мышечной невротизацией

Первым этапом, после трехкратной обработки растворами антисептиков, под общей внутрибрюшинной анестезией препаратом Золетил-100 с дорсальной стороны по срединной линии выполнен линейный разрез. Остро и тупо выделена с обеих сторон длинная мышца, отводящая хвост. Контроль гемостаза – сухо. Рана тампонирована салфетками с тёплым физраствором.

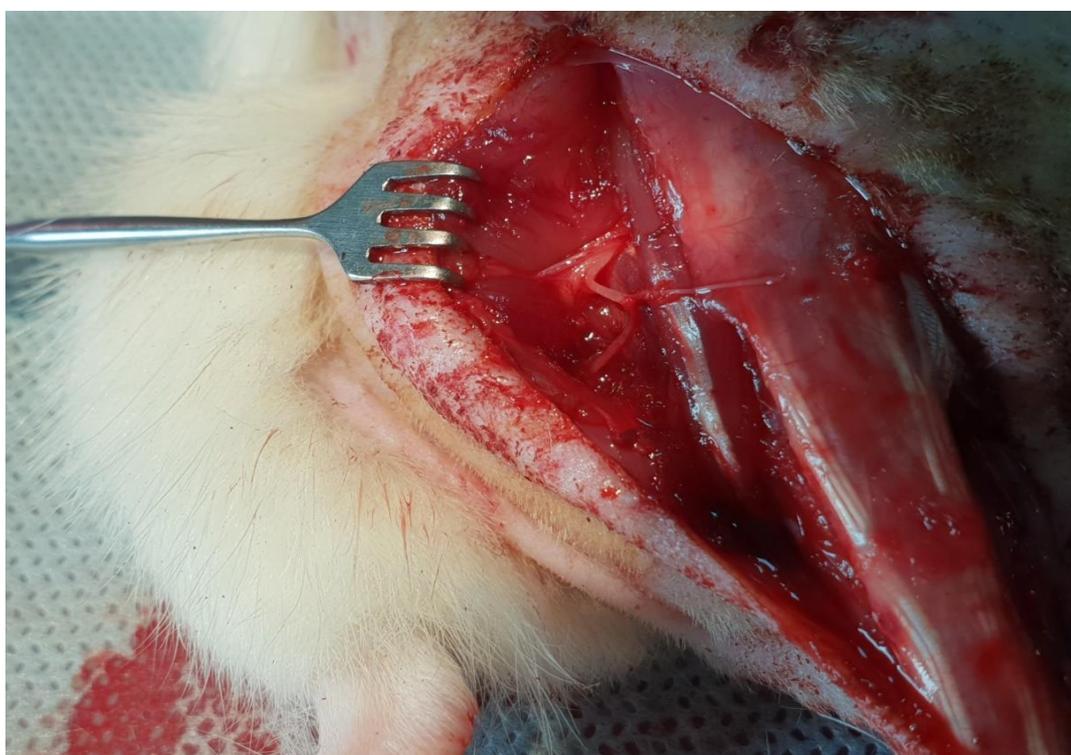
Вторым этапом, выполнено тотальное иссечение сфинктера прямой кишки, краевая резекция прямой кишки на уровне 2 сантиметра от уровня кожи. Выполнено низведение прямой кишки в физиологическое положение, кишка фиксирована временными швами-держалками.

Третьим этапом, выполнена ревизия с обеих сторон длинной мышцы, отводящей хвост. Контроль гемостаза – сухо. Выполнено двустороннее отсечение длинной мышцы, отводящей хвост от места крепления её в области хвоста. Мышца фиксирована временными швами-держалками с обеих сторон. При помощи тоннелера сформирован канал в полость малого таза. Через этот канал выполнена транспозиция длинной мышцы, отводящей хвост на швах-держалках в область низведенной в физиологическое положение, прямой кишки. Выполнено формирование неосфинктера по типу манжеты вокруг прямой кишки, предварительно два конца, низведенной мышцы, фиксированы между собой и подшиты к прямой кишке. Контроль гемостаза – сухо.

Четвертым этапом, при помощи дополнительных разрезов слева выделен седалищный нерв, произведена его ревизия. Выделена и на расстоянии двух сантиметров от места ответвления от седалищного нерва, отсечена ветвь промежностного нерва. Под контролем операционного микроскопа выполнено формирование культы ветви промежностного нерва. Дистальный конец нерва разделен на фасцикулы, концы, которых помещены в предварительно подготовленные каналы в толще низведенной длинной мышцы, отводящей хвост. Выполнена фиксация нерва к мышце Викрилом 10\0. С целью дополнительной фиксации и формирования более широкой площади соприкосновения вокруг неразделенной ветви промежностного нерва, сформирована мышечная манжета. Контроль гемостаза – сухо. Послойный шов раны.



**Рисунок 6 - Длинная мышца, отводящая хвост после транспозиции, ножка промежуточного нерва переведена в новое положение**



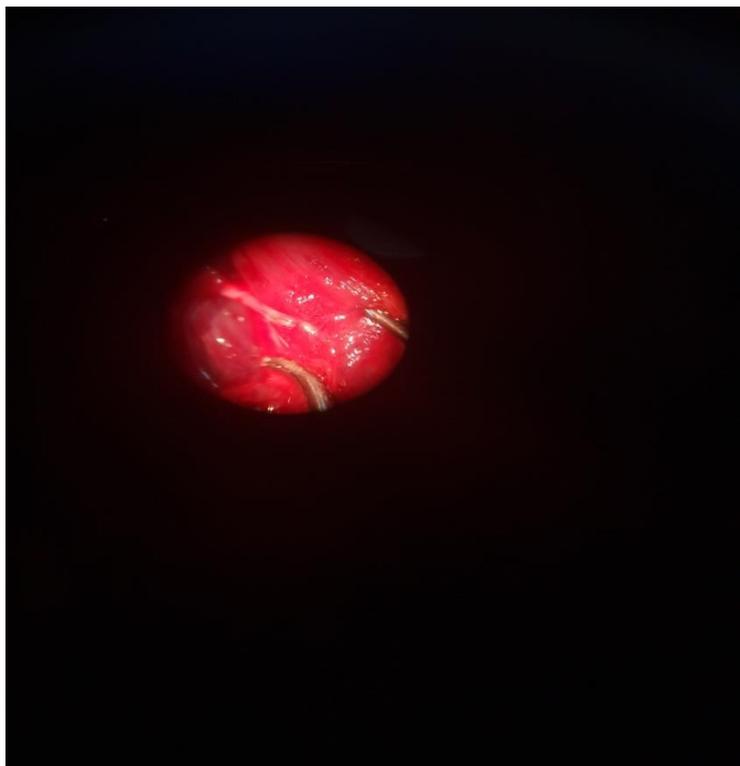
**Рисунок 7 - Подготовка промежуточного нерва к прямой невротизации длинной мышцы, отводящей хвост**



**Рисунок 8 - Прямая невротизация длинной мышцы, отводящей хвост промежностным нервом**



**Рисунок 9 - Прямая невротизация длинной мышцы отводящей хвост промежностным нервом (вид под микроскопом)**



**Рисунок 10 - Вход нерва в ворота мышцы (вид под микроскопом)**

3. Группа крыс, которым выполнялась пластика диафрагмы таза путем формирования неосфинктера прямой кишки с прямой мышечной невротизацией и созданием градиента нейротрофинов

Первым этапом, после трехкратной обработки растворами антисептиков, под общей внутрибрюшинной анестезией препаратом Золетил-100 с дорсальной стороны по срединной линии выполнен линейный разрез. Остро и тупо выделена с обеих сторон длинная мышца, отводящая хвост. Контроль гемостаза – сухо. Рана тампонируется салфетками с тёплым физраствором.

Вторым этапом, выполнено тотальное иссечение сфинктера прямой кишки, краевая резекция прямой кишки на уровне 2 сантиметра от уровня кожи. Выполнено низведение прямой кишки в физиологическое положение, кишка фиксирована временными швами-держалками.

Третьим этапом, выполнена ревизия с обеих сторон длинной мышцы, отводящей хвост. Контроль гемостаза – сухо. Выполнено двустороннее отсечение длинной мышцы, отводящей хвост от места крепления её в области хвоста.

Мышца фиксирована временными швами-держалками с обеих сторон. При помощи тоннелера сформирован канал в полость малого таза. Через этот канал выполнена транспозиция длинной мышцы, отводящей хвост на швах-держалках в область низведенной в физиологическое положение, прямой кишки. Выполнено формирование неосфинктера по типу манжеты вокруг прямой кишки, предварительно два конца, низведенной мышцы, фиксированы между собой и подшиты к прямой кишке. Контроль гемостаза – сухо.

Четвертым этапом, при помощи дополнительных разрезов слева выделен седалищный нерв, произведена его ревизия. Выделена и на расстоянии двух сантиметров от места ответвления от седалищного нерва, отсечена ветвь промежностного нерва. Под контролем операционного микроскопа выполнено формирование культы ветви промежностного нерва. Дистальный конец нерва разделен на фасцикулы, концы, которых помещены в предварительно подготовленные каналы в толще низведенной длинной мышцы, отводящей хвост. Выполнена фиксация нерва к мышце Викрилом 10\0. С целью дополнительной фиксации и формирования более широкой площади соприкосновения вокруг неразделенной ветви промежностного нерва, сформирована мышечная манжета. Контроль гемостаза – сухо. Послойный шов раны.

Шестым этапом, с целью стимуляции аксонального роста, а также с целью снижения рисков осложнений, в толще низведенной, длинной мышцы, отводящей хвост, выполнено формирование градиента нейротрофинов в направлении от места фиксации ветви промежностного нерва к сформированному сфинктеру.

Для стимуляции аксонального роста непосредственно в толще мышцы, нами был применен раствор нейротрофинов. Раствор обладает уникальными физическими свойствами. При температуре ниже нуля градусов Цельсия он имеет жидкую структуру, при температуре выше нуля - имеет структуру геля. Именно структура геля обеспечивает возможность создания градиента нейротрофинов и его длительное сохранение в толще мышцы.

Раствор готовили следующим образом: стерильную навеску плюроника F-127 (Thermo Fisher) растворяли в физ. растворе в концентрации 27% при +4 °С в течении суток. После чего вносили нейротрофины NGF, NT-3, EGF, BDNF, GDNF, SDF-1a, ILGF-II (Thermo Fisher) и перемешивали еще 2 часа при +4 °С.. Градиент нейротрофинов создали путем разбавления исходного раствора в 5 и 10 раз. Затем раствор отбирали в инсулиновые шприцы и замораживали при -20 °С на срок не более 3 недель.

Непосредственно перед самым введением в толщу длинной мышцы, отводящей хвост, шприцы, содержащие нейротрофины, извлекали из заморозки. В жидком виде, раствор вводился в толщу мышцы от места фиксации ветви промежностного нерва в направлении сформированного сфинктера по принципу градиента концентрации – от малой концентрации у места невротизации до большой концентрации у сформированного сфинктера. В процессе создания градиента нейротрофинов применялось три концентрации раствора: малая, средняя и большая. Введение в толщу мышцы осуществлялось в объеме 0,1 мл каждого вида. Под действием температуры тела раствор приобретал структуру геля, что обеспечивало ему длительность пребывания в мягких тканях. После введения выполнен туалет раны, контроль гемостаза. Послойный шов раны.

4. Здоровые животные. Использовались в качестве контрольной группы, для сравнения полученных результатов.

Животным были обеспечены стандартные условия содержания в виварии, без ограничения доступа к пище и воде, с режимом день\ночь – 12\12. Содержание и использование лабораторных животных соответствовало правилам, принятым в Сеченовском университете, рекомендациям местного этического комитета и национальным законам.

### **2.3. Показатели для оценки**

Показателями для оценки эффективности проведенной операции являлось:

1. Макроскопические показатели
  - Площадь и состоятельность сформированного неосфинктера
2. Функциональные показатели
  - Оценка силы сжатия неосфинктера
  - Оценка частоты сокращений неосфинктера
  - Оценка импульсной активности неосфинктера
3. Морфологические показатели
  - Оценка воспалительных изменений
  - Оценка толщины длинной мышцы, отводящей хвост с обеих сторон
  - Оценка толщины слизистой прямой кишки
  - Оценка процессов синаптогенеза, роста нервов
4. Статистические показатели

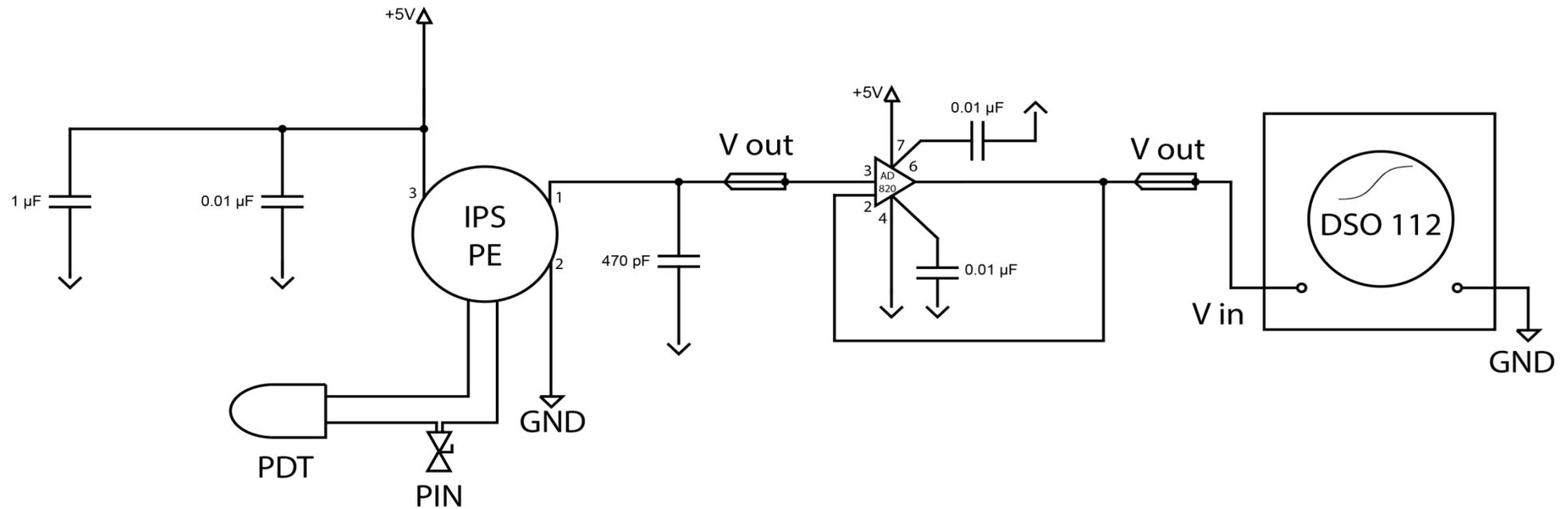
### **2.4. Методика макроскопического и функционального исследования состояния неосфинктера**

Непосредственно перед выведением экспериментальных животных, выполнялась фото фиксация изображений области сформированного неосфинктера, с дальнейшей оценкой его площади.

Нами был разработан и испытан аппарат для выполнения сфинктероманометрии (СФМББ2), позволяющий в динамике оценить силу сжатия сформированного неосфинктера, оценить его частоту сокращений, а также последовательность и скорость изменения периодов напряжения и расслабления (Рис.2).

Измерение импульсов, силы сжатия и частоты сокращений сформированного неосфинктера крыс проводилось с помощью прибора СФМББ2 по принципу помещения преобразователя разницы давлений (PDT) в область измерения сигналов. Через вентель (Pin) подается давление требуемое для создания сопротивления мышечной силе неосфинктера крысы. Давление фиксируется в требуемом диапазоне, используя визуальную оценку расположения датчика PDT и показаний прибора осциллографа DSO 112A. Электрический сверх точный относительный датчик давления Ips PE преобразует разность давления датчика PDT, мышечной силы неосфинктера и атмосферного давления в электрические сигналы малой мощности, которые подаются на усилитель сигналов. Сигналы, подаваемые датчиком IPS PE, считываются с помощью мощного сверх точного малошумного усилителя электрических сигналов AD820 и преобразуются в пятикратном размере в электрические импульсы в диапазоне требуемых измерений от 0.01 до 0.5 вольта и подаются на осциллограф DSO 112A. Сигналы такой скважности явно заметны на дисплее осциллографа в виде графика, а так же в цифровом отображении. На основании полученных показаний в цифровом отображении оценивали максимальное сжатие и динамику выталкивания датчика.

В лабораторных условиях, под контролем глаза, выполнено введение баллонного катетера, размером 8Fr, в сформированный сфинктер крысы. После введения катетера выполнено его наполнение воздухом до появления мышечного сопротивления. В момент появления мышечного сопротивления производилась оценка силы сжатия, частоты сокращений. Далее в динамике, в процессе эвакуации катетера, производилась оценка силы сжатия и частоты сокращений, частота возникновения и их последовательность.



**Рисунок 11 - Сфинктероманометр СФМББ2**

IPS PE – 5700 GP Датчик давления относительный

AD820ANZ - Однополярный усилитель на металлооксидных полевых транзисторах

DSO 112 - Осциллограф

Питание +5V от Li-ion, цифровой блок питания и OUT +5V 1.0A

PDT - преобразователь разницы давления



**Рисунок 12 - Сфинктероманометр СФМББ2**

## 2.5. Методика проведения гистологических исследований

Через 90 дней после операции животных выводили из эксперимента под наркозом при помощи высоких доз раствора магния сульфата. Комплекс тканей для гистологического исследования был забран согласно групповой принадлежности экспериментальных животных. Так у крыс первой группы объектом для гистологического исследования являлся комплекс тканей, включающий в себя длинную мышцу, отводящую хвост с обеих сторон, и сформированный неосфинктер. Полученный комплекс был разделен на три части в соответствии с её анатомическим расположением: длинная мышца, отводящая хвост с левой стороны, сформированный неосфинктер и длинная мышца, отводящая хвост с правой стороны.

У крыс второй группы таким объектом являлся комплекс тканей, включающий в себя длинную мышцу, отводящую хвост с обеих сторон, фрагменты ветви промежуточного нерва слева, сформированный неосфинктер. Полученный комплекс был разделен на три части в соответствии с её анатомическим расположением: длинная мышца, отводящая хвост слева, на стороне выполненной прямой невротизации мышцы, сформированный неосфинктер и длинная мышца, отводящая хвост справа.

У крыс третьей группы таким объектом являлся комплекс тканей, включающий в себя длинную мышцу, отводящую хвост с обеих сторон, фрагменты ветви промежуточного нерва слева, сформированный неосфинктер. Полученный комплекс был разделен на три части в соответствии с её анатомическим расположением: длинная мышца, отводящая хвост с левой стороны, на стороне выполненной прямой невротизации мышцы и создания градиента нейротрофинов, сформированный неосфинктер и длинная мышца, отводящая хвост справа.

Образцы тканей фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине в течение 24 часов и пропускали через стандартный протокол проводки в гистопроцессоре. Препараты были залиты в парафиновые блоки.

Гистологические препараты окрасили гематоксилином-эозином. Для иммунофлуоресцентного исследования образцы депарафинировали и проводили демаскировку антигена в Трис-ЭДТА буфере рН 10.0 (abcam), блокировали неспецифическое связывание антител 5% раствором бычьего сывороточного альбумина (БСА) в фосфатном солевом буфере (ФБС) с добавлением 0.05% детергента Твин-20. Препараты окрашивали первичными моноклональными мышинными антителами к  $\beta$ 3-тубулину (Thermo Fisher) и кроличьими поликлональными антителами к синаптотагмину (Sigma), отмывали в ФБС буфере и антиген детектировали при помощи конъюгированных вторичных козьих антител против мыши, мечеными флуоресцентной меткой Alexa 488 (Thermo Fisher) и козьих антител против кролика мечеными Alexa 594 (Thermo Fisher). Стекла отмывали, ядра прокрашивали DAPI (Thermo Fisher) и заключали под покрывное стекло в 80% глицерин в ФБС.

Оценка полученных препаратов была произведена и описана в разное время и независимо друг от друга, двумя специалистами-патологоанатомами, без получения дополнительных сведений об отношении полученных препаратов к экспериментальным группам.

Микроскопическое исследование препаратов проводили на универсальном микроскопе LEICA DM4000 B LED с камерой LEICA DFC7000 T, с использованием компьютера с программным обеспечением LAS V4.8 software (Leica Microsystems, Switzerland).

## **2.6. Методика проведения морфометрических исследований**

Морфометрическое исследование гистологических препаратов проводили на увеличении  $\times 200$  с помощью описанного выше микроскопа с программным обеспечением. Для получения статистически достоверных результатов каждый препарат фотографировали в 10 случайно отобранных участках (размер поля зрения  $623 \times 467$  мкм). На каждом изображении сформированного неосфинктера измеряли толщину слизистой оболочки толстой кишки и толщину прилежащего эпидермиса и степень воспалительной инфильтрации (оценивали по 4-х балльной шкале от 0 до 3), в мышцах измеряли суммарную площадь их пучков в процентах от площади поля зрения, а также – их минимальный и максимальный диаметры и количество нервных стволов.

## **2.7. Методика статистических исследований**

Статистическое исследование было выполнено опытным статистиком, который не имел сведений о принадлежности изучаемых данных к определенным экспериментальным группам.

Статистически значимые различия площади неосфинктера в исследуемых группах считали однофакторным дисперсионным анализом с поправкой Тьюки. Данные представлены графиком средних значений и SEM. Значения считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

Статистический анализ экспериментальных данных функциональных показателей был проведен на GraphPad Prism версии 7.00 для MacOS (GraphPad Software, Inc.). Для оценки максимального напряжения сфинктера максимальные значения вокруг пика, характеризующего сжатие датчика, сравнивали однофакторным дисперсионным анализом с поправкой Тьюки. Результаты

представлены как столбиковые графики и SD. Значения считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

Статистический анализ экспериментальных данных морфологических исследований был проведен на GraphPad Prism версии 8.00 для Windows (GraphPad Software, Inc.). Межгрупповые различия были оценены однофакторным дисперсионным анализом с поправкой Тьюки (исследование толщин, степень воспалительной инфильтрации) и двухфакторным дисперсионным анализом с поправкой Сидака (исследование площади мышечной ткани, количество нервных стволиков). Результаты будут представлены в виде столбиковых графиков со средними значениями и SEM. Уровень статистической значимости  $p$  был принят за  $< 0,05$ .

## **Глава 3. Результаты**

### **3.1. Характеристика экспериментальных животных**

Эксперимент был проведен в централизованном виварии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова. Экспериментальные исследования проводились на животных: 24 самца крыс линии Wistar средним весом 350 г и возрастом 4-6 месяцев. Животные содержались в стандартных условиях вивария с режимом день/ночь 12/12, со свободным доступом к воде и пище.

Содержание и использование лабораторных животных соответствовало правилам, принятым в Сеченовском университете, рекомендациям местного этического комитета и национальным законам.

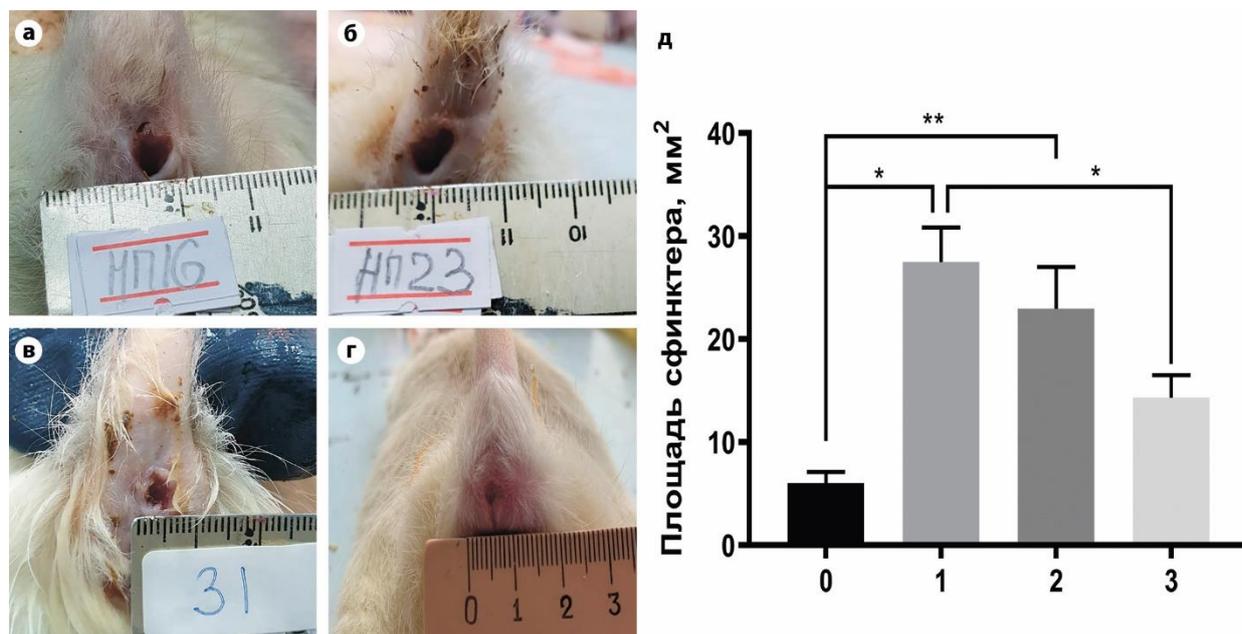
### **3.2. Результаты макроскопического исследования**

Спустя девяносто суток от момента операции производилась макроскопическая оценка сформированного неосфинктера, по результатам которой было выявлено наличие статистически значимых отличий между всеми группами экспериментальных животных.

В результате проведенной макроскопической оценки у первой экспериментальной группы животных, которым производилось формирование неосфинктера без применения прямой мышечной невротизации, были получены следующие показатели: площадь сформированного неосфинктера увеличена, по периферии отмечается наличие зон хронического воспаления, анус не смыкается, зачастую зияет, в результате чего отмечается наличие каломазания, более чем в пятидесяти процентах случаев отмечается неоформленность каловых масс.

В результате проведенной макроскопической оценки у второй экспериментальной группы животных, которым производилось формирование неосфинктера в комбинации с прямой мышечной невротизацией, но без применения нейротрофинов, были получены следующие показатели: относительно первой группы экспериментальных животных площадь неосфинктера была меньше, анус сомкнут, состоятелен, стул сформирован, факт каломазания установлен в десяти процентах случаев.

В результате проведенной макроскопической оценки у третьей экспериментальной группы животных, которым производилось формирование неосфинктера в комбинации с прямой мышечной невротизацией и применением нейротрофинов, были получены следующие показатели: площадь сформированного неосфинктера соответствовала контрольной группе здоровых животных, анус был сомкнут, состоятелен, зон воспаления не наблюдалось, фактов каломазания установлено не было, что, в свою очередь, является признаком состоятельности сформированного неосфинктера и говорит о его возможности удерживать каловое содержимое.



**Рисунок 13 (а-г) - Макроскопические фотографии intactных анусов (а), неоанусов группы 1 (б), группы 2 (в) и группы 3 (г) на 90 сутки после операции. (д) Статистический анализ площадей сфинктеров. 0 – intactные анусы, 1 – операция без невротизации, 2 – операция с проведением невротизации, 3 – операция с проведением невротизации и созданием градиента нейротрофинов. \* -  $p < .05$ , \*\* -  $p < .01$ . Средние значения  $\pm$  SEM**

### 3.3. Результаты функционального исследования состояния неосфинктера

По итогам проведения функционального исследования работы сформированного неосфинктера на аппарате СФМББ2 у контрольной группы экспериментальных животных было установлено, что максимальное напряжение составило  $0,066 \pm 0,005$  В.

По итогам проведения функционального исследования работы сформированного неосфинктера на аппарате СФМББ2 у первой экспериментальной группы животных было установлено, что максимальное напряжение составило  $0,02 \pm 0,01$  В.

По итогам проведения функционального исследования работы сформированного неосфинктера на аппарате СФМББ2 у второй экспериментальной группы животных было установлено, что максимальное напряжение составило  $0,026 \pm 0,0057$  В.

По итогам проведения функционального исследования работы сформированного неосфинктера на аппарате СФМББ2 у третьей экспериментальной группы животных было установлено, что максимальное напряжение составило  $0,063 \pm 0,0057$  В.

По результатам оценки полученных данных различий между третьей и контрольной экспериментальной группой животных не установлено ( $p=0,1747$ ). При этом наблюдалось наличие статистически значимых отличий между второй и контрольной экспериментальной группой животных ( $p=0,0006$ ). А также наличие значимых отличий между первой и контрольной экспериментальной группой животных ( $p=0,0002$ ). Также было установлено наличие статистически значимых отличий между третьей группой экспериментальных животных от первой ( $p=0,0019$ ) и второй ( $p=0,0076$ ) групп.

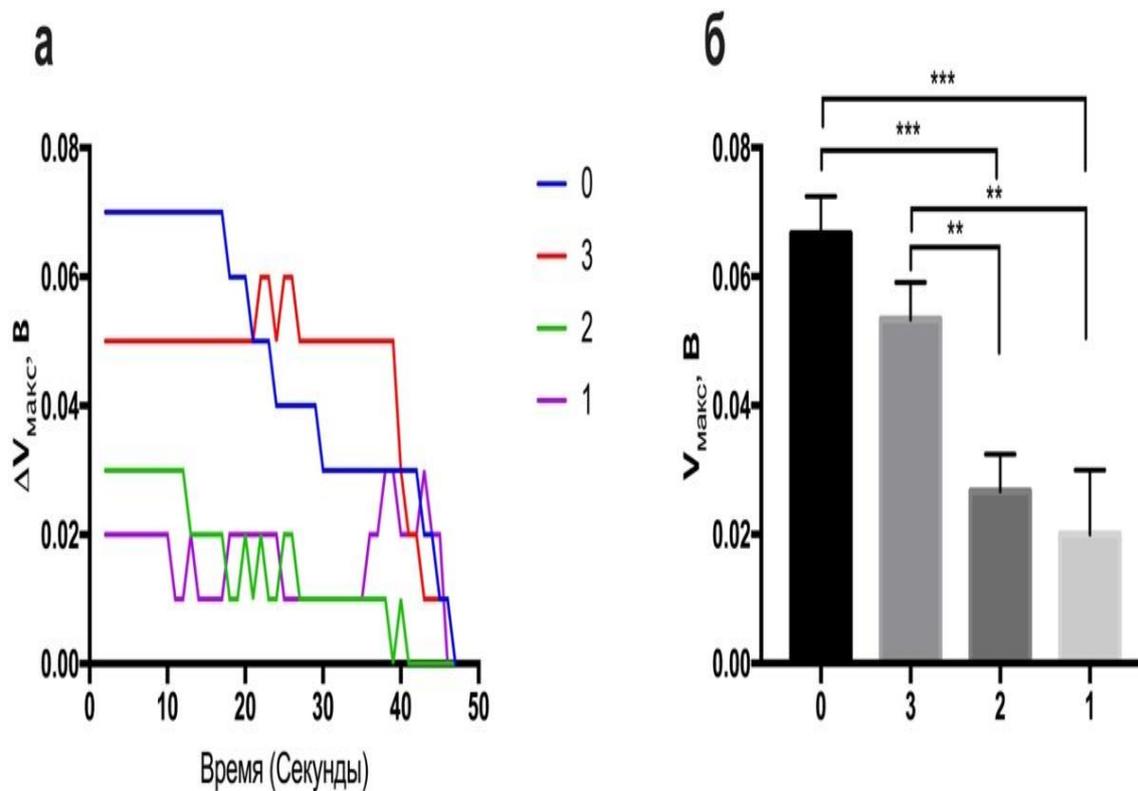
На основании данных, полученных в результате проведения функциональной оценки работы сфинктера прямой кишки при помощи аппарата СФМББ2 у контрольной группы здоровых животных был установлен механизм дефекации. В основе проведенной функциональной оценки лежала скорость эвакуации баллонного катетера, а также последовательность и частота сменяемости эпизодов напряжения и расслабления сфинктера. В итоге, в норме, зафиксированы регулярные эпизоды сменяемости расслабления и напряжения сфинктера, с полным расслаблением последнего при эвакуации содержимого прямой кишки.

На основании данных, полученных в результате проведения функциональной оценки работы сфинктера прямой кишки при помощи аппарата СФМББ2 у первой группы экспериментальных животных было установлено, что механизм дефекации носил не физиологичный характер, полностью противоположный норме. Процесс эвакуации содержимого прямой кишки сопровождался коротким периодом расслабления сфинктера и дальнейшим, стойким возникновением его напряжения, с увеличением тонуса вплоть до конца акта дефекации.

На основании данных, полученных в результате проведения функциональной оценки работы сфинктера прямой кишки при помощи аппарата СФМББ2 у второй экспериментальной группы животных было установлено, что механизм дефекации по своим показателям был близок к норме. Процесс эвакуации содержимого прямой кишки сопровождался регулярными эпизодами сменяемости периодов расслабления и напряжения сфинктера, вплоть до полного его расслабления при эвакуации содержимого прямой кишки. Статистически значимым отличием от контрольной группы здоровых животных является наличие более длительных периодов сокращения и большей силы сжатия и более коротких периодов расслабления сфинктера, в результате чего отмечается увеличение времени эвакуации баллонного катетера.

На основании данных, полученных в результате проведения функциональной оценки работы сфинктера прямой кишки при помощи аппарата СФМББ2 у третьей экспериментальной группы животных было установлено, что механизм дефекации по своим показателям соответствовал норме. В процессе исследования зафиксированы регулярные эпизоды сменяемости расслабления и напряжения сфинктера, с полным расслаблением последнего при эвакуации содержимого прямой кишки, с полным соответствием по времени акта дефекации группе контроля.

По результатам полученных данных можно достоверно утверждать, что у второй и третьей экспериментальной групп животных акт дефекации является физиологичным и соответствует группе контроля. В то время как у первой экспериментальной группы животных процесс дефекации носит компенсаторный характер, который по своему механизму является полностью противоположным к норме и сопровождается стойким нарастанием силы сжатия, и его продолжительности по времени без расслабления сфинктера.

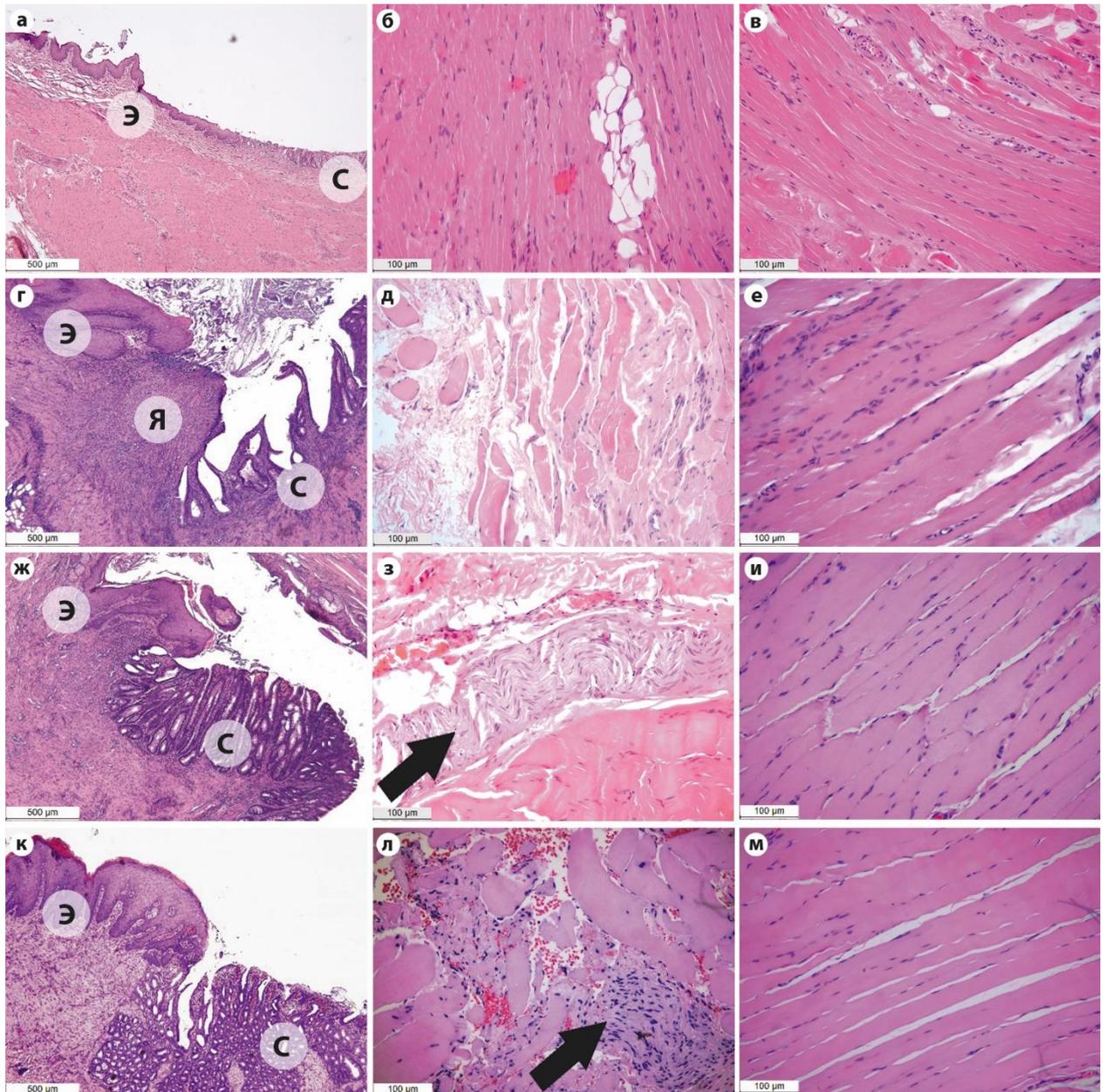


**Рисунок 14 - (а) Динамика расслабления сфинктера. (б) Статистический анализ максимального сжатия сфинктера в сравнении с контрольной группой. Однофакторный дисперсионный анализ с поправкой Тьюки, Группа 0 – контрольная без проведения операции, группа 1 – операция без невротизации, группа 2 – операция с проведением невротизации, группа 3 – операция с проведением невротизации и созданием градиента нейротрофинов. (б) графики отображают среднее значение  $\pm$  SD, \* -  $p < 0.5$ , \*\* -  $p < 0.1$ , \*\*\* -  $p < 0.01$ , \*\*\*\* -  $p < 0.001$**

### 3.4. Результаты морфологического исследования

В гистологических препаратах интактных анусов определялась структура сфинктера, выстланная однослойным призматическим и многослойным неороговевающим эпителием. Определяются участки перехода между этими типами (рис. 15а). В структуре слизистой оболочки определяются небольшие очаги инфильтрации иммунными клетками. Под слизистой оболочкой расположена толстая мышечная оболочка, состоящая из разнонаправленных групп пучков мышечных волокон. Структура мышц, отводящих хвост, была представлена однонаправленными мышечными волокнами с редкими соединительнотканными прослойками между ними (рис. 15б, в).

По результатам проведенного морфологического исследования у первой экспериментальной группы животных были выявлены следующие показатели: в области сформированного неосфинктера на границе между слизистой оболочкой толстой кишки и эпидермисом определялся стык с наличием участков эрозии и изъязвлений, которые находились в окружении выраженной полиморфноклеточной инфильтрации окружающих тканей (рис. 15а). При детальном исследовании установлен факт того, что в слизистой оболочке толстой кишки эпителий, в основном, выявлен регенераторного типа с включениями бокаловидных клеток, и также выявлено фрагментарное замещение соединительной тканью мышечной оболочки толстой кишки. При этом наблюдался частичный акантоз эпидермиса на границе сформированного сфинктера, его незрелость, незначительное утолщение. При морфологическом исследовании длинной мышцы, отводящей хвост, после её транспозиции в положение прямой кишки и формирования неосфинктера, установлено наличие участков дистрофии и фиброзной перестройки, более выраженных слева (рис. 15 д, е).

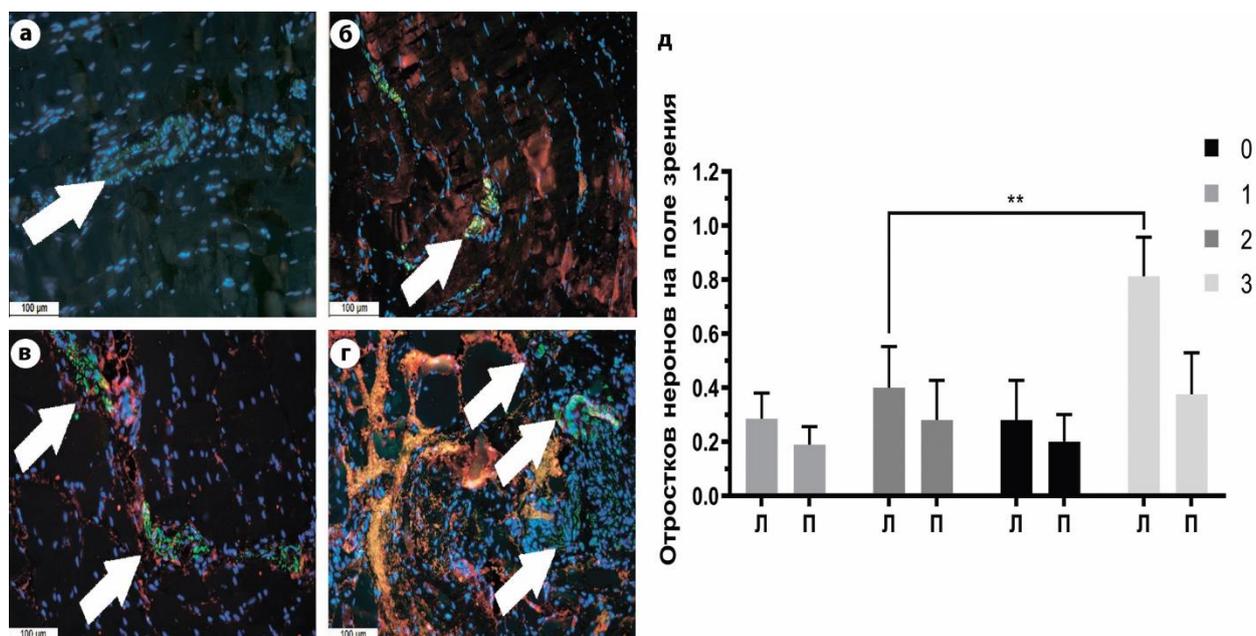


**Рисунок 15 - Световая микроскопия. Группа 0 (а-в), группа 1 (г-е), группа 2 (ж-и), группа 3 (к-м): а – интактный сфинктер, г, ж, к – фрагменты колостомы: в каждом из препаратов виден стык между слизистой оболочкой толстой кишки (С) и эпидермисом (Э), в группе 1 в этом месте определяется язвенный дефект (Я) (рис. г); окраска гематоксилином и эозином,  $\times 50$ ; б, д, з, л – левые мышцы, в, е, и, м – правые мышцы: в группах 2 и 3 диаметр мышечных волокон в составе левых мышц местами превышает 100 мкм, в отличие от правых, также видны нервные стволы (обозначены стрелками), окраска гематоксилином и эозином,  $\times 200$**

По результатам проведенного морфологического исследования у второй экспериментальной группы животных были выявлены следующие показатели: в области сформированного неосфинктера на границе между слизистой оболочкой толстой кишки и эпидермисом определялся стык, в области которого воспаление было менее выражено, чем у первой экспериментальной группы животных, а эпидермис и эпителий слизистой были более зрелыми и эрозии с изъязвлениями отсутствовали вовсе (рис. 15г). Толщина слизистой оболочки толстой кишки была больше, чем у первой экспериментальной группы животных. При морфологическом исследовании длинной мышцы, отводящей хвост, после её транспозиции в положение прямой кишки и формирования неосфинктера, были установлены достоверные отличия между правой и левой мышцами. Со стороны левой мышцы, где выполнялась прямая мышечная невротизация, было выявлено наличие нервных стволиков, расположенных по периферии мышцы, а также незначительное количество невром (рис. 15 з, и).

По результатам проведенного морфологического исследования у третьей экспериментальной группы животных были выявлены следующие показатели: в области сформированного неосфинктера на границе между слизистой оболочкой толстой кишки и эпидермисом определялся стык, в области которого воспаление отсутствовало, эрозий и изъязвлений выявлено не было, а эпителий кожи и слизистая оболочка толстой кишки отличалась от других экспериментальных групп животных максимальной степенью зрелости (рис. 15ж). Толщина слизистой оболочки толстой кишки была максимальной. При морфологическом исследовании длинной мышцы, отводящей хвост, после её транспозиции в положение прямой кишки и формирования неосфинктера, были установлены незначительные отличия между правой и левой мышцами. Со стороны левой мышцы, где выполнялась прямая мышечная невротизация, было выявлено наличие крупных нервных стволиков, гипертрофированных мышечных волокон (рис. 15з, и). А по результатам проведения реакции иммунофлуоресценции, были

получены данные, доказывающие наличие клеток, которые содержат  $\beta 3$ -тубулин, способствующие экспрессии синаптоагмина вокруг нервных стволиков (рис. 16).



**Рисунок 16 - Фрагменты левых мышц, флуоресцентная микроскопия. Группа 0 — (а), группа 1 — (б), группа 2 — (в), группа 3 — (г): зеленая флуоресценция — β3-тубулин, красная флуоресценция — синаптоагмин, голубая флуоресценция — ядра клеток, желтая и оранжевая флуоресценция — неспецифическая и аутофлуоресценция. (а-г) — желтыми стрелками обозначены β3-тубулин положительные нервные пучки, ×200). (д) двухфакторный дисперсионный анализ с поправкой Сидака, Л – левая мышца, П – правая мышца, графики отображают среднее значение ± SEM, \*\* -  $p < 0.1$**

### 3.5. Результаты статистического исследования

Результаты, полученные в ходе проведения статистического исследования полностью подтверждают полученные данные (рис. 17,18,19,20). По результатам полученных данных было установлено наличие статистически значимых отличий в толщине слизистой между всеми экспериментальными группами животных. Максимальный показатель толщины слизистой был выявлен в третьей экспериментальной группе животных, минимальный показатель был выявлен в первой группе. Также было установлено наличие статистически значимых отличий и в толщине эпидермиса. Максимальный показатель толщины эпидермиса был выявлен в третьей экспериментальной группе животных, минимальный показатель был выявлен в первой группе. При проведении исследования были установлены статистически значимых отличия при проведении морфологического исследования длинной мышцы, отводящей хвост, после её транспозиции в положение прямой кишки и формирования неосфинктера. У первой экспериментальной группы животных низведенная мышца с левой стороны была значительно меньше низведенной мышцы с левой стороны у животных второй экспериментальной группы. При этом было установлено наличие статистически значимых отличий между низведенной мышцей с правой и левой сторон у второй экспериментальной группы животных, в то время как у третьей экспериментальной группы животных разницы между правой и левой низведенной мышцей не выявлено. В низведенной мышце с обеих сторон, больше слева выявлено наличие крупных нервных стволиков, гипертрофированных мышечных волокон и клеток, содержащих  $\alpha$ -тубулин.

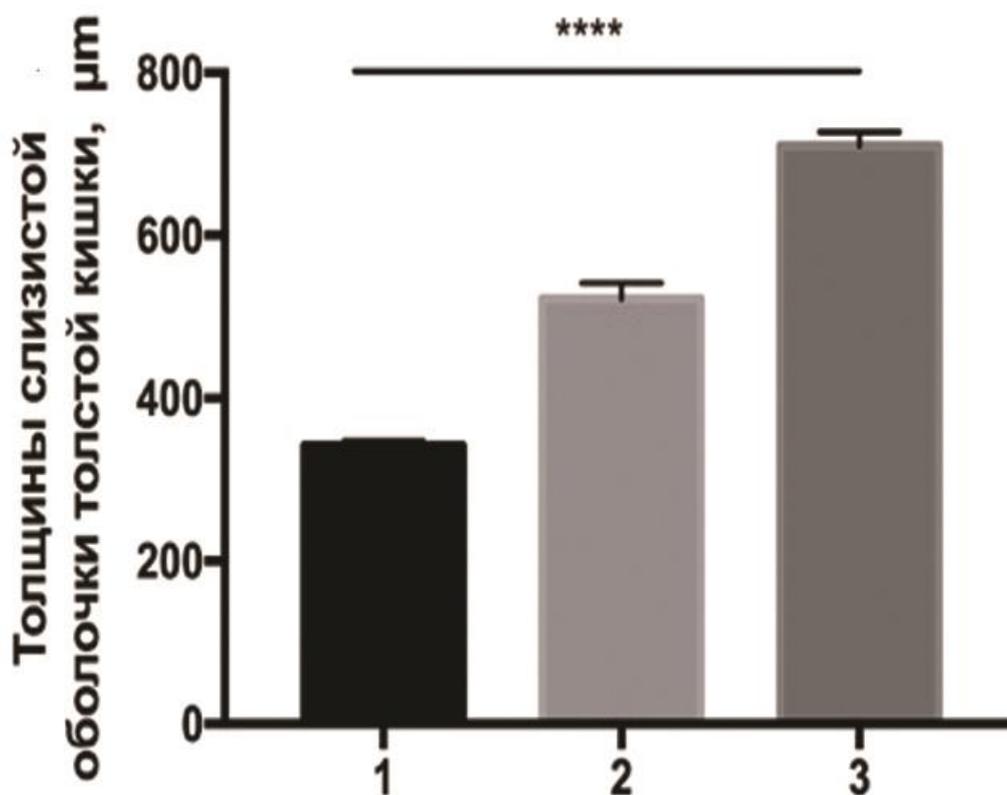


Рисунок 17 - График разницы толщины слизистой оболочки толстой кишки

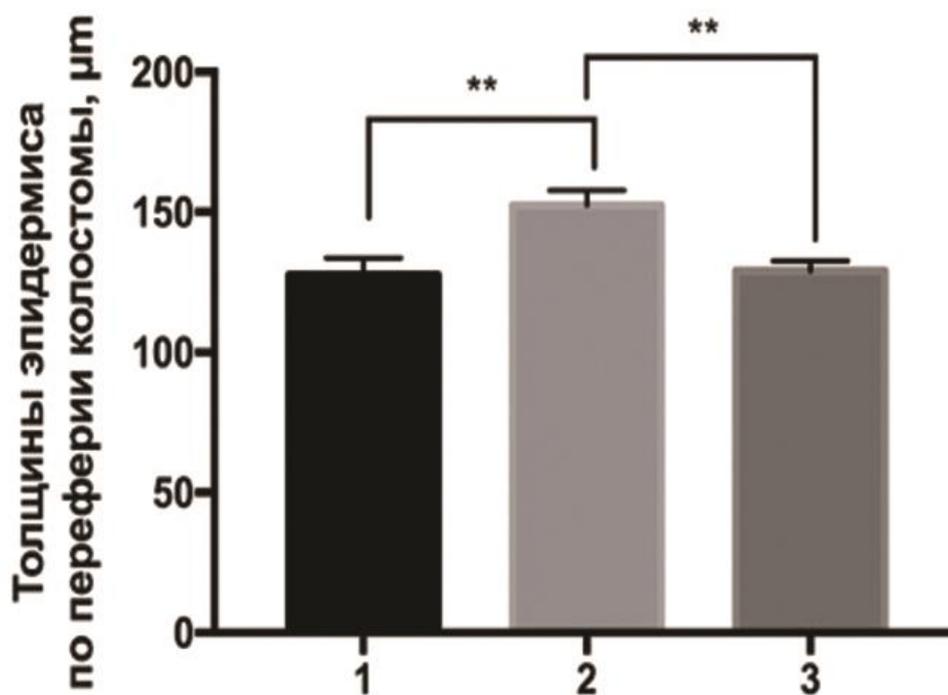


Рисунок 18 - График разницы толщины эпидермиса по периферии неосфинктера

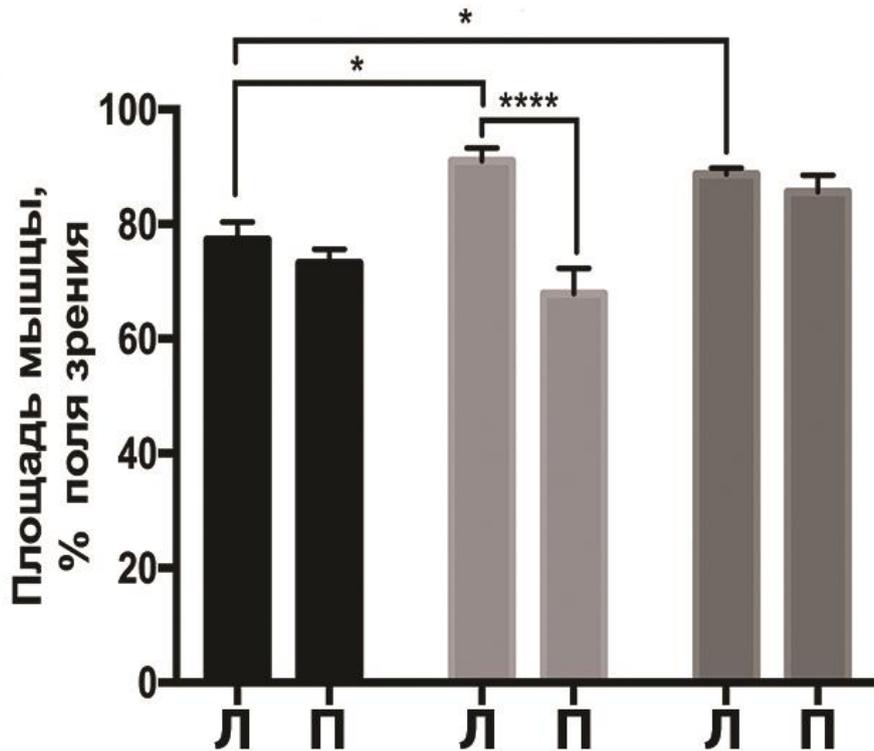


Рисунок 19 - График разницы толщины длинной мышцы, отводящей хвост после транспозиции (группа 1-3)

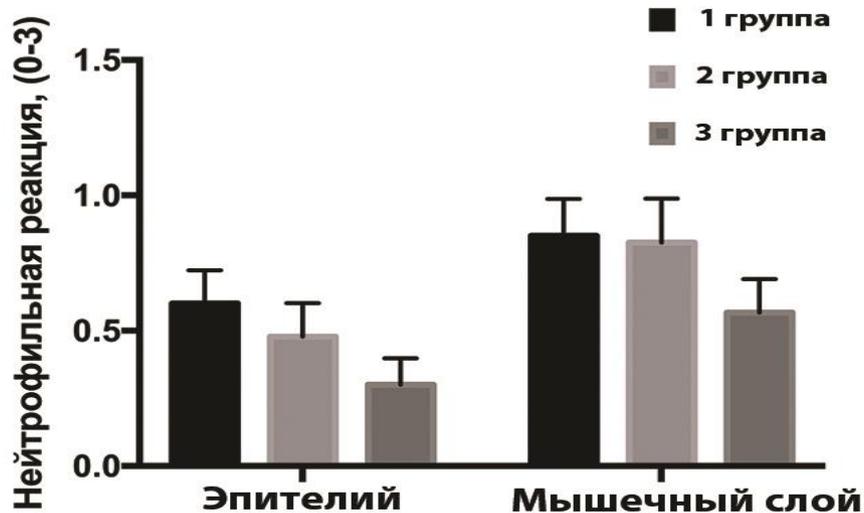


Рисунок 20 - Статистический анализ. (а-б) Однофакторный дисперсионный анализ с поправкой Тьюки, (в, г) двухфакторный дисперсионный анализ с поправкой Сидака, Л – левая мышца, П – правая мышца, графики отображают среднее значение  $\pm$  SEM, \* -  $p < 0.5$ , \*\* -  $p < 0.1$ , \*\*\* -  $p < 0.01$ , \*\*\*\* -  $p < 0.001$

Данные, полученные по итогам оценки результатов проведенной операции по формированию неосфинктера у всех экспериментальных групп животных, свидетельствуют о наличии структурных и морфо - функциональных отличий.

Максимально близким к группе контроля по морфо - функциональным показателям являлась третья экспериментальная группа животных, которым выполнялось формирование неосфинктера в комбинации с выполнением прямой мышечной невротизации и градиентом нейротрофинов. При этом по своим морфо – функциональным характеристикам, остальные экспериментальные группы животных отличались в худшую сторону и имели более низкие показатели оценки.

Полученные в ходе работы данные морфологического исследования имели прямую корреляцию с данными функциональной оценки сформированного неосфинктера. У первой экспериментальной группы животных выявлена прямая взаимосвязь между наличием язвенных и эрозивных участков, воспалительной инфильтрацией, незрелостью эпидермиса и слизистой оболочки кишки и нарушением механизма дефекации. Причиной возникновения вышеописанных изменений может являться хроническое раздражение каловыми массами зоны сформированного неосфинктера, в связи с нарушением его функции. При этом у второй экспериментальной группы животных, объем воспалительных изменений был значительно меньше, что в свою очередь, обусловлено более физиологичным актом дефекации. В тоже время, третья экспериментальная группа животных по своим морфо – функциональным характеристикам полностью соответствовала норме.

В ходе исследования установлено, что толщина слизистой оболочки значительно толще и близка к нормальным показателям у второй и третьей экспериментальных групп животных, в отличии от первой группы, где толщина слизистой оболочки имела минимальное значение, что также может являться признаком нормальной работы сформированного неосфинктера.

По результатам проведенной оценки эффективности воздействия нейротрофинов на рост нерва было установлено наличие у третьей

экспериментальной группы животных крупных нервных волокон в низведенной мышце с обеих сторон, больше слева. Близким к этим показателям являлась вторая группа крыс, у которой были выявлены нервные стволики и участки синаптогенеза в левой низведенной мышце. В первой экспериментальной группе животных формирование нервных волокон выявлено не было. Все полученные данные были подтверждены статистически.

## Глава 4. Обсуждение полученных результатов

### 4.1. Пластика диафрагмы таза путем формирования неосфинктера прямой кишки без выполнения прямой мышечной невротизации

В ходе исследования, у первой экспериментальной группы животных было выполнено формирование неосфинктера путем двусторонней транспозиции в положение низведенной толстой кишки длинной мышцы, отводящей хвост, концы которой были фиксированы между собой и кишкой в виде манжеты. Достоверно установлено, что полученные результаты у первой группы экспериментальных животных не соответствуют клиническим требованиям и стандартам, что получило макроскопическое и морфологическое подтверждение.

Во время проведения макроскопических исследований было установлено, что у животных первой экспериментальной группы обнаружена не сомкнутость сфинктера, зачастую его зияние, наличие хронического воспаления в области сформированного неосфинктера, неоформленность стула.

При помощи аппарата СФМББ2 нами было установлено, что у крыс первой группы максимальное напряжение неосфинктера составило  $0,02 \pm 0,01$  В. У группы контроля максимальное значение напряжения неосфинктера составило  $0,066 \pm 0,005$  В. Достоверное различие между контрольной группой и первой группой составило  $p=0,0002$ . Было установлено, что у первой экспериментальной группы животных нарушена нормальная физиология акта дефекации. В то время, как акт дефекации у контрольной группы животных происходит за счет чередования периодов расслабления и напряжения мышц сфинктера, у крыс первой группы дефекация происходит исключительно за счет напряжения мышц неосфинктера, с тенденцией к росту и отсутствием периодов расслабления.

В ходе выполнения морфологического исследования у первой экспериментальной группы животных были выявлены признаки хронического воспаления в виде воспалительной инфильтрации, участков эрозий и язв, незрелости эпидермиса и слизистой толстой кишки, что, в свою очередь, может быть следствием нарушения акта дефекации, нарушения функции сфинктера и, как следствие, постоянного раздражения каловыми массами.

Результат, полученный у первой экспериментальной группы животных, обусловлен несколькими моментами. В виду отсутствия иннервации, длительного периода естественного «переобучения, быстротекущие процессы дистрофии и снижения массы, сформированный неосфинктер, не выполняла свою функцию, должным образом, что послужило причиной формирования компенсаторного механизма дефекации, несостоятельности сфинктера, его зияния и формирования зон хронического воспаления.

#### **4.2. Пластика диафрагмы таза путем формирования неосфинктера прямой кишки с выполнением прямой мышечной невротизации без создания градиентов нейротрофинов**

В ходе исследования, у второй экспериментальной группы животных было выполнено формирование неосфинктера путем двусторонней транспозиции в положение низведенной толстой кишки длинной мышцы, отводящей хвост, концы которой были фиксированы между собой и кишкой в виде манжеты, после чего была выполнена прямая мышечная невротизация выделенной ветвью промежностного нерва. Установлено, что полученные результаты у второй экспериментальной группы животных частично соответствуют клиническим требованиям и стандартам, что получило макроскопическое и морфологическое подтверждение.

Во время макроскопических исследований было установлено, что площадь сформированного неосфинктера у второй экспериментальной группы животных была значительно меньшего размера, чем у первой группы. Несостоятельность сформированного неосфинктера в виде зияния ануса была выявлена в десяти процентах случаев. Стул был сформирован полностью, проблемы каломазания не наблюдалось.

При помощи аппарата СФМББ2 было установлено, что у второй экспериментальной группы животных, которым выполнялось формирование неосфинктера прямой кишки в комбинации с прямой мышечной невротизацией без нейротрофинов, через девяносто суток от момента проведенной операции максимальное значение силы сокращения сформированного неосфинктера составило  $0,026 \pm 0,0057$  В. Между контрольной и второй группой наблюдалось достоверное различие ( $p=0,0006$ ).

При помощи аппарата СФММБ2 было установлено, что у второй экспериментальной группы животных акт дефекации по своим показателям был

близок к норме. Во время проведения функциональной оценки в динамике при помощи аппарата СФММБ2 было установлено, что процесс эвакуации кишечного содержимого сопровождается регулярными периодами напряжения и расслабления сформированного неосфинктера с тенденцией к его полному расслаблению. Признаками отличия от группы контроля явились более длительные по времени и большие по силе сжатия периоды напряжения неосфинктера и менее продолжительные периоды его расслабления. Также одним из достоверных признаков отличия явился более продолжительный по времени процесс полной эвакуации кишечного содержимого.

При проведении морфологического исследования у второй экспериментальной группы животных было установлено, что степень воспалительных изменений была значительно ниже, чем у первой группы, участки с эрозиями и язвами отсутствовали, толщина слизистой оболочки была больше, а зрелость эпидермиса более выражена. Со стороны левой мышцы, где выполнялась прямая мышечная невротизация, было выявлено наличие нервных стволиков, расположенных по периферии мышцы, а также незначительное количество невром.

Результаты, которые были получены у второй экспериментальной группы животных, обусловлены несколькими моментами. Наличие иннервации исключило процессы дистрофических изменений со стороны мышцы, что обеспечило стойкий функциональный результат. Иннервируемый ветвями промежностного нерва, сформированный неосфинктер, воспринимается организмом, как часть системы запирающего аппарата, что нашло своё отражение в виде показателей акта дефекации близкой к норме. Но ограничение по времени естественного роста нерва, привело к частично негативным результатам, в виде минимальных воспалительных изменений.

### **4.3. Пластика диафрагмы таза путем формирования неосфинктера прямой кишки с выполнением прямой мышечной невротизации и созданием градиента нейротрофинов**

В ходе исследования, у третьей экспериментальной группы животных было выполнено формирование неосфинктера путем двусторонней транспозиции в положение низведенной толстой кишки длинной мышцы, отводящей хвост, концы которой были фиксированы между собой и кишкой в виде манжеты, после чего была выполнена прямая мышечная невротизация выделенной ветвью промежностного нерва. Вторым этапом, в толще мягких тканей низведенной мышцы слева был создан градиент нейротрофинов в направлении от места фиксации нерва к мышце до сформированного неосфинктера. При создании градиента нейротрофинов использовалось три типа концентрации раствора: малая, средняя и большая, по 0,1 мл каждого типа. Достоверно установлено, что полученные результаты у третьей группы экспериментальных животных полностью соответствуют клиническим требованиям и стандартам, что получило макроскопическое и морфологическое подтверждение.

Во время макроскопических исследований было установлено, что площадь сформированного неосфинктера у третьей экспериментальной группы животных, его сомкнутость соответствует показателям контрольной группы. Несостоятельности сформированного неосфинктера в виде зияния ануса и каломазания выявлено не было. Полученные данные говорят в пользу того, что сформированный неосфинктер состоятелен, способен удерживать каловые массы и по своим показателям соответствует норме.

При помощи аппарата СФМББ2 было установлено, что у третьей экспериментальной группы животных, которым выполнялось формирование неосфинктера прямой кишки в комбинации с прямой мышечной невротизацией и созданием градиента нейротрофинов, через девяносто суток от момента

проведенной операции максимальное значение силы сокращения сформированного неосфинктера составило  $0,063 \pm 0,0057$  В.

При этом контрольная и третья группа достоверно не отличались ( $p=0,1747$ ). Третья группа также достоверно отличалась от второй группы ( $p=0,0076$ ) и первой группы ( $p=0,0019$ ).

При помощи аппарата СФММБ2 было установлено, что у третьей экспериментальной группы животных акт дефекации по своим показателям соответствовал норме. Во время проведения функциональной оценки в динамике при помощи аппарата СФММБ2 было установлено, что процесс эвакуации кишечного содержимого сопровождается регулярными периодами напряжения и расслабления сформированного неосфинктера с тенденцией к его полному расслаблению. По своей продолжительности процесс эвакуации кишечного содержимого полностью соответствовал группе контроля.

При проведении морфологического исследования у третьей экспериментальной группы животных было установлено, что признаки воспалительных изменений отсутствовали, толщина слизистой оболочки была максимальной, а зрелость эпидермиса была выражена в наибольшей степени.

Результатом применения градиента нейротрофинов явилось ускорение процессов формирования нервных стволов и их прорастания в толщу мышцы. При морфологическом исследовании длинной мышцы, отводящей хвост, после её транспозиции в положение прямой кишки и формирования неосфинктера, были установлены незначительные отличия между правой и левой мышцами. Со стороны левой мышцы, где выполнялась прямая мышечная невротизация, было выявлено наличие крупных нервных стволиков, гипертрофированных мышечных волокон. А по результатам проведения реакции иммунофлуоресценции, были получены данные, доказывающие наличие клеток, которые содержат  $\beta 3$ -тубулин, способствующие экспрессии синаптоагмина вокруг нервных стволиков

Результат, полученный у третьей экспериментальной группы животных, идентичен контрольной группе. Это может быть обусловлено несколькими моментами. Наличие иннервации исключило процессы дистрофических изменений со стороны мышцы, что обеспечило стойкий функциональный результат. Иннервируемый ветвями промежностного нерва, сформированный неосфинктер, воспринимается организмом, как часть системы запирающего аппарата, что нашло своё отражение в виде показателей акта дефекации близкой к норме, а созданный в толще мышцы градиент нейротрофинов стимулирует рост нерва, способствуя тем самым более интенсивной иннервации мышцы и формированию нейромышечных синапсов. Этим объясняется наличие показателей нормальной физиологии акта дефекации, отсутствие воспалительных изменений, состоятельность неосфинктера.

Выбором нерва-невротизатора для выполнения прямой невротизации длинной мышцы, отводящей хвост, явилось то, что мышцы запирающего аппарата прямой кишки иннервируются конечными ветвями промежностного нерва. Общий ствол промежностного нерва, который является одной из ветвей седалищного нерва, несет в себе двигательные и чувствительные аксоны концевых ветвей и в случае их повреждения или утраты может компенсировать их работу. Таким образом, можно расценивать, что выполнение прямой мышечной невротизации сформированного неосфинктера, ветвями промежностного нерва, является ничем иным, как восстановление нормальной анатомии. Потому что за счет невротизации ветвями промежностного нерва, сформированный неосфинктер, воспринимается организмом, как часть системы запирающего аппарата, и время для естественного переобучения мышцы затрачено не будет. Именно с этим связаны состоятельность неосфинктера, частота и сила сокращений, результаты морфологических исследований у второй и третьей экспериментальных групп животных.

Статистически значимым отличием результатов исследования у экспериментальных животных второй и третьей группы являлось применение у

крыс третьей группы созданного градиента нейротрофинов. Это может быть связано с природой происхождения нейротрофинов и запускаемых процессов во время регенерации нервов.

Существует три основных семейства нейротрофических факторов — классические нейротрофины, нейротрофины глиальных клеток и семейство инсулиноподобных факторов роста. Классические нейротрофины включают фактор роста нервов, нейротрофический фактор мозга (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) и нейротрофины 3–7 (NT3, 4, 5, 6, 7) [27]. Фактор роста нервов NGF продуцируется клетками Меркеля–Ранвье, меланоцитами, гладкомышечными клетками, клетками кровеносных сосудов и др. NGF (nerve growth factor) взаимодействует с высокоаффинным рецептором p140 нейротрофной тирозинкиназы (TrkA), который экспрессируется симпатическими нейронами и нейронами малого диаметра заднего корешка. При повреждении нерва шванновские клетки и фибробласты синтезируют и экспрессируют NGF. NGF усиливает прорастание аксонов и рост нейронов как *in vitro*, так и *in vivo*, участвует в реализации термо-, механо- и болевой чувствительности. BDNF стимулирует рост мононейронов и обеспечивает их выживаемость при аксонотомии. NT3 в основном экспрессируется мышечными волокнами, клетками Меркеля–Ранвье, нервно-сухожильным веретеном (сухожильный орган Гольджи) и специфически связывается с рецептором нейротрофной тирозинкиназы C (TrkC). NT3 стимулируют регенерацию аксонов и образование миелиновой оболочки [20]. Глиальные клетки синтезируют такие факторы, как глиальный нейротрофический фактор (GDNF; способствует образованию нервно-мышечных связей, индуцирует ремоделирование иннервации мышц, связывается с собственным рецептором и с рецептором нейротрофной тирозинкиназы c-Ret) [21] и цилиарный нейротрофический фактор (CNTF; стимулирует симпатические и моторные нейроны). Инсулиноподобные факторы роста I и II близки к инсулину по структуре и функции, связываются с рецептором IGF1, который экспрессируется во всей нервной системе, стимулируя пролиферацию всех типов

клеток. Также цитокины семейства интерлейкина 6 (IL6) могут стимулировать рост нейронов [22].

Именно этим объясняются полученные результаты у крыс второй и третьей экспериментальных групп. А именно: состоятельность неосфинктера, отсутствие воспалительных изменений, восстановление нормальной физиологии акта дефекации. Отличие результатов второй экспериментальной группы животных от группы контроля связана с тем, с тем, что у крыс второй группы выполнялась невротизация без создания градиента нейротрофинов, и с тем, что у них не проводилась дополнительная стимуляция формирования нейромышечных синапсов.

Благодаря созданному градиенту нейротрофинов у крыс третьей группы отмечается картина полного восстановления сформированного неосфинктера, полное восстановление его функциональности, формирование нормальной физиологии акта дефекации в более короткий срок, по сравнению с экспериментальными животными первой и второй группы. Это может быть обусловлено тем, что введенный градиент нейротрофинов имеет гелеобразную структуру в толще мышцы, и тем самым способствует длительной стимуляции роста нерва, и формирования нейромышечных синапсов до полного его рассасывания. На момент окончания исследования, то есть через девяносто суток от момента проведенной операции, в тканях следов введенных нейротрофинов обнаружено не было.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время, несмотря на обилие предлагаемых операций по восстановлению запирающего аппарата прямой кишки у пациентов с раком прямой кишки и у детей с аноректальными пороками развития, не существует какой-то определенной методики, которая бы соответствовала клиническим требованиям и которая давала бы стопроцентный прогнозируемый результат.

По результатам проведенного исследования стало известно и, теперь, позволяет утверждать, что в перспективе, способ формирования неосфинктера в комбинации с прямой мышечной невротизацией и градиентом нейротрофинов для стимуляции аксонального роста, может соответствовать клиническим требованиям и может давать прогнозируемый результат. Также установлено, что мышцы, которые используются при формировании неосфинктера без применения прямой мышечной невротизации, более подвержены дистрофии, что приводит к её истощению, также она воспринимается не как часть системы запирающего аппарата, что приводит к отрицательным результатам и время, затраченное на переобучение этой мышцы, может привести к стойким нарушениям функции и инвалидизации пациента.

Также полученные результаты исследования доказывают, что проведение прямой невротизации мышцы требует дополнительной стимуляции в виде создания градиента нейротрофинов. Это приводит к направленному росту аксонов, а также ускорению сроков формирования нейромышечных синапсов. Несмотря на то, что в большинстве своем созданием градиента нейротрофинов проводится по средствам применения кондуитов, введение нейротрофинов в толщу мышцы не несет в себе негативных последствий и способствует улучшению трофики.

В ходе данного исследования нами получены доказательства того, что формирование неосфинктера в комбинации с прямой мышечной невротизацией и градиентом нейротрофинов полностью соответствует клиническим требованиям,

результаты функциональных и морфологических исследований соответствует группе контроля, и данная методика в перспективе может быть применена на людях.

## ВЫВОДЫ

1. На разработанной экспериментальной модели удалось установить причины осложнений и возникновения неудовлетворительных результатов методик, направленных на восстановление запирающей функции прямой кишки.
2. Главной проблемой восстановления запирающей функции прямой кишки в случае ее повреждения или недоразвития является отсутствие прямого нервно-мышечного сигнала к группе мышц, формирующих запирающий аппарат.
3. После проведения пластики диафрагмы таза путем формирования неосфинктера без проведения прямой мышечной невротизации по сравнению со здоровыми животными выявлено: нарушение функционального состояния сформированного неосфинктера, нарушение нормальной физиологии акта дефекации, с формированием компенсаторного механизма, наличие морфологических нарушений в области сформированного неосфинктера.
4. После проведения пластики диафрагмы таза путем формирования неосфинктера с выполнением прямой мышечной невротизации без применения нейротрофинов по сравнению со здоровыми животными выявлено: состоятельность сформированного неосфинктера, минимальное количество морфологических изменений в области сформированного неосфинктера, формирование механизма акта дефекации близкому к нормальной физиологии.
5. После проведения пластики диафрагмы таза путем формирования неосфинктера в комбинации с прямой мышечной невротизацией градиентом нейротрофинов по сравнению со здоровыми животными выявлено: полное соответствие морфофункциональных показателей контрольной группе, формирование нормальной физиологии акта дефекации, сокращение сроков формирования нейромышечных синапсов и получения положительных результатов в 100 %.

6. Для оценки функциональных результатов запирающего аппарата прямой кишки был разработан аппарат СФМББ2, позволяющий в режиме реального времени проанализировать работу сформированного неосфинктера, оценить его силу сжатия, частоту сокращений, а также последовательность и скорость изменения периодов напряжения и расслабления.
7. Наиболее оптимальной является методика пластики диафрагмы таза путем формирования неосфинктера в комбинации с прямой мышечной невротизацией и градиентом нейротрофинов, которая позволяет добиться полной функциональной состоятельности в короткий срок, восстановления нормальной физиологии акта дефекации, отсутствие морфофункциональных нарушений со стороны сформированного неосфинктера и имеет преимущества перед методиками, применяемыми у животных первой и второй группы.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациентам, которым выполняется пластика диафрагмы таза, в виде формирования неосфинктера, рекомендовано выполнение прямой мышечной невротизации в комбинации с созданием градиента нейротрофинов.
2. В случае невозможности выполнения у пациентов пластики диафрагмы таза, в виде формирования неосфинктера с применением прямой мышечной невротизации в комбинации с градиентом нейротрофинов, рекомендовано выполнение прямой мышечной невротизации без применения нейротрофинов.
3. Пациентам с аноректальными пороками развития и пациентам, которые перенесли экстирпацию прямой кишки с удалением запирающего аппарата, не рекомендуется формирование неосфинктера без выполнения прямой мышечной невротизации и создания градиента нейротрофинов.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Андреев А.В., Чеканов М.Н., Гатилов А.В.. О функциональных результатах сфинктеросохраняющих резекций прямой кишки.// Сибирский медицинский журнал – 2009 -- № 6 -- С 41-45
2. Байтингер В. Ф., Байтингер А. В Шов нерва конец-в-бок: стратегия «получения» аксонов из интактного нерва (часть III) // Вопросы реконструктивной и пластической хирургии. -- 2013. -- Т. 16, № 2. -- С. 13-19.
3. Байтингер В. Ф., Силкина К. А., Байтингер А. В., Фёдоров Е. В. Total Breast Reconstruction: от неприятия до золотого стандарта // Вопросы реконструктивной и пластической хирургии №. -- 2014. -- Т. 3. -- С. 50.
4. Бацаленко Н.П., Решетов И.В. Прямая невротизация анального неосфинктера как способ улучшения его функциональной морфологии.// Хирургическая Практика 2019, №1(37) – 38-44.
5. Бацаленко Н.П., Решетов И.В. Прямая невротизация анального неосфинктера как способ улучшения его функции.// Московский хирургический журнал 2019, 1(65) – 50-55.
6. Баширов С.Р., Жерлов Г.К., Баширов Р.С., Кошель А.П., Тихонов В.И., Трифионов М.Н., Гайдаш А.А. Строение анального канала и анальных сфинктеров собак в норме и после проктэктомии с низведением ободочной кишки.// Бюллетень сибирской медицины. – 2015 -- том 14, № 6 -- С. 25–32
7. Баширов С.Р., Жерлов Г.К., Баширов Р.С., Кошель А.П., Тихонов В.И., Трифионов М.Н., Гайдаш А.А., Панкратов И.В., Карпович А.В.. Проктэктомия и сфинктеролеваторопластика при раке нижнеампулярного отдела прямой кишки с распространением на анальный канал.// Вестник хирургии –2010 --Том 169 -- № 6 -- С 40-46

8. Баширов С.Р., Жерлов Г.К., Баширов Р.С., Кошель А.П., Тихонов В.И., Трифонов М.Н., Гайдаш А.А., Панкратов И.В., Карпович А.В..Проктэктомия с восстановлением внутреннего анального сфинктера, леватора и резервуара при низком раке прямой кишки.// Сибирский медицинский журнал. – 2010 --Том 25, №1 -- С 94-98
9. Баширов С.Р., Трифонов М.Н., Тихонов В.И., Грищенко М.Ю. Отдаленные результаты проктэктомии с реконструкцией сфинктера, леватора и резервуара при низком раке прямой кишки.// Бюллетень сибирской медицины. --2014, том 13, № 5 -- С. 5-11
- 10.Галлямов А.Р., Масгутов Р.Ф., Ханнанова И.Г., Муллин Р.И. Клинико-экспериментальное обоснование применения стромально-васкулярной фракции при травме периферических нервов.// Практическая медицина – 2016 -- 4(96) -- С 51-54
- 11.Галлямов А.Р., Масгутов Р.Ф., Ханнанова И.Г., Муллин Р.И Хирургическое лечение периферических нервов верхней конечности с использованием аутоклеток стромальной васкулярной фракции.// Практическая медицина. –июнь 2015 --‘4 (89) -- том 1 -- С 46-48
- 12.Говенько Ф., Монашенко Д., Лукин Д., Команцев В. Невротизация трех крупных нервов при тракционном повреждении плечевого сплетения // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2012 --№ 4. -- С. 12-19.
- 13.Горшков Р. П., Нинель В., Норкин И., Делиникайтис С., Коршунова Г. Возможности тендомиопластики в реабилитации больных с грубыми повреждениями стволов плечевого сплетения // Саратовский научно-медицинский журнал. -- 2009. -- Т. 5, № 3 -- С 13-15.
- 14.Дадоджонов Д., Махмадкулова Н. Реконструктивные вмешательства при тяжелой степени ишемической контрактуры Фолькмана // Наука молодых–Eruditio Juvenium. – 2014 -- № 2 -- С 5-6.

15. Задоянный Л., Жданова В., Братусь Н. Клиника и лечение паралитического лагофтальма у больных с нейрохирургической патологией // Офтальмологический журнал. – 2012 -- № 2. -- С. 63-67.
16. Заполянский А.В., Коростелев О.Ю., Абу-Варда И.Ф., Кандратьева О.В., Свирский А.А. Первичная проктопластика у новорожденных с аноректальными пороками развития. \ Медицинские новости. – 2016. – №7. – С. 13–16.
17. Иванов А. Н., Коршунова Г. А., Матвеева О. В., Нинель В. Комплексная стимуляция регенерации периферического нерва после отсроченной нейрорафии. // Саратовский научно-медицинский журнал – 2017 -- 13 (3) -- С 732–737.
18. Иванов П.В., Киргизов И.В., Баранов К.Н., Шишкин И.А.. Этапное лечение аноректальных пороков у детей. // Медицинский вестник Северного Кавказа –2010 -- № 3 -- С 88-89
19. Карагяур М.Н. , Макаревич П.И. , Шевченко Е.К., Стамбольский Д.В., Калинина Н.И., Парфёнова Е.В.. Современные подходы к регенерации периферических нервов после травмы: перспективы генной и клеточной терапии // Гены & клетки –2017 --Том XII, № 1 -- С 6-14
20. Карпов О.Э., Максименков А.В., Степанюк И.В., Левчук А.Л., Назаров В.А., Стойко Ю.М. Лапароскопические и роботические технологии в лечении больных раком прямой кишки. // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова -- 2016, -- т. 11, № 2 - - С 49-53
21. Корсаков И.Н., Зорин В.Л., Еремин И.И., Зорина А.И. , Котенко К.В., Пулин А.А.. Клеточные технологии для восстановления мышечной ткани. Часть II: скелетные и гладкие мышцы. // Гены & клетки –2014 -- Том IX, № 3 -- С 168-172
22. Куликов Е.П., Каминский Ю.Д., Клевцова С.В.. Хирургическая коррекция функциональных нарушений при выполнении

- сфинктеросохранных операций по поводу рака прямой кишки (обзор литературы)// Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. –2017 -- Т. 25, №4 -- С 642-654
23. Масгутов Р.Ф. , Масгутова Г.А., Рогожин А.А., Журавлева М.Н., Закирова Е.Ю. Стимуляция регенерации седалищного нерва крысы с использованием тубуляции в сочетании с аллотрансплантацией мезенхимальных стромальных клеток из жировой ткани.// Гены & клетки –2015 -- Том X, № 3 -- С 78-82
24. Масгутов Р.Ф., Ризванов А.А., Богов А.А. (мл), Галлямов А.Р., Киясов А.П., Богов А.А. Восстановление дефекта локтевого нерва путем аутоневральной пластики и аутоотрансплантации клеток стромальной и васкулярной фракции жировой ткани.// Гены & клетки –2014 -- Том IX, № 3 -- С 307-311
25. Масгутов Р.Ф., Ризванов А.А., Богов А.А. (мл), Галлямов А.Р., Киясов А.П., Богов А.А.. Современные тенденции лечения повреждений периферических нервов.// Практическая медицина. – сентябрь 2013 -- 1-2 (69), том 2 -- С 99-103
26. Масгутов Р.Ф., Ризванов А.А., Богов А.А. (мл), Галлямов А.Р., Киясов А.П., Богов А.А.. Стимуляция посттравматической регенерации седалищного нерва крысы при ксенотрансплантации мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани// Гены & клетки – 20015 -- Том X, № 1 -- С 98-102
27. Машков А.Е., Куликов А.В., Шумский В.И. Опыт лечения анальной недостаточности с применением костномозговой трансплантации в эксперименте и клинике.//Альманах клинической медицины –2011 -- № 25 -- С 13-16

- 28.Медведников А.А., Шелехов А.В., Пленкин С.М., Захаров А.Г., Попова Н.В., Рева А.А. Сравнительный анализ результатов хирургического лечения рака средне- и нижеампулярного отделов прямой кишки.// Сибирский медицинский журнал (Иркутск) – 2014 --№ 7 -- С 53-54
- 29.Мирошникова П.К., Люндуп А.В., Бацаленко Н.П., Крашенинников М.Е., Занг Ю., Фельдман Н.Б., Береговых В.В. Перспективные нервные кондуиты для стимуляции регенерации поврежденных периферических нервов.// Вестник Российской академии медицинских наук — 2018. — Т.73. — №6. — С. 388–400.
- 30.Морозов Д.А., Окулов Е.А., Пименова Е.С. Российский консенсус по хирургическому лечению детей с аноректальными пороками. Первые шаги. //Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии –2013 -- т3, №4 -- С 8-13
- 31.Муравьев А.В., Ефимов А.В., Линченко В.И., Владимирова О.В., Муравьев К.А., Жерносенко А.О. Посттравматическая недостаточность анального сфинктера. Выбор метода хирургического лечения.// Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова –2017 -- т. 12, № 4, часть 2 -- С 65-66
- 32.Нечай И. А..Состояние запирающей функции прямой кишки после некоторых видов сфинктеросохраняющих операций по поводу ректального рака. // Вестник Санкт-Петербургского университета –2010 -- Сер. 11 Вып. 1 -- С 130-138.
- 33.Нурбеков А. А.. Классификация посттравматической анальной инконтиненции. //Медицина и экология – 2009 – 1 -- С 75-77
- 34.Половинкин В. В., Порханов В. А., Завражнов А. А., Волков А. В., Халафян А. А. Факторы риска развития несостоятельности колоректального анастомоза после операций по поводу рака прямой кишки.// Кубанский научный медицинский вестник –2013 -- № 7 (142) --

С 106-112

35. Пшениснов К. Курс пластической хирургии: Руководство для врачей в 2 т // Ярославль, Рыбинск: Рыбинский дом печати. – 2010 -- С 15-25
36. Ривкин В.Л., д.м.н., профессор, Чепуре Е.. Ранения мирного времени и инородные тела прямой кишки. Состояние проблемы. \Проктология.— 2014 --3–4 -- С 55–56.
37. Сидорович Р., Смянович А. Применение сочетаний методов оперативных вмешательств на структурах плечевого сплетения при его обширном повреждении // Вестник Витебского государственного медицинского университета. -- 2011. -- Т. 10, № 3 -- С 5-8.
38. Сидорович Р., Смянович А. Хирургическое лечение хронического болевого синдрома при последствиях травматического повреждения плечевого сплетения // Вестник Витебского государственного медицинского университета. -- 2005. -- Т. 4, № 1 -- С 13-15.
39. Сотников О.С., Фрумкина Л.Е., Майоров В.Н., Парамонова Н.М., Лактионова А.А., Боголепов Н.Н. Реабилитация межнейронной синцитиальной связи в нервной системе.// Тихоокеанский медицинский журнал – 2012 -- № 2 -- С 75-83
40. Ханнанова И. Г., Масгутов Р. Ф., Галлямов А. Р., Ризванов А. А., Богов А. А. Восстановление функции двуглавой мышцы плеча методом невротизации в сочетании с аутотрансплантацией клеток стромальной васкулярной фракции жировой ткани // Практическая медицина. – 2015 - - № 4-1 (89) -- С 13-21

41. Ханнанова И. Г., Масгутов Р. Ф., Галлямов А. Р., Ризванов А. А., Богов А. А. Восстановление функции двуглавой мышцы плеча методом невротизации в сочетании с аутотрансплантацией клеток стромальной васкулярной фракции жировой ткани. // Практическая медицина –июнь 2015 -- 4 (89) / том 1 -- С 197-199
42. Ходжамурадов Г., Артыков К. Выбор способа реконструкции при посттравматических дефектах нервных стволов // Вестник Ивановской медицинской академии. -- 2012. -- Т. 17, № 4 -- С 35-40.
43. Ходжамуродов. Г.М. Операции невротизации при невосстановимых дефектах нервных стволов верхних конечностей. // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова –2012 -- №4 --: С 118-122
44. Bahm J., Schuind F. Peripheral nerve surgery: indications, surgical strategy and results // Basic Principles of Peripheral Nerve Disorders IntechOpen – 2012 --P 12-20.
45. Beugels J., Cornelissen A., Spiegel A., Heuts E., Piatkowski A., van der Hulst R., Tuinder S. Sensory recovery of the breast after innervated and non-innervated autologous breast reconstructions: A systematic review // Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery. -- 2017. -- Т. 70, № 9. -- P. 1229-1241.
46. Bittner E. A., Martyn J. J. Neuromuscular physiology and pharmacology // Pharmacology and Physiology for Anesthesia Elsevier -- 2019. -- P. 412-427.
47. Blondheim N. R., Levy Y. S., Ben-Zur T., Burshtein A., Cherlow T., Kan I., Barzilai R., Bahat-Stromza M., Barhum Y., Bulvik S. Human mesenchymal stem cells express neural genes, suggesting a neural predisposition // Stem cells and development. -- 2006. -- Т. 15, № 2 -- P. 141-164.
48. Flores L. P., Socolovsky M. Phrenic nerve transfer for reconstruction of elbow extension in severe brachial plexus injuries // Journal of reconstructive

- microsurgery. -- 2016. -- T. 32, № 07 – P 546-550.
49. Isaacs J., Feher J., Shall M., Vota S., Fox M. A., Mallu S., Razavi A., Friebe I., Shah S., Spita N. Effects of nandrolone on recovery after neurotization of chronically denervated muscle in a rat model // *Journal of neurosurgery*. -- 2013. -- T. 119, № 4 -- P 914-923.
50. Celine Maricq, Martine Jeunehomme, Dominique Mouraux, Pascal Remy, Eric Brassinne, Jorg Bahm and Frederic Schuind. Objective evaluation of elbow flexion strength and fatigability after nerve transfer in adult traumatic upper brachial plexus injuries. // *Hand Surgery* –2014 -- Vol. 19, No. 3 -- P 335–341
51. Ch. Kermer, W. Millesi, T. Paternostro, M. Nuhr. Muscle-nerve-muscle neurotization of the orbicularis oris muscle. // *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery* – 2001 – 29 -- P 302-306
52. Christopher J. Dy, MD, MSPH, Alison Kitay, MD, Rohit Garg, MBBS, Lana Kang, MD, Joseph H. Feinberg, MD, Scott W. Wolfe, MD. Neurotization to Innervate the Deltoid and Biceps: 3 Cases. // *Journal Hand Surgery* -- February 2013 -- Vol 38A -- P 237-240
53. Claudia Romana , Emmanuel Gibon, Raphaël Vialle. Total ipsilateral C7 root neurotization to the upper trunk for isolated C5-C6 avulsion in obstetrical brachial plexus palsy: a preliminary technical report. // *Childs Nerv Syst* –2014 - - P 1-5
54. Dy C. J., Kitay A., Garg R., Kang L., Feinberg J. H., Wolfe S. W. Neurotization to innervate the deltoid and biceps: 3 cases // *The Journal of hand surgery*. -- 2013. -- T. 38, № 2. – P: 237-240.
55. Edward A, Bittner J.A. Jeevendra Martyn. *Neuromuscular Physiology and Pharmacology* –2015 -- P 412-427
56. Fan J.-j., Mu T.-w., Qin J.-j., Bi L., Pei G.-x. Different effects of implanting sensory nerve or blood vessel on the vascularization, neurotization, and osteogenesis of tissue-engineered bone in vivo // *BioMed research international*. -- 2014. -- T. 2014 -- P 213-218

57. Forootan S. K., Fatemi M. J., Pooli A. H., Habibi M., Javidan S. Cross-facial nerve graft: a report of chronically paralyzed facial muscle neurotization by a nerve graft // *Aesthetic plastic surgery*. -- 2008. -- T. 32, № 1. -- P. 150-152.
58. Frank W. Pfrieder. Role of cholesterol in synapse formation and function.// Elsevier Science – 2003 -- P 271-280
59. Fujioka H., Dairyo Y., Yasunaga K.-i., Emoto K. Neural functions of matrix metalloproteinases: plasticity, neurogenesis, and disease // *Biochemistry research international*. -- 2012. -- T. 2012: P 281-295.
60. Gao K.-m., Hu J.-j., Lao J., Zhao X. Evaluation of nerve transfer options for treating total brachial plexus avulsion injury: A retrospective study of 73 participants // *Neural regeneration research*. -- 2018. -- T. 13, № 3. -- P. 470.
61. Geuna S., Papalia I., Tos P. End-to-side (terminolateral) nerve regeneration: a challenge for neuroscientists coming from an intriguing nerve repair concept // *Brain research reviews*. -- 2006. -- T. 52, № 2. -- P. 381-388.
62. Goubier J. N., Teboul F., Yeo S. Transfer of two motor branches of the anterior obturator nerve to the motor portion of the femoral nerve: an anatomical feasibility study // *Microsurgery*. -- 2012. -- T. 32, № 6. -- P. 463-465.
63. Guo-Bao Wang, MM, Ai-Ping Yu, MB. Contralateral C7 to C7 nerve root transfer in reconstruction for treatment of total brachial plexus palsy: anatomical basis and preliminary clinical results.// *J Neurosurg Spine* 2— August 20018 -- 3 -- P 9-1
64. Hiromi Fujioka, Yusuke Dairyo, Kei-ichiro Yasunaga, and Kazuo Emoto. Neural Functions of Matrix Metalloproteinases: Plasticity, Neurogenesis, and Disease.// Hindawi Publishing Corporation *Biochemistry Research International* Volume – 2012 -- P 1-9
65. Horta R., Valença-Filipe R., Monteiro D., Silva Á., Amarante J. Full face allotransplantation procurement with en block facial nerve dissection as a way to increase neurotization possibilities for targeted reinnervation // *Microsurgery*. -- 2014. -- T. 34, № 6. -- P. 498-499.

66. Hua X.-Y., Zuo C.-T., Xu W.-D., Liu H.-Q., Zheng M.-X., Xu J.-G., Gu Y.-D. Reversion of transcallosal interhemispheric neuronal inhibition on motor cortex after contralateral C7 neurotization // *Clinical neurology and neurosurgery*. -- 2012. -- T. 114, № 7 -- P 1035-1038.
67. Huseyin Karagoz, MD, PhD, Sinan Ozturk, MD, Ismail Malkoc, MD, Samih Diyarbakir, MD, and Ferit Demirkan, MD. Anatomy of the Anterior Deep Temporal Nerve Implications for Neurotization in Blinking Restoration in Facial Paralysis// *Annals of Plastic Surgery* –September 2015 -- Volume 75, Number 3 -- P 316-318
68. J. Beugels, A.J.M. Cornelissen, A.J. Spiegel, E.M. Heuts , A. Piatkowski , R.R.W.J. van der Hulst, S.M.H. Tuinder. Sensory recovery of the breast after innervated and non-innervated autologous breast reconstructions: A systematic review.//*Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery* –2017 – 70 --P 1229-1241
69. Jerome J. T. J., Rajmohan B. Axillary nerve neurotization with the anterior deltopectoral approach in brachial plexus injuries // *Microsurgery*. -- 2012. -- T. 32, № 6: -- P. 445-451.
70. Jonathan Isaacs, M.D., Joseph Feher, Ph.D., Mary Shall, Ph.D., Scott Vota, D.O., Michael A. Fox, Ph.D., Satya Mallu, M.D., Ashkon Razavi , M.D., Ilvy Friebe, M.D., Sagar Shah, B.S., and Nathalie Spita. Effects of nandrolone on recovery after neurotization of chronically denervated muscle in a rat model.// *J Neurosurg* –2013 –119 -- P 914–923
71. Jorg Bahm, Frederic Schuind *Peripheral Nerve Surgery: Indications, Surgical Strategy and Results.*// *Periferal nerve disorders*. –2012 -- P 133-146
72. Joseph H. Miller, Sarah T. Garber, Don E. McCormick, Ramin Eskandari, Marion L. Walker, Elias Rizk, R. Shane Tubbs, John C. Wellons. Oberlin transfer and partial radial to axillary nerve neurotization to repair an explosive traumatic injury to the Brachial Plexus in a child: Case report.// *Childs Nerv*

Syst – 2013 -- P 1-5

73. Joseph O Nnodim. Testosterone Mediates Satellite Cell Activation in Denervated Rat Levator Ani Muscle.// *The anatomical record* –2001 –263 -- P 19–24
74. Jung-Su Woo Chuog Shin Mi-Sun Hur. Spinal origins of the nerve branches innervating the coracobrachialis muscle: clinical implications.// *Surg Radiol Anat* – 2010 – 32 -- P 659–662
75. Jun-jun Fan, Tian-wang Mu, Jun-jun Qin, Long Bi, and Guo-xian Pei. Different Effects of Implanting Sensory Nerve or Blood Vessel on the Vascularization, Neurotization, and Osteogenesis of Tissue-Engineered Bone In Vivo.// *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International Volume* –2014 -- P 1-10
76. Karagoz H., Ozturk S., Malkoc I., Diyarbakir S., Demirkan F. Anatomy of the anterior deep temporal nerve: Implications for neurotization in blinking restoration in facial paralysis // *Annals of plastic surgery.* -- 2015. -- T. 75, № 3 -- P 316-318.
77. Kentaro Oki, Timothy D. Law, Anne B. Loucks, Brian C. Clark. The effects of testosterone and insulin-like growth factor 1 on motor system form and function.// *Experimental Gerontology* – 2015 -- P 1-6
78. Kermer C., Millesi W., Paternostro T., Nuhr M. Muscle-nerve-muscle neurotization of the orbicularis oris muscle // *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery.* -- 2001. -- T. 29, № 5 -- P 302-306.
79. Konofaos P., Wallace R. D. Basic science of muscle neurotization: a review // *Journal of reconstructive microsurgery.* -- 2015. -- T. 31, № 07 -- P 481-486.
80. Leandro P. Flores, MD, PhD. Mariano Socolovsky, MD, PhD. Phrenic Nerve Transfer for Reconstruction of Elbow Extension in Severe Brachial Plexus Injuries.// *Journal of Reconstructive Microsurgery* – 2013 -- P 1-5
81. Magarakis M., Venkat R., Dellon A. L., Shridharani S. M., Bellamy J., Vaca E. E., Jeter S. C., Zoras O., Manahan M. A., Rosson G. D. Pilot study of breast

- sensation after breast reconstruction: evaluating the effects of radiation therapy and perforator flap neurotization on sensory recovery // *Microsurgery*. -- 2013. - - T. 33, № 6 -- P 421-431.
82. Maricq C., Jeunehomme M., Mouraux D., Rémy P., Brassinne E., Bahm J., Schuind F. Objective evaluation of elbow flexion strength and fatigability after nerve transfer in adult traumatic upper brachial plexus injuries // *Hand Surgery*. -- 2014. -- T. 19, № 03 -- P 335-341.
83. Miller J. H., Garber S. T., McCormick D. E., Eskandari R., Walker M. L., Rizk E., Tubbs R. S., Wellons J. C. Oberlin transfer and partial radial to axillary nerve neurotization to repair an explosive traumatic injury to the brachial plexus in a child: case report // *Child's Nervous System*. -- 2013. -- T. 29, № 11 -- P 2105-2109.
84. Netta R. Blondheim, Yossef S. Levy, Tali Ben-Zur. Human Mesenchymal Stem Cells Express Neural Genes, Suggesting a Neural Predisposition.// *Stem cells and development* –2006 –15 -- P 141–164
85. Nnodim J. O. Testosterone mediates satellite cell activation in denervated rat levator ani muscle // *The Anatomical Record: An Official Publication of the American Association of Anatomists*. -- 2001. -- T. 263, № 1 -- P 19-24.
86. Noordin S., Ahmed M., Rehman R., Ahmad T., Hashmi P. Neuronal regeneration in denervated muscle following sensory and muscular neurotization // *Acta orthopaedica*. -- 2008. -- T. 79, № 1 -- P. 126-133.
87. Oki K., Law T. D., Loucks A. B., Clark B. C. The effects of testosterone and insulin-like growth factor 1 on motor system form and function // *Experimental gerontology*. -- 2015. -- T. 64 -- P. 81-86.
88. Papalia I., Ronchi G., Muratori L., Mazzucco A., Magaudda L., Geuna S. Direct muscle neurotization after end-to end and end-to-side neurorrhaphy: An experimental study in the rat forelimb model // *Neural regeneration research*. -- 2012. -- T. 7, № 29 -- P 2273.
89. Payne Jr S. H., Brushart T. M. Neurotization of the rat soleus muscle: a

- quantitative analysis of reinnervation // *The Journal of hand surgery*. -- 1997. -- T. 22, № 4 -- P 640-643.
90. Petros Konofaos, MD, PhD Robert D. Wallace, MD. Basic Science of Muscle Neurotization: A Review.// *Journal of Reconstructive Microsurgery* --2015 -- Vol. 31 No. 7 -- P 481-487
91. Pfrieder F. W. Role of cholesterol in synapse formation and function // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. -- 2003. -- T. 1610, № 2 -- P 271-280.
92. R. Shane Tubbs, Blake Pearson, Marios Loukas, Ghaffar Shokouhi, Mohammadali M. Shoja, W. Jerry Oakes Phrenic nerve neurotization utilizing the spinal accessory nerve: technical note with potential application in patients with high cervical quadriplegia.// *Childs Nerv Syst* – 2008 – 24 -- P 1341–1344
93. Ricardo Horta Rita Valenc, Alvaro Silva. Full face allotransplantation procurement with en block facial nerve dissection as a way to increase neurotization possibilities for targeted reinnervation.// *Microsurgery* –2014 --34 -- P 498–499
94. Robert Sullivan, Travis Dailey, Kelsey Duncan, Naomi Abel and Cesario V. Borlongan . Peripheral Nerve Injury: Stem Cell Therapy and Peripheral Nerve Transfer.// *International Journal of Molecular Sciences* – 2016 -- P 1-12
95. Romana C., Gibon E., Vialle R. Total ipsilateral C7 root neurotization to the upper trunk for isolated C5-C6 avulsion in obstetrical brachial plexus palsy: a preliminary technical report // *Child's Nervous System*. -- 2014. -- T. 30, № 5 -- P 931-935.
96. S. Houston Payne, Thomas M. Brushart. Neurotization of the Rat Soleus Muscle: A Quantitative Analysis of Reinnervation.// *The Journal of Hand Surgery* – 1997 -- 22A -- P 640-643.
97. Seyed Kamal Forootan Mohammad Javad Fatemi Aydin H. Pooli Mohammadali Habibi Siavash Javidan. Cross-Facial Nerve Graft: A Report of Chronically Paralyzed Facial Muscle Neurotization by a Nerve Graft.// *Aesth*

Plast Surg – 2008 – 32 -- P 150–152

98. Shahryar Noordin, Mahmood Ahmed, Rasham Rehman, Tashfeen Ahmad, Pervaiz Hashmi. Neuronal regeneration in denervated muscle following sensory and muscular neurotization. // *Acta Orthopaedica* – 2008 -- 79 (1) -- P 126–133
99. Sinis N., Boettcher M., Werdin F., Kraus A., Schaller H. E. Restoration of shoulder abduction function by direct muscular neurotization with the phrenic nerve fascicles and nerve grafts: a case report // *Microsurgery: Official Journal of the International Microsurgical Society and the European Federation of Societies for Microsurgery*. -- 2009. -- T. 29, № 7 -- P 552-555.
100. Stefano Geuna,, Igor Papalia, Pierluigi Tos. End-to-side (terminolateral) nerve regeneration: A challenge for neuroscientists coming from an intriguing nerve repair concept. // *Brain research reviews* – 2006 - 52 –P. 381 – 388
101. Sullivan R., Dailey T., Duncan K., Abel N., Borlongan C. V. Peripheral Nerve Injury: Stem Cell Therapy and Peripheral Nerve Transfer // *Int J Mol Sci*. -- 2016. - Dec 14. - T. 17, № 12.
102. Terzis J. K., Karypidis D. Outcomes of direct muscle neurotisation in adult facial paralysis // *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. - - 2011. -- T. 64, № 2. –P. 174-184.
103. Terzis J. K., Karypidis D. Outcomes of direct muscle neurotization in pediatric patients with facial paralysis // *Plastic and reconstructive surgery*. -- 2009. -- T. 124, № 5. – P. 1486-1498.
104. Terzis J. K., Tzafetta K. Outcomes of mini-hypoglossal nerve transfer and direct muscle neurotization for restoration of lower lip function in facial palsy // *Plastic and reconstructive surgery*. -- 2009. -- T. 124, № 6. – P. 1891-1904.
105. Tu Y. K., Tsai Y. J., Chang C. H., Su F. C., Hsiao C. K., Tan J. S. W. Surgical treatment for total root avulsion type brachial plexus injuries by neurotization: a prospective comparison study between total and hemicentralateral C7 nerve root transfer // *Microsurgery*. -- 2014. -- T. 34, № 2.

– P. 91-101.

106. Tubbs R. S., Pearson B., Loukas M., Shokouhi G., Shoja M. M., Oakes W. J. Phrenic nerve neurotization utilizing the spinal accessory nerve: technical note with potential application in patients with high cervical quadriplegia // *Child's Nervous System*. -- 2008. -- T. 24, № 11. – P. 1341.
107. Wang G.-B., Yu A.-P., Ng C. Y., Lei G.-W., Wang X.-M., Qiu Y.-Q., Feng J.-T., Li T., Chen Q.-Z., He Q.-R. Contralateral C7 to C7 nerve root transfer in reconstruction for treatment of total brachial plexus palsy: anatomical basis and preliminary clinical results // *Journal of Neurosurgery: Spine*. -- 2018. -- T. 29, № 5. – P. 491-499.
108. Woo J.-S., Shin C., Hur M.-S., Kang B.-S., Park S.-Y., Lee K.-S. Spinal origins of the nerve branches innervating the coracobrachialis muscle: clinical implications // *Surgical and radiologic anatomy*. -- 2010. -- T. 32, № 7. -- P. 659-662.
109. Xu-Yun Hua , Chuan-Tao Zuo , Wen-Dong Xu , Han-Qiu Liu, Mou-Xiong Zheng , Jian-Guang Xu, Yu-Dong Gu. Reversion of transcallosal interhemispheric neuronal inhibition on motor cortex after contralateral C7 neurotization.// *Clinical Neurology and Neurosurgery* --2012 –114 –P. 1035–1038
110. Yang W., Yang J., Yu C., Gu Y. End-to-side neurotization with different donor nerves for treating brachial plexus injury: An experimental study in a rat model // *Muscle & nerve*. -- 2014. -- T. 50, № 1. – P. 67-72.
111. Yu D.-W., Kim M.-S., Jung Y.-J., Kim S.-H. Neurotization from two medial pectoral nerves to musculocutaneous nerve in a pediatric brachial plexus injury // *Journal of Korean Neurosurgical Society*. -- 2012. -- T. 52, № 3. -- P. 267.
112. Yuan-Kun Tu, Yi-Jung Tsai. Surgical treatment for total root avulsion type brachial plexus injuries by neurotization a prospective comparison study between total and hemicentral C7 nerve root transfer.// *Microsurgery* – 2010 –P. 91-101