

ВОССТАНОВЛЕНИЕ ДЕФЕКТА ЛОКТЕВОГО НЕРВА ПУТЕМ АУТОНЕРВНОЙ ПЛАСТИКИ И АУТОТРАНСПЛАНТАЦИИ КЛЕТОК СТРОМАЛЬНОЙ ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ ЖИРОВОЙ ТКАНИ

Р.Ф. Масгутов^{1,2}, А.Р. Галлямов^{1,2}, А.А. Шульман¹, А.А. Богов (млад.)^{1,2}, И.Г. Ханнанова¹, Р.И. Муллин¹, И.И. Салафутдинов^{1,2}, В.Г. Топыркин¹, А.А. Ризванов^{1,2}, А.А. Богов¹

¹ Республиканская клиническая больница, Казань, Россия

² Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

Recovery of ulnar nerve defect by autoneurve grafting and autotransplantation of stromal vascular fraction of adipose tissue

R.F. Masgutov^{1,2}, A.R. Gallyamov^{1,2}, A.A. Shulman¹, A.A. Bogov (jr)^{1,2}, I.G. Khannanova¹, R.I. Mullin¹, I.I. Salafutdinov², V.G. Topyrkin¹, A.A. Rizvanov^{1,2}, A.A. Bogov¹

¹ Republican Clinical Hospital, Kazan, Russia

² Kazan (Volga region) Federal University, Kazan, Russia

В статье описан клинический случай лечения пациента с повреждением локтевого нерва с применением «золотого стандарта» микрохирургии — аутонервной пластики, — дополненной трансплантацией аутогенных клеток стромальной васкулярной фракции жировой ткани (СВФ-ЖТ). Дефект нерва длиной 5 см был замещен тремя аутонервными вставками из икроножного нерва, затем была произведена трансплантация клеток СВФ-ЖТ в составе фибринового клея.

Через 1 год после операции у пациента отмечались восстановление функции приведения пальцев, отсутствие нейрогенной деформации кисти, атрофии мышц кисти, а также восстановление чувствительности в автономной зоне иннервации локтевого нерва.

Ключевые слова: дефект нерва, аутонервная пластика, аутоотрансплантация, клетки стромальной васкулярной фракции жировой ткани, фибриновый клей.

Посттравматическое восстановление периферических нервов по сей день является актуальной проблемой. Несмотря на широкое применение различных подходов и методов лечения, связанных с использованием микрохирургической техники, накопленный опыт лечения данной категории пациентов, остается достаточно высокой степенью инвалидизации больных [1].

Как показывает практика при невозможности шва нерва конец в конец, показана аутонервная пластика — «золотой стандарт» микрохирургии. Все клинические и экспериментальные исследования новых подходов в данной тематике сравниваются именно с аутонервной пластикой. Аутонервная пластика дает удовлетворительные результаты по сравнению с другими методами устранения дефекта нервного ствола [2, 3]. В качестве донорских нервов чаще всего используется икроножный нерв, а также медиальные и латеральные кожные нервы плеча и предплечья, межреберные нервы. При этом, в зависимости от толщины поврежденного нерва и количества фасцикул, подбирается количество донорских нервов.

Однако недостатком данного способа является то, что при наличии дефекта нерва размером 5 см и более возможен некроз и гибель трансплантата вследствие его недостаточной васкуляризации, что приводит к неудовлетворительному результату восстановления двигательной и (или) чувствительной функции конечности. Перспективным представляется использование клеточных технологий для стимуляции ревазуляризации и, как следствие, регенерации периферических нервов [4].

e-mail: masgut@gmail.com

This article describes a clinical case of treating the patient with injury of ulnar nerve using a “gold standard” of microsurgery, the autoneurve grafting, and transplantation of autologous cells of stromal vascular fraction (SVF) of adipose tissue. Nerve defect in 5 cm was replaced by three autoneurve grafts of the sural nerve, and then autologous cells of SVF in the fibrin glue were transplanted.

1 year after operation, the patient has resumed the function of bringing the fingers, there have not been any neurogenic strain, muscle atrophy of the hand, as well as restoration of sensitivity in the autonomous zone of innervation of the ulnar nerve has been observed.

Key words: nerve defect, autoneurve graft, autotransplantation, cells of the stromal vascular fraction of adipose tissue, fibrin glue.

Наиболее безопасным способом стимуляции является использование аутогенного клеточного материала без его предварительного культивирования. В частности, это могут быть клетки красного костного мозга, разные типы стволовых и прогениторных клеток из периферической крови, а также клетки стромальной васкулярной фракции жировой ткани (СВФ-ЖТ) [5].

Проведенные исследования свидетельствуют об эффективности аутоотрансплантации мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) жировой ткани при восстановлении периферических нервов в экспериментальных исследованиях [6, 7]. В качестве биodeградирующего носителя для клеток перспективным представляется фибриновый клей «Tissucol® Kit» (Baxter AG, Австрия), который в настоящее время с успехом применяется в клинической практике при операциях на паренхиме почек, печени, селезенки, поджелудочной железы; костях скелета и периферических нервах [8].

В данной статье мы рассматриваем клинический случай комбинированного применения клеток СВФ-ЖТ и аутонервной пластики локтевого нерва.

Материал и методы

Пациент П., 26 лет, 19.08.2011 г. поступил в клинику с диагнозом: последствия повреждения локтевого нерва в верхней трети левого предплечья. 29.07.2011 г. пациент получил бытовую травму (порезался оконным стеклом). В центральной районной больницу по месту жительства в тот же день была

произведена первичная хирургическая обработка раны. Рана зажила первичным натяжением, швы были удалены через 14 сут. после операции, после чего пациент был направлен в специализированное отделение.

По данным клинического обследования: кожный покров левой верхней конечности – физиологической окраски, по передней поверхности верхней 1/3 предплечья определялся посттравматический втянутый неправильной формы рубец длиной 12 см. При пальпации в зоне рубца наблюдались характерные «стреляющие» боли с иррадиацией в 4 и 5 пальцы левой кисти.

Оценка трофических нарушений

А. Состояние кожных покровов: окраска обычная, температура пальцев незначительно снижена. Кожный рисунок на подушечках дистальных фаланг 4, 5 пальцев сглажен.

Б. Атрофия мышц кисти и предплечья по сравнению со здоровой рукой: средняя степень – дефицит 1,5–2 см, отсутствовала функция приведения/отведения 5 пальца левой кисти, наблюдалась нейрогенная сгибательная контрактура 4 и 5 пальцев левой кисти.

В. Изменения ногтей: нет

Г. Секреторная функция (потоотделение): понижено.

Исследование чувствительности у пациента в автономной зоне иннервации (5 палец)

Для оценки чувствительности в зоне иннервации локтевого нерва использовали стандартные методы клинического неврологического обследования. Было выявлено отсутствие болевой, температурной, тактильной, дискриминационной чувствительности, отсутствие стереогноза, чувств давления и массы.

Исследование двигательной функции

Было выявлено отсутствует приведение/отведение 5 пальца, невозможность полного разгибания 4 и 5 пальцев левой кисти.

Дополнительные методы исследования

По данным УЗИ, в верхней трети левого предплечья в проекции рубца имелся полный перерыв локтевой артерии и локтевого нерва с наличием невromы на центральном отрезке размером 1×1,5 см. Дефект нерва предположительно без учета невromы составлял 4–4,5 см.

По данным электронейромиографии (ЭНМГ) было выявлено: 1) наличие блока проведения по локтевому нерву (не удалось зарегистрировать моторный ответ с мышц группы гипотенар в ответ на стимуляцию

локтевого нерва при точке стимуляции выше и ниже места повреждения, скорость распространения возбуждения (СРВ) по двигательным волокнам также не удалось зарегистрировать); 2) локальное поражение локтевого нерва, исключили поражение срединного и лучевого нервов. В ходе исследования оценивали мышцы на стороне повреждения, а также симметричные мышцы на неповрежденной конечности.

Для определения степени денервационно-реиннервационного процесса в мышцах исследовали амплитудно-временные параметры М-ответов мышц кисти, а также СРВ по двигательным волокнам локтевого нерва.

На основании анамнеза, клинических данных, а также результатов УЗИ и ЭНМГ было принято решение произвести операцию: аутонервную пластику локтевого нерва икроножным нервом с аутотрансплантацией клеток СВФ-ЖТ.

Пациент подписал добровольное информированное согласие на проведение операции и участие в исследовании, одобренном Этическим комитетом в рамках темы Государственного автономного учреждения здравоохранения «Республиканская клиническая больница Министерства здравоохранения Республики Татарстан» «Усовершенствование и разработка новых методов лечения у больных с повреждением плечевого сплетения и периферических нервов».

Протокол операции

Под местным обезболиванием липотомом произведен забор жировой ткани из передней области живота объемом 100 мл. Далее в лабораторных условиях произведено выделение клеток СВФ-ЖТ по ранее описанной методике [9, 10]. Получено 5 млн клеток.

Одновременно с выделением фракции, под проводниковой анестезией иссечен рубец в верхней трети левого предплечья, произведен дополнительный S-образный разрез. Визуализирован локтевой нерв, выявлено его полное повреждение, уплотнение проксимального и дистального концов. Проксимальный конец имел выраженную невromу, размером 1×1,5 см. После иссечения патологически измененных концов поврежденного нерва диастаз составил 5 см.

Под местной анестезией был произведен забор трансплантата икроножного нерва с правой голени длиной 18 см. Произвели аутонервную пластику локтевого нерва тремя вставками икроножного нерва с использованием хирургической нити Prolen 9/0. Затем выполнили трансплантацию клеток СВФ-ЖТ в составе фибринового клея «Tissucol® Kit» (Baxter AG, Австрия), нанеся материал на концы периферического и центрального отрезков нерва и на каждую вставку (рис. 1).

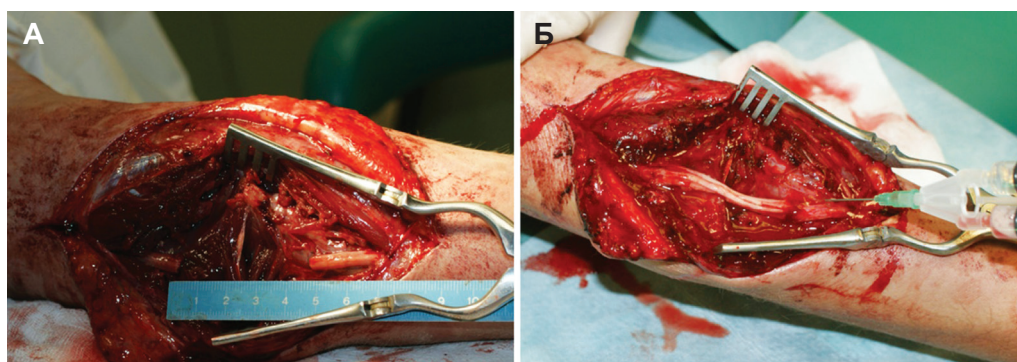


Рис. 1.
Ход операции:
А – подготовка к аутонервной пластике, дефект локтевого нерва длиной 5 см;
Б – нанесение клеток СВФ-ЖТ в фибриновом геле на концы нерва и аутонервные вставки

В послеоперационном периоде была назначена следующая консервативная терапия: витамины В₁, В₆ – 1,0 в/м, 1 р/д, в течение 14 сут.; Прозерин 1,0 в/м, 1 р/д в течение 14 сут., Трентал 10,0 + 200 мл 0,9% раствора NaCl в/в капельно 1 р/д в течение 7 сут.; Цефтриаксон 1,0 1р/д в/м в течение 7 сут.

В послеоперационном периоде пациент наблюдался на сроках 6 нед., 3 мес., 6 мес., 9 мес., 1 год, 2 года, 3 года.

Результаты и обсуждение

Послеоперационный период протекал без особенностей, рана зажила первичным натяжением, на седьмые сутки после операции пациент выписан из стационара.

На сроке 6 нед. отмечалось появление болевой чувствительности на уровне основной фаланги по ладонной поверхности 5 пальца левой кисти.

При этом, при стандартной аутонервной пластике появление болевой чувствительности отмечается на сроках не менее, чем 8–10 мес. после операции. Двигательная функция осталась без изменений, однако отсутствовало прогрессирование нейрогенной контрактуры 4 и 5 пальцев левой кисти.

При наблюдении пациента в течение 1 года было зарегистрировано динамическое восстановление как чувствительной, так и двигательной функции 4 и 5 пальцев левой кисти.

На сроке 1 год после операции при пальпации в зоне рубца болевых ощущений не отмечалось. Кожные покровы имели нормальную окраску, температура пальцев соответствовала температуре на

здоровой стороне; кожный рисунок на подушечках 4 и 5 пальцев четко контурировался. Отсутствовали атрофия мышц кисти и предплечья по сравнению со здоровой рукой, а также ранее наблюдавшаяся нейрогенная сгибательная контрактура 4 и 5 пальцев левой кисти. Отмечалась нормализация секреторной функции и появление всех видов чувствительности в зоне иннервации локтевого нерва (5 палец) (табл.).

Результаты оценки чувствительности в зоне иннервации локтевого нерва

№	Виды чувствительности	Краткое описание
1	Болевая	Да
2	Температурная	Да
3	Тактильная	Да
4	Дискриминационная	Да (6 мм)
5	Стереогноз	Да
6	Чувство давления	Да
7	Чувство массы	Да

В ходе оценки двигательной функции было выявлено полное разгибание 4 и 5 пальцев левой кисти, приведение/отведение 5 пальца левой кисти с преодолением некоторого сопротивления; наблюдалось приведение 5 пальца к ладони с напряжением мышц гипотенара (рис. 2).

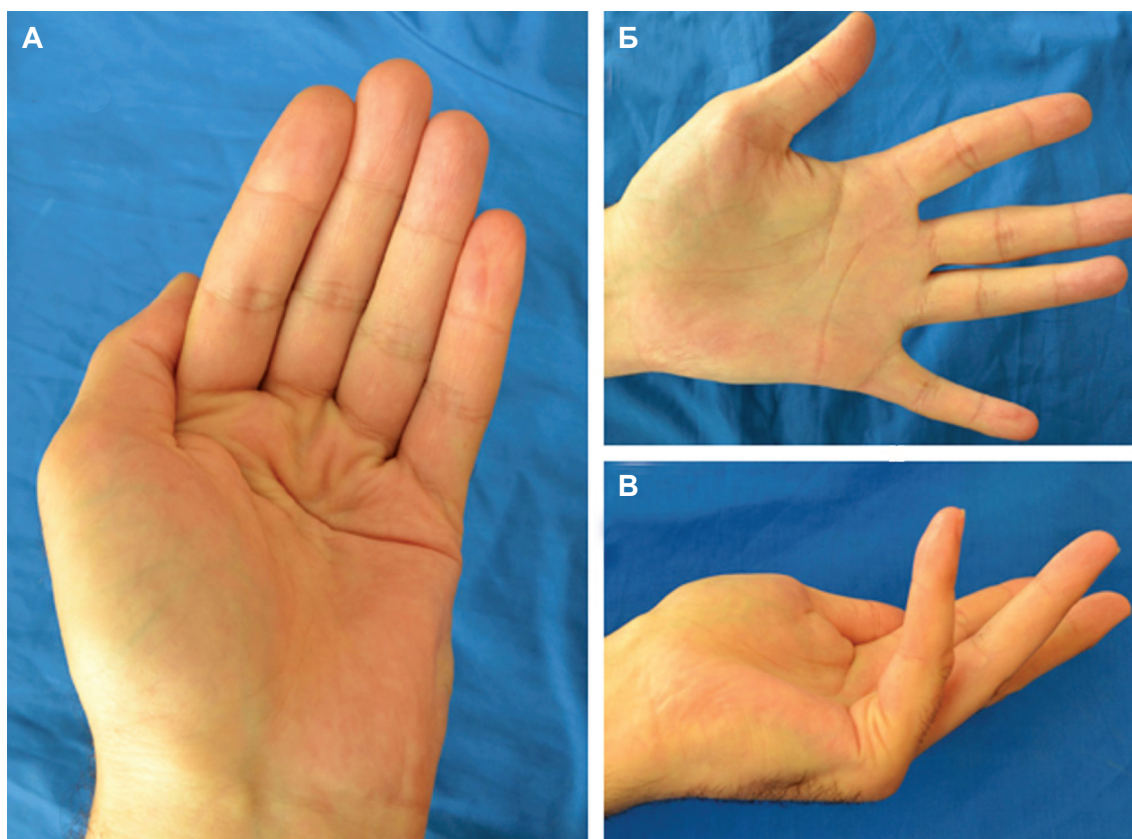


Рис. 2. Кисть пациента через 1 год после операции, оценка двигательной функции: А – приведение пальцев; Б – отведение 5 пальца; В – напряжение мышц гипотенара путем приведения 5 пальца к ладони

По данным ЭНМГ обследования до операции не удалось зарегистрировать моторный ответ мышц группы гипотенара в ответ на стимуляцию локтевого нерва на стороне повреждения. Через год после операции амплитуда моторного ответа почти полностью восстановилась и составила 81% относительно контрлатеральной конечности. СРВ по двигательным волокнам приблизилась к норме (рис. 3). Исходя из полученных ЭНМГ результатов, можно сделать вывод о реиннервации мышц кисти, об увеличении количества регенерирующих двигательных единиц и о постепенном восстановлении миелинового футляра.

Наблюдение пациента в последующие 2 года не выявило каких-либо изменений в функции 4 и 5 пальцев левой кисти, что говорит о завершении восстановительного процесса в течение 1 года.

Как показывают результаты данного клинического случая, у пациента наблюдалась ускоренная регенерация локтевого нерва. Согласно классическим канонам гистологии и собственным клиническим наблюдениям, подобная травма, как правило, не приводит к столь значительному восстановлению мышц кисти в такие короткие сроки после выполнения оперативного вмешательства. Первые признаки реиннервации мышц кисти и появление чувствительности даже при прямом шве нерва «конец в конец» наблюдается на сроках не менее 8–10 мес. после операции.

Мы предполагаем, что гетерогенная популяция клеток СВФ-ЖТ играет ключевую роль в запуске посттравматической регенерации периферического нерва. Клетки СВФ-ЖТ, подвергнутые ферментной обработке, содержат ММСК, эндотелиальные предшественники, M2-поляризованные макрофаги, Т-лимфоциты и др. [11], применение которых позволяет улучшить ревазуляризацию вставок и, как следствие, обеспечить стимуляцию регенерации периферического нерва [12].

Покрытие концов нерва и аутонервных вставок фибриновым клеем позволяет создать благоприятные условия для выживания и дифференцировки трансплантируемых клеток, а также предотвращает их неконтролируемую миграцию [13].

Известно, что успех восстановления периферического нерва напрямую зависит от формирования так называемых бунгеровских лент для успешного роста аксонов из центрального отрезка в перифери-

ческий. Однако до недавних пор был непонятен механизм их направленного построения. Как известно, в регенерации аксонов задействованы Шванновские клетки, участвующие в процессе миелинизации и не пролиферирующие в инактивированном состоянии. Однако при повреждении нейронов, последние приобретают некоторые свойства малодифференцированных клеток и формируют своего рода «мост» между поврежденными частями нерва [14]. Тем не менее, как показано в исследовании S. Parrinello с соавт. (2010), Шванновских клеток не достаточно для полноценной регенерации нервов. Ключевым механизмом восстановления периферических нервов служит запуск каскада процессов, приводящих к экспрессии различных факторов роста, таких как фактор роста нервов (NGF), сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), основной фактор роста фибробластов (bFGF) и др., экспрессируемых микроокружением и Шванновскими клетками. Фибробласты посылают специализированный сигнал (ephrin-B signal) к Шванновским клеткам, которые, реагируя на него, образуют бунгеровские ленты, служащие основанием для роста аксона в поврежденных участках периферического нерва из центрального конца к периферическому. Без этого сигнала Шванновские клетки не способны к организованной миграции, вследствие чего регенерация аксонов оказывается неполноценной. Ответ на сигнал зависит от активности фактора транскрипции Sox2, который известен своей способностью репрограммировать взрослые клетки обратно в состояние стволовых [14].

Другими словами, привнося в микроокружение поврежденного нерва популяцию клеток, богатую различными клеточными типами, включая ММСК, мы, тем самым, возможно, стимулируем процесс образования бунгеровских лент, по которым происходит рост аксонов.

Интересные результаты продемонстрировали ученые из Китая, которые добились восстановления дефекта лицевого нерва крысы, используя аллотрансплантат артерии и аутогенные СВФ-ЖТ. Результаты экспериментов подтвердили стимулирующее влияние СВФ-ЖТ на регенерацию нерва. Таким образом, трансплантация аутогенных СВФ-ЖТ представляет альтернативный подход для реконструкции дефектов нерва [15].

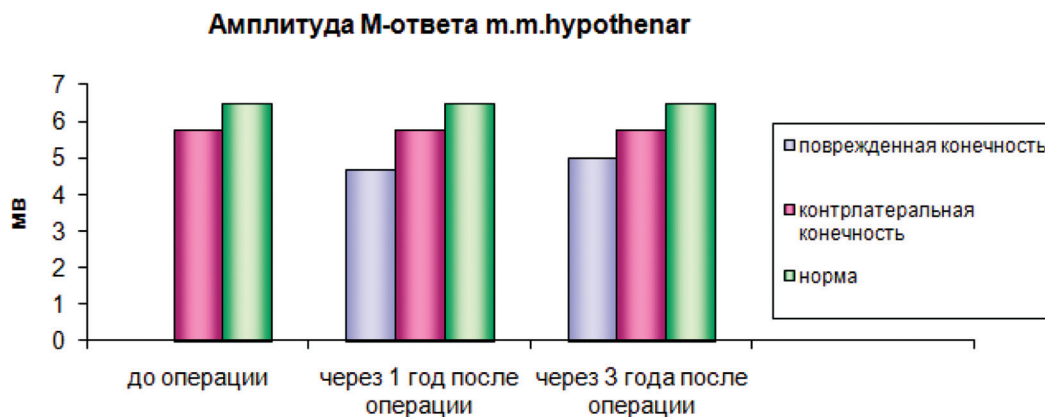


Рис. 3. Максимальная амплитуда моторного ответа мышц группы гипотенар до операции и на различных сроках после операции

Трансплантация клеток для восстановления периферических нервов, зачастую, сочетается с так называемой тубуляцией дефекта нерва. Данный метод предполагает преодоление дефекта между центральным и периферическим отрезками поврежденного нерва путем имплантации биосовместимых трубок органического или неорганического происхождения и заполнения их просвета биодеградирующими растворами/носителями с клетками. Нами же представляется более логичным использовать хорошо зарекомендовавший себя метод — ауто-нервную пластику — в сочетании с ауто-трансплантацией клеток СВФ-ЖТ. Как показывает описанный клинический случай, использование классического хирургического подхода в комбинации с клеточными технологиями позволяет добиться эффективных результатов восстановления утраченной функции конечности. Данный способ восстановления периферического нерва нами запатентован [16].

ЛИТЕРАТУРА:

1. Lee S.K., Wolfe S.W. Peripheral nerve injury and repair. J. Am. Acad. Orthop. Surg. 2000; 8(2): 243-52.
2. Millesi H., Meissl G., Berger A. The interfascicular nerve grafting of the median and ulnar nerves. J. Bone Joint Surg. 1972; 54-a(4): 727-50.
3. Григорович К.А. Хирургия нервов. СПб.: Медицина; 1969.
4. Масгутов Р.Ф., Ризванов А.А., А.А. Богов (мл.) и др. Современные тенденции лечения повреждений периферических нервов. Практическая медицина 2013; 2(1-2): 99-103.
5. Масгутов Р.Ф., Богов А.А. (мл.), Ризванов А.А. и др. Стволовые клетки из жировой ткани — биологические свойства и перспективы клинического применения. Практическая медицина 2011; 7(55): 18-20.
6. Santiago L.Y., Clavijo-Alvarez J., Brayfield C. et al. Delivery of adipose-derived precursor cells for peripheral nerve repair. Cell Transplant. 2009; 18(2): 145-58.
7. di Summa P.G., Kingham P.J., Raffoul W. et al. Adipose-derived stem cells enhance peripheral nerve regeneration. J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg. 2010; 63(9): 1544-52.
8. Whitlock E.L., Kasukurthi R, Yan Y. et al. Fibrin glue mitigates the learning curve of microneurosurgical repair. Microsurgery 2010; 30(3): 218-22.
9. Масгутов Р.Ф., Салихов Р.З., Плаксейчук Ю.А. и др. Применение клеток стромальной васкулярной фракции жировой ткани при ложном суставе бедренной кости: клинический случай. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия 2013; 8(3): 116-8

Благодарности

Работа выполнена в рамках темы Государственного автономного учреждения здравоохранения «Республиканская клиническая больница Министерства здравоохранения Республики Татарстан» «Усовершенствование и разработка новых методов лечения у больных с повреждением плечевого сплетения и периферических нервов» и в рамках государственной программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) федерального университета среди ведущих мировых научно-образовательных центров». Работа финансировалась за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности.

10. Масгутов Р.Ф., Ризванов А.А., Салафутдинов И.И. и др. Коррекция дефекта мягких тканей лица с применением аутогенной жировой ткани, обогащенной клетками стромально-васкулярной фракции. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия 2012; 7(3): 177-79.
11. Yoshimura K., Sato K., Aoi N., Kurita M. et al. Cell-assisted lipotransfer for cosmetic breast augmentation: supportive use of adipose-derived stem/stromal cells. Aesth. Plast. Surg. London: Springer; 2008.
12. Mohammadi R., Azizi S., Delirez N. et al. Transplantation of uncultured omental adipose-derived stromal vascular fraction improves sciatic nerve regeneration and functional recovery through inside-out vein graft in rats. J. Trauma Acute Care Surg. 2012; 72(2): 390-6.
13. Liu G.B., Cheng Y.X., Feng Y.K. et al. Adipose-derived stem cells promote peripheral nerve repair. Arch. Med. Sci. 2011; 7(4): 592-6.
14. Parrinello S., Napoli I., Ribeiro S. et al. EphB signaling directs peripheral nerve regeneration through Sox2-dependent Schwann cell sorting. Cell 2010; 143(1): 145-55.
15. Sun F., Zhou K., Mi W.J. et al. Repair of facial nerve defects with decellularized artery allografts containing autologous adipose-derived stem cells in a rat model. Neurosci. Lett. 2011; 499(2):104-8.
16. Богов А.А., Масгутов Р.Ф., Ризванов А.А. и др. Способ замещения дефекта периферического нерва. РФ патент №2499565. 27 ноября 2013.

Поступила: 01.09.2014