

ПЛАСТИКА СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА АУТОЛОГИЧНОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНЬЮ

DOI: 10.17691/stm2023.15.1.04

УДК 616.833.58–089.844

Поступила 16.10.2022 г.



А.Г. Величанская, к.б.н., доцент кафедры гистологии с цитологией и эмбриологией¹;
М.Л. Бугрова, д.б.н., доцент, зав. кафедрой гистологии с цитологией и эмбриологией¹;
Е.В. Погадаева, старший лаборант кафедры гистологии с цитологией и эмбриологией¹;
Е.А. Ермолина, старший преподаватель кафедры биологии¹;
А.В. Юдинцев, к.ф.-м.н., доцент кафедры биофизики²; научный сотрудник²;
И.Л. Ермолин, д.б.н., профессор кафедры гистологии с цитологией и эмбриологией¹

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, пл. Минина и Пожарского, 10/1, Н. Новгород, 603005;

²Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, пр. Гагарина, 23, Н. Новгород, 603022

Цель исследования — изучить структурные изменения аутологичной жировой ткани сальника в силиконовом кондуите и оценить возможности ее использования для регенерации седалищного нерва при диастазе.

Материалы и методы. В исследовании использовались половозрелые аутбредные крысы-самцы линии Wistar. Животных разделили на 7 экспериментальных групп с полной перерезкой седалищного нерва с правой стороны на уровне средней трети бедра. Концы перерезанного нерва разводили, вставляли в силиконовый конduit и закрепляли за эпиневрй. У животных 1-й группы (контроль) конduit заполняли физраствором; во 2-й группе — аутологичной жировой тканью сальника с физраствором. Для выяснения, принимают ли участие клетки сальника в формировании регенерирующего нерва, впервые применяли прижизненную маркировку жировой ткани сальника липофильным красителем РКН 26 (в 3-й группе). Диастаз в 1–3-й группах составил 5 мм, срок наблюдения — 14 нед. Для выявления динамики изменения жировой ткани в 4–7-й группах ткани сальника помещали в конduit, закрывающий диастаз в 2 мм. Постоперационные сроки наблюдения составили 4, 14, 21 и 42 нед.

Результаты. Во 2-й группе с применением жировой ткани сальника с физраствором клиническое состояние поврежденной конечности через 14 нед можно оценить как удовлетворительное и приближенное к интактным показателям по сравнению с 1-й группой, где конduit заполнялся только физраствором. Сумма крупных и средних нервных волокон во 2-й группе превышает в 2,7 раза аналогичный показатель в 1-й группе. Жировая ткань измельченного сальника внутри кондуита при диастазе нерва изменяется в объеме и структуре и подвергается постоянной утилизации до полного исчезновения в отдаленные сроки. Клетки сальника встраиваются во вновь сформированный нерв в области трансплантата.

Заключение. Жировая ткань аутологичного сальника в качестве трансплантата оказывает стимулирующее влияние на посттравматическую регенерацию седалищного нерва.

Ключевые слова: регенерация седалищного нерва; пластика седалищного нерва; аутологичная жировая ткань.

Как цитировать: Velichanskaya A.G., Bugrova M.L., Pogadaeva E.V., Ermolina E.A., Yudintsev A.V., Ermolin I.L. Sciatic nerve plastic surgery using autologous adipose tissue. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2023; 15(1): 30, <https://doi.org/10.17691/stm2023.15.1.04>

English

Sciatic Nerve Plastic Surgery Using Autologous Adipose Tissue

A.G. Velichanskaya, PhD, Associate Professor, Department of Histology with Cytology and Embryology¹;
M.L. Bugrova, DSc, Associate Professor, Head of the Department of Histology with Cytology and Embryology¹;
E.V. Pogadaeva, Senior Laboratory Assistant, Department of Histology with Cytology and Embryology¹;
E.A. Ermolina, Senior Lecturer, Department of Biology¹;
A.V. Yudintsev, PhD, Associate Professor, Department of Biophysics²; Researcher²;
I.L. Ermolin, DSc, Professor, Department of Histology with Cytology and Embryology¹

¹Privolzhsky Research Medical University, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russia;

²National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, 23 Prospekt Gagarina, Nizhny Novgorod, 603022, Russia

Для контактов: Величанская Анна Генриховна, e-mail: velichanskaya@yandex.ru

The aim of the investigation is to study structural alterations of autologous omental adipose tissue in a silicon conduit and to evaluate its possible use for regeneration of the sciatic nerve in diastasis.

Materials and Methods. Mature outbred male Wistar rats have been used in the study. The animals were divided into 7 experimental groups with complete transection of the sciatic nerve on the right side at the mid-third level of the thigh. The ends of the transected nerve were pulled apart, inserted into a silicon conduit, and secured to the epineurium. The conduit of group 1 (control) was filled with a saline solution; in group 2, it was filled with an autologous omental adipose tissue with saline solution. Intravital labeling of the omental adipose tissue with the lipophilic PKH 26 dye (in group 3) was used for the first time to find out whether the omental cells were involved in formation of the regenerating nerve. Diastasis in groups 1–3 was 5 mm, the postoperative period was 14 weeks. The dynamics of the omental adipose tissue changes in groups 4–7 was assessed by placing the omental tissues into the conduit covering 2 mm of diastasis. The postoperative period was 4, 14, 21, and 42 weeks.

Results. In group 2 (omental adipose tissue + saline), the clinical condition of the damaged limb after 14 weeks may be evaluated as satisfactory and approximating to the intact parameters as compared to group 1 where the conduit was filled with a saline solution only. The sum of large and medium-sized nerve fibers in group 2 was 2.7 times greater than that in group 1. The milled omental adipose tissue inside the conduit changed its volume and structure in nerve diastasis and was constantly utilized up to complete elimination over time. The omental cells integrated into the newly formed nerve in the graft area.

Conclusion. As a graft, the adipose tissue of the autologous omentum produces a stimulating effect on the post-traumatic regeneration of the sciatic nerve.

Key words: sciatic nerve regeneration; sciatic nerve plastic surgery; autologous adipose tissue.

Введение

Проблема посттравматической регенерации периферического нерва при диастазе его культей является одним из актуальных вопросов нейрохирургии [1, 2]. В медицинской практике при больших диастазах часто используются аутотрансплантаты здорового афферентного кожного нерва, что в свою очередь приводит к нарушению чувствительности поврежденной конечности [3–6]. Одним из современных направлений в решении данного вопроса является репарация поврежденного нервного ствола с помощью кондуитов (трубок), заполняющихся различными средами, которые стимулируют его регенерацию [5–11]. В качестве наполнителей кондуитов в настоящее время наиболее широко применяют стволовые клетки, взятые из жировой ткани (СКЖТ), из-за их уникальных характеристик. СКЖТ имеют сходный фенотип и профили генной экспрессии с мезенхимными стволовыми клетками красного костного мозга и обладают рядом преимуществ: высоким процентом мультипотентных клеток, низкой иммуногенностью, высокой скоростью пролиферации [7]. Они секретируют ростовые факторы, обеспечивающие потенциал клеточной терапии при конструктивной хирургии [12, 13]. В силу этих свойств СКЖТ являются перспективными наполнителями для кондуитов при тубулировании нервов.

Использование стволовых клеток любых источников связано с определенными рисками и методологическими трудностями: провокация онкологических заболеваний [14], сниженная возможность использования аутологичных клеток при экстренной операции из-за длительности их культивирования и детерминации, например в военно-полевых условиях; законодательное ограничение их клинического применения в ряде стран. Такие трудности обуславливают

дальнейший поиск оптимальных способов использования стволовых клеток в регенеративной медицине. Перспективным решением данной проблемы представляется пересадка аутологичной жировой ткани (АЖТ) с присутствующими в ней нативными стволовыми клетками, которые потенциально могут воздействовать на регенерирующие нервные волокна (НВ) [15, 16].

Целью нашего исследования стало изучение структурных изменений аутологичной жировой ткани сальника в силиконовом кондуите и оценка возможности ее использования для регенерации седалищного нерва при диастазе.

Материалы и методы

В исследовании использовались аутбредные крысы-самцы линии Wistar в возрасте 6 мес массой 350–450 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария. При работе с ними соблюдались этические принципы, установленные Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 2006).

Эксперименты проводили с использованием изофлурана, наркозного аппарата Zoomed MinorVet («ЗООМЕД», Россия) и концентратора кислорода Armed 7F-3L («АРМЕД», Россия). Животные были разделены на шесть экспериментальных групп и одну контрольную (n=4 в каждой).

Во всех экспериментальных группах крысам выполняли полную перерезку седалищного нерва с правой стороны на уровне средней трети бедра. Концы нерва разводили, вставляли в силиконовый кондуит (трубку), препятствующий формированию соединительнотканного рубца, и скрепляли за эпиневрив шовным материалом 8,0.

В эксперименте использовали трубки длиной 10 мм двух типов: сложной (1-й тип) и простой (2-й тип) конструкции. Конduit 1-го типа состоял из двух частей с внутренним диаметром 2 мм и центральной части с диаметром 3 мм, что позволяло увеличить объем наполнителя из АЖТ. Конduit 2-го типа представлял собой цельную трубку с внутренним диаметром 2 мм.

У животных *1-й группы* концы перерезанного нерва вставляли в conduit 1-го типа таким образом, чтобы между ними оставалось фиксированное расстояние в 5 мм. Конduit заполняли физраствором. Срок наблюдения — 14 нед.

Во *2-й группе* животным сначала вскрывали брюшную полость для взятия ткани сальника (1 мл), затем мышцы брюшной полости и кожу ушивали. Далее ткань сальника измельчали в физрастворе и (без предварительной химической обработки) шприцем помещали в conduit 1-го типа, как и в 1-й группе. Постоперационный срок наблюдения — 4 и 14 нед.

В *3-й группе* для выяснения, принимают ли участие клетки АЖТ в формировании регенерирующего нерва, впервые применяли маркировку измельченных тканей сальника прижизненным липофильным красителем РКН 26 (Sigma-Aldrich, США). Данный краситель фиксируется на клеточной мембране и передается в равномерном соотношении дочерним клеткам при митозе [17]. Известно, что РКН 26 сохраняется при трансплантации зрелых жировых клеток в течение 14,5 мес [18]. В этой группе нами была использована известная методика мечения суспензии мультипотентных стволовых клеток красного костного мозга [19, 20] в нашей модификации: без предварительной химической обработки АЖТ сальника и без выделения из него регионарных стволовых клеток.

Измельченную ткань сальника (1 мл) отмывали в физрастворе в центрифуге при 1500 об./мин (3 раза по 5 мин). После слива супернатанта к осадку добавляли 1 мл разбавителя Diluent C (Sigma-Aldrich, США). Затем проводили окраску красителем РКН26GL-1KT (Sigma-Aldrich, США) (4 мкл РКН 26:1 мл Diluent C, инкубация 5 мин), окраску останавливали 1% раствором бычьего сывороточного альбумина (BSA) в физрастворе. Окрашенный осадок отмывали физраствором 3 раза по 10 мин при 1500 об./мин. Концы перерезанного седалищного нерва разводили на 5 мм и вставляли в conduit 1-го типа, предварительно заполненный АЖТ, окрашенной РКН 26. Постоперационный срок наблюдения — 14 нед. Из участка регенерирующего нерва, расположенного в кондуите, изготавливали замороженные срезы толщиной 15 мкм на микротоме Leica CM 1900 UV (Leica Microsystems, Австрия) для флуоресцентного анализа. Срезы были сфотографированы на конфокальном лазерном сканирующем микроскопе LSM 710 (Carl Zeiss, Германия) и проанализированы.

В *4–7-й группах* измельченную ткань сальника (без предварительной химической обработки) помеща-

ли в conduit 2-го типа, закрывающий диастаз 2 мм. Постоперационные сроки наблюдения составили в 4-й группе — 4 нед, в 5-й группе — 14 нед, в 6-й группе — 21 нед, в 7-й группе — 42 нед.

На светооптический и электронно-микроскопический анализ брали формирующийся нерв в области его диастаза у животных всех групп, кроме 3-й группы. Материал фиксировали в 2,5% растворе глутарового альдегида на фосфатно-солевом буфере (PBS) (pH=7,4) и постфиксировали в 1% растворе четырёхоксида осмия с последующим заключением в смесь эпон-аралдит по стандартной методике. Морфологический анализ выполняли на полутонких (0,5 мкм) срезах, изготовленных на ультрамикротоме Leica UC7 (Leica Microsystems, Австрия) и окрашенных метиленовым синим и фуксином, а также на ультратонких срезах (70 нм), окрашенных уранилацетатом и цитратом свинца по Рейнольдсу. Фоторегистрацию срезов проводили на световом микроскопе Eclipse 80i с камерой DS-Fi1 (Nikon, Япония) при увеличении окуляра 10 и объективов — 10 и 20. Морфологический анализ поперечных срезов выполняли в программе NIS Elements BR 4.0 (Nikon, Япония). Ультратонкие срезы анализировали на трансмиссионном электронном микроскопе Morgagni 268D (FEI, США).

В 1-й и 2-й группах проводили тотальный подсчет общего количества регенерировавших НВ, процент содержания в них разных размерных групп: мелких (менее 4 мкм в диаметре), средних (4–7 мкм), крупных (более 7 мкм).

Статистические методы. Количественный анализ нервных волокон различного калибра осуществляли в экспериментальных 1-й и 2-й группах с использованием программы Statistica 10.0. Применяли непараметрический критерий Манна–Уитни, статистически значимыми считали значения при $p \leq 0,025$.

Результаты

Клиническая оценка состояния поврежденной конечности. Через 14 нед после перерезки седалищного нерва поврежденная конечность у животных 1-й группы имела следующий вид: на пятке наблюдалась большая трофическая язва, голеностопный сустав был сильно утолщен, разгибался на 90–100° (в норме — 180°), пальцы полностью или частично отгрызены, оставшиеся — поджаты; при ходьбе животные плохо опирались на поврежденную конечность (рис. 1, а).

Полученные клинические результаты показали, что применение силиконового кондуита, заполненного физраствором, не приводит к полноценному восстановлению конечности.

Во 2-й группе животные при ходьбе хорошо опирались на оперированную лапу, пальцы не были поджаты, при ходьбе расправлялись. В области голеностопа лапа разгибалась на 150–160°, сустав не был утолщен (рис. 1, б). После трансплантации в диастаз АЖТ

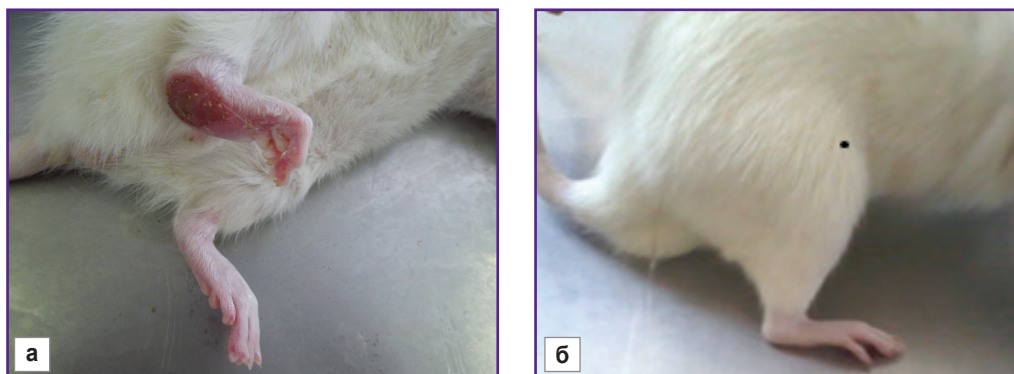


Рис. 1. Вид конечности через 14 нед после тубулирования седалищного нерва:
 а — 1-я группа (конduit заполнен физраствором); б — 2-я группа (конduit заполнен аутологичной жировой тканью сальника)

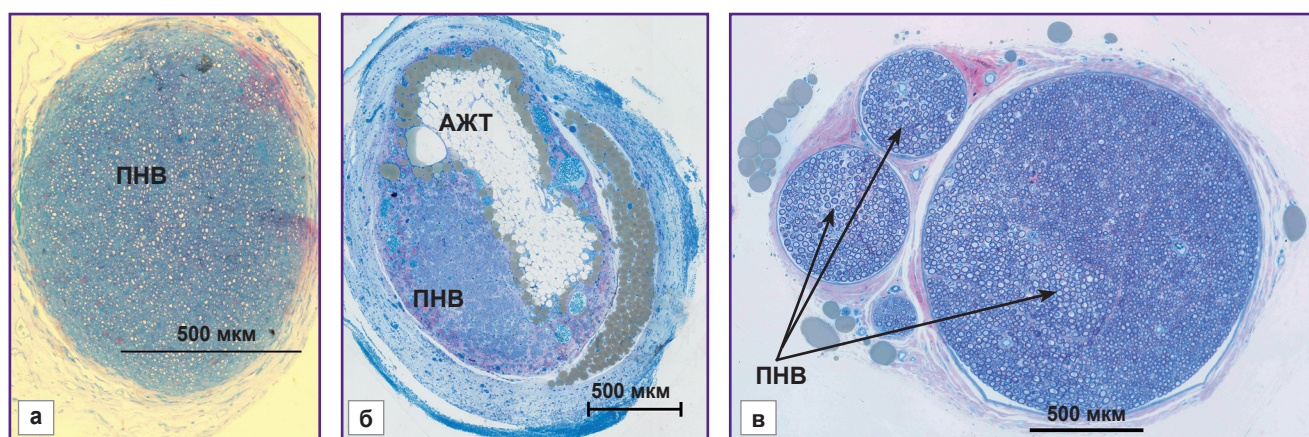


Рис. 2. Поперечные срезы седалищного нерва в области силиконового кондуита через 14 нед после операции:
 а — 1-я группа; б — 2-я группа; в — интактный нерв [21]. ПНВ — пучок нервных волокон, АЖТ — аутологичная жировая ткань сальника

сальника между культями вновь сформированный участок нерва анатомически значительно превосходил по толщине нерв в условно пустом кондуите.

Морфологический анализ восстановления нерва в области кондуита. При анализе среза седалищного нерва через 14 нед эксперимента в 1-й группе наблюдается один пучок НВ в отличие от нормального строения нерва [21]. Эпиневрий, периневрий и эндоневрий хорошо выражены (рис. 2, а). Преобладают в основном мелкие НВ — 71,7%, средние составляют 26,6%, крупные — 1,7% соответственно от общего количества НВ в данной группе (см. таблицу). В этой группе кровеносные сосуды в оболочках нерва — малого диаметра, встречаются редко. Тотального рубца в области травмы не наблюдается. Клиническая картина и морфологические показатели свидетельствуют о том, что преобладающие мелкие волокна в 1-й группе не позволяют полноценно функционировать нерву. В то же время отсутствие тотального рубца в области диастаза явилось положительным эффектом тубулирования — препятствовало проникновению соединительнотканых элементов в зону травмы.

Количество миелиновых нервных волокон в седалищном нерве в экспериментальных группах через 14 нед после операции, %

Размерные группы миелиновых нервных волокон	1-я группа	2-я группа
Крупные ($d > 7$ мкм)	108	1336*
Средние ($4 < d < 7$ мкм)	1690	3249*
Мелкие ($d < 4$ мкм)	4559	1512*
Общее количество	6357	6097

Примечания: указаны средние значения по группе; * различия статистически значимы между группами, $p \leq 0,025$.

Во 2-й группе морфологический анализ показал, что площадь поперечного сечения нерва значительно превосходит показатель в 1-й группе (рис. 2, б). Все оболочки хорошо выражены. Эпиневрий более развит. Во внутривольной структуре выявлено преобладание крупных и средних НВ по сравнению с показателями 1-й группы: средних — 53%, крупных — 22% и

мелких — 25% (от общего количества НВ в данной группе) (см. таблицу). Усилена васкуляризация по сравнению с 1-й группой (рис. 3). В этой группе на фоне общего количества НВ выявлено преобладание средних НВ, которые в отличие от мелких могут обеспечивать функционирование нерва. Данный факт отмечен и в нашем предыдущем исследовании [21].

Известно, что СКЖТ, выделенные из подкожного и интерстициального жира, способны встраиваться в регенерирующий нерв, принимать непосредственное участие в его реконструкции, увеличивать экспрессию ряда нейротрофических факторов [16, 22–24].

Клиническое состояние повреждённой конечности животных во 2-й группе показало, что трансплантат из АЖТ является своеобразной «арматурой», направляющей и способствующей регенерации седалищного нерва.

Во 2-й группе восстановленный нерв имеет гетерогенную структуру: соединительнотканная строма с участками фиброза, липидными образованиями пронизана кровеносными сосудами и пучками НВ (см. рис. 2, б и рис. 3). Похожие процессы наблюдались и другими авторами при трансплантации жировой ткани [16, 25], когда после дегенерации и некроза образовывались рубцы и образования, которые они называют липидными кистами. Фагоцитоз адипоцитов макрофагами и их резорбция занимают от нескольких недель до месяцев [26]. По нашим данным, через 14 нед липиды трансплантата полностью не утилизируются и процесс продолжается.

В этот период (14 нед) разные по форме и размеру липидные образования окружены плотно прилегающими по периферии клетками неустоановленного фенотипа, участвующими в их утилизации. На ультраструктурном уровне клетки имеют разнообразную

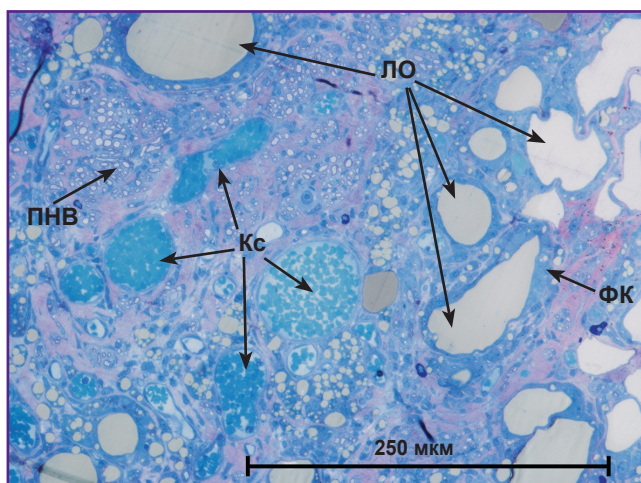


Рис. 3. Структура нерва в области кондукта во 2-й группе через 14 нед эксперимента
ЛО — липидные образования, Кс — кровеносные сосуды, ПНВ — пучок нервных волокон, ФК — фагоцитирующие клетки на периферии ЛО; ок. — $\times 15$; об. — $\times 20$

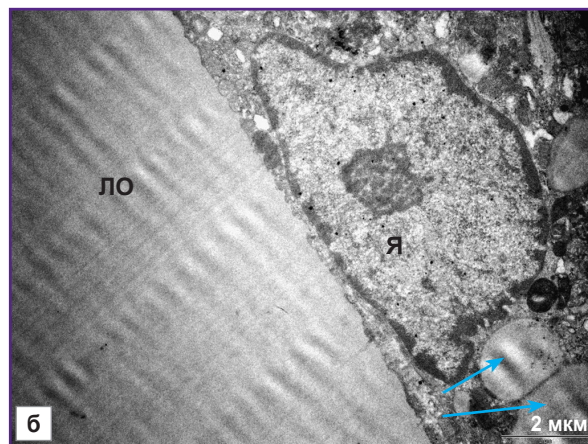
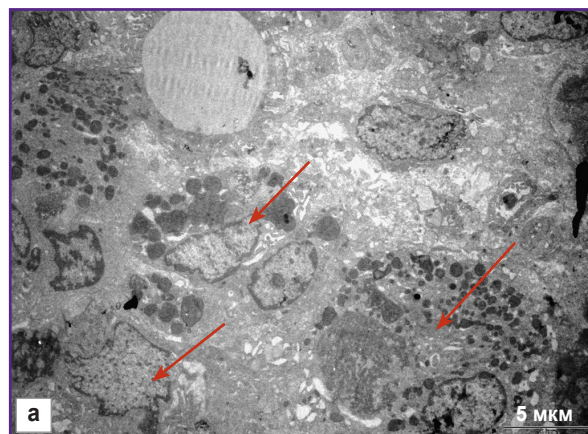


Рис. 4. Срез нерва в области кондукта во 2-й группе:
а — 4 нед эксперимента, фагоцитирующие клетки указаны красными стрелками; б — 14 нед эксперимента, фагоцитирующая клетка. ЛО — липидное образование, Я — ядро фагоцитирующей клетки, липидные включения указаны синими стрелками

форму, отмечаются крупные светлые ядра с ядрышком, у большинства наблюдается расширение цистерн гладкой эндоплазматической сети, цитоплазма заполнена липидными включениями. Признаки активного фагоцитоза появляются через 4 нед (рис. 4, а). По данным ряда авторов [27, 28], шванновские и периневральные клетки утилизируют миелин при валлеровской и ретроградной дегенерации поврежденных периферических НВ. Вероятность участия этих клеток в фагоцитозе липидных образований в нашем эксперименте нельзя исключить.

В 4–7-й группах также происходит постепенная утилизация липидных образований. Через 4 нед после трансплантации жировые конгломераты в срезах преобладают, НВ единичны. Через 21 нед эксперимента (6-я группа) АЖТ еще присутствует в небольших количествах, к 42-й неделе (7-я группа) полностью утилизируется, регенерировавший нерв заполняется пучками НВ (рис. 5).

В эксперименте [29] измельченная жировая ткань из области спины, помещенная в диастаз на 1 см ме-

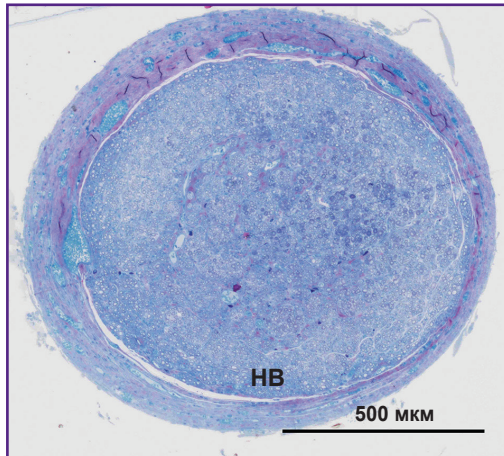


Рис. 5. Поперечный срез нерва в области кондуита через 42 нед эксперимента (7-я группа)
НВ — нервные волокна

дианного нерва, через 6 мес не оказывала положительного эффекта на его регенерацию. По мнению авторов, большое количество неутилизированных жировых конгломератов блокировали рост НВ. Вероятно, это связано с большим размером диастаза.

В 3-й группе с применением прижизненной маркировки жировой ткани сальника с использованием РКН 26 наблюдали клетки с красным свечением, содержащие краситель. Они были распределены в трех зонах: поблизости от липидных образований (рис. 6, а, б); вдоль НВ (рис. 6, в) и в эпиневррии (рис. 6, г).

На рис. 6, а, б вблизи липидных образований с зеленым свечением располагаются небольшие красные клетки с темными округлыми полостями разных размеров. Подобную морфологическую картину наблюдали в работе [22] при изучении культивируемых СКЖТ, окрашенных Oil Red O, и объясняли данное явление адипогенетической дифференциальной индукцией в стволовых клетках. Поэтому и в нашем исследовании часть СКЖТ трансплантированного сальника могли дифференцироваться в новые жировые клетки.

Вопрос о выживаемости жировых клеток после измельчения ткани сальника в нашем эксперименте остается открытым. По

данным авторов [16, 26, 30, 31], значительная часть адипоцитов в жировом трансплантате подвергается некрозу в течение 24 ч после операции. Мы предполагаем, что в нашем эксперименте жировые клетки, встречающиеся через 14 нед эксперимента, являются новообразованными.

В 3-й группе нами обнаружены клетки с красным свечением вдоль продольно срезанных НВ с зеленым эндогенным свечением. Конечный фенотип данных клеток в нашей работе не устанавливался, однако на препаратах видно, что меченные РКН 26 клетки сальника встроились в новообразованный участок нерва (см. рис. 6, в). Похожие результаты получены и другими авторами в исследованиях с культивируемыми и некультивируемыми СКЖТ.

Авторы работы [22] помещали СКЖТ крыс линии Wistar с бесклеточным аллотрансплантатом в диастаз перерезанного седалищного нерва. Через 12 нед выявили меченные РКН 26 клетки с красной флуоресценцией и повышенную экспрессию нейротрофических факторов BDNF, NT-3, GDNF, что свидетельствовало о длительной выживаемости данных клеток и

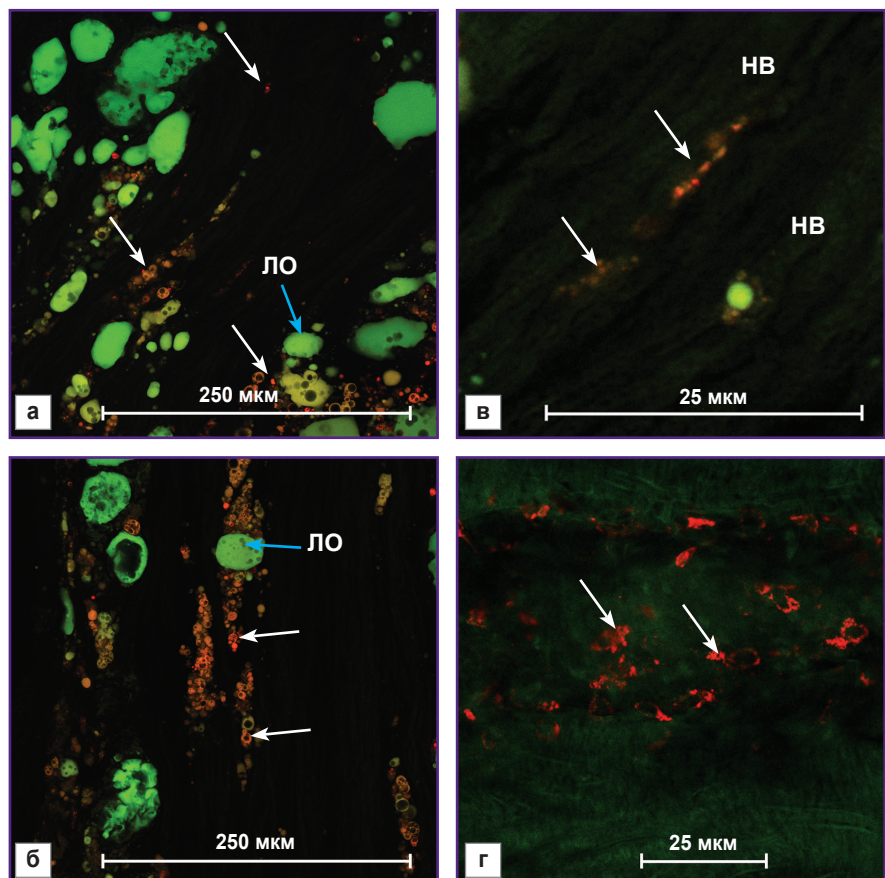


Рис. 6. Продольный срез нерва в области кондуита (3-я группа) через 14 нед эксперимента

Белыми стрелками указаны области с клетками с красной флуоресценцией, положительными на краситель РКН 26, которые расположены поблизости от ЛО (а, б), вдоль НВ (в) и в эпиневррии (г). ЛО — липидные образования, НВ — нервные волокна

их стимулирующем эффекте на регенерацию нерва. Следует отметить, что авторы не проводили идентификацию СКЖТ.

Культивируемые СКЖТ человека, предварительно меченные РКН 26, трансплантировались в биодеградируемый поликапролактамовый конduit, закрывающий диастаз в 6 мм в поврежденном седалищном нерве крысы [32]. Через 12 нед в области трансплантата наблюдались меченные РКН 26 клетки с красным свечением без кокалокализации с нейротрофином NF, идентифицирующим растущие аксоны. Отсюда авторы сделали вывод, что стволовые клетки не дифференцировались в шванновские клетки. Это могло быть связано с невозможностью окрасить каждую клетку в срезе, и авторы допускают возможность такой дифференцировки.

В работе [24] диастаз на периферическом нерве в 10 мм закрывали силиконовым конduitом, заполненным смесью некультивированных СКЖТ и коллагена I типа. Степень регенерации в данной группе оценивали удовлетворительно. При этом распределение областей, положительных на РКН 26 и на белок S100, было различным. Поэтому авторы предположили, что трансплантированные некультивированные СКЖТ не дифференцируются в шванновские, но встраиваются в регенерировавший нерв и участвуют в экспрессии нейрулина-1 и сосудистого эндотелиального фактора роста А, которые способствуют пролиферации или миграции шванновских клеток.

Из анализа литературных данных можно сделать вывод, что жировые полустволовые клетки встраиваются в новообразованный нерв в области травмы, но фенотип этих клеток не установлен.

В нашем эксперименте в области эпинеургии также наблюдались клетки с красным свечением, содержащие РКН 26 и имеющие отростчатую форму. Возможно, часть СКЖТ трансформировались в фибробласты. Подобное явление показано и авторами [22] в культуре клеток СКЖТ.

Анализ полученных нами данных дает основания полагать, что стволовые клетки из АЖТ измельченного сальника мигрируют в определенные зоны формирующегося нерва, встраиваются в него и способствуют его реконструкции.

Заключение

Аутологичная жировая ткань измельченного сальника, трансплантированная внутрь силиконового кондуита в область диастаза перерезанного седалищного нерва, динамично изменяется в объеме и структуре, подвергаясь постоянной и значительной резорбции и утилизации, в результате чего наблюдается тенденция к полному исчезновению на отдаленных сроках и замещению ее регенерировавшими нервными волокнами. В процессе структурных изменений жировая ткань, с одной стороны, является на ранних этапах механическим препятствием для растущих нервных

волокон, а с другой — оказывает стимулирующее влияние на регенерацию седалищного нерва и восстановление функций поврежденной конечности.

Результаты настоящего исследования дают основание для дальнейшего изучения механизмов влияния аутологичной жировой ткани сальника на посттравматическую регенерацию периферического нерва.

Финансирование исследования и конфликт интересов. Исследование не финансировалось какими-либо источниками, и конфликты интересов, связанные с данным исследованием, отсутствуют.

Литература/References

1. Nemoz-Billet L., Breaud S., Ruggiero F. The role of extracellular matrix in the regeneration of motor nerves. *Med Sci (Paris)* 2021; 37(1): 11–14, <https://doi.org/10.1051/medsci/2021183>.
2. Yamamoto D., Tada K., Suganuma S., Hayashi K., Nakajima T., Nakada M., Matsuta M., Tsuchiya H. Differentiated adipose-derived stem cells promote peripheral nerve regeneration. *Muscle Nerve* 2020; 62(1): 119–127, <https://doi.org/10.1002/mus.26879>.
3. Zhou L.N., Wang J.C., Zilundu P.L.M., Wang Y.Q., Guo W.P., Zhang S.X., Luo H., Zhou J.H., Deng R.D., Chen D.F. A comparison of the use of adipose-derived and bone marrow-derived stem cells for peripheral nerve regeneration in vitro and in vivo. *Stem Cell Res Ther* 2020; 11(1): 153, <https://doi.org/10.1186/s13287-020-01661-3>.
4. Trehan S.K., Model Z., Lee S.K. Nerve repair and nerve grafting. *Hand Clin* 2016; 32(2): 119–125, <https://doi.org/10.1016/j.hcl.2015.12.002>.
5. Schiraldi L., Sottaz L., Madduri S., Campisi C., Oranges C.M., Raffoul W., Kalbermatten D.F., di Summa P.G. Split-sciatic nerve surgery: a new microsurgical model in experimental nerve repair. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2018; 71(4): 557–565, <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2017.11.007>.
6. Lin T., Liu S., Chen S., Qiu S., Rao Z., Liu J., Zhu S., Yan L., Mao H., Zhu Q., Quan D., Liu X. Hydrogel derived from porcine decellularized nerve tissue as a promising biomaterial for repairing peripheral nerve defects. *Acta Biomater* 2018; 73: 326–338, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.04.001>.
7. di Summa P.G., Kalbermatten D.F., Pralong E., Raffoul W., Kingham P.J., Terenghi G. Long-term in vivo regeneration of peripheral nerves through bioengineered nerve grafts. *Neuroscience* 2011; 181: 278–291, <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.02.052>.
8. Haselbach D., Raffoul W., Larcher L., Tremp M., Kalbermatten D.F., di Summa P.G. Regeneration patterns influence hindlimb automutilation after sciatic nerve repair using stem cells in rats. *Neurosci Lett* 2016; 634: 153–159, <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.10.024>.
9. Labroo P., Shea J., Edwards K., Ho S., Davis B., Sant H., Goodwin I., Gale B., Agarwal J. Novel drug delivering conduit for peripheral nerve regeneration. *J Neural Eng* 2017; 14(6): 066011, <https://doi.org/10.1088/1741-2552/aa867d>.
10. Di Summa P.G., Schiraldi L., Cherubino M., Oranges C.M., Kalbermatten D.F., Raffoul W., Madduri S. Adipose derived stem cells reduce fibrosis and promote nerve regeneration in rats. *Anat Rec (Hoboken)* 2018; 301(10): 1714–1721, <https://doi.org/10.1002/ar.23841>.

11. Wang W., Degrugillier L., Tremp M., Prautsch K., Sottaz L., Schaefer D.J., Madduri S., Kalbermatten D. Nerve repair with fibrin nerve conduit and modified suture placement. *Anat Rec (Hoboken)* 2018; 301(10): 1690–1696, <https://doi.org/10.1002/ar.23921>.
12. Bacakova L., Zarubova J., Travnickova M., Musilkova J., Pajorova J., Slepicka P., Kasalkova N.S., Svorcik V., Kolska Z., Motarjemi H., Molitor M. Stem cells: their source, potency and use in regenerative therapies with focus on adipose-derived stem cells — a review. *Biotechnol Adv* 2018; 36(4): 1111–1126, <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.03.011>.
13. Trávníčková M., Bačáková L. Application of adult mesenchymal stem cells in bone and vascular tissue engineering. *Physiol Res* 2018; 67(6): 831–850, <https://doi.org/10.33549/physiolres.933820>.
14. Григорян А.С., Кругляков П.В. Спонтанная злокачественная трансформация мультипотентных стромальных клеток в культуре — происходит ли она в действительности? *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия* 2009; 4(4): 78–82.
Grigorian A.S., Kruglyakov P.V. Spontaneous multipotent mesenchymal stromal cells malignant transformation in culture — does it really exist? *Kletocnaa transplantologia i tkanevaa inzeneria* 2009; 4(4): 78–82.
15. Podsednik A., Cabrejo R., Rosen J. Adipose tissue uses in peripheral nerve surgery. *Int J Mol Sci* 2022; 23(2): 644, <https://doi.org/10.3390/ijms23020644>.
16. Saffari T.M., Saffari S., Vyas K.S., Mardini S., Shin A.Y. Role of adipose tissue grafting and adipose-derived stem cells in peripheral nerve surgery. *Neural Regen Res* 2022; 17(10): 2179–2184, <https://doi.org/10.4103/1673-5374.336870>.
17. Matz R.L., Erickson B., Vaidyanathan S., Kukowska-Latallo J.F., Baker J.R. Jr., Orr B.G., Banaszak Holl M.M. Polyplex exposure inhibits cell cycle, increases inflammatory response, and can cause protein expression without cell division. *Mol Pharm* 2013; 10(4): 1306–1317, <https://doi.org/10.1021/mp300470d>.
18. Rieck B. Unexpected durability of PKH 26 staining on rat adipocytes. *Cell Biol Int* 2003; 27(5): 445–447, [https://doi.org/10.1016/s1065-6995\(03\)00036-2](https://doi.org/10.1016/s1065-6995(03)00036-2).
19. Pavlichenko N., Sokolova I., Vijde S., Shvedova E., Alexandrov G., Krouglyakov P., Fedotova O., Gilerovich E.G., Polyntsev D.G., Otellin V.A. Mesenchymal stem cells transplantation could be beneficial for treatment of experimental ischemic stroke in rats. *Brain Res* 2008; 1233: 203–213, <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.06.123>.
20. Кругляков П.В., Соколова И.Б., Аминова Х.К., Некрасова Н.Н., Вийде С.В., Чередниченко Н.Н., Зарицкий А.Ю., Семернин Е.Н., Кислякова Т.В., Польшинцев Д.Г. Терапия экспериментального инфаркта миокарда у крыс с помощью трансплантации сингенных мезенхимных стволовых клеток. *Цитология* 2004; 46(12): 1043–1054.
Kruglyakov P.V., Sokolova I.B., Amineva X.K., Nekrasova N.N., Viyde S.V., Cherednichenko N.N., Zaritskiy A.Yu., Semernin E.N., Kislyakova T.V., Polyntsev D.G. Therapy of experimental myocardial infarction in rats using syngeneic mesenchymal stem cell transplantation. *Citologia* 2004; 46(12): 1043–1054.
21. Velichanskaya A.G., Abrosimov D.A., Bugrova M.L., Kazakov A.V., Pogadaeva E.V., Radaev A.M., Blagova N.V., Vasyagina T.I., Ermolin I.L. Reconstruction of the rat sciatic nerve by using biodegradable and non-biodegradable conduits. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2020; 12(5): 48, <https://doi.org/10.17691/stm2020.12.5.05>.
22. Liu G., Cheng Y., Guo S., Feng Y., Li Q., Jia H., Wang Y., Tong L., Tong X. Transplantation of adipose-derived stem cells for peripheral nerve repair. *Int J Mol Med* 2011; 28(4): 565–572, <https://doi.org/10.3892/ijmm.2011.725>.
23. Kim I.G., Piao S., Lee J.Y., Hong S.H., Hwang T.K., Kim S.W., Kim C.S., Ra J.C., Noh I., Lee J.Y. Effect of an adipose-derived stem cell and nerve growth factor-incorporated hydrogel on recovery of erectile function in a rat model of cavernous nerve injury. *Tissue Eng Part A* 2013; 19(1–2): 14–23, <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2011.0654>.
24. Suganuma S., Tada K., Hayashi K., Takeuchi A., Sugimoto N., Ikeda K., Tsuchiya H. Uncultured adipose-derived regenerative cells promote peripheral nerve regeneration. *J Orthop Sci* 2013; 18(1): 145–151, <https://doi.org/10.1007/s00776-012-0306-9>.
25. Kato H., Mineda K., Eto H., Doi K., Kuno S., Kinoshita K., Kanayama K., Yoshimura K. Degeneration, regeneration, and cicatrization after fat grafting: dynamic total tissue remodeling during the first 3 months. *Plast Reconstr Surg* 2014; 133(3): 303e–313e, <https://doi.org/10.1097/prs.000000000000066>.
26. Mashiko T., Yoshimura K. How does fat survive and remodel after grafting? *Clin Plast Surg* 2015; 42(2): 181–190, <https://doi.org/10.1016/j.cps.2014.12.008>.
27. Brosius Lutz A., Chung W.S., Sloan S.A., Carson G.A., Zhou L., Lovelett E., Posada S., Zuchero J.B., Barres B.A. Schwann cells use TAM receptor-mediated phagocytosis in addition to autophagy to clear myelin in a mouse model of nerve injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2017; 114(38): E8072–E8080, <https://doi.org/10.1073/pnas.1710566114>.
28. Li R., Li D., Wu C., Ye L., Wu Y., Yuan Y., Yang S., Xie L., Mao Y., Jiang T., Li Y., Wang J., Zhang H., Li X., Xiao J. Nerve growth factor activates autophagy in Schwann cells to enhance myelin debris clearance and to expedite nerve regeneration. *Theranostics* 2020; 10(4): 1649–1677, <https://doi.org/10.7150/thno.40919>.
29. Papalia I., Raimondo S., Ronchi G., Magaudo L., Giacobini-Robecchi M.G., Geuna S. Repairing nerve gaps by vein conduits filled with lipoaspirate-derived entire adipose tissue hinders nerve regeneration. *Ann Anat* 2013; 195(3): 225–230, <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2012.10.012>.
30. Eto H., Suga H., Inoue K., Aoi N., Kato H., Araki J., Doi K., Higashino T., Yoshimura K. Adipose injury-associated factors mitigate hypoxia in ischemic tissues through activation of adipose-derived stem/progenitor/stromal cells and induction of angiogenesis. *Am J Pathol* 2011; 178(5): 2322–2332, <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2011.01.032>.
31. Eto H., Kato H., Suga H., Aoi N., Doi K., Kuno S., Yoshimura K. The fate of adipocytes after nonvascularized fat grafting: evidence of early death and replacement of adipocytes. *Plast Reconstr Surg* 2012; 129(5): 1081–1092, <https://doi.org/10.1097/prs.0b013e31824a2b19>.
32. Santiago L.Y., Clavijo-Alvarez J., Brayfield C., Rubin J.P., Marra K.G. Delivery of adipose-derived precursor cells for peripheral nerve repair. *Cell Transplant* 2009; 18(2): 145–158, <https://doi.org/10.3727/096368909788341289>.