

УДК 616.8-089

Современные тенденции в восстановлении протяжённых дефектов нервов. Развитие технологий использования регенераторного потенциала нервных волокон, их сущность, недостатки и преимущества.

Тутуров А. О.

СамГМУ, yakovi-aleksandr@yandex.ru

Исследование современных технологий в восстановлении протяжённых дефектов нервов является важной фундаментальной задачей нейрохирургии и травматологии. Данные повреждения дифференцируются по сумме вовлеченных в патологический процесс окружающих тканей и компонентов нерва. Наиболее сложного, объёмного и, часто, безрезультатного лечения требуют именно травмы, приводящие к формированию больших диастазов, нервов. Причиной этому служит сочетание сразу нескольких ключевых деталей: полное пересечение нервного ствола, потеря направляющего канала для регенерации, и, в дальнейшем, создание условий для образования посттравматической невромы. Тотальный разрыв всей полости, иначе говоря, невротмезис, приводит к утрате сообщения между нервными волокнами проксимального и дистального участка нерва, нарушает целостность миелиновой оболочки и соединительнотканых элементов. Вследствие разобщения волокон, потери направляющего канала – эпинеурия и утраты его внутренней среды регенерация не наступает. Все эти процессы приводят к образованию соединительнотканых колбовидных утолщений – невром, что указывает на терминальную стадию повреждения нерва – прекращения его функционирования в дистальном отделе. Исходя из анатомического обоснования сформированного диастаза ушивание дефекта эпинеуральными швами не возможно, так как это неминуемо приведет к его перенатяжению или расслоению. Начиная с 1910-ых годов, многие нейрохирурги поставили перед собой задачу лечения данных травм. Развитие технологий направило исследования на создание кондуитов - искусственных проводников, помещаемых в диастаз нерва и создающих необходимые условия для регенерации нервных волокон в заданном направлении, за счет искусственной внутренней среды. С тех пор восстановление протяженных дефектов нервов стало возможным и получило широкое применение и развитие по всему миру. В обзоре проанализированы различные варианты кондуитов с их уникальной внутренней средой, а также смежные с ними разработки, показывающие использование регенераторного потенциала нервной ткани, для выявления наиболее верного направления в развитии технологий восстановления протяжённых дефектов нервов.

Ключевые слова: невротмезис, повреждение нерва, протяженные дефекты, кондуиты, регенераторный потенциал.

Current trends in the restoration of extended defects of nerves.

Advancement of technologies of using the regenerative potential to nerve fibers, their nature, advantages and disadvantages.

Tuturov A. O.

SamSMU, yakovi-aleksandr@yandex.ru

The study of modern technologies in the restoration of extended defects of nerves is an important fundamental problem of neurosurgery and traumatology. These injuries are differentiated by the amount involved in the pathological process of surrounding tissue components and nerve. The most complex, volumetric and often unsuccessful treatment demand is injury, leading to the formation of large diastasis of nerve. The reason for this is the combination of several key components: a complete intersection of the nerve trunk, the loss of the guide channel for regeneration, and in the future, the creation of conditions for the formation of post-traumatic neuroma. Total destruction of cavity, in other words, nevrotmezis leads to a loss of communication between the nerve fibers of the nerve proximal and distal portion, destroys the integrity of the myelin sheath and connective tissue elements. Due to the separation of fibers, the loss of the guide channel - epineurium, and the loss of an internal environment of regeneration does not occur. All these processes

lead to the formation of connective tissue flask-shaped bulges - neuromas, which indicates the end-stage of nerve damage - the termination of its operation in the distal. Based on the anatomical justification formed diastasis and defect can't closed by the epineural seams, as it will inevitably lead to strong pressure on the tissue or delamination. Since the 1910s, many neurosurgeons have set ourselves the task of treating these injuries. Technology development has directed studies on the creation of conduits - artificial conductors placed in diastasis nerve and created the necessary conditions for the regeneration of nerve fibers in the desired direction, at the expense of artificial internal environment. Since that time the recovery of extended defects and nerves becomes possible, and has been widely used worldwide. The review analyzed the various options of conduits with their unique internal environment, as well as related to the development of them, showing the use of the regenerative potential of neural tissue, to identify the most right direction in the development of the restoration of extended defects nerves technologies.

Keywords: nevrotnmezis, nerve damage, extended defects, conduits, regenerative potential.

1. Введение

Проблема лечения больных с повреждениями периферических нервов является одной из ведущих в травматологии и нейрохирургии. Нарушения целостности нервов сопровождают 3-10% от всех травм опорно-двигательного аппарата и приводят к стойкой утрате трудоспособности у 60-63% пациентов, более того, почти 80% этой группы составляют лица молодого трудоспособного возраста [1, 2]. В большинстве случаев травма нервов, вследствие специфики анатомо-топографических взаимоотношений, редко бывает изолированной [3].

Рубцовые изменения, а так же дополнительные повреждения нервов при некавалифицированном хирургическом вмешательстве, ущемления между костными отломками и другие обстоятельства приводят к возникновению большого диастаза между фрагментами поврежденного нерва. К их числу чаще относятся травмы в диафизарных отделах конечностей, где различные методы сгибания соответствующих суставов с целью уменьшения натяжения нерва при его сшивании не дают результатов [4].

Современные методы восстановления протяженных дефектов нервов, можно разделить на три большие группы, дифференцированные по виду хирургического вмешательства и особенностей его технологии:

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

Выбор оптимального вида реконструктивного вмешательства по восстановлению непрерывности нервного ствола должен базироваться не только на величине дефекта нерва, но также учитывать совокупность факторов, среди которых локализация повреждения, способ сближения его концов и объективная оценка степени натяжения в зоне шва.

2. Аутооттрансплантация нервов и тканей для создания направления регенерации нерва.

В связи с решением перечисленных вопросов разработаны многие методики, являющиеся смежными по отношению к основной теме обзора. Например, способ сшивания концов нерва, позволяющий уменьшить натяжение в зоне шва, с помощью эпинеуральных лоскутов. Данный способ аутопластики дефекта нервного ствола заключается в расположении трансплантатов между концами нерва с учетом их анатомического строения, сближении и фиксации концов нерва за эпинеуральные лоскуты к подлежащим тканям, а также обкладывании трансплантатов фрагментами подкожно-жировой клетчатки на сосудистой ножке [5]. Трансплантаты готовятся с помощью специальных устройств, позволяющих выделять и отсекалть участки икроножного нерва с образующими его ветвями [6]. Широко применяется метод лечения повреждений нервов посредством восстановления их функций за счёт подшивания повреждённого нерва через аутоа трансплантат к нормально функционирующим нервам той же части конечности [7-9].

Довольно интересной считается методика [10], по мнению авторов которой сшивание концов нерва с наложением поперечных насечек эпинеурии и перинеурии в шахматном порядке или циркулярно, позволяет обеспечить зону восстановления нерва необходимыми трофическими ресурсами.

Известен способ пластики дефекта нервного ствола [11], который заключается в том, что в сосудисто-нервный комплекс с манжетой из выкроенного из подлежащей собственной фасции голени фасциально-клетчаточного островкового лоскута включают икроножный нерв с малой подкожной веной в одном блоке. Таким образом, за счет перемещения целой системы тканей в посттравматический диастаз, можно говорить о создании сложного кондуита. Данную разработку практически повторяет метод [12], в котором, как проводник используется выделенный трансплантат в виде сосудисто-нервного комплекса из икроножного нерва с малой подкожной веной в одном блоке, перенесенный в дефект нерва.

Но, не смотря на вышеперечисленные работы, при травме с дефектом длины нервных стволов, а также при реконструкции по поводу застарелых повреждений, для сближения концов требуется: 1) значительное его натяжение; 2) сгибание в смежных суставах; и как альтернатива — 3) аутонервная пластика. Частыми осложнениями аутопластики являются: натяжение нерва, приводящее к «прорезыванию швов»; сгибание в смежных суставах, вследствие которого развиваются контрактуры в послеоперационном периоде и вторичное повреждение нервов при разработке движений; ротация нервных волокон в различных плоскостях, что препятствует их обособлению в пучки. Более того, при аутонервной пластике приходится использовать нерв с другого участка тела, что приводит к излишней анестезии в зоне иннервации, формированию дополнительной полости с возможными осложнениями, а также затрате времени на хирургическое вмешательство. Все это

значительно ухудшает результаты восстановления функции нервного ствола, причем регенераторный потенциал в вышеперечисленных методиках используется не полностью.[13]

3. Создание искусственных проводников и (или) ксенотрансплантатов для создания направления регенерации нерва

Одной из исследовательских работ, оказавших влияние на развитие создания искусственных проводников, на наш взгляд, может стать способ лечения повреждения периферического нерва [14], который заключается в формировании изолирующего кондуита, выполненного из тонкостенной силиконовой трубки. Длину силиконовой трубки выбирают такой, чтобы она была на 4-5 см больше размера восстановленного дефекта нервного ствола. После восстановления целостности поврежденного нерва, а именно ушивания дефекта, изолирующую муфту продвигают проксимально до перекрытия изолирующей муфтой на 4-5 см места соединения проксимального и дистального концов нерва. В данном исследовании нет указания на использование силикона, как кондуита, помещенного в диастаз посттравматического нерва для направления регенерации, но идея использования трубки из инородной ткани, как изолятор для регенерации сшитого нерва, может считаться первой ступенью на пути к дальнейшему развитию нового направления в восстановительной медицине.

Совершенно новым методом восстановления протяженных дефектов нервных стволов является замещение диастаза нерва проводником, содержащим внутреннюю среду, повторяющую естественные условия регенерации.

Одним из прорывных трудов в развитии данного направления стал “Способ восстановления нервного ствола” [15], который заключается в соединении проксимального и дистального концов повреждённого нерва с трансплантированным сосудом. С целью ускорения восстановления целостности и достижения полноты регенерации, в качестве трансплантата авторы использовали артериальный сосуд донора, заполненный гомогенатом лимфоцитов. В просвет трансплантата с двух сторон вводили концы нервного ствола и соединяли биоклеем их эпинеуральные оболочки с краями трансплантата. Клетки Шванна обеспечивают направленный рост регенерирующих аксонов перерезанного нерва от проксимального конца к дистальному. Они образуют, так называемые “мостики регенерации”, по которым и происходит продвижение регенераторного процесса.

В современной врачебной практике в качестве трансплантата между отрезками нерва более широкое применение получили – венозные проводники [16]. Удовлетворительные функциональные результаты были получены в случае лечения дистальных чувствительных

нервных дефектов до 3 мм. Выявлены несколько преимуществ использования вены, как проводника между концами пересечённого нерва (Chiu etc. 1982): базальная мембрана, которая образует эндотелий вены, богата ламинином, а адвентиция состоит в основном из коллагена; стенки вен являются достаточно упругими, чтобы действовать в качестве барьера против рубцового разрастания и имеют проницаемость, чтобы обеспечить диффузию питательных веществ внутрь (Wang etc., 1993; Tseng etc. 2003). Сторонники данного вида проводников отмечают достаточный запас для выбора венозных шунтов из многих областей тела, низкой стоимости и относительно малой степенью дополнительного повреждения в сравнении с нервными трансплантатами. Кроме того, вены неиммуногенны, практически не вызывают воспалительную реакцию, и доступны в широком разнообразии размеров. Они могут обеспечить механическую поддержку регенерирующих аксонов, предлагая защищенную биохимическую среду, вдали от окружающих тканей (Allet др., 2003).

Но венозные кондуиты имеют и существенные недостатки. В течение процесса регенерации, они оказались нестойкими, что приводило к перегибам или распадам стенки трубки [17-19]. По этой причине их использование становится невозможным при восстановлении больших промежутков диастаза нерва. Чиу с соавторами были проведены исследования, доказавшие тот факт, что вена, как проводник, может использоваться лишь при немногих травмах нервов, в частности, при диастазах длиной менее 3 мм [18].

В настоящее время развивается совершенно новое направление в восстановлении протяженных дефектов нервов, а именно создание искусственных проводников. Это направление исследований считается более перспективным, чем аутотрансплантация, поскольку их результатом станет разработка метода восстановления протяжённых повреждений нервного ствола. Исследования направлены на разработку новых возможностей при конструировании кондуита, в которые входят подборка индивидуального диаметра и анатомической формы под стать поврежденному нерву, использование биоразлагаемых материалов, применение всякого рода направляющих борозд в его стенке для более точного сопоставления нервных волокон и контроля регенераторных процессов.

Ученые Университета Шеффилда разработали и испытали метод изготовления проводника с помощью микростереолитографии. Это технология 3D-печати, позволяющая точно воссоздать микроструктуру нерва. Испытание изготовленного устройства было проведено на мышах со значительной травмой нерва: животному восстановили нервное волокно длиной около 3 мм за 21 день. Для изготовления устройства был использован полиэтиленгликоль, который одобрен для клинического использования. Материал не является биоразлагаемым, что создаёт некоторые трудности при применении данного типа кондуита. Стоит упомянуть о двух важных особенностях, а именно: наличие на внутренней поверхности стенки

проводника особых насечек, которые способствуют более точному направлению нервных волокон в трубке, и свойстве данного материал проводить нервный импульс, что даёт право отнести его к биоинертным[20].

Итак, как отмечено выше, для создания направляющих кондуитов лучше всего подойдут биоразлагаемые материалы. Наиболее перспективным представляется использование коллагена, полигликолевой кислоты (ПГК) и их конгломерата.

Очень интересным не только с точки зрения конструкции кондуита, но и его содержимого является сочетание данных материалов. База трубки была изготовлена из цилиндрически тканой ПГК сетки, внешняя и внутренняя поверхности которой были покрыты аморфным слоем коллагена. Просвет трубки был наполнен 3D-губчатой коллагеновой матрицей. Губчатый коллаген обеспечивает благоприятную микросреду для восстановления нерва (регенерации аксонов, клеточной пролиферации и заживления тканей). Несмотря на то, что коллаген имеет тенденцию растворяться в организме, ПГК-конduit позволяет сохранять его форму в течение достаточно долгого времени для полной регенерации нерва.

ПГК-коллаген трубка была 30 мм в длину и 0,7 мм в диаметре, что позволило перекрыть дефект нерва с небольшим запасом для наложения эпинеуральных швов нерв-конduit.[21]

Как было сказано выше, коллаген является хорошим материалом не только для создания направляющей трубки при повреждениях нерва, но и искусственных условий регенерации нервной ткани, т.е. внутренней среды для кондуита. Кроме него целесообразным считается использование альфа-липоевой кислоты(АЛК).

Известно, что повреждение нерва связано с окислительным стрессом. Увеличение уровня свободных радикалов кислорода и снижение деятельности ферментов антиоксидантной защиты наблюдаются после травмы нерва. Антиоксиданты, такие как ацетил-L-карнитин, витамин Е, АЛК успешно используются в лечении экспериментального пересечения нерва. Однако, эффект АЛК в регенерации периферических нервов до конца не выяснены.[22-24]

Совсем недавно исследовали два совершенно новых материала для создания кондуитов. Это хитозан и мембрана яичной скорлупы.

Хитозан – это аминсахар, производное линейного полисахарида, одним из источников получения которого служат панцири ракообразных. Успешным применением данного материала служит исследование с заполнением просвета хитозанового проводника альфа-липоевой кислотой (обоснование её использования указаны выше)[25].

Мембрана яичной скорлупы оказалась невероятно подходящим материалом для формирования трубки. Путём многократной обработки яичной скорлупы: сделав отверстие в скорлупе, вынуть содержимое; промыть изнутри, погрузить в 5% уксусную кислоту на 8 дней, далее в фосфатно-солевой буфер рН 7.4 на 30 минут; надеть на тефлоновую трубку;

высушить 37 градусов 24 часа в стерильном ламинарном боксе; [26] была получена тонкая пленка. Данная мембрана сохраняет белок и предотвращает проникновение бактерий. Мембрана яичной скорлупы является естественным источником комбинированных глюкозамина, хондроитина и гиалуроновой кислоты, [27] имеют высокое содержание биологически активных компонентов, а также способности к удержанию влаги, которые имеют потенциальную пользу.[28] Мембрана яичной скорлупы является нетоксичной [29] и биологически разлагаемой [30]. Это может иметь большой потенциал для восстановления нервов в исследованиях регенерации аксонов в периферической нервной системе [28].

Положительным результатом использования мембраны послужили следующие факты: отсутствие послеоперационных смертей, клинических признаков раневой инфекции. Операции были хорошо перенесены животными. Нет клинических признаков инфекции, болей или дискомфорта во время регенеративного периода. [31]

3.1. Кондуиты для восстановления повреждений многопучковых нервов

Развитие создания проводников из искусственных материалов привело исследователей к мысли о восстановлении многопучковых нервов, например, седалищного. Идея заключается в помещении не одного кондуита, общего для всех нервных пучков, в диастаз нерва, а именно, нескольких пучковых проводников, заключенных в одну общую муфту. Также, как оказалось, вышеперечисленные материалы не являются финальной точкой в исследованиях, например, появился способ восстановления нервного ствола с помощью кондуита из шелковых нановолокон. Конduit создавали путем электроформования волокнистого прядильного раствора в цилиндре, смазанного изнутри полиэтиленоксидом. Электроформование - это процесс создания волокон, который отличается определенной гибкостью, позволяющей задавать конечные характеристики и структуру нановолокнам под стать параметрам нервного ствола.[32]

Говоря о параметрах и структуре изготавливаемых кондуитов, нельзя не упомянуть о способе восстановления нерва с помощью кондуита, имеющего спиралевидную геометрию.[33] Регенерация при выполнении данной методики осуществляется благодаря наличию различных клеток и биовеществ на каждом из слоёв скрученного из плоского листа кондуита, что также направляет разобщенные нервные волокна.

Немного другим подходом к решению поставленной задачи воспользовались авторы способа восстановления нерва [34] с помощью установки кондуита из жидкого сплава селена, галия и индия с формированием микроканальной структуры для направленного продвижения нервных волокон. К сожалению, наличие жидкого металла в структуре нерва отрицательно сказывается на его физиологии. Учтя это, выдвинули свои методы и другие группы ученых. Итогом исследований стало создание способа восстановления поврежденного нерва при

дефектах на большом протяжении.[35] Восстановление происходит путём имплантации электропроводящих элементов из металла или полимерного токопроводящего материала, которые вводят в пучок нерва на 3-4 мм в оба конца диастаза нерва, далее весь диастаз укрывают кондуитом. Данная разработка чем-то напоминает взгляды на регенерацию нерва китайских исследователей, но использование кондуита выводит разработку российских авторов на качественно новый уровень.

На наш взгляд, способ восстановления нервного волокна [36], который заключается в создании проводника, имеющего две поверхности: внешнюю – силиконовую, и внутреннюю – из углеродных нанотрубок, мог бы стать вершиной восстановления нервов посредством кондуитов, но способ восстановления нервного ствола [37], который заключается в создании кондуита из пористого многоканального биоразлагаемого кондуита, помещаемого вместо диастаза нерва, внес свою весомую лепту в историю развития проводников между проксимальными и дистальными концами поврежденных нервов. По нашему мнению, данная форма кондуита универсальна и наиболее физиологична для восстановления нервного ствола. Остается только подобрать нужную ткань для его создания.

Безусловно, направление каждого пучка отдельно от других является наиболее верным методом восстановления повреждённого нерва и, определенно, через некоторое время он вытеснит все вышеперечисленные варианты использования регенераторного потенциала нерва.

4. Заключение

Итого, регенераторный потенциал нервного волокна можно использовать в искусственной среде, направляя и стимулируя его процессы.

В дальнейшем, технологию восстановления протяженных дефектов нервов с помощью биоразлагаемого кондуита можно направить и на восстановление спинного мозга, а, возможно, и - головного. К примеру, одно из самых частых осложнений при операции по удалению менингиомы - доброкачественной опухоли головного мозга, является повреждение обонятельного нерва, проходящего вблизи опухоли. При успехе данного метода, можно свести на нет один из рисков данной операции. И это лишь один из многих примеров прямого участия данного способа восстановления нервов.

В заключении хотелось бы сказать, что данная методика восстановления протяженных дефектов нервных волокон является прорывом в современной медицине и может найти широкое применение не только в нейрохирургии, но и травматологии, трансплантологии и других отраслях медицины.

Литература:

1. Берснев В.П. Хирургия позвоночника, спинного мозга и периферических нервов / Е.А. Давыдов, Е.Н. Кондаков // Специальная литература. — СПб, 1998. — С. 368.
2. Кубицкий А.А. Хирургическое лечение повреждений периферических нервов верхней конечности методами тракционного удлинения и аутонервной пластики: автореф. дис. ... канд. мед. наук / А.А. Кубицкий.— Казань, 2002. — 24 с.
3. Козлов А. В., Афанасьев Л. М., Якушин О. А., Молочков Е. В. Хирургическая тактика лечения больных с повреждениями нервов // III съезд нейрохирургов России : материалы съезда. – СПб., 2002. – С. 526–527.
4. Бабаханов, Ф.Х. Микрохирургические реконструктивно-восстановительные операции при массивных повреждениях периферических нервов / Ф.Х.Бабаханов, А.К.Муминов, Д.Б.Якубов, Б.А.Абдушукуров // Материалы III съезда нейрохирургов России. М., 2002. - С. 52.
5. Патент РФ № 2153295. Способ аутонейропластики.
6. Патент РФ № 2179828. Способ выделения и отсечения икроножного нерва с образующими его ветвями и инструмент для его осуществления
7. Патент РФ №2154431. Способ лечения обширных повреждений лучевого нерва на плече.
8. Патент РФ №99107088/14. Способ восстановления чувствительности на стопе.
9. Борода Ю.И. Хирургия дефектов нервных стволов конечностей / Ю.И. Борода, В.П. Берснев // Мат. III съезда нейрохирургов России СПб, 2002. - С. 524525.
10. ВУ №10011. Способ восстановления нервного ствола.
11. Патент РФ №2471435. Способ восстановления поврежденного нерва при дефектах на большом протяжении.
12. Патент РФ №2176482. Способ пластики дефекта нервного ствола.
13. Senoglu M., Nacitarhan V., Kurutas E.B. Intraperitoneal Alpha-Lipoic Acid to prevent neural damage after crush injury to the rat sciatic nerve / M. Senoglu [etc.] // J Brachial Plex Peripher Nerve Inj. - 2009. - P. 22.
14. Патент РФ №2347539. Способ лечения повреждения периферического нерва.
15. SU №1204197. Способ восстановления нервного ствола.
16. Foramitti C. Zur technik der nervennaht / C. Foramitti [etc.] // Arch Klin Chir. - 1904. - P. 643–648.
17. Tang J.B., Gu Y.Q., Song Y.S. Repair of digital nerve defect with autogenous vein graft during flexor tendon surgery in zone 2 / J. B. Tang [etc.] // J Hand Surg Br. - 1993. - P. 449-453.

18. Chiu D.T., Strauch B. A prospective clinical evaluation of autogenous vein grafts used as a nerve conduit for distal sensory nerve defects of 3 cm or less / D.T. Chiu [etc.] // *Plast Reconstr Surg.* - 1990. - P. 928-934.
19. Walton R.L., Brown R.E., Matory W.E. Autogenous vein graft repair of digital nerve defects in the finger: a retrospective clinical study / R.L. Walton[etc.] // *Plast Reconstr Surg.* – 1989. – P. 944-949.
20. Pateman C. J., Harding A. J., Glen A. Nerve guides manufactured from photocurable polymers to aid peripheral nerve repair / C. J. Pateman [etc.] // *Biomaterials.* – 2015. - Vol. 49. – P. 77-89.
21. Yamanaka T., Hosoi H., Murai T. Regeneration of the Nerves in the Aerial Cavity with an Artificial Nerve Conduit -Reconstruction of Chorda Tympani Nerve Gaps / T. Yamanaka [etc.] // *PLOS ONE.* – 2014. – Vol. 9, №4. - P. 1-7.
22. Rotshenker S. Wallerian degeneration: the innate-immune response to traumatic nerve injury / S. Rotshenker [etc.] // *J Neuroinflammation.* - 2011. - P. 109.
23. Wilson A.D., Hart A., Brännström T. Delayed acetyl-L-carnitine administration and its effect on sensory neuronal rescue after peripheral nerve injury / A.D. Wilson [etc.] // *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* - 2007. – P. 114-118.
24. Dokkaew J. Vitamin E reduces sensory neuronal loss and improves nerve regeneration after sciatic nerve injury / J. Dokkaew [etc.] // *Asian Biomed.* - 2013. - P. 649-655.
25. Azizi S., Heshmatian B., Amini K. Alpha-lipoic acid loaded in chitosan conduit enhances sciatic nerve regeneration in rat / S. Azizi [etc.] // *Iran J Basic Med Sci.* - 2015. - Vol. 18, №3. — P. 229-234.
26. Leighton J., Mansukhani S., Estes L. Decalcified eggshell membrane, a supporting substrate for electron microscopic cross sections of monolayers of epithelial cell line MDCK / J. Leighton [etc.] // *In Vitro.* – 1971 – P. 251-252.
27. Ruff K.J., Winkler A., Jackson R.W. Eggshell membrane in the treatment of pain and stiffness from osteoarthritis of the knee: a randomized, multicenter, double-blind, placebo-controlled clinical study / K.J. Ruff [etc.] // *Clin Rheumatol.* – 2009. – P. 907-914.
28. Cordeiro C.M., Hincke M.T. Recent patents on eggshell: shell and membrane applications / C.M. Cordeiro [etc.] // *Recent Pat Food Nutr Agric.* – 2011. – P. 1-8.
29. Jia J., Duan Y.Y., Yu J. Preparation and immobilization of soluble eggshell membrane protein on the electrospun nanofibers to enhance cell adhesion and growth // J. Jia [etc.] // *J Biomed Mater Res A.* – 2008. – P. 346-373.
30. Arias J.I., Gonzalez A., Fernandez Ms. Eggshell membrane as a biodegradable bone regeneration inhibitor / J.I. Arias [etc.] // *J Tissue Regen Med.* – 2008, - P. 228-235.

31. Farjah Gh, Heshmatian B, Karimipour M, Saberi A. Using Eggshell Membrane as Nerve Guide Channels in Peripheral Nerve Regeneration / Gh.Farjah [etc.] // Iran J Basic Med. - 2013. Sci. Vol.16, №8. – P. 901-905.
32. United States Patent №20120150205 A1. Silk nanofiber nerve conduit and method for producing thereof.
33. United States Patent №20050013844 A1. Neural regeneration conduit.
34. Zhang J., Sheng L., Jin C. Liquid Metal as Connecting or Functional Recovery Channel for the Transected Sciatic Nerve / J. Zhang [etc.] // Beijing, China. – 2014.
<http://medicalxpress.com/news/2014-04-beijing-explore-liquid-metal-reconnect.html>
35. Патент РФ №2471435. Способ восстановления поврежденного нерва при дефектах на большом протяжении.
36. United States Patent №20120109167 A1. Nerve guide conduit containing carbon nanotubes.
37. United States Patent №20030176876 A1. Multi-channel bioresorbable nerve regeneration conduit and process for preparing the same.