

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НОВОСИБИРСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ТРАВМАТОЛОГИИ И ОРТОПЕДИИ ИМ. Я. Л. ЦИВЬЯНА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Волков Сергей Георгиевич

**ПРИМЕНЕНИЕ БЛОКАТОРА N-МЕТИЛ-D-АСПАРТАТ-РЕЦЕПТОРОВ В
ОСТРЫЙ ПЕРИОД ТРАВМЫ СПИННОГО МОЗГА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

14.01.20 – анестезиология и реаниматология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Верещагин Евгений Иванович

Новосибирск – 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.	5
ГЛАВА 1 СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОГЕНЕЗЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ ПРИ ТРАВМЕ СПИННОГО МОЗГА И ЛЕЧЕБНОЙ ТАКТИКЕ У ПОСТРАДАВШИХ С ДАННЫМ ВИДОМ ПОВРЕЖДЕНИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).	12
1.1 Социально-медицинское значение и частота позвоночно-спинномозговой травмы.	12
1.2 Патогенез травматического повреждения спинного мозга, первичный и вторичный механизмы повреждения нейронов спинного мозга.	16
1.3 Значение N-метил-D-аспартат-рецепторов и их блокады для течения посттравматического периода.	23
1.4 Коэффициент поверхностного натяжения как интегральный показатель гомеостаза.	32
1.5 Использование нейрон-специфической енолазы в диагностике повреждения нервной системы.	34
1.6 Экспериментальные модели травмы спинного мозга.	35
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.	37
2.1 Законодательные аспекты экспериментальных и клинических исследований.	37
2.2 Дизайн исследования.	37
2.3 Моделирование экспериментального повреждения спинного мозга.	38
2.4 Описание ударного устройства.	40
2.5 Характеристика изучаемых групп.	42
2.6 Оценка функционального состояния спинного мозга лабораторных животных.	44
2.7 Характеристика морфологических изменений спинного мозга при моделировании повреждения.	45
2.8 Определение коэффициента поверхностного натяжения.	46

2.9 Определение нейронспецифической енолазы.	46
2.10 Статистические методы исследования.	47
ГЛАВА 3 КЛИНИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ТРАВМЫ СПИННОГО МОЗГА.	48
3.1 Моделирование тяжелого повреждения спинного мозга у экспериментальных животных.	48
3.2 Оценка динамики клинических проявлений при моделировании повреждения спинного мозга у экспериментальных животных.	49
3.2.1 Динамика двигательной активности при моделировании повреждения спинного мозга.	49
3.2.2 Динамика чувствительности при моделировании повреждения спинного мозга.	51
3.2.3 Изменения массы тела при моделировании повреждения спинного мозга.	52
3.2.4 Динамика функции тазовых органов при моделировании повреждения спинного мозга.	53
3.2.5 Динамика коэффициента поверхностного натяжения плазмы и ликвора при моделировании повреждения спинного мозга.	53
3.2.6 Динамика уровня нейрон-специфической енолазы при моделировании повреждения спинного мозга.	54
3.2.7 Морфологические исследования спинного мозга при моделировании экспериментального повреждения.	54
ГЛАВА 4 ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТА ПРИМЕНЕНИЯ БЛОКАТОРА N-МЕТИЛ-D-АСПАРТАТ-РЕЦЕПТОРОВ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ТРАВМАТИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ СПИННОГО МОЗГА В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ.	59
4.1 Динамика двигательной активности на этапах эксперимента.	59
4.2 Динамика чувствительности на этапах эксперимента.	60
4.3 Динамика массы тела на этапах эксперимента.	61
4.4 Динамика коэффициента поверхностного натяжения на этапах	

эксперимента.	62
4.5 Динамика коэффициента поверхностного натяжения на этапах эксперимента.	62
4.6 Динамика уровня нейрон-специфической енолазы на этапах эксперимента.	64
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.	66
ВЫВОДЫ.	69
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.	70
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.	71
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.	72
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА.	87

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность избранной темы

Травматические повреждения спинного мозга являются одной из актуальных проблем травматологии, нейрохирургии и интенсивной терапии. Позвоночно-спинномозговая травма (ПСМТ) в силу особенной социально-медицинской значимости, обусловленной сложностью и тяжестью последствий в связи с высоким уровнем и степенью инвалидизации пострадавших имеет особое значение [20; 25; 90; 120].

Известно, что деструкция нервной ткани не ограничивается областью воздействия травмирующей силы, а продолжается во времени, распространяясь на первично интактные участки мозга и приводя к образованию вторичного очага повреждения, усиливающего эффекты начальной травмы. Установлено, что наряду с первичным повреждением спинного мозга запускаются и развиваются механизмы вторичного повреждения клеток: общая воспалительная реакция (SIRS), глиальная реакция и эффекты ишемического повреждения. Современная концепция патогенеза травматического повреждения спинного мозга рассматривает два основных взаимосвязанных механизма гибели нейроспинальных клеток: апоптоз и некроз. В настоящее время апоптоз рассматривается как наиболее распространенный тип клеточной смерти и как один из важнейших путей клеточного обмена при травме. Если процессы некроза представляют собой необратимую и непредотвратимую гибель клеток, то гибель клеток в результате апоптоза на определенных этапах может быть задержана или предупреждена. Ингибирование апоптоза может способствовать регенерации и подавлять механизмы вторичного травматического повреждения. Апоптоз запускается непосредственно после травмы и продолжается длительно после первичного повреждения и распространяется на значительные расстояния от некротического контузионного очага вдоль спинного мозга. Проявлением этого процесса является дегенерация нервных волокон на значительном протяжении нервной системы. Апоптоз нейронов приводит к прогрессирующей потере

количества активных клеток, а апоптоз глии препятствует выживанию и прорастанию интактных нервных волокон, что выражается в отсутствии полноценной регенерации в спинном мозге.

Среди эндогенных нейротрансмиттеров роль медиаторов клеточной смерти отводится, прежде всего, аминокислотам глутамату и аспартату, в норме обеспечивающим процессы возбуждения. При повреждении спинного мозга происходит повышение уровня этих эксайтотоксических аминокислот вне клеток. Основным типом рецепторов, участвующим в реализации нейротоксических процессов, является подтип NMDA (N-метил-D-аспартат-рецепторы). Перспективным препаратом для проведения эффективной нейропротекторной терапии непосредственно после повреждения спинного мозга является кетамин – неконкурентный блокатор NMDA-рецепторов глутамата [16]. Доказано, что кетамин и его метаболит норкетамин способны блокировать NMDA-рецепторы коры головного и спинного мозга с высокой степенью афинности [124].

Степень разработанности темы диссертации

Неудовлетворительные результаты лечения ПСМТ связаны с недостаточными знаниями в области патогенеза тяжелых повреждений спинного мозга и отсутствием адекватных экспериментальных моделей для изучения эффективности новых подходов в лечении ПСМТ. Например, во многих экспериментальных моделях ПСМТ (модель ударного ускорения, модель травмы в результате падения груза и др.) не представляется возможным точно дозировать силу повреждения, или методика нанесения травмы трудоемкая и технически сложная, поэтому не воспроизводимая.

При этом ряд авторов указывает на необходимость разработки адекватной, воспроизводимой и технически соответствующей требованиям модели поражения спинного мозга.

Исходя из вышесказанного, была определена цель настоящего исследования.

Цель исследования

Изучить эффекты терапии блокатором N-метил-D-аспартат-рецепторов на разработанной экспериментальной модели повреждения спинного мозга в остром периоде травмы.

Задачи исследования

1. Разработать способ моделирования травматического повреждения спинного мозга со стойким, стабильно воспроизводимым неврологическим дефицитом, индуцированным нанесением спинномозговой травмы экспериментальному животному.
2. Изучить на модели экспериментального повреждения спинного мозга восстановление двигательной функции спинного мозга, восстановление чувствительности, восстановление функции тазовых органов, динамику маркера травматического повреждения нейронов спинного мозга в остром периоде спинномозговой травмы.
3. Изучить на модели экспериментального повреждения спинного мозга восстановление функций спинного мозга в зависимости от сроков начала терапии блокатором N-метил-D-аспартат-рецепторов кетаминном.
4. Изучить динамику изменения коэффициента поверхностного натяжения при использовании блокатора N-метил-D-аспартат-рецепторов в зависимости от времени начала терапии после повреждения.

Научная новизна

Разработан способ моделирования острого травматического повреждения спинного мозга, подана заявка на изобретение.

Впервые в условиях эксперимента показана нейропротекторная роль NMDA-блокатора кетамина при СМТ, наиболее выраженная при его раннем введении в терапию в остром периоде СМТ.

Впервые показана зависимость динамики коэффициента поверхностного натяжения ликвора от тяжести состояния и глубины неврологического дефицита

при СМТ.

Теоретическая и практическая значимость работы

Разработан воспроизводимый способ моделирования травматического повреждения спинного мозга с продолжительным выраженным неврологическим дефицитом, который может успешно использоваться для оценки эффективности новых фармакологических препаратов при ПСМТ.

На основании экспериментальных исследований обоснована эффективность использования блокаторов N-метил-D-аспартат-рецепторов в остром периоде спинномозговой травмы.

Определены сроки оптимального начала терапии с момента травмы СМ в эксперименте.

Определение коэффициента поверхностного натяжения может использоваться в клинической практике для оценки тяжести поражения спинного мозга, уровня эндогенных детергентов, тяжести критического состояния организма и является информативным интегральным критерием оценки детергентной интоксикации.

Методология и методы диссертационного исследования

Методами настоящего исследования были данные клинических, инструментальных, рентгенологических, лабораторных, гистологических, иммуногистохимических исследований, данные по определению коэффициента поверхностного натяжения, данные по иммуноферментному определению концентрации нейрон-специфической енолазы (NSE).

Положения, выносимые на защиту

1. Предложенный способ моделирования травматического повреждения спинного мозга соответствует научным требованиям к экспериментальным моделям и может быть использован для разработки новых методов терапии острой спинальной травмы.

2. Блокатор N-метил-D-аспартат-рецепторов кетамин обладает нейропротекторным эффектом на модели спинномозговой травмы, что обосновывает и определяет возможность целенаправленного его применения при повреждении спинного мозга.

Степень достоверности

Достоверность результатов диссертации основывается на экспериментальных исследованиях, выполненных на 80 кроликах у которых моделировалось острое повреждение спинного мозга. Выбор цели исследования и постановка задач, достаточный объем исследований, анализ полученных результатов и их корректная интерпретация, говорят о достоверности полученных результатов и обоснованности выводов, представленных в работе. Для оценки достоверности различий использовали непараметрические U-критерий Манна – Уитни (для независимых выборок) и T-критерий Вилкоксона (для связанных выборок). Критический уровень статистической значимости при проверке нулевой гипотезы принимали равный 0,05. Расчеты производились с помощью компьютерных программ Statistica 6.0 и Excel 2007.

Апробация работы

Основные положения диссертационной работы доложены, обсуждены и одобрены на: 3-й Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, с элементами научной школы для молодых ученых «Инновационные аспекты научно-исследовательских разработок в области вертебрологии, травматологии и ортопедии, нейрохирургии, нейроонкологии», посвященной 90-летию со дня рождения заслуженного деятеля науки РСФСР, профессора Я. Л. Цивьяна («Цивьяновские чтения») (Новосибирск, 2010); форуме анестезиологов и реаниматологов России (ФАРР-2019), 18-м Съезде Федерации анестезиологов и реаниматологов (Москва, 2019).

Диссертационная работа апробирована на заседании Ученого совета ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии

им. Я. Л. Цивьяна» Минздрава России и на заседании проблемной комиссии «Актуальные проблемы хирургических методов лечения заболеваний» ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Новосибирск, 2019).

Диссертационная работа выполнена в соответствии с утвержденным направлением научно-исследовательской работы ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я. Л. Цивьяна» Минздрава России (протокол № 8 от 29.06.2007) которая является частью плановой научной темы № 022 «Хирургическая реабилитация пострадавших с позвоночно-спинномозговой травмой» номер государственной регистрации 01.20.0214592 и в соответствии с утвержденным направлением научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России по теме: «Разработка и совершенствование методов профилактики, раннего выявления и хирургического лечения повреждений и заболеваний органов грудной и брюшной полости, органов головы, шеи и опорно-двигательного аппарата», номер государственной регистрации АААА-А15-115120910167-4.

Внедрение результатов исследования

Результаты проведенных исследований внедрены в учебный процесс и научную работу кафедры анестезиологии и реаниматологии им. проф. И. П. Верещагина ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

По теме диссертации получен патент на изобретение № 2704103 «Способ моделирования спинномозговой травмы».

Публикации

По теме диссертации опубликовано 9 научных работ, в том числе 1 патент на изобретение и 5 статей в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть

опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 3 статьи в журналах, входящих в международную реферативную базу данных и систем цитирования (Scopus).

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 88 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и списка иллюстративного материала. Список литературы представлен 149 источниками, из которых 95 в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 18 таблиц и 16 рисунков.

Личный вклад автора

Все операции на животных по моделированию травматического повреждения спинного мозга автор провел лично. Весь клинический материал, полученный в эксперименте, проанализирован и статистически обработан самим автором. Опубликованные работы написаны лично автором или при его непосредственном участии.

ГЛАВА 1 СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОГЕНЕЗЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ ПРИ ТРАВМЕ СПИННОГО МОЗГА И ЛЕЧЕБНОЙ ТАКТИКЕ У ПОСТРАДАВШИХ С ДАННЫМ ВИДОМ ПОВРЕЖДЕНИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Социально-медицинское значение и частота позвоночно-спинномозговой травмы

Позвоночно-спинномозговая травма при травматических повреждениях у пациентов имеет особую значимость ввиду выраженности социально-экономических последствий, трудности лечения, высокого уровня и степени инвалидизации пострадавших [4; 5; 8; 23; 25; 33; 43; 85; 103; 107; 126].

В связи с развитием промышленности, интенсификацией производства, увеличением количества транспортных средств и урбанизацией прослеживается отчетливая тенденция к увеличению частоты повреждений позвоночника и спинного мозга. По современным статистическим данным прослеживается рост повреждений спинного мозга более чем в 200 раз за 70-летний период [31].

В структуре общего травматизма ПСМТ встречается в 0,7–6,8 %; при травмах скелета – в 6,3–20,3 % [1; 40]. В Российской Федерации, в крупных промышленных городах (Санкт-Петербург, Нижний Новгород, Иркутск) частота позвоночно-спинномозговой травмы составляет 0,58–0,6 случаев на 10 000 населения [24; 27; 44;], в Казахстане – 1,3 случая [1], на Украине – до 4,4 случая [40]. Ежегодно количество пострадавших с позвоночно-спинномозговой травмой в России увеличивается на 8 000 человек [36].

В США частота повреждений позвоночника и спинного мозга составляет около 54 случаев на 1 миллион населения, и каждый год регистрируют около 17 тысяч новых пациентов с ПСМТ. Мужчины составляют около 76 % пострадавших. Число жителей с ПСМТ в США составляет приблизительно 288 000 (от 247 000 до 358 000 человек) [122].

Позвоночно-спинномозговой травме более чем в 80 % случаев подвержены

люди в возрасте от 17 до 45 лет [30; 34; 40], составляя в возрастной группе 15–19 лет 0,67 случаев на 10 000 [52] и 1,9 на 10 000 населения – в возрастной группе до 29 лет [44]. Среди пострадавших мужчины составляют от 62,5 до 76,5 % [34; 40].

Летальность при ПСМТ, прежде всего, зависит от тяжести повреждения спинного мозга – на догоспитальном этапе погибают до 37 % пострадавших [33; 79]. В стационаре летальность зависит от степени повреждения спинного мозга и связанных с этим ранних или поздних осложнений, а также от времени оказания специализированной помощи и составляет от 1,9 до 58,3 % в разных учреждениях в зависимости от профиля [12; 48; 49].

В результате повреждений позвоночника и спинного мозга инвалидность отмечается в пределах от 57,5 до 96 и даже 100 % [27; 39], составляя 0,7 % в структуре общего количества инвалидов [26], причем количество инвалидов в результате спинальной травмы ежегодно увеличивается [65]. В России в 2006 году число инвалидов данной категории составило 250 000 [7].

Среди причин ПСМТ лидируют дорожно-транспортные происшествия (36–43 %), также значительная часть ПСМТ является следствием падений с высоты (24,2–63,2 %), нырянием на мелководье (3–32 %), результатом насильственных действий, спортивных травм [21; 35].

Сочетанная ПСМТ наблюдается у 36–72 % пациентов [1; 12; 39]. Черепно-мозговая травма чаще встречается при переломах шейных позвонков (18–72 %); экстравертебральные повреждения, переломы конечностей, травма грудной клетки и её органов чаще встречаются при переломах грудного отдела, (до 52 %); при повреждении поясничного отдела – переломы костей таза (до 15 %), конечностей (до 27 %), повреждения органов брюшной полости (9,8–18,7 %) [15; 16; 32; 35]. По характеру повреждений ПСМТ может быть открытой и закрытой. В мирное время закрытая ПСМТ встречается в 70,1–88,6 % случаев [1; 111].

Повреждения позвоночника (вывихи и переломы позвонков, разрывы капсульно-связочного аппарата и межпозвонковых дисков) определяют

ортопедический компонент лечебных мероприятий (фиксация и стабилизация позвоночного столба, восстановление оси позвоночника в 3-х плоскостях), а сдавление спинного мозга и его корешков – нейрохирургический (декомпрессия спинного мозга и других нервно-сосудистых образований) [83].

Уровень повреждения спинного мозга, протяженность повреждения, а также своевременность декомпрессии спинного мозга, определяют распространенность и глубину неврологических проявлений, и прогноз восстановления нормальной жизнедеятельности. При травме шейного отдела позвоночника спинной мозг повреждается до 70 % случаев и сопровождается тяжелым характером повреждения (ушиб, компрессия, гематомия) и высокой летальностью (до 70 %) [19]. Травма грудного и поясничного отделов сопровождается повреждением спинного мозга в 31–75 % случаев [1; 29; 35; 43; 46; 53]. Повреждение шейного отдела спинного мозга встречается в 17–61 % случаев [29; 42], грудного – в 7,2–40 % [1; 16; 41; 42]. Повреждения поясничного утолщения встречаются в 8,7–57,8 % [16; 29; 43].

При травме выделяют по виду повреждения: сотрясение спинного мозга, ушиб спинного мозга и корешков спинномозговых нервов, сдавление спинного мозга и корешков спинномозговых нервов, частичный перерыв спинного мозга и спинномозговых нервов, полный анатомический перерыв спинного мозга и спинномозговых нервов. Сдавление спинного мозга выявляют у 20–26,7 % пострадавших, сдавление и ушиб – у 40–50,5 %, сдавление и размозжение – у 7,0–15,7 %, сдавление и анатомический перерыв – у 4,3–7,1 % больных [43; 44; 51].

Степень повреждения спинного мозга относится к одному из решающих прогностических факторов. Повреждение спинного мозга может быть полным (анатомическим или функциональным за счет спинального шока) и неполным (сотрясение и ушиб спинного мозга). Ушиб спинного мозга сопровождается полным или частичным анатомическим разрушением его вещества с кровоизлияниями, участками ишемии, некроза и регионарным отеком. Дифференциальная диагностика частичного и полного повреждения спинного

мозга в остром периоде травмы затруднительна. Частичное нарушение функций всегда свидетельствует о частичном повреждении спинного мозга. В то же время полное нарушение проводимости в остром периоде может сопровождать как частичное повреждение, так и полный перерыв спинного мозга; при этом окончательное заключение о степени повреждения можно сделать лишь по мере ликвидации явлений спинального шока. Поэтому в остром периоде ПСМТ целесообразнее говорить о синдроме полного либо неполного (частичного) нарушения проводимости спинного мозга.

На шейном уровне полное повреждение спинного мозга встречается у 33,7–52 % пациентов, на грудном уровне – у 12,5–54 % больных, на поясничном уровне – у 15–21 % [3; 53].

В оценке реабилитационного потенциала спинальных пациентов преобладает пессимистическая точка зрения, характеризующаяся как «терапевтический скепсис» [23].

Позвоночно-спинномозговая травма имеет небольшую частоту, но данные пациенты всегда находились в центре внимания нейрохирургов, травматологов, реаниматологов. Это связано с неутешительными непосредственными результатами комплексного лечения больных с данной патологией на современном этапе. Благодаря развитию медицины, показатели смертности в течение первых трех месяцев травматической болезни спинного мозга снизились с 92 % в начале и середине XX века до 27,9 % в настоящее время. Высокие показатели смертности связаны с тем, что повреждения спинного мозга часто сопровождаются осложнениями в виде пролежней (47–90 %), пневмонии (57 %), урологических осложнений (77 %), сепсиса (28,6 %). Около 50 % пострадавших после спинальной травмы живут более 25 лет, но большинство из них – глубокие инвалиды, требующие постоянного ухода [10; 19; 22]

1.2. Патогенез травматического повреждения спинного мозга, первичный и вторичный механизмы повреждения нейронов спинного мозга

Спинной мозг (СМ) имеет огромное физиологическое значение в интегративной деятельности нервной системы. При переломах позвоночника с повреждением СМ развивается сложный комплекс структурных и функциональных изменений, проявляющийся в виде многообразных нейротрофических, обменных, дисциркуляторных и инфекционных осложнений, который значительно отягощает течение всей травматической болезни и, несомненно, отражается на жизнедеятельности организма больного непосредственно и отдаленно после ПСМТ [13; 33].

Сложность проблемы обусловлена, во-первых, высокой степенью плотности нервных центров в СМ, особенностью его кровообращения и, во-вторых, низкой регенеративной способностью, делающей даже небольшой участок контузии СМ источником тяжелых нарушений жизненно важных функций, восстановление которых в последующем становится трудно разрешимой проблемой [25; 46].

Патофизиологические изменения, происходящие в очаге повреждения спинного мозга, всегда активно исследовались Российскими и зарубежными авторами [66; 126].

Современная теория патогенеза травматического повреждения спинного мозга предполагает два основных взаимосвязанных механизма гибели клеток: апоптоз и некроз. Исторически сначала появилось морфологическое описание гибели клетки, названной некрозом, под которым понимали необратимые изменения тканей [148]. С развитием гистологических методов окраски препаратов, давших возможность описывать детали процесса гибели, было установлено, что некроз является не одномоментным, а растянутым во времени процессом. В 1895 г. Флемминг описал хроматолиз – процесс быстрого исчезновения образовавшихся при распаде клеток фрагментов ядра [94]. Вейгерт ввел термины аутолиз, пикноз и кариолизис [38]. Со временем были сформулированы гипотезы о существовании естественного механизма смерти

клеток, позволяющего поддерживать клеточную популяцию в количественном и качественном составе на определенном уровне [100]. Впервые понятие клеточной смерти от апоптоза в противоположность некротической было введено в 70-х годах в работах Керра [114].

При повреждении в СМ морфологически выявляются оба типа клеточной смерти [149]. Апоптоз представляется как распространенный тип клеточной смерти и как один из путей клеточного обмена при травме. Травматическое повреждение спинного мозга не ограничивается разрушением структур локально, но и запускает серию взаимодействий, связанных в пространственно-временном отношении и приводящих к вторичной гибели первично интактных нейронов и глии. Это проявляется в виде гибели нейронов, восходящей и нисходящей дегенерации нервных волокон и суммарно отсутствием в зоне травмы полноценной регенерации. Вторичные патологические изменения после первичной механической травмы включают петехиальные кровоизлияния, прогрессирующие до геморрагического некроза, энзиматический липидный гидролиз с продукцией эйкозаноидов, свободнорадикальное липидное окисление, инфлюкс Ca^{2+} , увеличение протеазной активности, накопление возбуждающих аминокислот, кининов, серотонина, динорфина, ишемию с результатом в виде уменьшения напряжения кислорода в тканях и воспалительным нейтрофиллизмом полиморфноядерными лейкоцитами [2].

В момент травматического повреждения спинного мозга запускается множество патофизиологических механизмов, что затрудняет оценку роли механизма вторичного повреждения. В разные временные периоды после травматического повреждения максимальную выраженность имеют различные типы патофизиологических клеточных реакций.

Воспалительный ответ является наиболее ранним. Воспаление является универсальной клеточной реакцией организма, включающей иммунный и неиммунный компоненты, и ключевой реакцией в посттравматическом процессе [61]. Несмотря на то, что воспаление является главным санационным механизмом очага повреждения, при избыточном воспалительном ответе оно ведет к

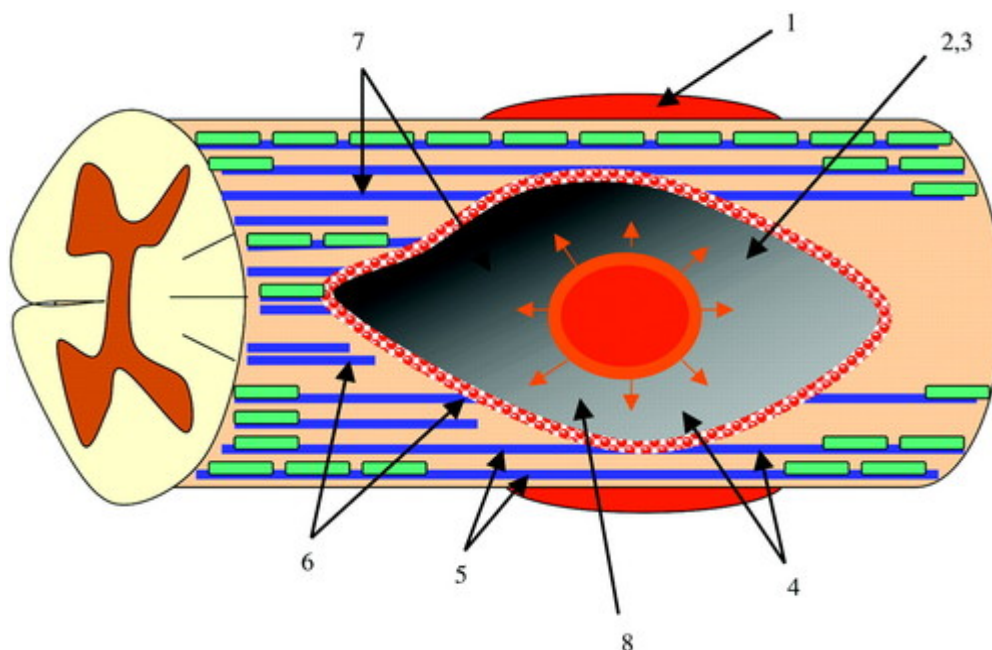
вторичному повреждению путем избыточной продукции медиаторов воспаления и развития гиперергических клеточных реакций, что далее вызывает и усиливает такие процессы, как ишемия, некротические изменения и апоптоз. Максимальная насыщенность полиморфноядерными лейкоцитами области травмы наблюдается уже через 24 ч после травмы СМ, максимум миграции макрофагов через 24–48 ч, максимум миграции натуральных киллеров, хелперов и супрессоров, модулирующих воспалительный ответ, через 48 ч (до 16 суток) [38]. Лейкоциты, мигрирующие в очаг травмы, выделяют большое количество прямых цитотоксичных факторов и медиаторов воспаления, поддерживая процесс воспаления и позволяя ему расширяться вне очага поражения. *In vitro* установлено вторичное повреждение путем выделения миелопероксидазы полиморфноядерными лейкоцитами [116], а назначение клодроната, подавляющего макрофаги, увеличивает сохранность миелинизированных трактов [112]. При блокировании продукции квинолиновой кислоты мононуклеарными фагоцитами (метаболит триптофана) способствует уменьшению *in vivo* неврологического дефицита. Путем выделения свободных радикалов и воспалительных цитокинов макрофаги и микроглия участвуют в прогрессирующем некрозе. Медиаторы воспаления (интерлейкина-1, интерлейкина-6, опухоленекротизирующего фактора, факторов адгезии тромбоцитов (IL-1, IL-1b, TNF α , PAF) и др. имеют множество мишеней и вызывают развитие воспалительного иммунного ответа многоуровневой структуры. Выделяющийся микроглией и макрофагами IL-1 α стимулирует выработку *in vitro* в глиальных клетках трансформирующего фактора роста, вызывающего гипертрофию астроцитов и увеличивающего их отек. Медиаторы воспаления IL-1 α , IL-1b, TNF α также выделяются поврежденным эндотелием сосудов; травма вызывает образование внутриклеточных молекул адгезии (ICAM1), являющихся иммуноглобулинами [92]. С самого начала повреждения система гемостаза участвует в процессе воспаления, а именно в начальной его фазе – адгезии лейкоцитов. Тромбин вызывает пролиферацию гладкомышечных, эндотелиальных клеток, увеличивает продукцию эндотелина, усиливает адгезию

лейкоцитов. Показано, что назначение антагониста тромбина (гирудина), уменьшает воспалительную клеточную инвазию. Пристальное внимание уделяется таким межклеточным посредникам, как интерлейкины. IL-1 через рецепторы глутамата может вызывать гибель клетки путем апоптоза; IL-6 участвует в регенерации (стимулирует выработку антител В-лимфоцитами, повышает Т-цитотоксичность); IL-10 является противовоспалительным, ограничительным звеном в цепи воспалительных реакций (уменьшает выработку IL-1, IL-6, IL-8, $\text{TNF}\alpha$, INF) [104].

Одновременно с воспалительной реакцией развивается и глиальный ответ. Глиальные клетки, создающие особое окружение нейронов, играют важную роль в процессе санации очага травмы и обеспечивают возможность нейронального выживания и восстановления. Уже через 24 ч в зоне травмы с участием системы комплемента активируются микроглиоциты, которые превращаются в макрофаги, активно поглощающие детрит. В дальнейшем комплементнезависимым путем микроглия активируется вдоль проводящих пучков на отдалении от места травмы, участвуя в процессе вторичной дегенерации волокон [38]. Микроглиальные клетки производят отростки, контактирующие с олигодендроцитами, и путем прямого фагоцитоза или выделения цитокинов (TNF) уничтожают миелин в проксимальном и дистальном отрезках мозга (в отношении к месту травмы) [51]. Несмотря на общую активацию глиальных клеток, в них усиливаются процессы программированной клеточной смерти – апоптоза, что во многом определяет дальнейшее развитие дегенеративного процесса. Прежде всего, апоптозу подвергаются клетки, тесно контактирующие с аксоном. Апоптоз олигодендроцитов приводит к быстрому набуханию миелина и заключению оставшихся олигодендроцитов как бы в изоляты, ловушки. Возможно, смерть этих интерфасцикулярных клеток является необходимой подготовкой для регенерации. На наиболее ранних стадиях глиального ответа (1–3 дня после травмы) реагируют астроциты как компонент гематоспинномозгового барьера. При этом клетки перестраиваются на ранние стадии онтогенетического функционирования, что подтверждается продукцией виментина, глиального

фибрилярного кислого протеина – белков быстроразвивающихся астроцитов [72].

Травматическое повреждение не просто разрушает клеточные структуры путем травматического, ишемического некроза, но глобально изменяет всю жизнедеятельность сохранившихся клеток, вызывая развитие отсроченной программированной гибели клеток – апоптоза.



Примечания: 1 – отек вещества мозга; 2, 3 – нейровоспаление; 4 – апоптоз; 5 – демиелинизация нервных волокон; 6, 7 – оксидативный стресс; 8 – глутаматная нейротоксичность.

Рисунок 1 – Схематическое изображение участка спинного мозга с очагами «первичного» (красно-оранжевый круг) и «вторичного» (серая зона) повреждения [107]

Гибель клеток путем апоптоза признается посттравматическим механизмом естественной клеточной смерти. Причиной развития апоптоза может быть прямое воздействие на геном клетки (вирусы) или не прямое влияние через нейромедиаторы (глутамат), медиаторы воспаления, ишемию и прочие факторы.

Такая полиэтиологичность апоптоза связывает его со многими патологическими состояниями – травмой, ишемией, инфекцией. Современные методы позволяют выявить самые ранние стадии апоптоза в клетках травмированного СМ. При этом механизм травмы – сдавление мозга в эксперименте (drop-weight model) или его пересечение – не имеет значения. Процессы, связанные с апоптозом, наблюдаются уже спустя 6 ч после травмы. Первый пик гибели клеток происходит примерно через 3 дня – апоптозу подвергаются как нейроны, микроглия, так и в меньшей степени олигодендроглия; второй пик – это максимальная гибель олигодендроцитов к концу 2-й недели. Предполагают, что глиальный апоптоз может быть причиной аксональной дегенерации. Изменения ДНК, сопровождающие апоптоз, проявляются экспрессией особых генов и трансляцией им соответствующих белков. Такие агенты, как Ca^{2+} , глутамат, ишемия, гипоксия, запускают включение ранних немедленных генов с продукцией соответствующих белков, в частности теплового шокового протеина, белка p53. Последний, известный как белок-супрессор опухолей, участвует в восстановлении ДНК поврежденной клетки. Максимум его содержания находят через 2 сут; исчезает к 7-м суткам посттравматического периода. Обнаруживается p53 в глиальных клетках и на некотором удалении от места травмы СМ – и это является ранним ответом, предшествующим ваалеровской дегенерации волокон. Конечная фрагментация хроматина связана с активацией эндонуклеаз, расщепляющих ДНК. Параллельно происходит оксидация белка ДНК, маркером которой является накопление протеинкарбонилов [133].

Таким образом, апоптоз нейронов приводит к прогрессирующей потере числа активных клеток, а апоптоз глии препятствует выживанию и прорастанию оставшихся волокон, что выражается в отсутствии полноценной регенерации в СМ.

Из наиболее явных опосредованных механизмов травматического повреждения можно выделить ишемию. Ишемия СМ является непрямым компонентом его травматического повреждения. Простое сдавление сосудов СМ без травматического повреждения клеток приводит к ишемическому некрозу,

развитию воспалительной реакции, запускает апоптоз. Уже через 180 мин компрессии сосудов мозга наступают полностью необратимые изменения нейронов. Травма и ишемия вместе ответственны за клиническое проявление в виде пара-, тетраплегии из-за повреждения белого вещества СМ. Хотя детали молекулярного каскада, ведущего к необратимой аксональной дисфункции в СМ при спинномозговой травме и ишемии только частично изучены и понятны, эти результаты могут иметь практическое применение в отношении этих нарушений. При этом обсуждается роль $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -, Na^+/H^+ -насосов, возбуждающих аминокислот (глутамат, аспартат), ионов Ca^{2+} в патогенезе ишемических процессов, связанных с травмой СМ [62]. Ишемия приводит к повреждению гематоспинномозгового барьера – снижается содержание специальных молекул барьера – глюкозо-1-транспортёр (GLUT-1) и эндотелиально связанного антигена.

Описанные клеточные реакции на субклеточном уровне реализуются путем активации биологически активных веществ, которые изменяют как функционирование клеток, так и внутриклеточную структуру. В свою очередь первичные структурные повреждения вызывают освобождение ранее неактивных веществ, которые приводят к вторичному повреждению структуры клеток. Такая связь между структурой и функцией лежит в основе формирования пространственной и временной цепи взаимосвязанных первичных и вторичных патологических реакций.

Количественный анализ острой аксональной патологии при экспериментальной контузии СМ показал общую тенденцию в повреждении СМ: в течение 15 мин повреждается серое вещество, в течение 4 ч – белое. Медленное развитие повреждения белого вещества дает терапевтическое «окно» для воздействия на процесс [76]. Уже через 15 мин 60 % аксонов повреждается: наблюдается аксональный коллапс цитоскелета в виде отсутствия микротрубочек, плотного расположения нейрофиламентов. Это сочетается с развитием внутриклеточного ацидоза, накоплением внутриклеточного Ca^{2+} (вовлекаются $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -, Na^+/H^+ -насосы) [133].

Стало бесспорным, что изменения в Ca^{2+} -обмене играют роль в

патофизиологическом каскаде клеточных изменений, которые ведут к нейрональной смерти и дегенерации после травмы ЦНС. Изменения в гомеостазе ионов Ca^{2+} лежат в основе клеточной смерти при ишемии СМ. Отмеченные изменения в концентрации ионов Ca^{2+} в зоне травмы линейно коррелируют с размером нанесенной травмы СМ в эксперименте [59]. Ca^{2+} является одним из вторичных мессенджеров между мембраной и клеточными ферментными системами, между мембраной и генным аппаратом. Отмечена экспрессия некоторых генов при достижении концентрации Ca^{2+} определенного уровня. Повышение внутриклеточного Ca^{2+} приводит к абсорбции его митохондриальными мембранами и последующим блокированием дыхательной цепи электронов. Повышенное внутриклеточное содержание Ca^{2+} активирует нелизосомальную цистеиновую протеазу кальпейн, приводя к лизису цитоскелета, деградации энзимов (киназ, фосфолипаз), мембрано-ассоциированных белков (ионных каналов, переносчиков, рецепторов, молекул адгезии). Расположенный и в нейронах, и в глии, кальпейн оказывается вовлеченным в постишемическую и посттравматическую цитотоксическую реакцию, связанную с повышением внутриклеточного Ca^{2+} [137]. Несмотря на большое число публикаций, вопрос о роли Ca^{2+} при травме СМ остается открытым. Исследуются также аспект о роли $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -каналов на выживание нейронов. В частности, указывается на открытие электровозбудимых каналов при ишемии с дальнейшим включением $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -, Na^+/H^+ -насосов, развитием внутриклеточного ацидоза и повышением внутриклеточного Ca^{2+} [136].

1.3 Значение N-метил-D-аспартат-рецепторов и их блокады для течения посттравматического периода

Важнейшим элементом патофизиологического и патобиохимического каскада ишемии и травмы спинного мозга является глутаматная нейротоксичность [66; 126; 127]. Ишемические процессы приводят к обширному окислению нервной ткани из-за чрезмерного высвобождения возбуждающих

аминокислот (глутамат, аспартат), которые накапливаются во внеклеточном пространстве, вызывая дальнейший некроз и апоптоз нейронов [14; 127]. Поскольку нейроны содержат и высвобождают глутамат и аспартат, имея глутаматные рецепторы, нейротоксический эффект высвобожденного глутамата усугубляется стимуляцией его собственного высвобождения в цепи с положительной обратной связью [127]. Нейротоксичность глутамата тесно связана с нерегулируемым потоком Ca^{2+} в нейроны через контролируемые глутаматом рецепторные кальциевые каналы, а также с нарушением процесса митохондриальной проницаемости, что является последним, фатальным шагом в последовательности патохимических событий, инициированных глутаматом [127].

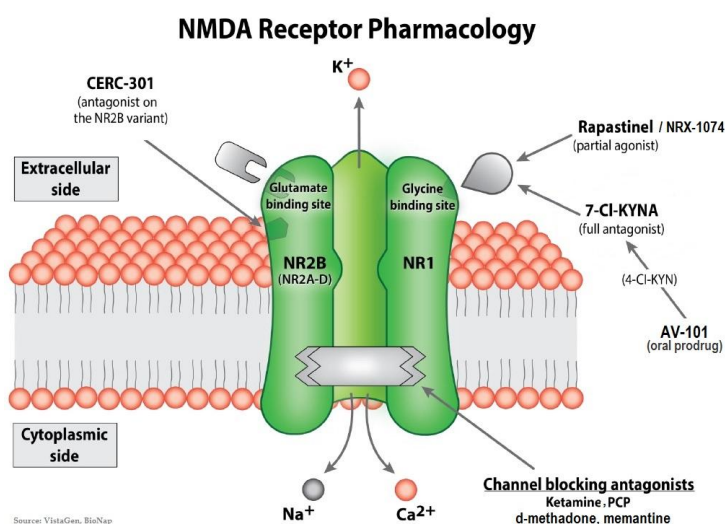


Рисунок 2 – Строение и фармакология NMDA-рецептора

Глутаматные рецепторы обнаружены также в глиальных клетках, в особенности в олигодендроцитах. Следовательно, глутаматная нейротоксичность приводит к гибели, как нейронов, так и глии, поражая белое вещество [127].

Свободнорадикальное окисление и образование метаболитов арахидоновой кислоты. Проводится изучение связи рецепторов глутамата, аспартата, ионов Ca^{2+} с образованием метаболитов арахидоновой кислоты [91]. Изменение содержания

внутриклеточного Ca^{2+} после травматического повреждения увеличивает воздействие на клеточные мембраны и цитоскелет путем активации кальпейна, липаз и вызывает образование патологических составляющих из каскада метаболизма арахидоновой кислоты. Травма вызывает продленную деградацию мембранных фосфолипидов, отсроченную по времени [126]. Значительно повышается содержание инозитол-3-фосфата, что самостоятельно приводит к росту внутриклеточного Ca^{2+} .

При ишемии посттравматические повреждения мембран и уменьшение поступления субстрата участвуют в продукции метаболитов арахидоновой кислоты и активных форм кислорода (O^*). Источник O^* – освобождение его из митохондрий при повышении содержания Ca^{2+} , моноаминоксидазы, циклоксигеназа, синтетаза NO [116]. Высокий уровень глутамата может генерировать высокий уровень O^* после травмы ЦНС. Свободное реактивное железо также может участвовать в образовании O^* . O^* приводит к деструкции билипидных мембран, окислению протеинов, нуклеиновых кислот. O^* может повреждать некоторые регуляторные процессы, включая цитокины и факторы роста, которые обуславливают включение генов, участвующих в апоптозе [141]. Травма приводит к истощению эндогенных антиоксидантов – витаминов А, Е, С, убихинона, это способствует посттравматической клеточной смерти путем неконтролируемого перекисного повреждения, которое может распространяться в изначально неповрежденном мозге.

Суммарный эффект травмы можно оценить как сумму первичной гибели нервной ткани и вторичного распространенного повреждения – апоптоза вблизи места травмы и на отдалении. При этом сохраненные аксоны вследствие демиелинизации теряют нормальную проводимость. В сочетании с низким регенераторным потенциалом нервной ткани такое повреждение приводит к стойкому неврологическому дефициту.

Ингибирование апоптоза может способствовать регенерации, а ее стимуляция в свою очередь может подавлять вторичное повреждение [93].

Разработка терапевтического воздействия на апоптоз в настоящий момент

находится на начальном этапе. Существенным аргументом в пользу антиапоптозной терапии при спинальной травме является ограниченность регенераторного потенциала СМ. Поэтому такое вмешательство будет проводиться по жизненным показаниям для СМ, несмотря на риск возможных последствий в виде возникновения неполноценных клеток. Задача терапии предотвратить апоптоз как можно раньше, на этапах, когда исполнители апоптоза еще не задействованы. Чтобы уменьшить риск, связанный с переходом в необратимую фазу или с появлением каких-то неполноценных клеток, подавление апоптоза в этом случае должно быть произведено в кратчайшие сроки после травмы [74; 128].

Уже сейчас появляются возможности воздействия на различные этапы механизма развития апоптоза. Значительная роль придается токсическим эффектам «возбуждающих» аминокислот, и среди них – глутамату. Нейротоксичность этих медиаторов реализуется через рецепторы типа NMDA и AMPA, поэтому особое внимание уделяется изучению блокаторов этих рецепторов – МК801, циклогексимида и декстрофана [84; 132]. При этом оценивается как выраженность апоптоза, сохранность нервной ткани, так и клинический эффект [110].

Канал, ассоциированный с NMDA-рецептором, проницаем для K^+ , Na^+ и Ca^{2+} . Внутри канала находится участок (или участки) связывания "канальных" блокаторов (фенциклидин, кетамин, мемантин). Длительная избыточная активация NMDA-рецепторов приводит к патологическому повышению внутриклеточной концентрации кальция и запускает необратимые изменения (активация Ca^{2+} -зависимых протеаз, эндонуклеаз, фосфолипаз), ведущие к гибели нейрона (так называемый механизм «кальциевой смерти»). Гибель нейронов наблюдается при системном и локальном введении больших доз агонистов, а также в культурах нейронов, обогащенных высокими концентрациями агонистов [6; 68].

Нейротоксическое действие возбуждающих аминокислот стало предметом исключительно интенсивного изучения после того, как была установлена

глутаматергическая природа многих нейродегенеративных расстройств, и возбуждающие аминокислоты стали рассматривать в качестве «эндогенных факторов нейротоксичности». К нейропатологическим состояниям, обусловленным гиперактивностью глутаматергической системы, относят не только классические нейродегенеративные расстройства (болезнь Альцгеймера, хорей Гентингтона, болезнь Паркинсона, боковой амиотрофический склероз), но и ишемические поражения головного мозга, различные энцефалопатии (включая диабетические), когнитивные и мнестические расстройства на поздних стадиях эпилепсии, алкоголизма и др.. Иными словами, речь идет практически о всех патологических состояниях, при которых наблюдается гибель нейронов. При этом избыточное высвобождение глутамата может быть как первичным (генетически детерминированные отклонения в уровнях экспрессии глутаматных рецепторов, транспортеров и т. д.), так и вторичным звеном патологического процесса (нарушение кислородного баланса нейрональной ткани, ослабление гетеросистемного контроля пресинаптического высвобождения глутамата и т. д.). И в том и в другом случае глутамат играет ключевую роль в каскадной реакции гибели нейрона, что подтверждается большими повреждениями в тех структурах мозга, которые наиболее богаты глутаматными рецепторами. Например, даже при краткосрочной ишемии головного мозга наблюдается практически полная гибель пирамидных нейронов гиппокампа.

В экспериментальных условиях антагонисты NMDA-рецепторов эффективно противодействуют различным проявлениям ишемии мозговой ткани. Они влияют не только на размеры инфаркта, но и на метаболические нарушения и некоторые электрофизиологические феномены (например, распространяющаяся корковая депрессия), которые усугубляют последствия ишемии.

В эксперименте выявлено также, что введение антагонистов NMDA-рецепторов через 3 дня после глобальной или фокальной ишемии оказывает нейропротективное действие в зонах вторичного поражения [108].

Фенциклидин, кетамин, а также ряд других арилциклоалкиламинов относятся к так называемым «designer drugs», фармакологическим агентам,

которые связываются не только с NMDA-рецепторами, но и с фенциклидиновыми-опиатным рецепторами.

Кетамин также относится к низкоаффинным канальным блокаторам. Так как психотомиметические свойства кетамина хорошо известны, клиническая безопасность канальных блокаторов, очевидно, определяется не только аффинностью, но и кинетикой взаимодействия вещества с местом связывания.

Наличие знаний о временной характеристике развития апоптоза позволяет прогнозировать и планировать лечебную тактику: в частности отсроченная гибель олигодендроцитов дает терапевтическое окно для проведения фармакологической коррекции вторичного повреждения. Среди факторов, которые исследуются в связи с влиянием на апоптоз, можно перечислить следующие:

1) ведение ганглиозида GM1 или метилпреднизолона [58]. Однако современными исследованиями установлено, что метилпреднизолон, который используется в схемах лечения острой травмы позвоночника и спинного мозга, подавляет апоптоз на отдалении от очага травмы, но стимулирует его в области травмы. На данный момент использование ганглиозида GM1 и метилпреднизолона не рекомендуется в связи с выраженными побочными явлениями при отсутствии клинически значимого эффекта [75];

2) несколько препаратов, которые уже одобрены управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) для других заболеваний человека, показали себя как нейропротективные агенты, действующие путем модуляции воспалительного ответа.

Ролипрам, селективный ингибитор фосфодиэстеразы-4 [143].

Финголимод (FTY720), иммуносупрессивный препарат, предназначенный для лечения рассеянного склероза. Он модулирует рецепторы сфингозин-1-фосфата [95].

Иматиниб, клинически используемый для лечения лейкемии и желудочно-кишечных стромальных опухолей [108].

Аторвастатин (Lipitor), используемый для снижения холестерина [130].

Эритропоэтин показал значительное ослабление воспаления и апоптоза,

поддержание микроциркуляции и целостности тканей, и улучшенной двигательной активности при введении в течение 24 часов после СМТ [99; 119].

Хондроитиназа ABC (chondroitinase ABC) , при использовании появлялась возможность регенерации нейронов, уменьшалось вторичное повреждение. [80; 98; 102]

Исследователи отметили, что использование этих препаратов приводит к уменьшению числа воспалительных клеток, ингибированию апоптоза, уменьшению тканевого повреждения и улучшению восстановления двигательной функции при моделировании ПСМТ в исследованиях на животных.

Исследование влияния ингибиторов каспаз и других протеаз на апоптоз [141].

Изучение связи апоптоза с медиаторами воспаления – введение интерлейкина 10 [60; 85; 144].

Использование простагландина E.

Введение рилузола – блокатора глутаматергической нейротоксичности и протеолиза цитоскелета [135].

Исследование влияние факторов роста нервной ткани на апоптоз: NGF, BDGF, NT3 и др.

Проводятся исследования, направленные на обнаружение основных молекулярных мишеней для воздействия на поврежденный спинной мозг. В частности, исследования возможности влияния на экспрессию генов, связанных с апоптозом, например, анти-апоптозного протоонкогена bcl-x и p 53 [67; 77; 97]. Подавление экспрессии проапоптозных генов, с использованием антисмысловых олигонуклеотидов (antisense oligodeoxynucleotides – АСОДН), Для ингибирования апоптоза в ткани поврежденного спинного мозга наиболее вероятной мишенью для терапии АСОДН могут быть каспазы, в частности каспаза 3 или активирующие ее каспаза 6 и каспаза 9, а также эндонуклеазы [77].

Другим интригующим подходом к антиапоптозному лечению травматического повреждения спинного мозга является генная терапия. Специально конструируются векторные плазмиды или вирусы, способные

направленно заражать клетки спинного мозга и экспрессировать в них заданную мРНК (антисенс) или белок (например, ингибитор апоптоза).

Благодаря использованию современных методов интенсивной терапии происходит уменьшение сроков пребывания пострадавших с ПСМТ в ОРИТ, длительность нахождения в стационаре и показателей госпитальной летальности [49]. При этом несомненно, что механизмы апоптоза, а также возможные пути влияния на него при травматическом повреждении спинного мозга требуют дальнейших исследований в целях поиска и внедрения фармакологических препаратов, предотвращающих развитие апоптоза, что позволит усовершенствовать имеющуюся комплексную терапевтическую стратегию лечения больных с повреждением спинного мозга.

Можно предположить, что эффективность антагонистов NMDA-рецепторов определяется их способностью противодействовать эффектам длительного, но низкоамплитудного повышения активности глутаматергической системы. Низкоаффинные канальные блокаторы с быстрой обратной кинетикой идеально подходят для применения в таких условиях.

Физиологическим обоснованием применения антагонистов NMDA-рецепторов в качестве средств терапии хронических болевых синдромов может служить:

- а) способность подавлять развитие «центральной сенситизации», не влияя на проведение физиологических сигналов через глутаматергические синапсы;
- б) специфический характер распределения субъединицы NMDAR2B в спинном мозге.

Возникновение центральных гипералгетических состояний можно представить следующим образом. После повреждения периферической ткани возбуждающие нейротрансмиттеры (например глутамат и субстанция Р), действуя через NMDA- и нейрокининовые NK1-рецепторы, запускают несколько каскадных процессов с высвобождением оксида азота, продуктов циклооксигеназной активности и с активацией некоторых киназ. Спинальный диализ подтверждает

высвобождение возбуждающих аминокислот и простаноидов. Нейрокининовые и глутаматные (NMDA- и не-NMDA-подтипы) рецепторы повышают высвобождение простагландинов E2 [131]. Спинальные простагландины способствуют дальнейшему высвобождению аминокислот и пептидов. Активация $\alpha/6$ -, α_2 -рецепторов и рецепторов нейропептида Y предотвращает высвобождение аминокислот и пептидов из первичных афферентов и способна блокировать острую и хроническую боль [84]. Блокада NMDA-рецепторов не должна оказывать значимого воздействия на острую боль, так как эти рецепторы не обнаруживаются постсинаптически в синапсах, образованных первичными афферентами и нейронами широкого динамического диапазона. При хронической боли развивается гиперактивность как пре- (первичные афференты), так и постсинаптических (синапсы, образованные нейронами второго порядка и нейронами широкого динамического диапазона) NMDA-рецепторов. Причина развития этой гиперактивности скорее всего заключается в продолжительном повышении внутриклеточной концентрации Ca^{2+} , активации Ca^{2+} -зависимых протеинкиназ, которые фосфорилируют NMDA-рецептор, снижают магниевый блок.

В настоящее время кетамин является единственным блокатором NMDA-рецепторов, разрешенным для использования в клинической практике.

У людей болевой синдром, обусловленный временной суммацией вторичных болевых ощущений, рассматривается как своего рода аналог феномена «wind-up» и эффективно купируется при введении кетамина и декстрометорфана [84]. Системное введение кетамина в субанестетических дозах также блокирует проявления «фантомного» болевого синдрома, хронической постгерпетической невралгии, постишемических и других нейропатических болевых состояний у людей. Известен также случай излечения нейрогенного болевого синдрома после субарахноидального введения конкурентного антагониста NMDA-рецепторов CPP [106].

В клинических испытаниях установлена способность кетамина в субанестетических дозах значительно повышать анальгетический потенциал

морфина у резистентных к последнему онкологических больных, а также снижать их потребность в опиатной анальгезии.

Таким образом, анализ экспериментальных и клинических данных свидетельствует о возможной перспективе использования NMDA-блокатора в остром периоде ПСМТ. На данный момент отсутствуют работы по экспериментальному обоснованию и клиническому внедрению кетамина для нейропротекции у пациентов с повреждением СМ, что послужило основанием для проведения данной работы.

1.4 Коэффициент поверхностного натяжения как интегральный показатель гомеостаза

Физиолого-биохимический статус определяется складывающимися на определённый период концентрациями липидов, белков и других биологически активных соединений (БАС) в крови, в тканях и органах. Эти вещества, обладают поверхностно-активными свойствами, то есть способны адсорбироваться на жидких границах раздела фаз и изменять поверхностное натяжение плазмы крови. Интегральный показатель, характеризующий поверхностные явления, – коэффициент поверхностного натяжения (КПН) сыворотки крови [9; 28]. Снижение КПН коррелирует с тяжестью состояния, как это было показано для сепсиса или травматической комы. При диабетическом кетоацидозе экспресс-оценка КПН представляет практический интерес с целью оценки тяжести состояния пациента при гиперкатаболизме, риска развития у него органических дисфункций. Так же выявлено, что производные СЖК ответственны за дестабилизацию мембран и нарушения сердечного ритма при стрессовых состояниях [9].

Очевидно, что снижение КПН связано с накоплением эндогенных детергентов и последующим поражением мембран клеток и других липидных структур. Важными метаболическими агентами, способными оказывать детергентное действие, появляющимися в свободном кровотоке при развитии

критических состояний, являются свободные жирные кислоты (СЖК). Известно, что ишемия\реперфузия является важной причиной повышения уровня свободных жирных кислот вследствие активации тканевых липаз. Увеличение концентрации СЖК при 45 минутной ишемии головного мозга сопровождалось ростом СЖК в 14 раз к концу ишемии. Подобное повышение СЖК может быть как маркером регионального повреждения липидных мембран, так и патогенетическим явлением, способным оказывать детергентный эффект на мембраны клеток. Детергентным эффектом способны обладать также лизофосфатиды, образующиеся при расщеплении фосфолипидов фосфолипазой А₂, а также желчные кислоты. Использование метода динамической тензиометрии в гепатологии позволило также установить корреляцию между концентрацией жирных кислот и показателем динамического поверхностного натяжения крови [115]. Показатель тензиометрии сыворотки крови и реометрии может являться интегральным показателем эндогенной интоксикации, системного воспалительного ответа, являться критерием эффективности интенсивной терапии у больных с ОПН [47]. Динамическое поверхностное натяжение, например сыворотки крови, оказывается достаточно чувствительным к различным патологическим изменениям в организме человека и представляет научный интерес в совершенствовании ранней диагностики заболеваний.

С точки зрения физики, изменение КПН неизбежно приведет к изменениям таких свойств коллоидной системы (в данном случае – плазмы), как капиллярность и смачиваемость. Указанные явления очень тесно связаны с КПН. Соответственно, при повышении уровня ПАВ в растворе и снижении КПН уменьшается смачиваемость и капиллярность. Эти физические свойства жидкости (в живом организме – плазмы) могут служить, дополнительным фактором, способствующим (при нормальных значениях) либо препятствующим (при снижении этих значений) нормальной органной перфузии. Таким образом, КПН отражает тяжесть интоксикации, выраженность повреждения клеточных мембран, а также отражает выраженность нарушений капиллярного кровотока. Помимо сказанного выше экспресс-оценка КПН может являться одним из быстрых

методов диагностики выраженности липидного дистресс-синдрома, а также оценки физиолого-биохимического статуса организма

1.5 Использование нейрон-специфической енолазы в диагностике повреждения нервной системы

Лабораторная диагностика с определением в крови или цереброспинальной жидкости нейроспецифичных биохимических маркеров (биомаркеров) является актуальным направлением современной неврологии. В качестве потенциальных биомаркеров ишемии и травмы спинного мозга были изучены белок S100 β , нейрон-специфическая енолаза (NSE), глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP), тау-белок, нейрофиламенты, провоспалительные цитокины [127].

Основным маркером повреждения нервной ткани является нейронспецифическая енолаза. Нейронспецифическая енолаза – внутриклеточный фермент центральной нервной системы, присутствующий в клетках нейроэктодермального происхождения (в нейронах головного мозга и периферической нервной ткани). NSE является нейронспецифическим маркером. NSE – это единственный известный в настоящее время общий маркер всех дифференцированных нейронов. При заболеваниях, сопряженных с непосредственным вовлечением нервной ткани в патологический процесс, качественные и количественные определения этого белка в спинномозговой жидкости или сыворотке крови дают ценную информацию о степени выраженности повреждений нейронов и нарушениях общей целостности гематоэнцефалического барьера. Также NSE характеризует степень постишемического повреждения мозга.

Регистрация уровней NSE помогает предсказать летальный исход (девятикратное увеличение риска смерти в течение первых 4 дней после травмы), но они не релевантны в случае поздней смертности.

1.6 Экспериментальные модели травмы спинного мозга

Поскольку не существует действенного метода лечения повреждения спинного мозга, является важным создание идеальной модели на животных для понимания механизмов повреждения и разработки лечебных мероприятий при повреждении СМ [140].

Крысы чаще всего используются при моделировании травмы СМ в связи с тем, что данные модели недороги, легко доступны и демонстрируют похожие на человека функциональные, электрофизиологические и морфологические результаты [146]. Мыши часто используются для генетических исследований [145]. Также объектами для моделирования травмы СМ используются приматы, кролики, свиньи, собаки [87; 140].

Вместе с тем, развитие новых методов терапии и реабилитации спинальной травмы невозможно без создания воспроизводимой экспериментальной модели. При этом идеальная модель должна соответствовать следующим требованиям: (1) моделировать повреждение, похожее на получаемое пострадавшими с травмой СМ; (2) быть управляемой, воспроизводимой и стабильно работающей; (3) основываться на методике, простой для изучения; (4) оборудование, используемое для создания модели, должно быть не сложным в производстве, с возможностью стандартизации [63; 73; 89].

В настоящее время существует ряд экспериментальных моделей травмы СМ, которые можно объединить в следующие группы:

- 1) модели с использованием ишемии – реперфузии (путем пережатия или окклюзии аорты) [56; 68; 71];
- 2) модели повреждения путем нанесения травмирующего воздействия:
 - а) по Allen травмируют падающим предметом определенной массы [64];
 - б) улучшенные модели, со стандартизацией наносимого травмирующего воздействия [81];
 - в) модели с использованием пневматических [147], электромагнитных устройств;

г) тракционные модели [54; 88; 125];

д) другие варианты механического воздействия на СМ (пальцем, ручкой скальпеля, зажимом Кохера, хирургическим пинцетом, надувным баллоном, помещенным в эпидуральное пространство) [59; 82; 98; 117; 121; 123; 138];

3) модели с транссекцией СМ [105; 117; 139; 142];

4) фотохимически индуцированное поражение СМ [57; 78; 129].

В обзорах указывается на наличие у каждой из моделей положительных и отрицательных особенностей и отмечается необходимость в создании адекватной, воспроизводимой и технически соответствующей требованиям модели.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Законодательные аспекты экспериментальных и клинических исследований

Содержание лабораторных животных и экспериментальные работы на них проводились в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей и приказом Министерства Здравоохранения СССР от 12 августа 1977 г. № 755 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных».

Протокол этического комитета № 025/07 от 23 мая 2007 года.

2.2 Дизайн исследования



Рисунок 3 – Схематическое представление проведенного исследования

2.3 Моделирование экспериментального повреждения спинного мозга

Научная работа основана на экспериментальных исследованиях, выполненных на 80 кроликах массой 2 500–3 400 г, у которых моделировалось острое повреждение спинного мозга. В до- и послеоперационном периоде животные содержались в условиях вивария Новосибирского НИИТО.

Операции по моделированию повреждения спинного мозга животных проводились в условиях экспериментальной операционной, при соблюдении правил асептики и антисептики.

Анестезия при проведении вмешательства включала в себя внутривенное введение пропофола через дозатор шприцевого введения со скоростью 16–40 мг/кг/ч, промедол в/м 7 мг/кг.

Операционное поле животного выбривали от лопаток до середины поясничного отдела – по длине и на уровне середины ребер справа и слева – по ширине (рисунок 4). Животное фиксировали на операционном столике. Зону операционного поля обрабатывали 70 % этиловым спиртом двукратно и изолировали с помощью стерильных салфеток, прикрепляемых к коже цапками.

Кожу рассекали продольно над позвоночником от 10 грудного позвонка до 3-го поясничного над остистыми отростками. Подкожную фасцию рассекали ножницами по ходу кожного разреза. С двух сторон острым путем скелетировали остистые отростки и дужки 11, 12 грудных позвонков, 1, 2 поясничных позвонков (см. рисунок 4).

Удаляли костный фрагмент остистого отростка позвонка L1 (рисунок 5) и открывали прямой доступ к спинному мозгу.

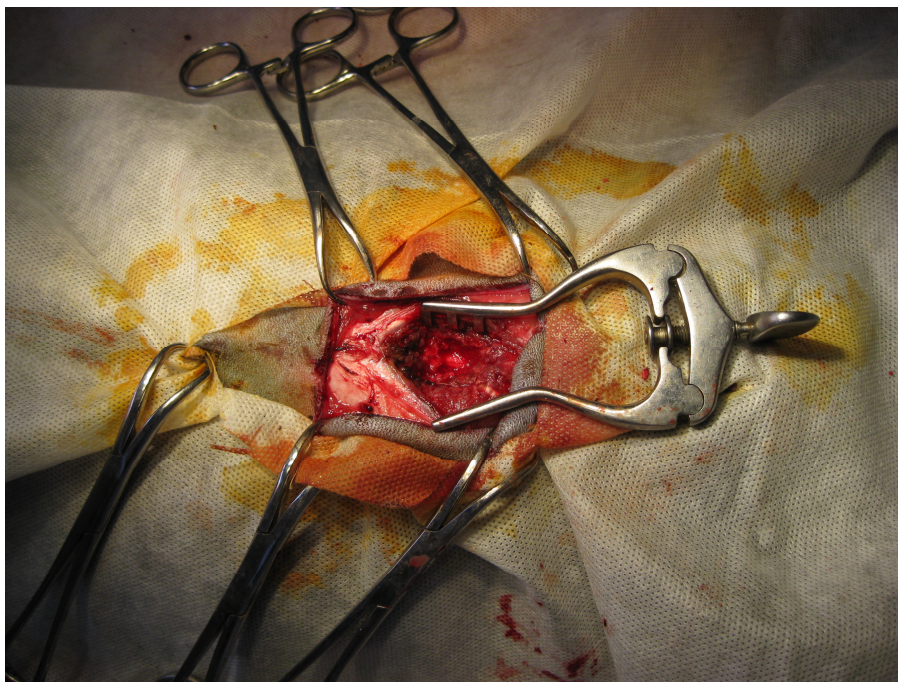


Рисунок 4 – Произведена ламинэктомия, видна дорзальная поверхность
спинного мозга



Рисунок 5 – Рентгенография после проведенного хирургического вмешательства

Наносили стандартную открытую ПСМТ на нижегрудном уровне. Для этого проводили ламинэктомию одного позвонка на верхнепоясничном уровне, твердую мозговую оболочку при этом оставляли интактной. Для нанесения травмирующего воздействия использовали ударное устройство с дозированной силой и площадью удара, устанавливаемое перпендикулярно к спинному мозгу (рисунок 6).

2.4 Описание ударного устройства

Устройство для моделирования очагового поражения содержит корпус, представляющий собой полый направляющий цилиндр; рычаг взведения; ударный механизм, состоящий из штока и сменного бойка; сменную приводную пружину; спусковой механизм, состоящий из рычага и винта поджатия, служащего упором приводной пружине; опорную гайку для крепления устройства к внешним штативам и упорам и монтирования на нем дополнительных приборов и элементов. Корпус выполнен с внутренней резьбой в верхней части, соответствующей резьбе на винте поджатия, и наружной резьбой в нижней части, соответствующей резьбе на опорной гайке, и имеет прорезь для перемещения рычага взведения вдоль оси ударного механизма.

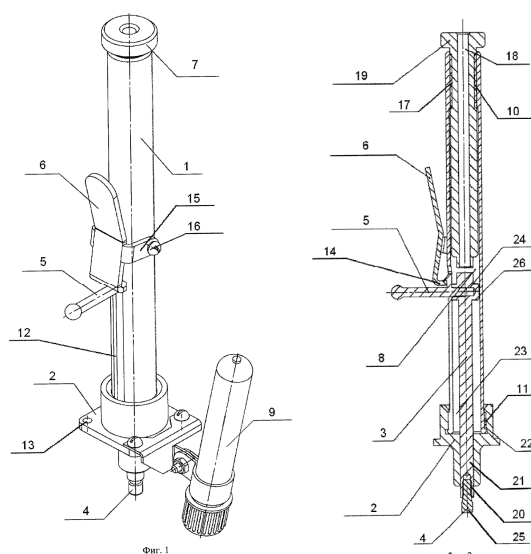


Рисунок 6 – Схема ударного устройства

На рисунке 6 (Фиг. 1) представлен общий вид устройства для моделирования очагового поражения головного мозга с закрепленным на нем лазерным целеуказателем 9 для точного позиционирования бойка перед нанесением травмы: 1 – корпус, 2 – опорная гайка, 4 – боек, 5 – рычаг взведения, 6 – спусковой рычаг, 7 – винт поджатия, 12 – прорезь корпуса, 13 – крепежное отверстие, 15 – проушина, 16 – отверстие для крепления спускового рычага к корпусу.

На рисунке 6 (Фиг. 2) представлено устройство в продольном разрезе: 3 – шток, 8 – приводная пружина, 14 – «крючкообразный» выступ спускового рычага 6, 10 – внутренняя резьба корпуса, 11 – внешняя резьба корпуса, 17 – резьба винта поджатия, 18 – внутреннее отверстие винта поджатия, 19 – головка винта поджатия, 20 – внутренняя резьба штока, 21 – малый диаметр отверстия опорной гайки, 22 – внутренняя резьба опорной гайки, 23 – большой диаметр отверстия опорной гайки, 24 – резьбовое соединение рычага взведения со штоком, 25 – головка бойка, 26 – заплечник.

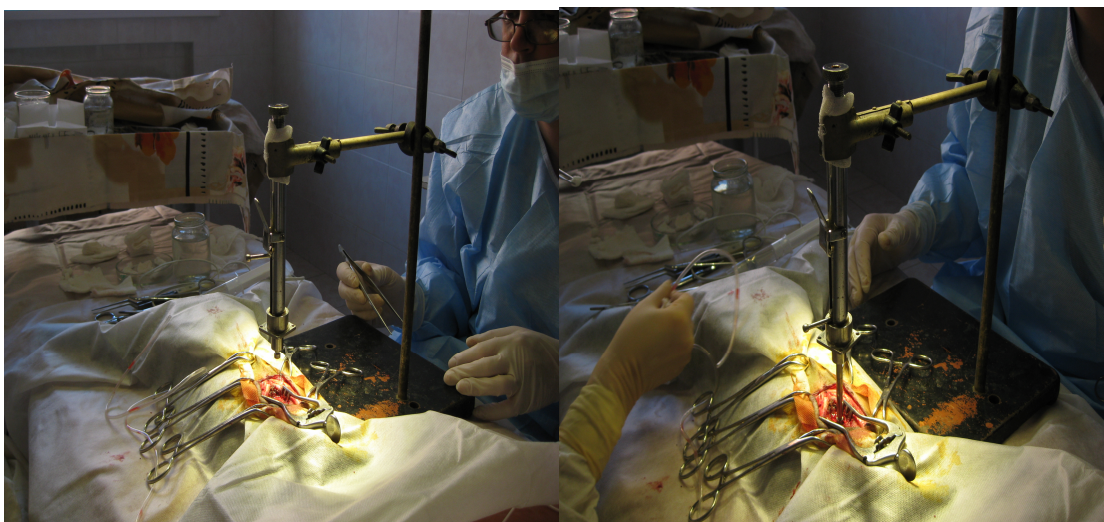


Рисунок 7 – Интраоперационное использование ударного устройства

Силу удара рассчитывали по энергии ударного воздействия (энергия сжатия пружины), либо по деформации пружины, используя формулу:

$$1) E \text{ (дж)} = \frac{k l \text{ (см)}^2}{2} = \frac{0,287 l \text{ (мм)}^2}{1\,000}$$

$$2) L \text{ (мм)} = \frac{\sqrt{E \text{ (Дж)} \times 1\,000}}{0,28}$$

где L – деформация пружины в мм.

2.5 Характеристика изучаемых групп

В соответствии с целями и задачами исследования экспериментальные животные были разделены на 5 групп (таблица 1).

В первую группу вошли 15 животных, на которых отрабатывалась модель стандартного повреждения спинного мозга. Используя устройство для моделирования очагового поражения, регулируя натяжение пружины, проводился подбор силы удара. В зависимости от выбранной силы удара были сформированы три группы животных. Животным первой группы ($n = 5$) повреждение наносилось при растяжении пружины в пределах от 10 до 14 мм, или до 0,06 Дж по энергии ударного воздействия; животным второй группы ($n = 5$) – при растяжении от 15 до 17 мм, или 0,07–0,08 Дж; животным третьей группы ($n = 5$) – более 18 мм, или 0,09 Дж и более по энергии ударного воздействия.

Вторая группа (15 животных) явилась контрольной. Животным наносилось повреждение спинного мозга с силой ударного воздействия 0,07 Дж и исследовалась динамика неврологического статуса. Проводилась стандартная послеоперационная терапия.

Третью группу составляли животные, в терапию которым после нанесения повреждения спинного мозга с силой ударного воздействия 0,07 Дж дополнительно проводилась терапия блокатором NMDA-рецепторов (кетамин в

субнаркологических дозах дробно в течение 72 часов), начатая через 2 часа после воздействия (17 животных).

Четвертую группу составляли животные, в терапию которым после нанесения повреждения спинного мозга с силой ударного воздействия 0,07 Дж дополнительно проводилась терапия блокатором NMDA-рецепторов (кетамин в субнаркологических дозах дробно в течение 72 часов), начатая через 8 часов после воздействия (17 животных).

Пятую группу составляли животные, в терапию которым после нанесения повреждения спинного мозга с силой ударного воздействия 0,07 Дж дополнительно проводилась терапия блокатором NMDA-рецепторов (кетамин в субнаркологических дозах дробно в течение 72 часов), начатая через 16 часов после воздействия (16 животных).

Рана ушивалась послойно наглухо и в дальнейшем проводилось стандартизованное наблюдение за животными. В кролики содержались в стандартных условиях вивария. В первые 3 дня мочу выводили путем массажа передней брюшной стенки.

Таблица 1 – Распределение экспериментальных животных по группам

Номер группы	Количество животных	Характеристика группы	Сроки наблюдения за животными
1	15	Отработка модели повреждения	14 сут
2	15	Контрольная группа	
3	17	Начало терапии кетаминном через 2 часа после нанесения травмы	
4	17	Начало терапии кетаминном через 8 часов после нанесения травмы	
5	16	Начало терапии кетаминном через 16 часов после нанесения травмы	
Итого	80	—	—

Все животные выводились из эксперимента на 14 сутки с момента

нанесения травмы спинного мозга, путем передозировки наркотических средств в сочетании с введением сукцинилхолина.

2.6 Оценка функционального состояния спинного мозга лабораторных животных

В соответствии с планом исследования, начиная с первых суток после операции, проводили ежедневный осмотр животных в течение 14 суток до момента забоя.

В качестве критерия оценки моторной функции спинного мозга использована модифицированная шкала мышечной силы (шкала по L. McPeak (1996) и М. Вейсс (1986):

Таблица 2 – Оценка моторной функции спинного мозга

Балл	Характеристика
0	Плегия нижних конечностей.
1	Глубокий парез. Некоординированные мышечные сокращения без движений
2	Выраженный парез. Попытки опереться на лапу
3	Умеренный парез. Возможность опереться.
4	Легкий парез. Опора на конечность, попытки передвигаться. Способность стоять, не теряя равновесие
5	Способность передвигаться с отталкиванием на задних лапах. Способность стоять и передвигаться, не теряя равновесие

Оценка чувствительности проводилась в виде оценки глубокой чувствительности. Для определения глубокой чувствительности зажимом сдавливались фаланги пальцев, и регистрировалась в виде стандартного формата записи неврологической оценки.

Таблица 3 – Оценка чувствительности

Баллы	Характеристика
0	реакция отсутствует
1	минимальная, регистрируемая реакция
2	незначительная реакция
3	субнормальная реакция
4	норма

Проводилась оценка нарушения ФТО.

Таблица 4 – Оценка нарушений ФТО

Баллы	Характеристика
0	Отсутствие произвольного мочеиспускания. Требуется стимуляция для опорожнения мочевого пузыря
1	Частично произвольное мочеиспускание
2	Произвольное мочеиспускание

Кроме этого, оценивали общий вид животных, потерю массы тела, состояние волосяного покрова, наличие или отсутствие трофических нарушений (пролежней).

2.7 Характеристика морфологических изменений спинного мозга при моделировании повреждения

Позвоночный столб длиной 1,5–2 см, содержащий участок поврежденного спинного мозга, был фиксирован в 10 % забуференном формалине, подготовка фиксированных тканей к резке на микротоме проводилась с использованием спиртово-хлороформовой проводки материала и последующим пропитыванием смесью парафино-воскового расплава. На санном микротоме с использованием разовых гистологических ножей делались гистологические срезы толщиной 4–5 мкм, которые затем монтировались на предметные стекла,

предварительно обработанные белком. После депарафинизации в толуоле, отмывке в спиртах с понижающей концентрацией до воды, выполнялось окрашивание гематоксилином и эозином. Затем в спиртах проводилась дегидратация, подготовка к заключению в толуолах, изготавливались постоянные препараты с заключением окрашенных срезов в пихтовый бальзам, на последнем этапе срезы закрывались покровным стеклом.

Выполнялась обзорная микроскопия, составлялась общая гистологическая картина тканевых изменений. Оценку гистологических препаратов производили световой микроскопией под увеличением $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$.

Также выполнялось иммуногистохимическое исследование экспрессии маркера апоптоза p53.

2.8 Определение коэффициента поверхностного натяжения

Для сравнительной оценки детергентного действия липидных медиаторов использовался капиллярный метод, который основывается на эффекте капиллярности. Оценка КПН (s) сыворотки крови и ликвора проводилась по высоте капиллярного поднятия (методом пропорции) и рассчитывалась по формуле:

$$s (\text{сывор.}) = h (\text{сывор.}) / h (\text{воды}) \times s (\text{воды}),$$

где $s (\text{воды}) = 73,2 \times 10^{-3}$ н/м при $t = 23^{\circ}\text{C}$;

$h (\text{воды})$ – высота поднятия воды в стандартном капилляре при $t = 23^{\circ}\text{C}$;

$h (\text{сывор.})$ – высота поднятия сыворотки пациента при $t = 23^{\circ}\text{C}$.

2.9 Определение NSE

Для определения нейронспецифической енолазы использовался набор: Вектор Бест Т-8476 NSE-ИФА-БЕСТ Набор реагентов для иммуноферментного

определения концентрации нейронспецифической енолазы(NSE) в сыворотке крови. Чувствительность: 1 нг/мл. Диапазон измерений: 0–150 нг/мл.

2.10 Статистическая обработка экспериментальных данных

Математико-статистический анализ полученных результатов выполнен методами описательной, параметрической и непараметрической статистики с использованием стандартного пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft, Inc. (2001). STATISTICA (data analysis software system), version 6. www.statsoft.com).

Таблицы и рисунки содержат информацию в виде средних арифметических величин (M) и стандартных ошибок средних (SE), а также медианных значений и интерквартильных диапазонов.

Для сравнения вариационных рядов использовались непараметрические критерии для зависимых (критерий Уилкоксона) и независимых выборок (коэффициент Манна – Уитни). Результаты считали достоверными при $p < 0,05$. Метод статистического анализа выбирали соответственно рекомендациям Гланц С. (1999).

ГЛАВА 3 КЛИНИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ТРАВМЫ СПИННОГО МОЗГА

3.1 Моделирование тяжелого повреждения спинного мозга у экспериментальных животных

Первым этапом работы была разработана стандартизированная модель повреждения спинного мозга со стойким неврологическим дефицитом. В первую группу вошли 15 животных, на которых отрабатывалась модель стандартного повреждения спинного мозга.

В зависимости от силы удара были сформированы три контрольных группы животных (таблица 5). Животным первой контрольной группы ($n = 5$) повреждение наносилось при растяжении пружины в пределах от 10 до 14 мм, или до 0,06 Дж по энергии ударного воздействия; животным второй группы ($n = 20$) – при растяжении от 15 до 17 мм, или 0,07 – 0,08 Дж; животным третьей группы ($n = 5$) – более 18 мм, или 0,09 Дж и более по энергии ударного воздействия.

Таблица 5 – Распределение животных опытных групп в зависимости от силы удара

Номер группы	1 группа	2 группа	3 группа
Количество животных	5	5	5
Растяжение пружины/сила удара	6–14 мм/< 0,06 Дж	15–18 мм/0,07–0,09 Дж	> 18 мм/> 0,09 Дж
Умершие/выжившие	0/5	0/5	5/0

В первой группе с силой удара < 0,06 Дж (1-я группа) летальных исходов во время эксперимента не наблюдалось. Неврологический дефицит в этой группе имел слабо выраженный характер и проявлялся в виде пареза различной степени.

У животных второй группы с силой удара в диапазоне от 0,07–0,08 Дж летальный исход не наблюдался. У всех особей этой группы наблюдался глубокий задний парапарез, нарушение чувствительности и ФТО.

Животные третьей группы с силой удара 0,09 Дж и более погибали непосредственно после нанесения удара, либо через несколько часов после травмирующего воздействия.

Таким образом, для проведения запланированного исследования необходимая сила удара составила 0,07–0,08 Дж.

3.2 Оценка динамики клинических проявлений при моделировании тяжелого повреждения спинного мозга у экспериментальных животных

Вторая группа (15 животных) явилась контрольной. Животным наносилось повреждение спинного мозга с силой ударного воздействия 0,07 Дж и исследовалась динамика неврологического статуса. Проводилась стандартная послеоперационная терапия.

3.2.1 Динамика двигательной активности при моделировании повреждения спинного мозга

При моделировании травматического повреждения по предложенной методике у животных после прекращения действия препаратов для анестезии выявлялась грубая неврологическая симптоматика в виде нижнего грубого пареза до параплегии, нарушение чувствительности, нарушения функции тазовых органов по типу задержки. Состояние всех животных было тяжелым: они были вялые, адинамичные, плохо принимали корм, теряли в весе.

В первые сутки балл оценки двигательной активности составил 0 (0; 0) баллов, что характеризуется как практически полное отсутствие движений в задних конечностях. Грубый неврологический дефицит помимо травматического воздействия является результатов реакции тканей на воздействие (отек, нарушение кровоснабжения).

К 7 суткам у животных отмечается незначительная положительная динамика, в виде разрешения до глубокого вялого пареза.

На 7-е сутки при оценке получены следующие данные: в контрольной группе балл оценки двигательной активности составил 1,0 (0; 1,0).

На 14-е сутки при оценке получены следующие данные: в контрольной группе балл оценки двигательной активности составил 1,0 (1,0; 1,0).

Динамика двигательной активности соответствует классическому клиническому течению травматического повреждения спинного мозга с нарушением его двигательной и чувствительной функции ниже уровня повреждения без какой-либо отчетливой тенденции к полному восстановлению к максимальному сроку наблюдения (14 суток с момента нанесения травмы).

Таблица 6 – Динамика показателей двигательной активности животных на этапах эксперимента

Группы	Баллы на 1-е сутки (Me (LQ; UQ))	Баллы на 7-е сутки (Me (LQ; UQ))	Баллы на 14-е сутки (Me (LQ; UQ))
Контрольная	0 (0; 0)	1,0 (0; 1,0)	1,0 (1,0; 1,0)

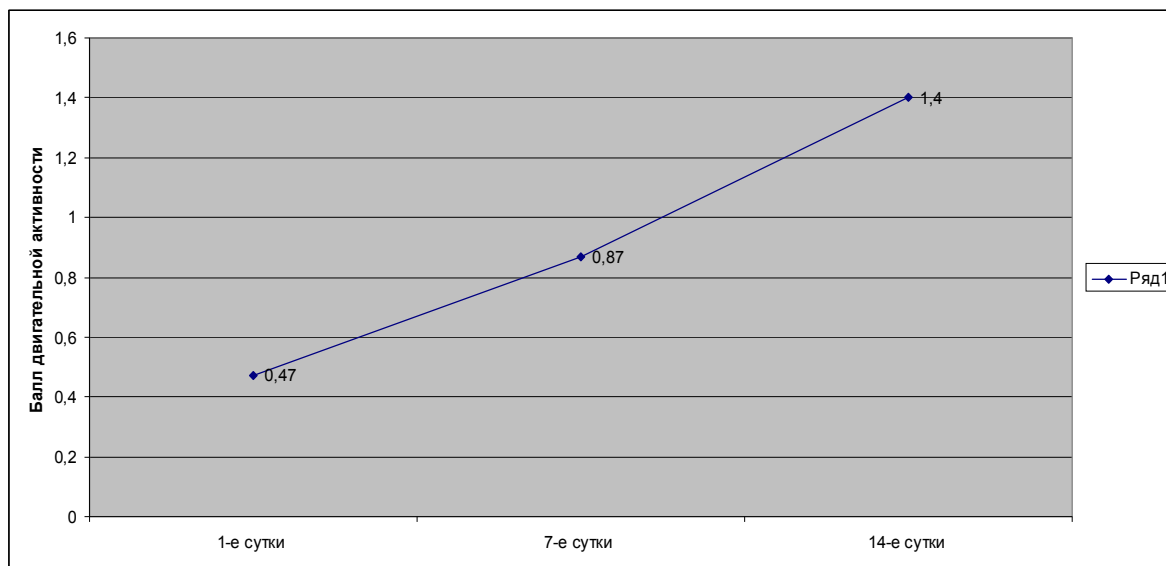


Рисунок 8 – График динамики двигательной активности в контрольной группе

3.2.2 Динамика чувствительности при моделировании повреждения спинного мозга

В первые сутки балл оценки чувствительности составил 0 (0; 0) баллов, что характеризуется как практически полное отсутствие чувствительности в задних конечностях.

На 7-е сутки при оценке получены следующие данные: в контрольной группе в группе балл оценки чувствительности составил 1,0 (0; 1,0).

На 14-е сутки при оценке получены следующие данные: в контрольной группе в группе средний балл оценки чувствительности составил 1,5 (1,0; 2,0).

Таблица 7 – Динамика показателей чувствительности животных на этапах эксперимента

Группы	Баллы на 1-е сутки (Me (LQ; UQ))	Баллы на 7-е сутки (Me (LQ; UQ))	Баллы на 14-е сутки (Me (LQ; UQ))
Контрольная	0 (0; 0)	1,0 (0; 1,0)	1,5 (1,0; 2,0)

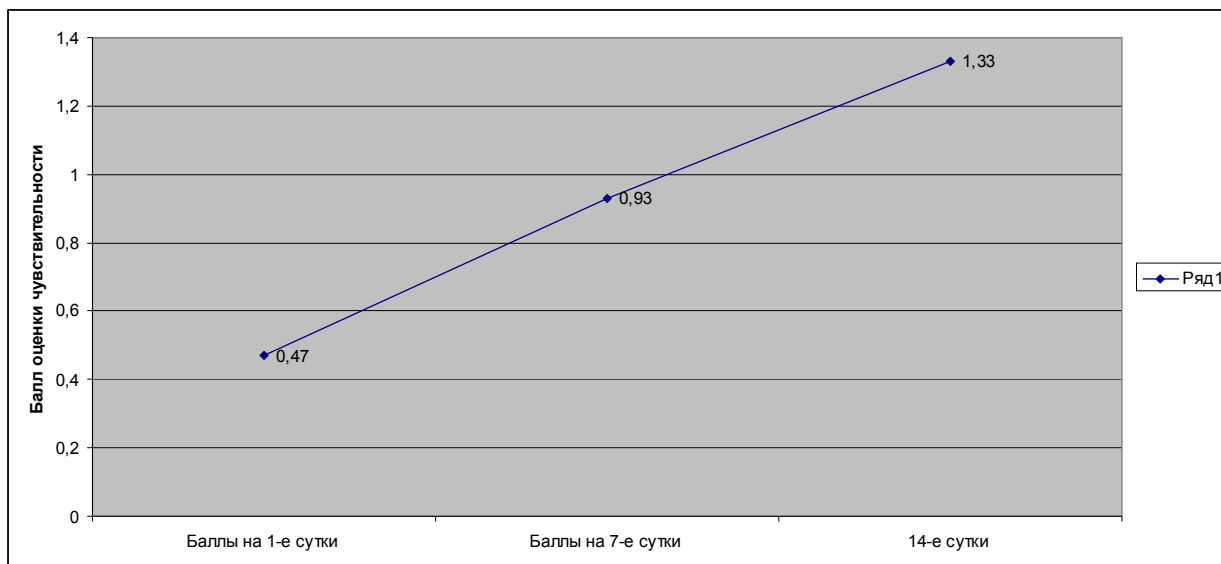


Рисунок 9 – График динамики показателей чувствительности

3.2.3 Изменения массы тела при моделировании повреждения спинного мозга

Таблица 8 – Динамика изменения массы на этапах эксперимента

Группы	Масса исходно (Me (LQ; UQ))	Масса на 7-е сутки (Me (LQ; UQ))	Масса на 14-е сутки (Me (LQ; UQ))
Контрольная	3 300 (3 100; 3 700)	2 650 (2 000; 3 000)	2 350 (2 000; 2 700)

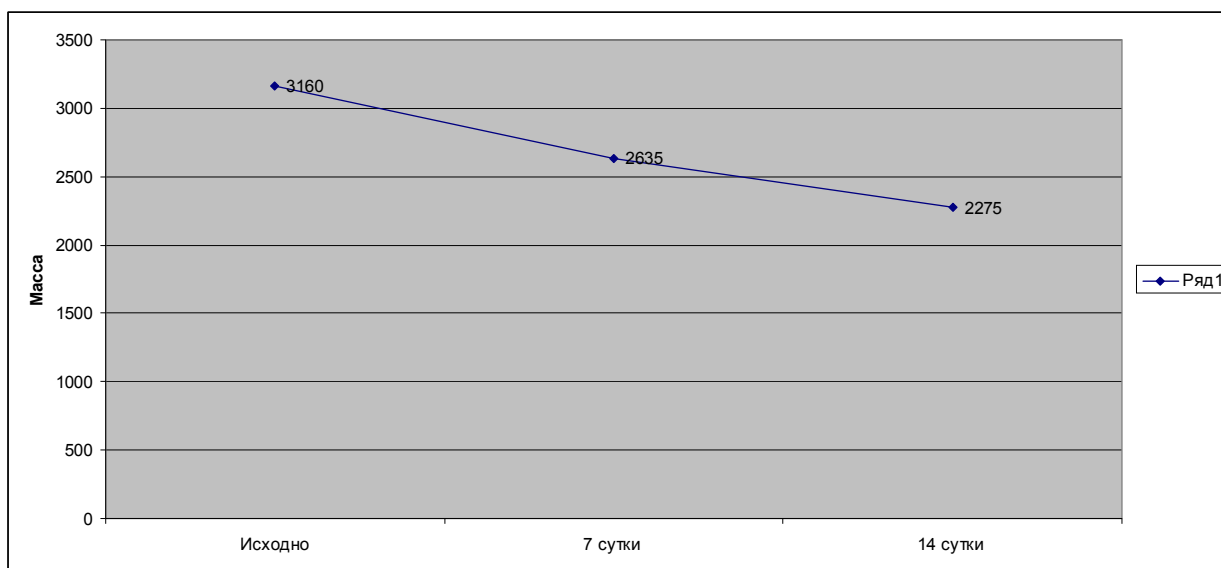


Рисунок 10 – График динамики показателей чувствительности

Масса при эвтаназии составили в контрольной группе 2 350 (2 000; 2 700) г.

Данный показатель можно охарактеризовать как интегральный показатель общего состояния животного, активностью приема корма и ускорением набора массы тела.

3.2.4 Динамика изменения функции тазовых органов при моделировании повреждения спинного мозга

Таблица 9 – Динамика изменения ФТО на этапах эксперимента

Группы	Баллы на 1-е сутки (Ме (LQ; UQ))	Баллы на 7-е сутки (Ме (LQ; UQ))	Баллы на 14-е сутки (Ме (LQ; UQ))
Контрольная	0 (0; 0)	1,0 (0; 1,0)	1,0 (1,0; 1,0)

3.2.5 Динамика коэффициента поверхностного натяжения плазмы и ликвора при моделировании повреждения спинного мозга

Коэффициент поверхностного натяжения (КПН) оценивался методом определения высоты смачивания капилляра с целью определения содержания поверхностно-активных веществ, как интегрального показателя детергентной интоксикации, т. е. самостоятельного фактора вторичного поражения ЦНС.

Таблица 10 – Динамика содержания эндогенных детергентов в сыворотке крови и ликворе при травматическом поражении спинного мозга в эксперименте

КПН	Норма (Ме (LQ; UQ))	1 сут после травмы (Ме (LQ; UQ))	7 сут после травмы (Ме (LQ; UQ))	14 сут после травмы (Ме (LQ; UQ))
КПН ликвора ($\times 10^{-3}$ Н/м)	59,2 (62,9; 55,5)	51,3 (48,2; 54,1)	60,3 (55,7; 64,3)	71,3 (67,2; 75,1)
КПН плазмы ($\times 10^{-3}$ Н/м)	62,1 (65,6; 59,1)	60,3 (57,5; 64,1)	62,8 (59,6; 65,9)	71,4 (67,4; 75,1)

Получена следующая закономерность: после травмы наблюдается снижение КПН, более выраженное при оценке ликвора, которое в дальнейшем (7–14 сут) переходит в резкое повышение КПН – на 22 % больше исходных значений. Подобный рост КПН выше нормальных значений нами оценивается как реакция типичная для фазы регенерации спинного мозга. Эти данные свидетельствуют также о том, что в спинном мозге эффективно функционируют механизмы,

регулирующие продукцию и утилизацию эндогенных детергентов.

3.2.6 Динамика уровня нейронспецифичной енолазы при моделировании повреждения спинного мозга

Изменения концентрации NSE в ликворе и плазме представлены в таблице 11. В первые сутки после операции отмечено выраженное (в 25 раз) повышение NSE. Хотя в последующем отмечено выраженное снижение данного маркера повреждения, даже спустя 7 суток отмечено достоверное увеличение по сравнению с нормальными значениями, что свидетельствует о выраженном и стойком поражении спинного мозга, сопровождающимся распадом миелина, гибелью нейронов и повреждением ГЭБ.

Таблица 11 – Динамика изменения NSE (нг/мл) в ликворе и плазме

Группа	Норма (Me (LQ; UQ))	NSE 1 сутки (Me (LQ; UQ))	NSE 7 сутки (Me (LQ; UQ))	NSE 14 сутки (Me (LQ; UQ))
Контрольная (ликвор)	1,4 (2,0; 0,9)	53,7 (65,2; 44,5)*	4,8 (4,0; 5,5)*	0,6 (0,7; 0,5)
Контрольная (плазма)	0,8 (0,5; 1,1)	56,9 (68,3; 48,1)*	2,04 (2,6; 1,8)*	0,6 (1,1; 0,4)
Примечание: : * – $p < 0,05$ по сравнению с нормальными значениями.				

3.2.7 Морфологические исследования спинного мозга при моделировании экспериментального повреждения

До нанесения травматического повреждения спинной мозг имеет следующий вид (рисунок 11).

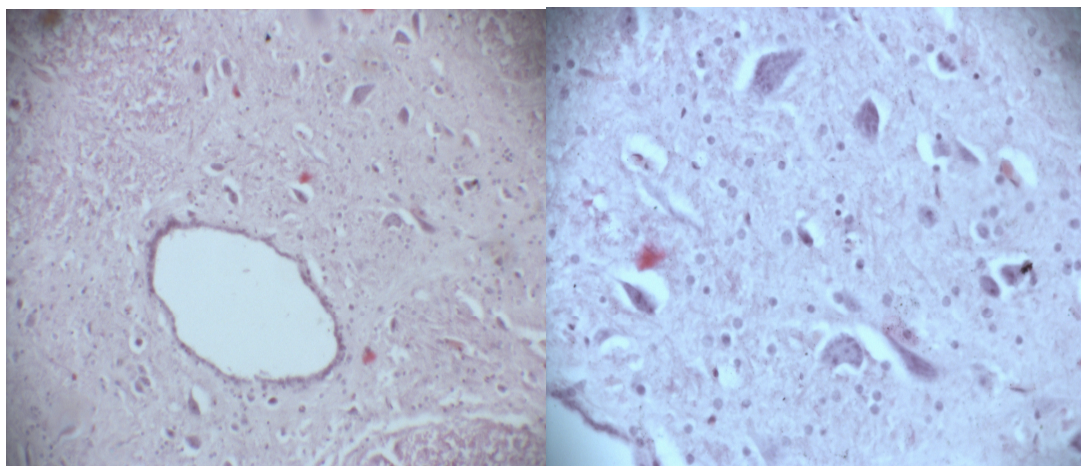


Рисунок 11 – Морфологическая картина ткани спинного
мозга в норме ($\times 40$, $\times 200$)

В остром периоде выявляются значительные изменения спинного мозга (кровоизлияния, отек белого и серого вещества) (рисунок 12).

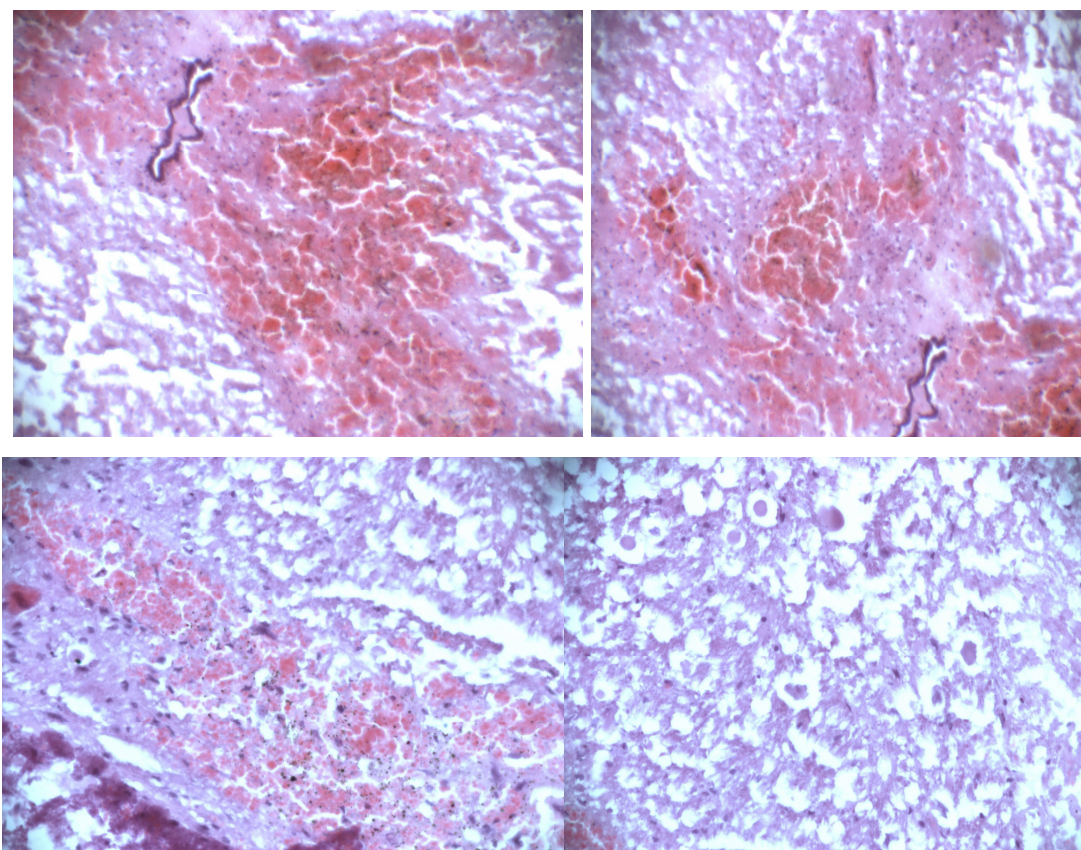


Рисунок 12 – Морфологическая картина ткани спинного мозга
в остром периоде травмы ($\times 40$, $\times 100$)

В дальнейшем происходит уменьшение отека, формирование кист (рисунок 13).

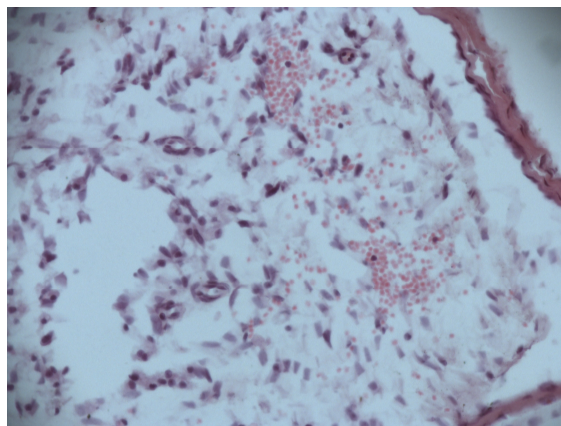


Рисунок 13 – Морфологическая картина ткани спинного мозга в подостром периоде травмы ($\times 200$)

Также могут определяться очаги некроза, сохраняется клеточная реакция (рисунок 14).

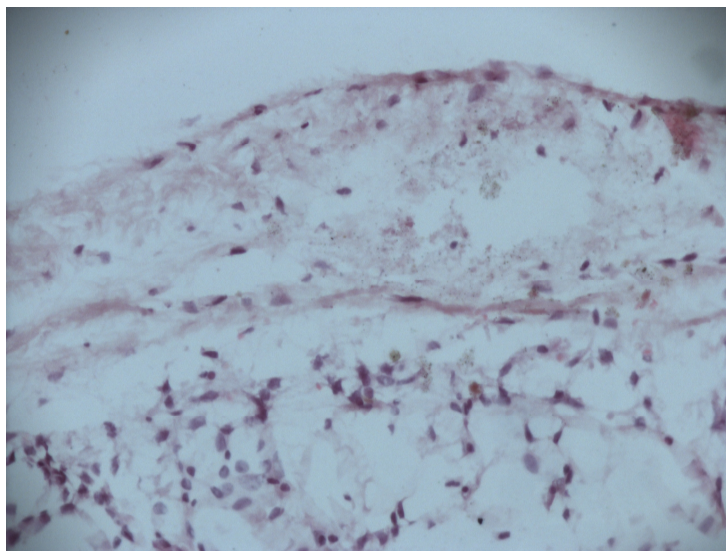


Рисунок 14 – Морфологическая картина ткани спинного мозга в подостром периоде травмы ($\times 200$)

Наблюдается перичеселлюлярный и периваскулярный отек, застойное кровенаполнение в сосудах серого и белого вещества спинного мозга.

В области повреждения спинного мозга наблюдается глиальная реакция (пролиферация глии): периваскулярный, перичеселлюлярный отек и воспалительная инфильтрация. Наряду с воспалительными изменениями появляются признаки дистрофических изменений спинного мозга: появление участков опустошения, без четко выраженного отграничения от ткани се и белом веществе спинного мозга

К 14-м суткам сохраняется сосудистая реакция в виде застойных явлений и мелких кровоизлияний.

Пролиферация глиальной ткани несколько нарастает на фоне сохраняющегося отека, разволокнения и макрофагальной реакции. Наблюдается формирование кистозных полостей, со слиянием и увеличением их размеров.

Таким образом, при моделировании травмы спинного мозга морфологически подтверждаются изменения спинного мозга, характерные для данного типа травмы.

Иммуногистохимическое исследование экспрессии маркера апоптоза p53.

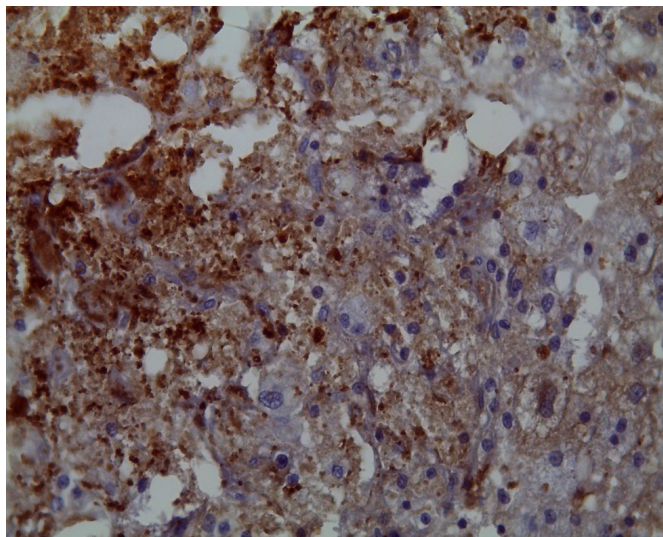


Рисунок 15 – Спинной мозг. 14 сут после травмы.

Без включения в терапию кетамина ×400

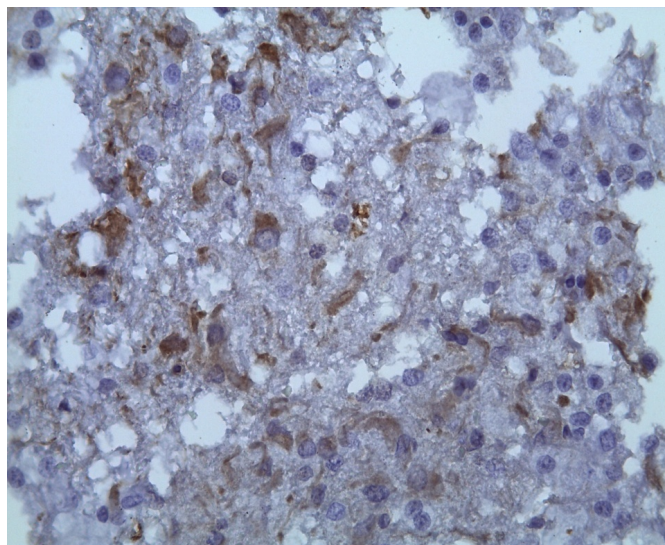


Рисунок 16 – Спинной мозг. 14 сут после травмы. Включение в терапию кетамина через 2 ч после травмы $\times 400$

В группе без использования в терапии блокатора NMDA-рецепторов отмечена выраженная экспрессия p53.

РЕЗЮМЕ

Таким образом, при моделировании экспериментального повреждения спинного мозга по предложенному методу на первые сутки у животных отмечается картина полной плегии нижних конечностей. Неврологический дефицит сочетался со значительным ($\times 5$) повышением нейроспецифической енолазы в ликворе в первые сутки после повреждения, причем через 7 дней уровень енолазы был достоверно увеличен. Данная картина соответствует классическому клиническому течению травматического повреждения спинного мозга с нарушением его двигательной и чувствительной функции ниже уровня повреждения без отчетливой тенденции к полному восстановлению за время наблюдения (14 суток с момента нанесения травмы), что соответствует требованиям к экспериментальной модели травматического поражения спинного мозга.

ГЛАВА 4 ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТА ПРИМЕНЕНИЯ БЛОКАТОРА N-МЕТИЛ-D-АСПАРТАТ-РЕЦЕПТОРОВ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ТРАВМАТИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ СПИННОГО МОЗГА В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ

При моделировании травматического повреждения по предложенной методике у животных после прекращения действия препаратов для анестезии выявлялась грубая неврологическая симптоматика в виде нижнего грубого пареза до параплегии, нарушение чувствительности, нарушения функции тазовых органов по типу задержки. Состояние всех животных было тяжелым: они были вялые, адинамичные, плохо принимали корм, теряли в весе.

4.1 Динамика двигательной активности на этапах эксперимента

В первые сутки средний балл оценки двигательной активности незначительно различался по группам и в целом составил 0 (0; 0) баллов, что характеризуется как практически полное отсутствие движений в задних конечностях. Грубый неврологический дефицит помимо травматического воздействия является результатов реакции тканей на воздействие (отек, нарушение кровоснабжения). Исходно, перед началом проведения специфической терапии отмечались показатели движений в конечностях, достоверно не отличающиеся друг от друга, что указывает на равный характер нарушений двигательной активности животных.

К 7 суткам у животных отмечается незначительная положительная динамика, в виде разрешения до глубокого вялого пареза.

На 7-е сутки при оценке получены следующие данные: в контрольной группе балл оценки двигательной активности составил 1,0 (0; 1,0), в группе с началом терапии через 2 часа после травмы балл оценки двигательной активности составил 1,0 (1,0; 1,0) в группе с началом терапии через 8 часов после травмы балл оценки двигательной активности составил 1,0 (1,0; 1,0), в группе с началом

терапии через 16 часов после травмы средний балл оценки двигательной активности составил 1,0 (1,0; 1,0).

На 14-е сутки при оценке получены следующие данные: в контрольной группе балл оценки двигательной активности составил 1,0 (1,0; 1,0), в группе с началом терапии через 2 часа после травмы средний балл оценки двигательной активности составил 1,5 (1,0; 2,0), в группе с началом терапии через 8 часов после травмы средний балл оценки двигательной активности составил 1,5 (1,0; 2,0), в группе с началом терапии через 16 часов после травмы балл оценки двигательной активности составил 1,5 (1,0; 2,0).

Таблица 12 – Динамика показателей двигательной активности животных на этапах эксперимента

Группы	Баллы на 1-е сутки (Me (LQ; UQ))	Баллы на 7-е сутки (Me (LQ; UQ))	Баллы на 14-е сутки (Me (LQ; UQ))
Контрольная	0 (0; 0)	1,0 (0; 1,0)	1,0 (1,0; 1,0)
Группа К2	0 (0; 0)	1,0 (1,0; 1,0)	1,5 (1,0; 2,0)*
Группа К8	0 (0; 0)	1,0 (1,0; 1,0)	1,5 (1,0; 2,0)
Группа К16	0 (0; 0)	1,0 (1,0; 1,0)	1,5 (1,0; 2,0)
Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой (U-критерий Манна – Уитни).			

4.2 Динамика чувствительности на этапах эксперимента

В первые сутки балл оценки чувствительности не различался по группам и в целом составил 0 (0; 0) баллов, что характеризуется как практически полное отсутствие чувствительности в задних конечностях.

На 7-е сутки при оценке получены следующие данные: в контрольной группе балл оценки чувствительности составил 1,0 (0; 1,0), с началом терапии через 2 часа после травмы балл оценки чувствительности составил 1,0 (1,0; 1,0), в группе с началом терапии через 8 часов после травмы балл оценки чувствительности составил 1,0 (1,0; 1,0), в группе с началом терапии через

16 часов после травмы балл оценки чувствительности составил 1,0 (1,0; 1,0).

На 14-е сутки при оценке получены следующие данные: в контрольной группе в группе балл оценки чувствительности составил 1,5 (1,0; 2,0), в группе с началом терапии через 2 часа после травмы средний балл оценки чувствительности составил 1,5 (1,0; 2,0) в группе с началом терапии через 8 часов после травмы средний балл оценки чувствительности составил 1,5 (1,0; 2,0), в группе с началом терапии через 16 часов после травмы средний балл оценки чувствительности составил 1,5 (1,0; 2,0).

Отсутствие разницы между группами при оценке чувствительности можно объяснить большей инертностью данного показателя.

Таблица 13 – Динамика показателей чувствительности животных на этапах эксперимента

Группы	Баллы на 1-е сутки (Me (LQ; UQ))	Баллы на 7-е сутки (Me (LQ; UQ))	Баллы на 14-е сутки (Me (LQ; UQ))
Контрольная	0 (0; 0)	1,0 (0; 1,0)	1,5 (1,0; 2,0)
Группа К2	0 (0; 0)	1,0 (1,0; 1,0)	1,5 (1,0; 2,0)
Группа К8	0 (0; 0)	1,0 (1,0; 1,0)	1,5 (1,0; 2,0)
Группа К16	0 (0; 0)	1,0 (1,0; 1,0)	1,5 (1,0; 2,0)

4.3 Динамика массы тела на этапах эксперимента

Исходно нет различия в группах 3 300 (3 100; 3 700) г.

Масса при эвтаназии составили в контрольной группе 2 350 (2 000; 2 700) г, с началом терапии через 2 часа после травмы 2 800 (2 500; 3 000) г, в группе с началом терапии через 8 часов после травмы 2 600 (2 350; 2 800) г, в группе с началом терапии через 16 часов 2 550 (2 300; 2 700) г.

Данный показатель можно охарактеризовать как интегральный показатель общего состояния животного, активностью приема корма и ускорением набора массы тела.

При оценке динамики изменения массы тела выявлено достоверное ($p < 0,05$) увеличение массы тела у животных в группе с ранним включением в терапию кетамина, по сравнению с контрольной группой.

Таблица 14 – Динамика изменения массы тела животных на этапах эксперимента

Группы	Масса исходно (Me (LQ; UQ))	Масса на 14 сутки (Me (LQ; UQ))
Контрольная	3 300 (3 100; 3 700)	2 350 (2 000; 2 700)
Группа К2	3 200 (3 000; 3 600)	2 800 (2 500; 3 000)*
Группа К8	3 300 (2 950; 3 600)	2 600 (2 350; 2 800)
Группа К16	3 100 (2 950; 3 550)	2 550 (2 300; 2 700)
Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой (U критерий Манна – Уитни).		

4.4 Динамика нарушений функции тазовых органов на этапах эксперимента

Таблица 15 – Динамика изменения ФТО на этапах эксперимента

Группы	Баллы на 1-е сутки (Me (LQ; UQ))	Баллы на 7-е сутки (Me (LQ; UQ))	Баллы на 14-е сутки (Me (LQ; UQ))
Контрольная	0 (0; 0)	1,0 (0; 1,0)	1,0 (1,0; 1,0)
Группа К2	0 (0; 0)	1,0 (1,0; 1,0)	1,5 (1,0; 2,0)*
Группа К8	0 (0; 0)	1,0 (1,0; 1,0)	1,5 (1,0; 2,0)
Группа К16	0 (0; 0)	1,0 (1,0; 1,0)	1,5 (1,0; 2,0)

4.5 Динамика коэффициента поверхностного натяжения на этапах эксперимента

Оценивался КПН плазмы, ликвора (методом определения высоты смачивания капилляра). КПН оценивался с целью определения содержания поверхностно-активных веществ, как интегрального показателя детергентной интоксикации – самостоятельного фактора вторичного поражения ЦНС.

Получена следующая закономерность: после травмы наблюдается снижение

КПН, более выраженное при оценке ликвора, которое в дальнейшем (7–14 сут) переходит в резкое повышение КПН – на 22 % больше исходных значений. Отмечено, что увеличение КПН ликвора более выражено в группах с поздним введением в терапию кетамина (16 часов, $p < 0,05$). Подобный рост КПН выше нормальных значений нами оценивается как реакция типичная для фазы регенерации спинного мозга. Эти данные свидетельствует также о том, что в спинном мозге эффективно функционируют механизмы, регулирующие продукцию и утилизацию эндогенных детергентов (таблицы 16 и 17).

Таблица 16 – Поверхностное натяжение сыворотки крови при травматическом поражении спинного мозга в эксперименте (мН/м)

Группы	КПН 1-е сутки (Me (LQ; UQ))	КПН 7-е сутки (Me (LQ; UQ))	КПН 14-е сутки (Me (LQ; UQ))
Контрольная	60,3 (57,5; 64,1)	62,8 (59,6; 65,9)	71,4 (67,4; 75,1)
Группа К2	61,2 (58,7; 64,4)	63,5 (59,9; 67,1)	65,2 (61,8; 69,2)*
Группа К8	60,9 (58,1; 64,2)	64,2 (61,3; 67,5)	68,7 (64,3; 71,1)
Группа К16	61,7 (58,7; 65,1)	64,1 (60,8; 67,4)	69,4 (66,8; 72,3)
Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой (U-критерий Манна – Уитни).			

Таблица 17 – Поверхностное натяжение ликвора при травматическом поражении спинного мозга в эксперименте (мН/м)

Группы	КПН 1-е сутки (Me (LQ; UQ))	КПН 7-е сутки (Me (LQ; UQ))	КПН 14-е сутки (Me (LQ; UQ))
Контрольная	51,3 (48,2; 54,1)	60,3 (55,7; 64,3)	71,3 (67,2; 75,1)
Группа К2	51,6 (48,5; 54,2)	62,3 (57,2; 67,0)	66,3 (61,2; 70,1) *
Группа К8	51,7 (48,2; 54,2)	61,5 (56,6; 65,1)	69,5 (65,7; 73,1)
Группа К16	51,5 (48,0; 54,1)	60,9 (56,2; 64,8)	70,4 (66,4; 74,1)
Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой (U-критерий Манна – Уитни).			

4.6 Динамика уровня нейронспецифической енолазы на этапах эксперимента

Таблица 18 – Показатели NSE сыворотки при травматическом поражении спинного мозга в эксперименте (нг/мл)

Группы	NSE 1-е сутки (Me (LQ; UQ))	NSE 7-е сутки (Me (LQ; UQ))	NSE 14-е сутки (Me (LQ; UQ))
Контрольная	56,9 (68,3; 48,1)	2,04 (2,6; 1,8)	0,59 (1,1; 0,4)
Группа К2	59,4 (69,7; 50,4)	3,08 (4,8; 1,7)	0,55 (1,1; 0,4))
Группа К8	57,6 (69,3; 50,1)	2,6 (3,8; 1,9)	0,62 (1,2; 0,4)
Группа К16	60,8 (69,9; 51,4)	2,8 (3,9; 2,0)	0,57 (1,1; 0,4)

Повышение нейронспецифической енолазы отмечается в первые сутки после травмы спинного мозга. В дальнейшем уровень NSE снижается. Значимых различий между группами не выявлено. NSE, помимо маркера повреждения нервной ткани, имеет эффект индукции воспаления в нервной ткани, и препятствует восстановлению нейронов и глиии после СМТ.

РЕЗЮМЕ

При моделировании экспериментального повреждения спинного мозга на первые сутки у животных отмечается картина полной плегии нижних конечностей. Данная картина соответствует классическому клиническому течению травматического повреждения спинного мозга с нарушением его двигательной и чувствительной функции ниже уровня повреждения без отчетливой тенденции к полному восстановлению за время наблюдения (14 суток с момента нанесения травмы).

При исходно одинаковых показателях при оценке в первые сутки после нанесения травмы наиболее выраженная положительная динамика восстановления двигательной активности отмечена при раннем включении в терапию блокатора NMDA-рецепторов (через 2 часа с момента травмы спинного мозга).

После моделирования стандартного экспериментального повреждения

спинного мозга на 7 сутки после травмы у всех животных отмечается картина пареза нижних конечностей. Об этом свидетельствовало то, что балл движений в конечностях во всех группах колебался от 1,0 (0; 1,0) до 1,0 (1,0; 1,0) баллов.

К 14 суткам исследования в группе раннего начала терапии (через 2 часа после травматического воздействия) явное положительное влияние проведенного лечения.

В группах с началом терапии через 8 и 16 часов после травматического воздействия результаты были статистически достоверно ниже, чем в предыдущей группе.

Таким образом, положительное влияние включение кетамина в терапию острой спинномозговой травмы наиболее выражено в ранние (через 2 часа), сроки после моделирования экспериментального повреждения спинного мозга.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Большое значение при травматическом повреждении спинного мозга имеет фактор времени. Чем раньше начато проведение хирургического и медикаментозного воздействия, тем благоприятнее прогноз для пациента. При проведении адекватной декомпрессии и стабилизации поврежденного отдела позвоночника продолжается деструкция нервной ткани в связи с течением патологических процессов в зоне повреждения спинного мозга.

Основной точкой приложения медикаментозного лечения является острый период травмы, когда активность патофизиологических процессов высока и имеется возможность разорвать патологическую цепь. Промежуточный и поздний период травматической болезни спинного мозга, как ни печально, практически остается прерогативой реабилитологов и невропатологов.

Поддерживающее нейротропное и реабилитационное лечение, хотя увеличивает адаптационные возможности и двигательную активность, но не оказывает существенного влияния на двигательное и чувствительное неврологическое восстановление.

В данной работе приведены результаты экспериментального исследования включения в терапию NMDA-блокатора в острейшем периоде спинномозговой травмы. Работа основана на экспериментальном исследовании, выполненных на 80 кроликах.

Разработка стандартизированной модели повреждения спинного мозга – важный результат настоящей работы имеющей научно-практическое значение.

Суть разработанной модели заключается в стандартизированном подборе оптимальной силы удара в диапазоне от 0,07–0,09 Дж, обеспечивающей стойкий стабильно воспроизводимый неврологический дефицит в виде глубокого парапареза и позволяет более точно оценить динамику восстановления функций у лабораторного животного.

Нашими исследованиями показано, что при моделировании экспериментального повреждения спинного мозга к 7 суткам с момента травмы

отмечается незначительная положительная неврологическая динамика: разрешение плегии до глубокого пареза. Балл оценки двигательной активности в целом по группе составил 1,0 (1,0; 1,0). К 14-м суткам наблюдения балл двигательной активности по группе составлял 1,5 (1,0; 2,0).

Динамика моторных функций у экспериментальных животных совпадает с течением травматической болезни спинного мозга у больных, где кроме непосредственного травматического повреждения, имеется развитие нарушения кровообращения и ишемическое повреждение сохраненных проводниковых путей и серого вещества спинного мозга и расширение их в дистальном и проксимальном направлениях.

Причиной стойкого неврологического дефицита у животных, на наш взгляд, наряду со структурными изменениями в зоне повреждения, является вторичное повреждение нервной ткани.

Отсутствие улучшения в неврологической и морфологической картине у экспериментальных животных при более позднем начале терапии говорит о том, что процесс апоптоза запущен и разрушение нервной ткани не прекращается.

Изменение содержания NSE показывает разрушение нервной ткани при моделировании травматического повреждения. В связи с коротким временем существования данный биомаркер не дает возможность использовать для контроля посттравматического состояния нервной ткани.

Эндогенные детергенты играют существенную роль в патогенезе развития органных нарушений и их определение в клинической практике имеет существенное значение как при непосредственной оценке тяжести состояния пациента, так и риска развития у него органных нарушений. Наиболее информативным интегральным критерием оценки детергентной интоксикации является КПН.

Определение КПН сыворотки может найти применение в клинической практике для оценки уровня эндогенных детергентов, тяжести критического состояния организма и поиска новых методов, направленных на устранение именно этого компонента ЭИ.

Таким образом, по результатам экспериментальных исследований, мы выявили, что раннее включение в терапию блокаторов . NMDA-рецепторов может повлиять на течение патологического процесса при травматическом повреждении спинного мозга и улучшить прогноз для пациентов с ПСМТ.

ВЫВОДЫ

1. Предложенная модель травматического повреждения спинного мозга соответствует научным требованиям к экспериментальным моделям и может быть использована для разработки новых методов терапии острой спинальной травмы.

2. При моделировании экспериментального повреждения спинного мозга наиболее информативным является восстановление двигательной функции спинного мозга.

3. Определение коэффициента поверхностного натяжения ликвора (как интегрального показателя детергентной интоксикации – самостоятельного фактора вторичного поражения центральной нервной системы) может найти применение в клинической практике для оценки уровня эндогенных детергентов, тяжести поражения спинного мозга.

4. Кетамин является эффективным нейропротектором при спинальной травме, при раннем включении в терапию достоверно улучшающим результаты лечения и прогноз при травматическом повреждении спинного мозга в остром периоде. Учитывая известный позитивный эффект на системную гемодинамику кетамин может использоваться в комплексной терапии острой спинальной травмы с первых часов после повреждения спинного мозга.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Разработанный в эксперименте способ повреждения спинного мозга может быть полезным для оценки эффективности новых видов лечения при данной патологии.
2. Полученные экспериментальные результаты могут явиться обоснованием эффективности применения блокаторов NMDA-рецепторов в клинической практике у больных с повреждением спинного мозга для улучшения результатов лечения.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АД	артериальное давление
КПН	коэффициент поверхностного натяжения
СМ	спинной мозг
ПСМТ	позвоночно-спинномозговая травма
СЖК	свободные жирные кислоты
ФТО	функция тазовых органов
ЦНС	центральная нервная система
ASIA	Американская ассоциация спинальной травмы (American Spinal Injury Association)
FDA	управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration)
IL	Интерлейкин (Interleukin)
NMDA	N-метил-D-аспарагиновая кислота (N-methyl-D-aspartate)
NSE	нейрон-специфическая енолаза (neuron-specific enolase)
TNF	фактор некроза опухоли (tumor necrosis factor)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акшулаков, С. К. Эпидемиология травм позвоночника и спинного мозга / С. К. Акшулаков, Т. Т. Керимбаев // Материалы III съезда нейрохирургов России: – СПб., 2002. – С. 182.
2. Апоптоз при травматическом повреждении спинного мозга: перспективы фармакологической коррекции / А. Г. Басакьян [и др.]// Вопросы медицинской химии. – 2000. – № 5. – С. 38–46.
3. Беков, М. М. Хирургическое лечение больных с травмой грудного и смежных отделов позвоночника и спинного мозга в многопрофильном стационаре / М. М. Беков, В. А. Лобода, А. В. Верещако // Тез. докл. Всерос. науч.-практич. конф. VIII Поленовские чтения. – СПб., 2009. – С. 86–87.
4. Белова, А. Н. Нейрореабилитация: руководство для врачей / А. Н. Белова. – М. : Антидор, 2000. – 568 с.
5. Беляев, В. И. Травма спинного мозга (диагностика, электростимуляционное и восстановительное лечение) / В. И. Беляев. – М. : Владмо, 2001. – 240 с.
6. Беспалов, А. Ю. Нейропсихофармакология антагонистов NMDA-рецепторов / А. Ю. Беспалов, Э. Э. Звартау. – СПб.: Невский диалект. – 2000. – 297 с.
7. Богданова, Л. П. Восстановительное лечение больных с травматической болезнью спинного мозга при осложненных переломах позвоночника / Л. П. Богданова // Тез. докл. VI Всерос. съезда физиотерапевтов. – СПб., 2006. – С. 188.
8. Брюховецкий, А. С. Травма спинного мозга: клеточные технологии в лечении и реабилитации / А. С. Брюховецкий. – М. : Практическая медицина, 2010. – 341 с.
9. Верещагин, Е. И. Липидные метаболиты как факторы танатогенеза при гнойно-септических заболеваниях / Е. И. Верещагин, А. В. Ефремов, С. Г. Волков // Вестн. интенсив. терапии. – 2003. – № 4. – С. 23–26.

10. Вишневский, А. А. Спинной мозг: клинические и патофизиологические сопоставления / А. А. Вишневский, Н. В. Шулешова. – СПб. : ООО «Издательство Фолиант», 2014. – 744 с.

11. Гринь, А. А. Проблемы организации и лечения больных с позвоночно-спинномозговой травмой (комментарий к статье А. Н. Баринова и Е. Н. Кондакова: Организация помощи пострадавшим с позвоночно-спинномозговой травмой в Архангельской области) / А. А. Гринь // Нейрохирургия. – 2011. – № 3. – С. 79–81.

12. Гринь, А. А. Хирургическое лечение больных с повреждением позвоночника и спинного мозга при сочетанной травме : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.28 / Гринь Андрей Анатольевич ; Науч.-исслед. ин-т скорой помощи. – М., 2008. – 48 с.

13. Гришенкова, Л. Н. Клинико-морфологическая характеристика травматической болезни спинного мозга / Л. Н. Гришенкова // Здравоохранение. 1998. – № 1. – С. 18–21.

14. Гусев, Е. И. Ишемия головного мозга / Е. И. Гусев, В. И. Скворцова. – М : Медицина, 2001. – 327 с.

15. Диагностика и лечение травматических полисегментарных поражений спинного мозга / И. Р. Воронович [и др.] // Матер. научн. конф. посвящ. 40-летию отделения патологии позвоночника «Хирургия позвоночника – полный спектр». – М., 2007. – С. 281–283.

16. Довлатов, Б. Н. Алгоритмы диагностики и тактика лечения при множественных и сочетанных повреждениях позвоночника / Б. Н. Довлатов, Б. М. Максудов // Матер. научн. конф. посвящ. 40-летию отделения патологии позвоночника «Хирургия позвоночника – полный спектр». – Москва, 2007. – С. 288–289.

17. Иванова, Г. Е. Ведение больных с последствиями позвоночно-спинномозговой травмы на втором и третьем этапах медицинской и медико-социальной реабилитации. Клинические рекомендации / под. ред. Г. Е. Иванова, С. А. Воловец, И. Н. Морозов – Москва, 2012. – 116 с.

18. Изучение уровня аутоантител к глутаматным рецепторам в сыворотке крови у больных в остром периоде ишемического инсульта / Е. И. Гусев [и др.] // Журнал неврол. и психиатр, им. С. С. Корсакова. – 1996. – № 5. – С. 68–72.
19. Интенсивная терапия осложненной травмы шейного отдела позвоночника / С. А. Первухин [и др.] // Хирургия позвоночника. – 2014. – № 4. – С. 72–79.
20. Качесов, В. А. Основы интенсивной реабилитации. Травма позвоночника и спинного мозга / В. А. Качесов. – СПб. : ЭЛБИ-СПб, 2005 – 128 с.
21. Климов, В. С. Опыт лечения больных с позвоночно-спинномозговой травмой в условиях больницы скорой медицинской помощи / В. С. Климов, Е. В. Костина, Д. О. Киреев // Тез. докл. Всеросс. научн.-практ. конф. VIII Поленовские чтения. – С.-Пб., 2009. – С. 93.
22. Клинико-психологические аспекты реабилитации пациентов с позвоночно-спинномозговой травмой / Е. Е. Ачкасов [и др.] // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2017. – № 9 (2). – С. 4–9.
23. Коган, О. Г. Реабилитация больных при травмах позвоночника и спинного мозга / О. Г. Коган – М. : Медицина, 1975. – 240 с.
24. Кондаков, Е. Н. Эпидемиология травм позвоночника и спинного мозга в Санкт-Петербурге / Е. Н. Кондаков, И. А. Симонова, И. В. Поляков // Вопросы нейрохирургии им. Н. Н. Бурденко. – 2002. – № 2. – С. 34.
25. Коновалов, А. Н. Нейротравматология : справочник/ А. Н. Коновалов, Л. Б. Лихтерман, А. А. Потапов. – М. : Вазар-Ферро, 1994. – 352 с.
26. Косичкин, М. М. Инвалидность вследствие травматического поражения спинного мозга, медико-социальная экспертиза и реабилитация / М. М. Косичкин, Л. П. Гришина, Д. М. Шапиро // Медико-социальная экспертиза и реабилитация. – 1999. – № 1. – С. 9–15.
27. Кузнецова, Е. Ю. Клинико-эпидемиологическая характеристика инвалидов с осложненной позвоночно-спинномозговой травмой, как основа базовой программы реабилитации / Е. Ю. Кузнецова, Л. Г. Гаркуша,

Г. В. Сидорова // Тез. докл. Всеросс. научн.-практ. конф. VIII Поленовские чтения. – СПб., 2009. – С. 96–97.

28. Курашвили, Л. В. Липидный обмен при неотложных состояниях: монография / Л. В. Курашвили, В. Г. Васильков – Пенза, 2003 – 198 с.

29. Леонов, Г. А. Эпидемиология спинномозговой травмы в рязанском регионе / Г. А. Леонов, А. И. Буданов, Т. Н. Поташова // Тез. докл. Всеросс. научн.-практ. конф. VIII Поленовские чтения. – СПб., 2009. – С. 97–98.

30. Леонтьев, М. А. Изучение показаний к восстановлению локомоторных функций у пациентов с ТБСМ и препятствующих локомоции факторов / М. А. Леонтьев, О. Д. Овчинников // Вестник Кузбасского научного Центра СО РАМН. – 2005. – № 1. – С. 131–136.

31. Леонтьев, М. А. Хирургическая коррекция патологии стопы в комплексе двигательной реабилитации у пациентов с нижней параплегией : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.27 / Леонтьев Марк Анатольевич ; Кемеров. гос. мед. акад. МЗ РФ. – Кемерово, 2003. – 142 с.

32. Лечение тяжелых сочетанных травм позвоночника / И. М. Самохвалов [и др.] // Тез. докл. Всеросс. научн.-практ. конф. VIII Поленовские чтения. – СПб., 2009. – С. 99–100.

33. Лившиц, А. В. Хирургия спинного мозга / А. В. Лившиц. – М. : Медицина, 1990. – 352 с.

34. Миронов, Е. М. Анализ первичной инвалидности среди больных с последствиями позвоночно-спинномозговой травмы / Е. М. Миронов // Медико-социальная экспертиза и реабилитация – 2004. – № 1. – С. 33–34.

35. Млявых, С. Г. Хирургическая тактика при нестабильных изолированных и сочетанных повреждениях грудного и поясничного отделов позвоночника : автореф. дис.... канд. мед наук : 14.00.28 / Млявых Сергей Геннадьевич ; Научно-исследовательский институт скорой помощи. – М., 2009. – 27 с.

36. Морозов, И. Н. Эпидемиология позвоночно-спинномозговой травмы (Обзор) / И. Н. Морозов, С. Г. Млявых // Медицинский альманах. – 2011. – № 4. –

С. 157–159.

37. Нейротравматология. Справочник / под ред. А. Н. Коновалова, Л. Б. Лихтермана, А. А. Потапова. – Ростов н/Д : Феникс, 1999. – С. 40.

38. Некоторые аспекты патофизиологии травматического повреждения и регенерации спинного мозга / И. А. Борщенко [и др.] // Вопросы нейрохирургии. – 2000. – № 2. – С. 28–31.

39. Орлов, С. В. Оптимизация хирургической тактики при сочетанной позвоночно-спинномозговой травме / С. В. Орлов, В. В. Щедренок, О. В. Могучая // Тез. докл. научн.-практ. конф. под общей редакцией проф. Фраермана А. П. – Чебоксары, 2006. – С. 130–132.

40. Особенности медицинской помощи и прогноз исходов при позвоночно-спинномозговой травме на догоспитальном этапе / Н. Н. Шпаченко [и др.] // Материалы научн. конф. посвящ. 40-летию отделения патологии позвоночника «Хирургия позвоночника – полный спектр». – М., 2007. – С. 336–339.

41. Особенности хирургического лечения травматических повреждений грудопоясничного отдела позвоночника. / В. М. Драгун [и др.] // Тез. докл. Всеросс. научн.-практ. конф. VIII Поленовские чтения. – С.-Пб., 2009. – С. 88.

42. Перльмуттер, О. А. Компрессия спинного мозга и его корешков: (диагностика, хирургическая тактика) : автореф. дис. ... докт. мед. наук / Перльмуттер Ольга Александровна. – Н. Новгород, 2000. – 46 с.

43. Перльмуттер, О. А. Травма позвоночника и спинного мозга / О. А. Перльмуттер. – Н. Новгород, 2000. – 144 с.

44. Перльмуттер, О. А. Травма позвоночника и спинного мозга, сочетанная с экстравертебральными повреждениями (клиника, диагностика и хирургическая тактика): автореф. дис. ... канд. мед. наук / Перльмуттер Ольга Александровна – М., 1988. – 24 с.

45. Позвоночно-спинномозговая травма (классификационная характеристика, хирургическое лечение) : учеб. пособие /А. А. Луцик [и др.] – Новокузнецк, 2011. – 130 с.

46. Полищук, Н. Е. Повреждения позвоночника и спинного мозга / Н. Е. Полищук, Н. А. Корж, В. Я. Фищенко. – Киев. : Книга плюс, 2001. – 388 с.
47. Применение тензиометрии и реометрии для оценки эффективности эфферентных методов при критических состояниях/ В. И. Черний [и др.] // Бшъ, знебол. і штенс. тер. – 2001. – № 2. – С. 116–117.
48. Реанимационные аспекты лечения острой позвоночно-спинномозговой травмы шейного отдела / Н. Д. Маерова [и др.] // Матер. Всеросс. научн.-практ конф., посвящ 50-летию Новосибирского НИИТО «Проблемы хирургии позвоночника и спинного мозга». – Новосибирск, 1996. – С. 35–36.
49. Результаты интенсивной терапии осложненной травмы грудного отдела позвоночника / С. А. Первухин [и др.] // Политравма. – 2017. – № 3. – С. 30–37.
50. Респираторные нарушения в остром периоде осложненной травмы шейного отдела позвоночника / С. А. Первухин [и др.] // Общая реаниматология. – 2016. – № 12 (2) – С. 30–42.
51. Савченко, С. А. Восстановительная хирургия спинного мозга при его травматическом повреждении (экспериментально-клиническое исследование): автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.27, 14.00.28 / Савченко Сергей Анатольевич ; Новосиб. гос. мед. акад. – Новосибирск, 2005. – 24 с.
52. Симонова, И. А. Клинико-статистическая характеристика позвоночно-спинномозговой травмы / И. А. Симонова, Е. Н. Кондаков // Матер. III съезда нейрохирургов России. – С.-Пб., 2002. – С. 216–217.
53. Тактика хирургического лечения повреждений шейного отдела позвоночника / В. М. Драгун [и др.] // Тез. докл. Всерос. научн.-практ. конф. VIII Поленовские чтения. – С.-Пб., 2009. – С. 89.
54. Экспериментальная модель травматической тракционной миелопатии / И. И. Ларькин [и др.] // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2012. – Т. V, № 2. – С. 366–370.
55. 4-hydroxynonenal, a lipid peroxidation product, rapidly accumulates following traumatic spinal cord injury and inhibits glutamate uptake / J. E. Springer [et

al.] // J Neurochem. – 1997. – № 68. – P. 2469–2476.

56. A mouse model of ischemic spinal cord injury with delayed paralysis caused by aortic cross-clamping / H. Awad [et al.] // Anesthesiology. – 2010. – № 113 – P. 880–891.

57. A mouse model of photochemically induced spinal cord injury / M. S. Piao [et al.] // J Korean Neurosurg Soc. – 2009. – № 46. – P. 479–483.

58. A randomized, controlled trial of methylprednisolone or naloxone in the treatment of acute spinal-cord injury. Results of the Second National Acute Spinal Cord Injury Study / M. B. Bracken [et al.] // N Engl J Med. – 1990. – № 322 (20). – 1405–11.

59. A simple, inexpensive and easily reproducible model of spinal cord injury in mice: morphological and functional assessment / S. A. Marques [et al.] // J Neurosci Methods. – 2009. – № 177. – P. 183–193.

60. Abraham, K. E. The effects of endogenous interleukin-10 on gray matter damage and the development of pain behaviors following excitotoxic spinal cord injury in the mouse / K. E. Abraham, D. McMillen, K. L. Brewer // Neuroscience. – 2004. – 124 (4) – P. 945–52.

61. Acute inflammatory response in spinal cord following impact injury / S. L. Carlson [et al.] // Exp Neurol. – 1998 – May – 151(1) – P. 77–88.

62. Agrawal, S. K. Mechanisms of secondary injury to spinal cord axons in vitro: role of Na⁺, Na⁺(1)-K⁺(1)-ATPase, the Na⁺(1)-H⁺1 exchanger, and the Na⁺(1)-Ca²⁺1 exchanger / S. K. Agrawal, M. G. Fehlings // J Neurosci. – 1996. – 16:545. – P. 552.

63. Akhtar, A. Z. Animal models in spinal cord injury: a review / A. Z. Akhtar, J. J. Pippin, C. B. Sandusky // Rev Neurosci. – 2008. – № 19: – P. 47–60.

64. Allen, A. R. Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column a preliminary report/ A. R. Allen // J Am Med Assoc. – 1911. – № 57. – P. 878–880.

65. An evaluation of the international standards to document remaining autonomic function after spinal cord injury: input from the international community / A. M. Round [et al.] // Spinal Cord. – 2017. – Vol. 55, № 2. – P. 198–203.

66. Anwar, M. A. Inflammogenesis of secondary spinal cord injury / M. A. Anwar, T. S. Al Shehabi, A. H. Eid // *Front. Cell. Neurosci.* – 2016. – Vol. 10 (98). – P. 1–24.
67. Apoptosis and expression of Bcl-2 after compression trauma to rat spinal cord / G. L. Li [et al.] // *J Neuropathol Exp Neurol.* – 1996. – № 55 (3). – P. 280–289.
68. Apoptosis following spinal cord injury in rats and preventative effect of N-methyl-D-aspartate receptor antagonist / S. Wada [et al.] // *J. Neurosurg.* – 1999. – № 91. – P. 98–104.
69. Apoptosis in cellular compartments of rat spinal cord after severe contusion injury / C. Yong [et al.] // *J. Neurotrauma.* – 1998. – Vol. 15, № 7. – P. 459–472.
70. Apoptosis of oligodendrocytes occurs for long distances away from the primary injury after compression trauma to rat spinal cord / G. L. Li [et al.] // *Acta Neuropathol. (Berl).* – 1999. – Vol. 98. – P. 473–480.
71. Aprikalim a potassium adenosine triphosphate channel opener reduces neurologic injury in a rabbit model of spinal cord ischemia/ V. A. Lozos [et al.] // *Int J Surg.* – 2013. – № 11 – P. 354–359.
72. Astrocytic reaction after graded spinal cord compression in rats: immunohistochemical studies on glial fibrillary acidic protein and vimentin / M. Farooque [et al.] // *J Neurotrauma.* – 1995. – Feb – 12 (1). – P. 41–52.
73. Blight, A. R. Animal models of spinal cord injury / A. R. Blight // *Top Spinal Cord Inj Rehabil.* – 2000. – № 6. – P. 1–13.
74. Blight, A. R. Clinical trials in spinal cord injury/ A. R. Blight, M. H. Tuszynski // *J Neurotrauma.* – 2006. – № 23 – P. 586–593.
75. Bydon, M. The current role of steroids in acute spinal cord injury / M. Bydon [et al.] // *World neurosurg.* – 2014. – 82 (5). – 848–854.
76. Casha, S. Oligodendroglial apoptosis occurs along degenerating axons and is associated with Fas and p75 expression following spinal cord injury in the rat / S. Casha; W. R. Yu, M. G. Fehlings // *Neuroscienc.* – 2001. – № 103 (1). – P. 203–218.
77. Characterization of adenoviral gene expression in spinal cord after remote vector delivery / N. M. Boulis [et al.] // *Neurosurgery.* – 1999. – №. 45. – P. 131–137.

78. Characterization of photochemically induced spinal cord injury in the rat by light and electron microscopy / M. B. Bunge [et al.] // *Exp Neurol.* – 1994. – № 127. – P. 76–93.
79. Chipman, J. G. Early surgery for thoraco-lumbar spine injuries decreases complications / J. G. Chipman, W. E. Deuser, G. J. Beilman // *Trauma.* – 2004. – Vol. 56. – P. 52–57.
80. Chondroitinase ABC promotes functional recovery after spinal cord injury/ E. J. Bradbury [et al.] // *Nature.* – 2002. – № 416 (6881) – 636–640.
81. Cytokine activity contributes to induction of inflammatory cytokine mRNAs in spinal cord following contusion / J. Z. Pan [et al.] // *J Neurosci Res.* – 2002. – № 68. – P. 315–322.
82. Does dexmedetomidine reduce secondary damage after spinal cord injury? An experimental study / A. Aslan [et al.] // *Eur Spine J.* – 2009. – № 18. – P. 336–344.
83. Early time-dependent decompression for spinal cord injury: vascular mechanisms of recovery/ G. D. Carlson [et al.] // *J. Neurotrauma.* – 1997. – Vol. 14, № 12. – P. 951–962.
84. Effect of delayed MK801 (dizocilpine) treatment with or without immediate postischemic hypothermia on chronic neuronal survival after global forebrain ischemia in rats / W. D. Dietrich [et al.] // *J Cereb Blood Flow Metab.* – 1995. – Vol 15. – P. 960–968.
85. Effects of interleukin-10 (IL-10) on pain behavior and gene expression following excitotoxic spinal cord injury in the rat / J. A. Plunkett [et al.] // *Exp Neurol.* – 2001. – № 168 (1). – P. 144–54.
86. Efficacy of iloprost and montelukast combination on spinal cord ischemia/reperfusion injury in a rat model / G. Lafci [et al.] // *J Cardiothorac Surg.* – 2013. – № 8. – P. 64.
87. Establishment of graded spinal cord injury model in a nonhuman primate: the common marmoset / A. Iwanami [et al.] // *J Neurosci Res.* – 2005. – № 80. – P. 172–181.

88. Establishment of tractive spinal cord injury model in rats with a novel spinal distractor / W. Wang [et al.] // *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*. – 2011. – № 25. – P. 705–710.
89. Evaluation of spinal cord injury animal models / N. Zhang [et al.] // *Neural Regen Res*. – 2014. – Vol. 15, № 9 (22). – P. 2008–2012.
90. Evaniew, N. Cochrane in CORR®: steroids for acute spinal cord injury (review) / N. Evaniew, M. Dvorak // *Clin. Orthop. Relat. Res*. – 2016. – Vol. 474, № 1. – P. 19–24.
91. Excitotoxicity in neurological disorders--the glutamate paradox / T. P. Obrenovitch [et al.] // *Int J Dev Neurosci*. – 2000. – № 18 (2-3). – P. 281–287.
92. Expression of ICAM-1 and CD11b after experimental spinal cord injury in rats / J. Isaksson [et al.] // *J Neurotrauma*. – 1999. – № 16 (2). – P. 165–173.
93. Fehlings, M. G. Characterization of apoptosis in a motor neuron cell-line / M. G. Fehlings // *Spine*. – 1998. – № 23 (2). – P. 158–158.
94. Flemming, W. Über die Bildung von Richtungsfiguren in Säugethierein beim Untergang Graaf scher Folikel / W. Flemming // *Arch. Anat. Entw Gesch*. – 1885 – P. 221–224.
95. FTY720 reduces inflammation and promotes functional recovery after spinal cord injury / K. D. Lee [et al.] // *J Neurotrauma*. – 2009. – № 26 (12). – 2335–44.
96. Functional regeneration of respiratory pathways after spinal cord injury / W. J. Alilain [et al.] // *Nature*. – 2011. – Vol. 475 (7355) – P. 196–200.
97. Gene expression and apoptosis in the spinal cord neurons after sciatic nerve injury / Z. Z. Gu [et al.] // *Neurochem Int*. – 1997. – № 30. – P. 417–426.
98. Genetic approaches to neurotrauma research: opportunities and potential pitfalls of murine models / O. Steward [et al.] // *Exp Neurol*. – 1999. – № 157. – P. 19–42.
99. Gensel, J. C. Spinal cord injury therapies in humans: an overview of current clinical trials and their potential effects on intrinsic CNS macrophages / J. C. Gensel, D. J. Donnelly, P. G. Popovich // *Expert Opin Ther Tar*. – 2011. – № 15 (4). – P. 505–18.

100. Gluksmann, A. Cell death in normal vertebrate ontogeny / A. Gluksmann // *Biol. Rev.* – 1951. – Vol. 26. – P. 59.
101. Gross-Hemmi, M. H. Study protocol of the International Spinal Cord Injury (InSCI) community survey / M. H. Gross-Hemmi, M. W. Post, C. Ehrmann // *Am. J. Phys. Med. Rehabil.* – 2017. – Vol. 96, № 2-1. – P. S23–S34.
102. Grosso, M. J. Effects of an immunomodulatory therapy and chondroitinase after spinal cord hemisection injury / M. J. Grosso, V. Matheus, M. Clark // *Neurosurgery.* – 2014. – Vol. 75 (4). – P. 461–471.
103. Grundy, D. ABC of spinal cord injury. Fourth edition / D. Grundy, F. Cowan, A. Swain. – Wiley, 2002. – 96 p.
104. Hausmann, O. N. Inflammatory response following spinal cord injury / O. N. Hausmann // *Spinal Cord.* – 2003. – № 41. – P. 369–378.
105. Heimburger, R. Return of function after spinal cord transection / R. Heimburger // *Spinal Cord* – 2005. – № 43. – P. 438–440.
106. Hudetz, J. A. Neuroprotection by ketamine : a review of the experimental and clinical evidence / J. A. Hudetz, P. S. Pagel // *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* – 2010. – Vol. 24 (1). – P. 131–42.
107. Hulsebosch, C. E. Recent advances in pathophysiology and treatment of spinal cord injury / C. E. Hulsebosch // *Adv. Physiol. Educ.* – 2002. – Vol. 26, № 4. – P. 238–255.
108. Imatinib enhances functional outcome after spinal cord injury / M. B. Abrams [et al.] // *PLoS One.* – 2012. – № 7 (6). – P. e38760.
109. Indirect glutamate neurotoxicity / K. W. Yoon [et al.] // *J. Neurotrauma.* – 1998. – Vol. 15, № 2. – P. 141–147.
110. Inhibition of sensory neuron apoptosis and prevention of loss by NT-3 administration following axotomy/ M. J. Groves [et al.] // *Exp Neurol.* – 1999. – Vol. 155 (2). – P. 284–294.
111. Injuries of the Thoracolumbar Spine Associated with Restraint Use in Head-On Motor Vehicle Accidents / S. T. Ball [et al.] // *Spinal Disorders.* – 2000. – Vol. 13. – № 4. – P. 297–304.

112. Interleukin-1 beta enhances spinal cord blood flow after intrathecal administration in the normal rat / C. R. Plata-Salamán [et al.] // *Am J Physiol.* – 1995. – Vol. 269 (5 Pt 2). – P. R1032–1037.
113. Joshi, M. Development and characterization of a novel, graded model of clip compressive spinal cord injury in the mouse: Part 1. Clip design, behavioral outcomes, and histopathology / M. Joshi, M. G. Fehlings // *J Neurotrauma.* – 2002. – № 19 – P. 175–190.
114. Kerr J. F. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics / J. F. Kerr, A. H. Wyllie, A. R. Currie // *Br J Cancer.* – 1972. – Vol. 26 (4). – P. 239–257.
115. Kratochvíl, A. Correlation between the blood surface tension and the activity of some enzymes / A. Kratochvíl, E. Hrnčíř // *Physiol Res.* – 2001. – Vol. 50 (4). – P. 433–437.
116. Kubota, K. Myeloperoxidase exacerbates secondary injury by generating highly reactive oxygen species and mediating neutrophil recruitment in experimental spinal cord injury / K. Kubota, H. Saiwai, H. Kumamaru // *Spine (Phila Pa 1976).* – 2012. – Vol. 37 (16). – P. 1363 – 1369.
117. Kwon, B. K. Animal models used in spinal cord regeneration research / B. K. Kwon, T. R. Oxland, W. Tetzlaff // *Spine.* – 2002. – № 27. – P. 1504–1510.
118. Lee, J. S. Ischemic preconditioning to prevent lethal ischemic spinal cord injury in a swine model / J. S. Lee, J. M. Hong, Y. J. Kim // *J Invest Surg.* – 2008. – № 21. – P. 209–214.
119. Matis, G. K. Erythropoietin in spinal cord injury/ G. K. Matis, T. A. Birbilis // *Eur Spine J.* – 2009. – Vol. 18 (3). – P. 314–23.
120. Methylprednisolone for the treatment of patients with acute spinal cord injuries: a systematic review and meta-analysis / N. Evaniew [et al.] // *J. Neurotrauma.* – 2016. – Vol. 33, № 5. – P. 468–481.
121. Model of traumatic spinal cord injury in *Macaca fascicularis*: similarity of experimental lesions created by epidural catheter to human spinal cord injury/ S. Nesathurai [et al.] // *J Med Primatol.* – 2006. – № 35. – P. 401–404.

122. National Spinal Cord Injury Statistical Center, Facts and Figures at a Glance. Birmingham, AL : University of Alabama at Birmingham. – 2018.
123. New canine spinal cord injury model free from laminectomy / S. Fukuda [et al.] // Brain Res Protoc. – 2005. – № 14. – P. 171–180.
124. Norketamine, the main metabolite of ketamine, is a non-competitive NMDA receptor antagonist in the rat cortex and spinal cord / B. Ebert [et al.] // Eur. J. Pharmacol. – 1997. – Aug 20. – Vol. 333 (1). – P. 99–104.
125. Observation and establishment of an animal model of tractive spinal cord injury in rats / L. Liu [et al.] // Chin J Traumatol. – 2004. – № 7. – P. 372–377.
126. Oyinbo, C. A. Secondary injury mechanisms in traumatic spinal cord injury: a nugget of this multiply cascade / C. A. Oyinbo // Acta Neurobiol. Exp. – 2011. – Vol. 71, № 2. – P. 281–299.
127. Panov, A. V. Mitochondrial Dysfunction and Markers of Spinal Cord Injury. In : Biomarkers for Traumatic Brain Injury. Dambinova S. A., Hayes R. L., Wang K. K. W., editors / A. V. Panov. – The Royal Society of Chemistry, 2012. – P. 106–122.
128. Pharmacological therapy for acute spinal cord injury. In: Guidelines for the management of acute cervical spine and spinal cord injuries / R. J. Hurlbert [et al.] // Neurosurgery. – 2013. – Vol. 72 (Suppl 2) – P. 93–105.
129. Photochemically induced spinal cord injury in the rat / B. D. Watson [et al.] // Brain Res. – 1986. – № 367. – P. 296–300.
130. Post-trauma Lipitor treatment prevents endothelial dysfunction, facilitates neuroprotection, and promotes locomotor recovery following spinal cord injury / R. Pannu [et al.] // J Neurochem. – 2007. – № 101 (1). – P. 182–200.
131. Prostaglandin E1 prevents apoptotic cell death in superficial dorsal horn of rat spinal cord / T. Kawamura [et al.] // Neuropharmacology. – 1997. – Vol. 36 (8). – P. 1023 – 1030.
132. Protection of rat spinal cord from ischemia with dextrorphan and cycloheximide: effects on necrosis and apoptosis / H. Kato [et al.] // J Thorac Cardiovasc Surg. – 1997. – Vol. 114 (4). – P. 609 – 618.

133. Protein and DNA oxidation in spinal injury: neurofilaments--an oxidation target / M. L. Leski [et al.] // *Free Radic Biol Med.* – 2001. – Vol. 30 (6). – P. 613–624.
134. Restoring function after spinal cord injury: promoting spontaneous regeneration with stem cells and activity-based therapies / V. Belegu [et al.] // *Neurosurg. Clin. N. Am.* – 2007. – Vol. 18, № 1. – P. 143–168.
135. Riluzole prevents ischemic spinal cord injury caused by aortic crossclamping/ L. Lang-Lazdunski [et al.] // *J Thorac Cardiovasc Surg.* – 1999. – Vol. 117 (5). – P. 881–889.
136. Role of potassium channels in axonal dysfunction after spinal cord injury: molecular and electrophysiological evidence / R. Nashmi [et al.] // *J. Neurotrauma.* – 1998. – № 15 – P. 21.
137. Schumacher, P. A. Increased calpain I-mediated proteolysis, and preferential loss of dephosphorylated NF200, following traumatic spinal cord injury / P. A. Schumacher, J. H. Eubanks, M. G. Fehlings // *Neuroscience.* – 1999. – № 91 (2). – P. 733–744.
138. Skinner, S. A. Electromyography in the detection of mechanically induced spinal motor tract injury: observations in diverse porcine models / S. A. Skinner, E. E. Transfeldt // *J Neurosurg Spine.* – 2009. – № 11. – P. 369–374.
139. Spillmann, A. A. High molecular weight protein of human central nervous system myelin inhibits neurite outgrowth: an effect which can be neutralized by the monoclonal antibody IN-1 / A. A. Spillmann, V. R. Amberger, M. E. Schwab // *Eur J Neurosci.* – 2006. – № 9. – P. 549–555.
140. Spinal cord injury models: a review / T. Cheriyan [et al.] // *Spinal Cord.* – 2014. – № 52. – P. 588–595.
141. Springer, J. E. Activation of the caspase-3 apoptotic cascade in traumatic spinal cord injury / J. E. Springer, R. D. Azbill, P. E. Knapp // *Nat Med.* – 1999. – Vol. 5 (8). – 943–946.
142. Tapping into spinal circuits to restore motor function/ H. Barbeau [et al.] // *Brain Res Rev.* – 1999. – № 30. – P. 27–51.

143. The therapeutic profile of rolipram, PDE target and mechanism of action as a neuroprotectant following spinal cord injury / S. M. Schaal [et al.] // PLoS One. – 2012. – № 7 (9). – P. e43634.
144. The therapeutic role of interleukin-10 after spinal cord injury / C. D. Thompson [et al.] // J Neurotrauma. – 2013. – № 30 (15). – P. 1311–24.
145. Traumatic spinal cord injury produced by controlled contusion in mouse / L. B. Jakeman [et al.] // J Neurotrauma. – 2000. – № 17. – P. 299–319.
146. Validation of the weight-drop contusion model in rats: a comparative study of human spinal cord injury / G. A. S. Metz [et al.] // J Neurotrauma. – 2000. – № 17 – P. 1–17.
147. Vijayaprakash, K. M. An experimental spinal cord injury rat model using customized impact device: A cost-effective approach / K. M. Vijayaprakash, N. Sridharan // J Pharmacol Pharmacother. – 2013 – № 4. – P. 211–213.
148. Virchow, R. Cellular pathology as based upon physiological histology. Ed. 2 / R. Virchow. – New York., 1971. – P. 356–382.
149. Weigert, C. Apoptosis, oncosis and necrosis an overview of cell death / C. Weigert, G. Magno, I. Joris // Amer. J. Pathol. – 1995. – № 146. – P. 3–5.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

1. Рисунок 1 – Схематическое изображение участка спинного мозга с очагами «первичного» (красно-оранжевый круг) и «вторичного» (серая зона) повреждения. С. 20
2. Рисунок 2 – Строение и фармакология NMDA-рецептора. С. 24
3. Рисунок 3 – Схематическое представление проведенного исследования. С. 37
4. Рисунок 4 – Произведена ламинэктомия, видна дорзальная поверхность спинного мозга. С. 39
5. Рисунок 5 – Рентгенография после проведенного хирургического вмешательства. С. 39
6. Рисунок 6 – Схема ударного устройства. С. 40
7. Рисунок 7 – Интраоперационное использование ударного устройства. С. 41
8. Рисунок 8 – График динамики двигательной активности в контрольной группе. С. 50
9. Рисунок 9 – График динамики показателей чувствительности. С. 51
10. Рисунок 10 – График динамики показателей чувствительности. С. 52
11. Рисунок 11 – Морфологическая картина ткани спинного мозга в норме ($\times 40$, $\times 200$). С. 55
12. Рисунок 12 – Морфологическая картина ткани спинного мозга в остром периоде травмы ($\times 40$, $\times 100$). С. 55
13. Рисунок 13 – Морфологическая картина ткани спинного мозга в подостром периоде травмы ($\times 200$). С. 56
14. Рисунок 14 – Морфологическая картина ткани спинного мозга в подостром периоде травмы ($\times 200$). С. 56
15. Рисунок 15 – Спинной мозг. 14 сут.после травмы. Без включения в терапию кетамина. $\times 400$ С.57
16. Рисунок 16 – Спинной мозг. 14 сут после травмы. Включение в терапию кетамина через 2 ч. после травмы. $\times 400$ С.58

17.	Таблица 1 – Распределение экспериментальных животных по группам.	С. 43
18.	Таблица 2 – Оценка моторной функции спинного мозга.	С. 44
19.	Таблица 3 – Оценка чувствительности.	С. 45
20.	Таблица 4 – Оценка нарушений ФТО.	С. 45
21.	Таблица 5 – Распределение животных опытных групп в зависимости от силы удара.	С. 48
22.	Таблица 6 – Динамика показателей двигательной активности животных на этапах эксперимента.	С. 50
23.	Таблица 7 – Динамика показателей чувствительности животных на этапах эксперимента.	С. 51
24.	Таблица 8 – Динамика изменения массы на этапах эксперимента. ...	С.52
25.	Таблица 9 – Динамика изменения ФТО на этапах эксперимента. ...	С. 53
26.	Таблица 10 – Динамика содержания эндогенных детергентов в сыворотке крови и ликворе при травматическом поражении спинного мозга в эксперименте.	С. 53
27.	Таблица 11 – Динамика изменения NSE (нг/мл) в ликворе и плазме.	С. 54
28.	Таблица 12 – Динамика показателей двигательной активности животных на этапах эксперимента.	С. 60
29.	Таблица 13 – Динамика показателей чувствительности животных на этапах эксперимента.	С. 61
30.	Таблица 14 – Динамика изменения массы тела животных на этапах эксперимента.	С. 62
31.	Таблица 15 – Динамика изменения ФТО на этапах эксперимента. ...	С. 62
32.	Таблица 16 – Поверхностное натяжение сыворотки крови при травматическом поражении спинного мозга в эксперименте (мН/м). ...	С. 63
33.	Таблица 17 – Поверхностное натяжение ликвора при травматическом поражении спинного мозга в эксперименте (мН/м). ...	С. 63
34.	Таблица 18 – Показатели NSE сыворотки при травматическом поражении спинного мозга в эксперименте (нг/мл).	С. 64