

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

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2019

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я. Л. Цивьяна» Министерства здравоохранения Российской Федерации и федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор **Верещагин Евгений Иванович**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук

Кравцов Сергей Александрович

(Областной клинический центр охраны здоровья шахтеров, заведующий отделением реанимации и интенсивной терапии, Кемеровская область, г. Ленинск-Кузнецкий)

доктор медицинских наук, доцент

Кан Сергей Людовикович

(НГИУВ – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, заместитель директора по учебной работе, заведующий кафедрой анестезиологии и реаниматологии, г. Новокузнецк)

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации

Защита состоится «_____» _____ 2020 г. в «_____» часов на заседании диссертационного совета Д 208.062.03 на базе Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52; тел.: (383) 229-10-83)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52; <http://www.ngmu.ru/dissertation/476>)

Автореферат разослан «_____» _____ 2019 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

М. Н. Чеканов

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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 (Коновалов А. Н. с соавт., 1986; Качесов В. А., 2005; Вишневский А. А., Шулешова Н. В., 2014; Evaniew N. et al., 2016).

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 (Гусев Е. И., Скворцова В. И., 2001). Доказано, что кетамин и его метаболит норкетамин способны блокировать NMDA-рецепторы коры головного и спинного мозга с высокой степенью аффинности (Ebert B. et al., 1997).

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 спинного мозга (СМ) в эксперименте.

Определение коэффициента поверхностного натяжения (КПН) 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 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), на форуме анестезиологов и реаниматологов России (ФАРР-2019), 18-м съезде Федерации анестезиологов и реаниматологов (Москва, 2019).

Диссертационная работа апробирована на заседании ученого совета федерального государственного бюджетного учреждения «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я. Л. Цивьяна» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Новосибирск, 2019).

Диссертационная работа выполнена в соответствии с утвержденным направлением научно-исследовательской работы ФГБУ «ННИИТО 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» и имеет

государственную регистрацию 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 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.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная работа основана на экспериментальных исследованиях, выполненных на 80 кроликах массой 2 500–3 400 г, у которых моделировалось острое повреждение спинного мозга. Общая схема дизайна исследования представлена на рисунке 1. В до- и послеоперационном периоде животные содержались в условиях вивария Новосибирского НИИТО. 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.

Наносили стандартную открытую ПСМТ на нижнегрудном 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.

В соответствии с целями и задачами исследования экспериментальные животные были разделены на 5 групп.

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 схеме ведения 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 схеме ведения 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 схеме ведения 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).

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

Оценка чувствительности проводилась в виде оценки глубокой чувствительности. Для определения глубокой чувствительности зажимом сдавливались фаланги пальцев и реакция регистрировалась в виде стандартного формата записи неврологической оценки. Проводилась оценка нарушения ФТО, общего вида животных, потери массы тела, состояния волосяного

покрова, наличия или отсутствия трофических нарушений (пролежней).

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.

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 $t = 23^{\circ}\text{C}$.

Для определения нейрон-специфической енолазы использовался набор: Вектор Бест Т-8476 NSE-ИФА-БЕСТ, набор реагентов для иммуноферментного определения концентрации нейрон-специфической енолазы (NSE) в сыворотке крови. Чувствительность: 1 нг/мл. Диапазон измерений: 0–150 нг/мл.

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).

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).



Рисунок 1 – Дизайн исследования

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

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 1). 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 1 –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 (функция тазовых органов) 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.

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, нарушение функции тазовых органов по типу задержки. Состояние всех животных было тяжелым: они были вялые, адинамичные, плохо принимали корм, теряли в весе.

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).

Получена следующая закономерность: после травмы наблюдается снижение (коэффициент поверхностного натяжения) 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.

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.

При морфологическом исследовании в остром периоде выявляются значительные изменения спинного мозга кровоизлияния, отек белого и серого вещества. В дальнейшем происходит уменьшение отека, формирование кист, также могут определяться очаги некроза, сохраняется клеточная реакция. Наблюдается перичеллюлярный и периваскулярный отек, застойное кровенаполнение в сосудах серого и белого вещества спинного мозга. В области повреждения спинного мозга наблюдается глиальная реакция (пролиферация глии): периваскулярный, перичеллюлярный отек и воспалительная инфильтрация. Наряду с воспалительными изменениями появляются признаки дистрофических изменений спинного мозга: появление участков опустошения, без четко выраженного отграничения от ткани в сером 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.

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

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 результатом 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-м 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 2).

Таблица 2 – 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)			

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), в группе 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 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 3).

Таблица 3 – 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)
Примечание. Исходно нет различия в группах по массе 3 300 (3 100; 3 700).			

Масса при эвтаназии составила 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 4).

Таблица 4 – 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)		

Оценивался КПН плазмы, ликвора (методом определения высоты смачивания капилляра). Коэффициент поверхностного натяжения (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 5 и 6).

Таблица 5 – Поверхностное натяжение (ПН) сыворотки крови при травматическом поражении спинного мозга в эксперименте (мН/м)

Группы	ПН 1-е сутки (Me (LQ; UQ))	ПН 7-е сутки (Me (LQ; UQ))	ПН 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 6 – Поверхностное натяжение (ПН) ликвора при травматическом поражении спинного мозга в эксперименте (мН/м)

Группы	ПН 1-е сутки (Me (LQ; UQ))	ПН 7-е сутки (Me (LQ; UQ))	ПН 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)			

Повышение нейрон-специфической енолазы отмечается в первые сутки после травмы спинного мозга. В дальнейшем уровень NSE снижается. Значимых различий между группами не выявлено. Нейрон-специфическая енолаза (NSE), помимо маркера повреждения нервной ткани, имеет эффект индукции воспаления в нервной ткани и препятствует восстановлению

нейронов и глии после СМТ.

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-е 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-м суткам исследования в группе раннего начала терапии (через 2 часа после травматического воздействия) отмечено 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 включения кетамина в терапию острой спинномозговой травмы наиболее выражено в ранние (через 2 часа) сроки после моделирования экспериментального повреждения спинного мозга.

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 ЦНС) 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Нейропротекция кетамином и допаминсберегающими препаратами в остром периоде тяжелой черепно-мозговой травмы и терапии апаллического синдрома / Е. И. Верещагин [и др., в том числе **С. Г. Волков**] // **Анестезиология и реаниматология.** – 2004. – № 4. – С. 54–56.

2. **Волков С. Г.** Нейропротекция кетамином в составе комплексной терапии в остром периоде спинномозговой травмы / **С. Г. Волков**, Е. И. Верещагин // **Медицина и образование в Сибири.** – 2012. – № 6 – С. 51.

3. Коэффициент поверхностного натяжения сыворотки крови как один из критериев оценки эндогенной интоксикации и тяжести критических состояний / Е. И. Верещагин [и др., в том числе **С. Г. Волков**] // **Медицина и образование в Сибири.** – 2012. – № 6. – С. 43.

4. **Волков, С. Г.** Представления о патогенезе травматического повреждения спинного мозга и возможных путях терапевтического воздействия: обзор литературы / **С. Г. Волков**, Е. И. Верещагин // **Хирургия позвоночника.** – 2015. – Т. 12, № 2. – С. 8–15.

5. **Волков, С. Г.** Модель экспериментальной травмы спинного мозга и эффективность нейропротекции кетамином в остром периоде спинно-мозговой травмы / **С. Г. Волков**, Е. И. Верещагин // **Хирургия позвоночника.** – 2016. – Т. 13, № 4. – С. 90–93.

6. **Пат. 27041032** С1 Российская Федерация МПК G09В 23/28 (2006.01). Способ моделирования спинномозговой травмы / **С. Г. Волков**, Е. И. Верещагин, М. Н. Лебедева, А. Г. Самохин; Патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России) (RU). – № 2018133926; заявл.25.09.2018; опубл. 23.10.2019. – Бюл. № 30. – 7 с.

7. Липидные метаболиты как факторы танатогенеза при гнойно-септических заболеваниях / А. В. Ефремов [и др., в том числе **С. Г. Волков**] // Вестник интенсивной терапии. – 2003. – № 4. – С. 23–26.

8. Верещагин, Е. И. Изучение детергентного действия метаболитов, образующихся при критических состояниях/ Е. И. Верещагин, **С. Г. Волков** // Современные аспекты анестезиологии и интенсивной терапии : материалы 2-й научно-практической конференции. – Новосибирск, 2005. – С. 59.

9. Особенности лечения острой позвоночно-спинномозговой травмы шейного отдела позвоночника / В. П. Шевченко [и др., в том числе **С. Г. Волков**] // Актуальные вопросы анестезии и реанимации при позвоночно-спинномозговой травме : мат. мастер-класса по нейроанестезиологии и нейрореаниматологии, г. Санкт-Петербург, 28-29 апр. 2010 г. – СПб., 2010. – С. 173–180.