

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию

Волкова Сергея Георгиевича

на тему: «Применение блокатора N-метил-D-аспартат-рецепторов в острый период травмы спинного мозга в эксперименте»,
по специальности 14.01.20 – анестезиология и реаниматология,
представленную на соискание ученой степени кандидата наук.

1. Актуальность избранной темы.

Улучшение результатов лечения пострадавших с позвоночно-спинномозговой травмой в остром периоде – одна из насущных задач современной реаниматологии, поскольку, несмотря на очевидные достижения современной медицины, сохраняется высокая частота неудовлетворительных исходов, высокая смертность и инвалидизация. Кроме того, в последние десятилетия, количество пострадавших с этой патологией не только не имеет тенденции к снижению, а наоборот - наблюдается ежегодное увеличение, что подчеркивает не только медицинские, но и социальные аспекты её значимости.

Это обстоятельство обусловлено, сложностью диагностики повреждений, большой совокупностью факторов, определяющих тяжесть состояния пострадавших, из-за недостаточных знаний о патогенетических механизмах острого периода тяжелой позвоночно-спинномозговой травмы современные технические и фармакологические технологии оказываются мало востребованными в связи с отсутствием четких, аргументированных, с позиции доказательной медицины, показаний к их применению. Решение этой проблемы видится в дальнейшем изучении ведущих патофизиологических механизмов, формирующихся в остром периоде у пациентов с позвоночно-спинномозговой травмой, и, на этой основе, формирование предпосылок для создания лечебных программ с использованием как известных фармакологических средств, так и новых.

Отсутствие адекватных экспериментальных моделей для изучения патогенетических механизмов ПСМТ в значительной мере тормозит этот процесс. Современная концепция патогенеза травматического повреждения спинного мозга рассматривает два основных взаимосвязанных механизма гибели нейроспинальных клеток: апоптоз и некроз. Процессы некроза представляют собой необратимую и непредотвратимую гибель клеток. Теоретически, гибель клеток в результате апоптоза, на определенных этапах, может быть задержана или предупреждена, что создаёт условия для предотвращения гибели нейронов в зонах вторичного поражения, на границе с безвозвратно погибшим участком спинного мозга. Торможение процессов апоптоза может способствовать регенерации скомпроментированной нервной ткани, а ее стимуляция в свою очередь может подавлять вторичное повреждение.

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 (N-метил-D-аспартат) и AMPA (α -Амино-3-гидрокси-5-Метил-4-изоксазолПропионовая Кислота), поэтому особое внимание уделяется изучению блокаторов этих рецепторов. Анализ экспериментальных и клинических данных свидетельствует о возможной перспективе использования кетамина как NMDA-блокатора, в конечном итоге как мощного нейропротектора, в остром периоде позвоночной спинно-мозговой травмы (ПСМТ)

В этой связи стремление соискателя разработать адекватную экспериментальную модель для изучения особенностей патогенеза ПСМТ в остром периоде и оценке эффективности новых подходов в лечении, направленных на снижение негативных последствий у больных с позвоночно-спинномозговой травмой, заслуживает уважения и понимания,

а сама рассматриваемые задачи является исключительно актуальными для современной клинической реаниматологии.

2. Степень обоснованности полученных результатов.

Автор достаточно корректно использует известные научные методы обоснования полученных результатов, выводов и рекомендаций. Автором изучены и критически анализируются известные достижения и теоретические положения других авторов по вопросам патогенеза ПСТ, возможностям диагностики и фармакологической коррекции развивающихся патологических состояний в остром периоде травмы, а также требованиям к экспериментальным работам. Библиографический указатель, содержит 149 наименования, включающего 54 отечественных и 95 зарубежных источника.

Для анализа особенностей течения травматической болезни при тяжелых позвоночно-спинальных повреждениях автор занимался изучением состояния вопросов диагностики и фармакологической коррекции с учетом патофизиологических и клинических особенностей ПСМТ. Методологической основой исследования, позволяющей выявить закономерности развития асептического воспаления, апоптоза при использовании кетамина, были клинико-неврологические параметры и лабораторные данные, в качестве интегрального параметра оценки детергентной интоксикации использовался коэффициент поверхностного натяжения плазмы и ликвора, уровень нейрон-специфической енолазы, кроме того, при моделировании экспериментального повреждения оценивались морфологические изменения спинного мозга.

Основные результаты диссертации опубликованы в 9 печатных работах, в том числе 1 патент на изобретение и 5 статей в научных журналах и изданиях рекомендованных ВАК, они неоднократно обсуждались на различных конференциях и симпозиумах и получили

одобрение ведущих специалистов

3. Достоверность и новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Достоверность данных и новизна исследования обеспечивается четко определенным дизайном работы, использованием современных средств и методик проведения исследований.

Полученные результаты, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации основываются на известных достижениях современной медицинской науки и прикладных научных дисциплин - описательной, параметрической и непараметрической статистики.

Научная новизна представленной работы заключается в том, что был разработан адекватный, воспроизводимой и технически соответствующей требованиям модели поражения спинного мозга способ моделирования острого травматического повреждения спинного мозга, который может быть использован для разработки новых методов терапии острой спинальной травмы (патент на изобретение № 2704103 «Способ моделирования спинномозговой травмы».)

Впервые обоснована нейропротекторная роль NMDA-блокатора кетамина при спинно-мозговой травме (СМТ), в условиях эксперимента, эффективность которого зависит от времени начала использования, наиболее выраженные эффекты наблюдались при его раннем включении в терапию острого периода СМТ.

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

Выводы и практические рекомендации автора диссертации основаны на результате анализа экспериментальной работы на 80 лабораторных животных. Результаты исследования научно обоснованы.

Достоверность полученных результатов подтверждена проведенным статистическим анализом.

В целом диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной задачи и соответствует критерию внутреннего единства, что подтверждается непротиворечивостью методологической базы, последовательностью в используемых приемах и методах анализа, концептуальностью и взаимосвязанностью выводов.

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.

4. Значимость для науки и практики полученных автором результатов.

Полученные автором научные данные позволяют расширить наши знания об особенностях течения травматической болезни спинного мозга в остром периоде.

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 от 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.

5. Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации.

Разработанный в эксперименте способ повреждения спинного мозга может быть полезным для последующих работ по оценке эффективности новых видов лечения при данной патологии.

Полученные экспериментальные результаты могут явиться обоснованием эффективности применения блокаторов NMDA-рецепторов в клинической практике у больных с повреждением спинного мозга для улучшения результатов лечения.

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.

6. Оценить содержание диссертации, ее завершенность.

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.

Автором проделана большая экспериментальная работа по клиническому обследованию и лечению 80 лабораторных животных с позвоночно спинно-мозговой травмой в остром периоде. Во введении убедительно обосновывается актуальность исследований.

Цель представленной научной работы заключается в изучении эффектов терапии блокатором N-метил-D-аспартат-рецепторов на разработанной экспериментальной модели повреждения спинного мозга в остром периоде травмы.

Для достижения поставленной цели автором поставлены и решены 4 задачи. Положения выносимые на защиту обосновывают концептуальную основу диссертации и состоят из 2 пунктов.

Обзор литературы представляет собой анализ проведённых исследований по теме диссертации. Автор изложил данные аналитической оценки вопросов эпидемиологии, патогенеза, диагностические аспекты позвоночной спинно-мозговой травмы. Особое внимание уделил состоянию возможностей для дальнейшего изучения особенностей патогенетических механизмов травматической болезни мозга в остром периоде и их коррекции в эксперименте.

Автором продемонстрировано знание литературы вопроса, умение её критически анализировать, а разумно составленный обзор литературы логично обосновывает необходимость решения поставленных в диссертации задач.

Во второй главе представлены методы исследования и клиническая характеристика обследованных больных. Сформированный дизайн исследования, план обследования экспериментальных животных соответствует цели и задачам исследования.

Научная работа основана на экспериментальных исследованиях, выполненных на 80 кроликах массой 2 500–3 400 г, у которых моделировалось острое повреждение спинного мозга. 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.

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, четвертую и пятую группы 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, соответственно: через 2 часа после воздействия (17 животных), через 8 часов после воздействия (17 животных) и через 16 часов после воздействия (16 животных).

Оценивалась моторная функция спинного мозга, глубокая чувствительность, а также общее состояние животных. Выполнялась обзорная микроскопия, составлялась общая гистологическая картина тканевых изменений. Также выполнялось иммуногистохимическое исследование экспрессии маркера апоптоза p53.

Для сравнительной оценки детергентного действия липидных медиаторов использовался капиллярный метод, выполнялась оценка коэффициента поверхностного натяжения (КПН) (s) сыворотки крови и ликвора. Проводилось иммуноферментное определение концентрации нейрон-специфической енолазы (NSE) в сыворотке крови, ликворе.

Использованные диссертантом методы свидетельствует о большом объеме выполненных исследований и объективности полученных результатов.

Третья глава посвящена анализу характера клинических и морфологических изменений при моделировании травмы спинного мозга.

Разработана стандартизированная модель повреждения спинного мозга со стойким неврологическим дефицитом. Для проведения запланированного исследования экспериментальным путем определена необходимая сила удара - составила 0,07–0,08 Дж. Это позволяло получить классическую клинику нарушений моторной (полной парезии нижних конечностей) и чувствительной функций по спинному мозгу ниже уровня повреждения, без какой-либо отчетливой тенденции к полному восстановлению к максимальному сроку наблюдения (14 суток с момента нанесения травмы). Состояние всех животных было тяжелым: вялые, адинамичные, плохо принимали корм, теряли в весе. Неврологический дефицит сочетался со

значительным повышением уровня нейроспецифической енолазы в ликворе в первые сутки после повреждения, сохраняющейся длительный период времени. Отмечалось снижение КПН (коэффициент поверхностного натяжения), более выраженное при оценке ликвора, в дальнейшем (7–14 сут) наблюдалось резкое его повышение – на 22 % больше исходных значений, что расценивалось как реакция, типичная для фазы регенерации спинного мозга. 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.

Четвертая глава посвящена исследованию эффекта применения блокатора N-метил-D-сапартат рецепторов при моделировании травматического повреждения спинного мозга в остром периоде.

Детально оценивается динамика двигательной, чувствительной активности во 2, 3, 4, 5 группах животных, общее их состояние в течение острого периода позвоночной спинно-мозговой травмы. При исходно одинаковых показателях в первые сутки после нанесения травмы наиболее выраженная положительная динамика восстановления чувствительной активности отмечена при раннем включении (3 экспериментальная группа) 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 сохранялась картина пареза нижних конечностей. При бальной оценке движений в конечностях во всех группах результат 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 - балл двигательной

активности по 3 группе составлял 1,5 (1,0; 2,0)..

В группах (4 и 5) с началом терапии через 8 и 16 часов после травматического воздействия результаты были статистически достоверно ниже, чем в предыдущей группе.

В группе раннего начала лечения кетаминотерапией к 7 суткам с момента травмы отмечается незначительная положительная неврологическая динамика: разрешение пlegии до глубокого пареза. Балл оценки двигательной активности в целом по группе составил 1,0 (1,0; 1,0).

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.

Изменение содержанияNSE 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 органических нарушений и их определение в клинической практике. Они имеют существенное значение как при непосредственной оценке тяжести состояния пациента, так и риска развития у него органических нарушений. Наиболее информативным интегральным критерием оценки детергентной интоксикации является коэффициент поверхностного натяжения (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.

Автором, по результатам экспериментальных исследований, было выявлено, 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.

7. Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации.

Работа базируется на достаточном числе исходных данных, расчетов, хорошо иллюстрирована. Она написана доходчиво и аккуратно оформлена. По основным главам в работе в целом сделаны четкие выводы.

Автореферат соответствует основному содержанию диссертации.

Принципиальных замечаний нет.

Однако некоторые положения, на наш взгляд требуют дополнительного разъяснения, а именно:

Демонстрируются прекрасные гистологические данные позволяющие оценить состояние очага поражения спинного мозга, даже выделить зону апаптоза, но только на первые и 14 сутки. Почему не была отслежена динамика гистологических изменений. Возможно, это привело бы к появлению дополнительных данных характеризующих этот процесс.

И второе, почему исследование ограничено интервалом 14 дней.

Отмеченные недостатки не влияют на главные теоретические и практические результаты диссертации.

8. Заключение

Таким образом, диссертация Волкова Сергея Георгиевича на тему: «Применение блокатора N-метил-D-аспартат-рецепторов в острый период травмы спинного мозга в эксперименте», является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработан адекватный, воспроизводимый и технически соответствующий требованиям модели поражения спинного мозга способ моделирования острого травматического повреждения спинного мозга и апробированы теоретические положения, о положительном влиянии блокатора NMDA рецепторов, кетамина, в

остром периоде травмы спинного мозга в эксперименте, работой, имеющей несомненную научную новизну и важное практическое значение для медицины, что соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности 14.01.20 – анестезиология и реаниматология.

Официальный оппонент,

доктор медицинских наук, заведующий ОРИТ,

Государственное автономное учреждение здравоохранения Кемеровской

области «Областной клинический центр охраны здоровья шахтеров»,

652509, Россия, Кемеровская область, г. Ленинск-Кузнецкий, мкр. 7 № 9,

телефон: 8(38456)23999; +79069286609,

E-mail: info@gnkc.kuzbass.net; krawtsow.ser@yandex.ru



(подпись)

Дата Гербовая печать

28.01.2020г.

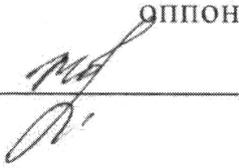
Сергей Александрович Кравцов

(расшифровка подписи)

Подпись официального оппонента заверяю,

Начальник отдела кадров

ГАУЗКО

 /

Н.Н. Жарких

ОКЦОЗШ