



ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ДИМЕФОСФОНА В ДОЗЕ 18,75 МГ/КГ ПРИ СПИННО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ

Р.Ф. Тумакаев, Г.Г. Яфарова

Научно-исследовательский центр "Восстановительная травматология и ортопедия", Казань

Цель исследования. Обоснование необходимой концентрации димефосфона для оценки влияния на функцию спинного мозга при травматическом повреждении спинного мозга.

Материал и методы. На 40 беспородных собаках, разделенных на три группы, до и после позвоночно-спинальной травмы исследовалась проводимость спинальных путей методом транскраниальной магнитной стимуляции двигательной зоны коры головного мозга и состояние пояснично-крестцовых мотонейронов с помощью стимуляционной электромиографии. Проведены гистологические исследования поврежденного сегмента спинного мозга. Димефосфон в третьей группе животных вводился внутривенно в дозе 18,75 мг/кг в течение десяти дней после травмы спинного мозга.

Результаты. У 90 % животных третьей группы через сутки после травмы транскраниальная стимуляция вызывала моторные ответы в передних большеберцовых мышцах. Латентные периоды моторных ответов достоверно не изменялись, что указывает на сохранение проводниковой функции спинного мозга. Применение димефосфона способствовало уменьшению количества рефлекторно реагирующих мотонейронов в остром периоде, что подтверждается еще и меньшей потенциацией величины рефлекторного ответа при высокочастотной тетанизации.

Заключение. Димефосфон способствует репарации и восстановлению функций поврежденных отделов спинного мозга, действуя на сосудистое русло и нейрональную активность спинного мозга.

Ключевые слова: димефосфон, травма спинного мозга, доза раствора, электромиографические и гистологические исследования.

EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF 18.75 MG/KG DIMEPHOSPHON USE FOR IN SPINAL CORD INJURY

R.F. Tumakaev, G.G. Yafarova

Objective. To substantiation an appropriate concentration of dimephosphon for evaluation of its effect on function of the injured spinal cord.

Material and Methods. The experiment was carried out in 40 mongrel dogs divided in three groups. Spinal pathway conductivity was studied by transcranial magnetic stimulation of the brain motor cortex, and a state of the lumbosacral motoneurons – by stimulation electromyography before and after spinal cord injury. Injured spinal cord specimens were histologically examined. In the third group of animals dimephosphon in a doze of 18.75 mg/kg was injected intravenously during 10 days after spinal cord injury.

Results. In 90 % of animals of the third group transcranial stimulation produced motor responses in the anterior tibial muscles in one day after injury. Latent periods of motor responses did not definetely change, which evidenced for preservation of the spinal cord conduction. Dimephosphon reduced the quantity of reflectory reacting motorneurons in acute period of trauma, which is also confirmed by lesser potentiation of reflectory reaction value at high-frequency tetanization.

Conclusion. Dimephosphon promotes the reparation and restoration of function of the injured spinal cord segments effecting the bloodstream and neuronal activity of the spinal cord.

Key Words: dimephosphon, spinal cord injury, solution dose, electromyographic and histological studies.

Hir. Pozvonoc. 2007;(1):69–74.

Введение

Несмотря на значительный прогресс в медикаментозном лечении больных с позвоночно-спинальной

травмой, проблема полноценного восстановления функции травмированного спинного мозга остается чрезвычайно актуальной, а многочисленные попытки стимуляции

процессов регенерации поврежденного спинного мозга не всегда оказывают должное воздействие.

Цель работы – обоснование необходимой концентрации димефос-

фона для оценки влияния на функцию спинного мозга при травматическом повреждении спинного мозга. Новизна заключается в применении препарата при лечении данной патологии.

Синтезированный в Институте органической и физической химии им. А.Е. Арбузова димефосфон является представителем синтетических малотоксичных неантихолинэстеразных фосфорорганических соединений и внедрен в клиническую практику как антиацидотическое и мембраностабилизирующее средство. В экспериментальных и клинических исследованиях показан широкий спектр его биологической активности: димефосфон действует как иммуномодулятор, стимулятор регенераторных процессов, обладает противовоспалительной активностью и оказывает многогранное воздействие на метаболизм, поддерживая гомеостаз на оптимальном уровне, стимулируя активность многих ферментных систем. Широкий диапазон фармакологических эффектов объясняется нормализующим влиянием димефосфона на процессы перекисного окисления липидов не прямым, а опосредованным путем, через стимуляцию антиокислительной системы, ведущим компонентом которой и универсальным регулятором функций выступает глутатионовый буфер клетки [1, 4].

В литературе представлены результаты экспериментального и клинического изучения ноотропного воздействия димефосфона на локальный мозговой кровоток, реактивность мозговых сосудов и напряжение кислорода. Показано, что вазоактивность препарата проявляется в нормализации цереброваскулярной реактивности, что сочетается с уменьшением потребления кислорода мозговой тканью и высокой нейрометаболической активностью [2, 3]. В проведенном нами эксперименте обоснована эффективность положительного влияния димефосфона на функции

поврежденного спинного мозга в дозе 18,75 мг/кг.

Материал и методы

На 40 беспородных собаках под диссоциативной анестезией (кетамин в/м, 6–8 мг/кг) после проведения ламинэктомии первого поясничного позвонка осуществлялась контузия спинного мозга по методике А. Allen [5]: через металлическую трубку высотой 20 см, установленную на корни дужек позвонка, опускался груз весом 20 г. Твердая мозговая оболочка оставалась интактной. Критерием нанесения повреждения являлось мышечное сокращение нижних конечностей и визуализация очага ушиба спинного мозга.

В первой группе (14 животных) испытуемым наносилась открытая позвоночно-спинномозговая травма по вышеописанной методике; лечебные процедуры, направленные на очаг контузии спинного мозга, не применялись; рана зашивалась наглухо. Через 10 дней после оперативного вмешательства производились гистологические исследования поврежденного сегмента спинного мозга на световом микроскопе МБИ-1 при 20-кратном увеличении, отдельные нейроны исследовались при увеличении в 40 раз; окраска гематоксилин-эозином. До повреждения спинного мозга и через 1, 3, 7, 14, 21, 30 и 45 дней после этого исследовались проводимость спинальных путей методом магнитной стимуляции коры головного мозга и состояние пояснично-крестцовых мотонейронов с помощью стимуляционной электромиографии. Для электромиографического обследования применялся электромиограф, стимулирующие игольчатые электроды вводились в область проекции большеберцового нерва в подколенной ямке справа и слева, отводящие электроды вкалывались в квадратные мышцы подошвы. При транскраниальной магнитной стимуляции двигательной зоны коры голов-

ного мозга регистрировались моторные (М) ответы передней большеберцовой мышцы справа и слева.

Во второй группе (12 животных) сравнивалась эффективность воздействия на функцию поврежденного спинного мозга димефосфона в различных дозах: 375,00 мг/кг, 187,50 мг/кг, 75,00 мг/кг, 37,50 мг/кг, 18,75 мг/кг и 11,25 мг/кг при ежедневном внутривенном введении в течение десяти дней после операции. Результаты оценивались по клинико-неврологическому статусу в течение десяти послеоперационных дней и по гистологическому исследованию поврежденного сегмента спинного мозга на десятый день эксперимента.

В третьей группе (14 животных) изучалось воздействие ежедневного внутривенного введения раствора димефосфона в течение десяти дней после травмы на очаг контузии спинного мозга. Препарат вводился внутривенно со скоростью 20 мл/мин путем разведения суспензии с содержанием активного вещества 1 г/1 мл в 5 мл физиологического раствора из расчета 18,75 мг/кг. Процедура обследования была аналогична проведенной в первой группе животных.

Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР от 12.08.1977 г. № 755).

Результаты и их обсуждение

У всех интактных животных при транскраниальной магнитной стимуляции были зарегистрированы М-ответы передних большеберцовых мышц. Пороговая сила стимуляции в среднем составила $78,7 \pm 3,0$ %, латентный период ответов $-18,3 \pm 0,7$ мс. При электромиографическом обследовании животных в квадратной мышце подошвы при стимуляции большеберцового

нерва были зарегистрированы рефлекторные (Н) и М-ответы. Асимметрии между параметрами ответов справа и слева не выявлено. Максимальная амплитуда Н-ответа составила в среднем $1,4 \pm 0,2$ мВ, М-ответа – $4,0 \pm 0,5$ мВ. Отношение максимальных амплитуд Н- и М-ответов (H_{max}/M_{max}) – в среднем $39,0 \pm 6,0$ %. В качестве дополнительного показателя, характеризующего состояние пула мотонейронов, исследовался эффект посттетанической потенциации Н-ответа после высокочастотной стимуляции большеберцового нерва; получена характерная кривая изменений амплитуды Н-ответа.

В первой группе животных после операции наблюдалось полное угнетение рефлексов в задних конечностях и нарушение функции тазовых органов. Тонус мышц начал восстанавливаться через 1,5–2 недели, но даже при попытках помочь животному приподняться к концу месяца не наблюдалось опоры на задние конечности. Чувствительность туловища, конечностей и хвоста грубо нарушена. Отмечались попытки передвижения на передних конечностях при атаксичных волочащихся задних. У отдельных животных через месяц наблюдений функция тазовых органов восстанавливалась, появлялись попытки опоры на задние конечности путем их подтягивания. Сроки выживаемости животных в первой группе составили от трех до тридцати пяти суток после операции. Высокая летальность в данной группе связана с развитием восходящего отека на фоне спинального шока.

На десятый день при гистологическом исследовании определялись нарушения структуры задних рогов спинного мозга, отек мозговой ткани в области повреждения задних столбов с очаговым кровоизлиянием (рис. 1); в зоне контузии преобладали необратимо измененные нервные клетки, вплоть до некроза.

Через сутки и далее после нанесения травмы спинного мозга

транскраниальная стимуляция не приводила к возникновению ответов в передней большеберцовой мышце. Выявлена отчетливая корреляция с неврологической картиной, что свидетельствует о дисфункции пирамидного тракта на уровне травмы. Изменения амплитуды Н-ответов в этой группе животных после операции были разнонаправлены, но в целом отмечалось ее незначительное снижение по сравнению с контролем. Отношение максимальных амплитуд Н- и М-ответов (H_{max}/M_{max}) квадратной мышцы подошвы у животных первой группы было выше, чем в контрольной, с максимумом, приходящимся на тринадцатые сутки после операции, поскольку наряду с незначительным снижением амплитуды Н-ответов отмечено и снижение максимальных амплитуд М-ответов, которое может быть связано с развитием паралича задних конечностей. Тем не менее, общее увеличение соотношения максимальных амплитуд Н- и М-ответов дает основание говорить об увеличении пула рефлекторно реагирующих мотонейронов. Исследование эффекта посттетани-

ческой потенциации Н-ответа показало, что у животных из первой группы он более выражен, чем из контрольной, что свидетельствует об увеличении количества подпорогово-возбудимых мотонейронов.

У животных второй группы при внутривенном введении раствора димефосфона в дозе 375,00 мг/кг в неврологическом статусе наблюдалась задняя параплегия без какой-либо тенденции к улучшению. На десятый день после операции при гистологическом исследовании выявилась картина грубых дистрофических изменений нейронов задних рогов спинного мозга, очаг некроза в области контузии, массивные субарахноидальные и субдуральные кровоизлияния в параконтузионной зоне и выраженный отек спинного мозга.

При введении раствора димефосфона в дозе 187,50 мг/кг клинико-неврологическая картина не отличалась от предыдущей. Гистологически зафиксированы некротические повреждения ткани задних столбов спинного мозга и различной степени дистрофические изменения нервных клеток; наблюдалось обширное кровоизлияние в зоне задних рогов спинного мозга, а также необратимо измененные нервные клетки, вплоть до вакуольной дистрофии и некроза клеток (тигролиз нейронов в области задних рогов спинного мозга).

При использовании раствора препарата в дозе 75,00 мг/кг неврологическая картина была аналогичной с таковой у животных, которым вводились более высокие концентрации димефосфона. Исследование гистологического материала выявило следующее: в области задних столбов спинного мозга не наблюдалось очаговых кровоизлияний, однако отмечался некробиоз ткани; характер и степень выраженности повреждений клеток оставались прежними.

При введении димефосфона в дозе 37,50 мг/кг появился небольшой объем движений в задних конечнос-

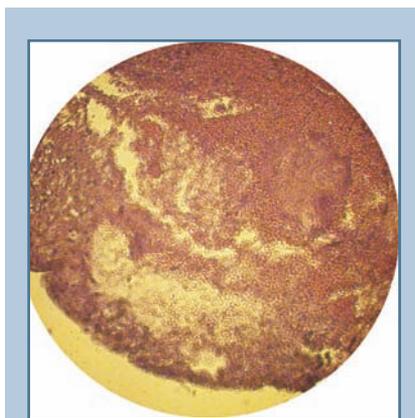


Рис. 1

Параконтузионная зона спинного мозга собаки на 10-й день после травмы без лечения димефосфоном; уровень L₁ позвонка, увеличение x20

тях и хвосте, начала восстанавливаться чувствительность. При гистологическом исследовании отмечен значительный регресс отека ткани серого и белого вещества, форма задних рогов спинного мозга практически не отличалась от таковой у интактных животных; в зоне ушиба преобладали нейроны с легкой степенью дистрофии.

Использование димефосфона в дозе 18,75 мг/кг показало наиболее эффективное воздействие как на клинично-неврологическую картину, так и на гистологическую: форма задних рогов спинного мозга была близка к таковой у интактных животных, нейроны этой зоны имели остаточные дистрофические изменения.

При введении раствора димефосфона в дозе 11,25 мг/кг отмечалось появление движений в виде глубокого парализа, восстанавливалась функция тазовых органов. Гистологически отмечалась слабой степени дистрофия нейронов задних рогов спинного мозга, хотя форма задних рогов близка к таковой в серии введения димефосфона в дозе 18,75 мг/кг.

У животных третьей группы спинно-мозговые рефлексы ниже места травмы в первые дни после операции были снижены, у большинства определялась гипотония мышц задних конечностей. Появление анестезии кожи конечностей и туловища отмечали сразу после травмы спинного мозга. Уже к концу первых суток анестезия сменялась на гипостезию, на вторые-третьи сутки сохранялась на коже дистальных отделов конечностей и хвоста. По истечении трех дней собаки во время еды приподнимались на задних конечностях и самостоятельно ставили ступни, только после этого придавали конечностям нормальное положение на некоторое время, в ряде случаев самостоятельно стояние животных наблюдалось и вне акта еды. Во время стояния собаки вначале опирались на тыльную поверхность, но широко расставляли лапы. На третьи сутки после операции все животные становились более активными, продолжительное время стояли на конечностях и самостоятельно передвигались, причем при медленной ходьбе тонус мышц задних конеч-

ностей был достаточен для обеспечения шагательных движений, а при быстрой ходьбе уменьшался. Лишь у одного животного на третьи сутки сохранился легкий нижний парализ, более выраженный слева. На пятые сутки продолжилось увеличение тонуса мышц задних конечностей, одновременно отмечалось восстановление чувствительности как со стороны задней части туловища, так и хвоста и задних конечностей, что находило свое выражение в появлении ответных реакций при почесывании или покалывании иглой соответствующих частей тела, лап и хвоста. На седьмые сутки состояние животных еще улучшилось, они долго и прочно стояли на лапах, шагательные движения были хорошо координированы, чувствительность туловища, конечностей и хвоста восстанавливалась, собаки большую часть времени проводили в движении. Спинно-мозговые рефлексы хорошо выражены, нормализовалась функция тазовых органов при хорошем аппетите и нормальной температуре тела.

Через сутки после травмы мозга в зоне контузии наблюдались гру-

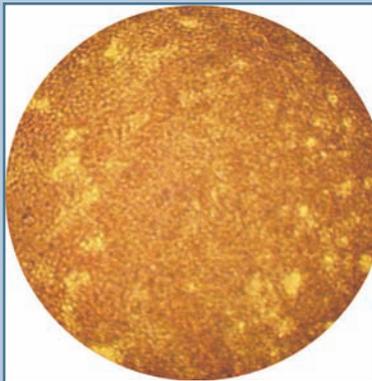


Рис. 2

Зона контузии спинного мозга собаки через 1 сут после травмы и введения димефосфона в дозе 18,75 мг/кг; уровень L₁ позвонка, увеличение x20

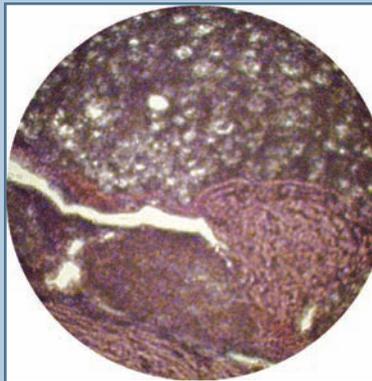


Рис. 3

Область задних рогов спинного мозга собаки через 1 сут после травмы и введения димефосфона в дозе 18,75 мг/кг; уровень L₁ позвонка, увеличение x20

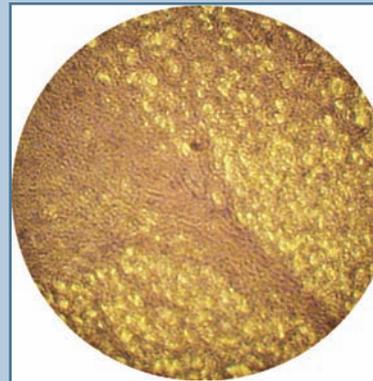


Рис. 4

Область задних рогов спинного мозга собаки через 3 сут после травмы и введения димефосфона в дозе 18,75 мг/кг; уровень L₁ позвонка, увеличение x20

бые формы изменения нервных клеток (рис. 2), их массовая гибель, обширные субарахноидальные и субдуральные кровоизлияния и выраженный отек спинного мозга (рис. 3). На третьи сутки в области задних рогов спинного мозга наблюдалось большее содержание нервных клеток различной степени



Рис. 5

Нейрон задних рогов спинного мозга собаки через 3 сут после травмы и введения димефосфона в дозе 18,75 мг/кг; уровень L₁ позвонка, увеличение x40

дистрофии (рис. 4, 5). На седьмые сутки продолжилась активизация восстановительных процессов: значительно уменьшился отек мозговой ткани в зоне контузии (рис. 6); в области задних рогов спинного мозга отмечено небольшое количество нейронов с дистрофическими изменениями (рис. 7). На десятые сутки форма задних рогов спинного мозга была близка к таковой у интактных животных, нейроны этой зоны имели остаточные дистрофические изменения (рис. 8).

У 90 % животных третьей группы через сутки после травмы транскраниальная стимуляция вызывала М-ответы в передних большеберцовых мышцах, которые регистрировались на протяжении всего эксперимента. В целом, для вызова М-ответов в мышцах задних конечностей требовалась меньшая сила раздражения коры головного мозга, чем у интактных животных; на тридцатые сутки после операции этот показатель возвращался к дооперационному уровню. Это свидетельствует о том, что применение димефосфона способствует быстрому восстановлению проведения сигналов по по-

врежденному сегменту спинного мозга. Снижение порога транскраниальной магнитной стимуляции может говорить либо о повышении возбудимости спинальных мотонейронов в зоне травмы, либо о повышении возбудимости кортикальных мотонейронов вследствие активации восходящих путей спинного мозга. Латентные периоды М-ответов достоверно не изменялись, что указывает на сохранение проводниковой функции спинного мозга. Применение димефосфона привело к тому, что амплитуда Н-ответов снизилась в большей степени, чем у животных первой группы, что свидетельствует о более выраженном снижении возбудимости крестцовых мотонейронов. Первые десять суток после операции наблюдалось снижение показателя H_{max}/M_{max} , связанное со значительным уменьшением амплитуды Н-ответов; в восстановительном периоде амплитуда Н-ответов несколько возрастала. Таким образом, применение димефосфона способствовало уменьшению количества рефлекторно реагирующих мотонейронов в остром периоде,

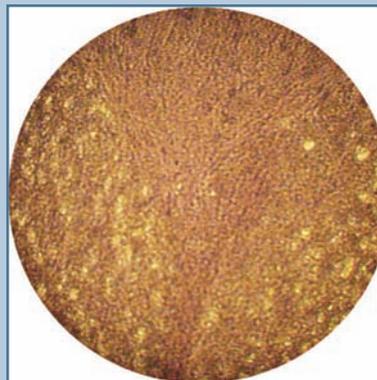


Рис. 6

Область задних рогов спинного мозга собаки через 7 сут после травмы и введения димефосфона в дозе 18,75 мг/кг; уровень L₁ позвонка, увеличение x20

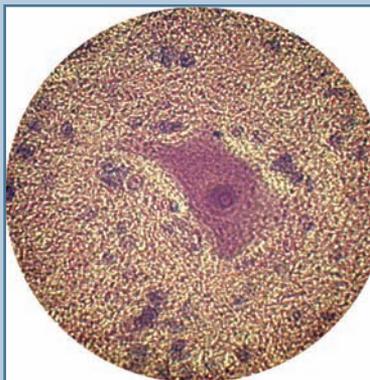


Рис. 7

Нейрон задних рогов спинного мозга собаки через 7 сут после травмы и введения димефосфона в дозе 18,75 мг/кг; уровень L₁ позвонка, увеличение x40

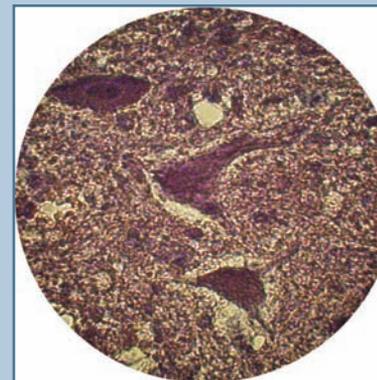


Рис. 8

Нейрон задних рогов спинного мозга собаки через 10 сут после травмы и введения димефосфона в дозе 18,75 мг/кг; уровень L₁ позвонка, увеличение x40

что подтверждается еще и меньшей потенциацией величины Н-ответа при высокочастотной тетанизации.

Контузия спинного мозга вызывает некроз тканей и практически полную гибель нейронов в зоне травмы. По результатам транскраниальной магнитной стимуляции у животных первой группы проведение по поврежденному сегменту спинного мозга отсутствует, что подтверждается гистологическими исследованиями. Отек и воспаление, развивающиеся в месте повреждения, оказывают возбуждающее влияние на соседние мотонейроны, что приводит к подпороговой деполяризации нижерасположенных нейронов, о чем свидетельствуют данные, полученные при исследовании рефлекторной возбудимости у этой группы животных. У животных без лекарственной коррекции число мотонейронов, возбуждающихся после максимального тестирования (высокочастотная тетанизация), значительно увеличено.

Применение димефосфона облегчает восстановление нейронов в зоне контузии, приводит к уменьшению пула реагирующих мотонейронов и подпороговой каймы. Видимо, у животных со сформированным очагом возбуждения в зоне травмы применение препарата способствует развитию охранительного (защитного) торможения в соседних участках спинного мозга в острый период после травмы.

При ушибе спинного мозга спинальные сосуды теряют способность оперативно и адекватно реагировать на стимулы химической и физической природы. В результате развиваются состояния инвертированной реактивности, ареактивности или гипореактивности сосудов, нарушающие химический и физический гомеостаз спинного мозга – необходимое условие его нормального функционирования. В реализации нормализующего влияния на состояние спинальных функций существенная роль принадлежит

способности димефосфона улучшать деятельность системы регуляции спинального кровообращения [2, 3]. Он благоприятствует репарации и восстановлению функции поврежденных нейронов в зоне контузионного очага спинного мозга.

Заключение

Полученные данные показали, что димефосфон благоприятствует репарации и восстановлению функций поврежденных отделов спинного мозга, действуя на сосудистое русло и нейрональную активность спинного мозга. Это позволяет рекомендовать внутривенное введение этого препарата для лечения больных с позвоночно-спинальной травмой. Целесообразно начинать введение димефосфона в дозе 18,75 мг/кг на этапе эвакуации больных в стационар, то есть на самых ранних сроках травматической болезни спинного мозга.

Литература

1. Визель А.О., Гараев Р.С., Муслинкин А.А. и др. Новое средство метаболической терапии – димефосфон // Terra Medica. 1998. № 3. С. 34–35.
2. Данилов В.И., Студенцова И.А. Димефосфон – препарат выбора при заболеваниях нервной системы // Terra Medica. 2000. № 1. С. 34–35.
3. Данилов В.И., Панкова В.П., Студенцова И.А. и др. Экспериментально-клиническое обоснование применения димефосфона при операционной и черепно-мозговой травме // Нейрохирургия. 2002. № 2. С. 43–48.
4. Студенцова И.А., Данилов В.И., Хафизьянова Р.Х. и др. Итоги клинической апробации димефосфона как вазоактивного средства, нормализующего функции нервной системы // Каз. мед. журн. 1995. Т. 76. № 5. С. 214–218.
5. Allen A.R. // J. Amer. med. Assoc. 1914. Vol. 9. P. 878–880.

Адрес для переписки:

Тумакаев Рустем Фаридович
420097, Казань, ул. Товарищеская, 28/70,
кв. 112,
diksha@mail.ru; Vto@bancorp.ru

Статья поступила в редакцию 20.03.2006

Поправка

В статье А.М. Зайдман с соавт. «Этиология и патогенез идиопатического сколиоза» (2006. № 4. С. 92) в тексте блок-схемы на рис. 14 допущена неточность: вместо «функции клеточной репарации» следует читать «функции клеточной репродукции».