



ВЫЯВЛЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ НЕЙРОГУМОРАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ОПОРНО-ДВИГАТЕЛЬНОГО АППАРАТА У БОЛЬНЫХ ИДИОПАТИЧЕСКИМ СКОЛИОЗОМ МЕТОДОМ БИОТЕСТИРОВАНИЯ

М.Г. Дудин¹, Т.В. Авалиани², Д.Ю. Пинчук¹

¹ Восстановительный центр детской ортопедии и травматологии «Огонек»

² НИИ экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург

Введение сыворотки крови детей с идиопатическим сколиозом экспериментальным крысам в спинно-мозговой канал вызывает у последних изменение двигательных реакций в мышцах задних конечностей. Эти изменения у реципиентов выявляются преимущественно на той же стороне, что и у ребенка (при правостороннем сколиозе — справа, при левостороннем — слева). Суммарный показатель двигательных нарушений реципиента коррелирует со степенью тяжести заболевания ребенка. Разработана модель, позволяющая воспроизводить двигательные расстройства детей со сколиозами.

Ключевые слова: сколиоз, биотестирование, нейрогуморальные нарушения.

Blood serum of children with idiopathic scoliosis injected into experimental rat's spinal canal causes changes in motor reactions in the back extremity muscles. Mostly the side of these changes is similar to the curve pattern in children (in case of the right curve scoliosis the changes occur in the right side, and in the left curve scoliosis — in the left). The summery index of recipient's motor disorders correlates with the severity degree of child's disease. The model has been worked out which permits to reproduce motor disorders in children with idiopathic scoliosis.

Key words: scoliosis, biological tests, neurohumoral disorders.

Введение

Возникновение и развитие идиопатического сколиоза можно представить как результат нарушения в сопряженных процессах продольного роста костного позвоночного столба и спинного мозга, имеющих собственные генетические коды развития. Вследствие несостоятельности нейрогуморальных регуляторных звеньев на уровне таламус – гипоталамус – гипофиз это приводит к несоответствию их анатомических соотношений. Иерархичность систем организма является пусковым механизмом, приводящим к скручиванию костного позвоночного столба относительно спинного мозга для компенсации различия длин указанных образований [12]. Вместе с этим в результате даже незначительного перерастяжения структур спинного мозга меняется ха-

рактер нормального притока афферентной импульсации от элементов спинного мозга в высшие отделы ЦНС. Нарушение афферентации, как известно, приводит к формированию гиперактивной детерминированной структуры [7, 16], поддерживаемой компенсаторными реакциями типа гомеостатических [3]. Они направлены как на торможение роста (за счет изменения остеотропного гормонального профиля, в первую очередь, за счет снижения секреции гормонов, стимулирующих костеобразовательный процесс), так и на осуществление упомянутого скручивания позвоночного столба, которое реализуется за счет асимметричного распределения тонических усилий мышц, участвующих в обслуживании движений позвоночника [11, 12, 18].

Мы предположили, что при реализации этого процесса возможен вы-

брос в кровь регуляторных веществ пептидной природы, аналогов так называемых факторов позной асимметрии (ФПА), открытых в конце 70-х годов учеными НИИ экспериментальной медицины [8]. Соединения этого класса способны играть роль нейромодуляторов в процессе трансинаптической передачи. Было показано, что в ЦНС животных с односторонними повреждениями коры мозга, мозжечка или при депривации и деафферентации мышц задних конечностей обнаруживаются ФПА, способные вызвать у спинальных препаратов крыс позную асимметрию задних конечностей за счет перераспределения мышечного тонуса. Асимметрия позы реципиентов совпадала по стороне с нарушениями, выявляемыми у донора [1, 10]. Данные ФПА, один из которых был идентифицирован как аргинин⁸-вазопрессин [15],

присутствуют в ликворе, сыворотке крови и экстрактах мозга доноров с позной асимметрией. Мы предполагаем, что двигательные расстройства при сколиозах также сопровождаются и поддерживаются изменениями нейрогуморального фона, как при черепно-мозговой травме [10] или при периферических нарушениях в двигательной сфере [19], а биологически активные вещества в сыворотке крови способны вызывать у реципиентов изменения двигательных реакций в соответствии с двигательными расстройствами донора.

Задача данной работы состояла в воспроизведении двигательных расстройств у животных-реципиентов сывороткой крови детей со сколиозами и выявлению значимых параметров биотеста, по которым можно судить о степени выраженности заболевания и характере течения заболевания (прогрессирующее, вялопрогрессирующее, непрогрессирующее).

Материалы и методика

Экспериментальный раздел исследований выполнен на 104 самцах белых крыс породы Вистар массой 180–200 г. Животные были получены из питомника РАМН «Рапполово» и использованы в опытах после 1–2-недельного карантина. Пептидную регуляцию состояния двигательного аппарата оценивали при помощи метода биологического тестирования, разработанного в лаборатории нейроонтогенеза физиологического отдела им. И.П. Павлова НИИЭМ РАМН [5]. Данный метод основан на сопоставлении электромиографических (ЭМГ) показателей двигательной активности мышц задних лап спинализованных в грудном отделе (S_3 – S_5) крыс с ЭМГ-показателями реципиентов после введения им в поясничный отдел спинного мозга (L_1 – L_3) биологически активных веществ сыворотки крови (СК). Анализ ЭМГ-данных позволяет судить о степени нарушений пептидной регуляции двигательной активности [6]. В наших исследованиях при регистрации ЭМГ использовались биполярные игольчатые элект-

роды с активной поверхностью 1мм^2 и межэлектродным расстоянием 10 мм, которые вводились в мышцы голени (m.m. gastrocnemius, m.m. tibialis anterior) крысы. Электроды для нанесения раздражения крепились между отводящими электродами. До и после введения СК большого в объеме 0,1 мл у животного регистрировали частоту фоновой и вызванной электростимуляцией ЭМГ-активности одновременно в мышцах-антагонистах справа и слева. Оценку состояния двигательного аппарата начинали через 20–30 мин после спинализации животного. Параметры электростимуляции: стимулы частотой 1 кГц, сила тока 1 мА, сгруппированные по 3 в 5 пачек с интервалом между пачками 30 мс. Рефлекторный ответ оценивали по количеству пересечений порога, установленному на уровне 25 мкВ при шуме до 10 мкВ. Каждую мышцу стимулировали 10 раз. Вычисляли среднюю частоту спонтанных (5 с, предшествующих электростимуляции) и вызванных ЭМГ реакций. Мерой реакции (ΔP) служила усредненная разность между количеством ЭМГ-разрядов после стимуляции и таковыми до стимуляции.

Для упорядоченности полученных результатов значения ЭМГ-показателей каждой мышцы до введения сыворотки крови реципиенту принимали за 100 %. Повторную регистрацию ЭМГ-активности проводили через 20 и 40 мин после введения СК. Полученные данные сравнивали с исходными по 24 показателям ЭМГ-ответов: увеличение (не менее чем на 30 %) или уменьшение (не менее чем на 50 %) спонтанной и вызванной ЭМГ; нарушение реципрокности в вызванном ответе мышц-антагонистов одной конечности; иррадиацию возбуждения в мышцы противоположной конечности; разнонаправленность спонтанных и вызванных ЭМГ-ответов. Степень выраженности нарушений оценивали в баллах (от 0 до 3). Сумма баллов составляет величину коэффициента двигательных нарушений (КДН). Кроме этого, высчитывали коэффициент асимметрии (КА), указывающий на преимущественные на-

рушения справа или слева.

Уход за животными, операции и выведение их из эксперимента производили согласно Приказу № 724 от 13. 11. 84 г. МЗ СССР «Об утверждении правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» и имеющимся методическим материалам.

Методы обследования больных

В данной работе приведены результаты тестирования СК 92 детей в возрасте 10–14 лет, страдающих идиопатическим сколиозом и находящимся на лечении в ГУ здравоохранения Восстановительный центр детской ортопедии и травматологии «Огонек» (Санкт-Петербург) с января по декабрь 2001 г. В эту группу были включены больные с начинающимся сколиозом (12 человек с I степенью по Чаплину), с состоявшейся, но маловыраженной деформацией (48 человека со II степенью), а также пациенты, имеющие прогрессирующее течение заболевания (32 человека с III степенью). Другие показатели для группы в целом были типичными для данной категории больных. Характер развития патологической деформации (прогрессирующее, вялопрогрессирующее или непрогрессирующее течение) определялся на основании всего комплекса данных клинико-инструментального обследования.

Эксперименты на животных проводились слепым методом (лица, проводившие тестирование, получали СК под номерами). Полученные данные сопоставлялись с данными компьютерной оптической топографии, рентгенографии и результатами клинического обследования детей. В качестве контроля использовали сыворотку крови 12 здоровых детей в возрасте 10–13 лет.

Результаты

Введение СК здоровых детей не вызвало значительных перестроек в двигательной сфере реципиентов. Асимметричных реакций – спонтанной и вызванной ЭМГ – у реципиентов

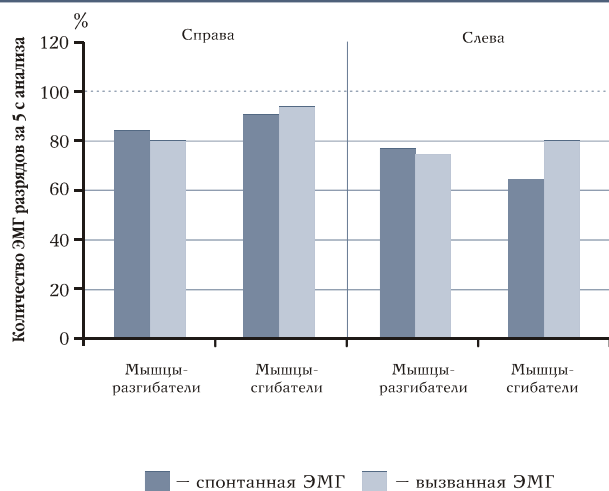


Рис. 1

Гистограммы частоты электромиографической активности мышц задних конечностей спинализированной крысы-реципиента после введения сыворотки крови пациента Д. (мальчик, 12 лет, здоров). За 100 % принята частота разрядов ЭМГ каждой мышцы до введения сыворотки крови

не регистрировалось. В двух из двенадцати случаев наблюдалось незначительное увеличение (на 5–7 %) частоты биоэлектрической активности в мышцах-сгибателях. Как правило, при повторной регистрации ЭМГ после введения СК здоровых детей наблюдалось снижение биоэлектрической активности в исследуемых мышцах на 10–25 % от исходного фона. КДН на введение СК здоровых детей составлял в среднем $3,75 \pm 0,8$ балла. В качестве примера (рис. 1) приводим результаты биотестирования сыворотки крови пациента Д. (мальчик, 12 лет, здоров), введение которой вызвало у реципиента незначительное снижение (не более 25 % от исходного уровня) показателей спонтанной и вызванной ЭМГ. Нарушения реципрокности в вызванных реакциях одноименных мышц (иррадиация возбуждения) правой и левой лап не наблюдалось. Изменение показателей реципрокности выявлено при стимуляции мышц-сгибателей, при этом КДН равнялся трем баллам.

Введение СК детей со сколиозами

приводило к значительным перестройкам в двигательном аппарате реципиентов. На рис. 2 представлены гистограммы активности крыс – спонтанной и вызванной ЭМГ – после введения СК детей с различными формами сколиоза.

Введение СК больной Р., 13 лет, с правосторонним прогрессирующим сколиозом II степени (рис. 2а) вызвало у реципиента достоверное увеличение ЭМГ-активности в мышцах-сгибателях правой лапы и мышцах-разгибателях левой. При стимуляции изменялись реципрокные взаимоотношения в вызванных реакциях (усиливалась в 2–3 раза ЭМГ-активность мышц-антагонистов). Иррадиация возбуждения при стимуляции мышц регистрировалась во всех мышечных группах, при этом КДН равнялся 15 баллам, а КА – 11/3 баллам справа /слева соответственно.

Введение СК ребенка с левосторонним сколиозом (больной В., 13 лет, прогрессирующий сколиоз III степени) вызвало у реципиента преимущественное увеличение ЭМГ-по-

казателей, вызванных реакций в мышце-сгибателе левой и мышце-разгибателе правой конечности (рис. 2б). Нарушение реципрокности регистрировалось как справа, так и слева. Иррадиация возбуждения была наиболее выражена в мышце-сгибателе слева при стимуляции сгибателя правой лапы. Кроме того, у реципиента регистрировалось резкое снижение спонтанной ЭМГ в мышцах-сгибателях правой конечности, при этом КДН равнялся 16 баллам, а КА – 5/9 баллам справа/слева соответственно.

Введение СК ребенка с S-образной формой сколиоза (больной Н., 14 лет, прогрессирующий сколиоз III степени) вызвало увеличение спонтанной активности в мышце-разгибателе слева. Показатели вызванных ЭМГ-реакций также оказались увеличенными во всех группах мышц, но в большей степени в сгибателе справа и разгибателе слева (рис. 2в). Полученные данные согласуются с клинической картиной сколиотической деформации, наблюдаемой у больного ребенка, – значительное преобладание величины правосторонней дуги над левосторонней. Нарушение реципрокности в вызванных реакциях регистрировалось при стимуляции каждой из четырех мышц. Иррадиация возбуждения наблюдалась в мышцах левой конечности, при этом КДН равнялся 17 баллам, а КА – 10/5 баллам справа/слева соответственно.

Таким образом, введение СК детей с идиопатическими сколиозами вызвало изменение ЭМГ-показателей спонтанных и вызванных реакций мышц крыс-реципиентов.

Спонтанная и вызванная ЭМГ-активность в некоторых случаях возрастала в 2–6 раз и более или снижалась до 10 % в отдельных мышечных группах по сравнению с фоновыми показателями у реципиентов. При этом особое внимание вызвал факт разнонаправленности изменений спонтанной и вызванной ЭМГ. Была выявлена асимметрия ЭМГ-показателей в мышцах правой и левой лап, которая соответствовала, как показали последующие сопоставления

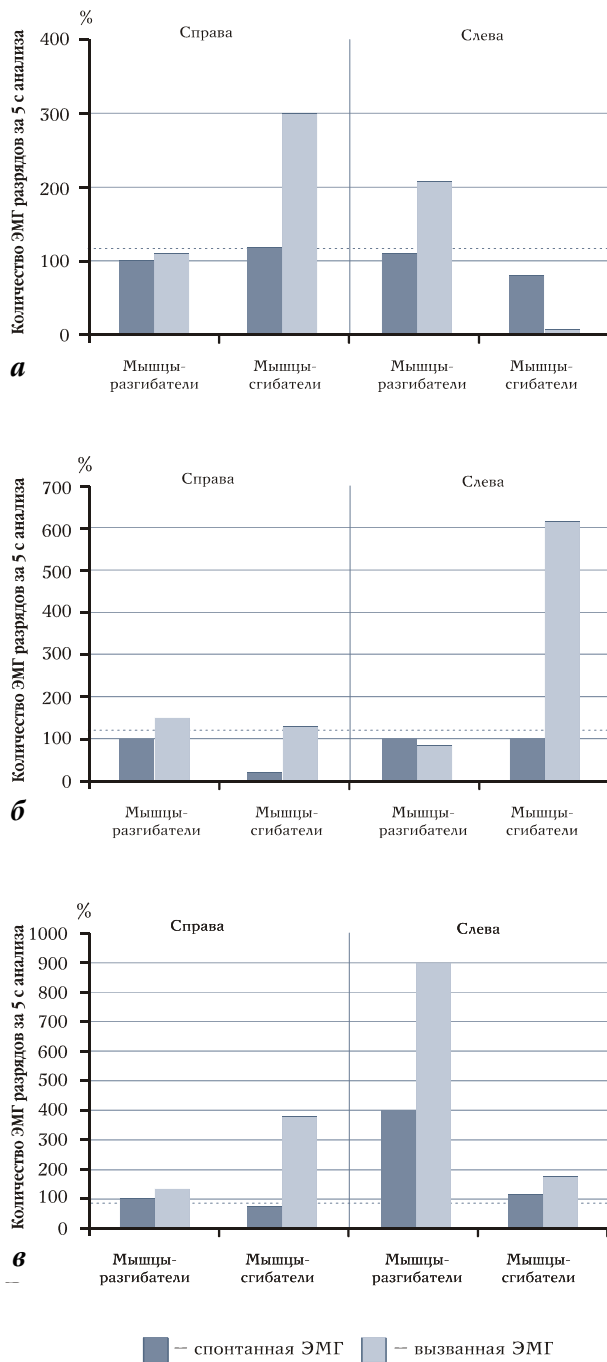


Рис. 2

Гистограммы частоты электромиографической активности мышц задних конечностей спинализированных крыс-реципиентов после введения сыворотки крови детей:

- а – с правосторонней формой сколиоза;
- б – с левосторонней формой сколиоза;
- в – с S-образной формой сколиоза

экспериментальных и клинических наблюдений, клинической асимметричности у пациентов. Другими словами, достоверные изменения как тонических, так и рефлекторных реакций у экспериментальных животных проявлялись прежде всего в мышечных группах той же стороны, в которую была направлена сколиотическая дуга у больных детей.

При вялопрогрессирующих или непрогрессирующих сколиозах I–II степени иррадиация возбуждения в мышцах противоположной стороны регистрировалась, как правило, справа при левосторонних и слева при правосторонних сколиозах.

При прогрессирующих сколиозах III степени иррадиация возбуждения наблюдалась во всех мышечных группах. Изменение реципрокности в мышцах-антагонистах одной конечности при электростимуляции также проявлялось в зависимости от стороны, степени и типа поражения у донора. По результатам биотестирования КДН для непрогрессирующей формы сколиоза равнялся 8–10 баллам, для вялопрогрессирующей формы – 11–14 баллов, для прогрессирующей – 15–25 баллов. В табл. представлены КДН в зависимости от степени сколиоза и стороны поражения у детей.

С высокой степенью достоверности (до 89 %) результаты биотестирования совпадали с клинической оценкой больных детей, что позволяет использовать метод биотестирования для моделирования данной патологии и судить не только о степени выраженности заболевания у детей, но и о характере прогрессирования заболевания.

Обсуждение

Проведенные исследования показали, что биологически активные вещества, присутствующие в СК, вовлекаются в реализацию патологических перестроек при структурно-функциональных отклонениях у детей со сколиозами. Видонеспецифичность пептидных факторов открыла возможность биотестирования их активности на моделях животных. Ранее было

показано, что сыворотка крови 5–10-летних больных ДЦП [2] и пациентов с последствиями мозгового инсульта [9] вызывает у спинализированных крыс перестройки ЭМГ-активности по донорскому типу – односторонних при гемипарезах и гемиплегиях и двусторонних при диплегиях. Причем отдаленные наблюдения (в течение года) показали, что по мере изменения неврологической динамики (как положительной, так и отрицательной) меняются и ЭМГ-показатели биотеста. При этом результаты биотеста значительно опережают клинически фиксируемую динамику.

Введение тестируемого материала допускает равновероятное его попадание в структуры правого и левого полушарий мозга реципиента. В результате избирательного действия тестируемого вещества на зоны правой или левой половины мозга возникают соответствующие изменения в двигательной сфере. Эти изменения выявляются при анализе спонтанной и вызванной ЭМГ активности мышечных групп реципиента. Отсутствие активности ФПА в сыворотке крови здоровых детей является доказательством того факта, что на уровне нормально функционирующей целостной ЦНС эти правосторонние и левосторонние факторы находятся в сбалансированном состоянии, в результате чего мышечный тонус в левых и правых конечностях распределен симметрично. Надо полагать, что тонкий баланс пептидных факторов, избирательно активирующих симметричные моторные центры, является одним из основных нейрогуморальных механизмов симметричной регуляции мышечного тонуса в интактной ЦНС. Существует также точка

зрения, согласно которой пептидные факторы являются веществами, ответственными за латерализацию функций [17], и присутствуют в нормальном, неповрежденном мозге [13]. Существующие церебральные и периферические системы асимметрии, взаимодействуя между собой, в зависимости от функционального состояния и (или) характеристик воздействующего фактора могут приводить к преобладанию эффекта воздействия в том или ином органе слева или справа [14].

Долговременное патологически измененное афферентное воздействие с периферии, создающее в структурах ЦНС длительно существующий очаг повышенного возбуждения, – один из возможных механизмов накопления и выделения в кровь факторов, аналогичных ФПА при сколиозе. Подтверждением данного положения являются экспериментальные исследования, выполненные в лаборатории нейроонтогенеза НИИ экспериментальной медицины [4], в которых показано, что нарушение афферентного притока в спинной мозг (деафферентация и депривация мышц задних конечностей) приводит к появлению в ткани спинного мозга крыс биологически активных веществ пептидной природы. Введение экстракта спинного мозга или СК таких животных вызывает у интактных животных латерализованные изменения ЭМГ-реакций, совпадающие по стороне с нарушениями донора.

В пользу нейропептидной природы регуляции изменений мышечного тонуса при идиопатическом сколиозе свидетельствует и тот факт, что эти вещества, в отличие от классических нейротрансмиттеров и гормонов, об-

ладают асимметричной тропностью и вызывают длительное асимметричное изменение возбудимости спинальных мотонейронов, регулирующих тонус скелетной мускулатуры. На присутствие в сыворотке крови детей со сколиозами повышенного содержания этих специфических веществ нейропептидной природы косвенно указывает и тот факт, что у таких больных регистрируется асимметрия вызванных ЭМГ-ответов в паравертебральных мышцах, коррелирующая со стороной поражения и степенью выраженности патологии [20]. И именно эти нейропептиды вызывают двигательные перестройки у интактных крыс-реципиентов в соответствии с типом и степенью заболевания больного.

Вывод

Таким образом, на основании выполненного исследования можно утверждать, что среди факторов, вызывающих формирование патологической трехплоскостной деформации позвоночного столба, есть биологически активные вещества (вероятнее всего – нейропептиды), которые появляются в самом начале заболевания, обладающие асимметричной тропностью и вызывающие длительное асимметричное изменение возбудимости спинальных мотонейронов, которые, в свою очередь, регулируют тонус скелетной мускулатуры. Именно нейропептиды, скорее всего, компенсируют ослабление прямой нейрорегуляции двигательных единиц в периоды её естественного «истощения» и тем самым прямо участвуют в патогенезе идиопатического сколиоза.

Литература

1. **Авалиани Т.В., Яковлев Н.М., Сметанкин А.А. и др.** Взаимодействие двигательных центров при вызванной позной асимметрии // Физиолог. журнал СССР. 1985. № 4. С. 472–479.
2. **Авалиани Т.В.** Пептидно-зависимое воспроизведение у экспериментальных животных двигательной хронической патологии человека // Принципы и механизмы деятельности мозга человека: Тез докл. I Всесоюз. конф. Л., 1985. С. 135.
3. **Бехтерева Н. П.** Здоровый и больной мозг человека. Л., 1980.
4. **Богданов О.В., Михайленок Е.Л., Авалиани Т.В.** Афферентная детерминация образования трансферного фактора в спинном мозге у крыс // Бюл. экп. биол. и мед. 1987. Т. 104. № 6. С. 67–71.
5. **Богданов О.В., Авалиани Т.В., Михайленок Е.Л. и др.** Способ диагностики центральных двигательных расстройств у новорожденных: А. с. 1536533. 1989.

6. **Богданов О.В., Авалиани Т.В.** Выявление двигательных расстройств в период новорожденности приемами биотестирования сыворотки крови детей на экспериментальных моделях // Журн. невропатол. и психиатр. им. С.С. Корсакова. 1991. № 8. С. 28–31.
7. **Богданов О.В.** Физиологические основы процессов восстановления функций мозга и реабилитации организма. СПб., 2000.
8. **Вартанян Г.А., Балабанов Ю.В.** Индуцирование позиционной асимметрии у интактного реципиента экстрактом мозга донора с подобным синдромом. // Бюл. эксп. биол. и мед. 1978. Т. 86. № 8. С. 147–150.
9. **Вартанян Г.А., Лохов М.И.** Принципы и механизмы деятельности мозга человека. Л., 1985.
10. **Вартанян Г.А., Клементьев Б.И.** Химическая симметрия и асимметрия мозга. Л., 1991.
11. **Дудин М.Г.** Состояние костной ткани и остеотропных гормонов у детей с идиопатическим сколиозом // Всесоюз. науч.-практ. конф. детских ортопедов-травматологов: Тез. докл. Псков, 1991. С. 145–146.
12. **Дудин М.Г.** Особенности гормональной регуляции обменных процессов в костной ткани как этиопатогенетический фактор идиопатического сколиоза: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. СПб, 1993.
13. **Карганов М.Ю., Климов В.И., Мальцев К.В.** Препаративное выделение и очистка фактора латерализации функций центральной нервной системы // Журн. патол. физиол. и эксп. терапии. 1983. № 3. С. 10–13.
14. **Коноваленко Р.И., Чернышова М.П., Штылик А.В. и др.** Асимметрия периферических эффектов унилатерального интраназального введения оксиоцина у самцов белых крыс // Докл. АН 1995. Т. 342. № 2. С. 269–272.
15. **Клеменьев Б.И., Молокоедов А.С., Бушуев В.Н. и др.** Выделение фактора позной асимметрии при правосторонней гемисекции спинного мозга // Докл. АН. 1986. Т. 291. № 3. С. 737–741.
16. **Крыжановский Г.Н.** Детерминированные структуры в патологии нервной системы. М., 1980.
17. **Луценко В.А., Карганов М.Ю.** Биохимическая асимметрия мозга // Нейрохимия. 1985. Т. 4. № 2. С. 197–213.
18. **Пинчук Д.Ю., Дудин М.Г.** Биологическая обратная связь по электромиограмме в неврологии и ортопедии. СПб., 2002.
19. **Avaliany T.V., Muhin I.A., Klimentko V.M.** EMG-pattern in rats intraspinally treated with serum of patients with one hand trauma // Europ. Conference on Psychosomatic Research. Gr. Brit., 1998. P. 12.
20. **Feipel V., Aubin C.E., Ciolofan O.C. et al.** Electromyogram and kinematic analysis of lateral bending in idiopathic scoliosis patients // Med. Biol. Eng. Comput. 2002. Vol. 40. P. 497–505.

Адрес для переписки:

Дудин Михаил Георгиевич
198329, С-Петербург,
ул. Отважных, 5–69
dudin@admiral.ru

Точка зрения

Статья профессора М.Г. Дудина «Выявление особенностей нейрогуморальной регуляции опорно-двигательного аппарата у больных идиопатическим сколиозом методом биотестирования» построена вполне логично, но некоторые постулаты, на которых выстраивается концепция, вызывают возражения.

Так, утверждение о том, что несоответствие анатомических длин спинного мозга и позвоночника должно приводить к выраженным неврологическим нарушениям, не подтверждается у большинства больных идиопатическим сколиозом. Неврологические нарушения характерны для тяжелых деформаций позвоночника и являются вторичными.

Асимметрия спинальных мышц, по нашему мнению, также является вторичной и зависит от степени деформации позвоночника. Вообще, мышечная теория является архаизмом. Вопрос о патогенетических механизмах развития сколиотической деформации рассматривается М.Г. Дудиным с соавт. с позиции нарушения остеогенеза, но, как показали наши исследования (А.М. Зайдман. «Идиопатический сколиоз. Морфология, биохимия, генетика». Новосибирск, 1994), процесс роста – это, прежде всего, нарушение генетической регуляции пролиферации и дифференцировки хондробластов пластинки роста тел позвонков при неизменном процессе остеогенеза. Именно дисбаланс остеогенеза и процессов хондрогенеза является причиной асимметрии роста и формирования деформации позвоночника при идиопатическом сколиозе. И, главное, введение чужеродной сыворотки крови животным несомненно способно вызвать разные, в том числе и двигательные, нарушения. Кроме того, трудно себе представить, что белки могут воздействовать на моторные центры мозга. Хотелось бы получить ответ о возможности проникновения используемых белков через гематоэнцефалический барьер.

Думаем, что продолжение дискуссии на страницах нашего журнала приведет в конечном итоге к рождению истины.

Д-р мед. наук, профессор А.М. Зайдман