



Хикматулалев Рухулла Забихуллаевич

Ташкентская медицинская академия, Республика Узбекистан, г. Ташкент

IN VITRO ОРҚА МИЯ ТРАВМАЛАРИ ДИАГНОСТИКАСИДА ЭЛЕКТРОНЕЙРОМИОГРАФИК ТЕКШИРИШ УСУЛЛАРИНИ ҚЎЛЛАШНИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛ АСОСЛАШ

Хикматулалев Рухулла Забихуллаевич

Тошкент тиббиёт академияси, Ўзбекистон Республикаси, Тошкент ш.

EXPERIMENTAL JUSTIFICATION OF THE USE OF ELECTRONEUROMYOGRAPHIC RESEARCH METHODS IN THE DIAGNOSTICS OF SPINAL CORD INJURIES IN VITRO

Khikmatulalev Ruhulla Zabihullaevich

Tashkent Medical Academy, Republic of Uzbekistan, Tashkent

e-mail: info@tta.uz

Резюме. Травматик орқа миЯ шикастланиши (ТОМШ) восита, ҳиссий ва автоном функцияларни сезиларли даражада бузадиган ҳалокатли неврологик шикастланишидир. Тест синамалари бўйича тафовутлар таҳлили ТОМШ бўлган каламушларда Н/М нисбатларида сезиларли ўзгаришларни кўрсатди ($p < 0,01$). ТОМШдан кейин турли вақт нуқталарида ўртача Н/М нисбатларини таққослайдиган Т-тестлари 14 кун ичида сезиларли ўсишни аниқлади ($p < 0,01$). Н-рефлексининг амплитудаси ҳам бу вақт оралигида сезиларли даражада ошди ($p < 0,04$), лекин М жавобининг амплитудаси сезиларли даражада ўзгармади. Н/М нисбати ва Н-рефлекс амплитудасидаги бу ўсиш М-жавобнинг ортиши ТОМШдан кейин гиперрефлексияга ёрдам бериши мумкинлигини кўрсатади.

Калим сўзлар: орқа миЯ шикастланиши; Н-рефлекс; электронеуромиография; тажриба; in vitro.

Abstract. Traumatic spinal cord injury (TSCI) is a devastating neurological injury that significantly impairs motor, sensory, and autonomic function. Analysis of variance across test trials revealed a significant change in H/M ratios in rats with SCI ($p < 0.01$). T-tests comparing mean H/M ratios at different time points after SCI revealed a significant increase at 14 days ($p < 0.01$). H-reflex amplitude also increased significantly over this time period ($p < 0.04$), but M-response amplitude did not change significantly. These increases in H/M ratio and H-reflex amplitude suggest that the increase in M-response may contribute to the development of hyperreflexia after SCI.

Key words: spinal cord injury; H-reflex; electroneuromyography; experiment; in vitro.

Актуальность. Травматическое повреждение спинного мозга (SCI) может привести к тяжелой сенсомоторной дисфункции в зависимости от уровня и тяжести травмы. Изменения двигательных свойств включают атрофию мышц, трансформацию типа мышечных волокон и повышенную пассивную жесткость мышц и сухожилий [1], что приводит к значительному снижению мышечной силы, координации [2] и функциональности [3]. Симптомы двигательных нарушений выявляются клинически путем оценки остаточной силы, чувствительности и/или активации мышц отдельных групп мышц, затронутых поражением, с использованием, например, мануального мышечного тестирования (ММТ). Клинические двигательные оценки, такие как Международные стандарты неврологической классификации повреждений спинного мозга (ISNCS) и Постепенная переопределенная оценка силы, чувствительности и хватания (GRASSP), предоставляют ценную информацию о силе и функции

Текущее клиническое ведение ТСМ включает немедленную стабилизацию позвоночника и раннюю декомпрессию спинного мозга с последующей обширной физической реабилитацией [1]. Помимо этого, ва-

рианты лечения, которые способствуют значительному неврологическому и функциональному восстановлению, остаются ограниченными [4]. В результате обширных исследований было разработано несколько новых вмешательств, которые в настоящее время изучаются.

Поверхностная электромиография (поверхностная ЭМГ) — это основной метод, используемый для обнаружения и анализа электрической активности, производимой скелетными мышцами через поверхностные электроды на коже. Он предоставляет важную информацию о контроле мышц нервной системой (центральной и периферической). Для предотвращения расстройств и оценки лечения поверхностная ЭМГ традиционно используется для понимания определенных состояний, таких как мышечная усталость, денервация, реиннервация, мышечная координация, распределение нагрузки и спастичность [2, 6]. В доступной литературе содержится мало сведений об эффективности применения электронейромиографических исследований в диагностике травм спинного мозга, что и послужило актуальностью проводимого исследования.

Цель исследования. Провести детальное исследование влияния травматического повреждения спинного мозга на динамику электронейромиографических потенциалов сенсомоторных расстройств в эксперименте.

Материалы и методы исследования. Эксперименты выполнены на 180 крысах самцах на модели травмы позвоночника. Экспериментальную травму позвоночника воспроизводят согласно модификации стандартной модели контузионной травмы спинного мозга средней степени тяжести (Кубрак Н.В., Краснов В.В. 2015). Содержание животных, оперативные вмешательства и вывод из эксперимента осуществляли на основе этических принципов, декларированной Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей. Животные содержались в виварии при свободном доступе к пище и воде и естественной смене дня и ночи. Эксперименты проводились в условиях спонтанного дыхания и температуры окружающей среды 24-25°C.

В качестве экспериментальных животных используют беспородные половозрелые крысы-самцы массой 200-230 г. При исследовании животные разбиты на три группы: первая контрольная - 6 животных, которые содержались в условиях виварии в течение всего эксперимента при $t = 22^\circ \text{C}$. Вторая группа, состоящая из 20 животных, поясничный отдел позвоночника, которых был травмирован грузом весом 250 г с высоты 20 см. В третью группу входили 20 животных, поясничный отдел позвоночника, которых был травмирован грузом весом 250 г с высоты 40 см.

Двусторонние большеберцовые и малоберцовые нервы были протестированы на моторную NCS, а двусторонние икроножные нервы были протестированы на сенсорную NCS. Для исследования ЭМГ были протестированы подвздошно-поясничная мышца, широкая медиальная мышца, передняя большеберцовая мышца, икроножная мышца и длинный разгибатель большого пальца стопы (EHL) двусторонних нижних конечностей. Инсерционная и спонтанная активность наблюдалась во всех вышеперечисленных протестированных мышцах, а также регистрировались набор двигательных единиц (MUP) и амплитуда потенциалов двигательных единиц (MUP) от пика до пика.

Статистические методы исследования. Номинальные переменные (среднее значение и стандартное отклонение) анализировались с использованием t -критерия Стьюдента и дисперсионного анализа с повторными измерениями (ANOVA). Для категориальных и порядковых данных подразумевались критерий хи-квадрат, дисперсионный анализ Фридмана и Q -критерий Кохрана, в то время как коэффициент корреляции Спирмена использовался для выяснения корреляции между переменными с использованием стандартного статистического программного обеспечения (SPSS версии 20.0), а значение $p < 0,05$ считалось статистически значимым.

Результаты исследования. Анализ дисперсии в ходе тестовых испытаний показал значительное изменение соотношений Н/М у крыс с TCM ($p < 0,01$). Т-тесты, сравнивающие средние значения соотношений Н/М в различные периоды времени после TCM, вы-

явили значительное увеличение через 14 дней ($p < 0,01$). Амплитуда Н-рефлекса также значительно увеличилась за этот период времени ($p < 0,04$), но амплитуда М-ответа существенно не изменилась. Эти увеличения соотношения Н/М и амплитуды Н-рефлекса предполагают, что увеличение М-ответа может способствовать появлению гиперрефлексии после TCM. (рис. 1). MVC оставался статистически постоянным до ($125 \pm 22,33 \text{ Нм}$) и после ($138,16 \pm 34 \text{ Нм}$) эксперимента, показывая, что наши результаты не были затронуты усталостью (t -тест: $P > 0,1$).

ANOVA выявили значительную разницу между активными и пассивными условиями для амплитуд Н в обеих мышцах (SOL: $P = 0,025$; MG: $P = 0,002$). Однако соотношения Hsur-к-Msur (SOL: $0,58 \pm 0,12$; MG: $0,4 \pm 0,24$) статистически не отличались от соотношений Hmax-к-Mmax (SOL: $0,45 \pm 0,24$; MG: $0,28 \pm 0,19$). Отношения Mat Hmax-to-Mmax и Mat Hsur-to-Msur не выявили никаких различий между двумя состояниями для каждой мышцы (см. Таблицу 1). Независимо от состояния, ответы ЭМГ и отношения Н-to-М всегда были статистически слабее для мышцы MG (ANOVA, $F = 9,01$, $P = 0,015$), за исключением отношения V-to-Msur, которое статистически не различалось между двумя мышцами.

Амплитуды Н и М волн от пика до пика измерялись в обоих условиях и наносились на график в зависимости от интенсивности стимула для построения кривых набора. Не было обнаружено никаких различий в развитии волны М ни в одном из двух условий, что означает, что воздействие электрической стимуляции на периферический нерв статистически не отличалось между двумя случаями.

Анализ Тьюки после теста ANOVA показал, что интенсивности, необходимые для получения максимальных ответов Н, не различались между активными (SOL: $0,46 \pm 0,10$, MG: $0,42 \pm 0,10$; интенсивности, нормализованные по максимальной интенсивности) и пассивными (SOL: $0,50 \pm 0,12$, MG: $0,48 \pm 0,11$) условиями. Однако при анализе интенсивностей ниже или выше максимальной волны Н были выявлены некоторые различия между активными и пассивными условиями. Рассматривая нисходящую часть кривой набора рефлекса Н, интенсивность стимула, необходимая для вызова субмаксимальной волны Н, равной 60% от Hmax, статистически больше ($P < 0,01$) в активном состоянии (SOL: $0,72 \pm 0,12$, MG: $0,68 \pm 0,12$), чем в пассивном состоянии (SOL: $0,59 \pm 0,16$, MG: $0,50 \pm 0,10$). Такое же поведение наблюдалось для более высокой амплитуды волны Н, т. е. 80% от максимальной волны Н (SOL: $0,54 \pm 0,15$ пассивная, $0,64 \pm 0,12$ активная; MG: $0,42 \pm 0,17$ пассивная, $0,61 \pm 0,09$). Напротив, в восходящей части кривой различий не наблюдалось. Действительно, в восходящей части та же интенсивность вызывала субмаксимальную волну Н равной амплитуды (60% или 80% от максимальной волны Н) в активных и пассивных условиях.

Не было обнаружено различий в обеих мышцах с точки зрения интенсивности максимальной волны М в активных и пассивных условиях. Независимо от интенсивности, не было обнаружено различий между активными волнами М и пассивными волнами М.

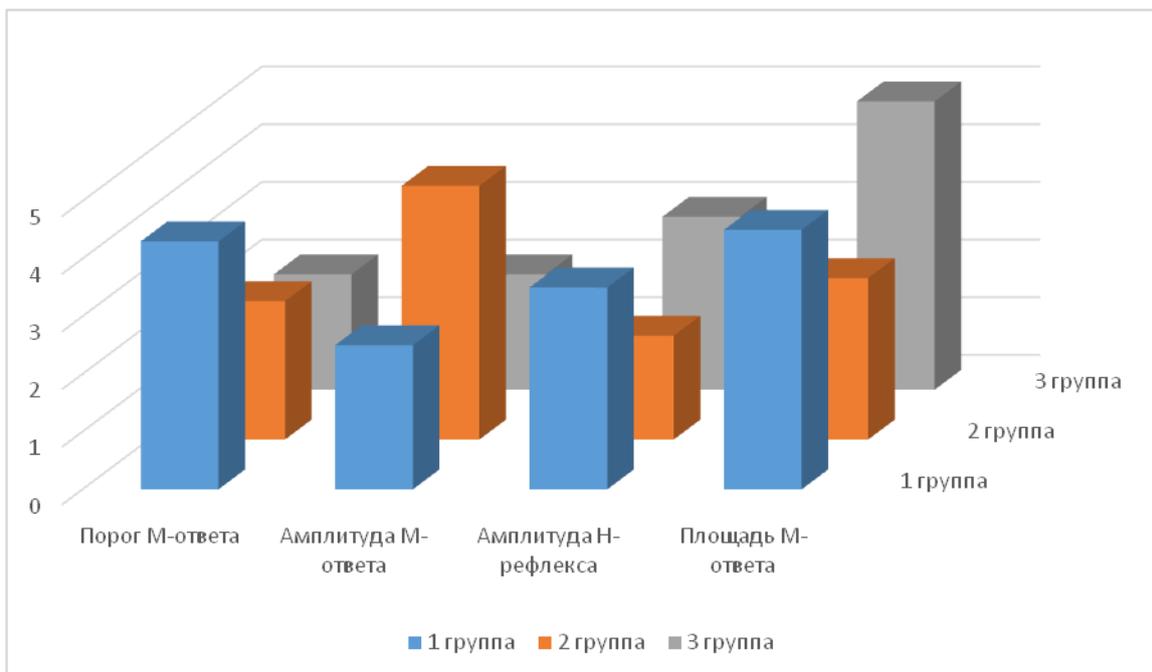


Рис. 1. Электронейромиографические показатели у крыс после нанесения травмы

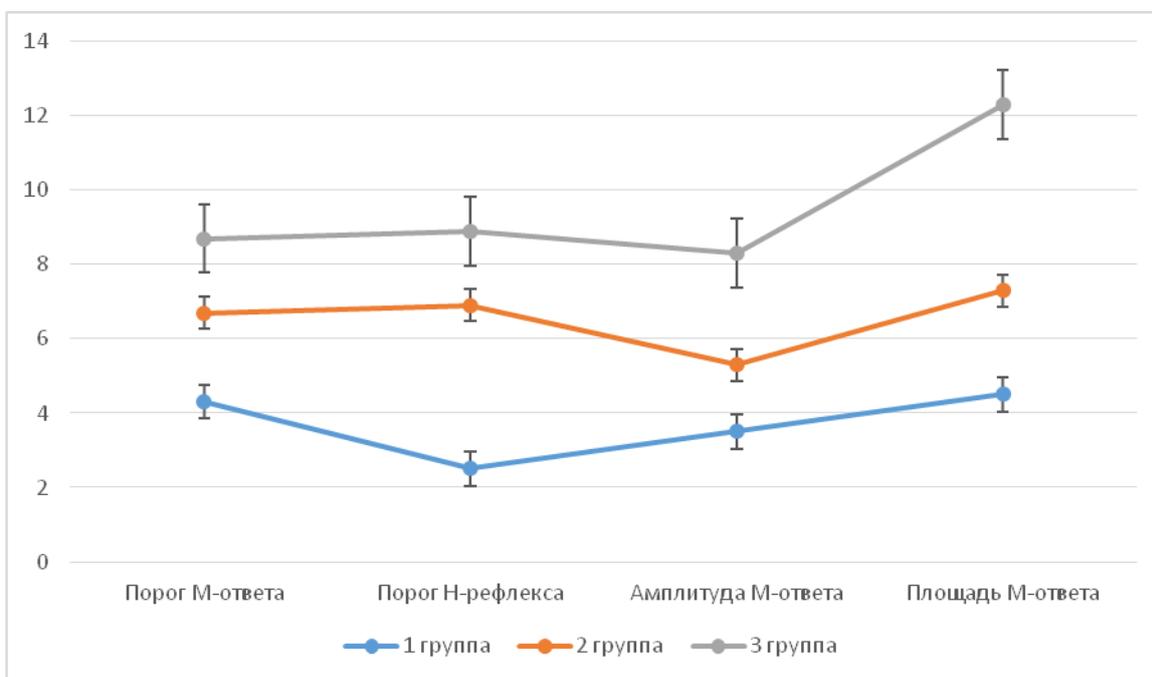


Рис. 2. Динамика изменений ЭНМГ-показателей у крыс на 3, 7 и 14 сутки эксперимента

Значения соотношений Н/Мmax, М/Мmax, Н/Мsur и М/Мsur измерялись для каждого 10% максимальной интенсивности (от 10% до 100%) у каждого субъекта. Среднее значение рассчитывалось для каждого процента, чтобы построить средние кривые рекрутирования SOL и MG (см. рис. 1, А и В). ANOVA применялся к каждому проценту как для активных, так и для пассивных соотношений Н/М и М, связанных с каждым процентом (также нормализованных по максимальной волне М). Значительный эффект сокращения был обнаружен для соотношения Н-к-М ($F = 12,64$, $P = 0,012$ для SOL), тогда как для волн М он не был обнаружен ($F = 0,254$, $P = 0,63$ для SOL; $F = 20,8$, $P = 0,137$ для мышцы MG).

На рис. 2 изображено типичное поведение одного субъекта. Эволюция волн М не показала никаких

различий между активными и пассивными кривыми рекрутирования. С другой стороны, наблюдались различия между активными и пассивными условиями в амплитудах Н при более высоких интенсивностях, чем Нmax. В состоянии покоя Н был одинаковым по обе стороны кривой рекрутирования, тогда как Н показал более высокую амплитуду в нисходящей части кривой активного рекрутирования (рис. 2) Тот же метод использовался для количественной оценки разницы между М в активном состоянии и в пассивном состоянии. Мы наблюдали то же поведение в ответах Н вплоть до интенсивности Нmax; после этого эволюция дельты М противоположна эволюции дельты Н (среднее отношение корреляции между дельтами Н и М: $-0,702$), что означает, что с этого момента ответы М в пассивном состоянии больше, чем в активном состоянии, за ис-

ключением последних двух процентов, т. е. 90% и 100% максимальной интенсивности.

Для интенсивностей выше N_{max} существует линейная зависимость ($r_2 = 0,8431$) между дельтами: чем меньше различия между ответами Н (активный против пассивного), тем меньше различия между ответами М. Для интенсивностей слабее N_{max} расхождения близки к 0 и, следовательно, незначительны.

Изучение этих расхождений между кривыми набора дало новые подсказки о различиях между восходящими и нисходящими частями кривых. Действительно, хотя статистический анализ не показал никаких различий относительно волн М в двух условиях, дельты М больше для интенсивностей стимуляции выше N_{max} . Поскольку волна М используется для оценки воздействия электрической стимуляции на периферический нерв, тот факт, что мы не наблюдаем одинакового поведения для расхождений Н за пределами N_{max} , не может быть объяснен увеличением интенсивности стимуляции. Таким образом, соответствующие различия между пассивными и активными ответами за пределами N_{max} не вытекают из одного и того же источника для волн Н и М, но оба связаны с методологическими аспектами, поскольку существует отрицательная корреляция.

В настоящем исследовании статистически значимая корреляция показателя ЭНМГ со скоростью проведения импульса по двигательному нерву (ДН) оказалась максимальной для правого малоберцового нерва (0,601, 0,732 и 0,606 в 3 и 7 сутки соответственно), левого малоберцового нерва (0,578, 0,658 и 0,513 в 3 и 7 сутки соответственно), правого большеберцового нерва (0,512, 0,616 и 0,569 в 3, 7 сутки месяцев соответственно) и левого большеберцового нерва (0,422, 0,628 и 0,660 в 0, 3 и 7 сутки соответственно) с помощью корреляционного теста Спирмена. Аналогично, статистически значимая корреляция ЭНМГ со скоростью проведения сенсорного нерва (СНС) была обнаружена с правым икроножным нервом (0,612, 0,663 и 0,502 в 3, 7 сутки соответственно) и левым икроножным нервом (0,635, 0,68 и 0,491 в 3, 7, 14 сутки соответственно).

Статистически значимая корреляция оценки ЭНМГ-исследования, а также амплитудой от пика до пика была обнаружена со всеми исследованными мышцами обеих нижних конечностей (коэффициент корреляции в диапазоне 0,677–0,422, 0,805–0,583 и 0,740–0,460 в 3 и 7 сутки соответственно) с помощью корреляционного теста Спирмена.

Корреляция между средним квадратом (СК) сигнала ЭНМГ и оценкой моторики была подтверждена корреляционным анализом Кендалла. Значение корреляции Кендалла между общими мышцами/уровнями, оценками моторики и данных ЭНМГ составляет 0,85, при этом 95% ДИ попадает в диапазон 0,76–0,95. Значимые корреляции также наблюдались для камбаловидной мышцы (0,51), передней большеберцовой мышцы (ПБМ) (0,53), трехглавой мышцы (0,52). Крысы 1 группы имели почти значительно более высокие значения ЭНМГ, чем крысы 2 группы ($p = 0,059$ и $0,052$ соответственно). В камбаловидной мышце значение СК ЭНМГ было значительно выше ($p < 0,01$).

Выводы. Для крыс основной группы является характерным двустороннее снижение прямой и

рефлекторной возбудимости мотонейронов, снижение суммарной скорости проведения импульса по дуге Н-рефлекса на стороне боли и двустороннее локальное повышение скорости проведения импульса на дистальном участке эфферентной части дуги Н-рефлекса от подколенной ямки до камбаловидной мышцы Латентный период Н-рефлекса является чувствительным маркером травмы спинного мозга.

Литература:

1. Adams, M., Carlstedt, T., Cavanagh, J., Lemon, R. N., McKernan, R., Priestley, J. V., et al. (2007). International spinal research trust research strategy. III: A discussion document. *Spinal Cord* 45, 2–14.
2. Bareyre, F. M., Kerschensteiner, M., Raineteau, O., Mettenleiter, T. C., Weinmann, O., and Schwab, M. E. (2004). The injured spinal cord spontaneously forms a new intraspinal circuit in adult rats. *Nat. Neurosci.* 7, 269–277.
3. Calvert, J. S., et al. (2019a). Electrophysiological guidance of epidural electrode array implantation over the human lumbosacral spinal cord to enable motor function after chronic paralysis. *J. neurotrauma* 36, 1451–1460.
4. Zhong, X.-P., Chen, Y.-X., Li, Z.-Y., Shen, Z.-W., Kong, K.-M., and Wu, R.-H. (2017). Cervical spinal functional magnetic resonance imaging of the spinal cord injured patient during electrical stimulation. *Eur. Spine J.* 26, 71–77.
5. Zhu, Y., Cheng, J., Yin, J., Yang, Y., Guo, J., Zhang, W., et al. (2020). Effects of sacral nerve electrical stimulation on 5-HT and 5-HT3AR/5-HT4R levels in the colon and sacral cord of acute spinal cord injury rat models. *Mol. Med. Rep.* 22, 763–773.
6. Zivkovic, S., Ayazi, M., Hammel, G., and Ren, Y. (2021). For better or for worse: A look into neutrophils in traumatic spinal cord injury. *Front. Cell. Neurosci.* 15:648076.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ЭЛЕКТРОНЕЙРОМИОГРАФИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ТРАВМ СПИННОГО МОЗГА IN VITRO

Хикматуллаев Р.З.

Резюме. Травматическое повреждение спинного мозга (ТПСМ) является разрушительным неврологическим повреждением, которое значительно затрудняет двигательные, сенсорные и вегетативные функции. Анализ дисперсии в ходе тестовых испытаний показал значительное изменение соотношений Н/М у крыс с ТСМ ($p < 0,01$). Т-тесты, сравнивающие средние значения соотношений Н/М в различные периоды времени после ТСМ, выявили значительное увеличение через 14 дней ($p < 0,01$). Амплитуда Н-рефлекса также значительно увеличилась за этот период времени ($p < 0,04$), но амплитуда М-ответа существенно не изменилась. Эти увеличения соотношения Н/М и амплитуды Н-рефлекса предполагают, что увеличение М-ответа может способствовать появлению гиперрефлексии после ТСМ.

Ключевые слова: травма спинного мозга; Н-рефлекс; электронейромиография; эксперимент; in vitro.