



В. І. ЦИМБАЛЮК^{1,2}, В. В. МЕДВЕДЕВ²,
Ю. Ю. СЕНЧИК³, Н. Г. ДРАГУНЦОВА¹

¹ ДУ «Інститут нейрохірургії імені акад. А. П. Ромоданова НАМН України», Київ

² Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Київ

³ Київська міська клінічна лікарня швидкої медичної допомоги

Порівняльний аналіз динаміки рівня рухової функції паретичної кінцівки щура на тлі травми спинного мозку та відновних нейроінженерних втручань

Мета — порівняти динаміку рівня рухової функції на тлі одностороннього перетину спинного мозку зрілого щура, трансплантації тканини нюхової цибулини (ТНЦ) та імплантації макропористого гідрогелю в поєднанні з нейрогенними стовбуровими клітинами (НСК).

Матеріали і методи. Як первинні цифрові дані використано емпіричний матеріал, отриманий у попередніх дослідженнях (В. І. Цимбалюк та співавт., 2016, 2017). Тварини: зрілі (вік — 5,5 міс, маса тіла — 300 г) білі безпородні щури-самці (інбредна лінія, похідна Wistar) та щури-самці лінії Wistar. Експериментальні групи: «ЛПП» — лівобічний половинний перетин (ЛПП) спинного мозку на рівні T11 (n=40), «ЛПП_{ЮВ}» — ЛПП у тварини молодого віку (1 міс, n=32), «ТНЦ» — ЛПП + негайна гомотопічна ТНЦ (n=34), «NG» (NeuroGel) — ЛПП + негайна гомотопічна імплантація фрагмента макропористого гідрогелю (n=20), «NG + НСК» — ЛПП + негайна гомотопічна імплантація фрагмента макропористого гідрогелю, асоційованого з НСК фетального (E17) гіпокампа миші (n=20). Моніторинг показника функції (ПФ) паретичної кінцівки проводили з використанням шкали Basso—Beattie—Bresnahan, розрахунок щотижневого приросту ПФ, прискорення приросту, а також статистичний аналіз — із застосуванням програмного пакета Statistica 10.0.

Результати. Максимуми щотижневого приросту ПФ у групах «ЛПП», «ЛПП_{ЮВ}» і «ТНЦ» відзначали на 1-му та 2-му тижні, у групі «NG» — на 1, 2, 3, 6 і 7-му тижні, у групі «NG+НСК» — на 1, 2, 3, 6, 7, 8 і 12-му тижні, максимуми щотижневого прискорення приросту ПФ — на 1-му («ЛПП», «ТНЦ»), 1-му і 5-му («ЛПП_{ЮВ}»), 1-му та 6-му («NG + НСК»), 1, 2 і 6-му («NG») тижні спостереження.

Висновки. Враховуючи отримані дані та фазність перебігу спінальної травми, можна припустити, що ТНЦ обмежує ранні реакції вторинної альтерації, імплантація макропористого гідрогелю більшою мірою стимулює ранні нейропластичні реакції та ремієлінізацію волокон перифокальної зони, трансплантація НСК у комплексі з макропористим гідрогелем, окрім зазначених механізмів, стимулює пластичність нейрональних мереж і ріст нервових волокон крізь зону ураження у проміжний та пізній період травми.

Ключові слова: травма спинного мозку, рухова функція кінцівки, приріст та прискорення приросту рухової функції, трансплантація тканини нюхової цибулини, макропористий гідрогель, нейрогенні стовбурові клітини, динамічний аналіз.

Одна з найскладніших проблем сучасної медичної науки — відновне лікування травми спинного мозку. Незважаючи на низьку частоту [14, 23], пов'язаний з нею загальнонаціональний рівень витрат у розвинених країнах виражається мільярдними еквівалентами [18, 22]. Чи не най-

більш перспективним засобом відновного лікування спінальної травми є тканинна нейроінженерія [11, 12, 19]. Наявні прикладні рішення ґрунтуються на створенні умов для росту супраспінальних аксонів крізь зону травми із залученням штучних тканинних каркасів — матриксів, попередньо асоційованих з клітинами певного фенотипу [12, 19].

© В. І. Цимбалюк, В. В. Медведєв, Ю. Ю. Сенчик, Н. Г. Драгунцова, 2017

Ефективність ізольованої трансплантації нейрогенних стовбурових клітин (НСК) на різних моделях хребетно-спинномозкових травм вивчають протягом останніх 15 років [10, 12, 19, 25]. Накопичені експериментальні дані свідчать про позитивний відновний ефект (5—20 % рухової функції паретичної кінцівки). Незважаючи на важкодоступність основних джерел НСК зрілого мозку людини, в експериментальному контексті ефективність трансплантації НСК є еталонною.

Механізми позитивного впливу більшості нейроінженерних втручань залишаються нез'ясованими. У клінічній динаміці травми спинного мозку розрізняють гострий (перші 2—3 доби), ранній (до 2—3-го тижня), проміжний (до 2—3-го місяця) та пізній (до 2—3-го року) періоди [1, 2]. З огляду на суттєві відмінності патофізіології зазначених періодів [10, 15—17, 20, 21, 24, 26], важливу роль у визначенні механізмів позитивного ефекту відновного втручання, на нашу думку, відіграє з'ясування часових особливостей його впливу на інтегральний клінічний показник стану спинного мозку — рівень рухової функції паретичної кінцівки. Так, визначення часових меж найбільш інтенсивного приросту рівня рухової функції дає змогу розглядати механізми позитивного ефекту крізь призму ключових патофізіологічних реакцій, характерних для цього часового періоду перебігу спінальної травми. У запропонованому дослідженні зазначений методичний підхід використано для порівняльного аналізу ефективності трансплантації тканини нюхової цибулини (ТНЦ) — джерела НСК зрілого мозку [9] і трансплантації НСК фетального гіпокампа у комплексі з макропористим гідрогелем [3] на тлі половинного поперечного перетину спинного мозку щура [5].

Мета роботи — порівняти динаміку рівня рухової функції на тлі одностороннього перетину спинного мозку зрілого щура, трансплантації тканини нюхової цибулини та імплантації макропористого гідрогелю в поєднанні з нейрогенними стовбуровими клітинами.

Матеріали і методи

Як первинні цифрові дані використано емпіричний матеріал, отриманий у попередніх дослідженнях [3, 5—7, 9], виконаних з дотриманням чинних норм біоетики на білих щурах-самцях (вік — 5,5 міс, маса тіла — 300 г) інбредної лінії, похідної лінії Wistar (ДУ «Інститут нейрохірургії імені акад. А. П. Ромоданова НАМН України»; групи «ЛПП», «ТНЦ», «NG», частини групи «ЛПП_{JUV}» (n = 8) та лінії Wistar (Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України; частина групи «ЛПП_{JUV}» (n = 24), група «NG + НСК»).

Експериментальні групи:

- травма спинного мозку — «ЛПП» (лівобічний половинний перетин — ЛПП; вік — 5,5 міс, 300 г; n = 40);
- ЛПП у тварин молодого віку — «ЛПП_{JUV}» (вік — 1 міс, маса тіла — 50 г на момент травми; n = 32);

- травма спинного мозку + негайна гомотопічна трансплантація фрагмента тканини нюхової цибулини — «ТНЦ» (n = 34);

- травма спинного мозку + негайна гомотопічна імплантація фрагмента макропористого гідрогелю — «NG» (NeuroGel — NG; n = 20);

- травма спинного мозку + гомотопічна імплантація фрагмента макропористого гідрогелю, НСК ембріонального (E17) гіпокампа миші — «NG + НСК» (n = 20).

Оперативні втручання здійснювали за умов загального знеболювання тварини [9]. Протокол виконання ЛПП передбачав ламінектомію на рівні Т11, перфорування спинного мозку одразу біля лівого краю задньої середньої артерії у дорзвентральному напрямку, перетин лівої половини спинного мозку офтальмологічними ножицями, контроль повноти перетину [5]. Трансплантацію у рану спинного мозку фрагментів тканини чи матриксу здійснювали одразу після моделювання ЛПП. Тканину нюхової цибулини отримували у щурів-самців (вік — 5,5 міс, маса тіла — 300 г) після забиття шляхом передозування суміші зазначених вище наркотичних засобів [9]. Як матрикс використано біосумісний макропористий гідрогель NeuroGel (FISO Technologies Inc., Quebec, Canada) з N-(2-гідроксипропіл)-метакриламідом у умовах гетерофазної сепарації шляхом радикальної полімеризації у пороутворювальному розчиннику з формуванням дивінілових поперечних зв'язків за наявності азоту як газової фази середовища [27, 28]. НСК отримували на 17-ту добу гестації з гіпокампа плода, вилученого в анестезованій самиці миші лінії FVB-Cg-Tg(GFPU)5Nagy/J, культивували у спеціальному середовищі [4] за наявності 10 нМ фактора росту фібробластів-2 (Sigma, США). Через 5 діб у середовище поміщали фрагменти макропористого гідрогелю, культивували протягом 10 діб, трансплантували у вигляді кубічних частин об'ємом 2 мм³, операційну рану пошарово зашивали. Застосовували системну антибактеріальну (Біцилін-5; Київмедпрепарат) та протизапальну (Дексаметазон, KRKA, Словенія) терапію у звичних дозах [9].

Показник функції (ПФ) задньої іпсилатеральної щодо зони травми кінцівки оцінювали згідно зі шкалою, запропованою D. M. Basso, M. S. Beattie та J. C. Bresnahan (BBB) [5, 13]. Ураховуючи асинхронність визначення ПФ у різних когортах кожної експериментальної групи, у цьому та попередніх дослідженнях [3, 5—7, 9] використано стандартизовану часову шкалу відображення результатів — 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 12, 16, 20 та 24-й тиждень загального періоду спостереження. Приведення індивідуальних результатів моніторингу ПФ до зазначеної часової шкали здійснено шляхом квазілінійної рандомізованої інтерполяції за алгоритмом ковзного середнього. Відсутність суттєвого впливу використаного алгоритму на динаміку та внутріш-

ньогоруповий розподіл значень ПФ з'ясовано в окремому дослідженні з використанням релевантних методів статистичного аналізу.

Протягом перших 2 міс спостереження щотижневий приріст ПФ ($V_{\text{пф}}$, швидкість зміни ПФ з точністю до одного тижня згідно зі стандартизованою часовою шкалою) визначали за формулою:

$$\{V_{\text{пф}}\}_n = \text{ПФ}_n - \text{ПФ}_{n-1},$$

де n — тиждень спостереження.

Аналогічно обчислювали прискорення приросту ПФ — $a_{\text{пф}}$:

$$\{a_{\text{пф}}\}_n = a_n - a_{n-1}.$$

Починаючи з 3-го місяця, $V_{\text{пф}}$ і $a_{\text{пф}}$ обраховували за формулою:

$$\{V_{\text{пф}}\}_n = (\text{ПФ}_n - \text{ПФ}_{n-1})/4,$$

$$\{a_{\text{пф}}\}_n = (a_n - a_{n-1})/4,$$

де n — місяць спостереження.

Розрахунок здійснювали автоматично у межах програмного пакета Statistica 10.0, умовно приймаючи значення ПФ, $V_{\text{пф}}$ і $a_{\text{пф}}$ одразу після виходу тварини зі стану наркотичного сну рівним нулю (стан спінального шоку).

Для порівняльної оцінки середніх у групах значень досліджуваних показників використовували непараметричний U-тест Манна—Уїтні. В усіх випадках припущення щодо статистичної значущості отриманого результату вважали правильним, якщо ймовірність нульової гіпотези була меншою ніж 0,05 ($p < 0,05$). Усереднені величини наведено у вигляді ($M \pm m$), де M — середнє арифметичне значення величини, m — стандартна похибка середньоарифметичного значення.

Результати та обговорення

Протягом перших 2 тиж спостереження у групі «ЛПП» відзначали інтенсивне зменшення $V_{\text{пф}}$ — з ($1,5 \pm 0,3$) до ($0,6 \pm 0,2$) бала/тиж, впродовж наступних 3 тиж — до ($0,1 \pm 0,1$) бала/тиж, у подальшому до кінця експерименту значення $V_{\text{пф}}$ наближалися до нуля (рис. 1). Значення $a_{\text{пф}}$ були максимальними на 1-му тижні — ($1,5 \pm 0,3$) бала/тиж², мінімальними — на 2-му тижні спостереження ($-0,91 \pm 0,3$) бала/тиж², починаючи з 4-го тижня — нульовими (рис. 2). Фазність змін $V_{\text{пф}}$ та $a_{\text{пф}}$ відповідала виявленій для ПФ [5]. Статистично значущі зміни ПФ установлено на 2, 3, 8 та 16-му тижні [5].

Відновний процес у групі «ЛПП_{JUV}» відрізнявся слабкою прогресивною динамікою протягом 2—3-го та 7—8-го тижня спостереження (див. рис. 1, 2). Величина $V_{\text{пф}}$ у ці терміни дорівнювала ($0,8 \pm 0,2$), ($0,3 \pm 0,3$) та ($0,3 \pm 0,1$) бала/тиж, статистично значущо відрізняючись від значень групи «ЛПП» на 1-му ($p < 0,001$), 2-му ($p = 0,015$), 4-му ($p = 0,028$) та 5-му ($p = 0,004$) тижні. Для величини $a_{\text{пф}}$ були характерні слабкі коливання з максимумами на 3, 5 і 8-му тижні спостереження (відповідно $-0,45 \pm 0,4$), ($0,41 \pm 0,1$), ($0,14 \pm 0,1$) бала/тиж²). Статистично значущі зміни ПФ у групі зареєстровано на 2—4-му та 8-му тижнях спостереження [5].

Для динаміки ПФ ЗІК у групі «ТНЦ» був характерний тривалий регрес протягом 2—6-го місяця експерименту (див. рис. 1, 2), додатні значення $V_{\text{пф}}$ спостерігали лише впродовж 1—2-го тижня (відповідно ($3,2 \pm 0,6$) та ($0,5 \pm 0,2$) бала/тиж). Упродовж періоду регресу ПФ реєстрували від'ємні або близькі до нуля значення $V_{\text{пф}}$ з мінімумом на 6—7-му тижні (відповідно $(-0,3 \pm 0,1)$ та $(-0,2 \pm 0,1)$ бала/тиж). Протягом 2—4-го і 6-го тижня та 4—6-го місяця фіксували від'ємні значення $a_{\text{пф}}$ ($(-2,7 \pm 0,7)$ — $(-0,01 \pm 0,1)$ бала/тиж²), протягом 1-го та 7—12-го тижня — додатні ($(3,2 \pm 0,6)$ — $(0,03 \pm 0,2)$ бала/тиж²), що відповідає періодам, відповідно, прискорення та сповільнення регресу ПФ. Важливо, що значущі зміни ПФ описано на 2, 6, 7 та 24-му тижнях спостереження [9]. Статистично значущу відмінність значень $V_{\text{пф}}$ групи «ТНЦ»

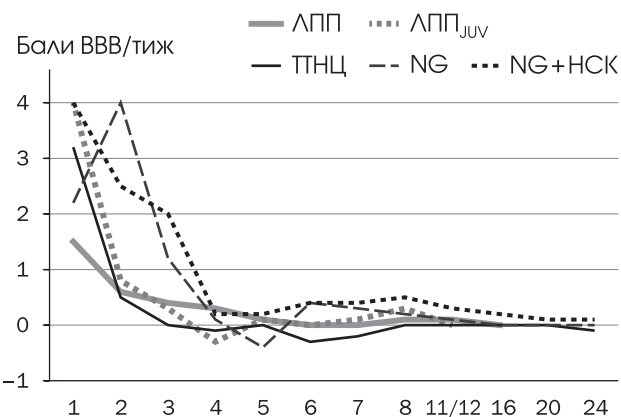


Рис. 1. Динаміка приросту показника функції ($V_{\text{пф}}$) паретичної кінцівки щура в експериментальних групах упродовж періоду спостереження. Дані щодо статистичної значущості відмінностей наведено у тексті

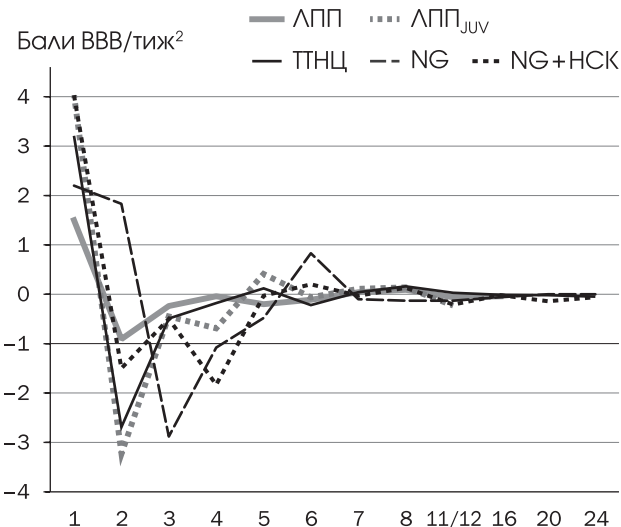


Рис. 2. Динаміка приросту показника функції ($a_{\text{пф}}$) паретичної кінцівки щура в експериментальних групах упродовж періоду спостереження

від показників групи «ЛПП» виявлено на 1-му тижні ($p = 0,006$), тоді як від показників групи «ЛПП_{JUV}» не вони не відрізнялися статистично значущо.

Для динаміки $V_{пф}$ та $a_{пф}$ у групі «NG» були характерні максимуми, зареєстровані відповідно на 2-му і 6-му ($(4,0 \pm 0,7)$ та $(0,4 \pm 0,2)$ бала/тиж) та 1—2-му і 6-му ($(2,2 \pm 0,6)$ — $(0,8 \pm 0,5)$ бала/тиж²) тижні спостереження. Мінімуми зафіксовані відповідно на 1-му і 5-му ($(2,2 \pm 0,6)$ та $(-0,4 \pm 0,4)$ бала/тиж) і 3-му ($(-2,9 \pm 0,8)$ бала/тиж²) тижні спостереження (див. рис. 1, 2). Значущі зміни ПФ відзначено на 2, 3, 7, 8, 12 та 20-му тижні спостереження [3, 4, 6, 10]. Статистично значущу відмінність значень $V_{пф}$ від відповідного показника групи «ЛПП» виявляли протягом 2—4-го тижня ($p < 0,001$; $p = 0,002$; $p = 0,001$), від такого групи «ЛПП_{JUV}» — на 2-му ($p < 0,001$) та 3-му ($p = 0,006$) тижні, від показника групи «ТТНЦ» — протягом 2—4-го та на 6-му тижні ($p < 0,001$; $p = 0,004$; $p = 0,008$; $p = 0,048$).

Динаміка значень $V_{пф}$ та $a_{пф}$ групи «NG + НСК» характеризувалася наявністю максимумів відповідно на 1—3-му і 8-му тижні та на 1, 3, 6 і 8-му тижні спостереження, а також мінімумів на 1—5-му і 20—28-му та на 2, 4, 12—24-му тижні спостереження (див. рис. 1, 2). Від'ємні значення $V_{пф}$ не виявлено, статистично значущі часові зміни ПФ групи фіксували на 2, 4, 5, 8, 16, 20, 24 та 28-му тижні [4]. Статистично значущу відмінність значень $V_{пф}$ від показника групи «ЛПП» встановлено на 1-му та 4-му тижні ($p < 0,001$; $p = 0,002$), від такого групи «ТТНЦ» — на 4-му тижні ($p = 0,011$), від показника групи «NG» — впродовж перших 2 тиж ($p = 0,02$; $p = 0,006$), від показника групи «ЛПП_{JUV}» — не виявлено.

Порівняльний аналіз приросту показника рухової функції паретичної кінцівки доповнює уявлення про динаміку відновного процесу, в зіставленні з патофізіологічною періодизацією травми дає змогу звузати коло вірогідних механізмів впливу відновного втручання. Аналіз прискорення приросту показника рухової функції сприяє виявленню моментів суттєвих патофізіологічних змін у динаміці травматичного процесу, які є результатом трансформації кількісних особливостей тієї чи тієї складової травматичного процесу в якісні, дає змогу з'ясувати часові межі сутнісно відмінних механізмів відновлення рухової функції.

Інтенсивний приріст ПФ протягом першого тижня спостереження (гострий і ранній період травми) у групах «ТТНЦ», «NG + НСК» та «ЛПП_{JUV}» можна інтерпретувати по-різному. Щодо групи «ЛПП_{JUV}» така

динаміка ПФ свідчить про помірний (порівняно з групою «ЛПП») розвиток реакцій вторинного ураження тканини спинного мозку, серед яких ключовими є локальне запалення, набряк, ішемія, демієлінізація і нейротоксичність [24, 26]. Вікова специфіка цих реакцій при травмі спинного мозку залишається не вивченою.

Можна припустити, що нейрогенні клітини («NG + НСК», «ТТНЦ») пригнічують зазначені альтераційні реакції гострого та раннього періоду спінальної травми. Крім того, у випадку «ТТНЦ» суттєве значення має імуногенність тканини нюхової цибулини [8], реалізація якої може впливати на перебіг автоімунних реакцій у вогнищі травми спинного мозку.

Виходячи з отриманих даних, механізми позитивного впливу макропористого гідрогелю («NG») виявляються більшою мірою на етапі ранніх нейропластичних реакцій та ремієлінізації волокон перифокальної зони (ранній період травми). Популяція НСК, асоційованих з речовиною матриксу («NG + НСК»), подовжує період його позитивного впливу до 4-го тижня, збільшує повільне відновлення рухової функції у проміжний та пізній період травми, яке ініціюється у групах «NG» та «NG + НСК» на 5-му та 6-му тижні відповідно (див. рис. 2) і триває впродовж 2—3-го місяця («NG») та до кінця періоду спостереження («NG + НСК») (див. рис. 1). Відомо [10, 15, 16, 17, 20, 21, 24, 26], що основним механізмом відновлення рухової функції у проміжний та пізній період травми є налагодження альтернативних шляхів передачі збудження на денервовані мотонейрони за допомогою нейропластичних перебудов супраспінальних та спінальних нервових мереж, зокрема шляхом регенераційного росту аксонів крізь зону імплантації матриксу. Отже, трансплантовані у комплексі з макропористим гідрогелем НСК сприяють реалізації цього механізму.

Висновки

Молодий вік тварини, трансплантація тканини нюхової цибулини або макропористого гідрогелю разом з нейрогенними стовбуровими клітинами у зону травми спинного мозку — це чинники, які сприяють відновленню рухової функції паретичної кінцівки у гострий та ранній період травми.

Асоційовані з макропористим гідрогелем нейрогенні стовбурові клітини стимулюють процес відновлення рухової функції паретичної кінцівки впродовж раннього, проміжного та пізнього періодів травми.

Конфлікту інтересів немає.

Участь авторів: концепція і дизайн дослідження — В. Ц., В. М.; оперативні втручання — В. М., Ю. С.; моніторинг рухової функції, первинна обробка цифрових даних, інтерпретація отриманих результатів, написання тексту та редагування — В. М.; статистичне опрацювання даних — Н. Д.

Література

- Полищук Н. Е., Слынько Е. И. Патогенез травмы спинного мозга, периодизация травматической болезни спинного мозга. Спинальный шок // Полищук Н. Е., Корж Н. А., Фищенко В. Я. Повреждения позвоночника и спинного мозга (механизмы, клиника, диагностика, лечение). — К.: Книга Плюс, 2001. — С. 42—56.
- Слынько Е. И. Ургентна нейрохірургічна допомога при ускладненій хребетно-спинномозковій травмі в Україні // Укр. нейрохір. журн. — 2005. — № 3. — С. 63—74.
- Цимбалюк В. І., Медведєв В. В., Васильєв Р. Г. та ін. Вплив імплантатції NeuroGel у поєднанні з ксеногенними стовбуровими клітинами нервового гребня на відновлення рухової функції задніх кінцівок щура після травми спинного мозку // Укр. неврол. журн. — 2017. — № 1. — С. 65—71.
- Цимбалюк В. І., Медведєв В. В., Рибачук О. А. та ін. Вплив ксено-трансплантації нейрогенних стовбурових клітин у комплексі з тканинним матриксом NeuroGel™ на відновлення рухової функції спинного мозку щура після експериментальної спінальної травми // Клін. хірургія. — 2017. — № 1. — С. 64—66.
- Цимбалюк В. І., Медведєв В. В., Семенова В. М. та ін. Модель пересічення половини поперечника спинного мозку. І. Технічні, патоморфологічні та клініко-експериментальні особливості // Укр. нейрохір. журн. — 2016. — № 2. — С. 18—27.
- Цимбалюк В. І., Медведєв В. В., Семенова В. М. та ін. Тривала персистенція біосумісного стороннього тіла у хребтовому каналі за відкритої проникної травми спинного мозку: клініко-експериментальні та патоморфологічні особливості // Клін. хірургія. — 2016. — № 8. — С. 64—69.
- Цимбалюк В. І., Медведєв В. В., Семенова В. М. та ін. Клініко-патоморфологічні особливості моделі відкритої проникної травми спинного мозку з тривалою персистенцією стороннього тіла у каналі хребта // Укр. нейрохір. журн. — 2016. — № 4. — С. 16—25.
- Цимбалюк В. І., Медведєв В. В., Сенчик Ю. Ю. *Se.re.bellum*, або мозочок: монографія. — Вінниця: Нова Книга, 2013. — 272 с.
- Цимбалюк В. І., Медведєв В. В., Сенчик Ю. Ю. та ін. Вплив трансплантації тканини нюхової цибулини на перебіг регенераційного процесу при травмі спинного мозку в експерименті // Укр. неврол. журн. — 2016. — № 3. — С. 59—65.
- Цимбалюк В. І., Медведєв В. В. Спинной мозг. Элегия надежды: Монография. — Винница: Нова Книга; 2010. — 944 с.
- Ahuja C., Fehlings M. Concise review: bridging the gap: novel neurogenerative and neuroprotective strategies in spinal cord injury // *Stem Cells Transl. Med.* — 2016. — Vol. 5 (7). — P. 914—924.
- Assunção-Silva R. C., Gomes E. D., Sousa N. et al. Hydrogels and cell based therapies in spinal cord injury regeneration // *Stem Cells Int.* — 2015. — 948040.
- Basso D. M., Beattie M. S., Bresnahan J. C. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats // *J. Neurotrauma.* — 1995. — Vol. 12 (1). — P. 1—21.
- Chamberlain J. D., Meier S., Mader L. et al. Mortality and longevity after a spinal cord injury: systematic review and meta-analysis // *Neuroepidemiol.* — 2015. — Vol. 44 (3). — P. 182—198.
- Dray C., Rougon G., Debarbieux F. Quantitative analysis by in vivo imaging of the dynamics of vascular and axonal networks in injured mouse spinal cord // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2009. — Vol. 106 (23). — P. 9459—9464.
- Garcia E., Aguilar-Cevallos J., Silva-Garcia R., Ibarra A. Cytokine and growth factor activation in vivo and in vitro after spinal cord injury // *Mediators Inflamm.* — 2016. — 9476020.
- Kjell J., Olson L. Rat models of spinal cord injury: from pathology to potential therapies // *Dis Model Mech.* — 2016. — Vol. 9 (10). — P. 1125—1137.
- Krueger H., Noonan V. K., Trenaman L. M. et al. The economic burden of traumatic spinal cord injury in Canada // *Chronic Dis. Inj. Can.* — 2013. — Vol. 33 (3). — P. 113—122.
- Lin X. Y., Lai B. Q., Zeng X. et al. Cell transplantation and neuroengineering approach for spinal cord injury treatment: a summary of current laboratory findings and review of literature // *Cell. Transplant.* — 2016. — Vol. 25 (8). — P. 1425—1438.
- Moghaddam A., Child C., Bruckner T. et al. Posttraumatic inflammation as a key to neuroregeneration after traumatic spinal cord injury // *Int. J. Mol. Sci.* — 2015. — Vol. 16 (4). — P. 7900—7916. doi: 10.3390/ijms16047900.
- Ng M. T., Stammers A. T., Kwon B. K. Vascular disruption and the role of angiogenic proteins after spinal cord injury // *Transl. Stroke Res.* — 2011. — Vol. 2 (4). — P. 474—491.
- Oliveri R. S., Bello S., Biering-Sørensen F. Mesenchymal stem cells improve locomotor recovery in traumatic spinal cord injury: systematic review with meta-analyses of rat models // *Neurobiol. Dis.* — 2014. — Vol. 62. — P. 338—353.
- Oteir A. O., Smith K., Stoelwinder J. U., Cox S. et al. The epidemiology of pre-hospital potential spinal cord injuries in Victoria, Australia: a six year retrospective cohort study // *Inj. Epidemiol. [Internet].* — 2016. — Vol. 3 (1). — P. 1—8.
- Siebert J. R., Eade A. M., Osterhout D. J. Biomaterial approaches to enhancing neurorestoration after spinal cord injury: strategies for overcoming inherent biological obstacles // *BioMed. Res. International [Internet].* — 2015. — Vol. 2015. — 752572. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/752572>. doi: 10.1155/2015/752572.
- Tian L., Prabhakaran M. P., Ramakrishna S. Strategies for regeneration of components of nervous system: scaffolds, cells and biomolecules // *Regen Biomater.* — 2015. — Vol. 2 (1). — P. 31—45. doi: 10.1093/rb/rbu017.
- Tsintou M., Dalamagkas K., Seifalian A. M. Advances in regenerative therapies for spinal cord injury: a biomaterials approach // *Neural Regen Res.* — 2015. — Vol. 10 (5). — P. 726—742.
- Woerly S., Doan V. D., Sosa N. et al. Reconstruction of the transected cat spinal cord following NeuroGel implantation: axonal tracing, immunohistochemical and ultrastructural studies // *Int. J. Dev. Neurosci.* — 2001. — Vol. 19 (1). — P. 63—83. PMID: 11226756.
- Woerly S., Petrov P., Sykova E., Roitbak T. et al. Neural tissue formation within porous hydrogels implanted in brain and spinal cord lesions: ultrastructural, immunohistochemical, and diffusion studies // *Tissue Engineering.* — 1999. — Vol. 5 (5). — P. 467—488.

В. І. ЦЫМБАЛЮК^{1,2}, В. В. МЕДВЕДЕВ², Ю. Ю. СЕНЧИК³, Н. Г. ДРАГУНЦОВА¹

¹ГУ «Інститут нейрохірургії імені акад. А. П. Ромоданова НАМН України», Київ

²Національний медичний університет імені А. А. Богомольця, Київ

³Київська городська клінічна лікарня швидкої медичної допомоги

Сравнительный анализ динамики уровня двигательной функции паретической конечности крысы на фоне травмы спинного мозга и восстановительных нейроинженерных вмешательств

Цель — сравнить динамику уровня двигательной функции на фоне одностороннего пересечения спинного мозга зрелой крысы, трансплантации ткани обонятельной луковицы (ТЛОЛ) и имплантации макропористого гидрогеля в сочетании с нейрогенными стволовыми клетками (НСК).

Материалы и методы. В качестве первичных цифровых данных использовали эмпирический материал, полученный в предыдущих исследованиях (В. И. Цимбалюк и др. 2016, 2017). Животные: зрелые (возраст — 5,5

мес, масса тела — 300 г) белые беспородные крысы-самцы (инбредная линия, производная Wistar) и крысы-самцы линии Wistar. Экспериментальные группы: «ЛПП» — левостороннее половинное пересечение (ЛПП) спинного мозга на уровне T11 (n=40), «ЛПП_{JUV}» — ЛПП у животных молодого возраста (1 мес, n=32), «ТНЦ» — ЛПП + немедленная гомотопическая ТПОЛ (n=34), «NG» (NeuroGel) — ЛПП + немедленная гомотопическая имплантация фрагмента макропористого гидрогеля (n=20), «NG + НСК» — ЛПП + немедленная гомотопическая имплантация фрагмента макропористого гидрогеля, ассоциированного с НСК фетального (E17) гиппокампа мыши (n=20). Мониторинг показателя функции (ПФ) паретической конечности проводили с использованием шкалы Basso—Beattie—Bresnahan, расчет еженедельного прироста ПФ, ускорения прироста, а также статистический анализ — с применением программного пакета Statistica 10.0.

Результаты. Наибольшие значения еженедельного прироста ПФ в группах «ЛПП», «ЛПП_{JUV}» и «ТПОЛ» отмечали на 1-й и 2-й неделе, в группе «NG» — на 1, 2, 3, 6- и 7-й неделе, в группе «NG + НСК» — на 1, 2, 3, 6, 7, 8 и 12-й неделе, наибольшие значения еженедельного ускорения прироста ПФ — на 1-й («ЛПП», «ТПОЛ»), 1-й и 5-й («ЛПП_{JUV}»), 1-й и 6-й («NG + НСК»), 1, 2 и 6-й («NG») неделе наблюдения.

Выводы. Учитывая полученные результаты и фазность течения спинальной травмы, можно предположить, что ТПОЛ ограничивает ранние реакции вторичной альтерации, имплантация макропористого гидрогеля в большей степени стимулирует ранние нейропластические реакции и ремиелинизацию волокон перифокальной зоны, трансплантация НСК в комплексе с макропористым гидрогелем, кроме указанных механизмов, стимулирует пластичность нейрональных сетей и рост нервных волокон через зону повреждения в промежуточный и поздний период травмы.

Ключевые слова: травма спинного мозга, двигательная функция конечности, прирост и ускорение прироста двигательной функции, трансплантация ткани обонятельной луковицы, макропористый гидрогель, нейрогенные стволовые клетки, динамический анализ.

V. I. TSYMBALIUK^{1,2}, V. V. MEDVEDIEV², Yu. Yu. SENCHYK³, N. G. DRAGUNTSOVA¹

¹SI «Institute of Neurosurgery named after acad. A. P. Romodanov of NAMS of Ukraine», Kyiv

²O. O. Bogomolets National Medical University, Kyiv

³Kyiv City Clinical Emergency Hospital

Comparative analysis of the rat's paretic limb motor function level after spinal cord injury and restorative neuroengineering interventions

Objective — to compare the dynamics of motor function level after spinal cord hemisection, olfactory bulb tissue transplantation (OBTT) and macroporous hydrogel implantation in combination with neural stem cells (NSC).

Methods and subjects. As the primary digital data, empirical material obtained in a number of previous studies (V.I. Tymbaliuk et al., 2016, 2017) was used. Animals: mature (5.5 months, 300 g; 1 month, 50 g) white male rats (inbred line derived from Wistar), male Wistar male rats. Experimental groups: «LSH» — spinal cord left-side hemisection (LSH) at the T11 level (n=40); «LSHJUV» — LSH in a young animals (1 month, n=32); «OBTT» — LSH + immediate homotopic OBTT (n=34); «NG» (NeuroGel) — LSH + macroporous hydrogel immediate homotopic implantation (n=20); «NG+NSC» — LSH + macroporous hydrogel with mouse fetal (E17) hippocampal NSC immediate homotopic implantation (n=20). Monitoring the paretic hindlimb function indicator (FI) was performed with the Basso—Beattie—Bresnahan scale (BBB). FI weekly gain (VFI, points per week — p/w), gain acceleration (aFI, points² per week — p²/w) calculation, as well as statistical analysis was performed within the software package Statistica 10.0.

Results. Peaks of the VFI was observed at the 1st and 2nd weeks («LSH», «LSHJUV», «OBTT»), in the «NG» group — at the 1st, 2nd, 3rd, 6th and 7th week, in the «NG+NSC» group — at the 1st, 2nd, 3rd, 6th, 7th, 8th and 12th week. Peak aFI was observed at the 1st («LSH», «OBTT»), 1st and 5th («LSHJUV»), 1st and 6th («NG+NSC»), 1st, 2nd and 6th («NG») weeks of observation.

Conclusions. Taking into account the obtained data, it can be assumed that the OBTT limits the response of the early secondary alteration, macroporous hydrogel implantation — to more extent stimulates early neuroplastic reactions and remyelination of fibers of the perifocal zone, NSC transplantation in combination with macroporous hydrogel, in addition to the mentioned two mechanisms, stimulates the plasticity of neuronal networks and the growth of nerve fibers through the lesion area in the intermediate and late period of trauma.

Key words: spinal cord injury, limb motor function, gain of motor function and gain acceleration, olfactory bulb tissue transplantation, macroporous hydrogel, neural stem cells, dynamic analysis.