



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

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

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

³Київська міська клінічна лікарня швидкої медичної допомоги

Порівняльний аналіз динаміки спастичності паретичної кінцівки щура на тлі травми спинного мозку, алотрансплантації тканини зрілої нюхової цибулини та фетального мозочка

Мета — порівняти динаміку рівня спастичності паретичної кінцівки на тлі однобічного перетину спинного мозку зрілого щура, трансплантації тканини нюхової цибулини (ТНЦ) та фетального мозочка (ТФМ).

Матеріали і методи. Як первинні використано дані, отримані у попередніх дослідженнях (В. І. Цимбалюк, та співавт., 2016, 2017). Тварини — білі безпородні щури-самці (вік — 5,5 міс, маса тіла — 300 г). Експериментальні групи: «ЛПП» — лівобічний половинний перетин (ЛПП) спинного мозку на рівні Т11 (n = 16), «ТНЦ» — ЛПП + негайна гомотопічна ТНЦ (n = 34), «ТФМ» — ЛПП + негайна гомотопічна ТФМ (n = 15). Моніторинг показника спастичності (ПС) паретичної кінцівки проводили з використанням шкали Ashworth. Розраховували щотижневий приріст ПС ($V_{ПС}$), прискорення приросту спастичності.

Результати. Протягом першого місяця спостереження значення ПС у групі ТФМ були максимальними, статистично значущо вищими були значення в групах ЛПП (протягом 1—3-го тижня) і ТНЦ (протягом 1—6-го тижня). У групі ТНЦ значення ПС статистично значущо були меншими, ніж у групі ЛПП на 2-му тижні. Найбільшу відмінність у динаміці ПС спостерігали протягом першого (більшим було значення $V_{ПС}$ у групі ТФМ) та другого (більшим було значення $V_{ПС}$ у групі ЛПП) тижня. Починаючи з 2-го тижня експерименту, статистично значущої різниці щодо динаміки ПС між групами ТНЦ і ТФМ при прямому порівнянні $V_{ПС}$ не виявлено.

Висновки. Трансплантація тканини, яка містить попередники глутаматергічних (тканина ФМ) або ГАМК-ергічних (тканина зрілої НЦ) нейронів, у зону травми спинного мозку чинить протилежний вплив на формування посттравматичної спастичності, що підтверджує припущення щодо ролі зазначених медіаторних систем у формуванні цього ускладнення хребетно-спинномозкової травми.

Ключові слова: травма спинного мозку, посттравматична спастичність, трансплантація тканини нюхової цибулини, трансплантація тканини фетального мозочка, приріст та прискорення приросту спастичності, динамічний аналіз.

Синдром спастичності, характерний для більшості випадків хребетно-спинномозкової травми [11, 16], — це ускладнення, яке суттєво погіршує якість життя пацієнтів [18, 22]. Нівелювання спінального шоку супроводжується сегментарною глутамат-опосередкованою гіперрефлексією [9], котра поступово трансформується у спастичність, за-

лежну від автогенної активності нерередагованих форм серотонінових та норадреналінових рецепторів мотонейронів [7]. Попри переважання у літературі серотонінергічної гіпотези формування спастичності при спінальній травмі [7, 8], цей механізм є визначальним лише у проміжний та віддалений період травми [7, 8, 14, 19, 21]. Роль глутаматергічної та ГАМК-ергічної систем на ранніх етапах формування спастичності вивчено недостатньо.

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

Зріла нюхова цибулина (НЦ) ссавців містить нейрогенні прогенітори та прекурсори, комітовані на розвиток переважно у ГАМК-ергічні нейрони [10, 12, 13, 20], фетальний мозочок (ФМ) на завершальній стадії гестації — прекурсори та прогенітори, комітовані на розвиток у глутаматергічні нейрони [15, 17]. Ми використали оригінальний метод порівняльного аналізу впливу трансплантації тканин обох зазначених ділянок мозку на перебіг спастичності після половинного поперечного перетину спинного мозку щура.

Мета роботи — порівняти динаміку рівня спастичності паретичної кінцівки на тлі однобічного перетину спинного мозку зрілого щура, трансплантації тканини нюхової цибулини та фетального мозочка.

Матеріали і методи

Як первинні використано дані, отримані у попередніх дослідженнях [2, 3, 6], проведених з дотриманням чинних норм біоетики на білих безплідних щурах-самцях (вік — 5,5 міс, маса тіла — 300 г) з віварію ДУ «Інститут нейрохірургії імені акад. А. П. Ромоданова НАМН України». Експериментальні групи: «ЛПП» — лівобічний половинний перетин (ЛПП) спинного мозку (n = 16), «ТТНЦ» — ЛПП + негайна гомотопічна трансплантація тканини нюхової цибулини (ТТНЦ; n = 34), «ТТФМ» — ЛПП + негайна гомотопічна трансплантація тканини фетального мозочка (ТТФМ; n = 15). Оперативні втручання здійснювали в умовах загального знеболювання тварини [4]. Протокол виконання ЛПП передбачав ламінектомію на рівні Т11, перетин лівої половини спинного мозку та контроль повноти перетину [4]. Трансплантацію фрагмента тканини здійснювали у рану спинного мозку одразу після моделювання ЛПП. Тканину НЦ отримували після забиття тварини шляхом передозування наркотичних засобів [5], тканину ФМ отримували у плодів глибоко анестезованих самок на 18-ту добу гестації [1]. Операційну рану пошарово зашивали, застосовували системну антибактеріальну (біцилін-5, «Київмедпрепарат») і протизапальну (дексаметазон, КРКА, Словенія) терапію у звичайних дозах [4].

Показник спастичності (ПС) задньої іпсилатеральної щодо зони травми кінцівки оцінювали за шкалою Ashworth [3, 6]. З огляду на асинхронність визначення ПС в окремих когортах в експериментальних групах у дослідженні використано стандартизовану часову шкалу відображення результатів: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 12, 16, 20 та 24-й тижень загального періоду спостереження. Приведення індивідуальних результатів моніторингу ПС до зазначеної часової шкали здійснено шляхом квазілінійної рандомізованої інтерполяції за алгоритмом ковзного середнього. Відсутність суттєвого впливу використаного алгоритму на динаміку та внутрішньогруповий розподіл значень ПС з'ясовано в окремо-

му дослідженні з використанням релевантних методів статистичного аналізу.

Протягом перших 2 міс спостереження щотижневий приріст ПС (швидкість зміни ПС з точністю до одного тижня згідно із стандартизованою часовою шкалою) визначали за формулою:

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

де n — тиждень спостереження.

Аналогічно обчислювали прискорення приросту ПС ($a_{\text{ПС}}$). Розрахунок здійснювали автоматично за допомогою програмного пакета Statistica 10.0, умовно приймаючи значення ПС, $V_{\text{ПС}}$ і $a_{\text{ПС}}$ одразу ж після виходу тварини зі стану наркотичного сну рівним нулю (стан спінального шоку).

Починаючи з 3-го місяця, щотижневий приріст та прискорення приросту обраховували за формулою:

$$\{V_{\text{ПС}}\}_n = \frac{\text{ПС}_n - \text{ПС}_{n-1}}{4},$$

де n — місяць спостереження.

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 ($p < 0,05$). Дані наведено у вигляді $M \pm m$, де M — середнє арифметичне значення величини, m — стандартна похибка середнього значення.

Результати та обговорення

Статистично значущу різницю показників ПС у групах ТТНЦ і ТТФМ виявлено на 1—6-му тижні спостереження ($p < 0,04$) на користь групи ТТФМ (рис. 1), у групах ТТНЦ та ЛПП — на 2-му тижні ($p = 0,004$ на користь групи ЛПП), у групах ТТФМ і ЛПП — на 1—3-му тижні ($p < 0,05$; на користь групи ТТФМ).

У групі ЛПП для $V_{\text{ПС}}$ характерна 3-фазна динаміка з максимумами на 2, 4 та 7-му тижні спостереження (рис. 2, 3). Динаміка $a_{\text{ПС}}$ відповідала вияв-

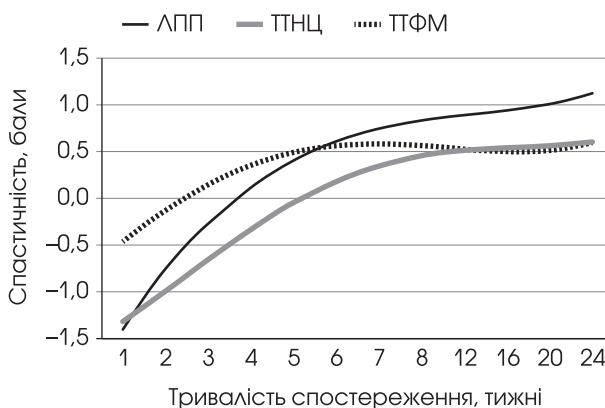


Рис. 1. Поліномальна апроксимація результатів моніторингу показника спастичності паретичної кінцівки впродовж експерименту (за шкалою Ashworth). Міра полінома — 4

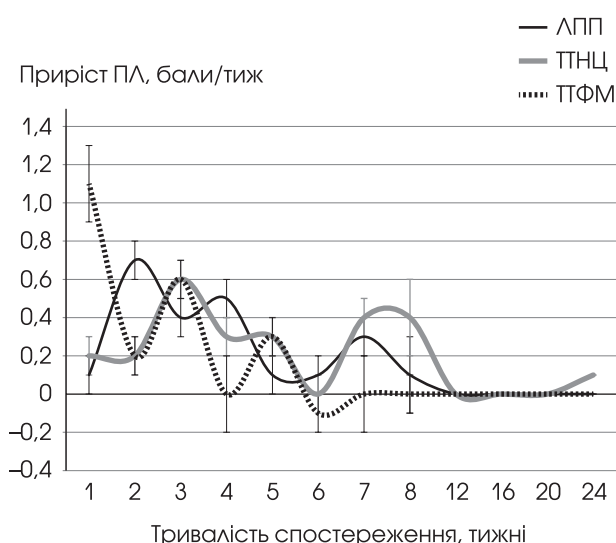


Рис. 2. Приріст показника спастичності паретичної кінцівки протягом загального періоду спостереження

лений для $V_{пс}$: значення на 2, 4 та 7-й тиждень становили $(0,53 \pm 0,1)$, $(0,13 \pm 0,1)$ та $(0,13 \pm 0,2)$ бала/тиж². Амплітуда коливань протягом періоду спостереження поступово зменшувалася, період — збільшувався.

У групі ТНЦ $V_{пс}$ набувала додатних значень на 1—5, 7—8 та 24-й тиждень $((0,2 \pm 0,1) - (0,6 \pm 0,1)$ бала/тиж), від'ємні значення показника не виявлено. Для $a_{пс}$ відзначено максимуми на 1, 3, 5, 7 та 24-й тиждень (відповідно $(2,4 \pm 0,1)$, $(0,4 \pm 0,2)$, $(0,01 \pm 0,1)$, $(0,4 \pm 0,2)$ і $(0,11 \pm 0,1)$ бала/тиж²), фазні зміни показника у період 2—4-й та 6—8-й тиждень були рівновеликими. Статистично значущу відмінність значень $V_{пс}$ від показників групи ЛПП виявлено на 2-й ($p = 0,002$) та 3-й тиждень ($p = 0,017$). Статистично значущі зміни ПС реєстрували на 2—5, 7—8 і 20—24-й тиждень [6].

У групі ТФМ максимуми $V_{пс}$ та $a_{пс}$ зафіксували на 1, 3, 5 і 7-й тиждень та протягом 4—6-го місяця, мінімуми — на 2, 4, 6 і 8-й тиждень та впродовж 5-го місяця. Статистично значущу відмінність значення $V_{пс}$ щодо показника групи ЛПП відзначено протягом 1-го місяця ($p < 0,035$), щодо групи ТНЦ — на 1-й і 3-й тиждень ($p < 0,004$). Статистично значущі зміни ПС зареєстрували лише на 3-й тиждень спостереження [2].

Найбільшу відмінність у динаміці ПС між досліджуваними групами спостерігали протягом 1-го (більшим було значення $V_{пс}$ у групі ТФМ) та 2-го (більшим було значення $V_{пс}$ у групі ЛПП) тижня. Протягом 2—4-го, меншою мірою — 5—6-го тиж-

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.

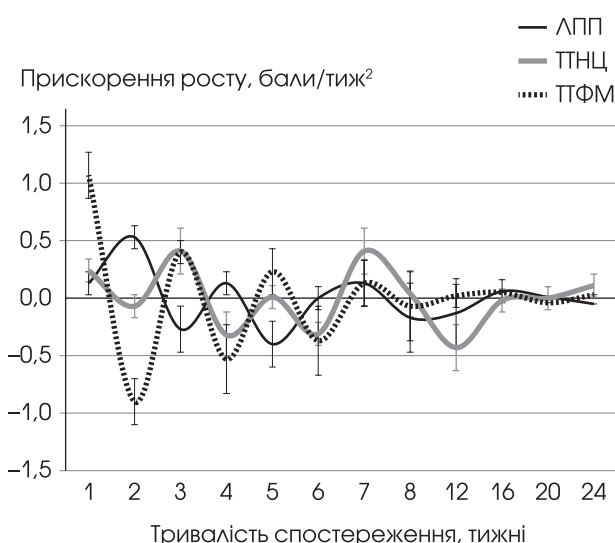


Рис. 3. Прискорення приросту показника спастичності паретичної кінцівки протягом загального періоду спостереження

ня спостереження приріст ПС у групах ТНЦ і ТФМ був практично рівновеликим (див. рис. 1 та 2). Фактичну, але статистично незначущу відмінність динаміки ПС у цих двох групах зафіксували протягом 7—8-го тижня (див. рис. 2), що зумовило існування у подальшому характерного горизонтального тренду ПС в обох групах до кінця експерименту (див. рис. 1).

Загалом отримані результати свідчать, що ключові особливості динаміки спастичності паретичної кінцівки у групах ТНЦ і ТФМ формувалися протягом 1-го тижня експерименту і, на нашу думку, можуть бути пояснені медіаторним глутаматергічним (ТФМ; проспастичний вплив) та ГАМК-ергічним (ТНЦ; антиспастичний вплив) ефектом клітин трансплантатів. З огляду на це, на ранньому етапі формування посттравматичної спастичності глутаматергічна система спинного мозку може зумовити, а ГАМК-ергічна — обмежити розвиток цього розладу.

Висновки

Трансплантація тканини, яка містить попередники глутаматергічних (тканина фетального мозочка) або ГАМК-ергічних (тканина зрілої нюхової цибулини) нейронів, у зону травми спинного мозку чинить протилежний вплив на формування посттравматичної спастичності (відповідно стимулювальний та пригнічувальний), що підтверджує припущення щодо ролі зазначених медіаторних систем у формуванні цього ускладнення хребетно-спинно-мозкової травми.

Література

- Медведев В. В., Сенчик Ю. Ю., Драгунцова Н. Г. та ін. Вплив трансплантації тканини фетального мозочка на відновлення локомоторної функції задньої кінцівки при травмі спинного мозку у щура // Клітинна та органна трансплантологія. — 2016. — № 4(2). — С. 168—174.
- Медведев В. В., Сенчик Ю. Ю., Татарчук М. М. та ін. Вплив трансплантації тканини фетального мозочка на перебіг синдрому спастичності та хронічного больового синдрому при експериментальній травмі спинного мозку у щурів // Клітинна та органна трансплантологія. — 2017. — Т. 5, № 1. — С. 44—49.
- Цимбалюк В. І., Медведев В. В., Грідіна Н. Я. та ін. Модель поперекового пересічення половини спинного мозку. Ч. II. Стан нервово-м'язового апарату, синдром посттравматичної спастичності та хронічний больовий синдром // Укр. неврол. журн. — 2016. — № 3. — С. 9—17.
- Цимбалюк В. І., Медведев В. В., Семенова В. М. та ін. Модель пересічення половини поперечника спинного мозку. Ч. I. Технічні, патоморфологічні та клініко-експериментальні особливості // Укр. неврол. журн. — 2016. — № 2. — С. 18—27.
- Цимбалюк В. І., Медведев 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., Медведев В. В., Сенчик Ю. Ю. та ін. Вплив трансплантації тканини нюхової цибулини на перебіг синдрому спастичності та хронічного больового синдрому при травмі спинного мозку в експерименті // Укр. неврол. журн. — 2016. — № 4. — С. 59—66.
- D'Amico J. M., Condliffe E. G., Martins K. J. et al. Recovery of neuronal and network excitability after spinal cord injury and implications for spasticity // Front Int Neurosci [Internet]. 2014 May 12 [cited 2017 Aug 30]. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnint.2014.00036/full>.
- Di Narzo A. F., Kozlenkov A., Ge Y. et al. Decrease of mRNA editing after spinal cord injury is caused by down-regulation of ADAR2 that is triggered by inflammatory response // Sci Rep [Internet]. 2015. Available from: <http://www.nature.com/articles/srep12615>.
- Ditunno J. F., Little J. W., Tessler A., Burns A. S. Spinal shock revisited: a four-phase model // Spinal Cord. — 2004. — Vol. 42(7). — P. 383—395. doi: 10.1038/sj.sc.3101603.
- Gengatharan A., Bammann R. R., Saghatelian A. The role of astrocytes in the generation, migration, and integration of new neurons in the adult olfactory bulb // Front Neurosci [Internet]. 2016 Apr 5 [cited 2016 Aug 21]. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2016.00149/full>.
- Holtz K. A., Lipson R., Noonan V. K. et al. The prevalence and effect of problematic spasticity following traumatic spinal cord injury // Arch. Phys. Med. Rehabil. — 2017. — Vol. 98(6). — P. 1132—1138.
- Imai T. Construction of functional neuronal circuitry in the olfactory bulb // Semin. Cell. Develop. Biol. — 2014. — Vol. 35. — P. 180—188. doi:
- Kosaka T., Kosaka K. Neuronal organization of the main olfactory bulb revisited // Anat. Sci. Int. — 2016. — Vol. 91(2). — P. 115—127.
- Li Y., Bennet D. J. Persistent sodium and calcium currents cause plateau potentials in motoneurons of chronic spinal rats // J Neu
- Ma M., Wu W., Li Q. et al. N-myc is a key switch regulating the proliferation cycle of postnatal cerebellar granule cell progenitors // Sci Rep. [Internet]. 2015 Aug 4 [cited 2016 Aug 21]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4523855/>. doi: 10.1038/srep12740.
- Malhotra S., Pandyan A. D., Day C. R. et al. Spasticity, an impairment that is poorly defined and poorly measured // Clin Rehabil. — 2009. — Vol. 23(7). — P. 651—658.
- Marzban H., Del Bigio M. R., Alizadeh J. et al. Cellular commitment in the developing cerebellum // Front Cell Neurosci. [Internet]. 2015 Jan 12 [cited 2016 Aug 21]. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fncel.2014.00450/full>.
- Milinin K., Young C. A., Trajectories of Outcome in Neurological Conditions (TONIC) study. Systematic review of the influence of spasticity on quality of life in adults with chronic neurological conditions // Disabil. Rehabil. — 2016. — Vol. 38(15). — P. 1431—1441.
- Murray K. C., Nakae A., Stephens M. J. et al. Recovery of motoneuron and locomotor function after spinal cord injury depends on constitutive activity in 5-HT2C receptors // Nat. Med. — 2010. — Vol. 16(6). — P. 694—700. doi: 10.1038/nm.2160.
- Nagayama S., Homma R., Imamura F. Neuronal organization of olfactory bulb circuits // Front Neural Circuits [Internet]. 2014 Sep 3 [cited 2016 Aug 21]. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fncir.2014.00098/full>.
- Ren L. Q., Wienecke J., Chen M. et al. The time course of serotonin 2C receptor expression after spinal transection of rats: an immunohistochemical study // Neuroscience. — 2013. — Vol. 236. — P. 31—46. doi: 10.1016/j.neuroscience.2012.12.063.
- Westerkam D., Saunders L. L., Krause J. S. Association of spasticity and life satisfaction after spinal cord injury // Spinal Cord. — 2011. — Vol. 49(9). — P. 990—994.

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 спастичности паретической конечности крысы на фоне травмы спинного мозга, аллотрансплантации ткани зрелой обонятельной луковицы и фетального мозжечка

Цель — сравнить динамику спастичности паретической конечности на фоне одностороннего пересечения спинного мозга зрелой крысы, трансплантации ткани обонятельной луковицы (ТЛОЛ) и фетального мозжечка (ТФМ).

Материалы и методы. В качестве первичных использовали данные, полученные в предыдущих исследованиях (В. И. Цымбалюк и соавт. 2016, 2017). Животные — белые беспородные крысы-самцы (возраст — 5,5 мес, масса тела — 300 г). Экспериментальные группы: «ЛПП» — левостороннее половинное пересечение (ЛПП) спинного мозга на уровне T11 (n = 16), «ТЛОЛ» — ЛПП + немедленная гомотопическая ТЛОЛ (n = 34), «ТФМ» — ЛПП + немедленная гомотопическая ТФМ (n = 15). Мониторинг показателя спастичности (ПС) паретической конечности проводили с использованием шкалы Ashworth. Рассчитывали еженедельный прирост ПС ($V_{\text{ПС}}$), ускорение прироста спастичности.

Результаты. В течение первого месяца наблюдения значения ПС в группе ТФМ были максимальными, статистически значимо большими были значения в группах ЛПП (в течение 1—3-й недели) и ТЛОЛ (в течение

1—6-й тижні). В групі ТПОЛ значення ПС були суттєво менше, ніж в групі ЛПП на 2-ю тижню. Найбільше відхилення динаміки ПС спостерігали в період першої (більшим було значення $V_{ПС}$ в групі ТФМ) і другої (більшим було значення $V_{ПС}$ в групі ЛПП) тижнів. Починаючи з 2-го тижня експерименту, статистично значимі відмінності в динаміці ПС між групами ТПОЛ і ТФМ при прямому порівнянні $V_{ПС}$ не виявлені.

Висновки. Трансплантація тканин, що містять предшественники глутаматергічних (ткань ФМ) або ГАМК-ергічних (ткань зримої ОЛ) нейронів, в зону травми спинного мозку викликає протилежний вплив на формування посттравматичної спастичності, що підтверджує припущення про ролі згаданих медіаторних систем в формуванні цього ускладнення позвоночно-спинномозгової травми.

Ключові слова: травма спинного мозку, посттравматична спастичність, трансплантація тканин обонятельної луковиці, трансплантація тканин фетального мозочка, приріст і прискорення приросту спастичності, динамічний аналіз.

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 spasticity against the background of spinal cord injury, adult olfactory bulb and fetal cerebellum tissue allotransplantation

Objective — to compare dynamics of the paretic limb spasticity level after spinal cord hemisection, adult olfactory bulb tissue transplantation (OBTT) and fetal cerebellum tissue transplantation (FCTT).

Methods and subjects. The empirical material obtained in a number of previous studies was used as the primary data (V.I. Tsymbaliuk et al., 2016, 2017). Animals — white male rats (5.5 months, 300 g; 1 month, 50 g). Experimental groups: LSH — spinal cord left-side hemisection (LSH) at the T11 level (n = 16); OBTT — LSH + immediate homotopic OBTT (n = 34); FCTT — LSH + immediate homotopic FCTT (n = 15). Monitoring of the spasticity index (SI) was performed by Ashworth scale. SI weekly gain (V_{SI}), gain acceleration calculation, as well as statistical analysis were performed within the software package Statistica 10.0.

Results. During the first month of observation, the values of SI in the FCTT group were maximal, reliably prevailed SI value of the LSH (during the 1—3rd week) and OBTT (during the 1—6th week) group. The SI values of the FCTT group were significantly lower than the value of the LSH group at the 2nd week of observation. The most significant difference in the dynamics of the SI was observed during the first (the value of V_{SI} of the FCTT group prevailed) and second (the value of V_{SI} of the LSH group prevailed) week. Since the 2nd week of the experiment, the significant differences in the dynamics of the SI in direct comparison of the FCTT and OBTT group V_{SI} were not detected.

Conclusions. The transplantation of the tissue containing precursors of glutamatergic (fetal cerebellar tissue) or GABA-ergic (adult olfactory bulb tissue) neurons into the spinal cord trauma area has the opposite effect, which confirms the assumption regarding the role of these mediator systems in the spasticity formation.

Key words: spinal cord injury, posttraumatic spasticity, adult olfactory bulb tissue transplantation, fetal cerebellum tissue transplantation, gain of motor function and gain acceleration, dynamic analysis.