



В. І. ЦИМБАЛЮК¹, В. В. МЕДВЕДЕВ², Ю. Ю. СЕНЧИК³,
Н. Я. ГРИДІНА¹, Н. Г. ДРАГУНЦОВА¹, С. М. ДИЧКО¹

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

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

³ Київська міська клінічна лікарня швидкої медичної допомоги

Вплив трансплантації тканини нюхової цибулини на перебіг регенераційного процесу при травмі спинного мозку в експерименті

Мета — дослідити вплив аlogenної трансплантації тканини нюхової цибулини (ТНЦ) на відновлення рухової функції задньої іпсилатеральної кінцівки (ЗІК) на моделі лівобічного половинного перетину спинного мозку зрілого щура.

Матеріали і методи. Тварини — білі щурі-самці (вік — 5,5 міс, маса тіла — 300 г, інбредна лінія, похідна породи Wistar). Основні експериментальні групи: 1-ша (n = 34) — травма спинного мозку та негайна гомотопічна трансплантація фрагмента нюхової цибулини зрілого щура, 2-га (n = 40) — травма спинного мозку. Модель травми — лівобічний половинний перетин спинного мозку на рівні Т11. Моніторинг показника функції (ПФ) ЗІК проводили з використанням шкали Basso — Beattie — Bresnahan.

Результати. ТНЦ не змінює внутрішньогрупового розподілу значень ПФ ЗІК, але впливає на динаміку його зміни: у ранній період травми забезпечує статистично значуще переважання ПФ ЗІК з максимумом на 3-й тиждень ((3,7 ± 0,5) бала за шкалою Basso — Beattie — Bresnahan) з подальшим поступовим статистично значущим зменшенням до (2,4 ± 0,6) бала (24-й тиждень). Перехрест значень з контрольною групою відзначено на 8-му тижні експерименту. Для контрольної групи характерна двофазна динаміка збільшення ПФ ЗІК протягом усього експерименту. Швидкий позитивний ефект ТНЦ, імовірно, пов'язаний з нейропротекторним VEGF-залежним її впливом, негативна динаміка протягом 2—6-го місяця експерименту — з верифікованою деградацією трансплантата і новоутворених мікросудин перифокальної зони.

Висновки. ТНЦ спричиняє тимчасовий (лише в ранній період травматичного процесу) позитивний вплив на відновлення функції еферентної частини рухової системи. Оцінка ефективності цього виду нейротрансплантації потребує врахування динаміки синдрому спастичності та хронічного больового синдрому.

Ключові слова: травма спинного мозку, трансплантація тканини нюхової цибулини, відновлення рухової функції, синдром посттравматичної спастичності.

Зменшення наслідків перенесеної хребетно-спинномозкової травми залишається однією з найскладніших проблем сучасної біомедичної науки. Незважаючи на низьку частоту, спінальна травма має кумулятивні епідеміологічні властивості: у людській популяції — значна кількість постраждалих такої категорії (близько 2,5 млн), часто глибоко інвалідизованих [19]. Поліпшення якості життя та-

ких хворих, їх ресоціалізація — одне з пріоритетних завдань медицини.

Найчастіше вогнище ураження спинного мозку розташовується поза зонами поперекового та шийного потовщення, тому відтворення апарату низхідних впливів на популяції мотонейронів — ключовий момент відновного лікування спінальної травми. У разі травми, яка супроводжується тканинним дефектом, першочерговим завданням є відновлення просторового зв'язку між фрагментами тканини спинного мозку. Перспективним біогенним засобом,

© В. І. Цимбалюк, В. В. Медведєв, Ю. Ю. Сенчик, Н. Я. Гридіна, Н. Г. Драгунцова, С. М. Дичко, 2016

який дає змогу досягти цього, є тканинна нейроінженерія, котра ґрунтується на створенні локальних умов для росту та мієлінізації травмованих аксональних волокон. З цією метою використовують імплантацію у зону травми клітин різного походження та ступеня диференціювання у комплексі з матриксами (англ. «scaffolds» — будівельні риштування) — штучно створеними квазитканинними каркасами різної первинної хімічної структури [6, 29, 30, 32]. Апробовано матеріали на пептидній (аргінин-гліцин-аспартат, тирозин-ізолейцин-гліцин-серин-аргінин), протеїновій (фібрин, ламінін, колаген, фібронектин), синтетичній (полікапролактон, полі [лактид-ко-гліколід], полі [N-(2-гідроксипропіл)-метакриламід — NeuroGel™] та змішаній основі [6, 14, 27, 29, 30, 32, 35]. Попри бурхливий розвиток нейроінженерних технологій, актуальним є порівняння результатів такого роду втручань із ефективністю трансплантації природних матриксів, виконаних незрілими клітинами нейроектодермального походження. Джерелом таких матриксів є насамперед тканина мозку в пренатальний період розвитку і тканина нюхової цибулини (НЦ).

Протягом тривалого часу НЦ вважали перспективним джерелом нейрогенних прогеніторів [1, 2] та нейрональних прекурсорів, котрі в інтактному зрілому мозку надходять до її тканини сформованими астроцитами ростральним міграторним потоком [13] із субвентрикулярної зони бічних шлуночків мозку. Незрілі клітини НЦ відтворюють перигломерулярні (ГАМК-, меншою мірою — серотонін- та глутаматергічні) [24], гранулярні ГАМК/гліцинергічні [16, 17, 20, 24] та короткоаксонні ГАМК/дофамінергічні [7, 18] інтернейрони, що є основою пластичності нюхового аналізатора, його впливу на поведінкову активність [20, 28], конституціювання статевого модусу обробки зовнішньої інформації, наприклад, одорант-залежної репеленції особин тієї самої статі [25]. Найбільша частка (94 %) новоутворених клітин НЦ у зрілих ссавців припадає на гранулярні нейрони, частка перигломерулярних нейронів становить 4 %, астроцитів — 2 % [20]. Дозрівання нейронів у товщі НЦ є унікальним складним процесом, який, як і в інших нейрогенераторних ділянках мозку, залежить від тканинних (гліального, судинного, нейронального) та медіаторних впливів [13].

На відміну від кісткового мозку, пуповинної крові, підшкірної жирової клітковини, нюхової зони назального епітелію НЦ є важкодоступним і через це клінічно найменш прийнятним джерелом незрілих клітин нейроектодермального ряду. Розробка оптимальних протоколів забору НЦ людини триває [11].

Перевагою НЦ як джерела клітинного матеріалу для нейроінженерних втручань є наявність у ній природно комітованих попередників ГАМК-, серотонін-, глутаматергічних, можливо, дофамінергічних нейронів. Наявність значної кількості попередників ГАМК-ергічних нейронів у тканині НЦ стимулює дослідження її ефективності у лікуванні хроніч-

ного больового синдрому та синдрому спастичності, найпоширенішим фармакологічним засобом корекції яких є баклофен — агоніст рецепторів ГАМК_B [22, 34]. Нині потенціал НЦ залишається невивченим. При цьому активно досліджують ефективність трансплантації нейрогенних прогеніторів [21] та огортаючих гліоцитів [10, 23, 31] НЦ у відновленні функції травмованого спинного мозку.

Мета роботи — дослідити вплив алогенної трансплантації тканини нюхової цибулини на відновлення рухової функції задньої іпсилатеральної кінцівки на моделі лівобічного половинного перетину спинного мозку зрілого щура.

Матеріали і методи

Експериментальні тварини та експериментальні групи

Дослідження виконано з дотриманням чинних норм біоетики, регламентів роботи з експериментальними тваринами, оптимальних протоколів знеболювання та післяхірургічного догляду на білих безпородних щурах-самцях (інбредна 20-річна лінія на базі породи Wistar; ДУ «Інститут нейрохірургії ім. А. П. Ромоданова НАМН України»), віком 5,5 міс з масою тіла приблизно 300 г, утримуваних у стандартних умовах за звичайного харчування. Сформовано такі експериментальні групи:

1) група «нюхова цибулина», тваринам якої відразу після нанесення травми спинного мозку виконували трансплантацію тканини нюхової цибулини (ТНЦ; n = 34; максимальний термін спостереження — 24 тиж).

2) група «контроль-1», на тваринах якої у той самий експериментальний сезон моделювали аналогічну травму спинного мозку (n = 16; максимальний термін спостереження — 24 тиж);

3) група «контроль-2» — інтегральна група порівняння, сформована протягом 2006—2015 рр. (входять всі тварини групи «контроль-1»), модель спінальної травми. Біологічні характеристики та умови утримання тварин — аналогічні (n = 40; максимальний термін спостереження — 16 тиж). Групу введено з міркувань наукової етики для увізнення обмеженості апробованого варіанта ТНЦ у відновному лікуванні спінальної травми (див. далі).

Матеріал, який використовували для трансплантації

Тканину НЦ отримували у щурів-самців (місце розведення, умови утримання та біометричні показники — аналогічні) відразу після забиття шляхом передозування суміші зазначених нижче наркотичних засобів. У стерильних умовах НЦ максимально очищали від судинної оболонки, подрібнювали на фрагменти розміром 2 мм³. Один із фрагментів використовували для підрахунку кількості живих клітин, решту утримували в ізотонічному розчині натрію хлориду за температури 37 °С до моменту трансплантації.

Моделювання травми спинного мозку

Оперативні втручання здійснювали за загально-го знеболювання тварини (внутрішньоочеревинне введення суміші розчинів ксилазину (Sedazin, Biowet, Польща; 15 мг/кг) і кетаміну (Calypsol, «Гедеон Ріхтер А. О.», Угорщина; 70 мг/кг маси тіла). Технічні та оперативно-хірургічні особливості використаної моделі спінальної травми (лівобічний перетин поперечника спинного мозку — ЛПП) описано нами у попередній роботі [3]. Дотримуючись правил асептики поголену та дезінфіковану 5% спиртовим розчином йоду шкіру розтинали по лінії, яка з'єднує остисті відростки T₈—L₂ хребців, скелетували остисті відростки T₉—L₁, перфорували міждужковий простір і виконували обмежену, латералізовану ліворуч ламінектомію на рівні T₁₁, зберігаючи при цьому суглобові відростки, максимально відкриваючи ліве півколо задньобічної поверхні спинного мозку. За допомогою списоподібного офтальмологічного скальпеля тканину спинного мозку наскрізно проколювали у дорзовентральному напрямку одразу біля лівого краю задньої середньої артерії, у рану спинного мозку заводили одну з бранш офтальмологічних ножиць, браншами охоплювали ліву половину спинного мозку і перетинали у кілька прийомів. Здійснювали контроль повноти перетину пучків лівої частки спинного мозку. У тварин груп «контроль-1» та «контроль-2» вікно доступу в хребтовий канал вкривали фрагментом підшкірної фасції, м'які тканини та шкіру в зоні доступу наглухо зашивали крученими поліамідними хірургічними нитками у два ряди вузлових швів. У тварин групи «нюхова цибулина» у рану спинного мозку вкладали фрагмент тканини НЦ розміром приблизно 2 мм³, операцію закінчували описаним вище чином. У всіх випадках ділянку шкірного шва обробляли 5% спиртовим розчином йоду, у задню шийну ділянку підшкірно вводили розчин Біциліну-5 (ПАТ «Київмедпрепа-

рат»; 150—200 тис. одиниць на 1 тварину), внутрішньоочеревинно — розчин дексаметазону (KRKA, Словенія; 6 мг/кг маси тіла). Тварин протягом 2—4 год утримували в приміщенні з підвищеною температурою повітря (30 °C), надалі — у клітках по 3—6 особин при середній температурі 21—24 °C.

Реєстрація функціональної активності задніх кінцівок

Оцінку функціональної активності задньої іпсилатеральної (щодо зони травми) кінцівки (ЗІК) проводили за шкалою Basso—Beattie—Bresnahan (BBB) [8], опис та особливості використаної якої наведено у попередній публікації [3]. Облік значень показника функції (ПФ) ЗІК здійснювали, починаючи із 7-ї доби після проведення оперативного втручання, з огляду на етичний регламент роботи з експериментальними тваринами.

Статистичну значущість міжгрупової різниці ПФ ЗІК визначали за допомогою непараметричного U-тесту Манна—Уїтні, зміни ПФ ЗІК у динаміці спостереження — за Уїлкоксоном, зв'язок і напрям змін — з використанням рангового коефіцієнта Спірмена. Застосовували програмний пакет Statistica 10.0. Результати оцінки статистичної значущості представляли у вигляді значень показника р.

Результати та обговорення

Аналіз розподілу значень ПФ ЗІК в експериментальних групах (рис. 1) дає підставу стверджувати, що тварини групи «контроль-1» у цілому продемонстрували гірший варіант відновлення функції: в інтервалі значень ПФ 1—6 балів за шкалою BBB розподіл, аналогічний такому групи «контроль-2», характеризувався наявністю двох підгруп (0—2 та 4—7 балів за шкалою BBB). Найрезультативніший інтервал значень ПФ ЗІК (8—10 балів BBB) у групі «контроль-1» відсутній. Отже, група «контроль-1» є

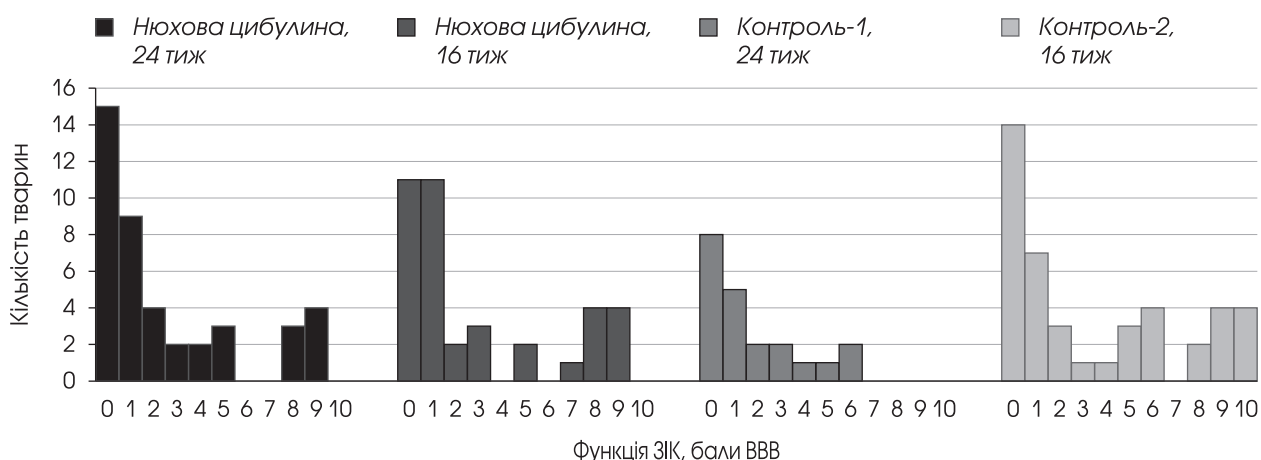


Рис. 1. Розподіл значень показника функції задньої іпсилатеральної кінцівки (у випадку реєстрації дробового значення ПФ ЗІК, кількість тварин, що припадає на два найближчі цілі значення, збільшували на одиницю). Порівняння значень в однакові терміни спостереження свідчить про їх якісну відмінність, спричинену, ймовірно, суттєвими відмінностями щодо перебігу відновного процесу при трансплантації тканини нюхової цибулини (пояснення в тексті)

відносно репрезентативною щодо використаної моделі травми спинного мозку.

Розподіл значень ПФ ЗІК у групі «нюхова цибулина» на 16-й та 24-й тиждні спостереження нагадував розподіл у групі «контроль-2»: в обох групах на відміну від групи «контроль-1» наявна підгрупа з кращими результатами відновлення, неврахування тварин якої знижує результативність відновного процесу у групі «нюхова цибулина», але не впливає на його динаміку.

Динаміка ПФ ЗІК у групі «контроль-1» характеризувалася двофазністю (рис. 2). На початку відновного процесу середнє значення ПФ ЗІК дорівнювало $(1,00 \pm 0,35)$ бала за шкалою BBB, наприкінці 4-го тижня — $(1,66 \pm 0,54)$ бала. У подальшому спостерігали рівновеликий статистично незначущий регрес ПФ ЗІК з мінімумом наприкінці 8-го тижня $((1,19 \pm 0,48)$ бала) і статистично значуще відновлення до $(1,63 \pm 0,46)$ бала (16-й тиждень; $p = 0,018$ при порівнянні зі значенням на 8-му тижні). До кінця експерименту суттєвих змін ПФ ЗІК не виявлено (24-й тиждень — $(1,59 \pm 0,49)$ бала).

У групі «контроль-2» (див. рис. 2) динаміка ПФ ЗІК відрізнялася від такої групи «контроль-1»: відзначено дві фази регенераційного процесу — 1—8-й і 8—16-й тиждні спостереження. На відміну від групи «контроль-1» перша фаза завершувалася стабілізацією значення ПФ ЗІК (5—7-й тиждень — $(2,86 \pm 0,53)$ бала). Станом на кінець періоду спостереження (16-й тиждень) величина цього показника дорівнювала в середньому $(3,41 \pm 0,59)$ бала. Статистично значущої різниці між значеннями ПФ ЗІК у групах «контроль-1» та «контроль-2» протягом усього експерименту не виявили.

Динаміка ПФ ЗІК у групі «нюхова цибулина» суттєво відрізнялася. Протягом першого тижня реєстрували високе значення ПФ ЗІК $((3,2 \pm 0,6)$ бала, у групах «контроль-1» та «контроль-2» — $(1,0 \pm 0,4)$ та $(1,5 \pm 0,3)$ бала, $p = 0,007$ та $p = 0,006$ відповідно).

Статистично значущою різниця між значеннями ПФ ЗІК на користь групи «нюхова цибулина» зберігалася протягом 5 («контроль-1») та 3 («контроль-2») тижнів. Протягом 2-го тижня спостерігали статистично значуще збільшення величини ПФ ЗІК до максимуму $((3,7 \pm 0,5)$ бала). З 4-го тижня відзначали повільне (протягом 6—7-го тижня — статистично значуще) зменшення значення ПФ ЗІК, стабілізацію на 7—12-му тижні $((3,1 \pm 0,6)$ бала), подальше статистично значуще зменшення до кінця експерименту (24-й тиждень, $(2,4 \pm 0,6)$ бала), причому, починаючи з 20-го тижня значення ПФ ЗІК статистично значущо було меншим, ніж показник на 1-му тижні. Перехрест значень ПФ ЗІК груп «нюхова цибулина» та «контроль-2» спостерігали на 8-му тижні спостереження.

Потребують пояснення три ключові моменти виявленої нами динаміки ПФ ЗІК у групі «нюхова цибулина»: статистично значущо високі значення на першому тижні спостереження, збільшення протягом наступних 2 тиж до максимуму, зниження до кінця експерименту. З огляду на відсутність досліджень ефективності такого виду нейротрансплантаційних втручань, пропонуємо таке спекулятивне трактування отриманих результатів.

У низці попередніх досліджень [5] встановлено, що в разі імплантації у зону травми спинного мозку прорегенеративного матриксу (NeuroGel) уже через 1 тиж виявляли рівновеликий такому ТНЦ позитивний функціональний ефект, пов'язаний, імовірно, з його антигеморагічними, імуні- та фібросупресивними властивостями. Зменшення об'єму та тривалості кровотечі, скорочення періоду прямого контакту тканини спинного мозку з ліквором обмежують імбібіцію прилеглих ділянок спинного мозку кров'ю, зменшують інтенсивність імунної відповіді, таксис імунікомпетентних клітин у тканину спинного мозку. Про ступінь подібності тканинних реакцій у зазначених експериментальних ситуаціях стверджувати складно, однак відомо, що НЦ є джерелом одного з нейропротекторних цитокінів — VEGF [12, 15], саме з цієї особливостю ми пов'язували швидкий позитивний функціональний вплив НЦ на моделі травми мозочка протягом перших 12 діб [4]. Очевидно, що ця особливість тканини НЦ має значення і у разі травми спинного мозку: опосередкована цитокінами нейропротекція, швидка активація капілярогенезу і відновлення перфузії у перифокальній зоні травматичного процесу — важливі чинники перебігу травматичного процесу протягом першого тижня після ТНЦ.

Імовірно, незрілі нейрони та прогенітори НЦ позитивно впливають на перебіг травматичного процесу лише протягом раннього періоду: за умов ТНЦ в очищене вогнище забиття мозочка персистенцію нейронального компонента трансплантата виявляють протягом перших 4 тиж, у подальшому відзначають різке зменшення його об'єму, що супроводжується активною сполучнотканинною ре-



Рис. 2. Динаміка показника функції задньої іпсилатеральної кінцівки протягом періоду спостереження

акцією [4]. При цьому спостерігають суттєве сповільнення відновлення функції мозочка, нівелювання набутої протягом перших 12 діб переваги над контрольною групою. Видається вірогідним припущення щодо VEGF-залежного відтермінованого негативного ефекту ТНЦ: форсований VEGF-залежний капілярогенез може бути причиною реперфузійного ураження у ранній період фокальної ішемії мозку [9, 33], його штучне обмеження має позитивний ефект [33], новоутворені під дією аутогенних чинників (одним з яких є VEGF) капіляри, ймовірно, не володіють типовими для мозкової тканини бар'єрними функціями, що спричиняє відтерміноване аутоімунне ураження охопленої ними ділянки мозку, їх деконструкція супроводжується явищами вторинного поліфокального ішемічного ураження у віддалений період [36].

Тимчасова гліогенна (насамперед олігодендрогліальна) здатність прогеніторів НЦ, продукція незрілими клітинами та прогеніторами нейропротекторних цитокінів може бути позитивним чинником регенераційного процесу, компенсувати вплив патологічних чинників у перифокальній зоні, сприяти ремієлінізації уцілілих волокон обох часток спинного мозку, проростанню регенерувальних низхідних аксонів, створенню альтернативних, полісинаптичних шляхів передачі збудження за участю пропріоспинального нейронального апарату. Значущість цих ефектів обмежується тривалістю існування нейрогенного компонента трансплантата.

Ще одним компонентом позитивного впливу НЦ, який пояснює його тимчасовий характер, є медіатор-продукувальна активність клітин трансплантата. Нейрогенний апарат НЦ налаштований на продукцію переважно гальмівних нейронів. Якщо незрілі клітини мають здатність мігрувати у товщі реципієнтної тканини [26], є сенс пов'язувати позитивний ефект НЦ також з антиспастичними та антиалгічними впливами. У такому випадку поступова утилізація новоутворених ГАМК-ергічних нейронів призводить до збільшення спастичності та обмеження рухливості кінцівки. Паралельне прогресування больового синдрому зумовлює анталгічну мінімізувальну деформацію пристосувально-

го рухового стереотипу, сформованого на попередньому етапі регенераційного процесу за участю рухових одиниць із уцілілою або новоствореною супраспинальною іннервацією. На нашу думку, наявність чіткого негативного впливу прогресування синдрому спастичності на рівень рухової активності за згаданих експериментальних умов свідчить про те, що ранній позитивний вплив ТНЦ не трансформується в інтенсифікацію регенераційних механізмів спинного мозку, зокрема росту нервових волокон крізь тканину ураженого сегмента. Можливо, це пов'язано з низьким гліогенним потенціалом прогеніторів НЦ у нативних умовах [20], а також зі швидким руйнуванням трансплантата. Ці аспекти патофізіології досліджуваної експериментальної ситуації детальніше розглянуті нами у контексті вивчення динаміки синдрому спастичності та хронічного больового синдрому в наступній публікації.

Висновки

Трансплантація тканини нюхової цибулини спричиняє тимчасовий, обмежений раннім періодом травматичного процесу, позитивний вплив на відновлення функції еферентної частини рухової системи.

Трансплантація тканини нюхової цибулини не змінює розподілу значень показника функції задньої іпсилатеральної кінцівки, деформує динаміку відновлення рухової функції: у ранній період травми забезпечує статистично значущу перевагу показника функції задньої іпсилатеральної кінцівки з максимумом на 3-му тижні ((3,7 ± 0,5) бала за шкалою Basso — Beattie — Bresnahan) з подальшим поступовим зменшенням до (2,4 ± 0,6) бала (24-й тиждень).

Швидкий позитивний ефект трансплантації тканини нюхової цибулини у ранній період травми, ймовірно, пов'язаний з нейропротекторним VEGF-залежним її впливом, негативна динаміка протягом 2—6-го місяця експерименту — з верифікованою деградацією трансплантата і новоутворених мікросудин перифокальної зони, а також з виснаженням антиспастичного та антиалгічного ефектів трансплантації тканини нюхової цибулини.

Конфлікту інтересів немає.

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

Література

1. Медведєв В. В. Вплив трансплантації клітин нюхової цибулини на процеси регенерації спинного мозку після його травматичного пошкодження в експерименті // Укр. неврол. журн. — 2007. — № 4. — С. 93—101.
2. Цимбалюк В. І., Медведєв В. В. Вплив трансплантації клітин нюхової цибулини на відновні процеси у спинному мозку після

- його експериментального травматичного пошкодження та імплантації синтетичного макропористого гідрогелю // Укр. неврол. журн. — 2008. — № 2. — С. 73—83.
3. Цимбалюк В. І., Медведєв В. В., Семенова В. М. та ін. Модель перетину половини поперечника спинного мозку. І. Технічні, патоморфологічні та клініко-експериментальні особливості // Укр. нейрохірург. журн. — 2016. — № 2. — С. 18—27.

4. Цимбалюк В. І., Медведєв В. В., Сенчик Ю. Ю. Ce.re.bellum, або мозочок: Монографія. — Вінниця: Нова Книга, 2013. — 272 с.
5. Цимбалюк В. І., Медведєв В. В. Спинний мозг. Елегія надєжди: Монографія. — Вінниця: Нова Книга, 2010. — 944 с.
6. Assunção-Silva R. C., Gomes E. D., Sousa N. et al. Hydrogels and cell based therapies in spinal cord injury regeneration // *Stem. Cells International*. — 2015. — Vol. 2015, Art. ID 948040. — P. 1—24.
7. Bonzano S., Bovetti S., Gendusa C. et al. Adult born olfactory bulb dopaminergic interneurons: molecular determinants and experience-dependent plasticity // *Front. Neurosci.* — 2016. — Vol. 10, Art. 189. — P. 1—8.
8. Burke D. A., Magnuson D. S. K. Basso, Beattie, and Bresnahan scale locomotor assessment following spinal cord injury and its utility as a criterion for other assessments // *Springer Protocols Handbooks* / Ed. by J. Chen, X.-M. Xu, Z. C. Xu, J. H. Zhang. — Humana Press, 2012. — Vol. 2. — P. 591—604.
9. Chi O. Z., Hunter C., Liu X., Weiss H. R. Effects of anti-VEGF antibody on blood-brain barrier disruption in focal cerebral ischemia // *Exp. Neurol.* — 2007. — Vol. 204. — P. 283—287.
10. Chou R.-H., Lu C.-Y., Lee W. et al. The potential therapeutic applications of olfactory ensheathing cells in regenerative medicine // *Cell. Transplantation*. — 2014. — Vol. 23. — P. 567—571.
11. Czyz M., Tabakow P., Hernandez-Sanchez I. et al. Obtaining the olfactory bulb as a source of olfactory ensheathing cells with the use of minimally invasive neuroendoscopy-assisted supraorbital keyhole approach — cadaveric feasibility study // *Br. J. Neurosurg.* — 2015. — Vol. 29, N 3. — P. 362—370.
12. De Almodovar C. R., Lambrechts D., Mazzone M., Carmeliet P. Role and therapeutic potential of VEGF in the nervous system // *Physiol. Rev.* — 2009. — Vol. 89. — P. 607—648.
13. 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.* — 2016. — Vol. 10, Article 149. — P. 1—8.
14. Gu X., Ding F., Williams D. F. Neural tissue engineering options for peripheral nerve regeneration // *Biomaterials*. — 2014. — Vol. 35, N 24. — P. 6143—6156.
15. Hou Y., Shin Y.-J., Jiwon Han E. et al. Distribution of vascular endothelial growth factor receptor-3/Flt4 mRNA in adult rat central nervous system // *J. Chemical. Neuroanatomy*. — 2011. — Vol. 42. — P. 56—64.
16. Imai T. Construction of functional neuronal circuitry in the olfactory bulb // *Semin. Cell Develop. Biol.* — 2014. — Vol. 35. — P. 180—188.
17. Kosaka T., Kosaka K. Neuronal organization of the main olfactory bulb revisited // *Anat. Sci. Int.* — 2016. — Vol. 91. — P. 115—127.
18. Lazarini F., Gabellec M.-M., Moigneu C. et al. Adult neurogenesis restores dopaminergic neuronal loss in the olfactory bulb // *J. Neurosci.* — 2014. — Vol. 34, N. 43. — P. 14430—14442.
19. Lee B. B., Cripps R. A., Fitzharris M., Wing P. C. The global map for traumatic spinal cord injury epidemiology: update 2011, global incidence rate // *Spinal Cord*. — 2014. — Vol. 52, N 2. — P. 110—116.
20. Lledo P.-M., Valley M. Adult olfactory bulb neurogenesis // *Cold Spring Harb Perspect Biol.* — 2016. — published online: May 27, doi: 10.1101/cshperspect.a018945.
21. Marei H. E., Althani A., Rezk S. et al. Therapeutic potential of human olfactory bulb neural stem cells for spinal cord injury in rats // *Spinal Cord*. — 2016. — Feb 16 [Epub ahead of print]. — P. 1—13, doi: 10.1038/sc.2016.14.
22. Mathur S. N., Chu S. K., McCormick Z. et al. Long-term intrathecal baclofen: outcomes after more than 10 years of treatment // *PMR*. — 2014. — Vol. 6, N 6. — P. 506—513.
23. Mayeur A., Duclos C., Honore A. et al. Potential of olfactory ensheathing cells from different sources for spinal cord repair // *PLoS ONE*. — 2013. — Vol. 8, N 4 (e62860). — P. 1—12.
24. Nagayama S., Homma R., Imamura F. Neuronal organization of olfactory bulb circuits // *Front. Neural Circuits*. — 2014. — Vol. 8, Article 98. — P. 1—19.
25. Oett L.-L., Ravi N., Schneider M. et al. Oxytocin enhances social recognition by modulating cortical control of early olfactory processing // *Neuron*. — 2016. — Vol. 90. — P. 1—13.
26. Piiltti K., Salazar D., Uchida N. et al. Safety of human neural stem cell transplantation in chronic spinal cord injury // *Stem Cell. Transl. Med.* — 2013. — Vol. 2. — P. 961—974.
27. Rodríguez-Vázquez M., Vega-Ruiz B., Ramos-Zúñiga R. et al. Chitosan and its potential use as a scaffold for tissue engineering in regenerative medicine // *BioMed Research International*. — 2015. — Vol. 2015, Art. ID 821279. — P. 1—15.
28. Sakamoto M., Kageyama R., Imayoshi I. The functional significance of newly born neurons integrated into olfactory bulb circuits // *Front. Neurosci.* — 2014. — Vol. 8, Art. 121. — P. 1—9.
29. 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 Research International*. — 2015. — Vol. 2015, Art. ID 752572. — P. 1—20.
30. Tian L., Prabhakaran M. P., Ramakrishna S. Strategies for regeneration of components of nervous system: scaffolds, cells and biomolecules // *Regen. Biomater.* — 2015. — Vol. 2, N 1. — P. 31—45.
31. Torres-Espin A., Redondo-Castro E., Hernandez J., Navarro X. Bone marrow mesenchymal stromal cells and olfactory ensheathing cells transplantation after spinal cord injury — a morphological and functional comparison in rats // *Eur. J. Neurosci.* — 2014. — Vol. 39. — P. 1704—1717.
32. Tsintou M., Dalamagkas K., Seifalian A. M. Advances in regenerative therapies for spinal cord injury: a biomaterials approach // *Neural Regen. Res.* — 2015. — Vol. 10, N 5. — P. 726—742.
33. Van Bruggen N., Thibodeaux H., Palmer J. T. et al. VEGF antagonism reduces edema formation and tissue damage after ischemia/reperfusion injury in the mouse brain // *J. Clin. Invest.* — 1999. — Vol. 104. — P. 1613—1620.
34. Ver Donck A., Vranken J. H., Puylaert M. et al. Intrathecal drug administration in chronic pain syndromes // *Pain Pract.* — 2014. — Vol. 14, N 5. — P. 461—476.
35. Volpato F. Z., Führmann T., Migliaresi C. et al. Using extracellular matrix for regenerative medicine in the spinal cord // *Biomaterials*. — 2013. — Vol. 34, N 21. — P. 4945—4955.
36. Yu S. W., Friedman B., Cheng Q, Lyden P. D. Stroke-evoked angiogenesis results in a transient population of microvessels // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* — 2007. — Vol. 27. — P. 755—763.

В. І. ЦЫМБАЛЮК¹, В. В. МЕДВЕДЕВ², Ю. Ю. СЕНЧИК³,
Н. Я. ГРИДИНА¹, Н. Г. ДРАГУНЦОВА¹, С. Н. ДИЧКО¹

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

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

³Київська городська клінічна лікарня швидкої медичної допомоги

Влияние трансплантации ткани обонятельной луковицы на течение регенерационного процесса при травме спинного мозга в эксперименте

Цель — изучить влияние аллогенной трансплантации ткани обонятельной луковицы (ТОЛ) на восстановление двигательной функции задней ипсилатеральной конечности (ЗИК) на модели левостороннего поперечного пересечения спинного мозга зрелой крысы.

Матеріали і методи. Животні — білі крыси-самці (вік — 5,5 міс, вага тіла — 300 г, інbredна лінія, виробничий порода Wistar). Основні експериментальні групи: 1-я (n = 34) — травма спинного мозку з негайною гомотопічною трансплантацією фрагмента обонятельної луковички зрелої крыси, 2-я (n = 40) — травма спинного мозку. Модель травми — лівостороннє половинне перерізання спинного мозку на рівні T₁₁. Моніторинг показателя функції (ПФ) ЗИК проводили з використанням шкали Basso — Beattie — Bresnahan.

Результати. ТОЛ не впливає на внутрігрупове розподілення значень ПФ ЗИК, але деформує динаміку його змін: в ранній період травми забезпечує статистично значиме переважання ПФ ЗИК з максимумом на 3-й тижні (3,7 ± 0,5 бала за шкалою Basso — Beattie — Bresnahan) з подальшим поступовим достовірним зменшенням до (2,4 ± 0,6) бала (24-й тиждень). Перехрест значень з контрольною групою помічали на 8-й тижні експерименту. Для цієї групи характерна двохфазна динаміка збільшення ПФ ЗИК впродовж всього експерименту. Швидкий позитивний ефект ТОЛ, ймовірно, пов'язаний з нейропротекторним VEGF-залежним впливом, негативна динаміка впродовж 2—6-го місяця експерименту — з верифікованою деградацією трансплантату та новоутворених мікрососудів перифокальної зони.

Висновки. ТОЛ обумовлює тимчасове (обмежене раннім періодом травматичного процесу) позитивне вплив на відновлення функції еферентної частини рухової системи. Оцінка ефективності цього виду нейротрансплантації потребує урахування динаміки синдрому спастичності та хронічного болювого синдрому.

Ключові слова: травма спинного мозку, трансплантація тканини обонятельної луковички, відновлення рухової функції, синдром посттравматичної спастичності.

V. I. TSYMBALIUK¹, V. V. MEDVEDIEV², Yu. Yu. SENCHYK³,
N. Ya. GRYDINA¹, N. G. DRAGUNTSOVA¹, S. M. DYCHKO¹

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

Effect of olfactory bulb tissue transplantation in the course of the regeneration process in spinal cord injury in experiment

Objective — to examine the effect of allogeneic transplantation of olfactory bulb tissue (TOBT) to restore ipsilateral hindlimb (IH) motor function on the mature rat left-side spinal cord hemisection model.

Methods and subjects. Animals: albino male rats (5.5 months, 300 grams, inbred line, the original strain — Wistar); main experimental groups: 1 — spinal cord injury + immediate homotopical implantation of a fragment of the olfactory bulb tissue (n = 34), 2 — spinal cord injury only (n = 40). Model of injury — left-side spinal cord hemisection at T11 level; monitoring the ipsilateral hindlimb function indicator (IHL FI) — the Basso — Beattie — Bresnahan scale (BBB).

Results. TOBT does not change the distribution of IHL FI values in the experimental group, but distorts the dynamics of its changes: in the early period of trauma provides a reliable advantage of the IHL FI with a maximum at the 3rd week (3.7 ± 0.5 points BBB), followed by a significant gradual decrease to a 2.4 ± 0.6 points BBB (24th week). IHL FI values crossing with the control group was noted at the 8th week. This group is characterized by the biphasic dynamics of IHL FI increase throughout the experiment. Quick TOBT positive effect is probably associated with VEGF-dependent neuroprotective influence, the negative dynamics during the 2—6 months of the experiment — with verified degradation of graft and newly formed microvessels of perifocal zone.

Conclusions. TOBT causes a temporary, limited by the early period of traumatic process, positive effect on the efferent motor system recovery, evaluation of this type of neurotransplantation effectiveness requires taking into account the dynamics of the spasticity syndrome and chronic pain.

Key words: spinal cord injury, transplantation of olfactory bulb tissue, motor function recovery, posttraumatic spasticity syndrome.