





вотные: которым была произведена экспериментальная травма спинного мозга с подсадкой периферического нерва с гидрогелем.

Данная работа проводилась на базе Национального центра биотехнологий г. Астана. Изготовление гидрогеля с хондроитиназой и мезенхимально-стволовыми клетками, и факторами роста аксонов производилось в специализированной лаборатории данного Центра.

Моделирование полного повреждения спинного мозга проводилось на уровне шейно-грудного отдела позвоночника. В стерильных условиях под внутривенной анестезией и микроскопическим контролем проводился разрез кожи и мягких тканей животного, скелетировались позвонки (рис. 1 и 2).



Рисунок 1 – Операционное поле

После операции проводилась оценка неврологического статуса, электронейромиографическое исследование для установления полного повреждения спинного мозга. Для контрольной группы животных оперативное вмешательство на этом заканчивалось.

Для основной группы животных (после оценки неврологического статуса и инструментальной верификации травмы спинного мозга) проводился 2 этап операции. В стерильных условиях и использованием микроскопа производился разрез длиной около 3 см. по внутреннему краю плечевой кости, мобилизовались крупные нервы обеих верхних конечностей (локтевой и срединный). Под микроскопом проводилось пропитывание приготовленным гидрогелем на основе НА нервов – трансплантатов (в количестве четырех). Пропитывание нервов осуществлялось инсулиновым шприцом по всей длине трансплантата. Проводился разрез по старому рубцу и осуществлялся доступ к поврежденному ранее участку спинного мозга на уровне шейно-грудного отдела позвоночника. Вскрывалась твердая мозговая оболочка. Спинной мозг мобилизовался

Производилась ламинэктомия двух-трех позвонков, мобилизовался спинной мозг. Далее, под визуальным контролем производилось моделирование травмы спинного мозга путем его максимальной компрессии анатомическим зажимом Микулича в трех направлениях (под углом 90, 45 и 0 градусов). Накладывались послойные швы на рану. Показателем эффективности процедуры являлось визуализация передних отделов твердой мозговой оболочки, отсутствие перемычек между дистальным и проксимальным участками спинного мозга, так как даже 15% сохранившихся латеральных отделов спинного мозга обеспечивает сохранность функции конечностей [18, 19, 20].



Рисунок 2 – Диссекция паравертебральных мышц, ламинэктомия

ся в краниальном и каудальном направлениях до неповрежденной ткани. Производилось рассечение мягкой мозговой оболочки в проекции кортикоспинального тракта с обеих сторон выше и ниже участка повреждения, микродиссекторами раздвигалась ткань спинного мозга на глубину до 2-3 мм, устанавливались пропитанные гидрогелем на основе НА нервы-трансплантаты (по 2 с обеих сторон в краниальном и каудальном направлениях). Они фиксировались викриловыми швами (10/0) к мягкой мозговой оболочке. Накладывались послойные швы на рану.

В начале эксперимента 23 крысы были выведены путем декапитации на 14, 21 и 30 сутки эксперимента: 10 животных из контрольной группы на 14 и 21 сутки и 13 животных из основной группы на 21 и 30 сутки. Данные патоморфологического исследования этих крыс показали начальные признаки регенерации спинномозговой травмы в виде неспецифических реакций – периваскулярные нежно-волокнистые разрастания молодой фиброзной ткани, разрастания грануляционной ткани в зоне



подсадки периферического нерва, периневральное нежно-волокнистое разрастание глиальной ткани с пролиферацией клеток иммунопозитивных на BrdU (маркер клеточной пролиферации).

7 крыс из основной группы, были выведены из эксперимента на 60 сутки. У животных при электромиографическом исследовании регистрировалась произвольная мышечная активность в виде потенциалов двигательных единиц с удовлетворительным насыщением интерференционного паттерна. Параметризация двигательной активности позволяла в целом количественно оценить степень восстановления неврологических функций спинного мозга после его повреждения.

На патоморфологическое исследование забирался фрагмент спинного мозга длиной 3-4 см (по 1,5-2 см в ростральном и каудальном направлении

от эпикентра повреждения), вместе с позвонками. Материал был фиксирован в течении 24 часов в 10% нейтральном формалине, с последующей традиционной проводкой. Применялась окраска гематоксилином и эозином. Иммуногистохимическое исследование проводилось с применением антител – GFAP (RTU), NSE (RTU), NeuN (RTU), BrdU (RTU), MAP2 (RTU). Патоморфологическое исследование осуществлялось при помощи микроскопа Axioskop 40, Carl Zeiss, Germany, при общем увеличении X 100, X 200.

### Результаты и обсуждения.

При гистологическом исследовании в месте соединения ткани спинного мозга и нерва определялся неравномерно выраженный отек, очаговая лимфогистиоцитарная инфильтрация с примесью единичных плазмоцитов и эозинофилов (рис. 3 и 4).

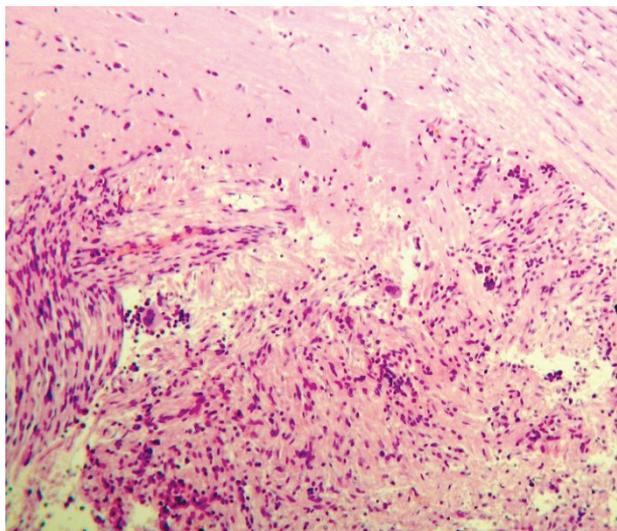


Рисунок 3 – Место соединения спинного мозга и нерва. X 100. Окраска гематоксилином и эозином

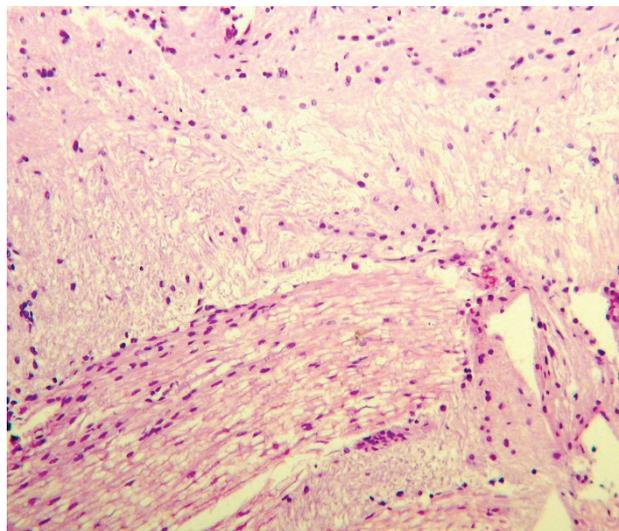


Рисунок 4 – Место соединения спинного мозга и нерва. X 200. Окраска гематоксилином и эозином

При иммуногистохимическом исследовании с применением нейрон-специфической енолазы (NSE) в месте соединения спинного мозга и нерва

среди воспалительных клеток определялись скопления нейронов с отростками (рис. 5).

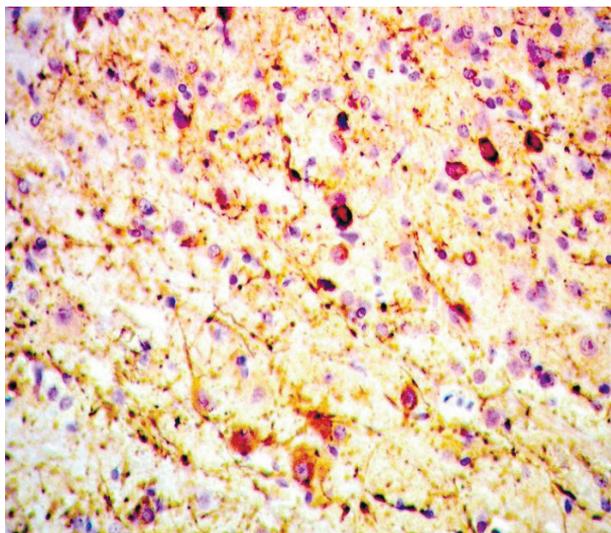


Рисунок 5 – Нейроны с отростками. X 100. Иммуногистохимия: позитивная реакция с NSE



При иммуногистохимическом исследовании с применением NeuN и Map 2 в нейронах отмечались признаки полной и неполной функциональной ре-

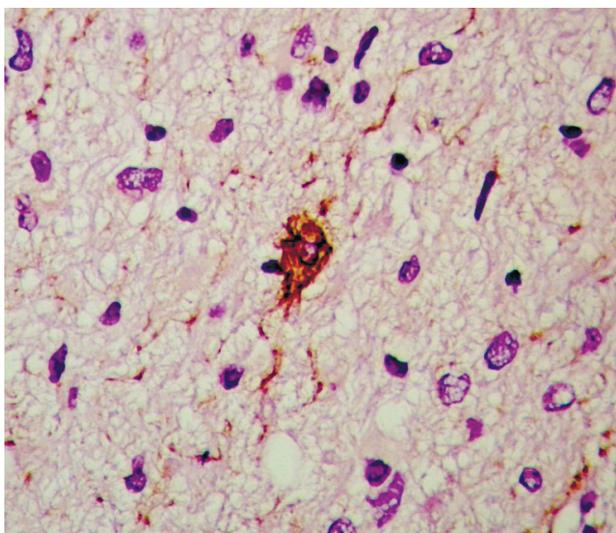


Рисунок 6 – Нейрон с явлениями регенерации аксона. X 200. Иммуногистохимия: позитивная реакция с NeuN

#### Заключение.

Таким образом, патоморфологическое и иммуногистохимическое исследование спинного мозга крыс позволяют сделать вывод что в нейронах в месте установки ауотрансплантата из периферического нерва, имбибированного гидрогелем имеют место явления полной и неполной функциональной регенерации аксонов, образование новых отростков с направлением их к нерву-трансплантанту. Регене-

рации аксонов, образование новых отростков с направлением их к нерву-трансплантанту (рис. 6 и 7).

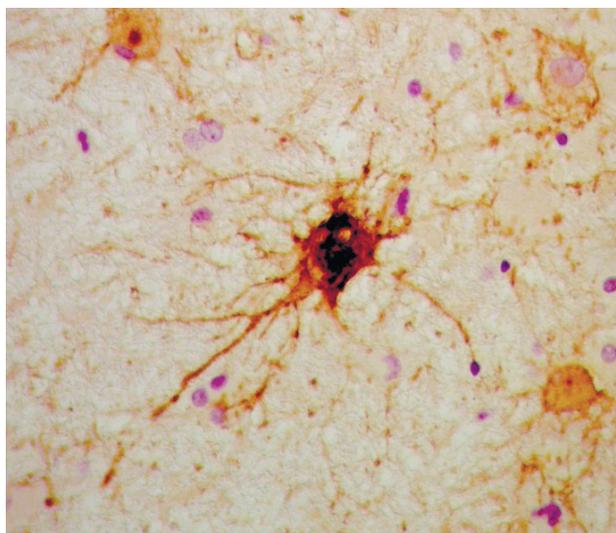


Рисунок 7 – Нейрон с явлениями регенерации аксона. X 200. Иммуногистохимия: позитивная с Map 2

рация аксонов клинически проявлялась признаками частичного восстановления утраченных сенсорных функций спинного мозга. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о перспективности данного метода в лечении осложненной позвоночно-спинальной травмы и могут послужить основой для разработки нового метода лечения у пациентов с последствиями позвоночно-спинно-мозговых травм.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Керимбаев Т.Т., Алейников В.Г., Танкачев Р.Ш., Галиев И.Ж., Жиренбаев Ж.О. Современный метод хирургического лечения посттравматических деформаций грудного и поясничного отделов позвоночника // Нейрохирургия и неврология Казахстана. – 2010. – №2 (19). – С. 20-24, 47-48.
2. Liang P, Jin L.H., Liang T, Liu, E.Z., Zhao S.G. Human neural stem cells promote corticospinal axons regeneration and synapse reformation in injured spinal cord of rats // Chinese medical journal. – 2006. – № 119. – P. 1331–1338.
3. Nori S., et al. Grafted human-induced pluripotent stem-cell-derived neurospheres promote motor functional recovery after spinal cord injury in mice // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2011. – № 108. – P. 16825–16830.
4. Blight A.R. Spinal cord injury models: neurophysiology // J Neurotrauma. – 1992. – № 9. – P. 147–149.
5. Moreno-Manzano V. et al. Activated spinal cord ependymal stem cells rescue neurological function // Stem Cells. – 2009. – № 27. – P. 733–743.
6. Kubinova S., Sykova E. Biomaterials combined with cell therapy for treatment of spinal cord injury // Regenerative medicine. – 2012. – № 7. – P. 207–224.
7. Erceg S. et al. Transplanted oligodendrocytes and motoneuron progenitors generated from human embryonic stem cells promote locomotor recovery after spinal cord transection // Stem Cells. – 2010. – № 28. – P. 1541–1549.
8. Keirstead H.S. et al. Human embryonic stem cell-derived oligodendrocyte progenitor cell transplants remyelinate and restore locomotion after spinal cord injury // J Neurosci. – 2005. – № 25. – P. 4694–4705.
9. Tsuji O. et al. Cell therapy for spinal cord injury by neural stem/progenitor cells derived from iPS/ES cells // Neurotherapeutics. – 2011. – № 8. – P. 668–676.
10. 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. – № 12 (1). – P. 1–21.
11. Schucht P., Raineteau O., Schwab M. E., Fouad K. Anatomical correlates of locomotor recovery following dorsal and ventral lesions of the rat spinal cord // Exp Neurol. – 2002. – № 176. – P. 143–153.
12. Guth L., Brewer C.R., Collins W.F., Goldberger M.E., Perl E.R. Criteria for evaluating spinal cord



- regeneration experiments // *Surgical neurology*. – 1980. – № 14. – P. 392.
13. Jendelova P, et al. Magnetic resonance tracking of transplanted bone marrow and embryonic stem cells labeled by iron oxide nanoparticles in rat brain and spinal cord // *J Neurosci Res*. – 2004. – № 76. – P. 232–243.
  14. Chen J, et al. Acellular spinal cord scaffold seeded with bone marrow stromal cells protects tissue and promotes functional recovery in spinal cord-injured rats // *J Neurosci Res*. – 2014. – № 92. – P. 307–317.
  15. Hejcl A. et al. Acute and delayed implantation of positively charged 2-hydroxyethyl methacrylate scaffolds in spinal cord injury in the rat // *Journal of neurosurgery. Spine*. – 2008. – № 8. – P. 67–73.
  16. Yang C. C. et al. Transplantation of human umbilical mesenchymal stem cells from Wharton's jelly after complete transection of the rat spinal cord // *PLoS One*. – 2008. – № 3 (10).
  17. Sakai K, et al. Human dental pulp-derived stem cells promote locomotor recovery after complete transection of the rat spinal cord by multiple neuro-regenerative mechanisms // *The Journal of clinical investigation*. – 2012. – № 122. – P. 80–90.
  18. Iannotti C. et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor-enriched bridging transplants promote propriospinal axonal regeneration and enhance myelination after spinal cord injury // *Exp Neurol*. – 2003. – № 183. – P. 379–393.
  19. Lai B.Q, Wang J.M., Ling E.A., Wu J.L., Zeng Y.S. Graft of a tissue-engineered neural scaffold serves as a promising strategy to restore myelination after rat spinal cord transection // *Stem Cells Dev*. – 2014. – № 23. – P. 910–921.
  20. Жетписбаев Б.Б., Керимбаев Т.Т., Алейников В.Г., Кожаметова А.О. Патоморфология регенерации спинномозговой травмы в эксперименте у крыс. – 2017. – № 4. – С. 20–23.



Б.Б. Жетпісбаев, Т.Т. Керимбаев (м.ф.д.), В.Г. Алейников, А.О. Кожакметова, С.Г. Умбеталиев, М.С. Усева

«Ұлттық нейрохирургия орталығы» АҚ, Астана қ, Қазақстан

## ЭКСПЕРИМЕНТТЕ ЕГЕУҚҰЙРЫҚТАРДЫҢ ЖҰЛЫН-МИ ЖАРАҚАТТАРЫНЫҢ РЕГЕНЕРАЦИЯСЫН КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЯЛЫҚ БАҒАЛАУ

**Кіріспе.** Жұлын-ми жарақаты ауыр асқынуларға алып келетін жойқын жарақаттар қатарына жатады. Жұлын-ми жарақатын дәрілік жолмен емдеу ұсынылған, бірақ та көпшілік жағдайда оның әсері тым аз болады. Соңғы кезде экспериментальды зертханаларда, болашақта жұлын-ми жарақаттарын емдеу үшін, стратегиялық басымдылық нейротрофикалық факторы бар перифериялық нервті отырғызу және бағаналық жасушаларды трансплантациялауға беріліп отыр.

**Зерттеу мақсаты:** оперативті жолмен отырғызылған, гидрогель сіңген перифериялық нервтің, эксперименттегі егеуқұйрықтардағы жұлын-ми жарақатынан кейінгі регенерацияның патоморфологиялық белгілерін анықтау.

**Материалдар мен әдістер.** Эксперимент салмақтары 180-200 грамм Вистар тізбегіндегі 30 аут-брендті еркек егеуқұйрықтарға жүргізілді. Егеуқұйрықтар тәжірибеден декапитация жолымен 14, 21, 30 және 60 тәулікте шығарылды. Жұлын-миының жарақатталған аймағы патоморфологиялық және иммуногистохимиялық жолдармен зерттелді.

**Қорытынды.** 60 тәулікте перифериялық нервтен аутотрансплантат орнатылған жерде, гидрогель сіңген нейрондарда, аксондардың регенерациясы пайда болды. Клиникалық тұрғыда жұлын-миының жоғалған сенсомоторлық функцияларының бір бөлігі қалпына келумен сипатталды.

**Негізгі сөздер:** жұлын-ми жарақаты, патоморфология, иммуногистохимия, аксон, эксперимент.

B.B. Zhetpisbayev, T.T. Kerimbaev (D.Med.Sci.), V.G. Aleinikov, A.O. Kozhakhmetova, S.G. Umbetaliev, M.S. Useeva

JSC «National Centre for Neurosurgery», Astana, Republic of Kazakhstan

## CLINICAL-MORPHOLOGICAL EVALUATION OF REGENERATION OF SPINAL INJURY IN EXPERIMENT IN RATS

**Introduction.** Spinal trauma is one of the most destructive injuries and can lead to serious complications. Drug therapy, recommended for the treatment of traumatic spinal cord injuries, is used, but ineffective. Recently, in experimental laboratory studies, peripheral nerve imaging with neurotrophic factors and stem cell transplantation is considered as a promising strategy for treating spinal cord injury.

**The aim of the study** was to reveal the pathomorphological signs of regeneration of spinal cord injury in an experiment in rats, which were treated by surgical application of the peripheral nerve impregnated with hydrogel.

**Materials and methods.** The experiments were performed on 30 outbred male Wistar rats weighing

180-200 grams. The animals were removed from the experiment by decapitation, on the 14th, 21st, 30th and 60th day of the experiment. The area of spinal cord injury was subjected to pathomorphological and immunohistochemical studies.

**Conclusion.** On the 60th day in the neurons in the place of installation of an autograft from the peripheral nerve, which was hydrogel-imbibed, the phenomena of axon regeneration was found, which was clinically manifested as signs of a partial restoration of the lost sensorimotor functions of the spinal cord.

**Keywords:** spinal trauma, pathomorphology, immunohistochemistry, axon, experiment.