Дата публикации: 01.03.2023
DOI: 10.51871/2588-0500_2023_07_01_21
УДК 616.832-001.6:57.081.4

Publication date: 01.03.2023
DOI: 10.51871/2588-0500_2023_07_01_21
UDC 616.832-001.6:57.081.4

АНАЛИЗ ОПЫТА МОДЕЛИРОВАНИЯ ТРАВМЫ СПИННОГО МОЗГА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ РЕАБИЛИТАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ И ОЦЕНКИ ИХ ЭФФЕКТИВНОСТИ

В.Ф. Репс[1,2], В.В. Козлова[1,2]

[1]Пятигорский государственный научно-исследовательский институт курортологии – филиал ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр медицинской реабилитации и курортологии Федерального медико-биологического агентства», г. Пятигорск, Россия

[2]Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал Волгоградского государственного медицинского университета Министерства Здравоохранения России, г. Пятигорск, Россия

Аннотация. В статье проведен аналитический обзор зарубежных публикаций по методам моделировании травмы спинного мозга (ТСМ) различной этиологии на экспериментальных животных. Показано, что в отличие от острой модели ТСМ, такой как перерезка спинного мозга, которая представляет собой анатомическую модель для оценки регенерации аксонов, ушиб (контузия) и компрессионные повреждения спинного мозга представляет собой более предпочтительные модели на лабораторных животных для изучения патофизиологических механизмов последствий ТСМ. При этом необходимо отработать параметры силы и длительности повреждающего воздействия, а также снижения уровня инвазивности манипуляций при создании экспериментальной модели ТСМ у лабораторных крыс, которую можно использовать в доклинических исследованиях новых реабилитационных и терапевтических технологий.

Ключевые слова: травма спинного мозга, экспериментальная модель, нейрорегенерация, контузия, компрессия, ламинэктомия.

ANALYSIS OF MODELING SPINAL CORD INJURY IN AN EXPERIMENT FOR THE DEVELOPMENT OF REHABILITATION TECHNOLOGIES AND EVALUATION OF THEIR EFFICIENCY

V.F. Reps[1,2], V.V. Kozlova[1,2]

[1]Pyatigorsk State Research Institute of Balneology – branch of the FSBI “Federal Scientific Clinical Center of Medical Rehabilitation and Balneology of FMBA”, Pyatigorsk, Russia

[2]Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of the Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, Russia

Annotation. The article provides an analytical review of foreign publications on methods of modeling spinal cord injury (SCI) of various etiologies in experimental animals. It is shown that, in contrast to the acute model of SCI, such as spinal cord cutting, which is an anatomical model for assessing axon regeneration, contusion and compression injuries of the spinal cord are more preferable models in laboratory animals for studying the pathophysiological mechanisms of the SCI consequences. At the same time, it is necessary to work out the parameters of the strength and duration of the damaging effect, as well as to reduce the level of invasiveness of manipulations when creating an experimental model of SCI in laboratory rats, which can be used in preclinical studies of new rehabilitation and therapeutic technologies.

Keywords: spinal cord injury, experimental model, neuroregeneration, contusion, compression, laminectomy.

Введение. Одной из наиболее острых и социально значимых задач современной реабилитационной медицины остается функциональное восстановление спинного мозга при его структурных дефектах различного генеза. Травма спинного мозга (ТСМ) – это сложное неврологическое состояние, вызывающее физическую инвалидность,

психологический стресс. Частота ТСМ в мире оценивается от 250 000 до 500 000 человек в год, из которых 60% пострадавших – молодые, здоровые мужчины в возрасте от 15 до 35 лет. Различные патологические состояния, такие как нейровоспаление, митохондриальная дисфункция, апоптоз, образование глиальных рубцов, нарушение гемато-спинномозгового барьера и нарушение ангиогенеза возникают после ТСМ, что приводит к ограничению восстановления [1].

До настоящего времени не существует эффективных методов лечения этой патологии, способных обеспечить восстановление поврежденных нервных волокон. Различные консервативные реабилитационные мероприятия являются единственными доступными методами лечения, однако они не приводят к регенерации поврежденных тканей, поэтому функциональное восстановление пациентов остается ограниченным [2].

Социальные и экономические затраты, связанные с восстановлением пациентов после этой травмы, еще больше оправдывают разработку новых методов лечения и технологий реабилитации патогенетических последствий ТСМ.

Теоретико-экспериментальное обоснование выбора модели ТМС на лабораторных животных является важным этапом в разработке терапевтических технологий и оценке их эффективности при данной патологии.

Цель исследования: провести анализ методологических подходов к экспериментальному моделированию травмы спинного мозга у лабораторных животных для разработки методов лечения и технологий реабилитации нарушений физиологических функций спинного мозга.

Методы и организация исследования. Проведен анализ научных публикаций по данным электронных баз PubMed, Web of Science, e-Library с учетом критериев патогенеза повреждений спинного мозга и возможности их моделирования в эксперименте, механизмов нейровоспалительной реакции и репаративных процессов, а также иммунотерапевтических подходов, обеспечивающих нейропротективный и нейрорегенерационный эффекты.

Условием поиска были предусмотрены фильтры электронных публикаций, которые включали полный текст, связанные данные, мета-анализ, систематические обзоры. Использованы следующие ключевые слова для идентификации публикаций на русском и английском языках: экспериментальные модели травмы спинного мозга; регенеративный потенциал ЦНС; механизмы нейровоспалительной реакции и репаративных процессов при поражениях спинного мозга; иммунотерапия; models of spinal cord injury; contusion spinal cord injury rat model; endogenous proliferation after spinal cord injury in animal; regenerative, potential therapies.

Результаты исследования и их обсуждение. Основным направлением исследования на этом этапе было научное обоснование выбора экспериментальной модели травмы спинного мозга (ТСМ) у лабораторных животных на основе патогенеза нарушений двигательных и чувствительных физиологических функций спинного мозга, а также подтверждение воспроизводимости выбранной модели. Это является важным этапом разработки методов лечения и технологий реабилитации нарушений физиологических функций спинного мозга.

ТСМ представляет собой деструктивное неврологическое и патологическое состояние, вызывающее серьезные двигательные, сенсорные и вегетативные дисфункции. Его патофизиология включает острую и хроническую фазы, а также каскад деструктивных процессов, таких как ишемия, окислительный стресс, воспалительные явления, нарушение регуляции апоптоза и двигательные дисфункции [3]. Понимание патофизиологии ТСМ и взаимосвязанных мультимолекулярных взаимодействий при применении различных методов восстановления нейропротекторных, иммуномодулирующих и нейрорегенеративных путей функционирования нервной системы

требует соответствующих методологических подходов при экспериментальном моделировании ТСМ.

У людей большинство травм спинного мозга вызвано преходящей компрессией или ушибом спинного мозга.

Модели ушибов на животных имитируют типичные ТСМ, встречающиеся у людей, и эти модели важны при оценке прогрессирующего вторичного повреждения тканей, демиелинизации и апоптоза, а также патофизиологических механизмов после ТСМ [4]. Нормальная физиология спинного мозга включает взаимодействие между многими типами клеток, такими как астроциты, нейроны, микроглия и олигодендроциты. После травмы позвоночника эти многоклеточные взаимодействия прерываются и дезорганизуются, что приводит к нарушению восстановления позвоночника [5].

Для изучения ТСМ обычно используются три типа экспериментальных моделей: модели ушиба (контузии), компрессии и рассечения. Поскольку каждая модель имеет определенные патологические характеристики, исследователи могут выбрать наиболее подходящую модель для дизайна своего экспериментального исследования.

Контузионные травмы, как правило, моделировались с помощью устройства сброса веса, а современные версии регулируют и регистрируют силу, создаваемую поршнем при ударе. Считается, что эти контузионные повреждения, вызванные ударом ускоряющего стержня по спинному мозгу, достаточно точно моделируют повреждения спинного мозга у человека при различных аварийных ситуациях [6].

В модели контузионного повреждения сила повреждающего воздействия обычно применяется к дорсальной части спинного мозга с использованием специального аппарата аналогично случаям ТСМ у человека в результате сдавления позвоночника [7-8].

В этой модели вертикальная сила мгновенно воздействует на спинной мозг. Центральная артерия спинного мозга и микроциркуляторное русло, снабжающее кровью спинной мозг, немедленно разрушаются, инициируя острую фазу повреждения [9]. Впоследствии локальное кровоизлияние вызывает приток воспалительных клеток, вазоактивных пептидов и цитокинов в спинной мозг. Активация проапоптотических сигнальных путей, изменение проницаемости клеток и ишемическое повреждение способствуют потере большого количества функциональных нейронов и демиелинизацию, что полностью нарушает очаговое микроокружение спинного мозга [10]. Воспалительные клетки, высвобождаемые в ответ на разрушение кровеносных сосудов, продуцируют воспалительные цитокины, такие как фактор некроза опухоли (TNF-α) и интерлейкины (IL-1β), которые продолжают оказывать воспалительный эффект в поврежденной области и после подострой фазы [11]. Каскад реакций, запускаемых воспалением после травмы, в сочетании с разрушением гемато-спинномозгового барьера постепенно усугубляет отек спинного мозга и дальнейшую механическую компрессию, что также приводит к последующему вторичному повреждению спинного мозга.

Импактор с определенным горизонтом воздействия [12] широко используется для моделирования контузии. Этот ударный инструмент можно применять для получения воспроизводимых и равномерных травм за счет точного контроля параметров удара, таких как скорость, сила и импульс, без предварительного прикосновения к спинному мозгу.

Также в качестве ударного инструмента используется новый тип пневматического пистолета [13], который повреждает белое вещество спинного мозга за счет точной регулировки давления воздуха. Данные последних исследований также выявили высокое сходство между этим видом травмы и ТСМ средней тяжести у пациентов. Однако сложность идентификации регенерирующих аксонов является ограничением для применения этой модели контузионного

повреждения спинного мозга в экспериментальных и доклинических исследованиях [14].

Моделирование компрессионных повреждений могут быть вызваны также различными методами приложения силы как дорсально, так и латерально.

Модель компрессии была впервые создана Tator и Rivlin, которые моделировали повреждение спинного мозга с помощью модифицированного зажима для аневризмы, чтобы имитировать спинальный стеноз или травматическое сдавление спинного мозга у пациентов в условиях клиники [15]. Оборудование, используемое для создания этой модели, такое как щипцы и компрессионные баллоны, с тех пор было усовершенствовано [16]. Степень повреждения при травме можно контролировать, регулируя время или силу компрессии, чтобы исследовать временное окно для хирургической декомпрессии. Характеристики дисбаланса микроокружения в спинном мозге при этом варианте моделирования ТСМ зависят от длительности и степени повреждения. После приложения сдавливающей силы к спинному мозгу возникает локальное ишемическое повреждение, а затем хрупкие нейроны подвергаются дегенерации и некрозу в течение короткого периода после ишемии [17].

Поскольку компрессия обычно уменьшается, разрушительное ишемически-реперфузионное повреждение спинного мозга впоследствии усугубляет изменения в микроокружении травмированной области [18]. Спинной мозг испытывает перегрузку внутриклеточным кальцием, активируется перекисное окисление липидов, индуцированное свободными радикалами кислорода, происходит активация лейкоцитов, усиливаются воспалительная реакция и апоптоз нейронов, которые влияют на стабильность микросреды спинного мозга и нарушают ее.

Такая экспериментальная модель ТСМ, вызванная компрессией, может постепенно вызывать патологические изменения, подобные тем, которые наблюдаются у пациентов с ТСМ, включая локальное кровоизлияние, отек и некроз с последующей частичной регенерацией аксонов и, в конечном итоге, образованием глиального рубца и кисты.

Компрессионные экспериментальные модели ТСМ полностью удовлетворяют потребности исследователей для оценки реабилитационных технологий. Метод использования различных зажимов позволяет исследователям вызывать повторяющиеся и последовательные повреждения и ранжировать степень повреждения при создании модели ТСМ.

Компрессионные модели позволяют количественно оценить патологические изменения функции нерва и его метаболизма путем изменения продолжительности травмы. С помощью этих моделей были выяснены роль глиального рубца с точки зрения неблагоприятных патологических реакций после травмы и стимулирования регенерации нервов при изучении методов лечения хронической ТСМ [19].

Полные или неполные модели транзакций создаются с помощью микроскопических инструментов для пересечения обнаженного спинного мозга или удаления небольшого участка спинного мозга, после чего могут быть трансплантированы материалы, выполненные с помощью тканевой инженерии для облегчения последствий ТСМ [20].

Модель компрессионного повреждения с помощью специальных щипцов является удобной, недорогой и очень воспроизводимой моделью ТСМ на животных. Используются пара модифицированных щипцов (с фиксированным зазором 0,35 мм) в соответствии с методом Plemel et al (2008) [21] для латеральной компрессии спинного мозга [22]. Компрессионное повреждение приводит к результату, подобному тому, что наблюдается при ТСМ человека, вызванной, например, сдавлением опухолью или другими повреждающими сжимающими силами.

Контузионные и компрессионные повреждения сходны тем, что оба представляют собой результат воздействия

сдавливающей силы и имеют схожие патологические особенности, такие как цитоархитектоническая дезорганизация, и вызывают сходные эндогенные реакции при ТСМ.

Методы открытой травмы спинного мозга, моделирующие повреждения, подобные разрыву, требуют много времени на воспроизведение и инвазивны, поскольку они включают ламинэктомию.

Современные направления в создании экспериментальных моделей ТСМ связаны с разработкой методов уменьшения степени инвазивности воздействия и травматичности. Предложенный недавно новый метод исключает ламинэктомию путем удаления двух остистых отростков и подъема, а затем наклона каудальной дуги позвонка. Хирургическая область открывается без необходимости ламинэктомии. Затем выполняется боковая гемисекция под прямым видимым контролем с использованием микроскопа. В результате такого моделирования повреждения спинного мозга постоперационные последствия травмы сведены к минимуму, требуется лишь небольшое повреждение кости в операционном поле. Этот метод имеет несколько преимуществ: он быстрее и, следовательно, менее обременителен для общего состояния животного после операции, и рана на позвоночнике меньше. Поскольку ламинэктомия исключена, меньше вероятность нежелательного повреждения спинного мозга, нет костных осколков, которые могут вызвать дополнительный послеоперационный травматизм (костные осколки, застрявшие в спинном мозге, могут вызвать отек и вторичные его повреждения). При этом позвоночный канал остается неповрежденным [23].

Заключение. Таким образом, разработка новых неинвазивных или малоинвазивных экспериментальных методов травмы спинного мозга в эксперименте на лабораторных животных позволит снизить послеоперационные осложнения и использовать их для оценки эффективности реабилитационных и терапевтических технологий. Потенциальным медико-биологическим направлением в разработке новых методов активации нейрорегенерации и восстановления физиологических спинальных функций при ТСМ является выбор патологически адекватной экспериментальной модели повреждения спинного мозга с оценкой основных звеньев патогенеза, а также отработка ее хорошей воспроизводимости.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Targeting miR-21 in spinal cord injuries: a game-changer? / Malvandi, A. M., Rastegar-moghaddam, S. H., Ebrahimzadeh-Bideskan S. [et al] // Mol Med. – 2022. – Vol. 28. – p.118.
2. Mechanisms of Stem Cell Therapy in Spinal Cord Injuries / M. Shinozaki, N. Nagoshi, M. Nakamura, H. Okano // Cells. – Oct 6, 2021. – Vol. 10(10). – P. 2676.
3. Spinal Cord Injury: Pathophysiology, Multimolecular Interactions, and Underlying Recovery Mechanisms / Anjum A., Yazid M. D., Fauzi Daud M. [et al] // Int J Mol Sci. – 2020. – Vol. 21(20). – P. 7533.
4. Chiu, C. W. Contusion Spinal Cord Injury Rat Model / C. W. Chiu, H. Cheng, S. L. Hsieh // Bio Protoc. – 2017. – Vol. 7(12). – P. 2337.
5. O'Shea, T. M. Cell biology of spinal cord injury and repair / T. M. O'Shea, J. E. Burda, M. V. Sofroniew // J Clin Invest. – 2017. – Vol. 127(9). – pp. 3259-3270.
6. McDonough, A. Endogenous proliferation after SCI in animal models / A. McDonough, V. Martinez-Cerdeno // Stem Cells Int. – 2012. – Vol. 2012. – P. 387513.
7. Onifer, S. M. Rat models of traumatic SCI to assess motor recovery / S. M. Onifer, A. G. Rabchevsky, S. W. Scheff // ILAR J. – 2007. – Vol. 48(4). – pp. 385-395.
8. Chiu, C. W. Contusion Spinal Cord Injury Rat Model / C. W. Chiu, H. Cheng, S. L. Hsieh // Bio Protoc. – 2017. – Vol. 7(12). – P.2337.
9. CNS injury biomechanics and experimental models / M. LaPlaca, C. Simon, G. Prado, D. Cullen // Prog. Brain Res. – 2007. – Vol. 161. – pp. 13-26.
10.Contusion, dislocation, and distraction: primary hemorrhage and membrane permeability in distinct

mechanisms of spinal cord injury / Choo A. M., Liu J., Lam C. K. [et al] // J. Neurosurg. Spine. – 2007. – Vol. 6. – pp. 255-266. DOI: 10.3171/spi. 2007.6.3.255.
11.Pineau, I. Proinflammatory cytokine synthesis in the injured mouse spinal cord: multiphasic expression pattern and identification of the cell types involved / I. Pineau, S. Lacroix // J. Comp. Neurol. – 2007. – Vol. 500. – pp. 267-285.
12.Experimental modeling of spinal cord injury: characterization of a force-defined injury device / Scheff S. W., Rabchevsky A. G., Fugaccia I. [et al]// J. Neurotrauma. – 2003. – Vol. 20. – pp. 179-193.
13.Air gun impactor – a novel model of graded white matter spinal cord injury in rodents / W. Marcol, W. Slusarczyk, M. Gzik, M. Larysz-Brysz // J. Reconstr. Microsurg. – 2012. – Vol. 28. – pp. 561-568.
14.Fan, B. Progression in translational research on spinal cord injury based on microenvironment imbalance / B. Fan, Z. Wei, S. Feng // Bone Res. – 2022. – Vol. 10(1). – P.35.
15.Rivlin, A. S. Effect of duration of acute spinal cord compression in a new acute cord injury model in the rat / A. S. Rivlin, C. H. Tator // Surg. Neurol. – 1978. – Vol.10. – pp. 38-43.
16.A simple and reproducible model of spinal cord injury induced by epidural balloon inflation in the rat / Vanický I., Urdzíková L., Saganová K. [et al] // J. Neurotrauma. – 2001. – Vol. 18. – pp. 1399-1407.
17.Spinal cord ischemia in open and endovascular thoracoabdominal aortic aneurysm repair: new concepts / Etz D. C., Luehr M., Aspern K. V. [et al] // J. Cardiovasc Surg. – 2014. – Vol. 55. – pp. 159-168.
18.Wynn, M. M. A modern theory of spinal cord ischemia/injury in thoracoabdominal aortic surgery and its implications for prevention of paralysis / M. M. Wynn, C. W. Acher // J. Cardiothorac. Vasc. Anesth. – 2014. – Vol. 28. – pp. 1088-1099.
19.Greatly improved neurological outcome after spinal cord compression injury in AQP4-deficient mice / S. Saadoun, B. Bell, A. Verkman, M. Papadopoulos // Brain. – 2008. – Vol. 131. – pp. 1087-1098.
20.Scaffold-facilitated locomotor improvement post complete spinal cord injury: Motor axon regeneration versus endogenous neuronal relay formation / Li X., Liu D., Xiao Z. [et al] // Biomaterials. – 2019. – Vol. 197. – pp. 20-31.
21.A graded forceps crush SCI model in mice / Plemel J.R., Duncan G., Chen K.-W. K. [et al] // J Neurotrauma. – 2008. – Vol. 25(4). – pp. 350-370.
22.Calibrated forceps model of spinal cord compression injury / A. McDonough, A. Monterrubio, J. Ariza, V. Martínez-Cerdeño // J Vis Exp. – 2015. – Vol. 24(98). – P. 52318.
23.A Minimally Invasive, Fast Spinal Cord Lateral Hemisection Technique for Modeling Open Spinal Cord Injuries in Rats / Csomó K. B., Varga G., Belik A. A. [et al] // J Vis Exp. – 2022. – Vol. 23. – P.181.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Валентина Федоровна Репс – доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник экспериментальной лаборатории Пятигорского ГНИИК ФФГБУ ФНКЦ МРиК ФМБА России; профессор кафедры терапевтических дисциплин Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Пятигорск, e-mail: v.reps@mail.ru, ORCID: orcid.org/0000-0003-4878-6797.
Виктория Вячеславовна Козлова – кандидат фармацевтических наук, заведующая экспериментальной лабораторией Пятигорского ГНИИК ФФГБУ ФНКЦ МРиК ФМБА России; доцент кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Пятигорск, e-mail: viktoriai-kv@bk.ru, ORCID: orcid.org/0000-0002-6455-4040.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Valentina Fedorovna Reps – Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Leading Researcher of the experimental Laboratory, Pyatigorsk State Research Institute of Balneology – branch of the FSBI "Federal Scientific Clinical Center of Medical Rehabilitation and Balneology of FMBA"; Professor of the Department of Therapeutic Disciplines, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of the Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, e-mail: v.reps@mail.ru, ORCID: orcid.org/0000-0003-4878-6797.
Viktoria Vyacheslavovna Kozlova – Candidate of Pharmaceutical Sciences, Head of the Experimental Laboratory, Pyatigorsk State Research Institute of Balneology – branch of the FSBI "Federal Scientific

Clinical Center of Medical Rehabilitation and Balneology of FMBA"; Associate Professor of the Department of Pharmacology with the course of Clinical Pharmacology, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of the Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, e-mail: viktoriai-kv@bk.ru, ORCID: orcid.org/0000-0002-6455-4040.

Для цитирования: Репс, В. Ф. Анализ опыта моделирования травмы спинного мозга в эксперименте для разработки реабилитационных технологий и оценки их эффективности / В. Ф. Репс, В. В. Козлова // Современные вопросы биомедицины. – 2023. – Т. 7. – № 1. DOI: 10.51871/2588-0500_2023_07_01_21

For citation: Reps V.F., Kozlova V.V. Analysis of modeling spinal cord injury in an experiment for the development of rehabilitation technologies and evaluation of their efficiency. *Modern Issues of Biomedicine*, 2023, vol. 7, no. 1. DOI: 10.51871/2588-0500_2022_07_01_21