

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Klinichna khirurgiia. 2018 March;85(3):66–69.

DOI: 10.26779/25221396.2018.03.66

УДК 618.832–001–092.9:617.57/58–07–092.9:591.471.36/37

## Порівняльний аналіз динаміки рівня спастичності паретичної кінцівки щура на тлі відкритої проникної травми спинного мозку з тривалою персистенцією біосумісного стороннього тіла в каналі хребта

V. I. Tymbaliuk<sup>1,2</sup>, V. V. Medvediev<sup>2</sup>, Yu. Yu. Senchik<sup>3</sup>, N. G. Draguntsova<sup>4</sup><sup>1</sup>Національна академія медичних наук України, м. Київ,<sup>2</sup>Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ,<sup>3</sup>Київська міська клінічна лікарня швидкої медичної допомоги,<sup>4</sup>Інститут нейрохірургії імені А. П. Ромоданова НАМН України, м. Київ

## Comparative analysis of dynamics of the spasticity level in paretic extremity of rat on background of open penetrating spinal cord trauma with durable persistence of biocompatible foreign body in vertebral channel

V. I. Tymbaliuk<sup>1,2</sup>, V. V. Medvediev<sup>2</sup>, Yu. Yu. Senchik<sup>3</sup>, N. G. Draguntsova<sup>4</sup><sup>1</sup>National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv,<sup>2</sup>Bogomolets National Medical University, Kyiv,<sup>3</sup>Kyiv Municipal Clinical Hospital of Urgent Medical Help,<sup>4</sup>Romodanov Institute of Neurosurgery, Kyiv

## Реферат

**Мета.** Порівняти динаміку рівня спастичності паретичної кінцівки щура на тлі тривалої компресії травмованого спинного мозку (СМ) стороннім тілом.**Матеріали і методи.** Як первинні цифрові дані використано емпіричний матеріал, отриманий у ряді попередніх досліджень (V. I. Tymbaliuk і співавтори, 2016, 2017), виконаних на зрілих білих безпородних щурах–самцях віком 5,5 міс та масою тіла 300 г (інбредна лінія, похідна породи Wistar). Експериментальні групи: група 1 (n=16) – травма СМ, група 2 (n=10) – аналогічна травма СМ та негайна імплантація у зону ураження стороннього тіла. Модель травми – лівобічний половинний перетин (ЛПП) на рівні T<sub>11</sub>. Для моніторингу показника спастичності (ПС) паретичної кінцівки використовували шкалу Ashworth; розраховували щотижневий приріст ПС, прискорення приросту та проводили статистичний аналіз у межах програмного пакета STATISTICA 10.0.**Результати.** У групі 1 найбільший приріст ПС паретичної кінцівки спостерігали протягом 2 – 4-го та 7-го тижнів експерименту, у групі 2 – протягом 1-го та 5-го тижнів. Перша фаза приросту ПС у групі 2 може бути наслідком глутаматергічного впливу на денервовані мотонейрони в контексті компресійної ішемії тканини СМ, відтермінування другої фази – наслідком відтермінованої реалізації залежного від серотонінового рецептора 5–HT<sub>2C</sub> механізму спастичності.**Висновки.** Компресія СМ стороннім тілом потенціє ранні глутаматергічні механізми і відтермінує маніфестацію пізніх залежних від 5–HT<sub>2C</sub> механізмів спастичності.**Ключові слова:** відкрите проникне ураження спинного мозку; посттравматична спастичність; приріст та прискорення приросту спастичності; динамічний аналіз.

## Abstract

**Objective.** To compare dynamics of the spasticity level in the rat paretic extremity on background of durable compression of traumatized spinal cord by foreign body.**Materials and methods.** As a primary numerical data the empirical material was applied, obtained in some previous investigations (V. I. Tymbaliuk et al. 2016, 2017), performed on mature white mongrel male rats, ageing 5.5 mo and body mass 300 g (inbred line, breed deviated Wistar). Experimental groups: Group 1 (n=16) – a spinal cord trauma, Group 2 (n=10) – analogous spinal cord trauma and immediate implantation of foreign body into the affection zone. A left–sided half transection on the T<sub>11</sub> level have constituted a simulation model. The Ashworth scale was applied for monitoring of the spasticity index of paretic extremity. A program package STATISTICA 10.0 was used to calculate statistically a weekly spasticity index accretion and the accretion acceleration.**Results.** In Group 1 the biggest accretion of the spasticity index of paretic extremity was observed during 2 – 4–th and 7–th week of experiment, and in Group 2 – during 1–st and 5–th weeks. The accretion of the spasticity index first phase in a Group 2 may be a consequence of glutamatergic impact on denervated motoneurons in context of compressive ischemia of a spinal cord tissue, a delay of another phase constitutes a consequence of the delayed realization of the spasticity mechanism, dependent on serotonin receptor 5–HT<sub>2C</sub>.**Conclusion.** A spinal cord compression by foreign body potentiates early glutamatergic mechanisms and delays manifestation of late, dependent on 5–HT<sub>2C</sub>, mechanisms of spasticity.**Keywords:** open penetrating affection of spinal cord; posttraumatic spasticity; accretion and acceleration of the spasticity index accretion; dynamics; analysis.

Переважаючим видом хребетно–спинномозкової травми (ХСМТ) військового часу є відкрите проникне ураження СМ, часто з тривалою персистенцією у хребтовому каналі стороннього тіла [1 – 3]. Компресія травмованого СМ стороннім тілом суттєво погіршує перебіг ХСМТ, унеможливує відновлення функцій СМ, драматично посилює синдром посттравматичної спастичності [4 – 6]. На даний час механізми впливу компресії СМ на вираженість синдрому спастичності невідомі. У клінічному перебігу ХСМТ розрізняють гострий, ранній, проміжний та пізній періоди [7], кожен з яких характеризується певними патофізіологічними механізмами [8 – 12]. На нашу думку, важливим засобом визначення основних механізмів впливу стороннього тіла на вираженість синдрому спастичності є співвідношення динаміки цього ускладнення з патофізіологічними механізмами перелічених періодів клінічного перебігу ХСМТ. Досі таких досліджень немає.

Мета дослідження: аналіз динаміки ХСМТ, ускладненої тривалою компресією СМ імплантованим у вогнище ураження стороннім тілом.

### Матеріали і методи дослідження

Як первинні цифрові дані використано емпіричний матеріал, отриманий у ряді попередніх досліджень [13 – 15], виконаних з дотриманням чинних норм біоетики на статевозрілих білих щурах–самцях віком 5,5 міс та масою тіла 300 г інбредної лінії, похідної породи Wistar (віварії Інституту нейрохірургії імені А. П. Ромоданова НАМН України). Експериментальні групи: група 1 (n=16) – травма СМ; група 2 (n=10) – травма СМ та негайна імплантатія у зону ураження стороннього тіла. Модель травми – лівобічний половинний перетин (ЛПП) СМ на рівні T11.

Оперативні втручання здійснено в умовах загальногонеболенья [16]. Як стороннє тіло використовували цільний фрагмент гідрогеля, синтезованого на основі N–(2–гідроксипропіл)–метакриламід, з високим коефіцієнтом пористої щільності та пружності, об'ємом 2 мм<sup>3</sup> [13]. Операційну рану пошарово зашивали. Застосовували системну антибактеріальну (біцилін–5, ВАТ «Київмедпрепарат») та протизапальну (дексаметазон, «KRKA», Словенія) терапію у звичайних дозах [13].

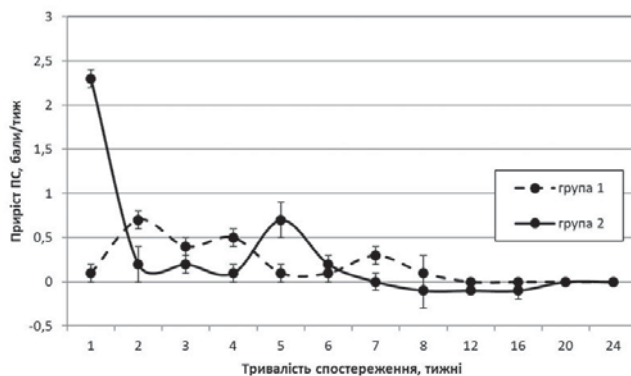


Рис. 1.  
Динаміка  $V_{\text{ПС}}$  паретичної кінцівки щура в експериментальних групах впродовж загального періоду спостереження.  
Примітка. Терміни спостереження, на яких різниці між значеннями  $V_{\text{ПС}}$  у групах вказані у тексті.

ПС задньої іпсилатеральної щодо зони травми кінцівки оцінювали згідно зі шкалою Ashworth [15, 17]. Враховуючи асинхронність визначення ПС у різних когортах кожної експериментальної групи, у цьому та ряді попередніх досліджень [13 – 18] використано стандартизовану часову шкалу відображення результатів, яка включає 1 – 8, 12, 16, 20–й та 24–й тиж загального періоду спостереження. Індивідуальні результати моніторингу ПС приведено у відповідність до стандартизованої часової шкали шляхом квазілінійної рандомізованої інтерполяції за алгоритмом ковзного середнього. Відсутність суттєвого впливу використаного алгоритму на динаміку та внутрішньогруповий розподіл досліджуваних показників верифіковано окремим дослідженням з використанням релевантних методів статистичного аналізу.

Протягом перших 2 міс спостереження щотижневий приріст ПС (швидкість зміни ПС з точністю до одного тижня згідно зі 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 у межах програмного пакета STATISTICA 10.0 на персональному комп'ютері, умовно вважаючи значення ПС,  $V_{\text{ПС}}$  і  $a_{\text{ПС}}$  одразу після виходу тварини зі стану наркотичного сну рівними нулю (стан спінального шоку).

Починаючи з 3–го міс  $V_{\text{ПС}}$  визначали за формулою:

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

де n – місяць спостереження.

Аналогічно обчислювали  $a_{\text{ПС}}$ .

Для порівняльної оцінки середніх значень досліджуваних показників у групах використовували непараметричний U–тест Манна–Уїтні (Mann–Whitney U–test). У всіх спостереженнях припущення щодо статистичної значущості отриманого результату вважали вірним, якщо ймовірність нульової гіпотези була меншою 0,05 ( $p < 0,05$ ). Усереднені величини представляли у вигляді ( $M \pm m$ ), де M – середнє значення величини, m – стандартна похибка середнього значення.

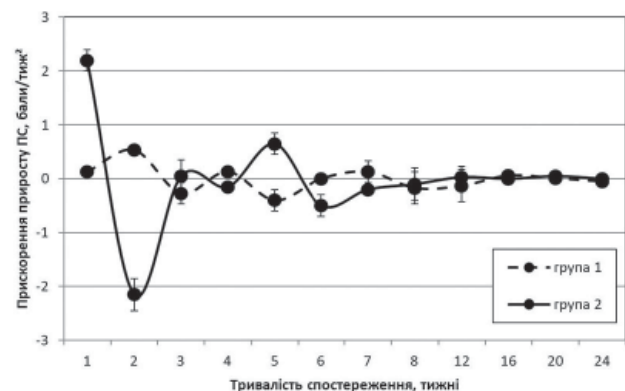


Рис. 2.  
Динаміка  $a_{\text{ПС}}$  паретичної кінцівки щура в експериментальних групах впродовж загального періоду спостереження.

### Результати

Для динаміки  $V_{\text{пс}}$  у групі 1 характерні 3 фази з максимумами на 2-му  $-(0,7 \pm 0,1)$  бала/тиж, 4-му  $-(0,5 \pm 0,1)$  бала/тиж та 7-му  $-(0,3 \pm 0,1)$  бала/тиж тижнях спостереження (рис. 1). Починаючи з 8-го тижня значення  $V_{\text{пс}}$  реєстрували на рівні нуля. Динаміка  $a_{\text{пс}}$  у цілому відповідала динаміці, виявленій для  $V_{\text{пс}}$  (рис. 2), амплітуда коливань протягом загального періоду спостереження поступово зменшувалася, період – збільшувався (2, 3 та 9 – 16 тижнів). За даними попередніх досліджень [15], достовірними виявилися зміни ПС, реєстровані станом на 2, 3, 4, 6, 7-й та 20-й тижні.

Динаміка  $V_{\text{пс}}$  у групі 2 характеризувалася наявністю повільного прогресивного дебюту –  $(0,2 \pm 0,1)$  бала/тиж, інтенсивним збільшенням протягом 5-го тижня  $-(0,7 \pm 0,2)$  бала/тиж, коли значення  $a_{\text{пс}}$  дорівнювали  $(0,7 \pm 0,2)$  бала/тиж<sup>2</sup>, повільного зменшення протягом 3 – 6-го місяців  $-(0,1 \pm 0,1)$  бала/тиж (рис. 2). Максимальні значення  $V_{\text{пс}}$  реєстрували на 1-му та 5-му тижнях, мінімальні – протягом 3 – 4-го тижнів. Статистично значущу різницю з показниками у групі 1 виявляли на 1-му та 2-му ( $p < 0,001$ ), 5-му ( $p = 0,003$ ) та 6-му ( $p = 0,024$ ) тижнях.

### Обговорення

Отримані дані свідчать, що впродовж загального періоду спостереження, особливо протягом 1 – 5-го тиж, динаміка змін ПС в обох групах протилежна. На відміну від звичайного для тяжкої ХСМТ [19] наростання спастичності протягом раннього та проміжного періодів (у даному дослідженні – протягом 2 – 4-го та 7 – 8-го тижнів), у разі компресії СМ стороннім тілом максимальні значення  $V_{\text{пс}}$  спостерігали протягом 1-го та 5-го тижнів травматичного процесу. Протягом пізнього періоду (7 – 24-й тижні) рівень спастичності повільно зменшувався, що пов'язано, як ми повідомляли раніше [13 – 15], з деформацією стороннього тіла і зменшенням локальної компресії СМ. Оскільки маніфестація спастичності у гострому та ранньому періодах травми пов'язана з розгальмуванням глутаматергічної системи передачі збудження у нейрональних мережах СМ [20], причиною якого може бути гіпоксія [21, 22], механізмом раннього дебюту спастичності при модельованому варіанті ХСМТ, вірогідно, є компресійна ішемія СМ. Водночас можна припускати, що реєстрований на 5-му тиж приріст спастичності за цих експериментальних умов є проявом зміщеної за невідомих причин у часі реалізації залежного від серотонінових та норадреналінових рецепторів механізму спастичності [19]. Ймовірно, глутаматергічне фосфоліпаза-С-залежне збільшення продукції інозитол-6-фосфату – кофактора деамінази ADAR2 [19] – спричиняє відтермінування періоду зниження загальної активності пулу цього ферменту, незважаючи на опосередковане запальним процесом зменшення його експресії [23].

### Висновки

1. Компресія СМ стороннім тілом суттєво збільшує маніфестацію спастичності у гострому та ранньому періодах спінальної травми, що можна пояснити залежним від ішемії глутаматергічним впливом на денервовані мотонейрони.

2. Друга фаза приросту спастичності за аналогічних експериментальних умов припадає на 5-й тиж травматичного процесу і може бути пов'язана з відтермінованою реалізацією залежного від серотонінового рецептора 5-НТ<sub>2С</sub> механізму.

### References

1. Blair JA, Patzkowski JC, Schoenfeld AJ, Cross Rivera JD, Grenier ES, Lehman RA, et al. Are spine injuries sustained in battle truly different? *Spine J.* 2012 Sep; 12(9):824–9. doi: 10.1016/j.spinee.2011.09.012.
2. Polishchuk M, Danchin A, Isaenko A, Tkachenko O, Melnik N, Danchin G, et al. Gunshot wounds of the spine and spinal cord in a local wars (literature review and analysis of own observations). *Ukrainian Neurosurgical journal.* 2015 Jan; 1: 16–22. [In Ukrainian].
3. Guriev SO, Kravtsov DI, Ordatsiy AV, Kazachkov VYe. Clinical, nosological and anatomical aspects of mine-blast trauma victims on the early hospital care stage in modern warfare (Case study: anti-terrorist operation in eastern Ukraine). *Surgery of Ukraine.* 2016 Jan; 1:7–11. [In Ukrainian].
4. Karim NO, Nabors MW, Golocovsky M, Cooney FD. Spontaneous migration of a bullet in the spinal subarachnoid space causing delayed radicular symptoms. *Neurosurgery.* 1986 Jan;18(1): 97–100.
5. Groen RJ, Kafiluddin EA, Hamburger HL, Veldhuizen EJ. Spinal cord injury with a stingray spine. *Acta Neurochir (Wien).* 2002 May;144(5):507–8. doi: 10.1007/s007010200075.
6. Güzelkükük Ü, Demir Y, Kesikburun S, Aras B, Yavuz F, Yaşar E, et al. Spinal cord injury resulting from gunshot wounds: a comparative study with non-gunshot causes. *Spinal Cord.* 2016 Sep; 54(9): 737–41. doi: 10.1038/sc.2016.29.
7. Slynko YeI. Urgentna neirokhirurgichna dopomoga pry uskladneniy khrebetno-spynomozkoviy travmi na Ukraini. *Ukrainian Neurosurgical Journal.* 2005;3:63–74. [In Ukrainian].
8. Tsybaliuk VI, Medvediev VV. Spinnoj rozzn. Elegia nadezhdy. *Vinnytsya: V-vo Nova Knyga;* 2010: 944. [In Russian].
9. Moghaddam A, Child C, Bruckner T, Gerner HJ, Daniel V, Biglari B. Posttraumatic inflammation as a key to neuroregeneration after traumatic spinal cord injury. *Int J Mol Sci.* 2015 Apr 9;16(4):7900–16. doi: 10.3390/ijms16047900.
10. Siebert JR, Eade AM, Osterhout DJ. Biomaterial approaches to enhancing neurorestoration after spinal cord injury: strategies for overcoming inherent biological obstacles. *BioMed Research International [Internet].* 2015 [cited 2016 Nov 20];2015:752572. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/752572>. doi: 10.1155/2015/752572.
11. Tsintou M, Dalamagkas K, Seifalian AM. Advances in regenerative therapies for spinal cord injury: a biomaterials approach. *Neural Regen Res.* 2015 May;10(5):726–42. doi: 10.4103/1673-5374.156966.
12. Kjell J., Olson L. Rat models of spinal cord injury: from pathology to potential therapies. *Dis Model Mech.* 2016 Oct 1;9(10):1125–37. doi: 10.1242/dmm.025833.
13. Tsybalyuk VI, Medvedyev VV, Semenova VM, Grydina NYa, Yaminskyi YuYa, Senchyk YuYu, et al. Durable persistence of a biocompatible foreign body in a vertebral channel in open penetrating trauma of a spinal cord: clinico-experimental and pathomorphological peculiarities. *Klinicheskaiia Khirurgiia.* 2016;8:64–9. [In Ukrainian].
14. Tsybaliuk VI, Medvediev VV, Semenova VM, Grydina NYa, Yaminsky YuYa, Senchyk YuYu, et al. Clinical and pathomorphological features of penetrating spinal cord injury model with prolonged persistence of a foreign body in the vertebral canal. *Ukrainian Neurosurgical Journal.* 2016;4:16–25. [In Ukrainian].
15. Tsybalyuk VI, Medvedyev VV, Grydina NYa, Senchyk YuYu, Tatarchuk MM, Dragunsova NG, et al. A simulation model of the open penetrating spinal cord trauma with durable persistence of biocompatible foreign body of the vertebral column channel. Syndrome of posttraumatic spasticity. *Klinicheskaiia Khirurgiia.* 2016;10:67–71. [In Ukrainian].
16. Tsybaliuk VI, Medvediev VV, Semenova VM, Grydina NYa, Senchyk YuYu, Velychko OM, et al. The model of lateral spinal cord hemisection. Part I. The technical, pathomorphological, clinical and ex-

- perimental peculiarities. *Ukrainian Neurosurgical Journal*. 2016;2:18–27. [In Ukrainian].
17. Tsymbaliuk VI, Medvedev VV, Grydina NYa, Senchyk YuYu, Suliy LM, Tatarchuk MM, et al. The model of spinal cord lateral hemisection. Part II. State of the neuromuscular system, syndrome of post-injury spasticity and chronic pain syndrome *Ukrainian Neurosurgical Journal*. 2016;3:9–17. [In Ukrainian].
  18. Tsymbalyuk VI, Medvedyev VV, Rybachuk OA, Kozyavkin VI, Draguntsova NG. The impact of xenotransplantation of neurogenic stem cells in complex with the tissue matrix NeuroGel™ on the posttraumatic spasticity syndrome course in experiment. *Klinicheskaiia Khirurgiia*. 2017;3:44–7. [In Ukrainian].
  19. D'Amico JM, Condliffe EG, Martins KJ, Bennett DJ, Gorassini MA. 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];8:36. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnint.2014.00036/full>. doi: 10.3389/fnint.2014.00036.
  20. Ditunno JF, Little JW, Tessler A, Burns AS. Spinal shock revisited: a four-phase model. *Spinal Cord*. 2004; 42(7): 383–95. doi: 10.1038/sj.sc.3101603.
  21. Liu SG, Wang YM, Zhang YJ, He XJ, Ma T, Song W, et al. ZL006 protects spinal cord neurons against ischemia-induced oxidative stress through AMPK–PGC-1 $\alpha$ –Sirt3 pathway. *Neurochem Int*. 2017 Sep;108:230–237. doi: 10.1016/j.neuint.2017.04.005.
  22. Umebayashi D, Natsume A, Takeuchi H, Hara M, Nishimura Y, Fukuyama R, et al. Blockade of gap junction hemichannel protects secondary spinal cord injury from activated microglia-mediated glutamate excitotoxicity. *J Neurotrauma*. 2014 Dec 15;31(24):1967–74. doi: 10.1089/neu.2013.3223.
  23. Di Narzo AF, Kozlenkov A, Ge Y, Zhang B, Sanelli L, May Z, 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 Jul 30;5:12615. Available from: <http://www.nature.com/articles/srep12615>. doi: 10.1038/srep12615.