

Гарифулин Равиль Расимович

**ВЛИЯНИЕ АУТОЛОГИЧНОГО ЛЕЙКОКОНЦЕНТРАТА,
ОБОГАЩЕННОГО ГЕНЕТИЧЕСКИМ МАТЕРИАЛОМ,
НА ПОСТТРАВМАТИЧЕСКУЮ РЕГЕНЕРАЦИЮ СПИННОГО МОЗГА У
СВИНЕЙ**

1.5.22. Клеточная биология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Исламов Рустем Робертович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, доцент

Ишунина Татьяна Александровна

(Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра гистологии, эмбриологии, цитологии, профессор кафедры)

доктор биологических наук, профессор

Зиматкин Сергей Михайлович

(Учреждение образования «Гродненский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Республики Беларусь, кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии, заведующий кафедрой)

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «___» _____ 2026 г. в «___» часов на заседании диссертационного совета 21.2.046.05, созданного на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, д. 52)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, ул. Залесского, д. 4; тел. +7(383)222-68-35; <https://new.ngmu.ru/dissers/get-file/5184>)

Автореферат разослан «_____» _____ 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

Светлана Васильевна Залавина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность избранной темы. Позвоночно-спинномозговая травма относится к наиболее тяжелым и часто встречаемым повреждениям опорно-двигательного аппарата и центральной нервной системы (ЦНС), и лечение ее последствий является одной из актуальных проблем современной медицины в области нейрохирургии и травматологии. Негативные последствия травматического повреждения спинного мозга (СМ) обусловлены значительным количеством осложнений, связанных с нарушением двигательных, чувствительных и вегетативных функций у таких пациентов, и высоким уровнем их инвалидизации, приводящей к социальной и психологической дезадаптации (Морозов И. Н., Млявых С. Г., 2011; Yari D. et al., 2024). За последние 30 лет распространенность травмы спинного мозга (ТСМ) увеличилась с 236 до 1298 случаев на миллион населения, и, по некоторым оценкам, ежегодно в мире регистрируется от 250 000 до 500 000 случаев ТСМ (Anjum A. et al., 2020; Bilchak J. N., Caron G., Côté M.-P., 2021).

В значительной степени негативные последствия ТСМ напрямую зависят от степени тяжести и уровня повреждения СМ (Alizadeh A., Dyck S. M., Karimi-Abdolrezaee S., 2019). Такие травмы могут возникать в результате смещения позвонков или перелома позвоночника, что приводит к компрессии (сдавлению) или трансекции (разрыву) тканей СМ. Нарушения целостности структур СМ (первичные повреждения) в свою очередь запускают развитие вторичных посттравматических повреждений СМ, увеличивающих область первичной травмы и приводящих к большим осложнениям (Eli I., Lerner D. P., Ghogawala Z., 2021; Oyinbo C. A., 2011). К сожалению, существенным лимитирующим фактором посттравматической регенерации СМ является изначально ограниченный регенераторный потенциал нейронов ЦНС (Zheng B., Tuszynski M. H., 2023).

Еще одной нерешенной проблемой являются последствия патологических сдвигов при ТСМ, которые развиваются и в областях, удаленных от первичного очага повреждения СМ, но функционально связанных с ним (Chelyshev Y., 2022). Зона вторичного повреждения СМ постепенно распространяется от эпицентра травмы в ростральном и каудальном направлениях, что следует учитывать при выборе тактики лечения и реабилитации пациентов с ТСМ (Ohnishi Y. et al., 2021).

Несмотря на то, что последние достижения в молекулярной биологии расширили наши представления об основных патофизиологических процессах, развивающихся после ТСМ, стандартные протоколы ведения пациентов с ТСМ до сих пор направлены лишь на симптоматическое лечение и облегчение общего состояния, но кардинально не решают проблему преодоления возникших посттравматических последствий (Hayta E., Elden H., 2018). Следует также отметить, что длительная терапия таких пациентов и повседневный уход за ними

создают в семье существенные моральные, экономические и социальные проблемы, отражающиеся в конечном итоге и на государственном уровне (Budd M. A., Gater D. R., Channell I., 2022; Cardile D. et al., 2024; Nas K. et al., 2015). Вот почему разработка принципиально новых подходов терапии пациентов со спинальной травмой, направленных на сдерживание массовой гибели нейронов СМ, стимулирование посттравматической регенерации их аксонов и формирование новой транстравматической нейронной сети, является одной из актуальных проблем в современной медицине в целом и неврологической практике в частности (Uchida K. et al., 2014; Zheng B., Tuszynski M. H., 2023).

Степень разработанности темы диссертации. На сегодняшний день терапия ТСМ включает ряд направлений: раннюю хирургическую декомпрессию СМ, использование вазопрессорных препаратов и введение высоких доз кортикостероидов. Однако эффективность таких методов терапии пациентов с ТСМ невысока и напрямую зависит от тяжести повреждения СМ и времени начала лечения (Karsy M., Nawryluk G., 2019).

Наряду с традиционными подходами одним из современных, обладающих большим потенциалом преодоления последствий ТСМ подходов является генная терапия. С помощью генной терапии для стимулирования посттравматической регенерации в область эпицентра нейротравмы доставляют рекомбинантные гены, кодирующие различные факторы, регулирующие выживаемость нейронов, рост аксонов, синаптогенез (Islam A., Tom V. J., 2022; Zavvarian M.-M. et al., 2020). В зависимости от способа доставки терапевтических генов различают прямую (*in vivo*) и клеточно-опосредованную (*ex vivo*) генные терапии (Lee C. S. et al., 2017). Прямая генная терапия подразумевает доставку терапевтических генов с использованием вирусных векторов, которые непосредственно вводят в организм пациента. К наиболее часто используемым для этого вирусным системам относят аденовирусы (Ad), аденоассоциированные вирусы (AAV) и лентивирусы (ЛВ). Применение вирусных векторов для доставки терапевтических генов уже доказало свою эффективность в лечении некоторых видов рака, инфекционных и наследственных заболеваний, и клинические исследования с их использованием продолжают расширяться (Zhao Z., Anselmo A. C., Mitragotri S., 2021). Генно-клеточная терапия основана на доставке терапевтических генов с помощью клеточных носителей – стволовых или зрелых соматических клеток ауто- или аллогенного происхождения. Доставку терапевтических генов в клетку *ex vivo* преимущественно осуществляют с помощью вирусных систем (Arabi F., Mansouri V., Ahmadbeigi N., 2022). Однако использование клеточных носителей позволяет снизить иммуногенное или цитотоксическое действие вируса на организм реципиента (High K. A., Roncarolo M. G., 2019; Shirley J. L. et al., 2020).

Для стимулирования посттравматической нейрорегенерации могут быть использованы гены с нейротрофическими эффектами, такие как сосудистый эндотелиальный фактора роста

(VEGF), глиальный нейротрофический фактор (GDNF) и молекула клеточной адгезии нейронов (NCAM) (Deznabi N., Hosseini S., Rajabi M., 2023; Duncan B. W., Murphy K. E., Maness P. F., 2021; Li S. et al., 2022; Sosnovtseva A. O. et al., 2021). Перечисленные факторы играют важную роль в развитии, поддержании и функционировании нервной системы, и терапевтическая ценность такого подхода заключается в повышении их содержания в области нейротравмы (Ebrahimi P. et al., 2024). Однако выбор клеточного носителя терапевтических генов до сих пор остается сложной задачей. Клетки для *ex vivo* генной терапии должны отвечать требованиям безопасности, достаточное время сохранять жизнеспособность после трансплантации и обеспечивать высокую секреторную активность определенное время (Gowing G., Svendsen S., Svendsen C. N., 2017).

Мононуклеарные клетки пуповинной крови (МКПК) являются хорошо изученным в регенеративной медицине объектом, который применяют для клеточной терапии самых различных соматических заболеваний (Harris D. T. et al., 2007; Penny T. R. et al., 2024; Wang J., Metheny L., 2023). Трансплантацию генетически модифицированных МКПК, продуцирующих рекомбинантные нейротрофические факторы, такие как VEGF, GDNF и NCAM, использовали для сдерживания гибели мотонейронов у трансгенных мышей с фенотипом бокового амиотрофического склероза, а также для стимулирования посттравматической и постишемической нейрорегенерации у крыс и свиней после инсульта головного мозга или TCM (Islamov R. R. et al., 2017a, 2017b; Izmailov A. A. et al., 2017; Markosyan V. et al., 2020; Mukhamedshina Y. O., Rizvanov A. A., 2016).

Существенными недостатками использования МКПК в качестве клеточного носителя для генно-клеточной терапии являются не только риски, связанные с аллотрансплантацией МКПК, но и относительно небольшое содержание мононуклеарных клеток в крови пуповины, которые можно получить от одного донора, что ограничивает трансплантацию МКПК взрослым пациентам в практической медицине. В этой связи применение для доставки терапевтических генов в организм пациента его собственных (аутологичных) лейкоцитов, выделенных из венозной (периферической) крови, может стать одним из успешных направлений в персонализированной генно-клеточной терапии, например дегенеративных, ишемических и травматических повреждений ЦНС, включая TCM.

Цель исследования. Оценить морфофункциональное состояние поясничного отдела спинного мозга у свиней с контузионной травмой в нижнегрудном отделе в условиях внутривенного введения аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного генами сосудистого эндотелиального фактора роста (*vegfl65*), глиального нейротрофического фактора (*gdnf*) и нейрональной молекулы клеточной адгезии (*ncam1*).

Задачи исследования:

1. Получить обогащенный генетическим материалом аутологичный лейкоконцентрат на основе периферической крови свиней и химерных аденовирусных векторов, несущих гены сосудистого эндотелиального фактора роста (Ad5/35F-VEGF165), глиального нейротрофического фактора (Ad5/35F-GDNF) и нейрональной молекулы клеточной адгезии (Ad5/35F-NCAM1), и оценить синтез рекомбинантных белков генетически модифицированными лейкоцитами *in vitro*.

2. Изучить морфофункциональные нарушения в удаленном от эпицентра нейротравмы поясничном отделе (L6-S1) спинного мозга свиньи с контузионной травмой в нижнегрудном отделе (Th8-Th9).

3. Изучить морфологические и электрофизиологические изменения в нервно-мышечном аппарате (большеберцовом нерве и камбаловидной мышце) задних конечностей свиньи с контузионной травмой в нижнегрудном отделе (Th8-Th9).

4. Оценить влияние внутривенной инфузии аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного генами *vegfl65*, *gdnf* и *ncam1*, на морфофункциональное восстановление поясничного отдела (L6-S1) спинного мозга и нервно-мышечного аппарата (большеберцового нерва и камбаловидной мышцы) задних конечностей свиньи с контузионной травмой в нижнегрудном отделе (Th8-Th9).

Научная новизна. Разработан способ получения аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного генами *vegfl65*, *gdnf*, *ncam1*, и его применения для терапии спинальной травмы у свиньи (патент РФ на изобретение № 2784233).

В настоящем исследовании получены приоритетные данные о вторичном повреждении СМ в удаленном от эпицентра нейротравмы поясничном отделе (L6-S1) спинного мозга свиньи с контузионной травмой в нижнегрудном отделе (Th8-Th9), свидетельствующие о распространении вторичных повреждений в каудальном направлении.

Новыми являются данные о том, что через 2 месяца после нейротравмы в поясничном отделе СМ выявляются негативные изменения функционального состояния нейронов и патологическое распределение нейроглиальных клеток. Также установлены нарушения в нервно-мышечном аппарате нижних конечностей свиней, проявляющиеся в нарушении двигательной функции. Морфометрический анализ показал, что в этих условиях в большеберцовом нерве наблюдается уменьшение количества миелиновых волокон и увеличение толщины миелина и диаметра аксона нервного волокна. В камбаловидной мышце у таких животных на фоне снижения мышечной массы происходило уменьшение средней площади поперечного сечения мышечных волокон (МВ) и количества медленных МВ при ТСМ. При электрофизиологическом исследовании скелетных мышц травмированных свиней был

обнаружен полифазный М-ответ с увеличенной длительностью и амплитудой. Полученные данные электрофизиологического и морфологического исследования скелетных мышц свидетельствуют о развитии денервационного синдрома у свиней с контузионной ТСМ в нижнегрудном отделе (Th8-Th9).

Через 2 месяца после контузионной травмы у животных в условиях внутривенного введения аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного генами *vegfl65*, *gdnf*, *ncam1*, выявлено положительное ремоделирование нейроглиальных клеток и восстановление экспрессии синаптических белков в двигательных нейронах поясничного отдела СМ. Привнесенные гуморальные факторы обеспечивают сохранность нервных волокон в составе большеберцового нерва, предотвращение атрофии скелетных мышц и трансформации медленных мышечных волокон в быстрые после ТСМ свидетельствуют о сохранности двигательных нейронов поясничного отдела СМ, иннервирующих скелетные мышцы задних конечностей и обеспечивающих их нейротрофическим контролем.

Теоретическая и практическая значимость работы. Фундаментальное значение выполненного исследования определяется новыми данными о клеточных основах вторичных повреждений в поясничном отделе СМ свиньи после контузионной травмы в нижнегрудном отделе. Обнаруженные изменения экспрессии синаптических белков (синаптофизина, белка постсинаптической плотности 95 кДа, холинацетилтрансферазы) и негативное ремоделирование клеток нейроглии в поясничном утолщении СМ после его травмы дополняют нынешние представления о механизме распространения нейродегенерации в удаленную от эпицентра повреждения область. Снижение количества миелинизированных нервных волокон, увеличение их диаметра и толщины миелиновой оболочки в большеберцовом нерве, наряду с атрофией и изменением фенотипа камбаловидной мышцы задней конечности, свидетельствуют о нарушении нейротрофического контроля как со стороны центральных нейронов, так мотонейронов СМ в этих условиях. Результаты внутривенного введения аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного генами *vegfl65*, *gdnf*, *ncam1*, свиньям с ТСМ дают основание полагать, что положительный эффект на морфофункциональные характеристики поясничного утолщения клеток СМ, большеберцового нерва и камбаловидной мышцы обусловлен действием рекомбинантных терапевтических молекул VEGF165, GDNF и NCAM1, продуцируемых аутологичными генетически модифицированными лейкоцитами свиньи.

Данные о способе получения и применения аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного генами *vegfl65*, *gdnf*, *ncam1*, для стимулирования посттравматической регенерации спинного мозга у свиньи могут стать основой для разработки генно-клеточного препарата на основе лейкоцитов человека и терапевтических генов с нейротрофическим действием для персонализированной генной терапии пациентов с ТСМ.

Методология и методы диссертационного исследования. Исследование одобрено Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол заседания № 5 от 26.05.2020) и поддержано грантом РФФИ № 16-15-00010. Контузионную травму спинного мозга в нижнегрудном отделе у свиней моделировали по ранее разработанному нами способу (Islamov R. et al., 2022). Аутологичный лейкоконцентрат, обогащенный искусственным генетическим материалом, готовили из периферической крови свиньи и химерных аденовирусных векторов (Ad5/F35), несущих по отдельности терапевтические гены *gdnf*, *vegfl65* и *ncam1*, по оригинальному протоколу (Islamov R. et al., 2022; Islamov R. R. et al., 2021). Эффективность введения генно-клеточного препарата свиньям с контузионной ТСМ оценивали с помощью поведенческих тестов, гистологических и электрофизиологических методов исследования. Статистический анализ и визуализацию данных проводили в среде R версии 4.1.2 (R Foundation for Statistical Computing, Вена, Австрия). Для сравнения экспериментальных групп использовали тест Краскела – Уоллиса с апостериорным тестом Данна. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Положение, выносимое на защиту

Однократное внутривенное введение аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного рекомбинантными генами *vegfl65*, *gdnf* и *ncam1*, оказывает положительное влияние на посттравматическую регенерацию спинного мозга у свиней с контузионной травмой в нижнегрудном отделе, проявляющееся сдерживанием развития вторичных повреждений, а именно увеличением экспрессии синаптических белков, снижением астроглиоза и ростом числа олигодендроцитов в поясничном утолщении спинного мозга, а также морфологической сохранностью периферических нервов и скелетных мышц задних конечностей и восстановлением двигательной активности животных.

Степень достоверности. В исследовании для достижения поставленных задач были использованы современные морфологические, функциональные и статистические методы исследования.

Апробация результатов исследования. Основные результаты диссертационного исследования были представлены и обсуждены на: 28-й Международной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов» (Москва, 2021); 8-м Международном молодежном научном медицинском форуме «Белые цветы» (Казань, 2021); 5-м национальном конгрессе по Регенеративной Медицине (Москва, 2022); научно-практической конференции «Вопросы морфологии XXI века: инновационные технологии в исследованиях, диагностике и преподавании» (Санкт-Петербург, 2022); 10-м Международном молодежном научном медицинском форуме «Белые цветы», посвященном 150-летию С. С. Зимницкого (Казань, 2023);

11-м Международном молодежном научном медицинском форуме «Белые цветы» посвященном 150-летию Н. А. Семашко (Казань, 2024).

Диссертационная работа апробирована на заседании научной проблемной комиссии «Фундаментальные медицинские и биологические науки» ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России (Казань, 2025).

Внедрение результатов исследования. Результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс кафедр гистологии, цитологии и эмбриологии и оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Публикации. По теме диссертации опубликованы 14 научных работ, в том числе 2 патента на изобретение и 4 статьи в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и систем цитирования Scopus и Web of Science, из них 2 статьи в научных журналах и изданиях, включенных в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук.

Объем и структура работы. Диссертационная работа представлена в виде специально подготовленной рукописи и оформлена в соответствии с требованиями ГОСТ Р 7.0.11-2011.

Диссертация изложена на 142 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, перспективы дальнейшей разработки темы, списка сокращений и условных обозначений и списка литературы. Список литературы представлен 262 источниками, из которых 255 в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 9 таблиц и 26 рисунков.

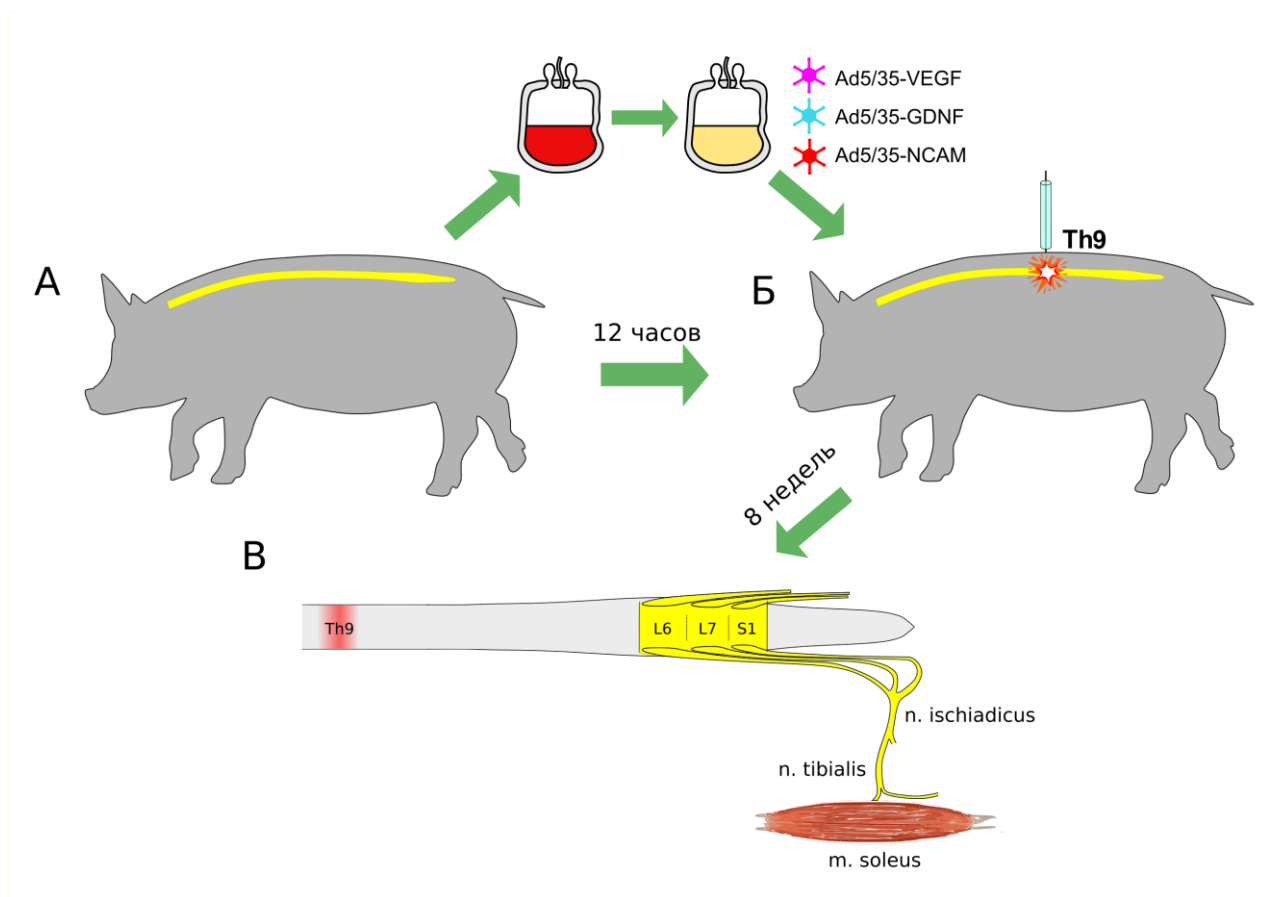
Личный вклад автора. Диссертант лично принимал участие в планировании дизайна эксперимента, формулировании целей и задач исследования. Соискатель самостоятельно выполнил экспериментальную часть работы: забирал биологический материал, готовил гистологические препараты, анализировал и проводил статистическую обработку полученных данных, готовил к печати статьи и тезисы по результатам выполненных работ. Текст диссертации, положение, выносимое на защиту, и выводы исследования подготовлены лично диссертантом.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Получение генно-клеточного препарата. Согласно дизайну эксперимента за 12 часов до моделирования нейротравмы у свиней забирали 50 мл периферической крови из подключичной вены (*v. subclavia*) в гематологический контейнер (Рисунок 1). Генно-клеточный препарат готовили в гематологическом контейнере по оригинальной методике (Islamov R. R. et al., 2021),

которая включала в себя последовательно элиминацию эритроцитов, отмывку и доведение объема полученного лейкоконцентрата до 30 мл стерильным физиологическим раствором и трансдукцию лейкоконцентрата химерными аденовирусными векторами в равном соотношении каждого (1/3 Ad5/35-GDNF, 1/3 Ad5/35-VEGF165 и 1/3 Ad5/35-NCAM1) с MOI (multiplicity of infection – множественность инфицирования) равным 10.

Экспрессию трансгенов (*vegfl65*, *gdnf* и *ncam1*) в генетически модифицированных лейкоцитах оценивали иммунофлуоресцентным методом через 72 часа инкубации образцов генно-клеточного препарата в стандартных культуральных условиях. Иммунофлуоресцентное окрашивание с использованием специфических антител к молекулам VEGF, GDNF и NCAM обнаружило иммунопозитивные лейкоциты, продуцирующие рекомбинантные терапевтические молекулы.



Примечание: А – Забор 50 мл венозной крови и приготовление аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного генетическим материалом. Б – Моделирование контузионной травмы спинного мозга на уровне Th8-Th9 с последующим внутривенным введением аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного генетическим материалом, через 4 часа после моделирования нейротравмы. В – Забор поясничного утолщения спинного мозга (L6-S1), а также большеберцового нерва и камбаловидной мышцы с обеих задних конечностей.

Рисунок 1 – Дизайн эксперимента

Моделирование нейротравмы. Исследование выполнено на самках свиней породы вьетнамская вислобрюхая (25–30 кг; n = 11). Доступ к спинному мозгу осуществляли путем ламинэктомии. Контузионную травму спинного мозга моделировали путем удара импактора (металлический стержень) массой 50 г, падающего с высоты 50 см на открытый спинной мозг на уровне Th8-Th9, по ранее разработанному нами способу (Islamov R. et al., 2022). Хирургические манипуляции проводили в условиях операционной согласно санитарным правилам и нормам.

Через 4 часа после моделирования КТСМ животным из опытной группы внутривенно (через ушную вену) вводили 30 мл аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного рекомбинантными генами (*vegfl65*, *gdnf* и *ncam1*). Свиньям из контрольной группы вводили 30 мл нативного аутологичного лейкоконцентрата. Согласно дизайну эксперимента животные были разделены на 3 экспериментальные группы (Таблица 1).

Таблица 1 – Группы экспериментальных животных

Группа	Проводимые манипуляции
Контрольная группа (n = 4)	Забор периферической крови, моделирование контузионной ТСМ, введение нативного аутологичного лейкоконцентрата
Опытная группа (n = 4)	Забор периферической крови, моделирование контузионной ТСМ, введение аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного генетическим материалом (Ad5/35-VEGF165, Ad5/35-GDNF и Ad5/35-NCAM1)
Интактная группа (n = 3)	Здоровые животные, содержащиеся в стандартных условиях вивария

Оценка посттравматического морфофункционального восстановления спинного мозга у свиней на фоне введения аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного генетическим материалом

Поведенческий тест. Посттравматическое восстановление двигательных функций у экспериментальных животных с ТСМ оценивали с помощью поведенческого теста PTIBS по 10-бальной шкале (от англ. **P**orcine **T**horacic **I**njury **B**ehavioral **S**cale – Шкала поведения свиньи при травме грудного отдела спинного мозга) (Lee J. H. T. et al., 2013). Тестирование животных проводили до операции и через 2, 4 и 8 недель после ТСМ.

Через 2 недели после нейротравмы у всех экспериментальных животных наблюдалось резкое снижение двигательной активности. На 4 неделе животные из опытной группы пытались подтянуть задние конечности к животу и встать на них, что при оценке по шкале PTIBS

составило 2,0 (2,0; 2,75) балла. Животные из контрольной группы к этому времени лишь пытались двигать задними конечностями.

Через 8 недель животные из опытной группы демонстрировали активное сгибание в бедренном, коленном и голеностопном суставах задних конечностей, а также могли стоять на четырех конечностях и пытались делать шаги, что соответствовало 3,0 (2,25; 3,0) балла по шкале PTIBS. Животные из контрольной группы в это время лишь волочили задние конечности, передвигаясь на передних; оценка по шкале PTIBS составила 2,0 (1,75; 2,0) балла, что было меньше, чем в опытной группе ($p = 0,009$).

Электрофизиологическое исследование. Экспериментальным животным проводили игольчатую электромиографию скелетных мышц задних конечностей при стимуляции седалищного нерва одиночными прямоугольными импульсами с частотой 0,6 Гц, длительностью 0,2 мс и силой тока в диапазоне 4–72 мА. Электрофизиологические исследования проводили до моделирования нейротравмы и через 2, 4 и 8 недель после.

У животных из контрольной группы М-ответ имел полифазную форму, что связано с увеличением его продолжительности на 2-й ($165 \pm 7,1$ %), 4-й (194 ± 11 %) и 8-й ($190 \pm 8,5$ %) неделях после ТСМ. М-ответ в опытной группе животных также имел многофазный характер с увеличением продолжительности на 2-й (225 ± 6 %), 4-й ($161 \pm 5,9$ %) и 8-й ($185 \pm 15,7$ %) неделях. Амплитуда М-ответа была увеличена через 2 недели после ТСМ как в контрольной ($175 \pm 4,6$ %), так и в опытной ($274 \pm 19,4$ %) группах. На 4-й и 8-й неделях амплитуда М-ответа в контрольной группе снизилась до ($121 \pm 13,6$ %) и ($91 \pm 6,3$ %), а в опытной группе до ($108 \pm 22,6$ %) и (169 ± 15 %) соответственно.

Гистологическое исследование поясничного утолщения СМ. Через 60 суток после нейротравмы экспериментальных животных выводили из эксперимента. Образцы поясничного утолщения (L6-S1) фиксировали в 4 % растворе параформальдегида и готовили поперечные криостатные срезы толщиной 20 мкм.

Морфологическую сохранность нервной ткани в поясничном утолщении СМ оценивали на микропрепаратах, окрашенных гематоксилином и эозином. Патологические изменения, характерные для спинальной травмы, такие как очаги деструкции, лейкоцитарная инфильтрация, кистозные полости, в исследуемой области выявлены не были.

Для оценки состояния нейронов спинного мозга применяли иммунофлуоресцентный метод с использованием антител (АТ) против белка калий-хлорного котранспортера 2 (KCC2), холинацетилтрансферазы (Chat), синаптофизина и белка постсинаптической плотности молекулярной массой 95 кДа (PSD95). На оцифрованных препаратах экспрессию целевых молекул изучали в передних рогах СМ на площади $0,05 \text{ мм}^2$. Экспрессию KCC2, Chat, синаптофизина и PSD95 оценивали как относительную иммунопозитивную площадь и

представляли в процентах от исследуемой площади СМ.

Анализ экспрессии Chat в передних рогах поясничного отдела СМ показал, что относительная иммунопозитивная площадь данного маркера у животных из опытной группы была выше (3,569 (3,520; 4,416) %, $p = 0,0173$) при сравнении с контрольными животными (1,766 (0,789; 2,632) %) и не отличалась от показателей интактной группы (3,382 (2,343; 3,752) %). Снижение экспрессии PSD95 также было обнаружено у животных из контрольной группы (38,308 (34,474; 42,513) %) в сравнении с животными из интактной группы (44,132 (42,856; 48,104) %) ($p = 0,0235$). В опытной группе экспрессия PSD95 (42,463 (39,947; 47,107) %) не отличалась от значений интактной группы. Анализ относительной иммунопозитивной площади синаптофизина и KCC2 в передних рогах поясничного утолщения СМ не выявил значительных отличий в контрольной и опытной группах при сравнении с интактной группой.

Ремоделирование нейроглии в поясничном утолщении спинного мозга экспериментальных животных исследовали с помощью иммунофлуоресцентного окрашивания. Астроциты идентифицировали с использованием АТ к глиальному фибриллярному кисломому белку (GFAP), олигодендроциты – АТ к транскрипционному фактору олигодендроцитов 2 (Olig2), клетки микроглии – АТ к ионизированной кальций-связывающей адаптерной молекуле 1 (Iba1). На оцифрованных препаратах СМ экспрессию целевых молекул изучали в передних и задних рогах на площади 0,05 мм². Экспрессию глиальных (GFAP, Iba1) маркеров оценивали как относительную иммунопозитивную площадь и представляли в процентах от исследуемой площади. При подсчете количества олигодендроцитов (Olig2-позитивных ядер) учитывали совпадение иммунопозитивных ядер и ядер, окрашенных с помощью DAPI.

Анализ экспрессии GFAP показал увеличение относительной GFAP-позитивной площади в задних рогах СМ у животных из контрольной группы (19,871 (15,677; 23,700) %, $p = 0,002$) при сравнении с интактными животными (10,095 (9,165; 12,101) %). В опытной группе GFAP-позитивная площадь в передних и задних рогах поясничного утолщения СМ не отличалась от значений интактной группы. Оценка экспрессии Iba1 показала увеличение его иммунопозитивной площади у животных из контрольной и опытной групп как в передних (25,409 (20,503; 26,254) %, $p = 0,0001$; 14,657 (12,976; 15,744) %, $p = 0,003$), так и задних (22,190 (14,292; 23,533) %, $p = 0,001$; 15,386 (13,332; 17,112) %, $p = 0,0006$) рогах СМ в сравнении с животными из интактной группы (9,802 (7,347; 10,611) % и 8,118 (7,580; 8,794) %). Анализ количества Olig2-позитивных ядер в передних рогах СМ выявил их снижение в контрольной (5,0 (4,0; 6,0), $p = 0,0001$) и опытной (7,5 (6,0; 8,0), $p = 0,0055$) группах. В задних рогах количество Olig2-позитивных ядер было снижено в контрольной группе 3,0 (2,0; 4,25) при сравнении с интактной ($p = 0,0001$) и опытной группами 13,0 (11,0; 14,75) ($p = 0,0006$).

Гистологическое исследование скелетных мышц проводили через 60 суток после нейротравмы. У экспериментальных животных забирали и взвешивали камбаловидные мышцы (*m. soleus*) с обеих задних конечностей, фиксировали в 4 % растворе параформальдегида и готовили поперечные криостатные срезы толщиной 10 мкм, а также парафиновые срезы толщиной 7 мкм. Парафиновые поперечные срезы *m. soleus* окрашивали гематоксилином и эозином, на оцифрованных микропрепаратах измеряли площадь поперечного сечения (мкм²) 200 МВ. Криостатные поперечные срезы применяли для иммуофлуоресцентного окрашивания с помощью АТ к тяжелым цепям медленного миозина с целью фенотипирования скелетных МВ в *m. soleus*. Количество медленных МВ выражали в процентах.

Через 8 недель после ТСМ сырая масса (г) *m. soleus* в контрольной группе животных была ниже (3,52 (3,47; 5,52)) при сравнении с интактной (9,90 (9,32; 11,32), $p = 0,0031$) и опытной (9,76 (9,38; 12,90), $p = 0,0013$) группами, значения которых не отличались друг от друга. Содержание медленных МВ в *m. soleus* интактных животных составило 91,74 (90,13; 93,91) %, однако данный показатель был ниже в контрольной группе животных (44,35 (42,34; 47,75) %, $p = 0,0011736$) через 8 недель после ТСМ. В *m. soleus* животных из опытной группы количество медленных МВ составляло 63,51 (56,58; 69,49) % и не отличалось от значений интактных животных. Морфометрический анализ площади поперечного сечения МВ (мкм²) в *m. soleus* показал, что средняя площадь МВ в контрольной группе животных (1000,41 (968,72; 1118,7) мкм²) имела тенденцию к снижению при сравнении с интактной группой (1333,200 (1289,87; 1426,43) мкм²). В опытной группе средняя площадь МВ в *m. soleus* (1401,21 (1237,92; 1402,64) мкм²) не отличалась от интактной группы.

Гистологическое исследование периферических нервов. Через 60 суток после ТСМ у экспериментальных животных забирали большеберцовые нервы (*n. tibialis*) с обеих задних конечностей. Образцы *n. tibialis* фиксировали в 2,5 % растворе глутаральдегида и в 1 % растворе тетроксид осмия с дальнейшей заливкой в полимерную смолу. Полутонкие поперечные срезы *n. tibialis* получали с помощью ультрамикротомы и окрашивали метиленовым синим.

На оцифрованных изображениях препаратов *n. tibialis* проводили подсчет количества миелиновых волокон, измерение толщины миелиновой оболочки и диаметра осевых цилиндров на площади 0,05 мм².

Подсчет количества миелиновых волокон большеберцового нерва выявил снижение количества нервных волокон в контрольной группе (277,180 (177,037; 379,340) при сравнении с интактной (940,625 (856,108; 987,652), $p = 0,0013749$) и опытной (485,850 (433,360; 656,345), $p = 0,0551393$) группами. Статистически значимых различий между интактной и опытной группами не выявлено. Анализ толщины миелиновой оболочки (1,935 (1,595; 2,298) и диаметра аксона (8,69 (7,850; 10,050) показал их увеличение у животных из контрольной группы в

сравнении с интактными животными (1,240 (1,120; 1,370), $p = 0,0209560$ и 4,78 (4,690; 5,040), $p = 0,0033348$). В опытной группе толщина миелиновой оболочки составила 1,170 (1,055; 1,372), а диаметр аксона – 5,94 (5,365; 6,195), что не отличается от интактной группы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В соответствии с поставленной целью в работе были изучены последствия развития вторичной травмы после ТСМ в нижнегрудном отделе свиньи на морфофункциональное состояние поясничного утолщения СМ и влияние аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного генами с нейротрофическим действием (*vegfl65*, *gdnf* и *ncam1*), на нервную ткань СМ на уровне L6-S1, большеберцовый нерв и иннервируемую им камбаловидную мышцу задней конечности через 2 месяца после нейротравмы.

Результаты исследования поясничного отдела СМ у свиней из контрольной группы с контузионной ТСМ в нижнегрудном отделе подтвердили наличие негативных изменений, развивающихся в результате вторичной травмы. Морфометрический анализ поясничного отдела СМ у таких животных выявил увеличение площади, занимаемой реактивными астроцитами и клетками микроглии, со снижением содержания миелинообразующих олигодендроцитов, что сопровождалось обнаруженным нами снижением экспрессии белка постсинаптической плотности (PSD95) нейронами передних рогов СМ. Эти данные согласуются с обнаруженным уменьшением количества миелиновых волокон в составе большеберцового нерва, их диаметра и толщины миелиновой оболочки при ТСМ. Атрофия камбаловидной мышцы, снижение в ней площади поперечного сечения МВ и трансформация медленных МВ в быстрые свидетельствуют о нарушении нейротрофического контроля со стороны двигательных нейронов, утративших связь с центральными нейронами ЦНС в этих условиях.

Внутривенное введение аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного терапевтическими генами *vegfl65*, *gdnf* и *ncam1*, свиньям через 4 часа после моделирования контузионной ТСМ в нижнегрудном отделе продемонстрировало положительное влияние генной терапии на экспрессию синаптических белков (холинацетилтрансферазы и PSD95) в нейронах и ремоделирование клеток нейроглии (сдерживание астроглиоза и увеличение числа олигодендроцитов) в поясничном отделе СМ. О сохранности двигательных нейронов в условиях внутривенного введения аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного терапевтическими генами *vegfl65*, *gdnf* и *ncam1*, косвенно свидетельствуют положительные данные морфометрического анализа нервных волокон большеберцового нерва (количество миелиновых волокон, диаметр аксонов и толщина миелиновой оболочки). Более полное восстановление двигательной активности у животных из опытной группы подтверждается предотвращением атрофии камбаловидной мышцы и сохранностью площади поперечного сечения МВ и «медленного» фенотипа мышцы, что, возможно, обусловлено большей эффективностью

нейротрофического контроля скелетных мышц со стороны двигательных нейронов поясничного отдела СМ (Рисунок 2).

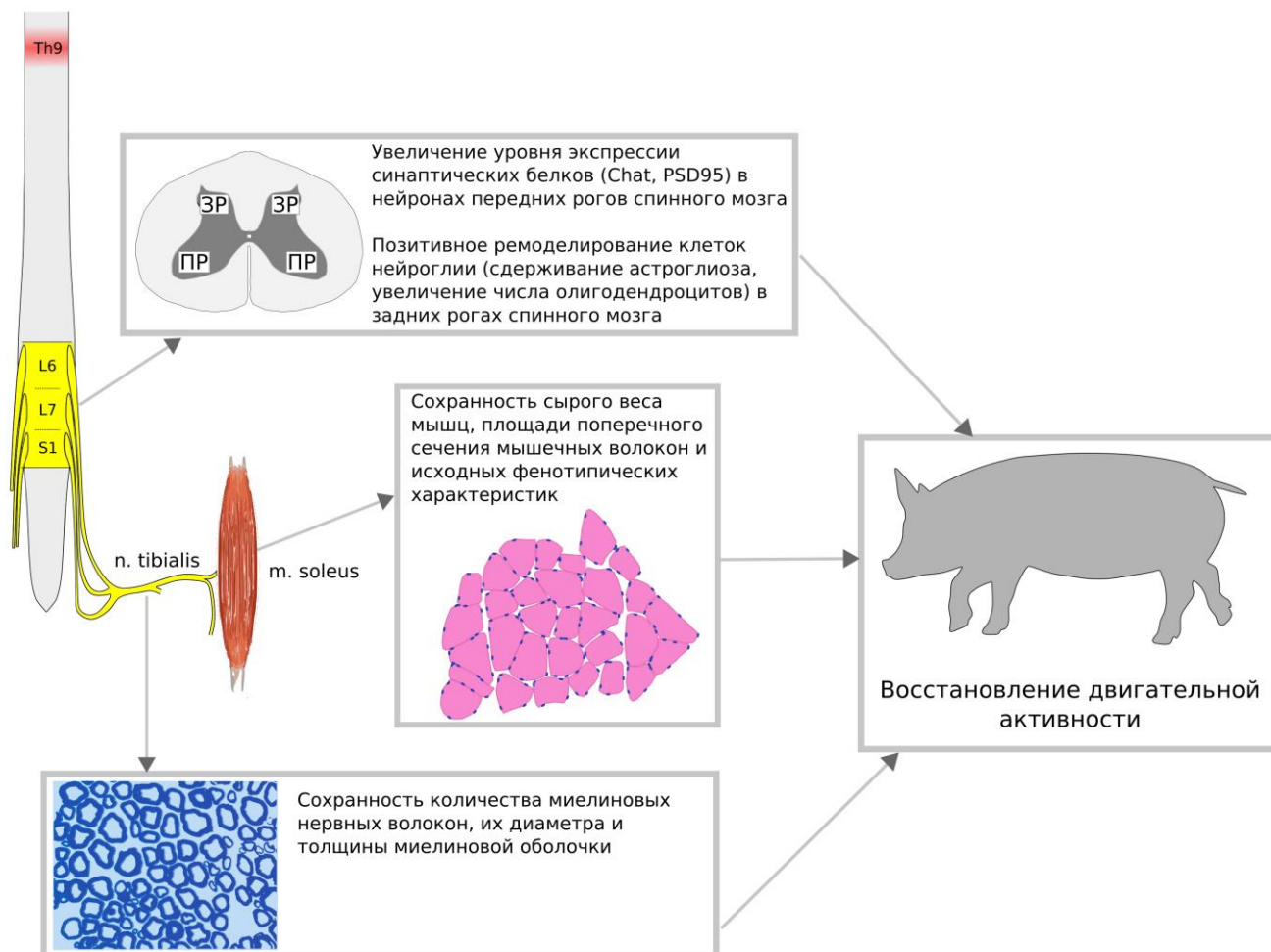


Рисунок 2 – Влияние однократного внутривенного введения аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного терапевтическими генами *vegfl65*, *gdnf* и *ncam1*, свиньям через 4 часа после моделирования контузионной травмы спинного мозга в нижнегрудном отделе на характеристики поясничного утолщения спинного мозга, большеберцового нерва и камбаловидной мышцы

Положительное влияние внутривенного введения аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного генами *vegfl65*, *gdnf* и *ncam1*, на морфофункциональное восстановление СМ свиньи после ТСМ в нижнегрудном отделе, по-видимому, обусловлено действием привнесенных клетками аутологичного лейкоконцентрата факторов VEGF165, GDNF и NCAM1 (эффективная экспрессия *vegfl65*, *gdnf* и *ncam1* доказана в исследованиях *in vitro*) как в эпицентре травмы СМ (выживаемость нейронов, рост аксонов и сдерживание астроглиоза, установленные ранее), так и в удаленном от эпицентра поясничном утолщении СМ (обнаружена

сохранность двигательных нейронов и их аксонов и, как следствие, эффективный нейротрофический контроль скелетных мышц).

Таким образом, полученные в представленном исследовании результаты дают основание заключить, что внутривенная инфузия аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного генами *vegfl65*, *gdnf* и *ncam1*, является потенциально успешным, многообещающим подходом для преодоления последствий ТСМ.

ВЫВОДЫ

1. Разработан способ получения генно-клеточного препарата на основе лейкоконцентрата, выделенного из периферической крови свиньи, и химерных аденовирусных векторов, несущих по отдельности гены сосудистого эндотелиального фактора роста (Ad5/35F-VEGF165), глиального нейротрофического фактора (Ad5/35F-GDNF) и нейрональной молекулы клеточной адгезии (Ad5/35F-NCAM1) в равном соотношении, с подтвержденной продукцией рекомбинантных белков.

2. У свиней с контузионной травмой спинного мозга в нижнегрудном отделе (Th8-Th9) через 60 суток после операции в удаленном от эпицентра нейротравмы поясничном отделе (L6-S1) выявлены:

1) снижение экспрессии в нейронах передних рогов спинного мозга белка постсинаптической плотности 95 кДа (PSD95);

2) увеличение экспрессии глиального фибриллярного кислого белка (GFAP) астроцитами и ионизированной кальций-связывающей адаптерной молекулы 1 (Iba1) клетками микроглии в передних и задних рогах спинного мозга;

3) снижение количества миелинообразующих клеток, экспрессирующих транскрипционный фактор олигодендроцитов 2 (Olig2) в передних и задних рогах спинного мозга.

3. У свиней через 60 суток после моделирования контузионной травмы спинного мозга в нижнегрудном отделе (Th8-Th9) в камбаловидной мышце на фоне нарушения двигательной активности (2 балла по шкале PTIBS), а также снижения мышечной массы выявлен полифазный М-ответ с увеличенной длительностью и амплитудой, сопровождающийся уменьшением средней площади поперечного сечения мышечных волокон и количества медленных мышечных волокон; в составе большеберцового нерва обнаружены снижение количества миелиновых волокон, увеличение толщины миелина и диаметра аксона нервного волокна.

4. Положительные морфофункциональные изменения спинного мозга у свиней с контузионной травмой в нижнегрудном отделе после однократного внутривенного введения

аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного генами *vegfl65*, *gdnf* и *ncam1*, обусловлено:

- 1) увеличением экспрессии синаптических белков (Chat, PSD95) в нейронах передних рогов, а также позитивным ремоделированием клеток нейроглии (снижение астроглиоза и увеличение числа олигодендроцитов) в задних рогах поясничного утолщения спинного мозга;
- 2) восстановлением двигательной активности (3 балла по шкале PTIBS) на фоне сохранности веса камбаловидной мышцы, площади поперечного сечения мышечных волокон и их основных фенотипических характеристик;
- 3) сохранностью количества миелиновых нервных волокон, их диаметра и толщины миелиновой оболочки большеберцового нерва.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Впервые на основе аутологичных лейкоцитов свиньи и аденовируса человека 5 серотипа (Ad5), экспрессирующего фибры аденовируса 35 серотипа (Ad5/F35) и несущего по отдельности гены *vegfl65*, *gdnf*, *ncam1*, получен инновационный генно-клеточный препарат с нейропротекторным действием. Результаты исследования установили эффективность и механизм действия аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного генетическим материалом, при его использовании для преодоления последствий ТСМ. Полученные данные о способе приготовления и использовании аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного генами *vegfl65*, *gdnf*, *ncam1*, у свиньи с ТСМ для сдерживания вторичного повреждения СМ могут стать основой для разработки персонализированного генно-клеточного препарата на основе лейкоцитов пациента и терапевтических генов с нейротрофическим действием для стимулирования посттравматической регенерации СМ. Результаты исследования открывают также перспективы использования данной биотехнологической платформы в терапии сосудистых и дегенеративных заболеваний ЦНС.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Спинномозговая травма: патогенетические принципы молекулярной и клеточной терапии / **Р. Р. Гарифулин**, А. А. Измайлов, Н. В. Бойчук [и др.] // **Казанский Медицинский Журнал**. – 2024. – Т. 105. – № 3. – С. 467–482.
2. Характеристика нейроглии в эпицентре и в удаленной от травмы области при контузионном повреждении спинного мозга у мини-свиньи / **Р. Р. Гарифулин**, А. А. Измайлов, В. А. Маркосян [и др.] // **Сеченовский Вестник**. – 2023. – Т. 14. – № 3. – С. 19–27.
3. Evaluation of the Autologous Genetically Enriched Leucoconcentrate on the Lumbar Spinal Cord Morpho-Functional Recovery in a Mini Pig with Thoracic Spine Contusion Injury /

R. Garifulin, M. Davleeva, A. Izmailov [et al.] // **Biomedicines**. – 2023. – Vol. 11. – № 5. – P. 1331.

4. Molecular and cellular changes in the post-traumatic spinal cord remodeling after autoinfusion of a genetically-enriched leucoconcentrate in a mini-pig model / M. A. Davleeva, **R. R. Garifulin**, F. V. Bashirov [et al.] // **Neural Regeneration Research**. – 2023. – Vol. 18. – № 7. – P. 1505–1511.

5. **Патент № 2784233** Российская Федерация, МПК А61К48/00, А61К35/12, А61Р9/10, А61Р25/02. Фармацевтическая композиция и способ ее использования для терапии повреждений головного и спинного мозга : № 2022102655 : заявл. 03.02.2022 : опубл. 23.11.2022 / Р. Р. Исламов, М. Е. Соколов, Ф. О. Фадеев, В. А. Маркосян, А. А. Измайлов, М. С. Кузнецов, А. Н. Лисюков, **Р. Р. Гарифулин**, М. А. Давлеева, З. З. Сафиуллов, Ф. В. Баширов, Д. Н. Щербинин, М. М. Шмаров, Д. Ю. Логунов, Б. С. Народицкий ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – 34 с.

6. **Патент № 2758760** Российская Федерация, МПК А61N1/18, А61К35/51, А61Р25/02. Способ лечения травматического повреждения спинного мозга : № 2021101454 : заявл. 22.01.2021 : опубл. 01.11.2021 / Р. Р. Исламов, Ф. О. Фадеев, А. А. Измайлов, В. А. Маркосян, М. Е. Соколов, М. С. Кузнецов, М. А. Давлеева, **Р. Р. Гарифулин**, З. З. Сафиуллов, А. Н. Лисюков, Ф. В. Баширов, И. А. Лавров ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – 9 с.

7. Клеточно-опосредованная генная терапия с помощью генетически модифицированного лейкоконцентрата для стимулирования нейрорегенерации / А. А. Измайлов, М. Е. Соколов, В. А. Маркосян [и др., **Р. Р. Гарифулин**] // **Гены и Клетки**. – 2020. – Т. 15, № S3. – С. 162.

8. **Гарифулин, Р. Р.** Влияние аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного генетическим материалом, на сохранность белого вещества спинного мозга у свиней с контузионной травмой / **Р. Р. Гарифулин**, М. А. Давлеева, А. А. Измайлов // VIII международный молодежный научный медицинский форум «Белые цветы», посвященный 120-летию студенческого научного общества имени Ирины Андреевны Студенцовой : сб. статей по итогам конференции, 14–16 апреля 2021 г. – Казань, 2021. – С. 1127–1128.

9. Ремоделирование нейроглии в поясничном утолщении спинного мозга после контузионной травмы в нижнегрудном отделе у мини-свиней / **Р. Р. Гарифулин**, М. А. Давлеева, Э. И. Бариев [и др.] // **Гены и Клетки**. – 2022. – Т. 17, № 3. – С. 49.

10. Давлеева, М. А. Анализ экспрессии генов тормозной гамкергической системы при моделировании травмы спинного мозга у мини-свиней / М. А. Давлеева, А. А. Измайлов, **Р. Р. Гарифулин** // Белые цветы : сб. тезисов 28-й Международной научно-практической конференции молодых ученых, 14–15 апреля 2022 г. – Казань, 2022. – С. 921.

11. **Гарифулин, Р. Р.** Электрофизиологические характеристики камбаловидной мышцы у мини-свиньи с контузионной травмой спинного мозга на фоне внутривенного введения аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного генетическим материалом / **Р. Р. Гарифулин**, М. А. Давлеева, А. А. Измайлов // Белые цветы : сб. тезисов 28-й Международной научно-практической конференции молодых ученых, 14–15 апреля 2022 г. – Казань, 2022. – С. 914.

12. Влияние аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного искусственным генетическим материалом, на морфо-функциональные характеристики скелетных мышц задней конечности у мини-свиньи с контузионной травмой спинного мозга / **Р. Р. Гарифулин**, М. А. Давлеева, А. А. Измайлов [и др.] // Вопросы морфологии XXI века : сб. научных трудов Всероссийской научной конференции, 22–23 сентября 2022 г. – Санкт-Петербург, 2023. – С. 126–130

13. **Гарифулин, Р. Р.** Влияние аутологичного лейкоконцентрата, обогащенного искусственным генетическим материалом на ремоделирование нейроглии поясничного утолщения спинного мозга после контузионной травмы в нижнегрудном отделе у свиней / **Р. Р. Гарифулин**, М. А. Давлеева, Р. В. Шевченко // X международный молодёжный научный медицинский форум «Белые цветы», посвященный 150-летию С. С. Зимницкого : сб. тезисов, 12–14 апреля 2023 г. – Казань, 2023. – С. 1182–1183.

14. **Гарифулин, Р. Р.** Восстановление локомоторного аппарата у свиней с контузионной травмой спинного мозга на фоне введения аутологичного лейкоконцентрата обогащенного рекомбинантными генами / **Р. Р. Гарифулин**, М. А. Давлеева, А. А. Измайлов // Белые цветы : сб. тезисов XI Международного молодёжного научного медицинского форума, посвящённого 150-летию Н. А. Семашко, 11–13 апреля 2024 г. – Казань, 2024. – С. 1619–1620.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АТ	антитела
МВ	мышечные волокна
МКПК	моноклеарные клетки пуповинной крови
СМ	спинной мозг
ТСМ	травма спинного мозга
ЦНС	центральная нервная система

Ad5/F35	аденовирусы 5 серотипа, экспрессирующие фибры аденовирусов 35 серотипа
Chat	холинацетилтрансфераза
GDNF	глиальный нейротрофический фактор
GFAP	глиальный фибриллярный кислый белок
Iba1	ионизированная кальций-связывающая адаптерная молекула 1
KCC2	калий-хлорный котранспортер 2
NCAM	молекула клеточной адгезии нейронов
Olig2	транскрипционный фактор олигодендроцитов 2
PSD95	белок постсинаптической плотности молекулярной массой 95 кДа
PTIBS	шкала поведения свиньи при травме грудного отдела спинного мозга
VEGF	сосудистый эндотелиальный фактора роста