

На правах рукописи

Фурса Григорий Андреевич

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ БИОИНЖЕНЕРНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ
КЛЕТОК ОБОБЩАТЕЛЬНОЙ ВЫСТИЛКИ ПРИ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ТРАВМАХ СПИННОГО МОЗГА**

1.5.22. Клеточная биология

1.5.4. Биохимия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации

на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Москва 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители

доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой медицинских нанобиотехнологий медико-биологического факультета Института биомедицины (МБФ) ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (Пироговский Университет)

Чехонин Владимир Павлович

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунохимии, руководитель лаборатории клеточной биологии и регенеративной медицины отдела фундаментальной и прикладной нейробиологии ФГБУ «НМИЦ ПН им. В.П. Сербского» Минздрава России

Степанова Ольга Владиславовна

Официальные оппоненты

доктор биологических наук, профессор Института биомедицинской инженерии НИТУ МИСИС

Кудан Елизавета Валерьевна

доктор биологических наук, заведующий лабораторией постгеномных технологий в медицине кафедры биохимии и регенеративной биомедицины факультета фундаментальной медицины Медицинского научно-образовательного института ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Карагяур Максим Николаевич

Ведущая организация

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Российский центр неврологии и нейронаук» (125367, г. Москва, Волоколамское шоссе, д. 80)

Защита состоится «__» _____ 2026 г. в _____ на заседании диссертационного совета ПДС 0300.027 при ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

С диссертацией можно ознакомиться в Учебно-научном информационном библиотечном центре (Научной библиотеке) ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.6.

Объявление о защите и автореферат диссертации размещены на сайтах <https://vak.gisnauka.ru> и <https://www.rudn.ru/science/dissovet/>

Автореферат разослан «__» _____ 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета ПДС 0300.027

доктор биологических наук

Косырева Анна Михайловна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Проблема терапевтического воздействия при травмах спинного мозга сохраняет высокую актуальность для современной медицины, а также нейробиологии. По данным Всемирной организации здравоохранения, ежегодно диагностируется около 1 миллиона случаев (Ding et al., 2022; Lu et al., 2024). Часто травма является последствием дорожно-транспортных происшествий, падений с высоты, а также аварии на производстве (Barbiellini Amidei et al., 2022). Основными клиническими проявлениями последствий травмы спинного мозга являются параличи, а также нарушения чувствительности и функций внутренних органов ниже зоны повреждения (Finnerup, 2017; Guest et al., 2022). К развитию осложнений после травмы приводит гибель клеток в зоне повреждения и демиелинизация нейронов с последующим нарушением проводимости нервных импульсов. Существующие на сегодняшний день консервативные методы терапии малоэффективны ввиду того, что они не решают проблему нейрорегенерации (Ahuja, Martin, Fehlings, 2016; Khaing et al., 2023). В этой связи первостепенной задачей становится разработка новых терапевтических стратегий при травматических повреждениях спинного мозга.

Одним из активно развивающихся направлений в терапии посттравматических повреждений спинного мозга является биоинженерия. Для лечения травм спинного мозга в экспериментальных работах и ряде клинических испытаний исследовались разные типы клеток в качестве клеточного препарата: эмбриональные стволовые клетки, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, мезенхимальные стволовые клетки, Шванновские клетки, нейральные стволовые/прогениторные клетки (Воронова, 2020; Liyi Huang, Chenying Fu, Feng Xiong, Chengqi He, 2018; Silvestro et al., 2020). Особый интерес вызывают клетки из обонятельной выстилки носа. Получение этих клеток безопасно для пациента и позволяет создать аутологичный тканеспецифичный препарат для трансплантации в спинной мозг. Биопсия обонятельной выстилки проводится под местным наркозом и является безопасной для пациента. В ходе доклинических испытаний была показана эффективность этих клеток в восстановлении моторной активности (Степанова и др., 2024; Aline et al., 2011; Reshamwala et al., 2022; Stepanova et al., 2022; Voronova et al., 2018). В ходе клинических испытаний была показана их безопасность у пациентов с травмой спинного мозга (Cheng et al., 2021; Mackay-Sim et al., 2008; Tabakow et al., 2013).

Однако трансплантация клеток напрямую в зону травмы может быть сопряжена с рядом трудностей. Так, было показано, что после извлечения инъекционной иглы под действием давления, которое создается в ткани спинного мозга из-за введения суспензии, может наблюдаться утечка клеток. Кроме того, при таком типе трансплантации значительное количество клеток может погибать в течение первых нескольких суток (Marquardt et al., 2020). Решением данной проблемы может быть использование различных трехмерных конструкторов, которые могут быть дополнены клетками и введены через иглу. Использование трехмерных конструкторов для трансплантации клеток обеспечивает комплекс

преимуществ: во-первых, они создают физический барьер, изолирующий трансплантированные клетки от агрессивного микроокружения поврежденной ткани, что значительно повышает их выживаемость; во-вторых, факторы роста, цитокины и внеклеточные везикулы способны накапливаться в таких конструкциях, выполняя роль их биоактивного наполнения. Благодаря этому появляется возможность дополнительно поддерживать жизнеспособность клеток и управлять их миграцией, дифференцировкой и встраиванием в ткань-реципиент.

Основой таких конструкторов являются гидрогели, которые представляют собой мягкий материал из полимерных цепочек, образующий трёхмерную сеть и обладающий свойствами впитывать и удерживать большое количество воды или биологических жидкостей (Ho et al., 2022). Данные качества позволяют создавать трехмерные конструкторы, способные одновременно быть гибкими, но при этом сохранять обособленную структуру. Было показано, что трансплантация клеток в составе геля значительно увеличивает выживаемость Шванновских клеток по сравнению с введением в солевом растворе и значительно уменьшает их утечку из зоны инъекции (Marquardt et al., 2020).

Помимо этого, существует альтернативный подход в использовании трехмерных конструкторов — применение твердых печатных каркасов. Такие скаффолды обладают большой механической прочностью, в то же время возможно детально контролировать свойства конструктора (Cao et al., 2025). Они не подходят для использования при контузионной и компрессионной травме спинного мозга, однако есть исследования, в которых была показана эффективность применения печатных каркасов как накладок на зону повреждения (Verstappen et al., 2024). В связи с этим большинство экспериментальных исследований проводится на модели повреждения с частичной гемисекцией тканей спинного мозга (Alonso-Fernández et al., 2023).

Перспективными для лечения травм спинного мозга могут быть биоинженерные препараты на основе обкладочных клеток обонятельной выстилки и трехмерных конструкторов. Однако подобные препараты на данный момент не были изучены в терапии повреждений спинного мозга, в частности, при хронической и острой фазе травмы.

Степень разработанности темы

С конца XX столетия ведётся активное исследование того, насколько эффективна трансплантация клеток, полученных из обонятельной выстилки носа, в ткань спинного мозга. Данные, полученные в опытах *in vivo*, свидетельствуют о том, что обкладочные клетки приживаются в спинном мозге после трансплантации, мигрируют, уменьшают размер повреждённой области, способствуют ремиелинизации аксонов, а также восстановлению моторной функции (Richter et al., 2005). В клинических испытаниях продемонстрированы безопасность и эффективность аутологических ОК у пациентов с ТСМ (Féron et al., 2005; Mackay-Sim et al., 2008; Tabakow et al., 2013).

Для повышения эффективности клеточной терапии активно применяются биоинженерные конструкции (гидрогели, нановолокнистые скаффолды), которые служат носителями для клеток, защищают их от агрессивного

микроокружения и обеспечивают контролируемую доставку факторов роста (Lu et al., 2024a; Sivaraj et al., 2021; Zhang et al., 2026). В клинической практике применение скаффолдов направлено на восстановление костных дефектов, лечение остеомиелита, борьбу с послеоперационными инфекциями и осложнениями. Так, была разработана линейка сосудистых скаффолдов, на основе биосорбируемого сополимера молочной кислоты и металлов. Было показано, что такие полимеры эффективнее металлических стентов восстанавливают эластичность сосудов (Seguchi et al., 2024; Stone et al., 2023). Кроме этого, трёхмерные печатные каркасы нашли широкое клиническое применение в терапии костных дефектов (Gong et al., 2026). На сегодняшний день продолжают исследования с целью применения новых разработанных скаффолдов при диабетических язвах, грыжах и дефектах периферических нервов (Bajuri et al., 2023; Wang et al., 2024). Также активно изучается возможность применения биоинженерных конструкций в тканевой инженерии центральной нервной системы (ЦНС) для восстановления после травматических повреждений головного и спинного мозга, а также при нейродегенеративных заболеваниях (Смирнов Владимир Александрович, 2019; Giorgi et al., 2024; Moghaddasi et al., 2025).

Несмотря на достигнутый прогресс, ряд вопросов остаётся нерешённым: практически отсутствуют систематические исследования комплексных биоинженерных препаратов на основе ОК, гидрогелей различного состава и BDNF при хронической TCM; недостаточно изучено применение конструкций из нановолокна ПВС с ОК в острой фазе травмы; нет данных о сравнительной эффективности гидрогелей разного состава как носителей ОК и о влиянии BDNF на терапевтический потенциал препаратов в зависимости от фазы травмы.

Цель исследования – Изучение эффективности биоинженерных препаратов на основе клеток обонятельной выстилки при экспериментальных травмах спинного мозга.

Задачи исследования:

1. Изучить выживаемость и пролиферацию обкладочных клеток в биоинженерных конструктах: в гидрогелях, полимерных пластинах *in vitro*.
2. Разработать методику трансплантации обкладочных клеток в коллагеновых гидрогелях, фибриновых гидрогелях и комбинированного гидрогеля на основе фибрина, гиалуроновой кислоты и желатина в посттравматические кисты спинного мозга.
3. Оценить эффективность биоинженерных препаратов из обкладочных клеток с нейротрофическим фактором мозга в коллагеновых гидрогелях, фибриновых гидрогелях и комбинированного гидрогеля на основе фибрина, гиалуроновой кислоты и желатина при трансплантации в экспериментальных кистах спинного мозга.
4. Разработать препарат на основе обкладочных клеток, полимерных пластин и BDNF, а также апробировать методику применения таких препаратов в острой фазе травмы спинного мозга.

5. Провести оценку эффективности применения комбинированных биоинженерных конструкций (обкладочные клетки, полимерная пластина, BDNF) при фазе острого повреждения спинного мозга.

Объект и предмет исследования

Объектом настоящего исследования являются клетки обонятельной выстилки крыс и полученные из них биоинженерные конструкции, комбинации гидрогелевых носителей с обкладочными клетками, используемые для трансплантации в кисту спинного мозга.

Предметом настоящего исследования является моделирование экспериментальной контузионной травмы спинного мозга на крысах; разработка биоинженерных препаратов на основе обкладочных клеток для терапии травмы спинного мозга; оценка эффективности трансплантации разработанных препаратов по динамике восстановления двигательной активности задних конечностей и изменению объёма кисты спинного мозга; исследование влияния мозгового нейротрофического фактора на терапевтическую эффективность созданных конструкций.

Теоретической и методологической базой исследования являлись теоретические и методологические разработки российских и иностранных исследователей в области физиологии, гистологии и молекулярной биологии травматического повреждения спинного мозга, а также механизмов его восстановления. Кроме того, использованы методические работы по клеточным технологиям выделения нейральных стволовых/прогениторных и обкладочных клеток из обонятельной области носовой слизистой, а также по моделированию травм спинного мозга.

Информационной основой работы являлись публикации из рецензируемых научных журналов, а также материалы и тезисы профильных научных конференций.

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 1.5.22. «Клеточная биология» пунктам: 10 (...физиологической и репаративной регенерации тканей, а также, регуляции этих процессов...), 13 (Изучение молекулярных, иммунологических, цитохимических и физиологических аспектов жизненного цикла клеток при экспериментальных (в том числе повреждающих) воздействиях), 19 Клеточные технологии как основа для разработки терапевтических подходов для лечения различных патологий...) и 1.5.4. «Биохимия» пунктам 5 (Анализ и ... биологически активных веществ, выяснение их физиологического действия и возможностей применения полученных веществ в медицине и других отраслях народного хозяйства), 10 (...выяснения причин различных болезней и изыскания путей их эффективного лечения).

Научная новизна

Разработаны протоколы получения биоинженерных препаратов на основе клеток обонятельной выстилки крыс и гидрогелей. Уменьшение объёма посттравматических кист спинного мозга через 4 недели после трансплантации, а также улучшение динамики двигательной активности задних конечностей крыс

на протяжении того же периода — таковы впервые полученные результаты применения указанных конструкторов при хронической фазе травматического повреждения спинного мозга.

Впервые были разработаны биоинженерные препараты на основе нановолокна из поливинилового спирта и клеток обонятельной выстилки крыс. Впервые было показано, что применение таких препаратов при острой фазе травмы спинного мозга положительно влияет на восстановление моторной активности.

Впервые было изучено положительное влияние нейротрофического фактора мозга на эффективность полученных биоинженерных препаратов. Было показано незначительное улучшение моторной активности при терапии хронической формы травмы спинного мозга. При терапии острой фазы травмы спинного мозга было показано улучшение моторной активности на более раннем сроке с последующей демонстрацией наибольшего результата.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Для разработки новых средств лечения пациентов с травматическими поражениями спинного мозга, в том числе осложнёнными посттравматическими кистами, теоретическую базу составляют предложенные в работе протоколы получения биоинженерных препаратов. Эти протоколы охватывают клетки обонятельной выстилки, а также коллагеновые, фибриновые и комбинированные гидрогели на основе фибрина, гиалуроновой кислоты и желатина. При этом они допускают адаптацию к иным полимерам и клеткам, что открывает путь к созданию более результативных препаратов — например, гидрогелей, способных проводить нервные импульсы.

В отношении острой травмы спинного мозга аналогичную теоретическую базу закладывают протоколы получения биоинженерных препаратов из клеток обонятельной выстилки и нановолокна из поливинилового спирта. Развитие этой технологии в перспективе позволит сформировать линейку продуктов, нацеленных на различные аспекты повреждения спинного мозга, включая подавление воспаления и восстановление проводимости.

После трансплантации гидрогель-содержащих препаратов у экспериментальных животных отмечалась чётко выраженная положительная динамика в восстановлении локомоторной активности задних конечностей; при этом по результатам МРТ-исследования регистрировалось уменьшение объёма посттравматических кист. Эти экспериментальные данные подтверждают результативность рассматриваемого подхода. Подобная совокупность наблюдений может рассматриваться как свидетельство запуска регенеративных процессов в спинном мозге после введения конструктора. Иными словами, трансплантация такого рода препаратов, по-видимому, не просто ограничивает дальнейшее повреждение тканей, но и способствует активизации собственных восстановительных механизмов нервной ткани. Соответственно, комбинированные препараты подобного типа представляют значительный интерес и могут стать предметом дальнейших доклинических и клинических испытаний.

Отдельно было установлено, что наложение конструкторов из нановолокна на зону травмы в острую фазу повреждения спинного мозга даёт лучший результат по восстановлению моторной активности, чем отсутствие терапии или трансплантация клеток без геля. Вероятный механизм состоит в том, что трёхмерные конструкторы экранируют клетки от цитотоксических факторов, возникающих в острой фазе травмы. Это поддерживает количество жизнеспособных клеток и обеспечивает их постепенную миграцию в зону повреждения, где они, по-видимому, и запускают регенеративные процессы.

Наконец, было продемонстрировано, что добавление BDNF способно повысить эффективность биоинженерных препаратов. Более того, введение активных агентов статистически значимо улучшает общую эффективность и может избирательно влиять на отдельные последствия травмы, например на нейровоспаление. В совокупности полученные результаты указывают на активацию нейрорегенерации после трансплантации биоинженерных препаратов на основе обкладочных клеток.

Методология и методы исследования

В работе использовался следующий набор методических подходов: культивирование клеточного материала (выделение клеток, их пассирование и наращивание, культивирование в трёхмерных биоконструкциях), гистологический анализ (получение срезов спинного мозга, их иммуноцитохимическое окрашивание), создание экспериментальной модели посттравматических кист спинного мозга, тестирование двигательной функции животных по шкале BBB, визуализация структур спинного мозга методом МРТ, проведение иммуноферментного анализа и ПЦР в реальном времени, а также статистическая обработка результатов.

Положения, выносимые на защиту

1. Созданы биоинженерные конструкторы на основе клеточного материала обонятельной выстилки, интегрированного в гидрогелевые носители: коллаген I типа, фибрин, гиалуроновую кислоту и желатин, а также конструкции, в которых те же клетки размещены на нановолоконных пластинах из поливинилового спирта с добавлением нейротрофического фактора.
2. Введение полученных биоинженерных конструкторов в область экспериментальных посттравматических кист спинного мозга сопровождается положительной динамикой показателей опорно-двигательной функции задних конечностей животных на протяжении четырёхнедельного периода наблюдения.
3. При имплантации разработанных конструкций в полость посттравматических кист на стадии хронического повреждения спинного мозга зафиксировано статистически значимое сокращение их объёма к четвёртой неделе эксперимента. Показано, что трансплантированные клетки сохраняют жизнеспособность не менее 30 суток, способны к миграции за пределы зоны имплантации и стимулируют процессы ремиелинизации.

4. Применение конструкций на основе нановолоконных пластин из поливинилового спирта с плотной подложкой, заселённых обкладочными клетками, при их наложении на очаг повреждения на острой стадии травмы спинного мозга крыс обеспечивает статистически достоверное улучшение локомоторной активности задних конечностей начиная с третьих суток после травмы и на протяжении всего 35-суточного периода наблюдения, в отличие от контрольных групп (без терапии, с трансплантацией изолированных клеток без конструкта и с применением пластин без подложки).

Степень достоверности и апробация работы

Достоверность полученных результатов обеспечена применением современных методов исследования, достаточным объёмом выборки в каждой экспериментальной группе, воспроизводимостью полученных данных, а также корректной статистической обработкой результатов и их сопоставлением с данными актуальной научной литературы.

Результаты проведенных исследований доложены на шести конференциях. V Национальный конгресс по регенеративной медицине (Москва, 23-25.11.2022), Биотехнология: состояние и перспективы развития (Москва, 2022), Биотехнология: состояние и перспективы развития (Москва, 2023), Международный конгресс CRISPR-2023 (Новосибирск, 11–13. 09. 2023), VI Национальный Конгресс по Регенеративной Медицине (Санкт-Петербург, 13-15.11.2024), ХимБиоSeasons 2025 (Калининград, 10-18.04.2025).

Личный вклад автора заключается в самостоятельном планировании и реализации экспериментальной части работы на всех её этапах, проведении статистического анализа и содержательной интерпретации результатов, а также в написании научных статей по материалам исследования.

Публикации. Соискатель имеет 14 опубликованных работ по теме диссертации, из них 4 научные статьи, опубликованы в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в международной базе данных «Scopus», и 4 опубликованы в библиографической базе данных RSCI, а также 6 материалов конференций.

Внедрение результатов работы

Полученные в диссертации результаты используются в образовательном процессе кафедры медицинских нанобиотехнологий медико-биологического факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (Пироговский Университет).

Структура и объем работы.

Диссертационная работа содержит: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, их обсуждение, заключение, выводы и список литературы, который включает работы на русском (8) и иностранном (293) языке. Диссертация изложена на 171 странице машинописного текста и содержит 20 таблиц и 43 рисунках.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Получение первичной культуры клеток из обонятельной выстилки. Выделение ОК проводили по методике ФГБУ «ФМИЦПН им. В.П. Сербского» (патент № RU2676142C2). Биоматериал диссоциировали в диспазе-2 (2 ЕД/мл) 15 мин при 37 °С, реакцию останавливали культуральной средой. Собственную пластинку отделяли от эпителия, рассекали на экспланты $\leq 1 \text{ см}^2$ и культивировали 14 суток до монослоя. Клетки пассировали 0,1% трипсином с плотностью 2×10^4 клеток/см² до 4-го пассажа, после чего использовали для трансплантатов и экспериментов.

Оценка влияния гидрогелей на жизнеспособность клеток *in vitro*. Клетки 4-го пассажа ресуспендировали в минимальном объеме среды, смешивали с гидрогелями в низкоадгезивном планшете до конечной концентрации 1×10^4 клеток/мкл гидрогеля и культивировали при 37 °С, 5% CO₂. Каждые 3 суток заменяли 50–70% среды. На 1, 7, 14 и 28-е сутки проводили резазуриновый тест (2 ч, 37 °С) по протоколу производителя. Флуоресценцию детектировали на CLARIOstar (возбуждение 545 нм, эмиссия 600 нм). Значения относительной флуоресценции использовали для построения графиков динамики клеточной активности, результаты пересчитывали в проценты жизнеспособных клеток относительно контроля (клетки без геля).

Оценка функциональной активности BDNF. Клетки SH-SY5Y высаживали в 6-луночные планшеты (1×10^5 /лунку) и культивировали в стандартных условиях. На следующие сутки среду заменили на среду дифференцировки 1 (замена каждые 48 ч). На 7-е сутки клетки пассировали 0,1% трипсином (3 мин, 20 °С), нейтрализовали средой, осаждали центрифугированием и ресуспендировали в среде дифференцировки 1. На следующие сутки заменили на среду дифференцировки 2 (замена каждые 48 ч). На 9-е сутки клетки вновь пассировали трипсином (3 мин, 20 °С) и переносили в новые планшеты, покрытые poly-D-лизином, культивируя в среде 2. На следующие сутки заменили на среду дифференцировки 3 (замена каждые 48 ч до 19-х суток). На 19-е сутки клетки фиксировали 4% формальдегидом (27 °С, 5 мин) и анализировали морфологию под фазово-контрастным микроскопом.

Тест локомоторной активности задних конечностей BBB (Basso, Beattie, Bresnahan). Для оценки восстановления моторной функции задних конечностей использовали тест открытого поля ($\geq 80 \times 80 \times 30$ см, нескользящее покрытие) по 21-балльной шкале (Basso, Beattie, Bresnahan, 1995). Крысу помещали в центр поля, наблюдали 4–5 мин, оценку проводили 3 независимых исследователя, группы перемешивали для исключения предвзятости. Рассмотрены два варианта терапии: в острый период (тестирование с 2-х суток) и в хронический (отбор животных с BBB <12 баллов через 4 недели после травмы). Динамику измеряли в течение 5 недель (неделя до МРТ и 4 недели после трансплантации).

Критерии исключения животных из групп. Критерии исключения на этапе работы с животными включали в себя: непредвиденные осложнения после операции; несформированная киста на МРТ-исследовании, непредвиденные реакции на наркоз, наличие эктопаразитов; произвольное восстановление моторной активности свыше 12 баллов при исследовании хронической фазы травмы; выраженные нарушения вестибулярного аппарата. Критерии исключения на этапе работы с образцами тканей включали в себя: артефакты фиксации, технический брак гистологии, недостаточный объём РНК

Приготовление биоинженерных препаратов из обкладочных клеток и гидрогеля. Для создания трансплантатов использовали клетки 4-го пассажа. Клеточную массу (750 000 ОК на образец) ресуспендировали в 10 мкл гидрогеля. В части экспериментов для нейротрофической поддержки в состав добавляли BDNF (500 нг/трансплантат). Смесь гомогенизировали, инкубировали до гелеобразования и имплантировали в область спинномозгового повреждения. Все этапы выполняли в стерильных условиях.

Пластины из нановолокна ПВС (электроспиннинг) предоставлены НИТУ МИСИС. Для экспериментальной группы в суспензию добавляли BDNF (1 мкг на 20 мкл). Суспензию наносили на чашку Петри, инкубировали 1 ч (37 °С, 5% CO₂) для адгезии, затем объём доводили до 100 мкл средой — трансплантат готов к имплантации. Все манипуляции проводили стерильно в ламинарном боксе.

Трансплантация биоинженерных препаратов при травме спинного мозга в острую фазу травмы. Сразу после контузионного удара (2 Н) в зону повреждения имплантировали скаффолд из электроспиннованного ПВС, ориентируя поверхность с мечеными клетками к нервной ткани. Сверху укладывали гиалуроновую губку для фиксации. Рану обрабатывали хлоргексидином, мышцу *m. erector spinae* и кожу послойно ушивали, наносили бриллиантовый зелёный. После операции однократно вводили цефазолин (75 мг), кетопрофен (0,5 мг), п/к 3 мл физраствора, роговицу обрабатывали декспантеноловой мазью. Первые 48 ч — усиленный мониторинг с дополнительным цефазолином (75 мг). Все манипуляции проводили по этическим нормам.

Трансплантация биоинженерных препаратов в кисту спинного мозга. Для интрамедуллярной инъекции крыс наркотизировали Везетиллом-100 (79 мг/кг) с ксилазином (208 мкл/кг) в/б. По предварительным МРТ-данным определяли координаты кисты. Препарат забирали инжектором Fazel R-100EC с микрошприцем Hamilton и вводили в полость кисты под углом 45° к дорсальной поверхности, со скоростью 6 мкл/мин. При введении коллагеновых гидрогелей катетер охлаждали; для фибриновых и комбинированных — сначала вводили гидрогель, затем тромбин (1 ед.). После инъекции иглу извлекали, рану обрабатывали хлоргексидином, ушивали, наносили бриллиантовый зелёный. Животных согревали и наблюдали до выхода из наркоза.

Статистический анализ данных. Выбросы исключали ROUT-методом. Нормальность распределения проверяли тестом Шапиро–Уилка, данные представляли как среднее ± SD. Для сравнения групп по уменьшению объёма

кисл использовали дисперсионный анализ (ANOVA) с поправкой Брауна–Фишера и пост-тест Данна. Для динамики BBB — двухфакторный ANOVA с пост-тестом Тьюки. При ненормальном распределении — критерий Краскела–Уоллиса с пост-тестом Данна. Уровень значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Получение обкладочных клеток из обонятельной выстилки и оценка функциональной активности BDNF

Из обонятельной выстилки крыс получены культуры обкладочных клеток (ОК), обладающие коэкспрессией маркеров p75NTR и GFAP и типичной веретеновидной морфологией (Li, Field, Raisman, 2005). Иммуноцитохимический анализ подтвердил ко-экспрессию маркеров GFAP и p75NTR, характерную для ОК (Stepanova et al., 2018) (Рисунок 1). Для дальнейших экспериментов использовали клетки 4-го пассажа.

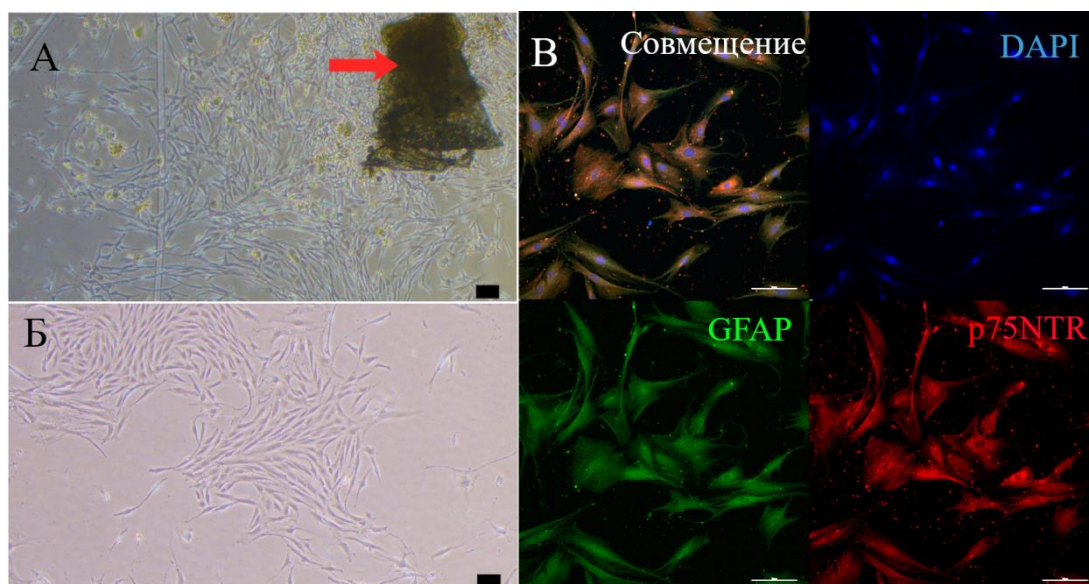


Рисунок 1 – А- Клеточная культура собственной пластинки. 14 сутки культивирования. Размерный отрезок 100 мкм. Красная стрелка указывает на фрагмент собственной пластинки. Б- Клеточная культура собственной пластинки. 14 сутки культивирования. Размерный отрезок 100 мкм. В- Культура ОК крысы 4 пассаж. Метод окрашивания иммуногистохимия. Размерный отрезок 100 мкм

Оценка выживаемости обкладочных клеток в биоинженерных конструкциях

В тестах с резазурином установлено, что коллагеновые гидрогели (1 и 4 мг/мл) не поддерживают длительное выживание ОК: ферментативная активность снижалась к 28-м суткам до 12,5–22,5 % от контроля. Фибриновые гидрогели, особенно при концентрации 10 мг/мл, обеспечивали более стабильную жизнеспособность (117,5 % на 28-е сутки). Наилучшие результаты получены для комбинированного гидрогеля (фибрин 10 мг/мл + гиалуроновая кислота 1 мг/мл + желатин 5 мг/мл), где активность составила 135 % от контроля, что указывает

на пролиферацию клеток (Рисунок 2). Пластины из электроспиннингового поливинилового спирта (ПВС) также не проявляли цитотоксичности: ОК сохраняли жизнеспособность на уровне 85 % через 3 суток (Рисунок 3).

Снижение жизнеспособности ОК в коллагеновом гидрогеле I типа может быть связано как с несоответствием коллагенового состава (отсутствие III и IV типов), так и с токсическим эффектом кислой среды, необходимой для подавления полимеризации (Stepanovska et al., 2021). Комбинированный гидрогель (фибрин + ГК + желатин) обеспечивает адгезию, гидратацию и сайты прикрепления для клеток (Rezaeeyazdi et al., 2018; Zhang et al., 2016); по нашим данным и данным литературы (Pangjantuk et al., 2024), такие системы повышают выживаемость и пролиферацию клеток. ГК уменьшает воспаление и рубцевание, улучшает проводимость и ангиогенез (Kushchayev et al., 2016), однако гидрогель ГК–желатин–фибрин с клетками обонятельной выстилки при травмах спинного мозга ранее не исследован.

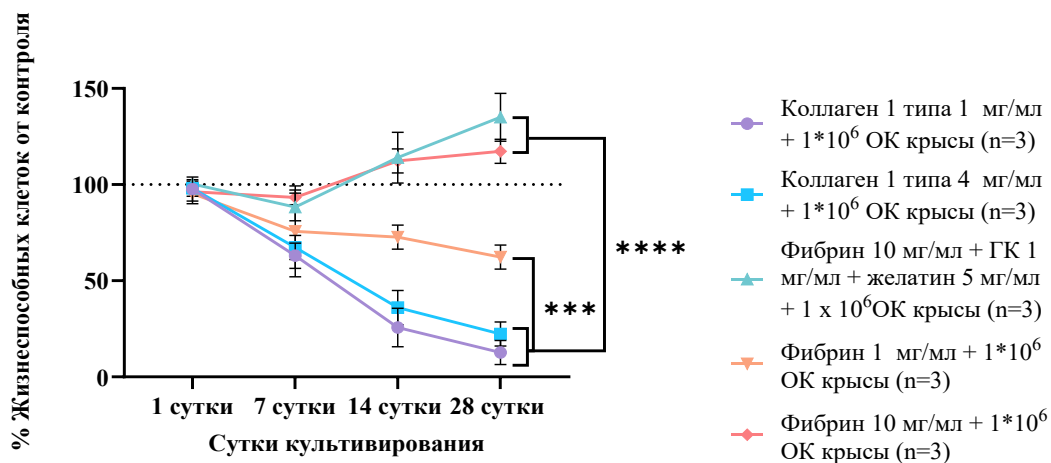


Рисунок 2 – Сравнение выживаемости клеток в биоинженерных препаратах. Данные представлены в виде среднего процента от контрольной группы (клетки без конструкта) и 95% доверительный интервал. Статистическую значимость различий оценивали методом двухфакторного дисперсионного анализа с апостериорным критерием Тьюки. *** ($p < 0,0005$), **** ($p < 0,0001$).

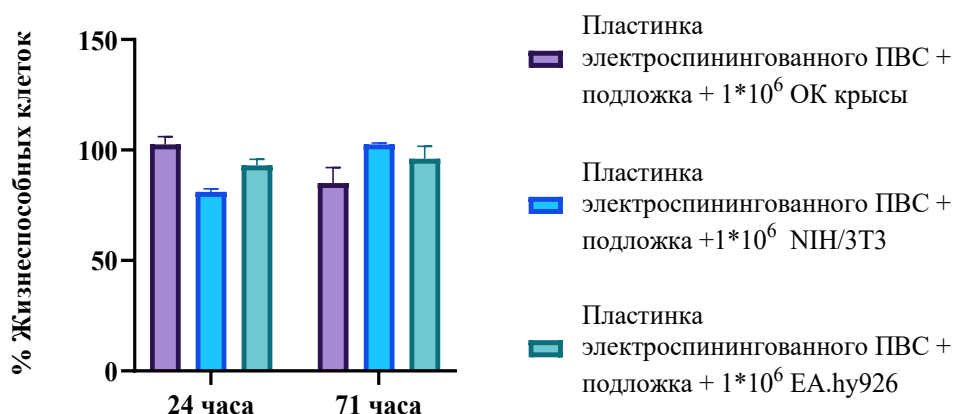


Рисунок 3 – Сравнение выживаемости клеток в биоинженерных препаратах. Данные представлены в виде среднего процента от контрольной группы (клетки без конструкта) $\pm$ стандартное отклонение

Оценка динамики восстановления двигательной активности задних конечностей при трансплантации биоинженерных препаратов на основе гидрогеля

А) Разработка оптимального гидрогеля для терапии кисты спинного мозга

В работе впервые изучены терапевтические эффекты трансплантации биоинженерных конструкторов, содержащих гидрогели и ОК крыс, в посттравматические кисты спинного мозга. Проведена сравнительная оценка эффективности препаратов на основе коллагена I типа (4 и 1 мг/мл), фибрина (1 и 10 мг/мл), гиалуроновой кислоты с желатином (ГК 1 мг/мл + желатин 5 мг/мл), а также комбинированного геля (фибрин 10 мг/мл + ГК 1 мг/мл + желатин 5 мг/мл, 1:2:5) с 750 тыс. ОК.

Трансплантация ОК в коллагене 4 мг/мл обеспечила наиболее выраженное восстановление двигательной активности (ΔBVB) к 4-й неделе ($p < 0,0005$ против контроля), в то время как концентрация 1 мг/мл не показала значимых отличий от контрольной группы (Рисунок 4А). Сделан вывод, что коллаген I типа не является оптимальным носителем для ОК, несмотря на некоторый терапевтический эффект, обусловленный механической поддержкой.

Значимый терапевтический эффект зафиксирован только при использовании фибрина 10 мг/мл с ОК ($p < 0,0001$ против контроля). Гель без клеток и низкая концентрация фибрина оказались неэффективными (Рисунок 4Б). Предполагается, что фибрин служит адекватным каркасом, а его плотность критична для выживания клеток.

Разработаны новые конструкторы на основе фибрина, ГК и желатина. Трансплантация ОК в композитном геле показала статистически значимое улучшение моторной функции с 3-й недели ($p < 0,05$), к 4-й неделе эффект усилился ($\Delta BVB = 2,3$ балла, $p < 0,0001$). Бесклеточный гель к 4-й неделе утратил значимость различий с контролем (Рисунок 4В). Высокая эффективность композитного геля объясняется синергизмом компонентов: фибрин – адгезивный каркас, ГК – модулятор воспаления и гидратации, желатин – источник RGD-последовательностей для прикрепления клеток.

Б) Исследование влияния добавления BDNF на терапевтическую эффективность гидрогелей в терапии кисты спинного мозга.

На основе полученных данных для дальнейших исследований с нейротрофином BDNF выбраны фибриновый (10 мг/мл) и комбинированный гидрогели с добавлением 500 нг BDNF.

Используемый рекомбинантный BDNF сохранял функциональную активность, что подтверждено индукцией нейритогенеза в BDNF-зависимой линии SH-SY5Y (Рисунок 5А).

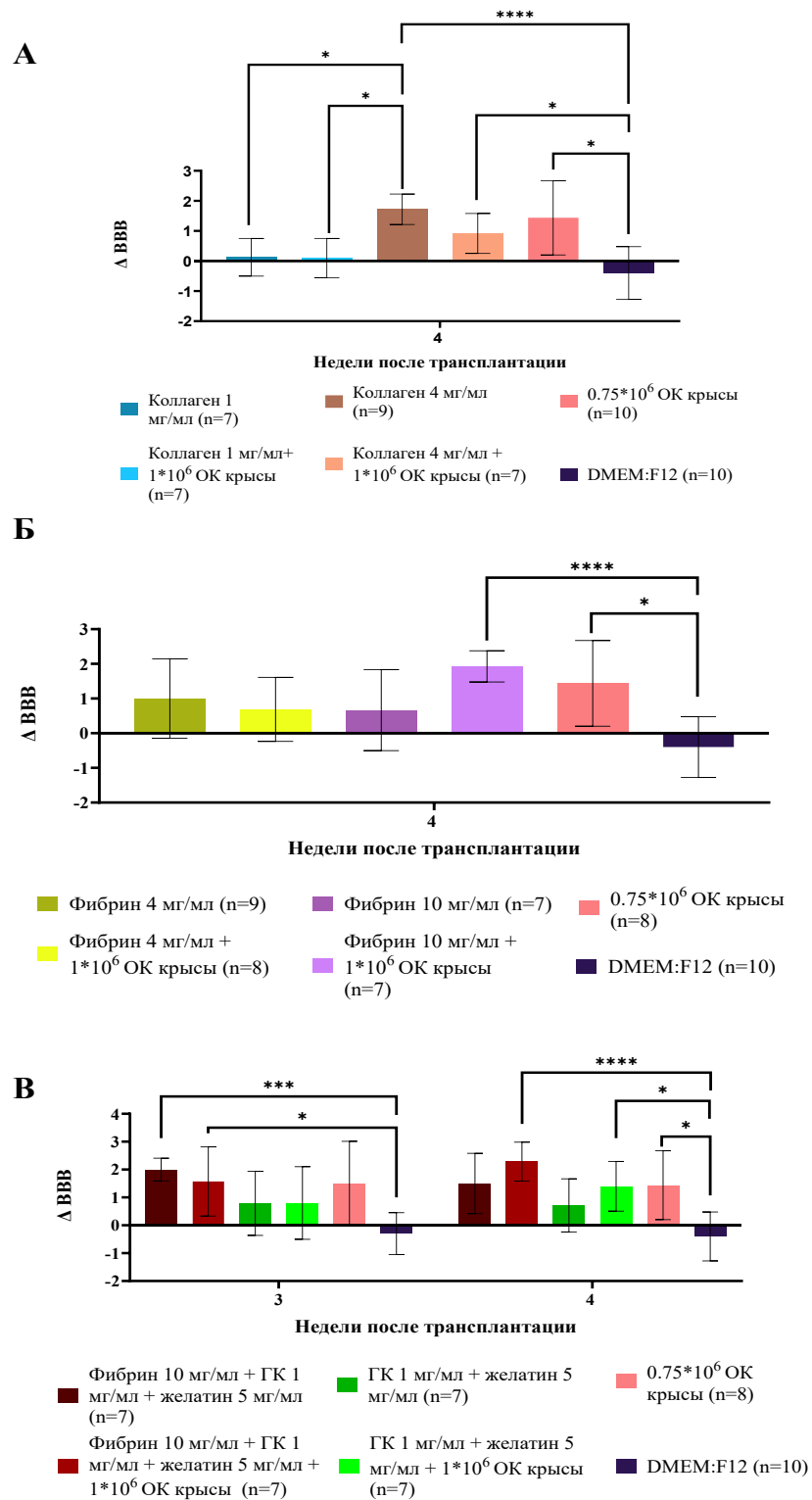


Рисунок 4 – Изменение показателей шкалы BBB (Δ BBB) у крыс после трансплантации биоинженерных препаратов из гидрогелей на основе А - коллаген 1 типа с ОК крысы, Б - фибрин с ОК крысы, В - комбинированный гель с ОК крысы, представлена по изменениям баллов (Δ BBB). На графике указаны средние значения $\pm$ среднеквадратическое отклонение. Значимость различий оценивали с использованием двухфакторного дисперсионного анализа, апостериорный тест Тьюки. *($p < 0,05$), **($p < 0,005$), ***($p < 0,0005$), ****($p < 0,0001$)

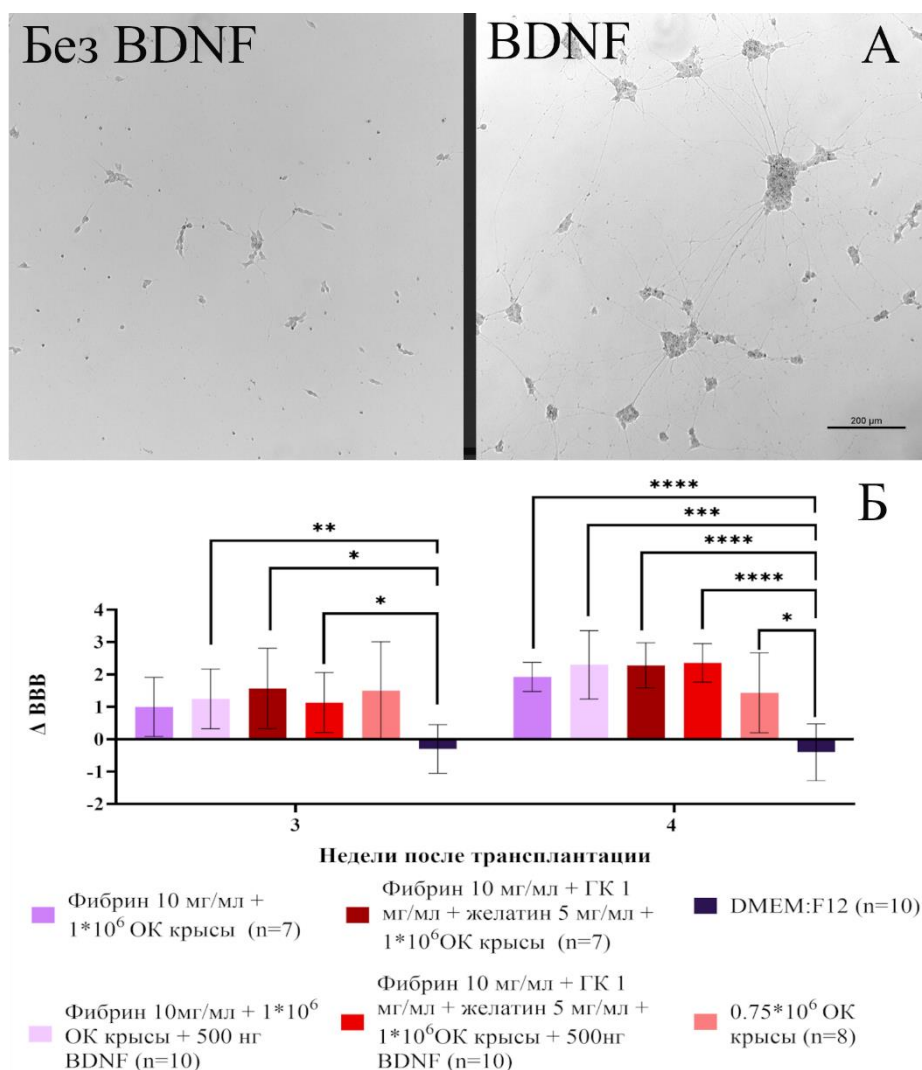


Рисунок 5 – А - Культура SH-SY5Y, 21 сутки дифференцировки. Сравнение сред дифференцировки с добавлением BDNF и без нейротрофина. Б - Изменение показателей шкалы BBB (ΔBBB) у крыс после трансплантации биоинженерных препаратов из гидрогелей, ОК крыс и BDNF в кисты спинного мозга, представлена по изменениям баллов (ΔBBB). На графике указаны средние значения $\pm$ среднеквадратическое отклонение. Значимость различий оценивали с использованием двухфакторного дисперсионного анализа, апостериорный тест Тьюки. * ($p < 0,05$), ** ($p < 0,005$), *** ($p < 0,0005$), **** ($p < 0,0001$)

В группе с фибрином + BDNF значимое отличие от контроля зафиксировано с 3-й недели, к 4-й неделе — $p < 0,005$. В группе с композитным гелем + BDNF — значимые различия с 3-й недели ($p < 0,05$), к 4-й неделе — $p < 0,0001$ (Рисунок 5Б).

Добавление BDNF в композитный гель не усилило его эффективность по сравнению с конструктом без нейротрофина.

Оценка изменения морфометрических параметров кисты спинного мозга при трансплантации биоинженерных препаратов, содержащих гидрогели и обкладочные клетки обонятельной выстилки крыс

В работе впервые проведена количественная оценка изменения объёма посттравматических кист спинного мозга крыс по МРТ-данным после трансплантации биоинженерных препаратов.

Все конструкции, содержащие ОК, способствовали значимому уменьшению объёма кисты по сравнению с контролем (DMEM:F12). Бесклеточные гидрогели эффекта не давали. Наибольшее сокращение отмечено в группе коллагена 1 мг/мл + ОК (уменьшение на 36%) и коллагена 4 мг/мл + ОК (28,4%), однако статистически значимых различий между концентрациями не выявлено (Рисунок 6А).

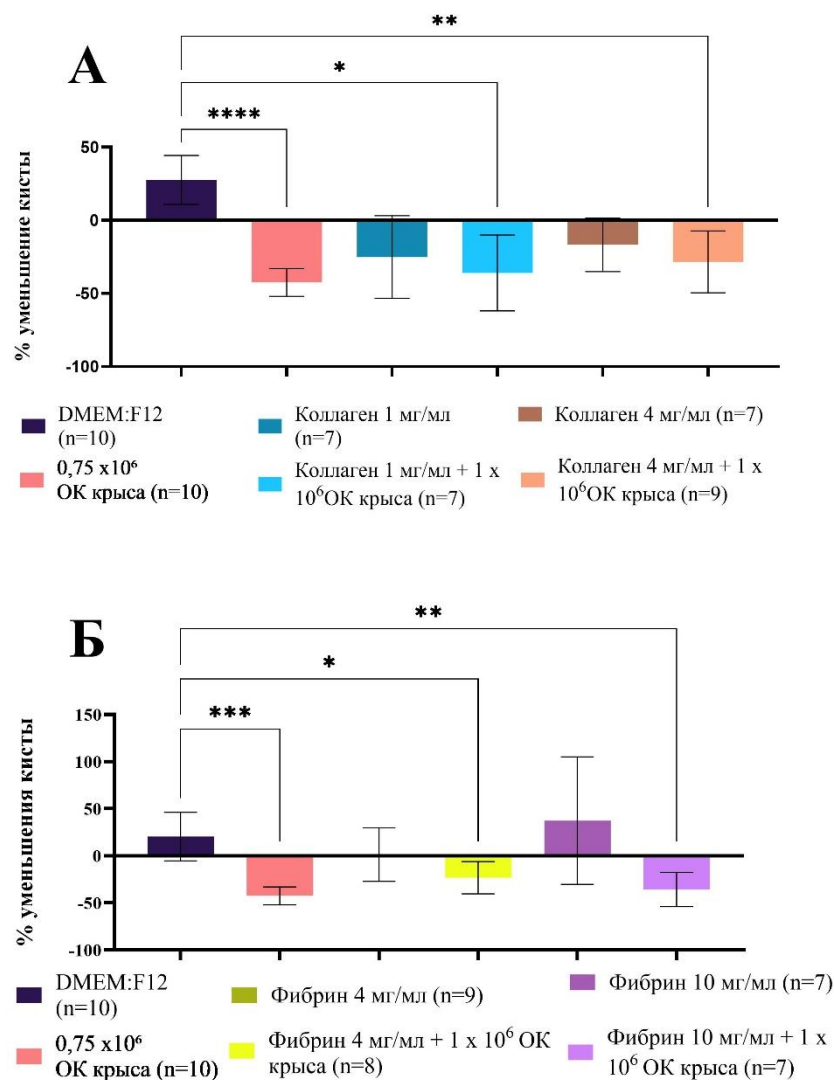


Рисунок 6 – Динамика морфометрических параметров кистозных полостей через 4 недели после трансплантации биоинженерных конструкций на основе гидрогелей А- коллаген 1 типа, Б- фибрин. Изменение выражено как отношение размеров кист после трансплантации к объему до трансплантации (в процентах). На графике указаны средние значения $\pm$ среднеквадратическое отклонение. Значимость различий оценивали с использованием однофакторного дисперсионного анализа, апостериорный тест Данна. *($p < 0,05$), **($p < 0,005$), ***($p < 0,0005$), ****($p < 0,0001$)

Статистически значимое уменьшение кисты достигнуто в группах: фибрин 4 мг/мл + ОК (23,3%, $p < 0,05$), фибрин 10 мг/мл + ОК (35,7%, $p < 0,005$) и клетки без геля (42,4%, $p < 0,0005$). Повышение концентрации фибрина с 4 до 10 мг/мл увеличило средний процент регрессии кисты на 35% (Рисунок 6Б).

Комбинированный гель (фибрин + ГК + желатин) с ОК обеспечил уменьшение объёма кисты на 52,1% ($p < 0,0005$), что на 18% превосходит эффект бинарного геля (ГК + желатин) с ОК (42,8%, $p < 0,005$). Бесклеточные композиты не показали значимых различий с контролем (Рисунок 7А).

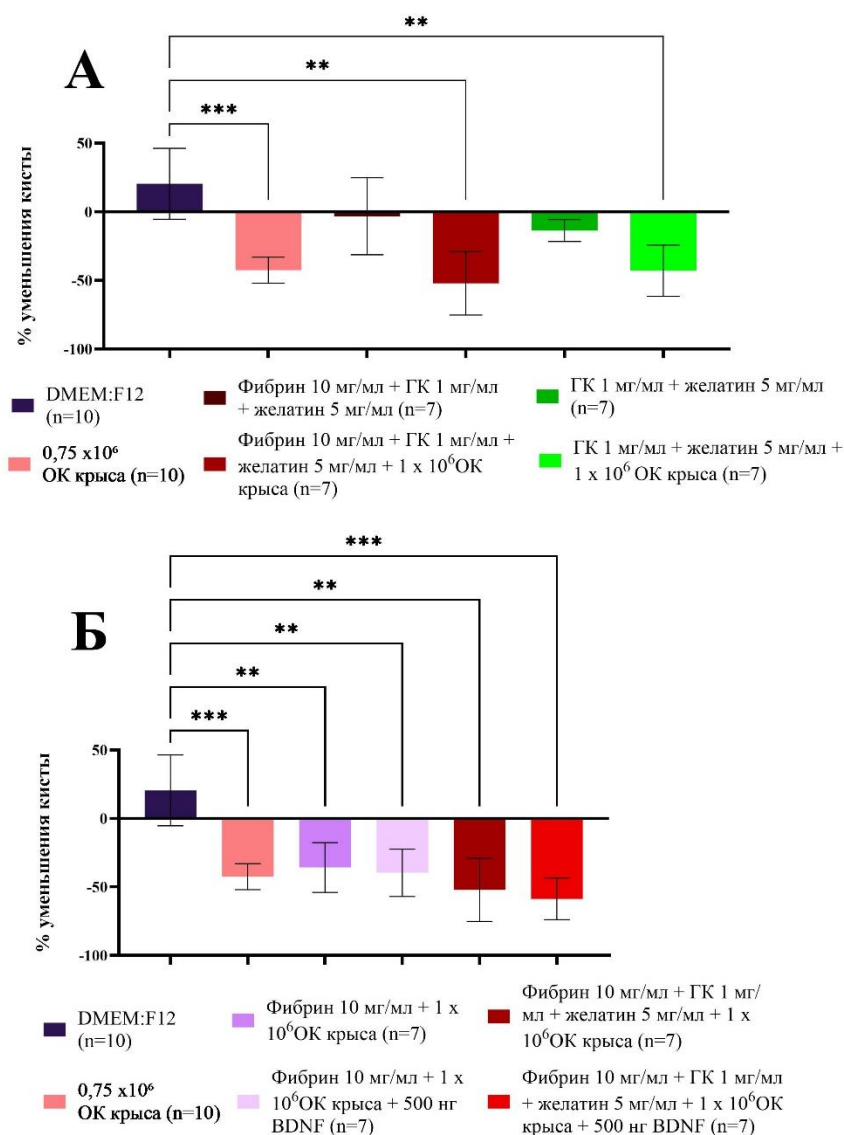


Рисунок 7 – Динамика морфометрических параметров кистозных полостей через 4 недели после трансплантации биоинженерных конструкций на основе гидрогелей А- комбинированный гель, комбинированный гель.

Изменение выражено как отношение размеров кист после трансплантации к объёму до трансплантации (в процентах). На графике указаны средние значения $\pm$ среднеквадратическое отклонение. Значимость различий оценивали с использованием однофакторного дисперсионного анализа, апостериорный тест Данна. **($p < 0,005$), ***($p < 0,0005$)

Наибольшая редукция кисты зафиксирована для композитного геля + ОК + 500 нг BDNF – уменьшение на 58,7% ($p < 0,0005$), что выше, чем у того же геля без BDNF (52,1%). Для фибринового геля BDNF повысил регрессию с 35,7% до 39,6% ($p < 0,005$). Таким образом, добавление нейротрофина усиливает морфометрический эффект, особенно в композитных конструктах (Рисунок 7Б).

Оценка динамики восстановления двигательной активности задних конечностей при трансплантации биоинженерных препаратов на основе пластин нановолокна ПВС

В острой фазе прямое введение клеток неэффективно из-за их гибели. Применение пластин из нановолокна ПВС, особенно с твёрдой подложкой, обеспечивало изоляцию и выживание ОК. Такой конструкт с клетками давал максимальное восстановление моторики ($p < 0,005$ против контроля и против введения клеток без носителя). Добавление BDNF в пластины приводило к раннему (с 3-х суток) и значимому улучшению ($p < 0,005$), что связывается с нейропротекторным действием фактора в острую фазу (Рисунок 8).

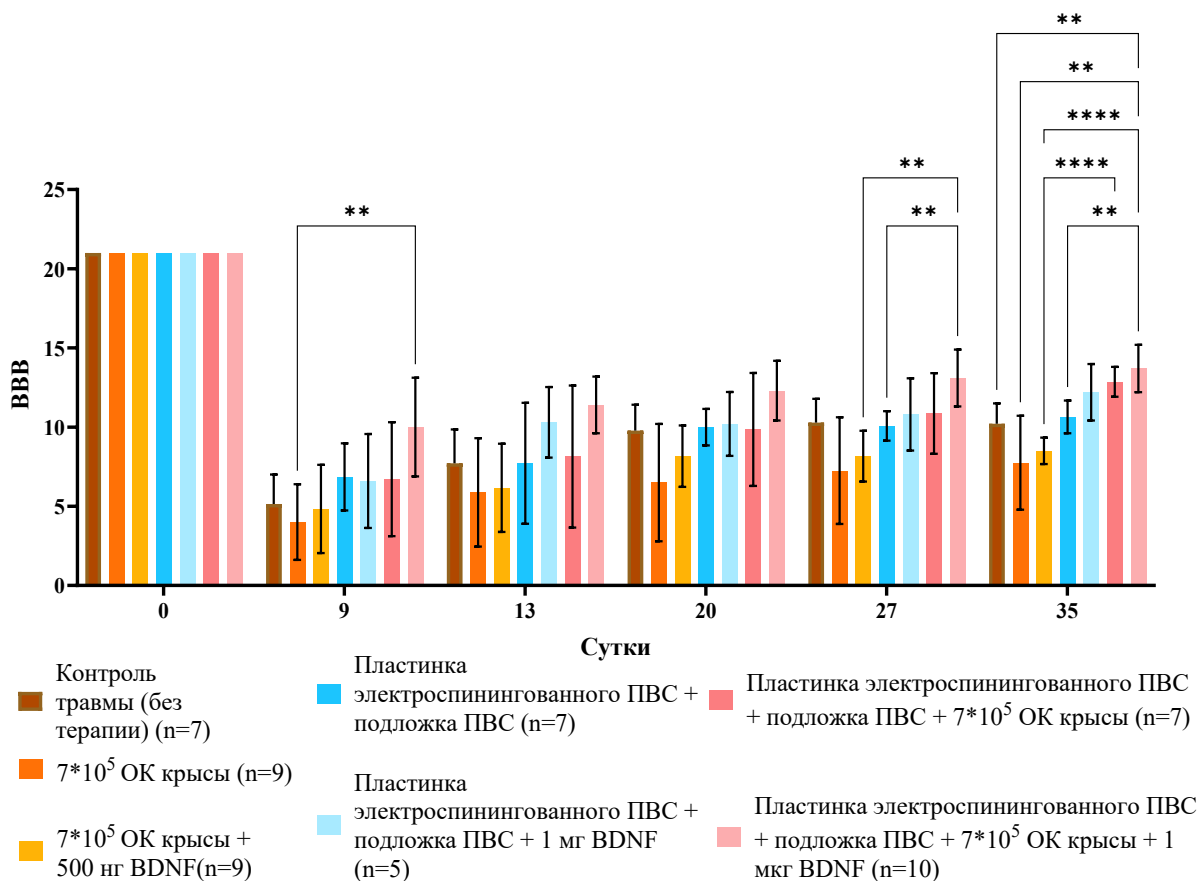


Рисунок 8 – Динамика восстановления двигательной активности задних конечностей крыс после трансплантации биоинженерных препаратов на основе пластин нановолокна ПВС, ОК крыс и нейротрофина при травме спинного мозга, представлена в баллах шкалы BBB. На графике указаны средние значения $\pm$ среднеквадратическое отклонение. Значимость различий оценивали с использованием двухфакторного дисперсионного анализа, апостериорный тест Тьюки. **($p < 0,005$), ***($p < 0,0005$), ****($p < 0,0001$)

Гистологически подтверждены миграция ОК из пластины в ткань (Рисунок 9), формирование миелина и отсутствие массивного апоптоза (TUNEL). Прямая инъекция клеток с BDNF, напротив, не давала эффекта, что подчёркивает критическую роль носителя для защиты трансплантата. Таким образом, нановолокно ПВС обеспечивает защиту клеток в острой фазе, депонирует BDNF и способствует ранней регенерации.

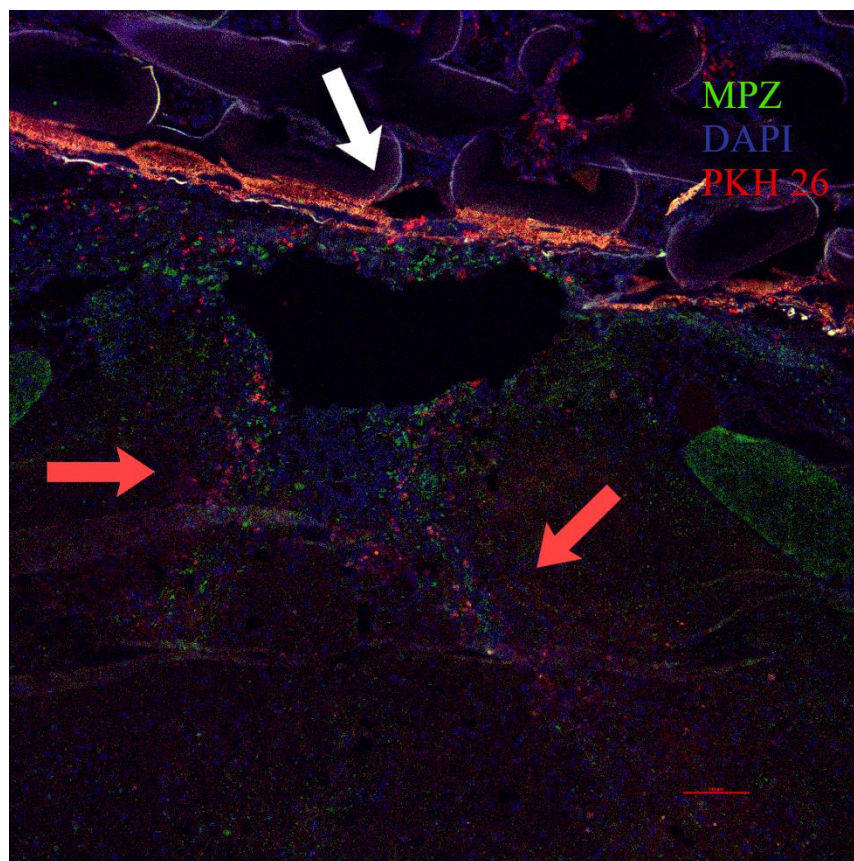


Рисунок 9 – Иммуногистохимическое исследование образца спинного мозга спустя 5 недель после трансплантации. Синий – окрашивание ядер DAPI, зеленый - окрашивание с антителами к маркеру зрелых нейронов b-III-тубулину, красный - PKH26-меченые ОК. Белая стрелка указывает на пластину из нановолокна ПВС, красная стрелка указывает на миграцию меченых ОК

Изучение влияния препарата на ремиелинизацию методом ПЦР

Анализ экспрессии гена MPZ показал, что все группы с биоинженерными конструктами (фибриновый и комбинированный гидрогели) статистически значительно превосходили контрольную группу и группу с клетками без гидрогеля по уровню экспрессии этого гена. Это свидетельствует об активации процессов ремиелинизации (Рисунок 10А). Добавление BDNF в гидрогели приводило к еще большему увеличению экспрессии MPZ, хотя и не всегда статистически значимому (Рисунок 10Б).

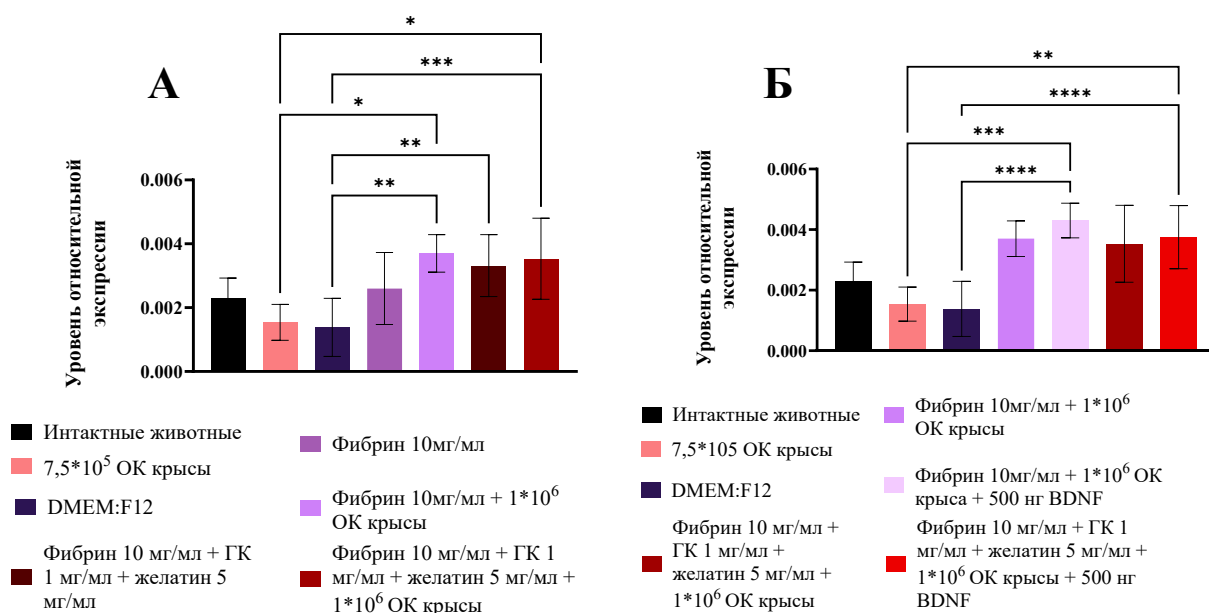


Рисунок 10 – Изменение уровня относительной экспрессии гена MPZ. ПЦР в реальном времени. На графике указаны средние значения $\pm$ среднеквадратическое отклонение. Значимость различий оценивали с использованием однофакторного дисперсионного анализа, апостериорный тест Холма — Сидака. *($p < 0,05$), **($p < 0,005$), ***($p < 0,0005$). Размер выборки всех групп 5

Обобщение механизмов действия.

Разработанные препараты реализуют терапевтический эффект через несколько ключевых процессов:

- уменьшение объёма кисты (вероятно, за счёт секреции ОК матриксных металлопротеиназ 2 и 9, что облегчает миграцию клеток через капсулу кисты);
- миграцию ОК в нервную ткань и образование периферического миелина (MPZ), что подтверждено гистохимически и на уровне экспрессии гена;
- модуляцию воспаления и создание регенеративной микросреды (особенно для комбинированного гидрогеля, где ГК подавляет нейровоспаление, а желатин обеспечивает адгезию) (Martin-Saldaña et al., 2025; Rotaru-Zavaleanu et al., 2025).

Роль BDNF дифференцирована: при хронической травме он преимущественно стимулирует миграцию и ремиелинизацию ОК (усиление экспрессии MPZ), при острой — оказывает системный нейропротекторный эффект, что выражается в более раннем восстановлении функций. Однако в обоих случаях добавление нейротрофина не приводило к кардинальному усилению конечных показателей, что, вероятно, связано с эндогенной продукцией BDNF самими ОК.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Резюмируя результаты исследования, в терапии хронической фазы травмы спинного мозга (ТСМ) со сформированной кистой наибольшую эффективность продемонстрировал комбинированный гидрогель с обонятельными клетками (ОК). Сопоставимый уровень эффективности отмечен для фибринового гидрогеля с концентрацией 10 мг/мл и ОК. Добавление BDNF в состав гидрогелей не приводило к существенному усилению моторного восстановления, однако способствовало ремиелинизации. В терапии острой фазы ТСМ наибольшую эффективность показал препарат на основе ОК и пластины из нановолокна ПВС с твёрдой подложкой. В отличие от хронической формы, добавление нейротрофина не только повысило эффективность трансплантата, но и обеспечило более быстрое восстановление моторной функции. Вероятно, существенным фактором усиления эффективности препарата при добавлении нейротрофина является фаза ТСМ: BDNF усиливал положительный эффект в первые 9 суток после травмы (подострая фаза), но не оказывал усиления терапевтического эффекта при хронической форме травмы спинного мозга. Перспективой дальнейших исследований является оценка эффективности комбинированных трансплантатов в сочетании с другими клетками обонятельной выстилки и генной терапией.

ВЫВОДЫ

1. Выявлен эффект снижения выживаемости и пролиферации обкладочных клеток в коллагеновых гидрогелях с концентрацией 1 мг/мл и 4 мг/мл на протяжении 30 суток. В фибриновом гидрогеле с концентрацией 4 мг/мл изменений выживаемости и пролиферации обкладочных клеток не выявлено. В фибриновых гелях с концентрацией 10 мг/мл и комбинированном геле обкладочные клетки увеличивали выживаемость и пролиферацию на всем протяжении наблюдения. При культивировании обкладочных клеток в полимерных пластинах достоверных изменений их выживаемости и пролиферации не обнаружено.
2. Комбинация методов самосборки волокон коллагена и ферментативной полимеризации фибриногена позволила разработать методику трансплантации препарата обкладочных клеток в гидрогелевом матриксе в посттравматические кисты спинного мозга. Выявлено, что коллагеновые гидрогели наиболее эффективно трансплантировать при непрерывном охлаждении. Фибрин-содержащие гидрогели эффективны при трансплантации в виде трехкомпонентной системы с отдельным последовательным нанесением фибрина, среды и тромбина.
3. Впервые показано, что включение обкладочных клеток в гидрогель не приводит к снижению их терапевтической эффективности в отношении восстановления двигательной активности задних конечностей относительно клеток, трансплантированных без гидрогеля. Доказано, что клетки, входящие в состав биоинженерного препарата, участвуют в ремиелинизации зоны хронического повреждения спинного мозга за счёт формирования и интеграции нового миелина. Доказано, что ключевой вклад в уменьшении объёма кисты вносит клеточный компонент биоинженерного препарата. Включение в состав препарата BDNF достоверно способствовало увеличению ремиелинизации в зоне хронического повреждения спинного мозга.
4. Комбинация методов электроспиннинга и трехмерной печати позволила разработать уникальный биоинженерный препарат на основе обкладочных клеток, пластин из нановолокна поливинилового спирта, печатной подложки и BDNF. Применение коллагеновых губок и сшивания фасций позволило разработать наиболее эффективную методику плотной фиксации препарата на спинном мозге в острой фазе травмы.
5. Применение биоинженерных препаратов на основе обкладочных клеток, пластин из нановолокна поливинилового спирта и печатной подложки способствует ремиелинизации и восстановлению моторной активности при острой фазе травмы спинного мозга. Продемонстрирована способность обкладочных клеток активно мигрировать в ткани спинного мозга с последующей интеграцией. Добавление BDNF в клеточный препарат привело к достоверному усилению терапевтической эффективности, что проявлялось ускоренным восстановлением двигательной активности

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Научные статьи, опубликованные в МБЦ Scopus

1. Степанова О. В., Воронова А. Д., Чадин А. В., Фурса Г. А., Карсунцева Е. К., Валихов М. П., Семкина А. С., Решетов И. В., Чехонин В. П. Нейротрофин-3 усиливает эффективность клеточной терапии при хронических травмах спинного мозга // Клеточные Технологии В Биологии И Медицине. 2022. № 1. С. 3–8.
2. Фурса Г. А., Андрецова С. С., Шишкина В. С., Воронова А. Д., Карсунцева Е. К., Чадин А. В., Решетов И. В., Степанова О. В., Чехонин В. П. Применение нейротрофических факторов как перспективная стратегия терапии нейродегенеративных заболеваний (обзор) // Клеточные Технологии В Биологии И Медицине. 2024. № 2. С. 71–83.
3. Stepanova O.V., Voronova A.D., Sosnovtseva A.O., Stepanenko A.A., Chadin A.V., Fursa G.A., Karsuntseva E.K., Valikhov M.P., Semkina A.S., Vorobyev P.O., Reshetov I.V., Chekhonin V.P. Study of the Therapeutic Efficiency of Transduced Olfactory Ensheathing Cells in Spinal Cord Cysts // Stem Cells and Development. – 2022. – Vol. 31, No. 1-2. – P. 9-17. – DOI 10.1089/scd.2021.0265.
4. Stepanova OV, Fursa GA, Andretsova SS, Shishkina VS, Voronova AD, Chadin AV, Karsuntseva EK, Reshetov IV, Chekhonin VP. Prospects for the use of olfactory mucosa cells in bioprinting for the treatment of spinal cord injuries. // World J Clin Cases –2023. –11(2). –P. 322-331 –DOI: 10.12998/wjcc.v11.i2.322

Научные статьи, опубликованные в библиографической базе данных RSCI

5. Фурса Г. А., Мухина А. И., Чадин А. В., Карсунцева Е. К., Воронова А. Д., Шишкина В. С., Лазарева П. А., Степаненко А. А., Решетов И. В., Степанова О. В., Чехонин В. П. Применение клеток обонятельной выстилки в коллагеновых гидрогелях для терапии экспериментальных кист спинного мозга // Клеточные Технологии В Биологии И Медицине. 2024. № 4. С. 263–269.
6. Фурса Г. А., Мухина А. И., Чадин А. В., Кузнецова Т. В., Воронова А. Д., Карсунцева Е. К., Шишкина В. С., Степаненко А. А., Решетов И. В., Степанова О. В., Чехонин В. П. Изучение трансплантации препаратов на основе фибринового гидрогеля и обкладочных клеток обонятельной выстилки для экспериментальной терапии травм спинного мозга // Клеточные Технологии В Биологии И Медицине. 2025. № 4. С. 233–239.
7. Степанова О. В., Фурса Г. А., Карсунцева Е. К., Андрецова С. С., Чадин А. В., Воронова А. Д., Шишкина В. С., Семкина А. С., Решетов И. В., Чехонин В. П. Особенности ремиелинизации после трансплантации обкладочных клеток обонятельной выстилки с нейротрофическими факторами в кисты спинного мозга // Клеточные Технологии В Биологии И Медицине. 2023. № 4. С. 242–248.
8. Фурса Г. А., Андрецова С.А., Степанова О. В., Чадин А. В., Воронова А. Д., Карсунцева Е. К., Семкина А. С., Сосновцева А. О., Решетов И. В., Чехонин

В. П. Применение нейротрофического фактора мозга для улучшения подвижности задних конечностей крыс при травмах спинного мозга // Гены И Клетки. 2022. № 3 (17). С. 243.

Другие публикации

9. Степанова О. В., Фурса Г. А., Карсунцева Е. К., Воронова А. Д., Чадин А. В., Андрецова С. С., Семкина А. С., Шишкина В. С., Решетов И. В., Чехонин В. П. Участие Клеток Обонятельной Выстилки Человека В Процессах Нейрорегенерации При Экспериментальных Травмах Спинного Мозга. // Материалы международного конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития» – Москва, 2022. – С. 66–67.
10. Фурса Г. А., Чадин А. В., Воронова А. Д., Шишкина В. В., Андрецова С. С., Карсунцева Е. К., Каршиева С. Ш., Сенатов Ф. С., Степанова О. В., Чехонин В. П. Применение Биоинженерных Конструктов Из Клеток Обонятельной Выстилки В Коллагеновых Гидрогелях Для Терапии Кист Спинного Мозга // Материалы международного конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития» – Москва, 2023. – С. 96–98 DOI: 10.37747/2312-640X-2023-21-96-9
11. Фурса Г. А., Андрецова С. С. и, Степанова О. В., Чадин А. В., Семкина А. С., Карсунцева Е. К., Воронова А. Д., Шишкина В. С., Решетов И. В., Чехонин В. П. Применение трансдуцированных клеток обонятельной выстилки при травмах спинного мозга. // Международный конгресс CRISPR-2023: Материалы международного конгресса. – Новосибирск, 2023 – С. 88–89.
12. Степанова О. В., Фурса Г. А., Чадин А. В., Воронова А. Д., Карсунцева Е. К., Андрецова С. С., Шишкина В. С., Степаненко А. А., Решетов И. В., Чехонин В. П. Трансплантация генно-клеточных конструктов на основе клеток обонятельной выстилки, экспрессирующих нейротрофические факторы, как новая стратегия лечения пациентов с кистами спинного мозга. // Материалы VI Национального конгресса по регенеративной медицине. – Санкт-Петербург, 2024. – С. 949–950. DOI: 10.17816/morph.konf2024
13. Фурса Г. А., Чадин А. В., Карсунцева Е. К., Воронова А. Д., Шишкина В. С., Лазарева П. А., Степаненко А. А., Решетов И. В., Степанова О. В., Чехонин В. П. Применение клеток обонятельной выстилки в фибриновых гидрогелях для терапии кист спинного мозга. // Материалы VI Национального конгресса по регенеративной медицине. – Санкт-Петербург, 2024. – С. 1030–1031. DOI: 10.17816/morph.konf2024
14. Фурса Г. А., Чадин А. В., Воронова А. Д., Карсунцева Е. К., Андрецова С. С., Шишкина В. С., Степаненко А. А., Решетов И. В., Чехонин В. П. Применение клеток обонятельной выстилки в гидрогелях для терапии травм спинного мозга // Сборник тезисов докладов XI Всероссийского форума молодых исследователей ХимБиоSeasons 2025. – Калининград, 2025. – С. 228.

ФУРСА ГРИГОРИЙ АНДРЕЕВИЧ
(Российская Федерация)

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ БИОИНЖЕНЕРНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ
КЛЕТОК ОБОНЯТЕЛЬНОЙ ВЫСТИЛКИ ПРИ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ТРАВМАХ СПИННОГО МОЗГА**

Диссертация посвящена повышению эффективности терапии травматических повреждений спинного мозга с помощью биоинженерных препаратов на основе обкладочных клеток обонятельной выстилки. В работе изучены выживаемость и пролиферация обкладочных клеток в составе гидрогелей и полимерных пластин *in vitro*; разработаны методики трансплантации клеток в гидрогелевых носителях в посттравматические кисты спинного мозга и оценена их эффективность, в том числе с добавлением нейротрофического фактора мозга (BDNF); создан и апробирован оригинальный препарат на основе обкладочных клеток, нановолоконных пластин и BDNF для острой фазы травмы. Экспериментально показано, что трансплантация разработанных препаратов приводит к значимому сокращению объема посттравматических кист, улучшению восстановления двигательной активности задних конечностей и стимуляции ремиелинизации в зоне повреждения как при хронической, так и при острой фазах травмы; добавление BDNF достоверно усиливает терапевтический эффект. Полученные результаты и разработанные протоколы могут служить основой для дальнейших доклинических и клинических исследований новых средств терапии травмы спинного мозга.

FURSA GRIGORII ANDREEVICH
(Russian Federation)

**EFFICACY OF BIOENGINEERED PRODUCTS BASED ON OLFACTORY
ENSHEATHING CELLS IN EXPERIMENTAL SPINAL CORD INJURY**

The dissertation is devoted to improving the efficacy of therapy for traumatic spinal cord injury using bioengineered preparations based on olfactory ensheathing cells (OECs). The study examines the survival and proliferation of OECs in hydrogels and polymer sheets *in vitro*; develops and evaluates methods for transplanting OEC-laden hydrogels into post-traumatic spinal cord cysts, including with brain-derived neurotrophic factor (BDNF); and creates and tests an original preparation based on OECs, nanofiber sheets and BDNF for the acute phase of injury. It is experimentally shown that transplantation of the developed preparations significantly reduces the volume of post-traumatic cysts, improves hindlimb motor recovery and stimulates remyelination at the injury site in both the chronic and acute phases, with BDNF significantly enhancing the therapeutic effect. The results obtained and the developed protocols can serve as a basis for further preclinical and clinical research into new therapeutic agents for spinal cord injury.