

# EFFEKTEN AV INTERLEUKIN-1-RECEPTORANTAGONIST OCH HYALURONSYREBASERAD HYDROGEL PÅ NEURONAL ÖVERLEVNAD OCH GLIOS EFTER EXPERIMENTELL RYGGMÄRGSSKADA HOS MÖSS

V Rydén<sup>1</sup>, R Nitsch<sup>2</sup>, T Vogelaar<sup>2</sup>, NP Hailer<sup>1</sup>, N Schizas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> The SpineLab, Sektionen för Ortopedi, Institutionen för kirurgiska vetenskaper, Uppsala Universitet, Sverige; <sup>2</sup> Institute of Microanatomy and Neurobiology, Johannes Gutenberg-University, Mainz, Germany

**Introduktion:** Sekundär skada efter traumatisk ryggmärgsskada leder till bortfall av nervceller. Immunosuppression har visats öka den neuronala överlevnaden och förbättra motoriska funktioner, och interleukin-1-receptorantagonist (IL1RA) är en lovande kandidat för behandling av ryggmärgsskada. Immunmodulerande substanser kan administreras via resorberbara biokompatibla material, och en hydrogel baserad på hyaluronsyra (HA-hydrogel) är en tänkbar bärare. HA-hydrogel i sig har visats vara neuroprotektiv i *in vitro*-försök. Målet med denna pilotstudie var således att utvärdera effekten av IL1RA, HA-hydrogel i sig och IL1RA administrerad i HA-hydrogel på neuronal överlevnad och glios efter experimentell ryggmärgsskada hos möss.

**Material och metoder:** Totalt genomgick 25 möss experimentell ryggmärgsskada och de fördelades på fem behandlingsgrupper: 1) applikation av kontrollmedium DMEM, 2) HA-hydrogel ensamt, 3) HA-hydrogel med DMEM, 4) IL1RA spätt i DMEM, eller 5) en kombination av HA-hydrogel och IL1RA utan DMEM. Koronära snitt av ryggmärg färgades immunhistokemiskt mot Neuronalt Antigen N (NeuN) och fibronektin. Snitten analyserades kvantitativt genom konfokal mikroskopi och påföljande bildanalys (CellProfiler®). Medeltalet neuron i dorsal- och ventralhornen för ca 18 snitt täckande 3600  $\mu\text{m}$  i anslutning till skadans epicentrum beräknades för varje individ. Fibronektinfärgningens intensitet mättes inuti och i anslutning till skadeområdet och en medelkvot mellan dessa områden beräknades för varje individ.

**Resultat:** Siffrorna visar medelvärde $\pm$ medelfel. Ett större antal dorsalhornsneuron återfanns i gruppen möss som behandlats med HA-baserad hydrogel ensamt ( $81,8\pm 11,7$ ) och tillsammans med DMEM ( $73,9\pm 8,8$ ) jämfört med endast DMEM ( $70,4\pm 12,1$ ). Lägre antal observerades i grupper behandlade med IL1RA, både utan ( $50,1\pm 9,0$ ) och med HA-hydrogel ( $54,1\pm 11,9$ ). Ingen skillnad observerades för antalet neuron i ventralhornen. Fibronektinkvoten var lägre i grupper behandlade med HA-hydrogel ensamt ( $1,30\pm 0,08$ ) eller i kombination med DMEM ( $1,36\pm 0,09$ ) jämfört med endast DMEM ( $1,55\pm 0,15$ ). Den högsta kvoten återfanns i gruppen som erhållit IL1RA med HA-hydrogel ( $1,70\pm 0,12$ ). IL1RA ensamt var jämförbart med kontroll ( $1,48\pm 0,12$ ). Inga observerade skillnader uppnådde nivån för statistisk signifikans.

**Diskussion:** Det höga antalet dorsalhornsneuron i gruppen behandlad med HA-hydrogel går i linje med tidigare *in vitro*-försök som visat på neuroprotektiv effekt. Att IL1RA ej uppvisade samma effekt går också i linje med tidigare *in vitro*-studier där endast ventralhornsneuron svarat på IL1RA-behandling. Traumat applicerades dorsalt i denna studie vilket kan ha bidragit till den låga skillnaden i antal ventralhornsneuron. Den låga fibronektinkvoten i grupper behandlade med HA-hydrogel kan tala för en minskad grad av glios i skadeområdet. IL1RA förväntas däremot ha sin största effekt i skadans randzon och den höga kvoten vid IL1RA-behandling kan således indikera reducerad glios i den angränsande vävnaden.

**Konklusion:** HA-baserad hydrogel verkar vara en utmärkt bärare för neuroprotektiva substanser efter ryggmärgsskada. IL1RA infriade dock inte förväntningarna, om detta är ett principiellt problem eller en dosfråga får vidare experiment visa.