

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова

праця на правах рукопису

ЛІХОДІЄВСЬКИЙ ВОЛОДИМИР ВОЛОДИМИРОВИЧ

УДК: 616.8-091.93:621.315.59

### ДИСЕРТАЦІЯ

РЕГЕНЕРАЦІЯ ПЕРИФЕРІЙНОГО НЕРВА ЗА УМОВ ЗАСТОСУВАННЯ

НИТКОПОДІБНИХ КРИСТАЛІВ КРЕМНІЮ

22 «Охорона здоров'я»

222 «Медицина»

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_ В.В. Ліходієвський

Наукові керівники:

Чайковський Юрій Богданович, д.мед.н.,  
професор, член-кор. НАМН України завідувач  
кафедри гістології та ембріології НМУ імені  
О.О. Богомольця, МОЗ України

Клімовська Алла Іванівна д.ф.-м.н. провідний  
науковий співробітник Інституту фізики  
напівпровідників ім. В.Є. Лашкарьова НАН  
України

## АНОТАЦІЯ

*Ліходієвський В.В.* Регенерація периферійного нерва за умов застосування ниткоподібних кристалів кремнію. - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина». - Національний медичний університет імені О.О. Богомольця МОЗ України, Київ, 2021.

Проведене експериментальне дослідження, що було присвячено вивченню особливостей регенерації периферійного нерва за умов його важкого пошкодження та застосування імплантату, що містив напівпровідникові ниткоподібні мікрокристали кремнію.

Метою дослідження було встановлення морфологічних, функціональних, функціонально-анатомічних та нейрофізіологічних особливостей регенерації периферійного нерва за умов важкого пошкодження та відновлення його цілісності із використанням імплантатів, що містять ниткоподібні кристали кремнію.

Експеримент було проведено на щурах лінії Wistar, що були розділені на декілька груп (псевдооперовані, виконання аутонейропластики, виконання пластики аlogenною децелюляризованою аортою та карбоксиметилцелюлозним гелем, виконання пластики аортою, гелем та поздовжньо орієнтованими нитковидними мікрокристалами кремнію).

В різні терміни після моделювання проводили функціонально-анатомічне та функціональне обстеження тварин (естезіометрія, аналіз відбитків отриманих при ході), морфологічні дослідження – світлова та електронна мікроскопія, морфометричне дослідження, електрофізіологічне

дослідження (стимуляційна голкова електронейроміографія), виконаний статистичний аналіз отриманих даних.

Було встановлено, що у щурів після тяжкої травми сідничого нерва та виконання пластики аlogenною аортою, гелем та ниткоподібними кристалами кремнію на 12 тижні дослідження показник порогу відсмикування задньої кінцівки складав  $26; 31,33 \pm 15,05$  г, що було більше за значення аналогічного показника у псевдооперованих тварин у 2,53 рази, було більше за такий показник у тварин після аутонейропластики на 5,17% але було менше за такий показник у тварин з пластикою аортою та гелем на 46,87%.

Показник індексу функції сідничого нерва поступово збільшувався і на 12 тижні складав  $-51,78 \pm 6,906$  одиниць, що було менше за значення аналогічного показника у псевдооперованих тварин у 8,32 разів, було менше за такий показник у тварин після аутонейропластики на 6,32%, але було більше за такий показник у тварин з пластикою аортою та гелем на 33,04%

Також було встановлено, що у щурів даної групи на 12 тижні дослідження в ділянці дистального відрізка нерва питома кількість нервових волокон складала  $5544 \pm 662,3$  1/мм<sup>2</sup> що було менше за значення аналогічного показника у псевдооперованих тварин на 44,98%, було менше за такий показник у тварин після аутонейропластики на 26,80% але було більше за такий показник у тварин з пластикою аортою та гелем на 50,98%

За результатами електронейроміографічного дослідження на 12 тижні щури з групи пластики нерва аlogenною аортою, гелем та ниткоподібними кристалами мали амплітуду м-відповіді, що складала  $11,83; 8,890-12,280$  mV, що не відрізнялося від значення аналогічного показника у псевдооперованих тварин, було більше за такий показник у тварин після аутонейропластики на 86,0% і було більше за такий показник у тварин з пластикою аортою та гелем у 3,95 рази.

Також щури цієї групи мали латентність м-відповіді, що складало  $2,100; 2,050-2,100$  мс що було більше за значення латентності у псевдооперованих

тварин у 2,1 рази, проте була менше за такий показник у тварин після аутонейропластики на 4,54% і була менше за такий показник у тварин з пластиком аортою та гелем на 74,12%.

За результатами виконання роботи був створений новий тубулярний імплантат, що складається з аlogenної децелюляризованої аорти, 4% карбоксиметилцелюлозного гелю та нитковидних кристалів кремнію, що може бути використана для заміщення значних дефектів нервових стовбурів з метою стимуляції їх регенерації.

Було встановлено, що у тварин після виконання пластики нерва імплантом з аlogenної децелюляризованої аорти, гелю та нитковидних кристалів кремнію особливості відновлення периферійного нерва полягають у прискореній та більш повноцінній регенерації як внаслідок наявності структур в просвіті кондуїта, що грають опорну та направляючу роль так і за рахунок підвищеної адгезії, ймовірно, внаслідок кулонівської взаємодії різнойменних зарядів поляризованої мембрани нервових волокон та поляризованої поверхні нитковидних напівпровідникових кристалів кремнію, Більш повноцінна регенерація проявлялася в більш рівномірному проростанні значної кількості впорядкованих повноцінних нервових волокон, що підтверджувалося даними електрофізіологічного дослідження, та являлося причиною відносно задовільних функціональних результатів, що було зареєстровано за допомогою функціональних та функціонально-анатомічних тестів.

Таким чином, наявність нитковидних кристалів кремнію у складі імпланта нерва призводить до суттєвих позитивних кількісних та якісних змін морфологічних, функціональних, функціонально-анатомічних та нейрофізіологічних параметрів регенерації.

**Ключові слова:** травма периферійного нерва, протезування нерва, регенерація нерва, ниткоподібні кристали кремнію, напівпровідниковий кремній

## Список публікацій здобувача

1. Likhodiievsky V, Korsak A, Klimovskaya A, Chaikovsky Y. Silicon wires for nerve gap management: role of surface properties in nerve regeneration. Georgian medical news [Internet]. 2018 [cited 17 June 2020];284(11):115-120. Available from: <http://www.geomednews.org/shared/issues/med284.pdf>
2. Klimovskaya A, Chaikovsky Y, Liptuga A, Lichodiievskiy V, Serozhkin Y. Interface Nerve Tissue-Silicon Nanowire for Regeneration of Injured Nerve and Creation of Bio- Electronic Device. In: Abreu G, Aguilar M, ed. by. Neurons - Dendrites and Axons [Internet]. London: IntechOpen; 2019 [cited 17 June 2020]. Available from: <https://www.intechopen.com/books/neurons-dendrites-and-axons>
3. Likhodiievskiy V, Korsak A, Skopets D, Olefir S, Chukhrai S, Shamalo S et al. Long-term outcomes of rat sciatic nerve injury and its grafting with silicon wires-based conduit: distal nerve stump histology and electromyography results. Medical Science of Ukraine (MSU) [Internet]. 2019 [cited 17 June 2020];15(3-4):3-9. Available from: <https://msu-journal.com/index.php/journal/article/view/160>
4. Likhodiievskiy V. Early experimental results of nerve gap bridging with silicon microwires. Innovative Biosystems and Bioengineering [Internet]. 2019 [cited 17 June 2020];3(3):168-175. Available from: <http://ibb.kpi.ua/article/view/176925>
5. Likhodiievskiy V, Korsak A, Olefir S, Zabala A, Bukovska M, Turiy M et al. Long-term functional and histological outcomes of rat's sciatic nerve recovery after severe injury and experimental treatment with silicon microwires. Ukrainian Scientific Medical Youth Journal [Internet]. 2018 [cited 17 June 2020];3-4(108):48-52. Available from: <http://mmj.nmuofficial.com/index.php/journal/article/view/22>

6. Klimovskaya A, Vysotskaya N, Chaikovsky Y, Korsak A, Lichodievskiy V, Ostrovskii I. Morphology of the Interface "Silicon Wire - Nerve Fiber". *Journal of Nano Research*. 2016;39:214-220.
7. Klimovskaya A, Chaikovsky Y, Naumova O, Vysotskaya N, Korsak A, Likhodiievskiy V et al. Coulomb interactions at the silicon wire-nervous tissue interface. *World of Medicine and Biology* [Internet]. 2016 [cited 17 June 2020];55(1):136-141. Available from: <https://womab.com.ua/en/smb-2016-01/5936>
8. Lichodievskiy V, Vysotskaya N, Ryabchikov O, Korsak A, Chaikovsky Y, Klimovskaya A et al. Application of Oxidized Silicon Nanowires for Nerve Fibers Regeneration. *Advanced Materials Research*. 2013;854:157-163.
9. Likhodiievskiy V, Korsak A, Lutsishin I, Pedchenko Y, Bukovska M, Olefir S et al. Silicon wires for nerve gap management: role of surface properties in nerve regeneration. 4th International Symposium on Peripheral Nerve Regeneration. Barcelona: European Society for the Study of Peripheral Nerve Repair and Regeneration; 2017. p. 86.
10. Ліходієвський В, Висоцька Н, Чайковський Ю, Корсак А, Клімовська А. Електрохімічні механізми формування інтерфейсу нервове волокно-ниткоподібний кристал кремнію. Конференція молодих вчених з фізики напівпровідників "Лашкарьовські читання" з міжнародною участю. Київ: Інститут фізики напівпровідників ім. В.Є. Лашкарьова НАН України; 2017. p. 113-114.
11. Likhodiievskiy V, Korsak A, Chaikovsky Y, Klimovskaya A. Nerve gap bridging by silicon semiconductor nanowires: an experimental morphological study. I-st International Symposium on peripheral nerve regeneration (NRIS). Kyiv: Bogomolets National Medical University; 2016. p. 30-31.
12. Likhodiievskiy V, Neverovskyi A, Korsak A, Kryvosheyeva O, Klimovskaya A, Vysotskaya N et al. Structure of regenerative neuroma in injured

- peripheral nerve gap bridged by a conduit containing silicon nano- and microwires: an experimental morphological study. 3rd International Symposium on Peripheral Nerve Regeneration (ISPNR). Hannover: European Society for the Study of Peripheral Nerve Repair and Regeneration; 2015. p. 23.
13. Korsak A, Likhodiyevskiy V, Chaikovskiy Y, Klimovskaya A, Vysotskaya N, Lutsyshyn I et al. Effect of the size, the density and the interface morphology of silicon nanowires on the nerve fibers regeneration. European Material Research Society. Lille, Strasbourg: EMRS; 2014. p. N IV 9.
  14. Высоцкая Н, Лиходиевский В, Климовская А, Корсак А, Чайковский Ю. Регенерация нервных волокон с использованием кремниевых наностержней покрытых оксидами кремния. Лашкарьовські читання - 2013. Київ: Інститут фізики напівпровідників імені В.Є. Лашкарьова НАН України; 2013. p. 205-206.

## ANNOTATION

*Volodymyr V. Likhodiievskyi* Peripheral nerve regeneration after application of silicon whiskers. - qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

The thesis for obtaining a Doctor of Philosophy degree, branch of knowledge, 22 «Health care», specialty 222 «Medicine». - Bogomolets National Medical University, Kyiv, 2021.

An experimental study was conducted to study the features of peripheral nerve regeneration under conditions of severe damage and the use of an implant containing semiconductor silicon whiskers.

The aim of the study was to establish the morphological, functional and neurophysiological features of peripheral nerve regeneration under conditions of severe damage and to restore its integrity using implants containing silicon whiskers.

The experiment was performed on Wistar rats, which were divided into several groups (sham-operated, autoneurografting, grafting with allogeneic decellularized aorta and carboxymethylcellulose gel, grafting with aortic, gel and longitudinally oriented silicon whiskers).

Functional testing of animals (von Fray test, walking track analysis), morphological studies - light and electron microscopy, morphometric study, electrophysiological study (stimulation needle electroneuromyography), statistical analysis of the obtained data were performed at different times after nerve grafting.

It was found that 12 weeks after surgery rats with severe sciatic nerve injury and grafting with allogeneic decell aorta, gel and silicone wires had paw withdrawal threshold  $26; 31,33 \pm 15,05$  g, that was in 2,53 times higher than in sham-operated rats, it also was higher than in autoneurografting group by 5,17%, but it was less than in aorta+gel grafting group by 46,87%.



At 12 weeks after surgery rats with nerve grafting with allogenic decell aorta, gel and silicone wires had Sciatic Function Index (SFI)  $-51,78 \pm 6,906$  units, that was in 8,32 times less than SFI in sham-operated rats, it also was less than in autoneurografting group by 6,32%, but it was higher than in aorta+gel grafting group by 33,04%.

It was also found that at 12 week after surgery rats from this group in distal nerve stump had nerve fiber density  $5544 \pm 662,3$   $1/\text{mm}^2$ , that was by 44,98% less than in sham-operated rats, it also was less than in autoneurografting group by 26,80%, but it was higher than in aorta+gel grafting group by 50,98%.

Electrophysiological examination shown that 12 weeks after surgery rats from aorta+gel+silicone wires grafting group had m-response amplitude 11,83; 8,890-12,280 mV, without differences with amplitude in sham-operated group, it also was higher than in autoneurografting group by 86,0%, and it was higher than in aorta+gel grafting group in 3,95 times.

It was also shown that m-response latency in rats from this group was 2,100; 2,050-2,100 ms that was in 2,1 times less than in sham-operated rats, it also was less than in autoneurografting group by 4,54%, and it was higher than in aorta+gel grafting group by 74,12%

Based on the results of the work, a new model of tubular implant was created, consisting of allogenic decellularized aorta, 4% carboxymethylcellulose gel and silicon whiskers (crystals), which can be used to replace significant defects of nerve trunks to stimulate their regeneration.

It was found that in animals after nerve grafting with an implant that composed of allogenic decellularized aorta, gel and filamentous crystals of silicon had several features of peripheral nerve recovery: they had accelerated and more complete regeneration due to the presence of structures in the lumen of the conduit, which play a supporting role. It was also revealed increased nerve fiber-to-whisker adhesion, probably, due to the Coulomb interaction of different charges of the polarized membrane of nerve fibers and the polarized surface of semiconductor

crystals of silicon. More full nerve regeneration was established by light, electron microscopy, morphometric study, and resulted in more uniform neurotization and significant amounts of fibers alongside wires (whiskers). This was confirmed by electrophysiological studies, and was the reason for the relatively satisfactory functional results, which were recorded using functional tests.

Thus, the presence of silicon whiskers in the nerve implant leads to significant positive quantitative and qualitative changes in morphological, functional and neurophysiological parameters of regeneration.

**Key words:** peripheral nerve injury, Peripheral nerve grafting, nerve regeneration, silicon whiskers, silicon semiconductor

#### List of publications

1. Likhodiievsky V, Korsak A, Klimovskaya A, Chaikovsky Y. Silicon wires for nerve gap management: role of surface properties in nerve regeneration. Georgian medical news [Internet]. 2018 [cited 17 June 2020];284(11):115-120. Available from: <http://www.geomednews.org/shared/issues/med284.pdf>
2. Klimovskaya A, Chaikovsky Y, Liptuga A, Lichodievskiy V, Serozhkin Y. Interface Nerve Tissue-Silicon Nanowire for Regeneration of Injured Nerve and Creation of Bio- Electronic Device. In: Abreu G, Aguilar M, ed. by. Neurons - Dendrites and Axons [Internet]. London: IntechOpen; 2019 [cited 17 June 2020]. Available from: <https://www.intechopen.com/books/neurons-dendrites-and-axons>
3. Likhodiievskiy V, Korsak A, Skopets D, Olefir S, Chukhrai S, Shamalo S et al. Long-term outcomes of rat sciatic nerve injury and its grafting with silicon wires-based conduit: distal nerve stump histology and electromyography results. Medical Science of Ukraine (MSU) [Internet]. 2019 [cited 17 June 2020];15(3-4):3-9. Available from: <https://msu-journal.com/index.php/journal/article/view/160>

4. Likhodiievskyi V. Early Experimental results of nerve gap bridging with silicon microwires. Innovative Biosystems and Bioengineering [Internet]. 2019 [cited 17 June 2020];3(3):168-175. Available from: <http://ibb.kpi.ua/article/view/176925>
5. Likhodiievskyi V, Korsak A, Olefir S, Zabala A, Bukovska M, Turiy M et al. Long-term functional and histological outcomes of rat's sciatic nerve recovery after severe injury and experimental treatment with silicon microwires. Ukrainian Scientific Medical Youth Journal [Internet]. 2018 [cited 17 June 2020];3-4(108):48-52. Available from: <http://mmj.nmuofficial.com/index.php/journal/article/view/22>
6. Klimovskaya A, Vysotskaya N, Chaikovsky Y, Korsak A, Lichodiievskiy V, Ostrovskii I. Morphology of the Interface "Silicon Wire - Nerve Fiber". Journal of Nano Research. 2016;39:214-220.
7. Klimovskaya A, Chaikovsky Y, Naumova O, Vysotskaya N, Korsak A, Likhodiievskyi V et al. Coulomb interactions at the silicon wire-nervous tissue interface. World of Medicine and Biology [Internet]. 2016 [cited 17 June 2020];55(1):136-141. Available from: <https://womab.com.ua/en/smb-2016-01/5936>
8. Lichodiievskiy V, Vysotskaya N, Ryabchikov O, Korsak A, Chaikovsky Y, Klimovskaya A et al. Application of Oxidized Silicon Nanowires for Nerve Fibers Regeneration. Advanced Materials Research. 2013;854:157-163.
9. Likhodiievskyi V, Korsak A, Lutsishin I, Pedchenko Y, Bukovska M, Olefir S et al. Silicon wires for nerve gap management: role of surface properties in nerve regeneration. 4th International Symposium on Peripheral Nerve Regeneration. Barcelona: European Society for the Study of Peripheral Nerve Repair and Regeneration; 2017. p. 86.
10. Ліходієвський В, Висоцька Н, Чайковський Ю, Корсак А, Клімовська А. Електрохімічні механізми формування інтерфейсу нервове волокно-ниткоподібний кристал кремнію. Конференція молодих вчених з фізики

напівпровідників "Лашкарьовські читання" з міжнародною участю. Київ: Інститут фізики напівпровідників ім. В.Є. Лашкарьова НАН України; 2017. p. 113-114.

11. Likhodiievskyi V, Korsak A, Chaikovsky Y, Klimovskaya A. Nerve gap bridging by silicon semiconductor nanowires: an experimental morphological study. I-st International Symposium on peripheral nerve regeneration (NRIS). Kyiv: Bogomolets National Medical University; 2016. p. 30-31.
12. Likhodiievskyi V, Neverovskyi A, Korsak A, Kryvosheyeva O, Klimovskaya A, Vysotskaya N et al. Structure of regenerative neuroma in injured peripheral nerve gap bridged by a conduit containing silicon nano- and microwires: an experimental morphological study. 3rd International Symposium on Peripheral Nerve Regeneration (ISPNR). Hannover: European Society for the Study of Peripheral Nerve Repair and Regeneration; 2015. p. 23.
13. Korsak A, Likhodiyevskiy V, Chaikovsky Y, Klimovskaya A, Vysotskaya N, Lutsyshyn I et al. Effect of the size, the density and the interface morphology of silicon nanowires on the nerve fibers regeneration. European Material Research Society. Lille, Strasbourg: EMRS; 2014. p. N IV 9.
14. Высоцкая Н, Лиходиевский В, Климовская А, Корсак А, Чайковский Ю. Регенерация нервных волокон с использованием кремниевых наностержней покрытых оксидами кремния. Лашкарьовські читання - 2013. Київ: Інститут фізики напівпровідників імені В.Є. Лашкарьова НАН України; 2013. p. 205-206.

## ЗМІСТ

	<b><i>ВСТУП</i></b>	16
<b><i>РОЗДІЛ 1</i></b>	<b><i>ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ</i></b>	23
1.1	Епідеміологія травм периферійних нервів	23
1.2	Основні підходи до лікування травм периферійних нервів	25
1.3	Розвиток концепції протезування нервів	31
1.4	Морфологічні зміни у периферійному нерві при травмі за умов застосування різних методів хірургічного лікування	32
1.5	Морфологічні зміни у периферійному нерві при травмі за умов експериментального протезування	36
1.6	Використання регенеративних імплантатів для створення інтерфейсів периферійний нерв – комп'ютер та для відновлення периферійних нервів	37
<b><i>РОЗДІЛ 2</i></b>	<b><i>МАТЕРІАЛ, ЕКСПЕРИМЕНТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ</i></b>	40
2.1	Характеристика груп експериментальних тварин	40
2.2	Методика виготовлення багатокомпонентних трубчастих імплантатів з нитковидними кристалами кремнію	41
2.3	Методика проведення оперативних втручань	43
2.4	Методика проведення морфологічних досліджень	47
2.5	Методика проведення естезіометрії	48
2.6	Методика проведення функціонально-анатомічного дослідження із визначенням індексу функції сідничого нерва	49
2.7	Методика проведення електрофізіологічного дослідження	50
2.8	Методика проведення статистичного аналізу отриманих даних	50
<b><i>РОЗДІЛ 3</i></b>	<b><i>ХАРАКТЕРИСТИКА ВІДНОВЛЕННЯ ПЕРИФЕРІЙНОГО НЕРВА</i></b>	52

	<b><i>ПСЕВДООПЕРОВАНИХ ЩУРІВ ТА ЗА УМОВ ТЯЖКОЇ ТРАВМИ ТА ВИКОНАННЯ АУТОНЕЙРОПЛАСТИКИ</i></b>	
<b>3.1</b>	Результати морфологічного дослідження	52
<b>3.2</b>	Результати морфометричного дослідження	60
<b>3.3</b>	Результати естезіометрії	64
<b>3.4</b>	Результати функціонально-анатомічного дослідження	65
<b>3.5</b>	Результати електрофізіологічного дослідження	67
	Резюме до розділу 3	69
<b>РОЗДІЛ 4</b>	<b><i>ХАРАКТЕРИСТИКА ВІДНОВЛЕННЯ ПЕРИФЕРІЙНОГО НЕРВА ЗА УМОВ ТЯЖКОЇ ТРАВМИ ТА ПЛАСТИКИ ДЕФЕКТУ НЕРВОВОГО СТОВБУРА АЛОГЕННОЮ ДЕЦЕЛЮЛЯРИЗОВАНОЮ АОРТОЮ, ЗАПОВНЕНОЮ КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЮЛОЗНИМ ГЕЛЕМ</i></b>	71
<b>4.1</b>	Результати морфологічного дослідження	71
<b>4.2</b>	Результати морфометричного дослідження	77
<b>4.3</b>	Результати естезіометрії	81
<b>4.4</b>	Результати функціонально-анатомічного дослідження	82
<b>4.5</b>	Результати електрофізіологічного дослідження	83
	Резюме до розділу 4	84
<b>РОЗДІЛ 5</b>	<b><i>ХАРАКТЕРИСТИКА ВІДНОВЛЕННЯ ПЕРИФЕРІЙНОГО НЕРВА ЗА УМОВ ТЯЖКОЇ ТРАВМИ ТА ПЛАСТИКИ ДЕФЕКТУ НЕРВОВОГО СТОВБУРА АЛОГЕННОЮ ДЕЦЕЛЮЛЯРИЗОВАНОЮ АОРТОЮ, ЗАПОВНЕНОЮ КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЮЛОЗНИМ ГЕЛЕМ ТА НИТКОПОДІБНИМИ КРИСТАЛАМИ КРЕМНІЮ</i></b>	87
<b>5.1</b>	Результати морфологічного дослідження	87
<b>5.2</b>	Результати морфометричного дослідження	96
<b>5.3</b>	Результати естезіометрії	99
<b>5.4</b>	Результати функціонально-анатомічного	100

	дослідження	
5.5	Результати електрофізіологічного дослідження	101
	Резюме до розділу 5	102
<b>РОЗДІЛ 6</b>	<b><i>АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ</i></b>	105
	<b><i>ВИСНОВКИ</i></b>	119
	<b><i>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</i></b>	127
	<b><i>ДОДАТКИ</i></b>	141

## ВСТУП

### **Обґрунтування вибору теми дослідження**

Контингент інвалідизованих осіб із частковою або повною стійкою втратою працездатності, що наступила внаслідок важких ушкоджень периферійних нервів, чинить значне соціальне та економічне навантаження на українське суспільство [109, 112].

Особливої уваги заслуговує проблема реконструкції периферійних нервів із тяжким пошкодженням, при котрому формується критичний дефект нервового стовбура. З метою досягнення прийнятних результатів відновлення функції нерва даний дефект має бути заміщений із виконанням аутонейропластики або із використанням синтетичних матеріалів [81].

Не зважаючи на велику кількість досліджень, що присвячені проблемі відновлення периферійних нервів після травм і важких пошкоджень, оптимального способу лікування та матеріалів, що дозволили б досягнути відновлення функції органів в зоні іннервації пошкодженого нерва, поки що не знайдено.

Іншою проблемою є створення мікроелектронних пристроїв, що здатні взаємодіяти із здоровими і замінювати функцію уражених або втрачених ділянок нервової системи, здатні приймати, обробляти сигнали від нервової системи для керування зовнішніми пристроями [27, 33, 74, 100].

Останні дослідження *in vitro* присвячені взаємодії напівпровідникового кремнію із культурами тканин показують формування тісного зв'язку між клітинами та напівпровідниками, що робить кремній найбільш перспективним матеріалом не тільки для виготовлення мікроелектронних пристроїв, а й для виготовлення активних імплантів [38, 39].

У вітчизнаній та іноземній літературі відсутні відомості про дослідження регенерації периферійних нервів за імов імплантації в місце



травми електродів, виготовлених з кремнію, відсутні відомості про взаємодію нервової тканини із кремнієм *in vivo*.

Саме тому, є велика необхідність у проведенні морфологічних експериментальних досліджень з метою характеристики взаємодії нервових волокон та ниткоподібних кристалів кремнію, вивчення інтерфейсів між нервовими волокнами та кристалами, встановлення шляхів керування такими інтерфейсами і з'ясування механізмів стимуляції проростання нервових волокон за допомогою ниткоподібних кристалів кремнію.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами**

Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідної теми кафедри гістології та ембріології НМУ імені О.О. Богомольця «Зміни внутрішніх органів та регуляторних систем за умов експериментального пошкодження та історичні аспекти розвитку гістології, цитології та ембріології в Україні». (Реєстраційний номер 0116U000121), робота виконана в рамках проектів “Розробка імплантів для лікування патологій нервової системи з використанням ниткоподібних нано- та мікрокристалів кремнію” та “Дослідження впливу імплантації ниткоподібних кристалів кремнію з різними фізико-хімічними властивостями на відновлення пошкодженого периферійного нерва” за грантової підтримки Державного фонду фундаментальних досліджень, Україна, грант № Ф64/25 (2015-2016), робота пов'язана із проектами “Гістологічне дослідження стану периферійного нерва за умов тяжкого пошкодження та застосування біоактивного імпланта на основі нитковидних кристалів кремнію” (Реєстраційний номер 0119U003004) та “Функціональне та нейрофізіологічне експериментальне дослідження регенерації периферійного нерва за умов тяжкого пошкодження та застосування біоактивного імпланта на основі нитковидних кристалів кремнію.” (Реєстраційний номер 0119U03003), що виконувалися за грантової підтримки Національної Академії наук України в рамках державної цільової

програми “ Дослідження і розробки з проблем підвищення обороноздатності і безпеки держави” у 2019 році.

### **Мета і завдання дослідження**

Встановлення морфологічних, функціональних та нейрофізіологічних особливостей регенерації периферійного нерва за умов важкого пошкодження та відновлення його цілісності із використанням імплантата, що містить ниткоподібні кристали кремнію.

Завдання дослідження:

1. Створити новий тубулярний імплантат, що містить ниткоподібні кристали кремнію для заміщення значних дефектів під час хірургічного лікування тяжко травмованих периферійних нервів з метою стимуляції їх регенерації.

2. Встановити морфологічні, функціональні та нейрофізіологічні особливості відновлення периферійного нерва у різні терміни після пошкодження за умов заміщення дефекту нервового стовбура імплантатом, виготовленим з аlogenної децелюляризованої аорти з карбоксиметилцелюлозним гелем.

3. Встановити морфологічні, функціональні та нейрофізіологічні особливості інтерфейсу нервове волокно-ниткоподібний кристал та його вплив на регенерацію периферійного нерва у різні терміни після пошкодження за умов заміщення дефекту нервового стовбура імплантом, що складається з аlogenної децелюляризованої аорти, карбоксиметилцелюлозного гелю та ниткоподібних кристалів кремнію

4. Розробити патофізіологічну модель механізмів стимуляції відновлення тяжко травмованого периферійного нерва за умов імплантації в місце травми провідника, що складається із аlogenної децелюляризованої аорти, наповненої карбоксиметилцелюлозним гелем та ниткоподібними кристалами кремнію.

**Об'єкт дослідження:** травма периферичного нерва

**Предмет дослідження:** особливості регенерації сідничого нерва щура за умов заміщення дефекту нервового стовбура імплантом з ниткоподібними кристалами кремнію.

**Методи дослідження:** загальногістологічні, нейрогістологічні, морфометричні, нейрофізіологічні та функціональні, що дозволило охарактеризувати взаємодію між нервовою тканиною і імплантованими ниткоподібними кристалами кремнію та комплексно оцінити перебіг етапів регенерації периферійного нерва.

### **Наукова новизна одержаних результатів**

Вперше розроблений тубулярний імплантант, що містить ниткоподібні кристали кремнію з оптимальними фізико-хімічними властивості для заміщення значних дефектів під час хірургічного лікування тяжко травмованих периферійних нервів з метою стимуляції їх регенерації.

Вперше встановлено морфологічні, нейрофізіологічні та функціональні особливості відновлення периферійного нерва в різні терміни після пошкодження за умов заміщення дефекту нервового стовбура імплантом, що складається з аlogenної децелюляризованої аорти, карбоксиметилцелюлозного гелю та ниткоподібних кристалів кремнію.

Ці результати дають змогу створити передумови удосконалення методик хірургічного лікування тяжких травм нервових стовбурів та створення мікроелектронних імплантів для потреб регенераційної медицини.

### **Практичне значення одержаних результатів**

Отримані дані розширюють уявлення про взаємодію нервової тканини з імплантованими електродами і є передумовою для розробки функціонуючих пристроїв на базі інтерфейсу нервове волокно-ниткоподібний кристал кремнію.

Розроблена методика заміщення дефектів нервових стовбурів за допомогою тубулярних імплантів, що містять впорядковані ниткоподібні кристали кремнію дозволяє покращити результати регенерації та має практичне значення для подальших розробок регенеративних імплантів.

Результати досліджень можуть бути корисні дослідникам в галузі нейронаук та практикуючим лікарям в галузях патоморфології, нейрохірургії, неврології, реабілітології. Отримані дані за результатами досліджень впроваджені в навчальний процес на кафедрі гістології та ембріології НМУ імені О.О. Богомольця.

### **Особистий внесок здобувача**

Автор особисто провів пошук та вивчення наукової літератури, її аналіз.

Автор самостійно провів моделювання та хірургічне лікування тяжкого пошкодження периферійного нерва на лабораторних тваринах, самостійно виконав забор матеріалу.

Автор самостійно обстежив експериментальних тварин за допомогою функціональних та функціонально-анатомічних тестів, провів електрофізіологічне дослідження, статистичний аналіз отриманих результатів.

Автор володіє загальногістологічними, нейрогістологічними, морфометричними, нейрофізіологічними, функціональними методами дослідження та статистичними методами дослідження, проводив їх самостійно.

Автор самостійно підготував статті для публікації, у публікаціях результатів дисертаційного дослідження за участю співавторів йому належить основна частина внеску. Дисертаційна робота була оформлена автором особисто.

### **Апробація результатів дисертації**

Матеріали дисертації були представлені на засіданнях кафедри гістології та ембріології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця та на наступних наукових форумах:

Конференція молодих вчених з фізики напівпровідників „Лашкарьовські читання – 2013”, 3-4 квітня 2013 р., Київ, Україна;

Міжнародна науково-практична конференція, присвяченій Всесвітньому дню здоров'я 2013 р., 4-5 квітня 2013 р., Київ, Україна;

30-му Міжнародний симпозіум Європейського товариства вивчення матеріалів (EMRS), 27-31 травня 2013 р., Страсбург, Франція;

IV науково-практична конференція “YOUTHNANOBIOTECH-2015. Молодіжний форум з нанобіотехнологій”, 20-21 травня 2015 р., Київ, Україна

3-му Міжнародний симпозіум з регенерації периферійних нервів (ISPNR) Європейського товариства з вивчення відновлення та регенерації периферійних нервів (ESPNR), 21-23 вересня, 2015 р., Ганновер, Німеччина;

I-му Міжнародний симпозіум з неврології, реабілітації та реконструкції периферійних нервів після тяжких пошкоджень (NRIS), 19-21 травня 2016 р., Київ, Україна;

Конференція молодих вчених з фізики напівпровідників з міжнародною участю „Лашкарьовські читання – 2017”, 5-7 квітня 2017 р., Київ, Україна;

4-му Міжнародний симпозіум з регенерації периферійних нервів (ISPNR) Європейського товариства з вивчення відновлення та регенерації периферійних нервів (ESPNR), 6-8 липня, 2017 р., Барселона, Іспанія;

### **Публікації**

За матеріалами дисертації опубліковано 14 наукових праць серед яких 6 тез доповідей на наукових конгресах та конференціях, 1 розділ колективної монографії (англійською мовою, peer-reviewed, видана на території країни, що входить до ОЕСР), 3 журнальні статті у закордонних виданнях (англійською мовою), 4 журнальні статті у фахових виданнях,

рекомендованих ДАК України (з них — 1 стаття англійською мовою, peer-reviewed; 3 — англійською мовою).

### **Структура та обсяг дисертації**

Дисертація викладена на 142 сторінках машинописного тексту (обсяг основного тексту дисертації становить 110 сторінок) і складається із змісту, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, чотирьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаної літератури та містить 1 додаток. Дисертаційна робота містить 7 таблиць та проілюстрована 70 рисунками. Список літератури складає 112 джерел, з них – 12 кирилицею та 100 латиницею.

## РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### **1.1 Епідеміологія травм периферійних нервів**

За даними великих статистичних досліджень в травматологічному центрі провінції Онтаріо у період з 1986 по 1996 рік із 5777 пацієнтів травматологічного профілю 295 чоловік (5,1 %) мали травми кінцівок із пошкодженням периферійних нервів або сплетень. У 162 хворих, що були включені в данне дослідження було діагностовано 200 травм нервів; 87 випадків травм (54%) потребували оперативного втручання. При чому частіше спостерігалися травми нервів верхніх кінцівок (у 60,5% пацієнтів). У 52 випадках було діагностовано важке пошкодження периферійного нерва. Середній вік пацієнтів складав 34,6 років із переважною кількістю (59%) осіб молодого віку від 18 до 35 років [57].

За даними мультицентрового когортного дослідження записів 2009-2011 років з Національного банку даних про травми США (National Trauma Data Bank, USA) серед 839 210 пацієнтів, які були включені в дослідження за критерієм встановлення діагнозу «падіння з висоти» і були розділені на 3 когорти (падіння з висоти власного зросту, падіння з висоти більше власного зросту, падіння з висоти під дією зовнішніх сил) травмування периферійних нервів ретроспективно було відзначено у 3151 пацієнта (0,4%), травми нервових сплетень спостерігалися у 569 пацієнтів. Середній вік пацієнтів, із встановленим діагнозом «падіння з висоти» та травмами периферійних нервів або нервових сплетень становив 39,1 рік [8].

Також за даними іншого мультицентрового когортного дослідження записів 2009-2011 років з Національного банку даних про травми США (National Trauma Data Bank, USA) серед 245 470 пацієнтів педіатричного профілю, які були включені в дослідження та мали травми різних локалізацій в результаті падінь з висоти та дорожньо-транспортних пригод 1386 пацієнтів

(0,56%) мали травми периферійних нервів, 212 мали травми нервових сплетьень [9].

За даними мультицентрового ретроспективного поперечного дослідження записів бази даних Іранського Національного Реєстру Травм (Iran National Trauma Registry database) в період з серпня 1999 по лютий 2004 року у 16 753 пацієнтів було діагностовано 23 729 випадків травматичних пошкоджень різних локалізацій. Серед них у 219 пацієнтів (1,3%) було також діагностовано травму периферійних нервів. Середній вік пацієнтів, що мали травму периферійних нервів  $28,6 \pm 14,45$  років. Провідним механізмом травми є травми гострими предметами (60% усіх випадків) та дорожньо-транспортні пригоди (20%) [76].

За даними ретроспективного дослідження даних пацієнтів університетської клініки “Dr. Juse Eleuterio Gonzalez” (Мексика) в період з 2008 по 2012 рік серед 11 998 пацієнтів травматичними пошкодженнями кінцівок було додатково діагностовано 134 пошкодження периферійних нервів (1,21%). У 35 пацієнтів діагностовано травми плечового сплетення. Середній вік пацієнтів травматологічного профілю із супутнім пошкодженням нервів складав  $27 \pm 18,5$  років. Важке пошкодження нервів (5 ступінь по Sunderland) були діагностовані у 26,47% випадків травм нервів. Основними механізмами травми є пошкодження гострими предметами (19% випадків), дорожньо-транспортні пригоди (16%) [14].

За даними ретроспективного дослідження у військовому медичному реабілітаційному центрі клініки бойової травми нервів (War Nerve Injury Clinic, Defence Medical Rehabilitation Centre, Headley Court, Великобританія) у період з 2005 по 2010 рік, у 100 пацієнтів-ветеранів Афганської та Іракської кампанії діагностовано 261 випадок пошкодження периферійних нервів.

Загальний відсоток пацієнтів, що мали пошкодження периферійних нервів складав 8,1% (100 пацієнтів з 1237 усіх травмованих).

Важке пошкодження периферійних нервів було діагностовано у 53



випадках (20% усіх пошкоджень). Вибух був основним механізмом травми у 164 випадках (63%), 213 випадків пошкоджень нервів (82%) були пов'язані з відкритими ранами. Середній вік пацієнтів був 26,5 років [12].

За даними іншого ретроспективного дослідження за період з 2001 по 2006 рік, серед 450 травмованих військовослужбовців, що проходили лікування у Медичному центрі збройних сил США, Сан-Антоніо та інституті хірургії збройних сил США (San Antonio Military Medical Center and US Army Institute of Surgical Research) 70 пацієнтів (15,6%) мали пошкодження периферійних нервів або травму плечового сплетення. Всього у 70 пацієнтів діагностовано 189 травм периферійних нервів. Середній вік пацієнтів - 25 років. Хірургічне лікування було виконано 26 пацієнтам, при чому у 18 з них діагностовано важке пошкодження периферійних нервів із наявним дефектом нервового стовбура [70, 79].

## **1.2 Основні підходи до лікування травм периферійних нервів**

Принциповим показанням до оперативного втручання є травма нерва або ураження фрагменту нервового стовбура, при котрій відновлення нормальної функції без хірургічного лікування є неможливим, із наявною дисфункцією нерва: відсутність чутливості, парестезія, дизестезія або порушення рухової функції в зоні іннервації [99, 109].

Методом золотого стандарту лікування пошкоджень периферійних нервів залишається застосування мікрохірургічних технік під контролем операційного мікроскопу [31, 109].

Епіневральні шви є методом вибору у відновленні цілісності, при цьому, кінці травмованого нерва освіжаються хірургічно. Зовнішні маркери на нервовому стовбурі, такі як розташування судин та розташування пучків нервових волокон мають бути використані для коректного співставлення кінців травмованого нерва. Для лікування травм нервів великого діаметру рекомендовано зшивання окремих пучків нервових волокон, проте, клінічні

дослідження показали однакову ефективність застосування обох технік. Недоліком периневральних швів є надмірне висічення і наявність швів всередині нервового стовбура, що призводить до надмірного розростання сполучної тканини. На практиці, зазвичай важко співставити кінці травмованого нерва коректно, з огляду на порушення нормальної топографії пучків нервових волокон внаслідок травми, набряку та рубцеутворення [31].

Окрім того, навіть прошивання епіневрію голкою та накладення шва може призводити до механічного травмування цієї структури, що в подальшому призводить до посиленого колагеноутворення в ділянці шва, і як наслідок, порушувати орієнтацію новоутворених нервових волокон [50].

Для відновлення цілісності нервового стовбура при його повному пересіченні можуть бути використані інші способи з'єднання кінців нерва та герметизації епіневрію, такі як використання клеїв.

Використання клеючих речовин, з метою зклеювання пересічених нервів застосовується як альтернатива традиційному підходу зшивання кінців нервового стовбура “кінець в кінець”. Клеї на основі фібрину, які імітують кінцеві стадії каскаду згортання крові, що нагадує ефект реорганізації згортка крові, можуть слугувати як манжетка для з'єднання і утримання кінців травмованого нервового стовбура та направлення росту новоутворених нервових волокон. З'єднання кінців нерва за допомогою фібринових клеїв має недостатню міцність. З метою попередження розходження кінців нерва такий спосіб лікування потребує накладення 2-х провізорних швів [50, 91 ].

Цианоакрилатні клеї використовувалися для відновлення цілісності нервів, з огляду на меншу кількість інфекційних ускладнень, порівняно із застосуванням фібринових клеїв а також завдяки формуванню більш стійкого до розтягнення з'єднання. У численних дослідженнях на щурах, де порівнювали застосування цианоакрилатного клею із накладанням швів з метою з'єднання кінців пересіченого сідничого нерва, було показано відсутність переваг по відношенню до застосування епіневральних швів у

результатах регенерації чи відновлення функції. Також часто повідомлялося про здавлення у місці застосування цианоакрилатних клеїв, що перешкоджало регенерації а також рухомості периферійного нерва. Більше того, цианоакрилат не є біосумісним, оскільки викликає токсичні реакції на стороннє тіла та фіброз [51].

Ефективне використання лазерних технологій у зварюванні м'яких тканин призвело до поширення такої технології і у сфері відновлення цілісності нервів. Основною концепцією досягнення зварювального ефекту при застосуванні лазера є трансформація енергії лазерного випромінювання в теплову, під дією чого відбувається коагуляція і денатурація структурних білків епіневрію. З огляду на структуру нервового стовбура найбільш прийнятним для його зварювання є CO<sub>2</sub> лазер. Було показано деякі переваги застосування лазера над накладанням епіневральних швів: зменшення місцевого пошкодження, зменшення рубцеутворення, відсутність реакції на стороннє тіло, висока швидкість виконання маніпуляції [50].

З іншого боку, було визначено три суттєві недоліки застосування такої технології: низька міцність з'єднання, яка зберігається такою впродовж перших днів після відновлення цілісності, локальне термічне пошкодження, розходження кінців нерва в післяопераційному періоді, що спричиняє незадовільні результати та змушує накладати провізорні шви [50, 91].

З метою більш надійної фіксації кінців нерва рекомендовано накладати два провізорних епіневральних шва, проте, термічний вплив лазера на синтетичний шовний матеріал може зруйнувати останній.

Актуальними також є останні розробки із дослідження використання високочастотних електрохірургічних інструментів у спеціальних зварювальних режимах для безшовного з'єднання епіневрію кінців травмованого нервового стовбура та його герметизації. Концепція застосування даних інструментів полягає у використанні струму із особливими властивостями, за рахунок чого відбувається денатурація

колагену епіневрію, що і забезпечує “ефект зклеювання”. Водночас із цим, ушкоджуючий вплив на провідниковий компонент нервового стовбуру є мінімальним за рахунок стійкості ліпідів клітинних мембран [107].

У випадку поширених травм нервових стовбурів, коли наявним є дефект на протязі, відновлення цілісності нерва шляхом накладання епіневральних швів суттєво погіршує результати регенерації через надмірне рубцеутворення та зменшення площі контакту кінців травмованого нерва що є протипоказаним [89].

В класичних експериментальних дослідженнях було доведено пряму залежність між натягом кінців травмованого нерва та функціональними і морфологічними результатами регенерації: збільшення натягу між зшитими кінцями травмованого нерва призводило до суттєвого погіршення результатів оперативного лікування: результативність регенерації у групі тварин із помірним натягом, де було сформовано дефект тканини нерва 2 мм відповідала результативності у групі тварин з аутонейропластиком відповідного фрагменту нерва. Тварини, чий нерв був сшитий з середнім та сильним натягом (дефект тканини нервового стовбура 4 та 6 мм відповідно) продемонстрували погані та незадовільні морфологічні і електрофізіологічні результати регенерації [89].

Травма нерва із дефектом нервового стовбура більше 10-20 мм вже є показанням до нейропластики [68].

Аутонейропластика продовжує вважатися багатьма дослідниками «золотим стандартом» у лікуванні травм нервових стовбурів із значними дефектами. Найчастіше, з метою заміщення дефекту нервового стовбура використовують фрагменти гілок уражених нервів, що забираються набагато дистальніше від місця ураження, або чутливі нерви інших анатомічних ділянок [20, 68, 80, 81].

В якості нервів-донорів зазвичай використовують литковий нерв (n. suralis), підшкірний нерв (n. saphenus) великий вушний нерв (n. auricularis

magnus), присередній та бічний шкірні нерви передпліччя (nn. cutanei antebrachii medialis et lateralis), міжреберні нерви (nn. Intercostales) [31, 67].

Проте, при застосуванні такої технології у лікування мають бути враховані діаметри ураженого нерва і нерва-донора, їх фасцикулярна структура. Має бути врахована також денервація анатомічної ділянки тіла в зоні іннервації нерва-донора [31, 67].

Причинами можливих незадовільних наслідків хірургічного лікування важких пошкоджень нервових стовбурів можуть бути незадовільне кровопостачання графту при аутопластиці дефектів великої протяжності, неспівпадіння пучкової структури або діаметру травмованого нерва та аутологічного трансплантанту [31, 112].

Більше того, рандомізовані експериментальні морфологічні дослідження на щурах, що стосувалися регенерації периферійних нервів за умов травми та аутонейропластики фрагментами чутливих та рухових нервів, показали, що причиною незадовільних функціональних результатів є затримка проростання рухових нервових волокон через фрагменти чутливого нерва, з огляду на неспівпадіння розмірів ендоневральних трубочок, що оточують рухові і чутливі волокна [16].

Застосування аутонейропластики обмежене пластикою критичних дефектів нервового стовбура у 5 сантиметрів [80, 81].

Алогенна нервова тканина (алотрансплантанти) є одним з найбільш перспективних джерел для виготовлення протезів нервів. Трупний матеріал доступний у великому об'ємі з урахуванням необхідних вимог до моторної або сенсорної специфічності протезу або його діаметру та протяжності. Такі аллографти містять як життєздатні шваноцити так і мають необхідну ендоневральну мікроструктуру, що і забезпечує аналогічний рівень регенеративної підтримки як і аутологічний матеріал, за умов відповідної іммуносупресії [31, 80, 81].

Дефекти більшої протяжності вимагають пластики із використанням алогенного матеріалу. Проте, використання алотрансплантантів, в свою чергу, зумовлює необхідність у масивній імуносупресивній терапії у післяопераційному періоді тривалістю до 18 місяців, що створює передумови для розвитку у таких пацієнтів опортуністичних інфекцій, токсичного ураження різних органів або появи новоутворень [80].

З метою подолання критичного недоліку алогенних провідників у вигляді їх імуногенності були розроблені методики децелюляризації донорського матеріалу, серед котрих виділяють ліофілізацію, кріоконсервацію, циклічне заморожування-розморожування, обробку детергентами та опромінення [35, 55, 83].

Не зважаючи на притаманні усім цим методам відмінності, дані технології обробки матеріалу мають на меті 1) зменшити імуногенність графту шляхом елімінації клітин з його складу, 2) покращити прорегенераторні властивості провідників завдяки збереженню природнього екстрацелюлярного матриксу [6, 30].

Тривала кріоконсервація тканин донорського матеріалу залишається одним з найбільш поширених та ефективних методів для досягнення цих двох задач.

Обробка алогенних вставок нерва з метою видалення клітинного компоненту, хоча і пропонує прийнятний, з точки зору імуногенності, матеріал для протезування, проте відсутність або нестача життєздатних шваноцитів обмежує застосування алогенних вставок до пластики дефектів нервів не більше ніж 3 см [53].

Комбінація ефектів даних обмежень є первинною причиною обмеженого відновлення функції в результат проведення як ауто- так і аллонейропластики. Методом вибору, з огляду на необхідність подолання вказаних обмежень ауто- та аллонейропластики є застосування лінійних трубчастих імплантантів нервів [16].

### 1.3 Розвиток концепції протезування нервів

За останні 25 років, концепція лінійних трубчастих імплантантів нерва пройшла розвиток від засобу для вивчення регенерації до пристроїв, що можуть бути використані в клінічній практиці у пацієнтів як альтернатива методам нейропластики.

Відсутність про-регенераторного мікрооточення всередині порожнистих вставок, таких як силіконові трубки, призводить до низьких результатів регенерації і обмеження протяжності критичного дефекту нерва, для пластики якого вони можуть застосовуватися. У дослідженнях було показано неможливість силіконових трубок забезпечити проростання аксонів через дефекти нервового стовбура довжиною більше 10 мм [46, 98].

Історично, з метою оптимізації внутрішнього вмісту порожнистого імплантанту та створення більш прийняттого мікрооточення для регенеруючих аксонів використовували гелі, що містили колаген або ламінін [94].

Також використовували внесення до гелів, якими наповнювали порожнисті імплантанти, різних ростових факторів, таких як NGF, GDNF, neurotrophin-3, та FGF [64].

Різні ростові фактори стимулюють нейрорегенерацію шляхом промоції видовження і росту аксонів та сприяння виживаності нейронів.

Для клінічного використання, на думку деяких авторів, використання інкорпорованих факторів росту всередині порожнистих провідників є більш практичним, ніж введення до складу вставки шваноцитів, з огляду на необхідність створення спеціальних підрозділів для культивування шваноцитів. Недоліками застосування факторів росту всередині порожнистих кондуїтів також є втрата активності цих факторів внаслідок стерилізаційної обробки графту чи з плином часу [18, 19, 72].

Структури, розміщені всередині порожнистих провідників, такі як філаменти, колагенову губки, денатуровані м'язи поряд із багатоканальними

кондуїтами покращують якість регенерації завдяки стабілізації формування фібринового матриксу, що утворюється всередині порожнини вставки та/або завдяки контактному спрямуванню росту новоутворених нервових волокон. На додаток до цього внутрішні структури всередині вставок забезпечують збільшення площі для майбутнього заселення клітинами чи площі вивільнення інкорпорованих факторів росту [19].

Таке попереднє заповнення кондуїтів додатковими компонентами матриксу забезпечує субстрат для ранньої міграції клітин як нейрального так і ненеурального походження, зв'язування та утримання факторів росту. Поздовжня орієнтація таких структур також пришвидшує і покращує регенерацію [16, 72].

Полімери із електропровідними властивостями, наприклад поліпіррол, можуть прискорювати регенерацію шляхом прискорення видовження аксонів на зарядженій поверхні [2, 78].

Класичними дослідженнями *in vitro* було доведено спрямування росту аксонів експлантованих нервових клітин з курячих спинномозкових гангліїв, та його пришвидшення у напрямку до катоду, за умови культивування нейронів у постійному електричному полі [32].

На даний момент, полімери із електропровідними властивостями нечасто використовуються, можливо, внаслідок неможливості їх біодеградації, проте, з розробкою нових полімерів, використання таких матеріалів становить значний інтерес, як перспективних засобів у лікуванні травм нервів [18, 19].

#### **1.4 Морфологічні зміни у периферійному нерві при травмі за умов застосування різних методів хірургічного лікування**

Структуру периферійного нерва формують мієлінові та безмієлінові нервові волокна. До складу периферійного нерва можуть входити аксони альфа- і гама- мотонейронів передніх рогів спинного мозку, дендрити



псевдоуніполярних нейронів спинномозкових вузлів, прегангліонарні парасимпатичні та постгангліонарні симпатичні нервові волокна. Мієлінове нервове волокно складається з осьового циліндра, що безпосередньо пов'язана з тілом нейрона та мієлінової оболонки, утвореної шванноцитами, що багаторазово огортають осьовий циліндр. Безмієлінові нервові волокна складаються з осьових циліндрів, що занурені у цитоплазму шванноцита. Всередині осьового циліндра містяться органели та нейрофіламенти у вигляді мікротрубочок за допомогою яких відбувається антероградний та ретроградний аксональний транспорт, Нервові волокна, розділені між собою тонкими прошарками пухкої волокнистої сполучної тканини (ендонеурій). У складі нерва нервові волокна формують пучки, що оточені пухкою сполучною тканиною (перинеурій). Ззовні нервовий стовбур вкритий епінеурієм, що складається і пухкої волокнистої сполучної тканини [63, 102, 108].

Згідно до загальноприйнятої класифікації, виділяють п'ять ступенів важкості ушкодження нервових стовбурів в залежності від змін нормальних структур нерва. Ступінь важкості ураження варіюється від першого до п'ятого (від легкого ступеня до найбільш важкого) в залежності від ушкодження провідності нервового волокна (I), анатомічної цілісності нервового волокна (II), ендоневрального ложа та його вмісту (III), нервових пучків (IV) та всього нервового стовбура (V). Найбільш важкими вважаються пошкодження V ступеня, коли є не тільки пересічення усього нервового стовбура, а й дефект тканини нерва на протязі, що не дає можливості накладати первинний шов [88].

Проблемі структурної перебудови периферійного нерва після травми присвячена величезна кількість робіт, починаючи зі спостережень Веллера.

Відомо, що загальний об'єм цитоплазми, що знаходиться всередині аксонів та дендритів нейронів перевищує об'єм цитоплазми всередині перикаріона більше ніж в 20 000 разів [7].

Коли нормальне функціонування цих нейрональних компартментів порушується різними шляхами, такими як травма, порушення аксонального транспорту, дія токсичних хімічних речовин, відбуваються певні структурні і молекулярні зміни, під назвою Веллерівська дегенерація, що полягає у декомпозиції цитоскелету та гранулярної дегенерації аксона дистальніше місця ураження [96].

Проведені дослідження показали, що вже в перші хвилини після аксотомії проксимальніше та дистальніше від місця травми починається розпад травмованих аксонів протяжністю декілька мікрометрів, що триває з 5 по 60 хвилину після травми [37].

Ця рання відповідь супроводжується повільним формуванням дистрофічних колб у вигляді накопичення органел аксоплазми як наслідок триваючого антероградного та ретроградного транспорту.

Гостра аксональна дегенерація полягає у швидкій дезорганізації нейрофіламентів як наслідок посиленого притоку іонів кальцію всередину аксона. Існує чітка кореляція між трансембранним током іонів кальцію та швидкістю розпаду елементів цитоскелету. Підвищення концентрації кальцію всередині аксоплазми травмованих аксонів запускає розпад спектрину та тубуліну шляхом активації кальпаїну, кальцій-залежної серин-треонінової протеази [82].

Дегенерація цитоскелету травмованих аксонів завершується впродовж однієї години з моменту пошкодження [7, 37].

Відстрочена фаза Веллерівської дегенерації полягає у асинхронній фрагментації дистальної частини травмованих аксонів [6].

Важкі пошкодження, такі як аксотомія запускають дегенерацію в проксимально-дистальному напрямку, в той час як хронічні ушкодження запускають аксональну дегенерацію від синаптичних закінчень у напрямку до тіла клітини по ретроградному шаблону [7].

В той же час в класичній літературі описане і явище ретроградної дегенерації нервових волокон на короткому проміжку центрального відрізка нерва після його пересічення [66].

Одразу після травми периферійного нерва шваноцити починають дедиференціюватися за допомогою убіквітин-протеасомного механізму. [45]. Шваноцити зданті реагувати на ушкодження аксона шляхом зміни експресії генів ще до дегенерації аксона [28].

Вже через 48 годин після травми шваноцити перестають продукувати білки мієліну, активують гени-асоційовані з регенерацією (GAP-43, нейротрофічні фактори та рецептори до них, нейрегулін та рецептори до нього), після чого починають проліферувати [60, 97]. Пік проліферації шванівських клітин приходить на 4 день після травми. Проліферуючі шваноцити зберігають контакт з базальною мембраною, та формують тк звані Бюнгнерівські стрічки, що забезпечують підтримуюче середовище та виділяють фактори росту для регенеруючих аксонів [84].

Після швидкого завершення ретроградної дегенерації, після зміни дегенеративних процесів синтетичними, внаслідок активного аксонального транспорту, на 7-10 добу після травми, на кінцях аксонів з'являються колбоподібні розширення, так звані, колби росту або конуси росту.

Конус росту, був вперше описаний іспанським нейрогістологом С. Рамон-і-Кахалем, і являє собою розширену у формі конусу частину регенеруючого нервового волокна, що прямує назутріч органу-мішені.

Видовження аксона за рахунок конусів росту відбувається в напрямку шваноцитів під дією нейротрофічних факторів, що ними виділяються. На кінці конуса росту розміщуються численні відростки – філоподії та ламелоподії, що містять велику кількість F-актину, за допомогою яких, і відбувається визначення напрямку видовження нервового волокна. За сприятливих умов видовження відбувається за градієнтом концентрації сигнальних молекул, що виділяються шваноцитами регенеруючого фенотипу

(Нетріни, ЕРН-ріни, семафоріни). У випадку несприятливого оточення, за відсутності вказаних сигнальних молекул видовження новоутворених волокон затримується і формується так звані “затримані колби росту”, які є надмірно розширеними. Іншими несприятливими факторами мікрооточення є надмірний розвиток сполучної тканини, недостатня васкуляризація та затримка дегенерації мієліну, що призводить як до затримки проростання нервових волокон так і до зміни напрямку росту новоутворених нервових волокон, їх відхилення від поздовжньої осі нерва, наслідком чого є порушення “адресності” проростання нервових волокон (axonal misguidance) [5, 18, 19].

### **1.5 Морфологічні зміни у периферійному нерві при травмі за умов експериментального протезування**

Розуміння природнього перебігу регенеративних процесів, що відбуваються при регенерації нерва через порожнисті імпланти є необхідним для розробки нових імплантів. Процес регенерації можна умовно розділити на наступні фази: (I) рідинна фаза, (II) матрична фаза, (III) фаза міграції клітин, (IV) аксональна фаза, (V) фаза мієлінізації [10].

В початковій, рідинній фазі відбувається вихід плазми крові, що містить нейротрофічні фактори та молекули-попередники екстрацелюлярного матриксу, таких як фібриноген та XIII фактор згортання з проксимального та дистального кінців травмованого нервового стовбура. В експерименті на щурах, було показано, що пік концентрації цих речовин між кінцями нервового стовбура досягає вже через 3-6 годин після травми та імплантації порожнистого кондуїта [10, 54, 98].

Ця попередня рідинна фаза змінюється формуванням фібринових ниток між проксимальним та дистальним кінцями нервового стовбура, що формується внаслідок потрапляння прекурсорів екстрацелюлярного матриксу. Такі фібринові нитки, зазвичай, формуються протягом 1 тижня після травми нерва та імплантації порожнистого імплантата [10].

Протягом другого тижня після експериментального пошкодження з проксимального та дистального кінців шванноцити, так само як і фібробласти, ендотеліоцити мігрують вздовж ниток фібрину [10, 54].

Вказані шванноцити, згодом, проліферують та розміщуються впорядковано, формуючи так звані, ленти Бюнгнера. Такі стрічки відіграють як біологічну так і топографічну функцію для аксональної фази регенерації.

В аксональній фазі регенерації, нові регенеруючі аксони починають рости вздовж цих направляючих в дистальному напрямку.

Регенеруючі аксони досягають периферійного кінця травмованого нервового стовбура через 2-4 тижні після травми та протезування [10, 54, 98].

Протягом приблизно двох тижнів після їх формування, фібринові нитки зазнають деградації, виконав, таким чином, свою функцію із спрямування міграції клітин в ділянку провідника [36, 62].

Після проходження аксональної фази, шванноцити змінюють свій фенотип з “регенеруючого” на більш зрілий, “мієлінізуючий” фенотип [20].

Такі зрілі шванноцити починають формувати мієлінову оболонку навколо новоутворених аксонів, що призводить до функціонального відновлення нервового стовбура. Мієлінізація нервових волокон, зазвичай, триває з 6 по 16 тиждень після травми і хірургічного відновлення [49].

## **1.6 Використання регенеративних імплантатів для створення інтерфейсів периферійний нерв – комп’ютер та для відновлення периферійних нервів.**

Здатність нейронів сегментарних рухових і чутливих центрів, що зазнали

аксотомії, до виживаності та здатність цих нейронів до генерації моторних і сприймання чутливих імпульсів через регенеруючі нервові волокна у центральному кінці нерва зумовлює можливість для створення пристроїв із масивами реєструючих та стимулюючих електродів, що можуть пов'язати периферійну частину нерва із зовнішніми пристроями, на основі яких можуть бути створені високотехнологічні протези кінцівок [22].

Центральною ланкою таких пристроїв є інтерфейс нерв-електрод. Такий пристрій повинен мати ряд властивостей.

По-перше, має бути достатньо селективним для забезпечення роботи протезів із максимальним ступенем свободи. і забезпечення максимальної роздільної здатності чутливості для компенсації чутливої функції (ефективність).

По-друге, такий інтерфейс має бути стійким і функціонувати протягом тривалого часу (стабільність). По-третє, електроди такого пристрою мають справляти мінімальний шкідливий вплив на оточуючі тканини і не підлягати корозії (безпечність).

Найменш інвазивними та найменш селективними різновидами таких інтерфейсів є екстраневральні манжеткові імпланти (cuff) та манжеткові пласкі електроди - Flat Interface Nerve Electrode (FINE). Основним недоліком даних інтерфейсів є їх низька селективність, неможливість реєструвати велику кількість сигналів. [44]

Більшою селективністю відрізняються поздовжні та поперечні міжпучкові інтерфейси – Longitudinal Intrafascicular Nerve Electrode (LIFE) та Transversal Intrafascicular Multichannel Electrode (TIME), за допомогою яких можна реєструвати сигнали з нервових волокон у товщі нервового стовбура, а не лише з поверхневих [39].

Найбільш селективними, але і найбільш інвазивними є регенеративні імпланти з порожнистою (закритою, трубчатою) архітектурою, такі як ситовидний електрод (sieve regenerative electrode), мікроканальний скручений електрод (microchannel roll electrode, MRCE), або із відкритою архітектурою

такі як масив електродів (regenerative multielectrode interface, REMI), що представляють собою трубку, яка містить поздовжньо впорядковані електроди, що під'єднані до плашки із отворами у вигляді сита із контактами для зв'язку із зовнішніми пристроями. Нейро-електронний інтерфейс при імплантації таких пристроїв формується поступово, в результаті проростання регенеруючих нервових волокон через отвори у центральній плашці, вздовж розміщених всередині імплантата електродів [22].

Існують відомості, що застосування регенеративних електродів із трубчатою архітектурою дозволяє не лише стимулювати проростання новоутворених нервових волокон разом із цим, створення інтерфейсу нервове волокно-електрод може дозволити вирішити ще одну проблему - невідповідного росту нервових волокон і невідповідної реіннервації органів мішеней (axonal misguidance). Підходи до стимуляції регенерації нервових волокон, що засновані на використанні біосумісних матеріалів, та мають мікро- і нанорозміри останнім часом є дуже актуальними та перспективними. Застосування ниткоподібних структур нано- та мікророзмірів, що розміщуються всередині кондуктів, є перспективними з точки зору стимуляції направленої росту новоутворених нервових волокон із периферійного кінця травмованого нерва [16, 22].

## РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛ, ЕКСПЕРИМЕНТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

### 2.1 Характеристика груп експериментальних тварин

Дослідження було проведено на 130 щурах-самцях лінії Wistar, віком 2-4 місяці, вагою 180-250 г, що утримувалися за умов природнього світлового дня, отримували стандартне брикетоване харчування.

Утримання, догляд за тваринами, маркування та всі маніпуляції проводились у відповідності до положень Директиви 2010/63/EU Ради Європи та Європейського парламенту „Щодо захисту лабораторних тварин, що використовуються з науковою метою” та наказу МОНМС України №249 від 01.03.2012 „Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах”. Матеріали дисертаційного дослідження були розглянуті та схвалені Комісією з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень при НМУ імені О.О. Богомольця (протокол засідання №134 від 25.06.2020р).

Відповідно до поставлених завдань, щури були розділені на такі групи:

I група (n=10) складала псевдооперовані тварини

II група (контроль 1) (n=40) тварини із важкою травмою сідничого нерва та хірургічним лікуванням шляхом аутонейропластики.

III група (контроль 2) (n=40) тварини із важкою травмою сідничого нерва та заміщенням дефекту нервового стовбура імплантом, виготовленим з алогенної децелюляризованої аорти, заповненої карбоксиметилцелюлозним гелем.

IV група (n=40) - тварини із важкою травмою сідничого нерва та заміщенням дефекту нервового стовбура імплантом, що виготовлено з алогенної децелюляризованої аорти, заповненої карбоксиметилцелюлозним гелем і містить ниткоподібні кристали кремнію з товстим природнім окислом.



Таблиця 2.1

Розподіл тварин за групами в залежності від термінів дослідження

Група тварин	Термін дослідження, тижнів				всього
	1	3	6	12	
Псевдооперовані тварини. <b>Група I</b>	-	-	-	10	10
Тяжка травма нерва та виконання аутонейропластики <b>Група II</b>	10	10	10	10	40
Тяжка травма нерва та заміщенням дефекту імплантом, виготовленим з алогенної децелюляризованої аорти, заповненої карбоксиметилцелюлозним гелем. <b>Група III</b>	10	10	10	10	40
Тяжка травма нерва та заміщенням дефекту імплантом, виготовленим з алогенної децелюляризованої аорти, заповненої карбоксиметилцелюлозним гелем та ниткоподібними кристалами кремнію із природнім окислом на поверхні. <b>Група IV</b>	10	10	10	10	40
Разом					130

## 2.2 Методика виготовлення багатокомпонентних трубчастих імплантантів з нитковидними кристалами кремнію

В роботі були використані нитковидні кристали кремнію діаметром 30-50 мкм, р-типу, леговані бором, вирощені за CVD-технологією, методом газотранспортних реакцій із використанням золота, як каталізатора.

Вирощування ниткоподібних кристалів складалося із двох послідовних технологічних процесів: 1 — нанесення на внутрішню поверхню спеціально очищеної скляної ампули плівки золота (каталізатор), 2 — безпосередньо вирощування кристалів із використанням процесу хімічного осадження з парової фази (CVD, Chemical Vapour Deposition) Ріст кристалів забезпечувався шляхом розкладання суміші газів водень-силан ( $H_2-SiH_4$ ) в співвідношенні 100:1, у ампулах із гарячими та холодними станками при тиску 10 Мбар та потоку газу 100 мл/с [41]. Після завершення росту, ампули з кристалами відкривали, відбирали кристали потрібної довжини (близько 10 мм), поверхня яких підлягала очистці (Рис. 2.1, Рис.2.2).



Рис. 2.1 Ниткоподібні кристали кремнію, відібрані для обробки та виготовлення імплантату



Рис. 2.2 Оброблені ниткоподібні кристали кремнію, у скляній ампулі перед імплантацією.

Після виготовлення, нитковидні кристали очищувалися ізопропиловим спиртом впродовж 20 хвилин при 85 °С, 40% фтористоводневою кислотою

впродовж 2 хвилин при кімнатній температурі, проточною деіонізованою водою 15 хвилин [69] (Рис. 2.3).

Після очищення поверхні кристали стерилізувалися в запаяних скляних ампулах впродовж 60 хвилин при 180 °С.

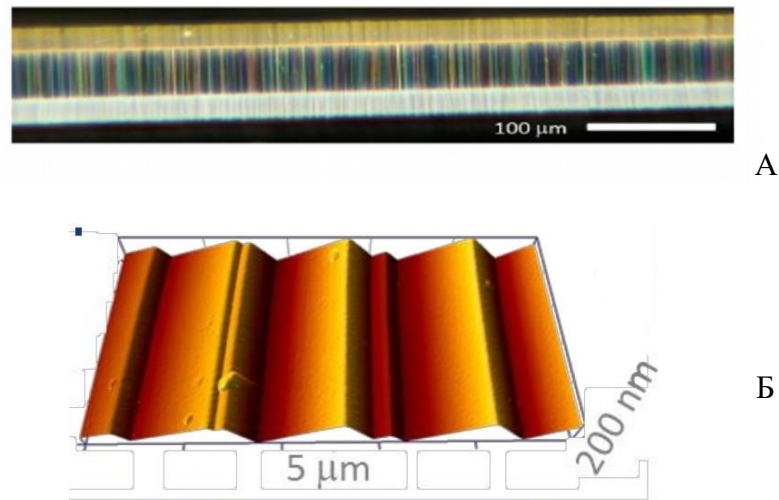


Рис. 2.3 Ниткоподібний кристал кремнію після обробки. А – стереомікроскопічне фото Б - атомно-силової мікроскопії поверхні. Фрагмент доповіді М. Буковська, Н.А. Висоцька, А.І. Клімовська, П.М. Литвин, І.Г. Луцишин, Ю.М. Педченко на конференції молодих вчених з фізики напівпровідників «Лашкарівські читання» з міжнародною участю, Київ, 5-7 квітня 2017 року, Україна. Фото надано А.І. Клімовською.

### 2.3. Методика проведення оперативних втручань

Після попередньо проведеної премедикації тварин: атропін 0,25 мг/кг, димедрол 0,5 мг/кг – внутрішньом'язово, проводили знеболення: тіопентал натрію 60 мг/кг внутрішньоочеревинно [58]. Після трьохкратної обробки операційного поля розчином йоду, спирту, проводився лінійний розріз шкіри довжиною 2,5-3 см паралельно стегновій кістці в проекції сідничого нерва, після чого виконували хірургічний доступ до сідничого нерва шляхом тупого розшарування тканин між латеральною голівкою чотириголового м'яза стегна

та двоголовим м'язом стегна таким чином відсепаровуючи двоголовий м'яз стегна від стегнової кістки. В глибині рани краї якої утворені зовнішнім краєм стегнової кістки та двоголовим м'язом стегна знаходили сідничний нерв, який виділяли з оточуючих тканин на протязі до 2 см, підводилися лігатури-тримачі.

Щурам I групи після виконання хірургічного доступу до сідничного нерва було виконано пошарове ушивання рани шовковою ниткою 4/0 (Silkam, Bbraun, ).

Щурам II групи було відтворено важку травму нерва шляхом висічення ділянки нерва довжиною 10 мм, після чого проведено аутонейропластику шляхом ротації висіченого фрагмента на 180° та фіксації його до центрального та периферійного кінця нервового стовбура за допомогою 3-4 епіневральних швів поліамідною ниткою на атравматичній голці 8/0 (Daflon, Bbraun, Німеччина); пошаровий шов рани шовковою ниткою 4/0 (Silkam, Bbraun) [4, 90].

Щурам III групи, після висічення фрагмента сідничного нерва, заміщення дефекту нервового стовбура було проведено шляхом імплантації алогенної децелюляризованої аорти, заповненої карбоксиметилцелюлозним гелем. Кінці аорти фіксували до центрального відрізка нервового стовбура за допомогою 2 п-подібних швів поліамідною ниткою на атравматичній голці 8/0 (Daflon, Bbraun, Німеччина), заповнювали гелем та фіксували до дистального відрізка нервового стовбура, проводили контроль гемостазу пошаровий шов рани шовковою ниткою 4/0 (Silkam, Bbraun).

Щурам IV групи, після висічення фрагмента сідничного нерва, заміщення дефекту нервового стовбура було проведено шляхом імплантації алогенної децелюляризованої аорти, заповненої карбоксиметилцелюлозним гелем та впорядковано розміщеними ниткоподібними кристалами кремнію. Кінці аорти фіксували до центрального відрізка нервового стовбура за допомогою 2 п-подібних швів поліамідною ниткою на атравматичній голці 8/0 (Daflon, Bbraun, Німеччина) (Рис.2.4), заповнювали гелем та

ниткоподібними кристалами кремнію, фіксували до дистального відрізка нервового стовбура (Рис.2.5); контроль гемостазу пошаровий шов рани шовковою ниткою 4/0 (Silkam, Bbraun). Під час виконання основного етапу мікрохірургічного втручання використовувалася налобна лупа Konus Wuetax Pro на збільшенні x3,5 (Konus, Китайська Народна Республіка).

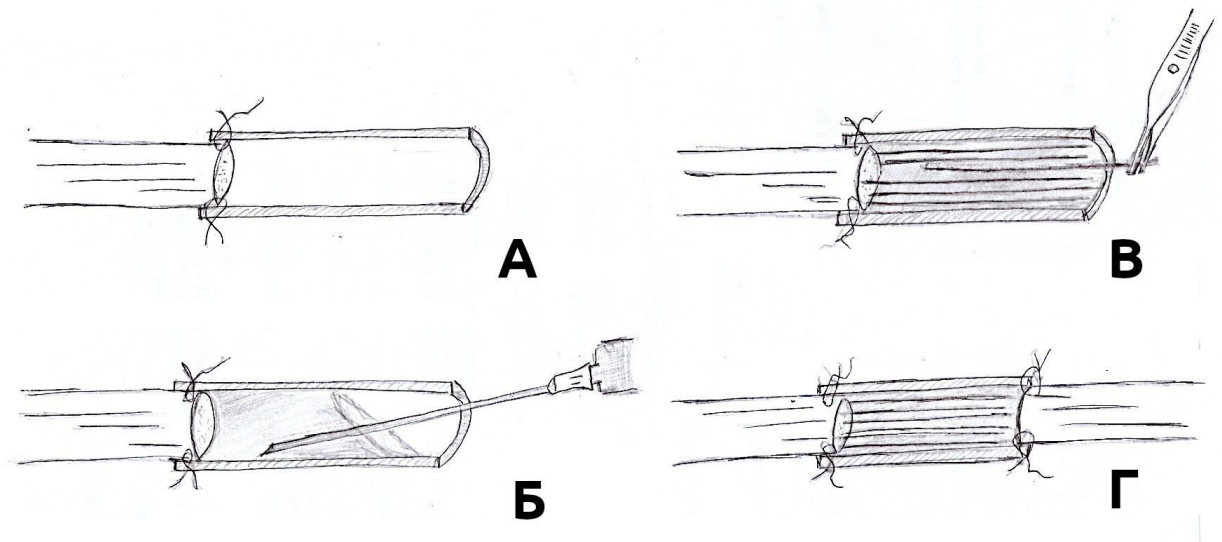


Рис. 2.4 Схема відтворення основного етапу оперативного втручання у щурів IV групи. А – фіксація аорти до проксимального відрізка нервового стовбура; Б – заповнення вставки гелем; В – розміщення всередині вставки нитковидних кристалів кремнію; Г – фіксація вставки до дистального відрізка нервового стовбура.



Рис. 2.5 Сідничий нерв щура одразу ж після встановлення імплантату, що містить ниткоподібні кристали кремнію. Інтраопераційне фото

У терміни 1, 3, 6 та 12 тижнів після операції тварин виводили з експерименту. Для проведення морфологічного дослідження забирали ділянки нерва в місці імпланта із захопленням центрального та периферійного кінців нерва, фрагменти периферійного кінця нерва.

У щурів II, III та IV експериментальних груп в ділянках з'єднання кінців травмованого периферійного нерва зі вставкою формувалися проксимальна та дистальна регенераційні невроми. У відповідності до цього, нервовий стовбур можна умовно розділити на 5 фрагментів: проксимальний та дистальний відрізки, проксимальне та дистальне місце з'єднання (невроми), місце вставки (Рис.2.6, Рис. 2.7, Рис.2.8).

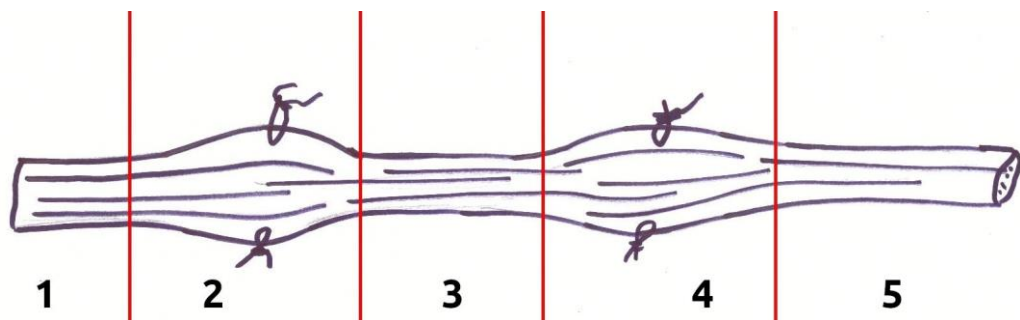


Рис.2.6. Умовне розділення периферійного нерва щурів II групи на фрагменти. 1 – центральний (проксимальний) відрізок, 2 – проксимальне місце з'єднання (неврома), 3 – місце вставки, 4 – дистальне місце з'єднання, 5 – периферичний (дистальний) відрізок

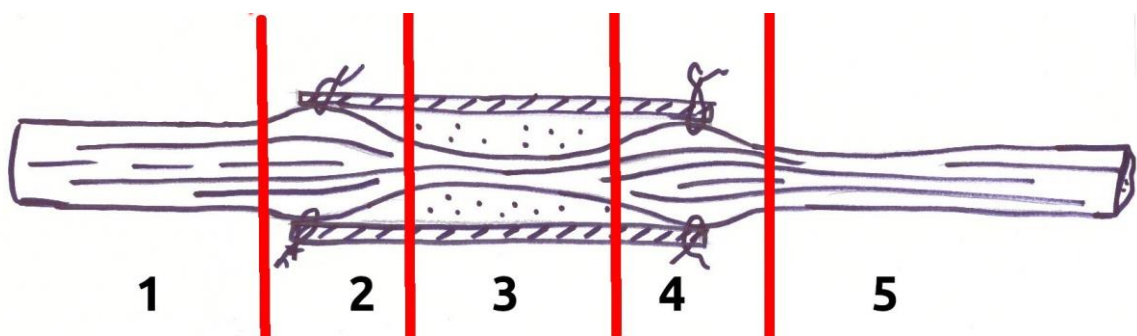


Рис.2.7. Умовне розділення периферійного нерва шурів III групи на фрагменти. 1 – центральний (проксимальний) відрізок, 2 – проксимальне місце з'єднання (неврома), 3 – місце вставки, 4 – дистальне місце з'єднання, 5 – периферичний (дистальний) відрізок

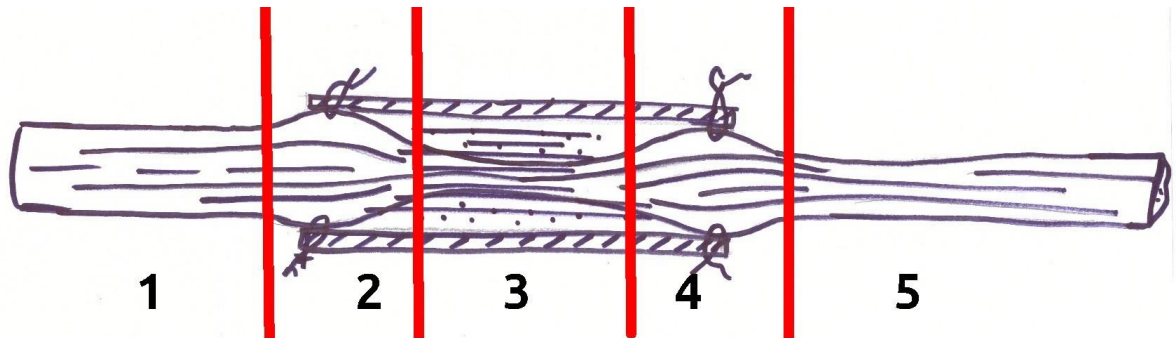


Рис.2.8. Умовне розділення периферійного нерва шурів IV групи на фрагменти. 1 – центральний (проксимальний) відрізок, 2 – проксимальне місце з'єднання (неврома), 3 – місце вставки, 4 – дистальне місце з'єднання, 5 – периферичний (дистальний) відрізок.

## 2.4 Методика проведення морфологічних досліджень

Забраний одарзу ж після забою тварин матеріал фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну. Для проведення світлооптичного дослідження, на мікротомі-кріостаті виготовляли поздовжні заморожені зрізи (МК-25, СРСР) товщиною 20 мкм, які імпрегнували азотнокислим сріблом методом Більшовського-Гросс в модифікації [106]. Для цього зрізи витримували у піридині впродовж 12 годин, після чого відмивали у декількох порціях дистильованої води, замочували у концентрованому розчині азотнокислого срібла, витримували в окиснювачі (1% кислий формалін), забарвлювали у аміачному сріблі, відновлювали у 0,5% кислому формаліні з глюкозою. Після чого зрізи волювлювали на скельця, зневоднювали ізопропиловим спиртом, просвітлювали ксиололом та заключали в бальзам.

Отримані мікропрепарати досліджувалися та фотографувалися на різних збільшеннях на світлооптичному мікроскопі (Olympus BX51, Японія)

за допомогою приєднаної цифрової фотокамери (Olympus zoom 4040, Японія).

На отриманих цифрових мікрофотографіях визначався кут відхилення нервових волокон від оптичної осі нерва та щільність розподілу нервових волокон [101].

Для підрахунку щільності розподілу нервових волокон на отриманій мікрофотографії проводили лінію, поперечну осі нерва, підраховували кількість нервових волокон, що її пересікають, після чого проводили підрахунок за формулою:

$$N_s = \frac{N \times 10^6}{L \times t}$$

Де  $N_s$  — питома кількість нервових волокон  $1/\text{мм}^2$ ,  $N$  — підрахована кількість нервових волокон,  $L$  — довжина проведеної лінії, мкм,  $t$  — товщина зрізу, мкм.

Аналіз мікрофотографій проводили в програмі обробки біомедичних зображень ImageJ ver.1.50 (National Institutes for Health, USA, open-source).

У термін 12 тижнів для електронномікроскопічного дослідження забирали фрагменти серединної частини вставки, подрібнювали до розмірів  $1 \times 1 \times 1$  мм, фіксували 2% розчином глютарового альдегіду на 0,1 молярному фосфатному буфері з рН 7,4 із дофіксацією 2% розчином  $\text{OsO}_4$  за Мілонінгом, зневоднювали у етиловому спирті зростаючої концентрації, ацетоні, заливали у полімерні смоли (Епон-Аралдит). Полімеризацію проводили при  $60^\circ\text{C}$ . Виготовляли напівтонкі та ультратонкі зрізи на мікротомі LKB-8800 (LKB, Швеція). Напівтонкі зрізи забарвлювали за Nayat. Проводили контрастування ультратонких зрізів уранілацетатом та цитратом свинцю, після чого, досліджували на електронному мікроскопі PEM-125k (SELMІ, Україна) [65, 110].



## 2.5 Методика проведення естезіометрії

Перед виведенням тварин з експерименту у терміни 1, 3, 6, 12 тижнів проведено дослідження тактильної та больової чутливості методом естезіометрії із використанням ниток вон Фрея (Aesthesio set, UgoBasile, Італія) шляхом встановлення найменшої нитки вон Фрея, вплив на обстежувану кінцівку якої здатний викликати рефлекс відсмикування кінцівки (paw withdrawal reflex). Для тестування тварин розміщували на платформі із сітчастою підлогою, вичікували 15 хвилин для адаптації тварини, після чого проводили тестування, починаючи із філаменту 2,0 грама шляхом дотику філаментом до середньої частини правої стопи. За умов відсутності відповіді (рефлексу відсмикування кінцівки) проводили тестування наступним за розміром філаментом. Найменший розмір філаменту, який був здатний викликати рефлекс три рази підряд, вважали пороговим [13].

## 2.6 Методика проведення функціонально-анатомічного дослідження із визначенням індексу функції сідничого нерва

Перед виведенням тварин з експерименту у терміни 1, 3, 6 та 12 тижнів після операції, з метою оцінки відновлення рухової функції, щурів усіх груп було обстежено із використанням методики аналізу відбитків, отриманих при ході (Walking track analysis) з визначенням індексу функції сідничого нерва (SFI). [15, 77, 93].

Для обрахунку індексу використовували формулу (Bain, Machinnon, Hunter, 1989).

$$SFI = -38.8 \left( \frac{EPL - NPL}{NPL} \right) + 109.5 \left( \frac{ETS - NTS}{NTS} \right) + 13.3 \left( \frac{EIT - NIT}{NIT} \right) - 8.8$$

SFI — Sciatic Function Index, індекс функції сідничого нерва; EPL — Experimental Print Lenth, довжина відбитка стопи прооперованої кінцівки, NPL — Normal Print Lenth, довжина відбитка стопи контрлатеральної кінцівки; ETS — Experimental Toe Spread, відстань між I та V пальцем

прооперованої кінцівки; NTS — Normal Toe Spread, відстань між I та V пальцем контрлатеральної кінцівки; EIT — Experimental Intermediate Toe spread, відстань між II та IV пальцем прооперованої кінцівки, NIT — Normal Intermediate Toe Spread, відстань між II та IV пальцем контрлатеральної кінцівки.

Для обстеження підшви задніх лап щурів намащували нетоксичною водорозчинною фарбою, після чого, тварину розміщували у вузькому коридорі на підлозі якого знаходилися смужки паперу. Після проходження тварини по коридору отримані відбитки сканували, обробляли та вимірювали вищевказані відстані за допомогою програми для аналізу біомедичних зображень (ImageJ, ver. 1.50, NIH, USA), підраховували індекс функції сідничого нерва.

## **2.7 Методика проведення електрофізіологічного дослідження**

У термін 12 тижнів безпосередньо перед виведенням тварин з експерименту за умов загальної анестезії проводився доступ до правого сідничого нерва, та було виконано стимуляційну голкову електронейроміографію за допомогою електроміографічного комплексу M-Test 4 (Dx-Systems, Україна). Кільцевий заземлюючий електрод змочували 0,9% розчином хлориду натрію та накладали на протилежну кінцівку тварини. Стимуляція сідничого нерва проводилася за допомогою 2 голкових електродів із використанням струму частотою 2 Гц, силою 1-2 мА, на 3 мм проксимальніше місця переходу проксимального відрозку нервового стовбура у ділянку вставки. Реєстрацію викликаних потенціалів проводили концентричним голчастим відвідним електродом Apline Biomed (Dx-systems, Україна) в середній третині литкового м'яза. [56, 104].

## 2.8 Методика проведення статистичного аналізу отриманих даних

Усі отримані дані підлягали статистичній обробці із визначенням показників описової статистики, перевірки розподілу ознак на нормальність за допомогою критеріїв Колмогорова-Смірнова та Д'Агостіно-Пірсона.

У випадку нормального розподілу значень показника дані представляли у вигляді середнього значення показника із вказанням стандартного відхилення ( $\text{Mean} \pm \text{SD}$ ). У випадку розподілу значень показника, що відрізнявся від нормального, дані представляли у вигляді медіани показника, меж 95% довірчого інтервалу показника ( $\text{Median}$ ; 95% CI of Median).

Були проведені міжгрупові порівняння та порівняння даних всередині кожної з груп на різних термінах дослідження: для аналізу даних із нормальним розподілом використовували критерій ANOVA, при порівнянні даних, розподіл яких відрізнявся від нормального проводили порівняння критерієм Краскела-Уоллеса. Відмінності вважали достовірними при  $p < 0,05$ .

Були проведені попарні порівняння виборок із використанням  $t$ -критерію або непараметричного критерію Манна-Уїтні в залежності від нормальності розподілу даних. Відмінності вважали достовірними при  $p < 0,05$ .

З метою статистичної обробки отриманих даних було використано пакети GNU PSPP IRE ver. 0.8.5 (Free Software Production, USA, open-source) та GraphPad Prizm 8.3.1 (GraphPad, Free trial peirod) [25, 61].

## РОЗДІЛ 3. ХАРАКТЕРИСТИКА ВІДНОВЛЕННЯ ПЕРИФЕРІЙНОГО НЕРВА ПСЕВДООПЕРОВАНИХ ЩУРІВ ТА ЗА УМОВ ТЯЖКОЇ ТРАВМИ ТА ВИКОНАННЯ АУТОНЕЙРОПЛАСТИКИ

### 3.1 Результати морфологічного дослідження

При морфологічному дослідженні середньої третини сідничого нерва у псевдооперованих щурів на усіх термінах після виконання оперативного втручання були наявні однотипні зміни. Наявні впорядковані, рівномірно розміщені нервові волокна, помірна кількість мікросудин, мала кількість клітин. Нервові волокна демонстрували ознаки подразнення у вигляді гіпо- та гіперімпрегнації, хвилястості контуру, що були яскраво виражені через 1 тиждень після операції та зберігалися у більшості тварин до 6 тижня. В терміні 12 тижнів лише одиничні волокна проявляють вказані ознаки подразнення (Рис.3.1, Рис. 3.2).

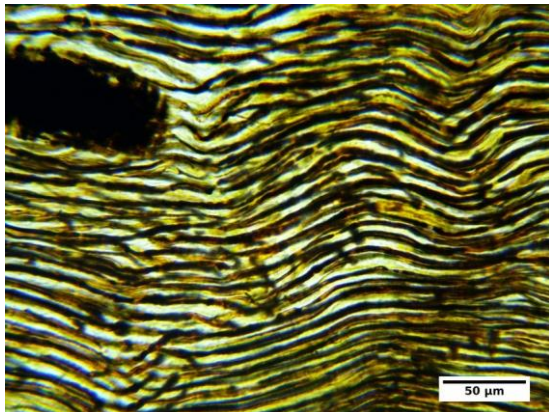


Рис.3.1. Поздовжній зріз сідничого нерва щура через 12 тижнів після псевдооперації.

Імпрегнація азотнокислим сріблом

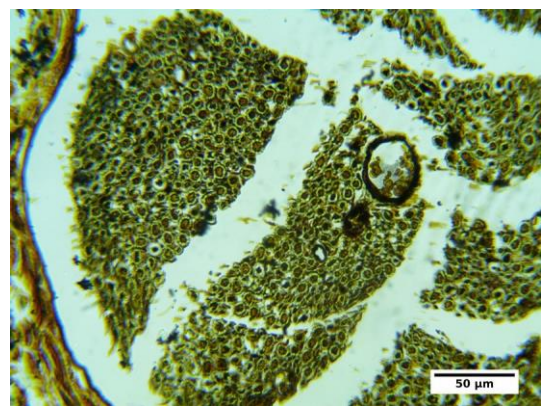


Рис. 3.2. Поперечний зріз сідничого нерва щура через 12 тижнів після псевдооперації.

Імпрегнація азотнокислим сріблом

Детальна характеристика стану сідничого нерва інтактних та псевдооперованих щурів, оскільки гістологічні, функціональні та електрофізіологічні особливості були неодноразово описані в класичній

літературі. Отримані результати узгоджуються із попередньо проведеними дослідженнями та відомостями [1, 10, 93].

У щурів II групи за даними імпрегнації нітратом срібла на 1 тиждні після травми та лікування в центральному (проксимальному) відрізьку периферійного нерва нервові волокна розміщені впорядковано, рівномірно, мають хвилястий контур та змінюють свої імпрегнаційні властивості, що проявляється гіпо- та гіперімпрегнацією і свідчить про наявність їх подразнення.

В ділянці проксимальної невроми наявний набряк ендоневрію у вигляді просвітлення, а також явища висхідної (ретроградної) дегенерації нервових волокон у вигляді циліндричних розширень на кінцях нервових волокон (Рис.3.5).

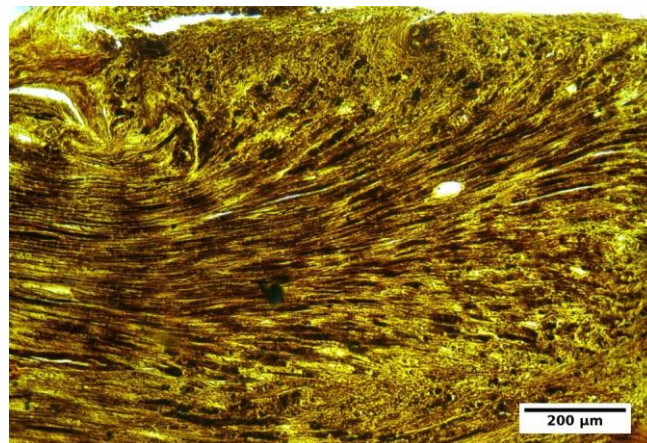


Рис. 3.5. Ділянка проксимального відрізьку із проксимальної невромою сідничого нерва щура через 1 тиждень після аутонейропластики. Імпрегнація азотнокислим сріблом.

В ділянці вставки спостерігаються явища веллерівської дегенерації: осьові циліндри розділені на великі за розмірами фрагменти. В ділянці дистальної невроми наявні широкі ділянки просвітлення ендоневрію, численні малі та середні фрагменти осьових циліндрів у вигляді овоїдів дегенерації, та велика кількість клітинних елементів, що свідчить про

наявність набряку, веллерівської дегенерації та початок формування бюнгнерівських стрічок. В ділянці дистального відрізка травмованого нерва спостерігається типова картина Веллерівської дегенерації із численними овоїдами дегенерації.

На 3 тижні експерименту у щурів після виконання аутонейропластики в ділянці проксимального (центрального) відрізка зберігаються ознаки подразнення у вигляді хвилястості контуру нервових волокон, які розміщуються прорядковано і рівномірно.

В той же час, в проксимальній регенераційній невромі наявні ознаки регенерації: поодинокі товсті та численні тонкі новоутворені нервові волокна розміщуються у напрямку вставки, деякі з нервових волокон відхиляються від поздовжньої осі, розміщені хаотично. Сполучна тканина невроми розвинена помірно. На периферії невроми, поблизу шовного матеріалу наявні скупчення клітинних елементів. В ділянці вставки нерівномірно розміщуються як численні тонкі впорядковані новоутворені нервові волокна так і помірна кількість овоїдів дегенерації (Рис.3.6.).

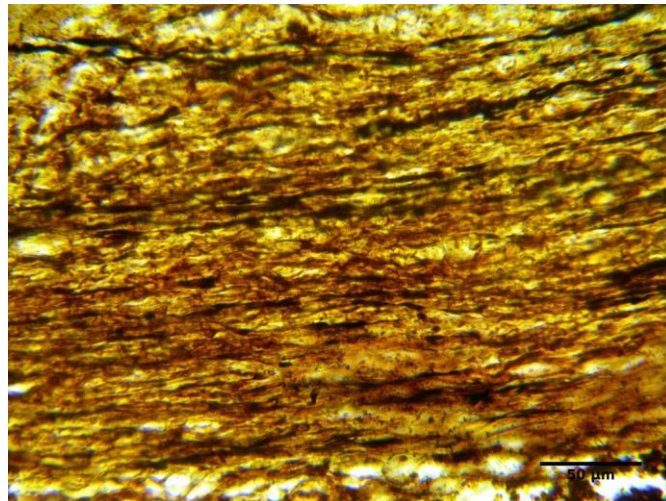


Рис.3.6. Ділянка вставки. 3 тижні після виконання аутонейропластики. Імпрегнація азотнокислим сріблом.

В ділянці дистальної невроми наявні тонкі новоутворені нервові волокна в помірній кількості, що розміщені відносно неупорядковано, нерівномірно.

В ділянці дистального відрізка наявні поодинокі тонкі нервові волокна, клітинні елементи у вигляді бунгнерівських стрічок.

На 6 тижні після виконання аутонейропластики в проксимальному відрізку нерва нервові волокна рівномірно імпрегнуються, мають чіткі контури, розміщені рівномірно, впорядковано.

В ділянці проксимальної регенераційної невроми (Рис.3.7.) наявна велика кількість товстих та тонких новоутворених нервових волокон, більшість з яких розміщується нерівномірно, відносно впорядковано і розміщуються в напрямку аутографта, також наявні і зони надмірного розвитку сполучної тканини, поблизу яких нервові волокна відхиляються від поздовжньої осі нерва, мають поперечний хід.

В ділянці вставки (Рис.3.8.) наявні численні товсті та тонкі впорядковані нервові волокна, що розподілені нерівномірно, але відносно впорядковано.

В ділянці дистальної невроми (Рис.3.9.) наявні численні новоутворені нервові волокна, що розміщуються хаотично, нерівномірно, часто мають поперечний хід або розміщуються під великими кутами до поздовжньої осі нерва, розмежовані прошарками сполучної тканини.

В дистальному кінці нерва розміщується середня кількість тонких новоутворених нервових волокон які розташовані відносно впорядковано.

Через 12 тижнів після відтворення тяжкого пошкодження та виконання аутонейропластики в проксимальному відрізку нервового стовбура наявні численні впорядковані нервові волокна.

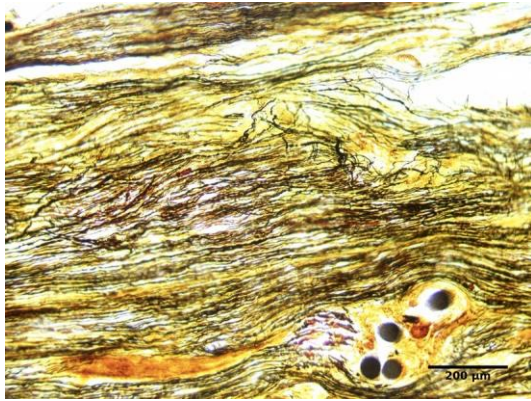


Рис.3.7. Ділянка проксимальної регенераційної невроми. 6 тижнів після виконання аутопластики. Імпрегнація азотнокислим сріблом.

Рис.3.7. Ділянка вставки. 6 тижнів після виконання аутопластики. Імпрегнація азотнокислим сріблом.

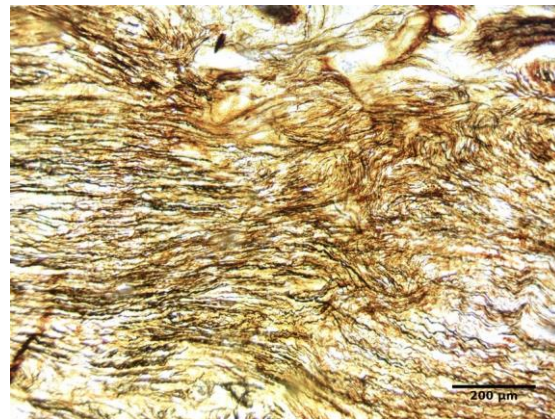


Рис.3.9. Ділянка дистальної регенераційної невроми. 6 тижнів після виконання аутопластики. Імпрегнація азотнокислим сріблом.

В проксимальній невромі (Рис.3.10.) наявні численні новоутворені нервові волокна, хід більшості яких впорядкований, проте деяка частина з них відхиляються від поздовжньої осі нерва, мають поперечний, чи навіть, рекурентний хід, особливо в ділянках надмірного розвитку сполучної тканини, розміщення пучків нервових волокон нерівномірне, кількість клітинних елементів незначна.

В ділянці вставки (Рис.3.11.) на 12 тижні після операції виявляються численні тонкі, відносно впорядковані нервові волокна, що розміщуються



відносно нерівномірно: розділені тонкими прошарками сполучної тканини на пучки, більшість з яких досягає дистальної невроми. Кількість новоутворених судин мала наявні переважно мікросудини дрібного калібру. В ділянці дистальної невроми (Рис.3.12.) на цьому терміні дослідження виявляється помірна кількість волокон, які розміщені невпорядковано, хаотично, перемежовані ділянками сполучної тканини. Кількість клітинних елементів незначна. Дистальний відрізок (Рис.3.13) містить численні тонкі та поодинокі товсті нервові волокна, що розміщуються впорядковано, нерівномірно і розділені на пучки тонкими прошарками сполучної тканини.

При електронномікроскопічному дослідженні сідничого нерва після виконання аутонейропластики на 12 тижні експерименту в ділянці вставки виявляються новоутворені нервові волокна, судини мікроциркуляторного русла та сполучна тканина (Рис.3.14). Виявлено гетерогенність патоморфологічних змін.

Наявні численні неповноцінні мієлінові нервові волокна (Рис.3.15.), що проявляється змінами всіх їх елементів. Мієлінова оболонка не має округлої або овальної конфігурації, а утворює численні випинання та інвагінації, зберігаючи свою неперервність, що вказує на її неповноцінність. Також зустрічаються новоутворені нервові волокна із різним ступенем мієлінізації. Електронна щільність аксоплазми помірна. Кількість нейрофіламентів та мікротрубочок помірна. Зустрічаються поодинокі мітохондрії із різним ступенем деструкції, проте більшість мітохондрій має електроннощільний матрикс.

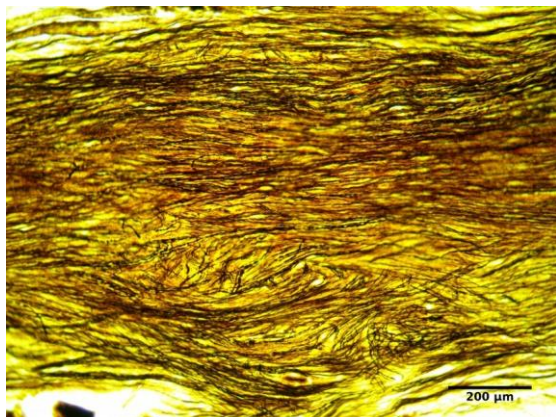


Рис.3.10. Ділянка проксимальної регенераційної невроми. 12 тижнів після виконання аутопластики. Імпрегнація азотнокислим сріблом.

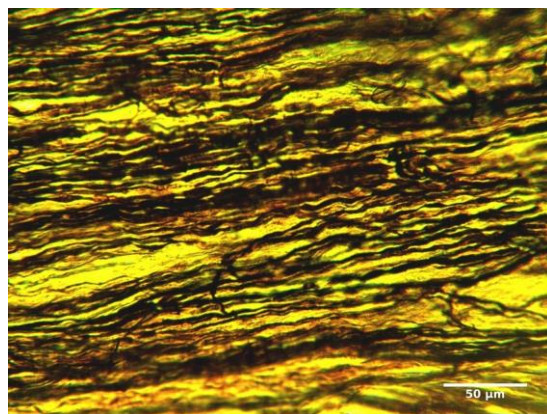


Рис.3.11. Ділянка вставки. 12 тижнів після виконання аутопластики. Імпрегнація азотнокислим сріблом.

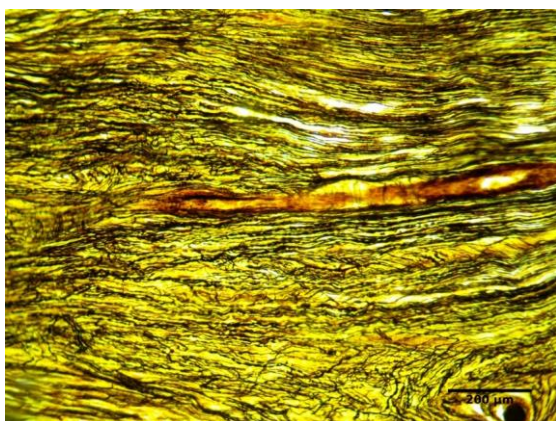


Рис.3.12. Ділянка дистальної регенераційної невроми. 12 тижнів після виконання аутопластики. Імпрегнація азотнокислим сріблом.

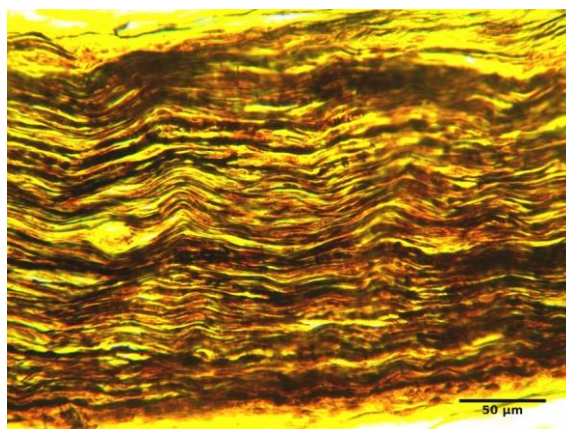


Рис.3.13. Ділянка дистального відрізка нерва. 12 тижнів після виконання аутопластики. Імпрегнація азотнокислим сріблом.

Більшість мієлінових нервових волокон має ознаки набряку периаксонального простору. При чому, периаксональний простір розширений та заповнений набряковою рідиною, має вигляд вакуолей або міхурів.

Судини мікроциркуляторного русла виявляються в значній кількості. Ендотеліальне вистелення судин зплющене. Зберігається посилення мікроезидикулоутворення в ендотеліоцитах. Цитоплазма нейроремоцитів мієлінових нервових волокон (Рис.3.16.) середньої електронної щільності, займає простір між мієліною оболонкою і плазмалемою.

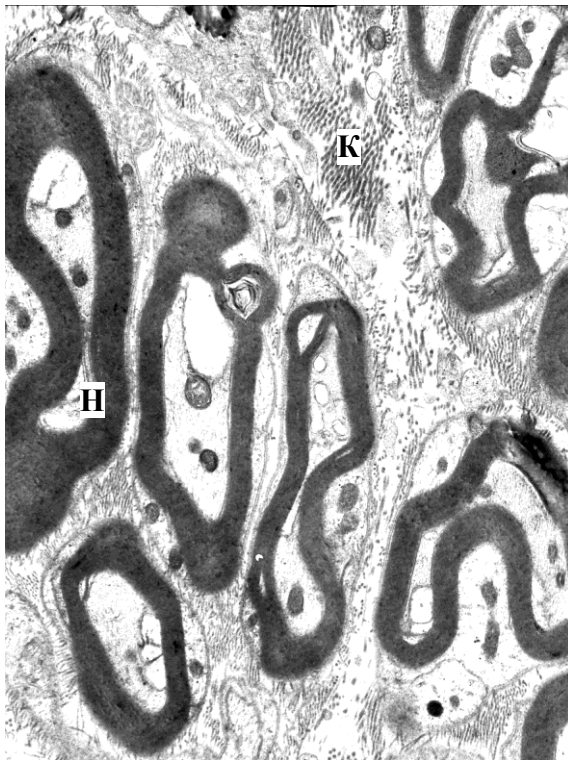


Рис.3.14. Ділянка вставки. 12 тижнів після аутонейропластики. Новоутворені нервові волокна (Н), пучки колагенових колокон (К) Електронномікроскопічне фото.

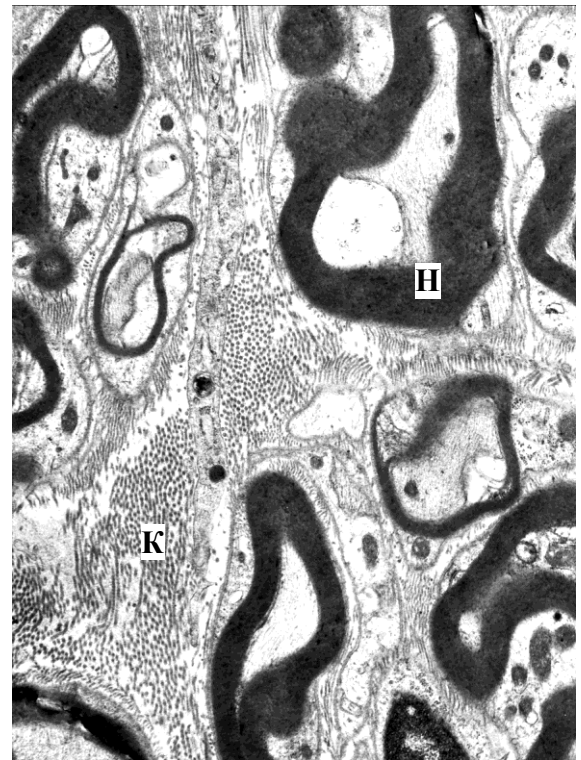


Рис.3.15. Ділянка вставки. 12 тижнів після аутонейропластики. Новоутворені нервові волокна (Н), пучки колагенових колокон (К) Електронномікроскопічне фото.

Мітохондрії збільшені в розмірі, проте, мають видовжені кристи, періодично зустрічаються із щільним матриксом. Деякі цистерни ендоплазматичної сітки розширені, контури нерівні, вільні рибосоми і полісоми поширені в цитоплазмі навколоядерної зони. Перинуклеарний простір на окремих ділянках розширений та просвітлений.

Виявляється значна кількість зрілої сполучної тканини (Рис.3.17.) у вигляді пучків колагенових волокон, що розташовані рівномірно, зустрічається багато ділянок значного скупчення колагенових волокон.

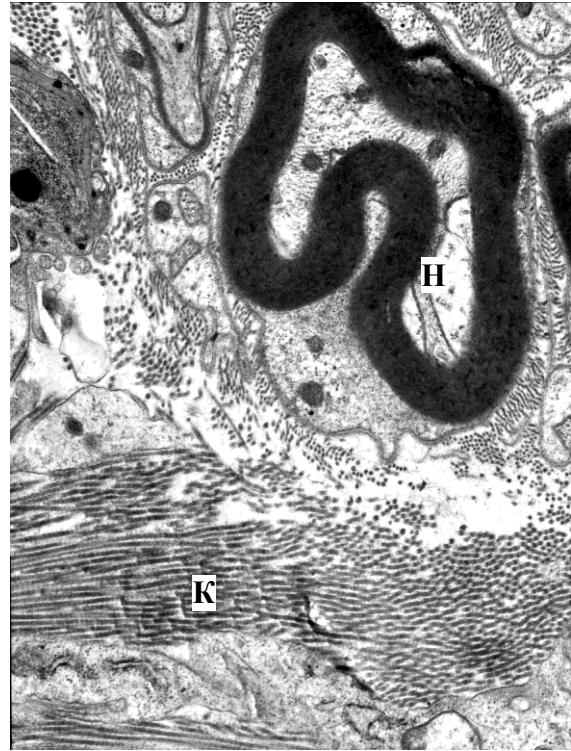
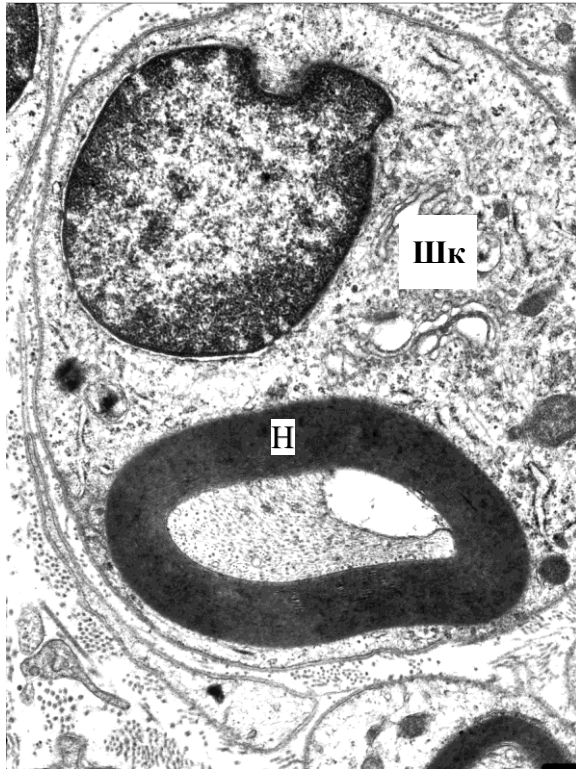


Рис.3.16. Ділянка вставки. 12 тижнів після аутопластики. Новоутворене нервово волокно (Н), Шваноцит (Шк) Електронномікроскопічне фото.

Рис.3.17. Ділянка вставки. 12 тижнів після аутопластики. Новоутворене нервово волокно (Н), колагенові волокна (К) Електронномікроскопічне фото.

### 3.2 Результати морфометричного дослідження

У щурів І групи при морфометричному дослідженні на 12 тижні встановлено, що питома щільність нервових волокон після виконання псевдооперації складала  $10077 \pm 211,9$  1/мм<sup>2</sup> (Mean $\pm$ SD).

За результатами статистичного аналізу показника питомої кількості нервових волокон, встановлено, що значення даного показника підкорялися закону нормального розподілу у щурів всіх груп на усіх термінах спостереження (тести Д'агостіно-Пірсона, Шапіро-Уїлка).

При статистичному аналізі питомої кількості нервових волокон в ділянці проксимальної неврони на 1 тиждні після моделювання методом ANOVA встановлено наявність достовірних відмінностей даного показника між тваринами усіх груп ( $p < 0,0001$ ).

У щурів II групи за результатами морфометричного дослідження на 1 тиждні після початку дослідження питома щільність нервових волокон в ділянці проксимальної регенераційної неврони складала  $1252 \pm 161,0$   $1/\text{мм}^2$  (Mean $\pm$ SD), що було достовірно ( $p < 0,001$ ; post hoc Welch's t-test) менше відповідного показника псевдооперованих щурів на 87,57% або у 8,05 разів.

В ділянці проксимальної неврони та в ділянці вставки на 3 тиждні після моделювання методом ANOVA встановлено наявність достовірних відмінностей даного показника між тваринами усіх груп ( $p < 0,0001$ ).

Через 3 тиждні після операції питома щільність нервових волокон в ділянці проксимальної регенераційної неврони складала  $3939 \pm 666,9$   $1/\text{мм}^2$  (Mean $\pm$ SD), що було достовірно ( $p < 0,001$ ; post hoc Welch's t-test) менше відповідного показника у псевдооперованих щурів на 60,91% або у 2,56 рази. Через 3 тиждні після операції питома щільність нервових волокон в ділянці графта складала  $3265 \pm 440,9$   $1/\text{мм}^2$  (Mean $\pm$ SD), що було достовірно ( $p < 0,001$ ; post hoc Welch's t-test) менше відповідного показника у псевдооперованих щурів на 87,45% або у 3,09 рази.

При статистичному аналізі показника питомої кількості нервових волокон в ділянці вставки та дистальної неврони на 6 тиждні після моделювання методом ANOVA встановлено наявність достовірних відмінностей даного показника між тваринами усіх груп ( $p < 0,0001$ ).

Через 6 тижднів після операції питома щільність нервових волокон в ділянці вставки складала  $3980 \pm 322,7$   $1/\text{мм}^2$  (Mean $\pm$ SD), що було достовірно ( $p < 0,001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за відповідний показник у псевдооперованих щурів на 60,50% або у 2,53 рази; в ділянці дистальної регенераційної неврони питома щільність нервових волокон складала

3776±173,4 1/мм<sup>2</sup> (Mean±SD), що було достовірно ( $p<0,001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за відповідний показник у псевдооперованих щурів на 62,53% або у 2,67 рази.

В ділянці дистальної невроми та дистального відрізка на 12 тижні після моделювання методом ANOVA також встановлено наявність достовірних відмінностей даного показника між тваринами усіх груп ( $p<0,0001$ ).

Через 12 тижнів після операції питома щільність нервових волокон в ділянці дистальної регенераційної невроми складала 6816±721,2 1/мм<sup>2</sup> (Mean±SD), що було достовірно ( $p<0,001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за відповідний показник у псевдооперованих щурів на 32,36% або у 1,48 рази; в ділянці дистального відрізка нервового стовбура питома щільність нервових волокон складала 7574±607,3 1/мм<sup>2</sup> (Mean±SD), що також було достовірно ( $p<0,001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за відповідний показник у псевдооперованих щурів на 24,84% або у 1,33 рази.

За результатами статистичного аналізу показника кута відхилення нервових волокон від поздовжньої осі нерва встановлено, що у II групи тварин розподіл значення даного показника не підкорявся закону нормального розподілу на 6 та 12 тижні дослідження (критерії Д'агостіно-Пірсона, Шапіро-Уїлка).

На 1 тижні дослідження в ділянці проксимальної регенераційної невроми кут відхилення нервових волокон від поздовжньої осі нервового стовбура складав 13,41°; 9,978-15,39 (Median; 95% CI of Median).

На 3 тижні в ділянці проксимальної регенераційної невроми кут відхилення нервових волокон від поздовжньої осі нервового стовбура складав 11,40°; 10,06-14,04 (Median; 95% CI of Median).

На 6 тижні в ділянці дистальної в регенераційної невроми на цьому терміні спостереження кут відхилення нервових волокон від поздовжньої осі нервового стовбура складав 16,93°; 13,56-20,82 (Median; 95% CI of Median).

На 12 тижні дослідження в ділянці дистальної регенераційної невроми на цьому терміні спостереження кут відхилення нервових волокон від поздовжньої осі нервового стовбура складав  $22,63^\circ$ ; 16,21-25,27 (Median; 95% CI of Median).

При проведенні статистичного дослідження показника діаметру новоутворених нервових волокон встановлено, що значення даного показника підкорялося законам нормального розподілу у тварин I (псевдооперовані), II (аутопластика) груп (критерії Д'Агостіно-Пірсона, Шапіро-Уїлка).

При проведенні міжгрупового порівняння за допомогою критерію Краскела-Уоліса встановлено наявність достовірних відмінностей у значенні показника діаметру нервових волокон між щурами усіх груп ( $p < 0,0001$ ).

При проведенні статистичного дослідження показника товщини мієлінової оболонки встановлено, що значення даного показника у тварин I групи (псевдооперовані), II групи (аутопластика) було розподілене за законом, що відрізнявся від нормального (критерії Д'Агостіно-Пірсона, Шапіро-Уїлка).

При проведенні міжгрупового порівняння за допомогою критерію Краскела-Уоліса встановлено наявність достовірних відмінностей у значенні показника діаметру нервових волокон між щурами усіх груп ( $p < 0,0001$ ).

У щурів I групи діаметр нервових волокон та товщина мієлінової оболонки складала  $7,045$ ;  $5,864$ - $7,519$  мкм (Median; 95% CI of median) та  $1,417$ ;  $1,363$ - $1,643$  мкм (Median; 95% CI of median) відповідно.

У щурів II групи на 12 тижні дослідження в ділянці дистального відрізка нервового стовбура діаметр нервових волокон складав  $6,817$ ;  $6,397$ - $8,022$  мкм (Median; 95% CI of Median), що було менше відповідного показника у псевдооперованих тварин на  $3,32\%$  без достовірної різниці між групами ( $p = 0,3331$ ; post hoc Mann-Whitney test).

На цьому терміні дослідження в ділянці дистального відрізка нервового стовбура товщина мієлінової оболонки нервових волокон складала  $2,018$ ;

1,920-2,331 мкм (Median; 95% CI of Median), що було більше за відповідний показник у псевдооперованих тварин на 42,41% ( $p < 0,0001$ ; post hoc Mann-Whitney test).

### 3.3 Результати естезіометрії

При дослідженні чутливості шкіри задніх лап псевдооперованих щурів не було встановлено суттєвих відмінностей у значенні порогу виникнення рефлексу відсмикування між тваринами на різних термінах спостереження. На 12 тижні дослідження даний показник склав 15;  $12,37 \pm 2,981$  (Median; Mean  $\pm$  SD) г.

При проведенні статистичного аналізу розподілу значень порогу відсмикування кінцівки, встановлено, що розподіл даного показника відрізнявся від нормального в усіх групах та на усіх термінах спостереження.

При міжгруповому порівнянні на однакових термінах дослідження встановлено відсутність відмінностей між тваринами з різних експериментальних груп в термінах дослідження 1 та 3 тижні, також при проведенні тесту Краскела-Уолліса встановлено відсутність відмінностей між експериментальними (II-IV) групами на 6 тижні дослідження ( $p = 0,4276$ ) та наявність таких відмінностей на 12 тижні ( $p < 0,0001$ ).

За результатами естезіометрії через 1 тиждень після аутопластики свідчать відсутність чутливості шкіри стопи у щурів, що проявлялося у відсутності рефлексу відсмикування стопи у відповідь навіть на сильні подразнення (100; 100 г. Median; Mean).

За результатами естезіометрії через 3 тижні після проведення аутопластики у тварин зберігалася відсутність чутливості прооперованої кінцівки, що проявлялося у відсутності рефлексу відсмикування стопи у відповідь навіть на подразнення 100 г (100; 100 Median; Mean).

За даними естезіометрії на 6 тижні після аутонейропластики спостерігалася неповне відновлення чутливості у тварин даної групи. Поріг



виникнення рефлексу відсмикування становив 60;  $76,40 \pm 24,38$  г (Median; Mean $\pm$ SD), що було більше за відповідний показник у псевдооперованих тварин на 517,62% або у 6,18 разів ( $p < 0,0001$ ; post hoc Mann-Whitney test).

На 12 тижні після аутонейропластики були наявні ознаки відновлення чутливості у тварин даної групи. Поріг виникнення рефлексу відсмикування дорівнював 26;  $29,79 \pm 11,88$  г (Median; Mean $\pm$ SD), що було більше за відповідний показник у псевдооперованих тварин на 140,82% або у 2,4 рази ( $p < 0,0001$ ; post hoc Mann-Whitney test).

### 3.4. Результати функціонально-анатомічного дослідження

Про дослідженні методом аналізу відбитків, отриманих при ході (Рис. 3.18), не було встановлено суттєвих відмінностей у значенні показника індексу функції сідничого нерва (SFI) між тваринами на різних термінах спостереження серед псевдооперованих тварин. У псевдооперованих щурів відзначається симетричність відбитків, рівність значень довжини відбитків (PL), відстаней між I та V пальцями (TS) та між II та IV пальцями (ITS). На 12 тижні дослідження показник функції сідничого нерва (SFI) складав -  $6,222 \pm 2,485$  (Mean $\pm$ SD).

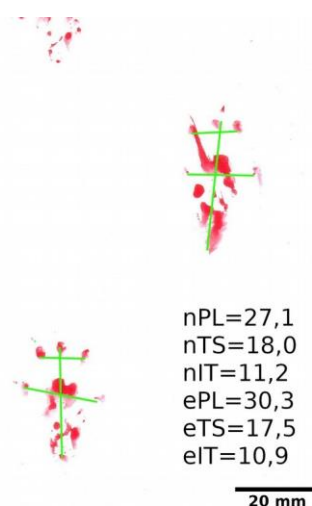


Рис.3.18. Відбитки лап щура через 12 тижнів після виконання псевдооперації. Відзначається симетричність та однаковість довжини відбитка, міжпальцевих відстаней правої та лівої кінцівок.

За результатами статистичного аналізу показника індексу сідничого нерва (SFI) було встановлено, що значення даного показника відповідають нормальному розподілу в усіх експериментальних групах та на усіх термінах дослідження (критерії Шапіро-Уїлка та Д'агостіно-Пірсона).

При міжгруповому порівнянні показника SFI на однакових термінах дослідження за допомогою критерію ANOVA встановлено наявність достовірних відмінностей SFI на 1 тижні ( $p=0,0022$ ), на 3 тижні ( $p<0,0001$ ) та на 12 тижні ( $p<0,0001$ ); було встановлено відсутність достовірних відмінностей SFI між групами на 6 тижні дослідження ( $p=0,0761$ ).

Результати проведеного функціонально-анатомічного обстеження через 1 тиждень після аутопластики свідчать про різке зниження показника SFI, що проявлялося різким суттєвим зниженням індексу функції сідничого нерва:  $SFI = -71,76 \pm 6,641$  (Mean $\pm$ SD), що менше за відповідний показник у псевдооперованих тварин в 11,53 рази ( $p<0,0001$ ; post hoc t-тест із поправкою Уелтча).

Через 3 тижні після аутопластики показник SFI залишався низьким, що проявлялося різким суттєвим зниженням індексу функції сідничого нерва  $SFI = (-)68,96 \pm 6,160$  (Mean $\pm$ SD), що було в 11,80 разів менше за аналогічний показник у псевдооперованих щурів ( $p<0,0001$ ; post hoc t-тест із поправкою Уелтча).

Через 6 тижнів після аутопластики спостерігалися ознаки відновлення рухової функції у вигляді збільшення показника SFI (Рис.3.19.). Показник SFI на цьому терміні спостереження становив  $-60,52 \pm 6,273$  (Mean $\pm$ SD), що було в 9,73 рази менше за відповідний показник у псевдооперованих щурів ( $p<0,0001$ ; post hoc t-тест із поправкою Уелтча).

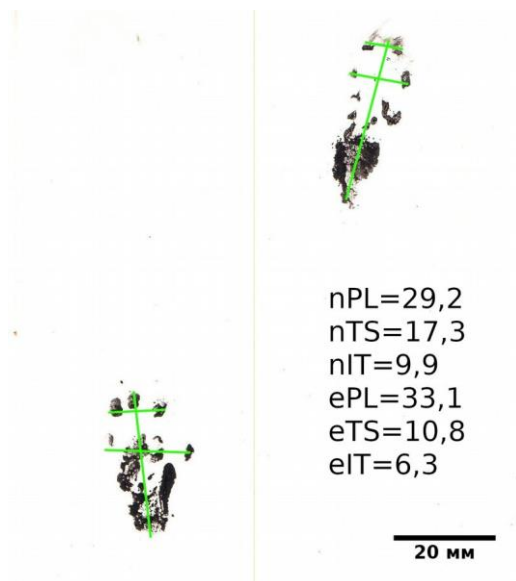


Рис.3.19. Відбитки лап щура через 6 тижнів після виконання аутонейропластики.

За результатами проведеного функціонально-анатомічного обстеження через 12 тижнів після аутопластики відзначалося неповне відновлення рухової функції (Рис.3.20.). Показник функції сідничого нерва на цьому терміні спостереження становив  $(-48,70 \pm 3,833)$  (Mean $\pm$ SD), що було у 7,82 рази менше за відповідний показник у псевдооперованих щурів ( $p < 0,0001$ ; post hoc t-тест із поправкою Уелтча).

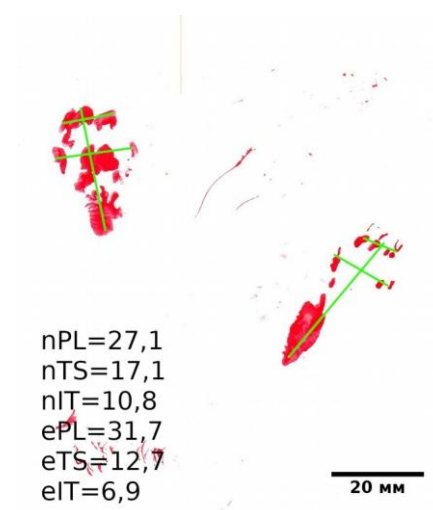


Рис.3.20. Відбитки лап щура через 12 тижнів після виконання аутонейропластики.

### 3.5. Результати електрофізіологічного дослідження

При виконанні стимуляційної голкової електронейроміографії на 12 тижні у щурів даної групи реєструвалися м-відповіді звичайної форми (Рис. 3.21), із латентністю 1,0; 1,0-1,3 мс (Median; 95% CI of median) та амплітудою 11,73; 9,580-12,67 мВ (Median; 95% CI of median).

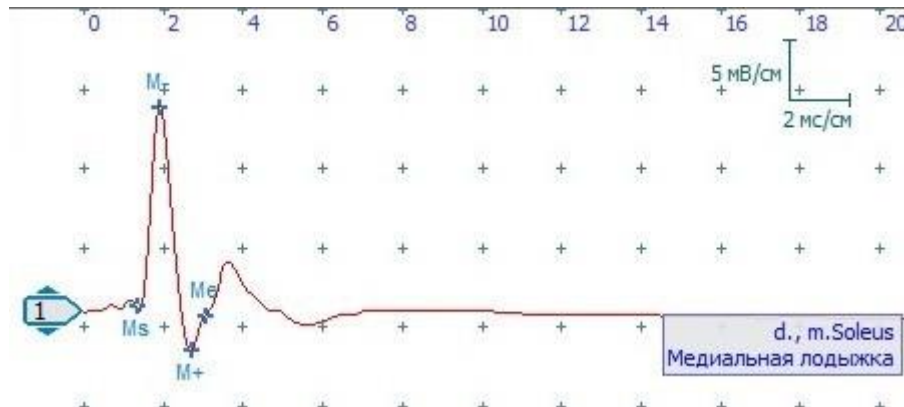


Рис.3.21. Електроміограма псевдооперованого щура. 12 тижнів після операції.

За результатами статистичного аналізу електрофізіологічних параметрів регенерації периферійного нерва щурів на 12 тижні експерименту, встановлено, що значення показника амплітуди М-відповіді, мало розподіл, що відрізнявся від нормального в групах I (псевдооперовані), II (виконання аутонейропластики) та IV (пластика аlogenною аортою, гелем та нитковидними кристалами кремнію) із  $p=0,0442$ ,  $p=0,0011$  та  $p=0,0300$  відповідно (тест Шапіро-Уїлка).

При міжгруповому порівнянні критерієм Краскела-Уолліса встановлено наявність відмінностей даного показника у тварин усіх груп ( $p<0,0001$ ).

За результатами стимуляційної голкової електронейроміографії на 12 тижні у щурів II групи реєструвалися м-відповіді форма яких наближалася до форми сигналу у псевдооперованих щурів (Рис. 3.22.), проте, значення показника амплітуди сигналу складало 6,360; 2,350-8,060 мВ (Median; 95% CI of median), що було менше значень амплітуди м-відповіді у псевдооперованих тварин на 45,78% ( $p<0,0001$ ; post hoc M-W test). Латентність становила 2,200;

2,100-2,200 мс (Median; 95% CI of median), що було у 2,2 рази більше за відповідний показник у псевдооперованих тварин ( $p < 0,0001$ ; post hoc M-W test).

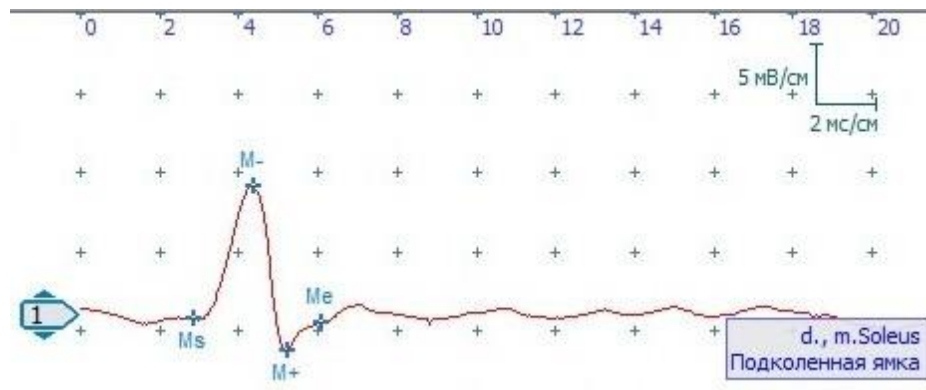


Рис.3.22. Електроміограма щура через 12 тижнів після виконання аутонейропластики

### Резюме до розділу 3

У тварин, після відтворення важкого пошкодження сідничого нерва та виконання аутонейропластики в центральному (проксимальному) відрізку нервового стовбура були наявні ознаки подразнення, які поступово ставали менш вираженими до 12 тижня та проявлялися на цьому терміні лише резидуальними змінами у вигляді гіпо- та гіперімпрегнації.

В ділянці проксимального місця з'єднання нервового стовбура і графта формується проксимальна регенераційна неврома, кількість клітин в якій із часом зменшується. Також спостерігається поступова поява кровоносних судин, розташування в невромі відносно впорядкованих нервових волокон на ранніх термінах дослідження із поступовим проростанням більшої кількості неупорядкованих нервових волокон.

В ділянці вставки відзначається поступове вrostання новоутворених кровоносних судин, і пов'язана з цим, затримка Веллерівської дегенерації нервових волокон, у порівнянні із дистальним відрізком нервового стовбура, з

відповідною затримкою проростання новоутворених нервових волокон, що мають ультраструктурні ознаки неповноцінності.

В ділянці дистального місця з'єднання нервового стовбура і графта формується дистальна регенераційна неврома, що так само, як і проксимальна регенераційна неврома на початку формування містила клітини, кількість яких поступово зменшувалася, із подальшим вrostанням кровоносних судин та нерівномірним проростанням невпроядкованих нервових волокон.

В дистальному відрізку нервового стовбура відбувається низхідна дегенерація нервових волокон із формуванням стрічок Бюнгнера та подальшим нерівномірним вrostанням новоутворених нервових волокон на 12 тижні дослідження.

Кількісна оцінка показників регенерації показала поступовий ріст показника питомої кількості нервових волокон на різних ділянках периферійного нерва в критичні періоди регенерації. впорядкованість новоутворених нервових волокон в ділянці периферійної невроми більша, ніж у дистальній, без суттєвих змін в залежності від критичних періодів, що підтверджується динамікою значень показника кута відхилення нервових волокон від поздовжньої осі нерва. На 12 тижні дистальний відрізок нерва містить новоутворені волокна середнього та великого діаметрів із потовщеною мієліновою оболонкою.

Проведений тест вон Фрея свідчить про поступове відновлення показника порогу тактильної і больової чутливості із наближенням цього показника до значень у псевдооперованих тварин на 12 тижні (Рис. 3.23).

Функціонально-анатомічне обстеження свідчить про поступовий ріст показника SFI та неповним відновленням рухової функції сідничого нерва на 12 тижні дослідження (Рис. 3.24).

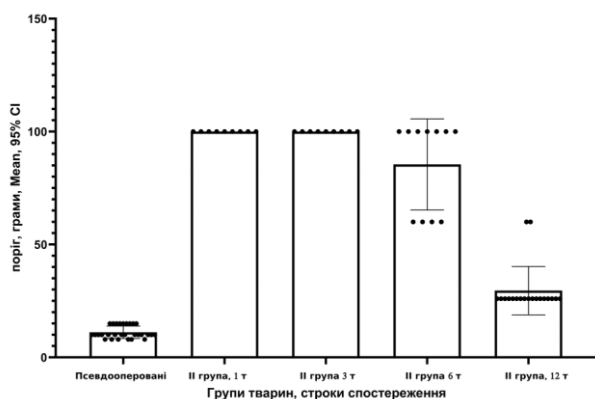


Рис.3.23. Результати обстеження щурів методом естезіометрії.

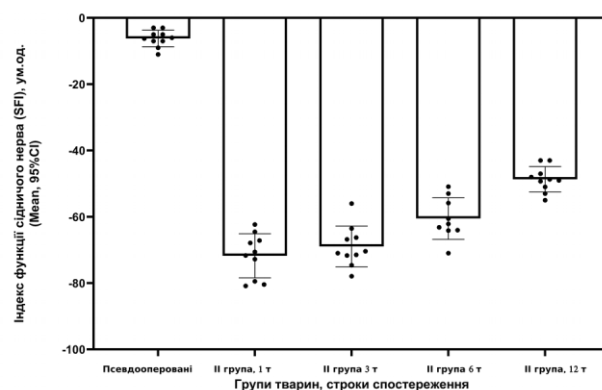


Рис.3.24. Результати функціонально-анатомічного обстеження щурів

Електрофізіологічне дослідження на 12 тижні показало відновлення форми м-комплексів, але їх латентність залишалася тривалою, а амплітуда не досягала значень відповідного показника у псевдооперованих тварин.

## РОЗДІЛ 4. ХАРАКТЕРИСТИКА ВІДНОВЛЕННЯ ПЕРИФЕРІЙНОГО НЕРВА ЗА УМОВ ТЯЖКОЇ ТРАВМИ ТА ПЛАСТИКИ ДЕФЕКТУ НЕРВОВОГО СТОВБУРА АЛОГЕННОЮ ДЕЦЕЛЮЛЯРИЗОВАНОЮ АОРТОЮ, ЗАПОВНЕНОЮ КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЮЛОЗНИМ ГЕЛЕМ

### 4.1 Результати морфологічного дослідження

За даними імпрегнації нітратом срібла на 1 тиждні після травми та лікування в центральному (проксимальному) відрізку периферійного нерва нервові волокна розміщені впорядковано, рівномірно, мають хвилястий контур та змінюють свої імпрегнаційні властивості, що проявляється гіпо- та гіперімпрегнацією і свідчить про наявність їх подразнення, також наявні нервові волокна із ознаками висхідної (ретроградної) дегенерації, поодинокі овоїди дегенерації.

В ділянці проксимальної невроми (Рис.4.1.) наявні нервові волокна із явищами ретроградної (висхідної) дегенерації, відзначається набряк ендоневрію. Також наявні численні клітинні елементи поміж яких із проксимального кінця нерва врастають судини різних калібрів.

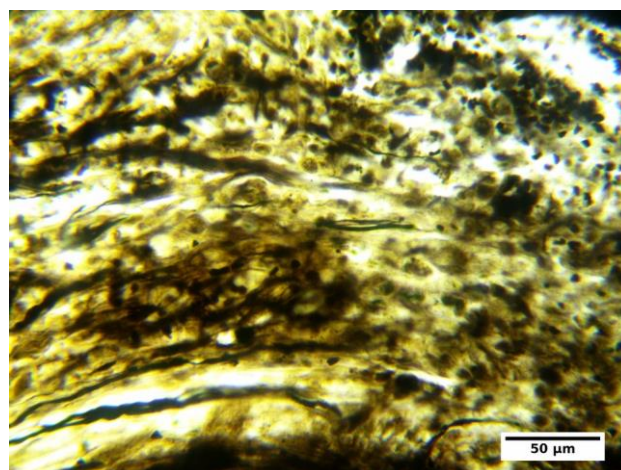


Рис.4.1. Проксимальна регенераційна неврома сідничого нерва щура із групи з пластикою аллогенною аортою та гелем. 1 тиждень після операції. Імпрегнація азотнокислим сріблом.



В просвіті провідника наявні численні клітини поміж яких розмішуються мікросудини різного діаметра, кількість яких більша в ділянках графта, що межують із проксимальною та дистальною невромами. Нервові волокна відсутні.

На цьому терміні дослідження ділянка дистальної невроми повністю складається з клітин, між якими розмішуються судини різних діаметрів, що врастають із дистального відрізка нервового стовбура в просвіт кондуїта.

Дистальний відрізок містить численні малі фрагменти осьових циліндрів у вигляді овоїдів дегенерації, та велику кількість клітинних елементів, що свідчить про наявність набряку, веллерівської дегенерації і початок формування Бюнгнерівських стрічок.

Через 3 тижні після відтворення пошкодження та виконання пластики алогенною аортою та карбоксиметилцелюлозним гелем в центральному відрізку сідничного нерва наявні впорядковані нервові волокна, що розміщені впорядковано, мають хвилястий контур.

Проксимальна регенераційна неврома містить значну кількість хаотично розташованих новоутворених нервових волокон, що розташовуються відносно рівномірно та врастають в просвіт кондуїта. Суттєва кількість волокон має поперечний хід чи відхиляються під великими кутами від поздовжньої осі нерва.

У тварин цієї групи на 3 тижні після травми в просвіті провідника (Рис.4.2.) наявна помірна кількість клітин та велика кількість судин різних діаметрів. Наявні поодинокі тонкі новоутворені нервові волокна.

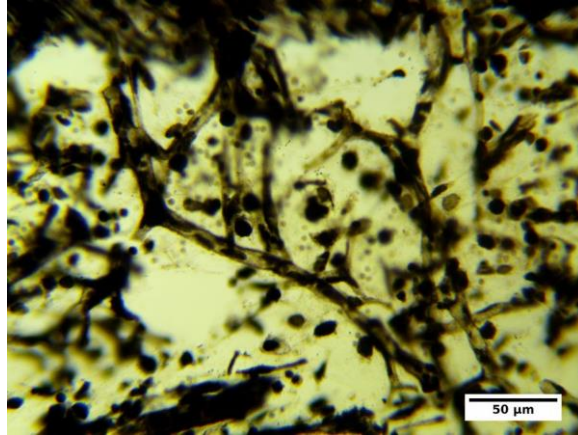


Рис.4.2. Ділянка вставки. Група щурів із пластикою аlogenною аортою та гелем. 3 тижні після операції. Імпрегнація азотнокислим сріблом.

Через 6 тижнів після травми у тварин цієї групи в проксимальному відрізку наявні впорядковані нервові волокна, що розташовуються рівномірно,

В ділянці проксимальної невромі (Рис.4.3.) наявні хаотично розташовані новоутворені нервові волокна, що розміщені нерівномірно серед великої кількості клітин. Також наявна суттєва кількість новоутворених судин різних розмірів та широкі безсудинні поля сполучної тканини.

В ділянці вставки (провідника) (Рис.4.4.) наявна мала кількість тонких новоутворених нервових волокон, що розміщені відносно нерворядковано та нерівномірно серед судин різного діаметру та безсудинних зон сполучної тканини.

В дистальній регенераційній невромі (Рис.4.5.) розміщені новоутворені нервові волокна, що розташовуються хаотично, нерівномірно. Між нервовими волокнами наявна велика кількість судин різного діаметру та клітин.

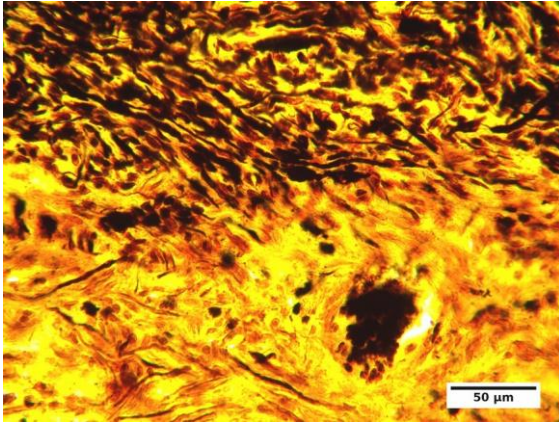


Рис.4.3. Ділянка проксимальної регенераційної невроми. Група щурів із пластикою аlogenною аортою та гелем, 6 тижнів після операції. Імпрегнація азотнокислим сріблом.

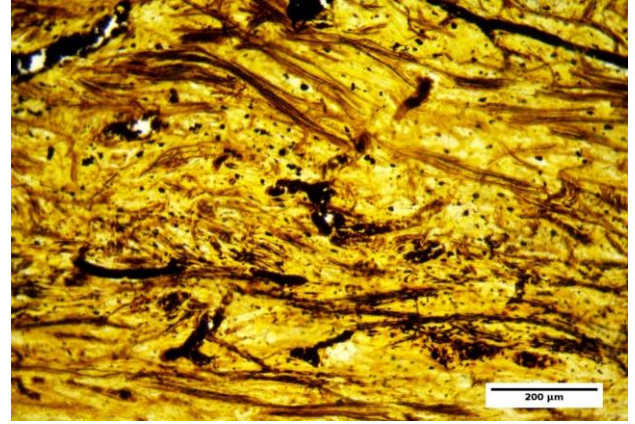


Рис.4.4. Ділянка вставки. Група щурів із пластикою аlogenною аортою та гелем, 6 тижнів після операції. Імпрегнація азотнокислим сріблом.

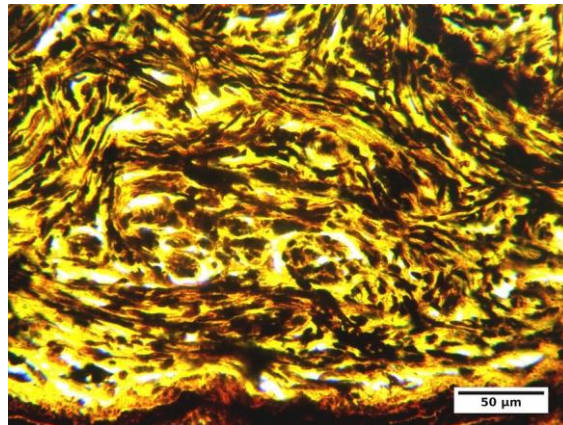


Рис.4.5. Ділянка дистальної регенераційної невроми. Група щурів із пластикою аlogenною аортою та гелем, 6 тижнів після операції. Імпрегнація азотнокислим сріблом.

В дистальному відрізьку травмованого нерва також наявна мала кількість тонких нервових волокон, та велика кількість клітин, що формують стрічки Бюнгнера.

Через 12 тижнів після оперативного втручання у даної групи тварин в проксимальному відрізьку сідничого нерва наявні впорядковані рівномірно розташовані нервові волокна, помірна кількість судин.

В проксимальній невромі наявні численні тонкі та товсті нервові волокна, що розташовуються хаотично, невпорядковано і розподілені нерівномірно. Наявні як численні кровоносні судини різного діаметру так і безсудинні ділянки сполучної тканини, наявні скупчення клітин.

В просвіті кондуїта наявні новоутворені тонкі та товсті нервові волокна, що формують пучки, які розміщуються невпорядковано, нерівномірно. Також наявні кровоносні судини різного діаметру, кількість клітин помірна.

При електронномікроскопічному дослідженні сідничого нерва після виконання пластики аlogenною аортою, гелем на 12 тижні експерименту в ділянці вставки виявляються новоутворені нервові волокна, судини мікроциркуляторного русла та сполучна тканина. Виявлено гетерогенність патоморфологічних змін.

Наявні численні неповноцінні мієлінові нервові волокна (Рис.4.6.), що проявляється змінами всіх їх елементів. Мієлінова оболонка тонка, не має округлої або овальної конфігурації, а утворює випинання та інвагінації, зберігаючи свою неперервність, що вказує на її неповноцінність. Також зустрічаються новоутворені нервові волокна із низьким ступенем мієлінізації. Електронна щільність аксоплазми помірна. Кількість нейрофіламентів та мікротрубочок помірна. Зустрічаються поодинокі мітохондрії із різним ступенем деструкції, проте більшість мітохондрій має електроннощільний матрикс.

Помірна кількість мієлінових нервових волокон має ознаки набряку периаksonального простору.

Судини мікроциркуляторного русла виявляються в значній кількості. Ендотеліальне вистелення судин зплющене. Цитоплазма нейрореміцитів мієлінових нервових волокон середньої електронної щільності, займає простір між мієліновою оболонкою і плазмалемою.

Мітохондрії збільшені в розмірі, проте, мають видовжені кристи, періодично, зустрічаються із щільним матриксом. Деякі цистерни ендоплазматичної сітки розширені., контури нерівні, вільні рибосоми і полісоми поширені в цитоплазмі навколоядерної зони. Перинуклеарний простір на окремих ділянках розширений та просвітлений.

Виявляється помірна кількість зрілої сполучної тканини у вигляді пучків колагенових волокон, що розташовані рівномірно, подекуди наявні ділянки скупчення колагенових волокон.

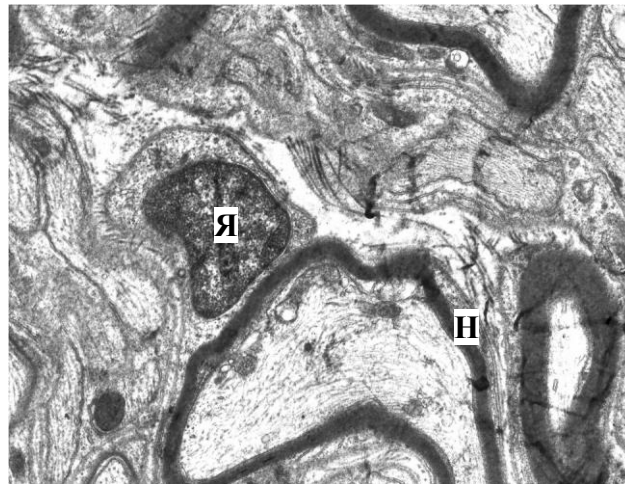


Рис.4.6. Ділянка вставки. 12 тижнів після операції. Новоутворені нервові волокна (Н), Ядро Шваноцита (Я) Електронномікроскопічне фото.

В ділянці дистальної невроми (Рис.4.7.) наявна помірна кількість тонких та товстих нервових волокон, що розміщуються хаотично, невпорядковано, серед великої кількості кровоносних судин та суттєвої кількості клітин.

В дистальному відрізку (Рис.4.8.) наявна мала кількість тонких нервових волокон, що розміщуються відносно впорядковано, але нерівномірно. Також наявна середня кількість шванноцитів, що формують стрічки.

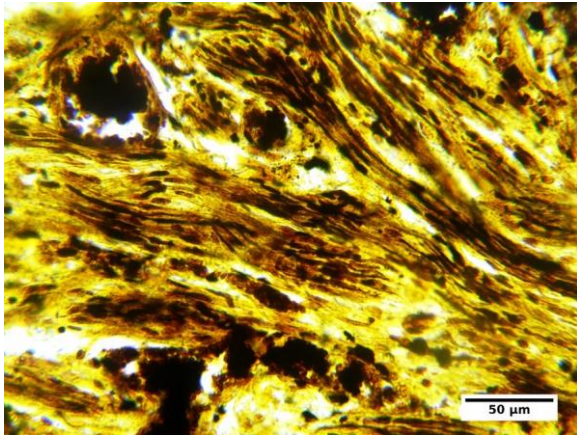


Рис.4.7. Ділянка дистальної регенераційної невроми. Група щурів із пластикою алогенною аортою та гелем, 12 тижнів після операції. Імпрегнація азотнокислим сріблом.

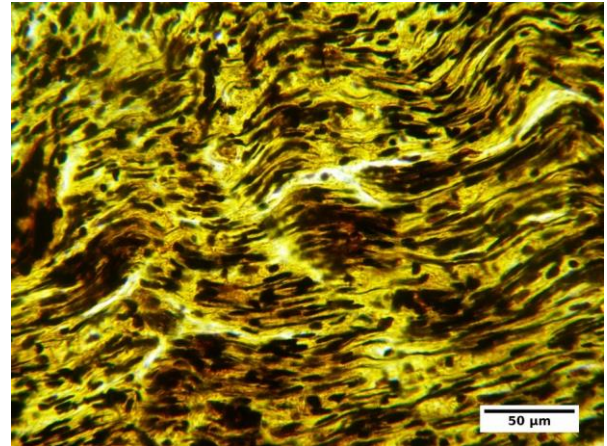


Рис.4.8. Ділянка дистального відрізка нервового стовбура. Група щурів із пластикою алогенною аортою та гелем, 12 тижнів після операції. Імпрегнація азотнокислим сріблом.

## 4.2 Результати морфометричного дослідження

За результатами морфометричного дослідження на 1 тиждні після початку дослідження питома щільність нервових волокон в ділянці проксимальної регенераційної невроми складала  $782,3 \pm 193,1$   $1/\text{мм}^2$  (Mean $\pm$ SD), що було достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за відповідний показник у псевдооперованих щурів на 92,45% або у 12,88 разів; також даний показник був достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) меншим за аналогічний у щурів II групи на 37,52%.

На 3 тиждні питома щільність нервових волокон в ділянці проксимальної регенераційної невроми складала  $1265 \pm 268,7$   $1/\text{мм}^2$  (Mean $\pm$ SD), що було достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за відповідний показник у псевдооперованих тварин на 87,45% або у 7,97 рази. Також даний показник був достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) меншим за аналогічний показник у тварин II групи на 67,89%. В ділянці вставки щільність нервових

волокон складала  $836,7 \pm 150,6$   $1/\text{мм}^2$  (Mean $\pm$ SD), що було достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за відповідний показник у псевдооперованих тварин на 91,70% або у 12,05 разів та достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за аналогічний показник у тварин II групи на 74,37%. В ділянці дистальної регенераційної невроми та дистального відрізка нервові волокна не визначалися, тому морфометричне дослідження цих ділянок не проводилося.

На 6 тижні дослідження дослідження питома щільність нервових волокон в ділянці вставки складала  $1510 \pm 197,2$   $1/\text{мм}^2$  (Mean $\pm$ SD), що було достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за аналогічний показник у псевдооперованих тварин на 85,02% або в 6,67 разів та достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за аналогічний показник у тварин II групи на 62,06%. Питома щільність нервових волокон в ділянці дистальної регенераційної невроми складала  $979,6 \pm 129,1$   $1/\text{мм}^2$  (Mean $\pm$ SD), що було достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за аналогічний показник у псевдооперованих тварин на 90,28% або в 10,29 разів та достовірно менше за аналогічний показник у тварин II групи на 74,06%.

Через 12 тижнів після операції питома щільність нервових волокон в ділянці дистальної невроми складала  $2633 \pm 596,6$   $1/\text{мм}^2$  (Mean $\pm$ SD), що було достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за відповідний показник у псевдооперованих тварин на 73,87% або у 3,83 рази та достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за відповідний показник у тварин II групи на 61,37%. В ділянці дистального відрізка нервового стовбура питома щільність нервових волокон складала  $3672 \pm 470,9$   $1/\text{мм}^2$  (Mean $\pm$ SD), що було достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за відповідний показник у псевдооперованих тварин на 63,56% або у 2,74 рази та було достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за відповідний показник тварин II групи на 51,52%.

За результатами статистичного аналізу показника кута відхилення нервових волокон від поздовжньої осі нерва встановлено, що розподіл значення даного показника не підкорявся закону нормального розподілу у тварин даної групи на 3 та 6 тижні дослідження. (критерії Д'агостіно-Пірсона, Шапіро-Уїлка).

При міжгруповому порівнянні за допомогою критерію Краскела-Уоліса встановлено відсутність достовірних відмінностей у значенні показника кута відхилення нервових волокон в ділянці проксимальної невроми на терміні спостереження 1 тиждень ( $p=0,2395$ ), враховуючи це, *post hoc* аналіз не проводився.

На 1 тиждні в ділянці проксимальної регенераційної невроми кут відхилення нервових волокон від поздовжньої осі нервового стовбура складав  $12,44^\circ$ ; 8,779-15,36 (Median; 95% CI of Median), що було на 7,23% менше за відповідний показник у щурів II групи

При міжгруповому порівнянні за допомогою критерію Краскела-Уоліса встановлено наявність достовірних відмінностей у значенні показника в ділянці проксимальної невроми на терміні спостереження 3 тижні ( $p=0,0003$ ).

На 3 тижні в ділянці проксимальної регенераційної невроми кут відхилення нервових волокон від поздовжньої осі нервового стовбура складав  $18,02^\circ$ ; 12,69-21,34 (Median; 95% CI of Median), що було достовірно ( $p=0,0056$ ; *post hoc* M-W test) більше на 58,07% за відповідний показник у щурів II групи.

При міжгруповому порівнянні за допомогою критерію Краскела-Уоліса встановлено наявність достовірних відмінностей у значенні показника в ділянці дистальної невроми на терміні спостереження 6 тижнів ( $p=0,0463$ ).

На 6 тижні в ділянці дистальної регенераційної невроми кут відхилення нервових волокон від поздовжньої осі нервового стовбура складав  $23,60^\circ$ ;



18,59-29,49 (Median; 95% CI of Median), що було достовірно ( $p=0,0100$ ; post hoc M-W test) більше на 39,40% за аналогічний показник у щурів II групи.

При міжгруповому порівнянні за допомогою критерію Краскела-Уоліса встановлено наявність достовірних відмінностей у значенні показника в ділянці дистальної невроми на терміні спостереження 12 тижнів ( $p<0,0001$ ).

На 12 тижні в ділянці дистальної регенераційної невроми кут відхилення нервових волокон від поздовжньої осі нервового стовбура складав  $38,30^\circ$ ; 31,15-52,25 (Median; 95% CI of Median), що було на 69,24% більше за аналогічний показник у щурів II групи

При проведенні статистичного дослідження показника діаметру новоутворених нервових волокон встановлено, що значення даного показника не підкорялося законам нормального розподілу у тварин III групи (пластика аортою, гелем) (критерії Д'Агостіно-Пірсона, Шапіро-Уїлка).

На 12 тижні діаметр нервових волокон у дистальному відрізьку нервового стовбура складав 5,113; 4,711-5,764 мкм (Median; 95% CI of Median), що було достовірно ( $p<0,0001$ ; post hoc M-W test) менше на 27,42% за аналогічний показник у псевдооперованих щурів та достовірно ( $p<0,0001$ ; post hoc M-W test) менше на 24,99% за аналогічний показник у тварин II групи.

При проведенні статистичного дослідження показника товщини мієлінової оболонки встановлено, що значення даного показника не підкорялося законам нормального розподілу у тварин III групи (пластика аортою, гелем) (критерії Д'Агостіно-Пірсона, Шапіро-Уїлка).

Товщина мієлінової оболонки складала 1,288; 1,209-1,452 мкм (Median; 95% CI of Median), що було достовірно ( $p<0,0001$ ; post hoc M-W test) менше за аналогічний показник у псевдооперованих щурів на 9,10% та достовірно ( $p<0,0001$ ; post hoc M-W test) менше за аналогічний показник у тварин II групи на 36,17%.

### 4.3 Результати естезіометрії

За результатами естезіометрії через 1 тиждень після тяжкої травми та пластики аллогенною аортою з гелем свідчать відсутність чутливості шкіри стопи у щурів, що проявлялося у відсутності рефлексу відсмикування стопи у відповідь навіть на подразнення 100; 100 г (Median; Mean).

За результатами естезіометрії через 3 тижні після тяжкої травми та пластики аллогенною аортою з гелем зберігалися глибокі порушення чутливості шкіри стопи у щурів, що проявлялося у відсутності рефлексу відсмикування стопи у відповідь навіть на подразнення 100; 100 (Median; Mean) г.

За результатами естезіометрії через 6 тижнів після тяжкої травми та пластики аллогенною аортою з гелем поріг рефлексу відсмикування стопи у відповідь на подразнення складав 100;  $82,86 \pm 20,54$  (Median; Mean $\pm$ SD) г, що було достовірно ( $p < 0,0001$ ; post-hoc M-W test) більше у 6,7 разів за аналогічний показник у псевдооперованих щурів.

За даними естезіометрії на 12 тижні після пластики алогенною аортою та гелем були наявні ознаки неповного відновлення чутливості у тварин даної групи. Поріг виникнення рефлексу відсмикування дорівнював 60;  $58,97 \pm 21,12$  г, (Median; Mean $\pm$ SD), що було достовірно ( $p < 0,0001$ ; post-hoc M-W test) більше за аналогічний показник у псевдооперованих щурів на 376,71% або у 4,76 рази, та було достовірно ( $p < 0,0001$ ; post-hoc M-W test) більше за аналогічний показник у щурів II групи на 97,95% або у 1,97 рази.

### 4.4 Результати функціонально-анатомічного дослідження

Результати проведеного функціонально-анатомічного обстеження через 1 тиждень після аутопластики свідчать про різке зниження показника SFI, що проявлялося суттєвим зниженням індексу функції сідничого нерва до (-)  $74,75 \pm 8,518$  (Mean $\pm$ SD), що було достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за аналогічний показник у псевдооперованих тварин на 1101,77%

або у 12,01 рази та достовірно ( $p=0,3941$ ; post hoc Welch's t-test) не відрізнявся від відповідного показник у тварин II групи.

Результати проведеного функціонально-анатомічного обстеження через 3 тижні після аутопластики свідчили про стійке зниження показника SFI, що проявлялося різким достовірним суттєвим зниженням індексу функції сідничого нерва до  $(-)76,82 \pm 4,115$  (Mean $\pm$ SD), що, однак, було достовірно ( $p<0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за аналогічний показник у псевдооперованих тварин на 1135,05% або у 12,5 рази та було достовірно ( $p=0,0041$ ; post hoc Welch's t-test) менше за аналогічний показник у тварин II групи на 11,39%.

Результати проведеного функціонально-анатомічного обстеження (Рис.4.9.) через 6 тижнів після пластики аlogenною аортою з гелем свідчили, що показник SFI складав  $(-)62,49 \pm 23,79$  (Mean $\pm$ SD), що було достовірно ( $p<0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за аналогічний показник у псевдооперованих тварин на 904,66% або у 10,05 разів.

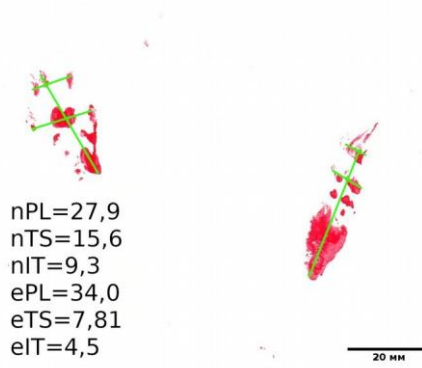


Рис.4.9. Відбитки лап щура через 6 тижнів після пластики аортою та гелем.

За результатами проведеного функціонально-анатомічного обстеження через 12 тижнів після пластики аlogenною аортою та гелем (Рис.4.10.) показник функції сідничого нерва складав  $(-)68,89 \pm 6,172$  (Mean $\pm$ SD), що було достовірно ( $p<0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за аналогічний показник у псевдооперованих тварин на 1007,55% або у 11,07 разів та достовірно

( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за аналогічний показник у тварин II групи на 41,45%.

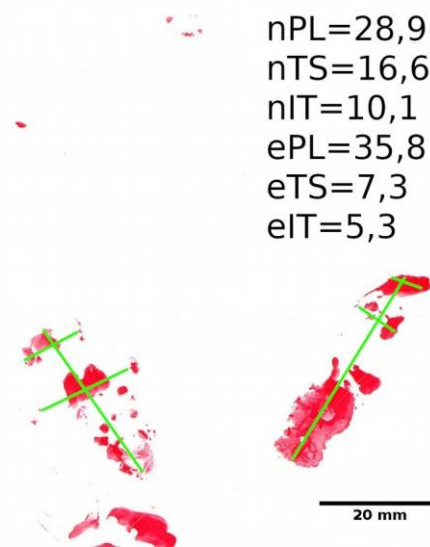


Рис.4.10. Відбитки лап щура через 12 тижнів після виконання пластики аlogenною аортою та гелем.

#### 4.5. Результати електрофізіологічного дослідження

За результатами стимуляційної голкової електронейроміографії на 12 тижні у щурів даної групи реєструвалися м-відповіді форма яких наближалася до форми сигналу у псевдооперованих щурів (Рис. 4.11.), проте, значення показника амплітуди сигналу становило 2,995; 1,890-4,120 мВ (Median; 95% CI of median), що було достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc M-W test) менше за аналогічний показник у псевдооперованих тварин на 74,49% та було менше ( $p = 0,0640$ ; post hoc M-W test) за аналогічний показник у тварин II групи на 52,91%.

Латентність сигналу складала 11,98; 11,20-12,35 мс (Median; 95% CI of median), що було достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc M-W test) більше за аналогічний показник у псевдооперованих тварин на 1098% або у 10,98 разів та достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc M-W test) більше за аналогічний показник у тварин II групи на 444,55% або у 5,45 разів.

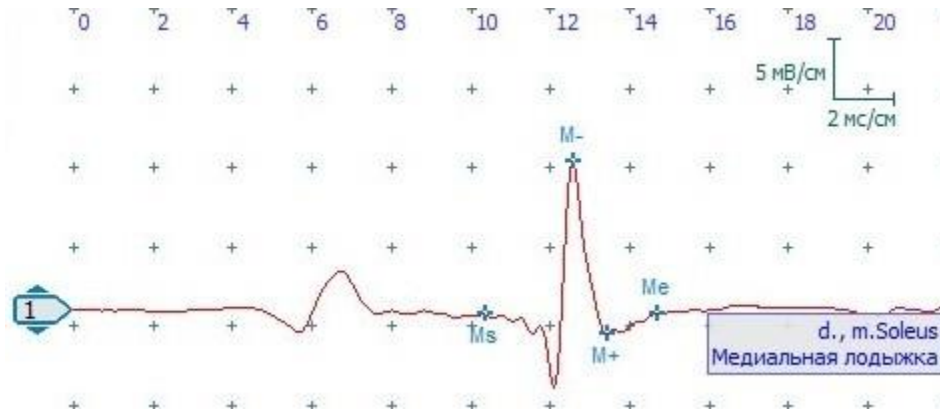


Рис.4.11. Електроміограма щура через 12 тижнів після виконання пластики аlogenною аортою та гелем

#### Резюме до розділу 4

У тварин, після відтворення важкого пошкодження сідничого нерва та виконання пластики аlogenною децелюляризовану аортою та карбоксиметилцелюлозним гелем в центральному (проксимальному) відрізьку нервового стовбура були наявні ознаки подразнення, які поступово ставали менш вираженими до 12 тижня та залишалися у вигляді гіпо- та гіперімпрегнації.

В ділянці проксимального місця з'єднання нервового стовбура і графта формується проксимальна регенераційна неврома, кількість клітин в якій із часом, повільно зменшується. Також спостерігається поступова поява та проростання кровоносних судин, нерівномірне розташування в невромі відносно невпорядкованих нервових волокон на ранніх термінах дослідження із поступовим проростанням більшої кількості невпорядкованих нервових волокон.

В ділянці вставки відзначаються послідовна зміна морфологічної картини: наявність великої кількості клітин, вростання новоутворених кровоносних судин, нерівномірне вростання невпорядкованих новоутворених нервових волокон, що мають ознаки неповноцінності.

В ділянці дистального місця з'єднання нервового стовбура і графта формується дистальна регенераційна неврома, що так само, як і проксимальна регенераційна неврома на початку формування містить багато клітин, кількість яких поступово зменшувалася, із подальшим вrostанням кровоносних судин, що прямують з дистального кінця нервового стовбура до просвіту графта та нерівномірним проростанням невпорядкованих нервових волокон.

В дистальному відрізку нервового стовбура відбувається низхідна дегенерація нервових волокон із формуванням стрічок Бюнгнера та подальшим нерівномірним вrostанням новоутворених нервових волокон на 12 тижні дослідження.

Кількісна оцінка показників регенерації також показала поступовий ріст показника питомої кількості нервових волокон на різних ділянках периферійного нерва в критичні періоди регенерації, при чому, так само як і у тварин попередньої групи, впорядкованість новоутворених нервових волокон в ділянці периферійної невроми була більша, ніж у дистальній, без суттєвих змін в залежності від критичних періодів, що підтверджується динамікою значень показника кута відхилення нервових волокон від поздовжньої осі нерва. На 12 тижні дистальний відрізок нерва містить новоутворені волокна середнього та малого діаметру із тонкою мієліновою оболонкою.

Проведений тест вон Фрея свідчить про поступове, неповне відновлення показника порогу тактильної і больової чутливості на 12 тижні після моделювання (Рис. 4.12).

Функціонально-анатомічне обстеження свідчить, про неповне відновлення рухової функції сідничого нерва на 12 тижні дослідження (Рис. 4.13).

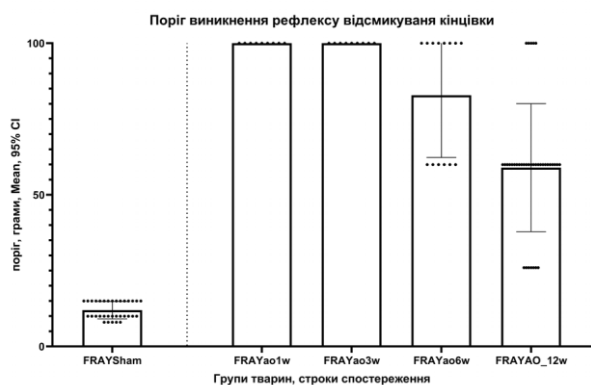


Рис.4.12. Результати обстеження шурів методом естезіометрії.

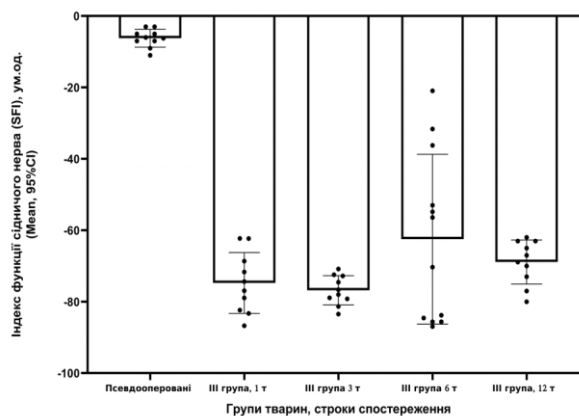


Рис.4.13. Результати функціонально-анатомічного обстеження шурів

Електрофізіологічне дослідження на 12 тижні показало гетерогенність відновлення форми м-комплексів: у деяких тварин реєструвалися розщеплені комплекси із більш низькою амплітудою. Латентність та амплітуда м-відповідей відновлювалася неповністю.

## РОЗДІЛ 5. ХАРАКТЕРИСТИКА ВІДНОВЛЕННЯ ПЕРИФЕРІЙНОГО НЕРВА ЗА УМОВ ТЯЖКОЇ ТРАВМИ ТА ПЛАСТИКИ ДЕФЕКТУ НЕРВОВОГО СТОВБУРА АЛОГЕННОЮ ДЕЦЕЛЮЛЯРИЗОВАНОЮ АОРТОЮ, ЗАПОВНЕНОЮ КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЮЛОЗНИМ ГЕЛЕМ ТА НИТКОПОДІБНИМИ КРИСТАЛАМИ КРЕМНІЮ

### **5.1 Результати морфологічного дослідження**

На 1 тиждні після оперативного втручання за даними імпрегнації азотнокислим сріблом в проксимальному відрізку травмованого нерва були наявні тонкі, рівномірно і впорядковано розміщені нервові волокна, що демонструють ознаки подразнення у вигляді зміни імпрегнаційних властивостей, хвилястості контуру, і врастають в проксимальну регенераційну неврому.

Проксимальна регенераційна неврома містить багато тонких новоутворених нервових волокон, що розміщені серед великої кількості клітин, проходять відносно рівномірно, але відносно невпорядковано: багато волокон звивисті, відхиляються під кутами до поздовжньої осі нерва. Наявна мала кількість новоутворених кровоносних судин.

В просвіті провідника розміщується значна кількість клітин, особливо поблизу проксимальної та дистальної невром, мала кількість кровоносних судин, що врастають з невром. Наявні ниткоподібні кристали кремнію, що орієнтовані паралельно до поздовжньої осі вставки, знаходяться в отченні клітин. Всередині провідника наявні поодинокі новоутворені нервові волокна, що відхиляються в напрямку ниткоподібних кристалів. У деяких тварин цієї групи на даному терміні дослідження наявні ознаки неповної резорбції гідрогелю в просвіті кондуїту у вигляді прозорих округлих ділянок, що розмежовані елементами позаклітинного матриксу (Рис.5.1.).

В дистальній невромі на цьому терміні спостереження розміщується велика кількість клітин та помірна кількість кровоносних судин різного



калібру.

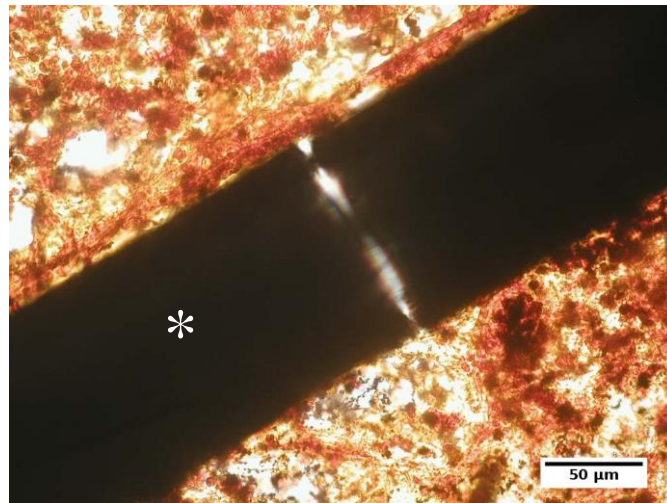


Рис.5.1. Ділянка вставки. Група тварин із пластикою алогенною аортою, гелем та нитковидними кристалами кремнію. 1 тиждень після операції. Імпрегнація азотнокислим сріблом. \* - ниткоподібний кристал кремнію

В ділянці дистального відрізка наявні фрагментовані нервові волокна, що розпадаються із формуванням овоїдів дегенерації, велика кількість клітин.

Через 3 тижні після оперативного втручання проксимальний відрізок нерва містить велику кількість тонких та товстих впорядковано та рівномірно розміщених нервових волокон, що формують пучки. На цьому терміні численні волокна проксимального відрізка все ще мають ознаки подразнення у вигляді гіпо- та гіперімпрегнації, хвилястості контуру.

В проксимальній невромі наявна суттєва кількість тонких та товстих новоутворених нервових волокон що розташовані відносно рівномірно та відносно впорядковано, проходять в порожнину кондуїту і розміщені серед помірної кількості клітин та різнокаліберних кровоносних судин.

В ділянці переходу проксимальної регенераційної невромі у вставку (Рис.5.2.), всередині провідника наявна мала кількість тонких новоутворених нервових волокон, що розміщені відносно рівномірно, відносно

впорядковано. Деякі з волокон проходили в безпосередній близькості до ниткоподібних кристалів кремнію. Також всередині кондуїта розміщувалася значна кількість новоутворених судин різного калібру та помірна кількість клітин.

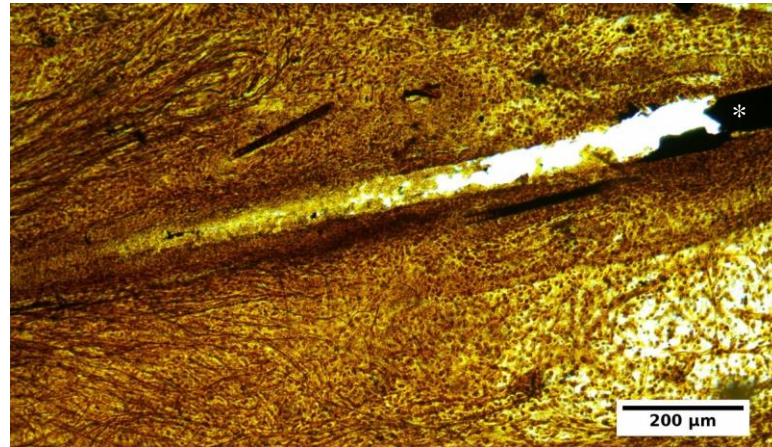


Рис.5.2. Ділянка проксимальної неврони та вставки. Група тварин із пластикою алогенною аортою, гелем та нитковидними кристалами кремнію. 3 тижні після операції. Імпрегнація азотнокислим сріблом. \* - ниткоподібний кристал кремнію.

Дистальна регенераційна неврома містила велику кількість клітин та помірну кількість новоутворених судин, які вросли в просвіт кондуїта.

В дистальному відрізку сідничого нерва на цьому терміні дослідження наявні шваноцити, що формують стрічки Бюнгнера, також наявні овоїди дегенерації у суттєвій кількості.

Через 6 тижнів після моделювання проксимальний відрізок нерва містить велику кількість тонких та товстих впорядкованих, рівномірно розміщених нервових волокон, кількість кровоносних судин та клітин мала.

В ділянці проксимальної неврони наявна велика кількість звивистих тонких та товстих новоутворених нервових волокон, які розміщуються відносно рівномірно. Більшість з них, розміщені впорядковано, і прямують в просвіт кондуїта. Мала частина з новоутворених нервових волокон відхиляються від поздовжньої осі нерва, мають рекурентний хід. Нервові

волокна розділені тонкими прошарками сполучної тканини, кількість клітин та кровоносних судин мала.

В ділянці переходу проксимальної невроми в ділянку вставки (Рис. 5.4, Рис. 5.5.) в просвіті провідника наявні новоутворені нервові волокна, молода сполучна тканина, кровоносні судини та ниткоподібні кристали кремнію.

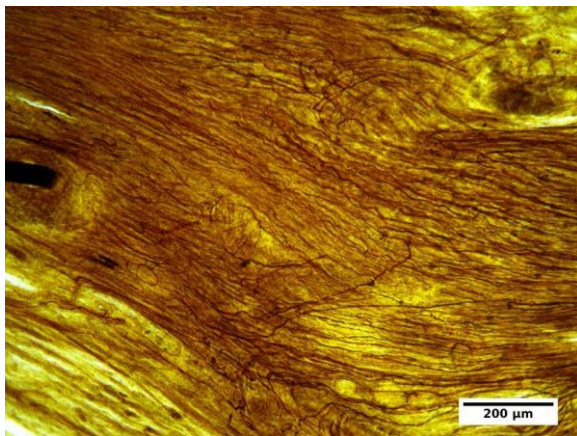


Рис.5.4. Ділянка

проксимального відрізка нервового стовбура та проксимальної невроми. Група тварин із пластикою аlogenною аортою, гелем та нитковидними кристалами кремнію. 6 тижні після операції. Імпрегнація азотнокислим сріблом.

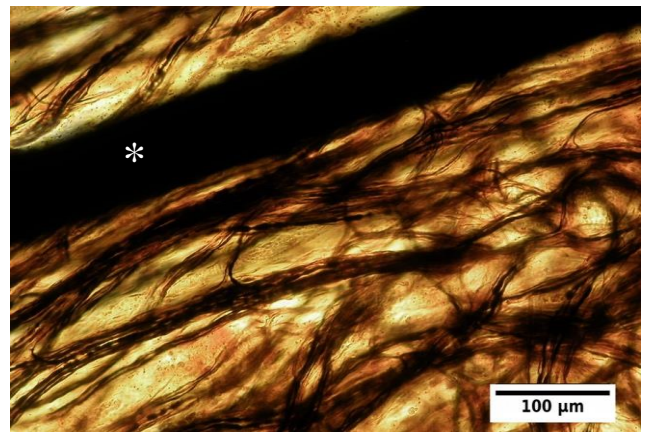


Рис.5.5. Ділянка

проксимальної невроми та вставки. Група тварин із пластикою аlogenною аортою, гелем та нитковидними кристалами кремнію. 6 тижні після операції. Імпрегнація азотнокислим сріблом.

\* - ниткоподібний кристал кремнію

Кількість новоутворених нервових волокон в імпланті, на відміну від попередньої групи, значна. Нервові волокна, що містяться в просвіті провідника, складаючись у пучки, прямують від невроми, що розташована біля центрального відрізка до невроми, що розташована біля периферійного відрізка та мають переважно поздовжній напрямок, та відносно впорядковане розташування.

Новоутворені нервові волокна, які проростають крізь імплант, розташовані практично впорядковано та мають переважно паралельний хід, особливо по ходу поздовжньо розташованих кристалів кремнію, або іноді відхиляються від поздовжньої осі нерва, рідко зустрічаються осьові циліндри, що мають рекурентний хід.

Багато регенеруючих новоутворених нервових волокон прямують вздовж ниткоподібних кристалів та прилягають до них. В цій групі тварин виявлено тісний зв'язок молодих нервових волокон з поверхнею поздовжньо розташованих ниткоподібних кристалів кремнію з природним окислом на поверхні.

Дистальна неврома (Рис.5.6.) у тварин цієї групи містить велику кількість новоутворених нервових волокон, які формують пучки, прямують до дистального відрізка нерва, але розміщені відносно невпорядковано, відносно рівномірно: пучки нервових волокон відхиляються від поздовжньої осі нерва та перемежовані тонкими прошарками сполучної тканини із помірною кількістю клітин та наявними кровоносними судинами.

Дистальний відрізок нерва (Рис.5.7.) містить помірну кількість тонких нервових волокон, помірну кількість клітин, та одиничні овоїди дегенерації. Нервові волокна розміщуються відносно рівномірно, відносно впорядковано.

Через 12 тижнів після операції в проксимальному відрізку сідничого нерва наявні численні впорядковані та рівномірно розташовані нервові волокна. Поодинокі волокна мають ознаки подразнення у вигляді хвилястості контуру.

Проксимальна регенераційна неврома містить велику кількість тонких та товстих нервових волокон, що формують пучки та розміщуються відносно впорядковано, розподілені відносно рівномірно. Лише деякі з волокон відхиляються від поздовжньої осі нерва. Кількість новоутворених судин та клітин помірна. Безсудинні зони сполучної тканини трапляються

рідко.

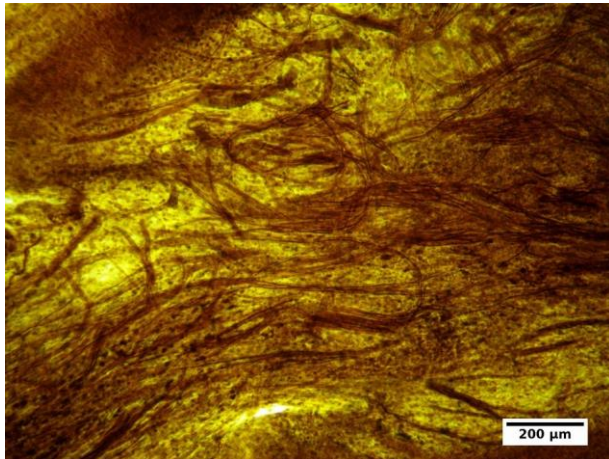


Рис.5.6. Ділянка дистальної неврони. Група тварин із пластикою алогенною аортою, гелем та нитковидними кристалами кремнію. 6 тижнів після операції. Імпрегнація азотнокислим сріблом.

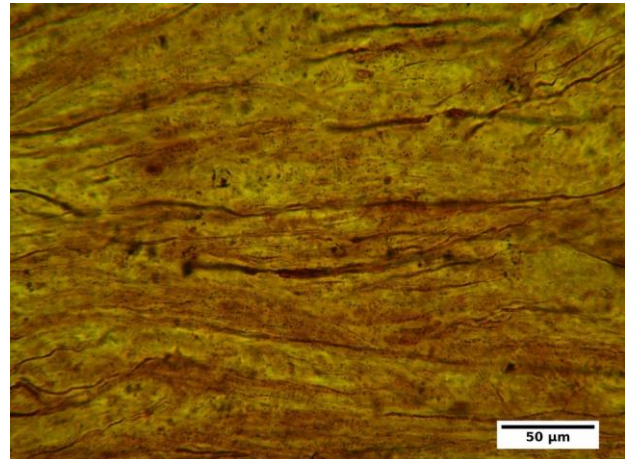


Рис.5.7. Ділянка дистального відрізка нерва. Група тварин із пластикою алогенною аортою, гелем та нитковидними кристалами кремнію. 6 тижнів після операції. Імпрегнація азотнокислим сріблом.

В ділянці вставки знаходиться помірна кількість новоутворених нервових волокон, що формують пучки та розміщуються відносно впорядковано та розподілені рівномірно. Пучки нервових волокон проходять у безпосередній близькості до ниткоподібних кристалів кремнію в центрі провідника. Також всередині вставки розміщена помірна кількість судин різного діаметру.

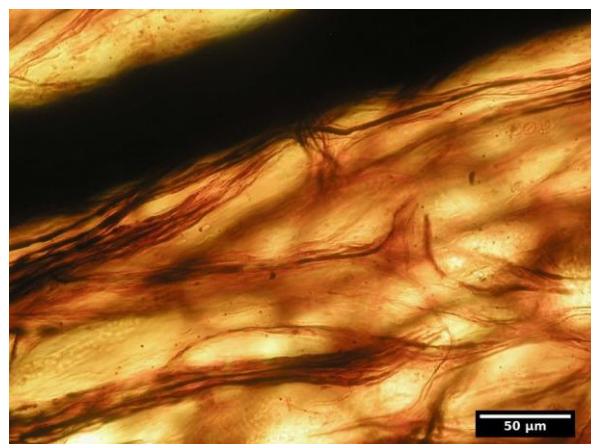


Рис.5.8. Ділянка вставки. Група тварин із пластикою аlogenною аортою, гелем та нитковидними кристалами кремнію. 12 тижнів після операції. Імпрегнація азотнокислим сріблом.

При електронномікроскопічному дослідженні сідничого нерва після виконання пластики аlogenною аортою, гелем та нитковидними кристалами кремнію на 12 тижні експерименту в ділянці вставки виявляються новоутворені нервові волокна, судини мікроциркуляторного русла та сполучна тканина.

Наявні численні повноцінні мієлінові нервові волокна (Рис.5.9., Рис.5.10.), що проявляється у будові всіх елементів. Мієлінова оболонка товста, має округлу або овальну конфігурацію, зберігає свою неперервність, ламінарну структуру. Також зустрічаються новоутворені добре мієлінізовані нервові волокна. Електронна щільність аксоплазми підвищена. Кількість нейрофіламентів та мікротрубочок значна. Більшість мітохондрій має електроннощільний матрикс.

Подекуди виявляються волокна, що мають ознаки набряку периаksonального простору (Рис.5.11).

Судини мікроциркуляторного русла виявляються в значній кількості. Ендотеліальне вистелення судин зплющене. Цитоплазма нейролемоцитів мієлінових нервових волокон середньої електронної щільності, займає простір між мієліною оболонкою і плазмалемою. Подекуди наявні шванноцити з цитоплазмою низької електронної щільності (Рис.5.12).

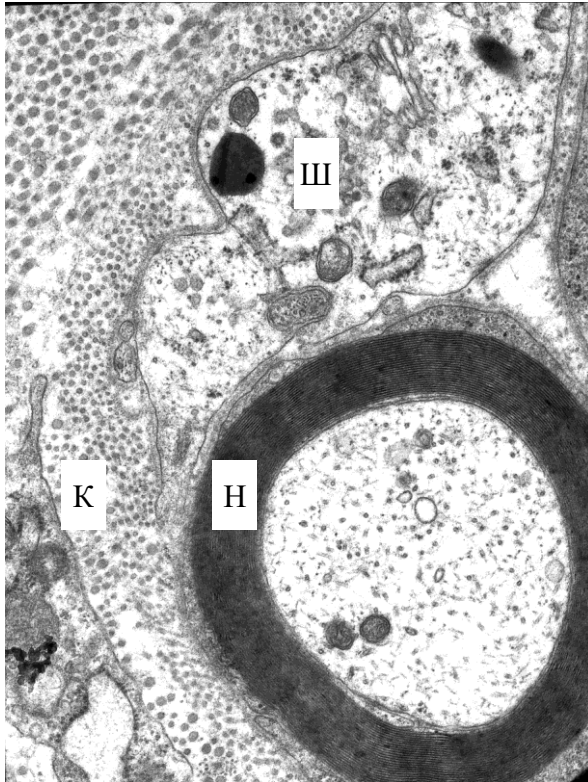


Рис.5.9. Ділянка вставки. 6.10 тижнів після операції. Новоутворені нервові волокна (Н), пучки колагенових волокон (К). Цитоплазма шванноцита (Ш) Електронномікроскопічне фото.

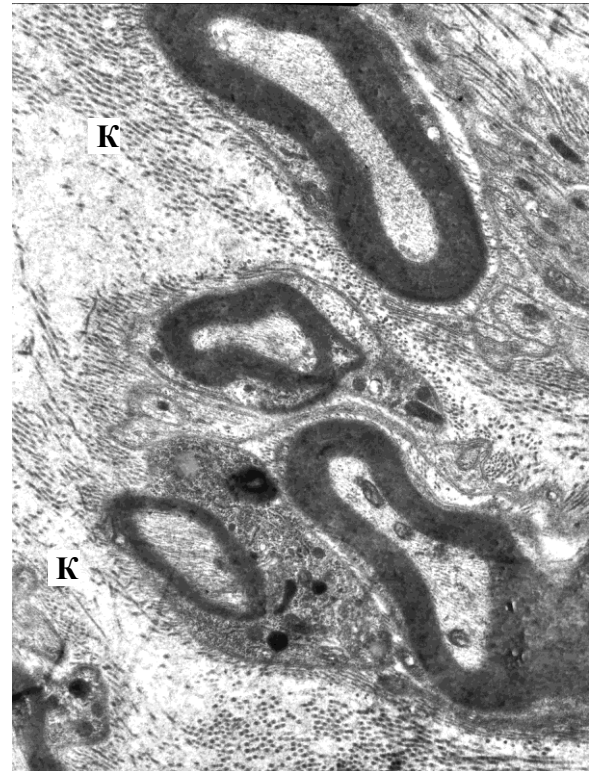


Рис.5.10. Ділянка вставки. 12 тижнів після операції. Новоутворені нервові волокна (Н), пучки колагенових волокон (К) Електронномікроскопічне фото.

Мітохондрії збільшені в розмірі, проте, мають видовжені кристи, періодично, зустрічаються із щільним матриксом. Деякі цистерни ендоплазматичної сітки розширені, контури нерівні, вільні рибосоми і полісоми поширені в цитоплазмі навколоядерної зони.

Виявляється помірна кількість зрілої сполучної тканини у вигляді пучків колагенових волокон, що розташовані рівномірно.

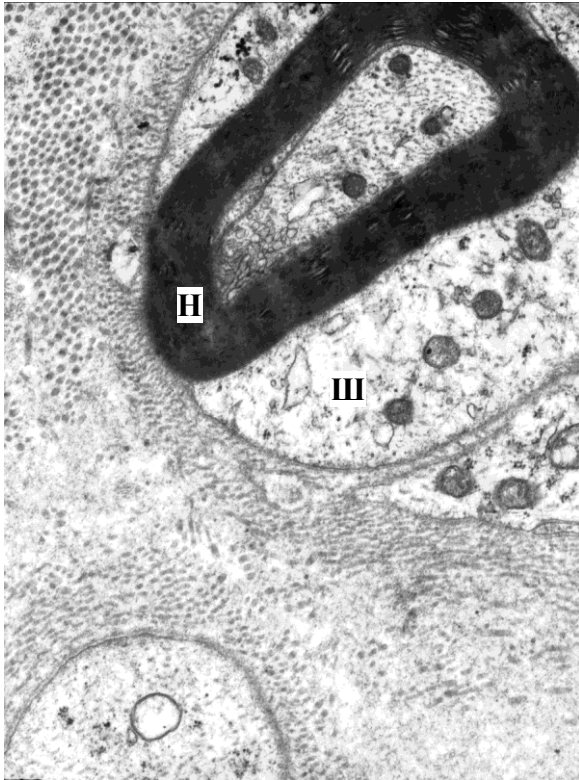


Рис.5.11. Ділянка вставки. 12 тижнів після операції. Новоутворені нервові волокна (Н), пучки колагенових волокон (К). Цитоплазма шванноцита (Ш) Електронномікроскопічне фото.

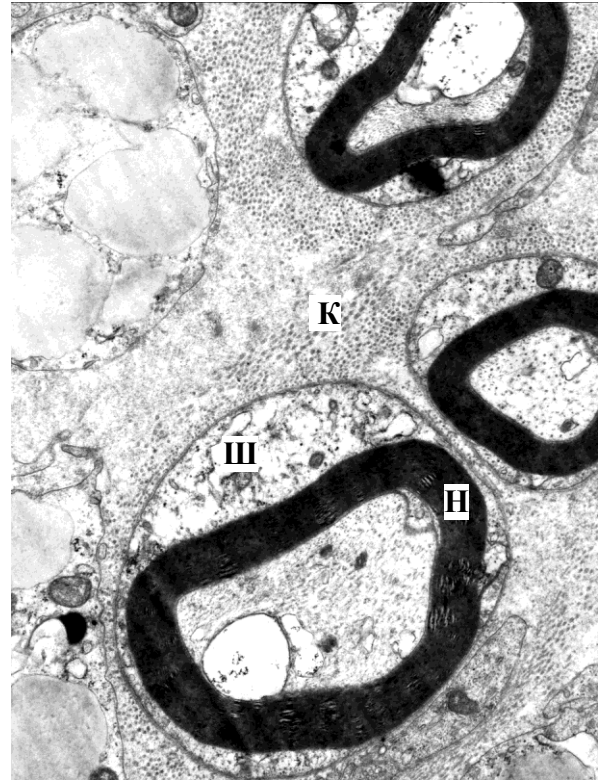


Рис.5.12. Ділянка вставки. 12 тижнів після операції. Новоутворені нервові волокна (Н), пучки колагенових волокон (К). Цитоплазма шванноцита (Ш) Електронномікроскопічне фото.

Дистальна регенераційна неврома містить пучки тонких та товстих новоутворених нервових волокон, що розміщуються відносно впорядковано та відносно рівномірно серед помірної кількості клітин та мікросудин різних діаметрів.

Дистальний відрізок нерва містить помірну кількість тонких та товстих новоутворених нервових волокон, що розміщуються впорядковано на відносно рівномірно. Також зустрічаються поодинокі судини, в деяких ділянках наявні шванноцити, що формують стрічки.



## 5.2 Результати морфометричного дослідження

За результатами морфометричного дослідження на 1 тиждні питома щільність нервових волокон в ділянці проксимальної регенераційної невроми складала  $832 \pm 206,5$   $1/\text{мм}^2$  (Mean $\pm$ SD), що було достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за аналогічний показник у псевдооперованих тварин на 91,74% або у 12,11 разів; достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за аналогічний показник у тварин II групи на 33,54%, але достовірно не відрізнявся від показника у тварин III групи ( $p = 0,6534$ ; post hoc Welch's t-test).

На 3 тиждні дослідження питома щільність нервових волокон в ділянці проксимальної регенераційної невроми складала  $4469 \pm 611,9$   $1/\text{мм}^2$  (Mean $\pm$ SD), що було достовірно  $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test менше за аналогічний показник у псевдооперованих щурів на 55,65%, достовірно ( $p = 0,0803$ ; post hoc Welch's t-test) не відрізнявся від аналогічного показника у щурів II групи і був достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) більшим за аналогічний показник у тварин III групи на 253,28% або у 3,5 рази.

На 3 тиждні експерименту в ділянці графта даний показник складав  $3776 \pm 163,9$   $1/\text{мм}^2$  (Mean $\pm$ SD), що було достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за аналогічний показник у псевдооперованих тварин на 62,53%, був достовірно ( $p = 0,0214$ ; post hoc Welch's t-test) більшим за аналогічний показник у тварин II групи на 15,65% та був достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) більшим за аналогічний показник у тварин III групи на 335,38% або у 4,35 рази.

На 6 тиждні дослідження питома щільність нервових волокон в ділянці вставки складала  $4735 \pm 382,4$   $1/\text{мм}^2$  (Mean $\pm$ SD), що було достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за аналогічний показник у псевдооперованих тварин, на 53,01%; було достовірно ( $p = 0,0002$ ; post hoc Welch's t-test) більшим за аналогічний показник у тварин II групи на 12,95% та достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) більшим за відповідний показник у тварин III групи на 213,57% або у 3,13 рази.

На 6 тижні в ділянці дистальної регенераційної невроми питома щільність нервових волокон складала  $4265 \pm 339,5$   $1/\text{мм}^2$  (Mean $\pm$ SD)  $1/\text{мм}^2$ , що було достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за аналогічний показник у псевдооперованих тварин на 57,68%, було достовірно ( $p = 0,0013$ ; post hoc Welch's t-test) більше за аналогічний показник у тварин II групи на 12,95%, та було достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) більше за аналогічний показник у тварин III групи на 335,38% або у 4,35 рази.

Через 12 тижнів після операції питома щільність нервових волокон в ділянці дистальної регенераційної невроми складала  $5082 \pm 548,0$   $1/\text{мм}^2$  (Mean $\pm$ SD), що було достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за аналогічний показник у псевдооперованих тварин на 49,57%, було достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за аналогічний показник у тварин II групи на 25,44%, було достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) більше за аналогічний показник у тварин III групи на 93,01%.

На 12 тижні дослідження в ділянці дистального відрізка нервового стовбура питома щільність нервових волокон складала  $5544 \pm 662,3$   $1/\text{мм}^2$  (Mean $\pm$ SD)  $1/\text{мм}^2$ , що було достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за аналогічний показник у псевдооперованих тварин на 44,98%, було достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) менше за аналогічний показник у тварин II групи на 26,80% та було достовірно ( $p < 0,0001$ ; post hoc Welch's t-test) більше за аналогічний показник у тварин III групи на 50,98%.

На 1 тижні в ділянці проксимальної регенераційної невроми кут відхилення нервових волокон від поздовжньої осі нервового стовбура складав  $9,871^\circ$ ; 9,070-11,39 (Median; 95% CI of Median), що було достовірно менше за аналогічний показник у тварин II групи на 26,40% та було достовірно менше за аналогічний показник у тварин III групи на 20,66%.

На 3 тижні в ділянці проксимальної регенераційної невроми кут відхилення нервових волокон від поздовжньої осі нервового стовбура складав

23,26°; 14,17-27,46 (Median; 95% CI of Median), що було достовірно більше за аналогічний показник у тварин II групи на 104,03% або у 2,04 рази та було достовірно більше за аналогічний показник у тварин III групи 29,08%. В ділянці дистальної регенераційної невроми та дистального відрізка нервові волокна не визначалися, тому морфометричне дослідження цих ділянок не проводилося.

На 6 тижні в ділянці дистальної регенераційної невроми кут відхилення нервових волокон від поздовжньої осі нервового стовбура складав 18,82°; 16,27-21,37 (Median; 95% CI of Median), що було достовірно більше за відповідний аналогічний показник у тварин II групи на 11,16% та було достовірно менше за аналогічний показник у тварин III групи на 20,25%.

На 12 тижні в ділянці дистальної регенераційної невроми кут відхилення нервових волокон від поздовжньої осі нерва складав 21,26°; 19,15-26,25 (Median; 95% CI of Median), що було достовірно менше за аналогічний показник у тварин II групи на 6,05% та достовірно менше за аналогічний показник у тварин III групи на 44,49%.

Діаметр нервових волокон складав 6,343; 5,782-6,642 мкм (Median; 95% CI of median), що було менше за відповідний показник у псевдооперованих щурів на 9,96% ( $p=0,4954$ , post hoc M-W test); було менше за відповідний показник у тварин II групи на 6,95% ( $p=0,1258$ , post hoc M-W test); було більше за відповідний показник у тварин III групи на 24,05% ( $p=0,0007$ , post hoc M-W test).

Товщина мієлінової оболонки складала 1,626; 1,387-1,823 мкм (Median; 95% CI of median), що було більше за аналогічний показник у псевдооперованих тварин на 14,75% ( $p=0,0701$ , post hoc M-W test); було менше за аналогічний показник у тварин II групи на 19,42% ( $p=0,0005$ , post hoc M-W test); було більше за аналогічний показник у тварин III групи на 26,24% ( $p=0,0003$ , post hoc M-W test).

### 5.3 Результати естезіометрії

Проведений тест вон Фрея показав, що на 1 тижні дослідження, у щурів після оперативного моделювання дефекту сідничого нерва та пластики алогенною аортою, гелем та нитковидними кристалами кремнію поріг відсмикування лапи становив більше 100; 100 г (Median; Mean).

За результатами естезіометрії через 3 тижні після тяжкої травми та пластики алогенною аортою з гелем та нитковидними кристалами кремнію зберігалися глибокі порушення чутливості шкіри стопи у щурів, що проявлялося у відсутності рефлексу відсмикування стопи у відповідь навіть на подразнення 100; 100 (Median; Mean) г.

За даними естезіометрії на 6 тижні після травми та пластики алогенною децелюляризованою аортою, гелем та нитковидними кристалами кремнію поріг виникнення рефлексу відсмикування становив 100;  $87,68 \pm 19,22$  г (Median; Mean $\pm$ SD), що було достоварно більше за аналогічний показник у псевдооперованих тварин на 608,81% або у 7,09 разів ( $p < 0,0001$ , post hoc M-W test).

За даними естезіометрії на 12 тижні після пластики алогенною аортою гелем та нитковидними кристалами кремнію були наявні ознаки неповного відновлення чутливості у тварин даної групи. Поріг виникнення рефлексу відсмикування дорівнював 26;  $31,33 \pm 15,05$  г (Median; Mean $\pm$ SD), що було достовірно більше за аналогічний показник у псевдооперованих тварин на 153,27% або у 2,53 рази ( $p < 0,0001$ , post hoc M-W test); був більше за аналогічний показник у тварин II групи на 5,17% ( $p = 0,9971$ , post hoc M-W test); був менше за аналогічний показник у тварин III групи на 46,87% ( $p < 0,0001$ , post hoc M-W test).

### 5.4. Результати функціонально-анатомічного дослідження

Проведене функціонально-анатомічне дослідження встановило, що на 1 тижні дослідження дослідження у щурів після тяжкого пошкодження

сідничого нерва та пластики аlogenною аортою, гелем та нитковидними кристалами кремнію показник індексу функції сідничого нерва (SFI) складав  $(-)84,00 \pm 6,180$  (Mean $\pm$ SD), що було достовірно менше за аналогічний показник у псевдооперованих тварин на 1250,48% або у 13,50 разів ( $p < 0,0001$ , post hoc t-test); було достовірно менше за аналогічний показник у тварин II групи на 17,05% ( $p = 0,0005$ , post hoc t-test); було достовірно більше за аналогічний показник у тварин III групи на 12,37% ( $p = 0,0131$ , post hoc t-test).

Проведене функціонально-анатомічне дослідження встановило, що на 3 тижні дослідження у щурів після важкого пошкодження сідничого нерва та пластики аlogenною аортою, гелем та нитковидними кристалами кремнію показник індексу функції сідничого нерва (SFI) складав  $(-)88,50 \pm 6,211$  (Mean $\pm$ SD), що було достовірно менше за аналогічний показник у псевдооперованих тварин на 1322,83% або у 14,23 разів ( $p < 0,0001$ , post hoc t-test); був достовірно менше за аналогічний показник у тварин II групи на 28,34% ( $p < 0,0001$ , post hoc t-test); був достовірно менше за аналогічний показник у тварин III групи на 15,20% ( $p = 0,0002$ , post hoc t-test).

За результатами проведеного функціонально-анатомічного обстеження через 6 тижнів після аутопластики показник SFI складав  $(-)50,27 \pm 3,918$  (Mean $\pm$ SD), що було достовірно менше за аналогічний показник у псевдооперованих тварин на 708,2% або у 8,08 разів ( $p < 0,0001$ , post hoc t-test); було більше за аналогічний показник у тварин II групи на 16,93% ; було більше за аналогічний показник у тварин III групи на 24,31%.

За результатами проведеного функціонально-анатомічного обстеження через 12 тижнів після пластики аlogenною аортою та гелем (Рис.5.13.) індекс функції сідничого нерва (SFI) складав  $(-)51,78 \pm 6,906$  одиниць (Mean $\pm$ SD), що було достовірно менше за аналогічний показник у псевдооперованих тварин на 732,47% або у 8,32 разів ( $p < 0,0001$ , post hoc t-test); був менше за аналогічний показник у тварин II групи на 6,32%, але достовірно статистично

не відрізнявся ( $p=0,2590$ , post hoc t-test); був достовірно більше за аналогічний показник у тварин III групи на 33,04% ( $p<0,0001$ , post hoc t-test).

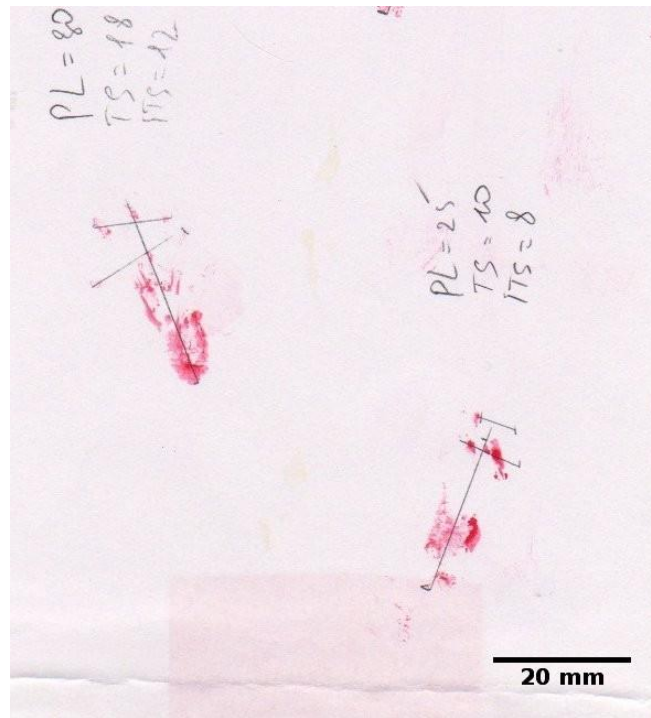


Рис.5.13. Відбитки лап щура через 12 тижнів після виконання пластики аlogenною аортою гелем та нитковидним кристалами кремнію.

### 5.5. Результати електрофізіологічного дослідження

За результатами стимуляційної голкової електронейроміографії на 12 тижні у щурів даної групи реєструвалися м-відповіді форма яких наближалася до форми сигналу у псевдооперованих щурів (Рис. 5.14), значення показника амплітуди складало 11,83; 8,890-12,280 мВ (Median; 95% CI of median), що було менше за аналогічний показник у псевдооперованих тварин на 0,85%, проте достовірно не відрізнялося ( $p=0,7381$ , post hoc M-W test); був достовірно більше за аналогічний показник у тварин II групи на 86,00% ( $p<0,0001$ , post hoc M-W test); був достовірно більше за аналогічний показник у тварин III групи на 294,99% або у 3,95 рази ( $p=0,0002$ , post hoc M-W test).

Латентність сигналу становила 2,15; 2,05-2,10 мс (Median; 95% CI of median), що було достовірно більше за аналогічний показник у псевдооперованих тварин на 110%, або у 2,1 рази ( $p < 0,0001$ , post hoc M-W test); був достовірно менше за аналогічний показник у тварин II групи на 4,54% ( $p = 0,0440$ , post hoc M-W test); був достовірно менше за аналогічний показник у тварин III групи на 74,12% ( $p < 0,0001$ , post hoc M-W test).

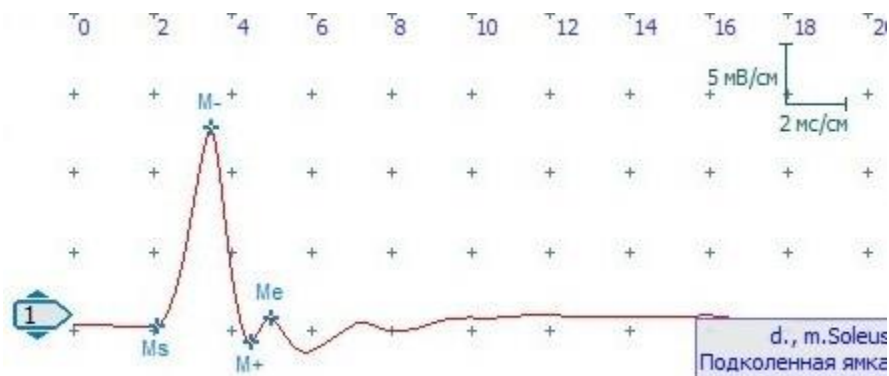


Рис.5.14. Електроміограма щура через 12 тижнів після виконання пластики аlogenною аортою, гелем та нитковидними кристалами кремнію

## Резюме до розділу 5

У тварин, після відтворення важкого пошкодження сідничого нерва та виконання пластики аlogenною децелюляризованою аортою, карбоксиметилцелюлозним гелем та нитковидними кристалами кремнію в центральному (проксимальному) відрізку нервового стовбура відзначалися ознаки подразнення, які ставали менш вираженими до 12 тижня, проте, залишалися у вигляді гіпо- та гіперімпрегнації.

В ділянці проксимального місця з'єднання нервового стовбура і графта формується проксимальна регенераційна неврома, кількість клітин в якій із часом, повільно зменшується. Також спостерігається поступове проростання кровоносних судин, відносно рівномірне розташування в невромі відносно впорядкованих нервових волокон на ранніх термінах дослідження із

поступовим проростанням більшої кількості впорядкованих нервових волокон.

В ділянці вставки відзначаються послідовна зміна морфологічної картини: наявність великої кількості клітин, вrostання новоутворених кровоносних судин, рівномірне вrostання впорядкованих новоутворених нервових волокон, що розташовувалися поблизу нитковидних кристалів кремнії, мали тісний контакт із кристалами, проходили вздовж них. Міграції кристалів чи їх зміщення або інкапсулювання виявлено не було.

В ділянці дистального місця з'єднання нервового стовбура і вставки формується дистальна регенераційна неврома, що так само, як і проксимальна регенераційна неврома на початку формування містить велику кількість клітин, кількість яких поступово зменшувалася, із подальшим вrostанням кровоносних судин, що прямують з дистального кінця нервового стовбура до просвіту вставки та рівномірним проростанням відносно впорядкованих нервових волокон.

В дистальному відрізку нервового стовбура відбувається низхідна дегенерація нервових волокон із формуванням стрічок Бюнгнера та подальшим відносно рівномірним вrostанням новоутворених нервових волокон на 12 тижні дослідження.

Кількісна оцінка показників регенерації показала поступовий ріст показника питомої кількості нервових волокон на різних ділянках периферійного нерва в критичні періоди регенерації, при чому, впорядкованість новоутворених нервових волокон в ділянці периферійної невроми більша, ніж у дистальній, без суттєвих змін в залежності від критичних періодів, що підтверджується динамікою значень показника кута відхилення нервових волокон від поздовжньої осі нерва. На 12 тижні дистальний відрізок нерва містить новоутворені волокна великого та середнього із мієліновою оболонкою середньої товщини.



Проведений тест вон Фрея свідчить про наявність позитивної динаміки та поступове відновлення показника порогу тактильної і больової чутливості на 12 тижні після моделювання (Рис. 5.15).

Функціонально-анатомічне обстеження свідчить про поступовий ріст показника SFI та неповним відновленням рухової функції сідничого нерва на 12 тижні дослідження (Рис. 5.16).

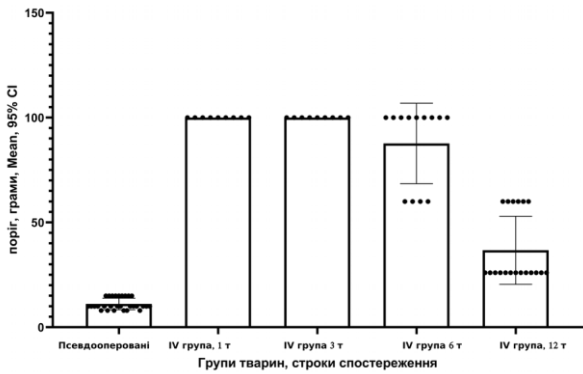


Рис. 5.15. Результати обстеження щурів методом естезіометрії.

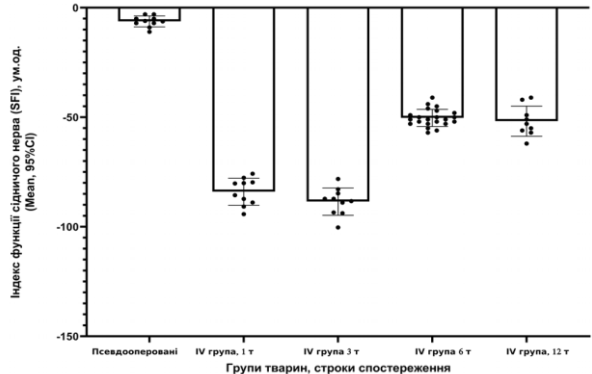


Рис. 5.16. Результати функціонально-анатомічного обстеження щурів

Електрофізіологічне дослідження на 12 тижні показало відновлення форми м-комплексів із неповним відновленням показників латентності та амплітуди.

## РОЗДІЛ 6. АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

За даними систематичного огляду публікацій періоду 1950-2010 років, присвячених регенерації нерва за умов формування дефекту нерва та його протезування [3] було встановлено, що модель травми сідничого нерва щура була найбільш часто вживаною для дослідження імплантатів, при чому відстань між кінцями нервового стовбура (nerve gap) складала від 1 до 50 мм, але найбільш часто використовувалася модель із відстанню 10 мм, що свідчить про використання загальноприйнятої моделі травми.

За даними іншого систематичного огляду публікацій періоду 2000-2018 років присвячених регенерації нерва за умов його повного пересічення та відновлення цілісності, також найбільш часто використовувалися щури (39 з 49 досліджень), при чому, модель травми сідничого нерва використовувалася найбільш часто (30 з 39 досліджень). Серед усіх статей більшість дослідників фокусується на вивченні регенерації на ранніх та середніх термінах: в термін 1-4 тижні - 28 з 89 публікацій, 5-8 тижнів — 18 з 89 публікацій, 9-12 тижнів - 20 з 89 публікацій. Найбільш часто вживаними методами оцінки якості регенерації було проведення гістологічного дослідження (43 з 49 публікацій), електрофізіологічного дослідження (24 з 49 публікацій) та поведінкові функціональні дослідження (22 з 49 публікацій) [95]. Саме тому, обрані в даному дослідженні методи є загальноприйнятими і варто вважати відповідними до поставлених задач.

Виявлені морфологічні зміни у проксимальному відрізку травмованого периферійного нерва як у тварин після виконання аутопластики, так і в групах із виконанням пластики аортою з гелем, виконанням пластики аортою, гелем, нитковидними кристалами кремнію у вигляді ретроградної дегенерації, набряку є типовими та описані в класичних роботах з нейрогістології і вважається первинною реакцією нервових волокон

на пошкодження [3, 29, 75, 84, 85, 87]. У подібній роботі, присвяченій регенерації нерва через коротку трубчасту вставку, показано присутність набряку проксимального кінця травмованого нерва та ділянки вставки на 7 добу після операції із регресом набряку на 28 добу після операції [43]

Наявна динаміка таких змін, що проявляється поступовим регресом набряку і появою ознак подразнення також є типовою, що може бути розцінено як залишкові явища після перенесеної травми як у псевдооперованих тварин так в ділянці проксимального відрізка нерва у тварин усіх експериментальних груп.

Вказані морфологічні зміни вкладаються у типову патоморфологічну картину послідовної зміни стадій запалення — пошкодження (альтерація), набряк (фаза ексудації), фаза проліферації, фаза неповного відновлення [61, 99].

Навіть у випадку такої травми нервового стовбура як повний перетин із нейрорафією для успішної регенерації периферійного нерва критичними є процеси що відбуваються в проксимальній регенераційній невромі на ранніх етапах, саме тому термін 1 та 3 тижні після пошкодження вважається найбільш показовим для оцінки успішності відновлення нерва [105].

Результати проведених досліджень на 1 тиждень свідчать про наявність відмінностей між тваринами різних груп у перебігу процесів регенерації: виявлені морфологічні зміни в проксимальній регенераційній невромі у тварин II групи (аутопластика) свідчать про розвиток вираженого набряку та ретроградної дегенерації, зміни у тварин III групи (аорта+гель) та тварин IV групи (аорта+гель+кристали кремнію) характерні як для помірного набряку, ретроградної дегенерації так і для початку клітинної фази регенерації [46, 98].

Встановлена у даному дослідженні морфологічна картина ранніх змін в проксимальній регенераційній невромі в групах III та IV відповідає класичним уявленням про регенерацію нерва через трубчасті вставки: в роботі Williams та співавт., 1983 [85] вказано на формування фібринового

матриксу та міграцію значної кількості фібробластів та шванноцитів в просвіт кондуїта поблизу проксимального та дистального кінців нерва наприкінці 1 тижня після операції, при чому, наголошується на наявності змінених еритроцитів та відсутності ендотеліальних клітин. Також всередині кондуїта визначається мала кількість тонких нервових волокон. [109].

Затримка у переході від матричної (фібринової) фази, під час якої формується екстрацелюлярний матрикс, до клітинної фази регенерації, де відбувається міграція клітин в породнину імплантата, в класичній роботі сягає 7 діб і пов'язується із часом, необхідним клітинам для реакції на ушкодження [97]. Водночас із цим, наголошується, що формування позаклітинного матриксу є обов'язковою передумовою початку клітинної фази.

Інший огляд ряду досліджень показав, що застосування фібринових гелів у якості наповнювачів імплантів має переваги за рахунок збільшення кількості мігруючих клітин наприкінці 1 тижня дослідження, водночас із цим найбільш обнадійливим, з точки зору стимуляції рівномірної і спрямованої міграції клітин є розміщення в просвіті імплантата впорядкованих поздовжньо-орієнтованих вставок-філлерів (колаген III типу, хітозан, полілактид) [17].

Виявлена на 1 тижні дослідження затримка дегенерації в ділянці вставки у щурів II групи пояснюється затримкою проростання кровоносних судин в данну ділянку, що також було показано в роботі Pei-xun Zhang, 2015 та ін, де показане зростання кількості нових судин в ділянці вставки лише на 28 тижні після операції [43].

Виявлені на 3 тижні зміни в ділянці проксимальної регенераційної невроми полягали у відносно неупорядкованому розташуванні новоутворених нервових волокон у тварин усіх груп, проте тварини II групи мали нерівномірне розташування новоутворених нервових волокон із наявними широкими безсудинними зонами сполучної тканини, що є предиктором нерівномірної невротизації ділянки графта в подальшому. Тварини III групи мали найменш впорядковане розташування нервових волокон, що може бути

пояснене відхиленням нервових волокон внаслідок присутності значної кількості клітин і також є предиктором нерівномірної та неповної невротизації ділянки графта.

Так, в оглядовій роботі D. Grinsell (2014) показано необхідність для успішної регенерації не лише вдалого проходження матричної фази і наявності шванноцитів регенеруючого фенотипу, але і кровоносних судин [26].

Виявлені зміни на 3 тижні в ділянці графта свідчать про затримку дегенерації та, відповідно затримку проростання новоутворених нервових волокон у тварин II групи (аутопластика), із найбільшою вірогідністю, внаслідок браку кровопостачання через недостатню кількість врослих судин. В той же час, на цьому терміні дослідження у тварин III групи в ділянці графта відзначається присутність великої кількості клітин та новоутворених кровоносних судин різних калібрів, що відповідає клітинній фазі регенерації.

В дослідженні Williams та співавт., 1983, також відзначається, що наприкінці 3 тижня клітини та кровоносні судини виявляються всередині вставки на всьому протязі імплантата. [97].

Наявність у тварин II групи в ділянці вставки овоїдів дегенерації пояснюється затримкою міграції ендотеліоцитів і затримкою формування гемомікроциркуляторного русла до 3 тижня.

Виявлені зміни у тварин IV групи можуть свідчити про швидку, прискорену зміну фаз регенерації із появою новоутворених нервових волокон в просвіті кондуїта поблизу нитковидних кристалів кремнію [46, 97].

Для успішної регенерації периферійного нерва критичними є процеси що відбуваються в ділянці графта у відділеному періоді, саме тому термін 6 тижнів після пошкодження вважається показовим для оцінки успішності відновлення нерва на цій ділянці [105].

На даному терміні дослідження в ділянці вставки щури II та IV груп мали велику кількість новоутворених нервових волокон, у тварин II групи

волокна розміщувалися відносно нерівномірно, також це характерно і для тварин III групи, де волокна розміщувалися нерівномірно і невпорядковано (Рис. 6.1, Рис 6.2).

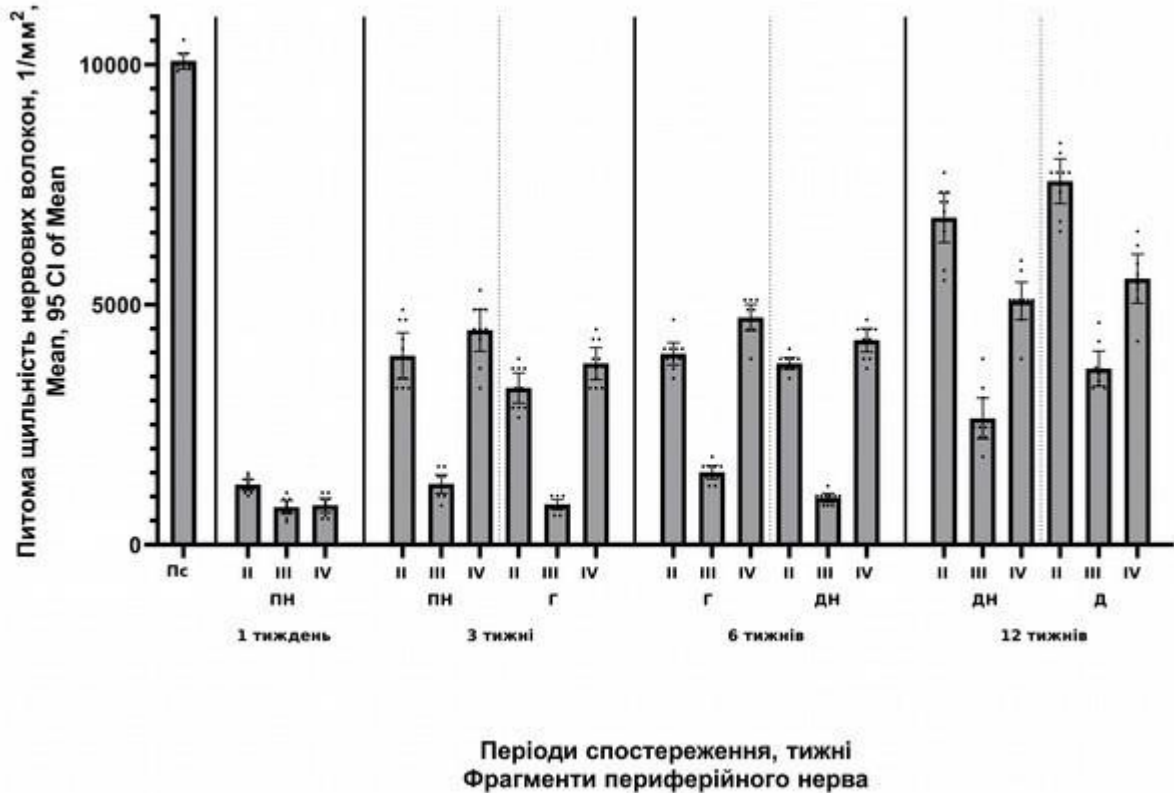


Рис .6.1. Порівняння показника питомої кількості нервових волокон в різних ділянках сідничого нерва у щурів експериментальних груп. Пс — псевдооперовані тварини, ПН — периферійна неврома, Г — графт (вставка), ДН — дистальна неврома, Д — дистальний відрізок нервового стовбура.

За даними інших дослідників, найбільш вірогідною причиною описаних явищ є затримка дегенерації, і відповідно проростання новоутворених волокон внаслідок браку кровопостачання у тварин II групи та незрілість, затримка формування мікрооточення та порушення проходження клітинної фази регенерації, і як наслідок нерівномірність проходження аксональної фази регенерації [46, 98].

Однією з кінцевих точок в оцінці регенерації вважаються успішна реіннервація дистального відрізка травмованого периферійного нерва. При

чому, критеріями успішності є не лише кількість нервових волокон, а і їх якість. У період від 12 тижня і пізніше, кількісні та якісні параметри регенерації змінюються незначно, саме тому, 12 тиждень після травми вважається критичним для оцінки кінцевих результатів регенерації [105].

Дані проведеного морфометричного дослідження дистального відрізка на цьому терміні дослідження травмованого нерва свідчать про практично однакову кількість нервових волокон у тварин II та IV групи, значно більшу ніж у тварин III групи, проте щури IV групи мають найбільш повноцінні нервові волокна, що підтверджується даними проведених морфометричних досліджень (Таблиця 6.1).

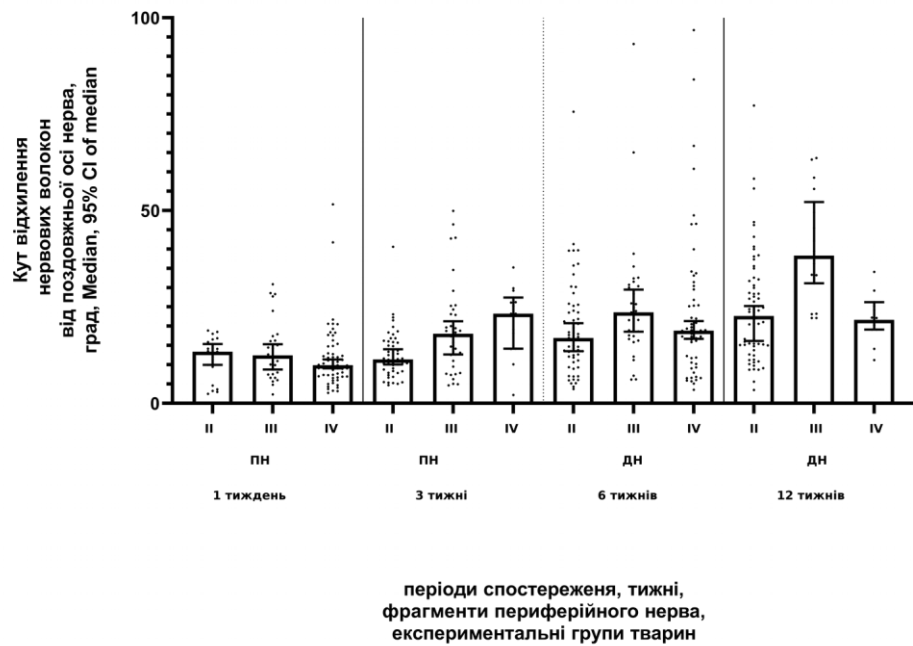


Рис.6.2. Порівняння показника кута відхилення нервових волокон від поздовжньої осі нерва в різних ділянках сідничого нерва у щурів експериментальних груп. ПН — периферійна неврома, ДН — дистальна неврома.

Таблиця 6.1

Питома кількість нервових волокон в ділянках травмованого периферійного нерва в критичні періоди регенерації. Дані представлені у вигляді Mean±SD

Групи та строки	I група (псевдо-оперовані)	II група (ауто-пластика)				III група (Пластика аорта+гель)				IV група (пластика аорта+гель+кристали кремнію)			
		ПН	Г	ДН	Д	ПН	Г	ДН	Д	ПН	Г	ДН	Д
1 тиждень	10077 ± 211,9	1252 ± 161,0	-	-	-	782,3 ± 193,1	-	-	-	832,1 ± 206,5	-	-	-
3 тижні		3939 ± 666,9	3265 ± 440,9	-	-	1265 ± 268,7	836,7 ± 150,6	-	-	4469 ± 611,9	3776 ± 163,9	-	-
6 тижні		-	3980 ± 322,7	3776 ± 173,4	-	-	1510 ± 197,2	979,6 ± 129,1	-	-	4735 ± 382,4	4265 ± 339,5	-
12 тижнів		-	-	6816 ± 721,2	7574 ± 607,3	-	-	2633 ± 596,6	3672 ± 470,9	-	-	5082 ± 548,0	5544 ± 662,3

В аналогічних дослідженнях інших авторів, присвячених тяжкому пошкодженню нервових стовбурів (повний перетин або повний перетин з формуванням дефекту) показаний поступовий ріст кількості нервових волокон в дистальному відрізку нерва до 12 тижня [26, 93, 73].

Дослідження інших авторів показують, що велика кількість новоутворених нервових волокон, так само, як було виявлено у тварин II групи може бути наслідком надлишкового спраутингу, при чому звертається увага на важливість для кращих функціональних результатів не лише великої кількості волокон, що проросли крізь місце травми, а і на їх якісні характеристики — діаметр та товщину мієлінової оболонки [59].

Статистична обробка отриманих результатів морфометричного дослідження показала, що найбільші кути відхилення (найбільш хаотичне розташування) новоутворених нервових волокон відзначалися у проксимальній та дистальній невромах у тварин III групи на усіх термінах дослідження. Водночас, через 6 та 12 тижнів після операції кут відхилення нервових волокон в дистальній регенераційній невромі у тварин IV групи був



співставний із значенням даного показника у тварин II групи (Таблиця 6.2), .

Таблиця 6.2

Кут відхилення нервових волокон від поздовжньої осі нерва в ділянках травмованого периферійного нерва в критичні періоди регенерації. Дані представлені у вигляді Median; 95% CI of Median

Групи та строки	II група (ауто-пластика)		III група (Пластика аорта+гель)		IV група (пластика аорта+гель+кристали кремнію)	
	ПН	ДН	ПН	ДН	ПН	ДН
1 тиждень	13,41; 9,978-15,39	-	12,44; 8,779-15,36	-	9,871; 9,070-11,39	-
3 тижні	11,40; 10,06-14,04	-	18,02; 12,69-21,34	-	23,26; 14,17-27,46	-
6 тижні	-	16,93; 13,56-20,82	-	23,60; 18,59-29,49	-	18,82; 16,72-21,37
12 тижнів	-	22,63; 16,21-25,27	-	38,30; 31,15-52,25	-	21,26; 19,15-26,25

Статистична обробка отриманих морфометричних даних показала, що новоутворені нервові волокна в дистальному відрізку нервового стовбура у щурів III групи мають найменший діаметр та найменшу товщину мієлінової оболонки (Рис. 6.3) порівняно із тваринами II та IV експериментальних груп.

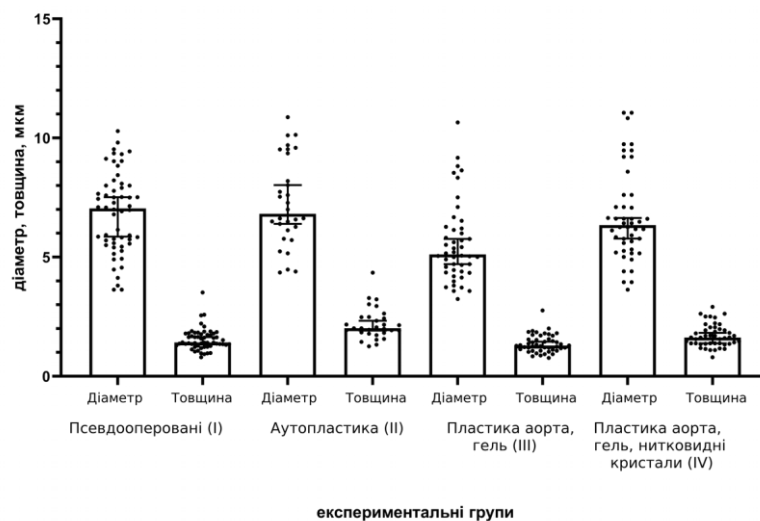


Рис.6.3. Порівняння показників діаметру нервових волокон та товщини мієлінової оболонки в ділянці дистального відрізка нерва через 12 тижнів після травми у щурів різних експериментальних груп.

Отримані дані (Таблиця 6.3) свідчать про низьку якість нервових волокон у щурів III групи та, можливо, може пояснюватися затримкою їх регенерації внаслідок недостатності підтримувального мікрооточення всередині вставки. Діаметр та товщина мієлінової оболонки у тварин IV групи наближається до такого у тварин II групи, що свідчить про співставні результати, оскільки якісні параметри регенерації у тварин IV є не гіршими, ніж у тварин II групи.

Таблиця 6.3

Діаметр та товщина мієлінової оболонки нервових волокон в дистальному відрізку травмованого периферійного нерва на 12 тижні після оперативного втручання. Дані представлені у вигляді Median; 95% CI of Median

Групи та параметри	I група (псевдооперовані)	II група (ауто-пластика)	III група (Пластика аорта+гель)	IV група (пластика аорта+гель+кристали кремнію)	Статистичні тести	
Діаметр, мкм	7,045; 5,864-7,519	6,817; 6,397-8,022	5,113; 4,711-5,764	6,343; 5,782-6,642	P<0,0001	K-W тест
		P=0,3331	P<0,0001	P=0,4954	M-W тест у порівнянні із псевдооперованими (I)	
		-	P<0,0001	P=0,1258	M-W тест у порівнянні з аутопластикою (II)	
		-	-	P=0,0007	M-W тест у порівнянні з пластикою аортою, гелем (III)	
Товщина мієлінової оболонки, мкм	1,417; 1,363-1,643	2,018; 1,920-2,331	1,288; 1,209-1,452	1,626; 1,387-1,823	P<0,0001	K-W тест
		P<0,0001	P<0,0001	P=0,0701	M-W тест у порівнянні із псевдооперованими (I)	
		-	P<0,0001	P=0,0005	M-W тест у порівнянні з аутопластикою (II)	
		-	-	P=0,0003	M-W тест у порівнянні з пластикою аортою, гелем (III)	

При чому, загальновідомим є факт, що новоутворені нервові волокна в дистальному відрізку нервового стовбура за своїми якісними характеристиками (діаметр, товщина мієлінової оболонки) менш повноцінними, ніж попередньо існуючі нервові волокна в проксимальному відрізку нервового стовбура [73].

Різне зниження функції сідничого нерва (Таблиця 6.4), як це видно із зниження показника SFI в термінах 1 та 3 тижні є безпосереднім наслідком пересічення нервових волокон у складі нервового стовбура, обумовлене тяжкою травмою. З 6 до 12 тижня у тварин усіх груп спостерігалось неповне відновлення руху кінцівки, як це видно із росту показника індексу функції сідничого нерва, проте відновлення у тварин усіх груп було неповним. Водночас із цим, звартає на себе увагу наближення індексу тварин IV групи до значення у тварин II групи на 12 тижні дослідження (Рис.6.4).

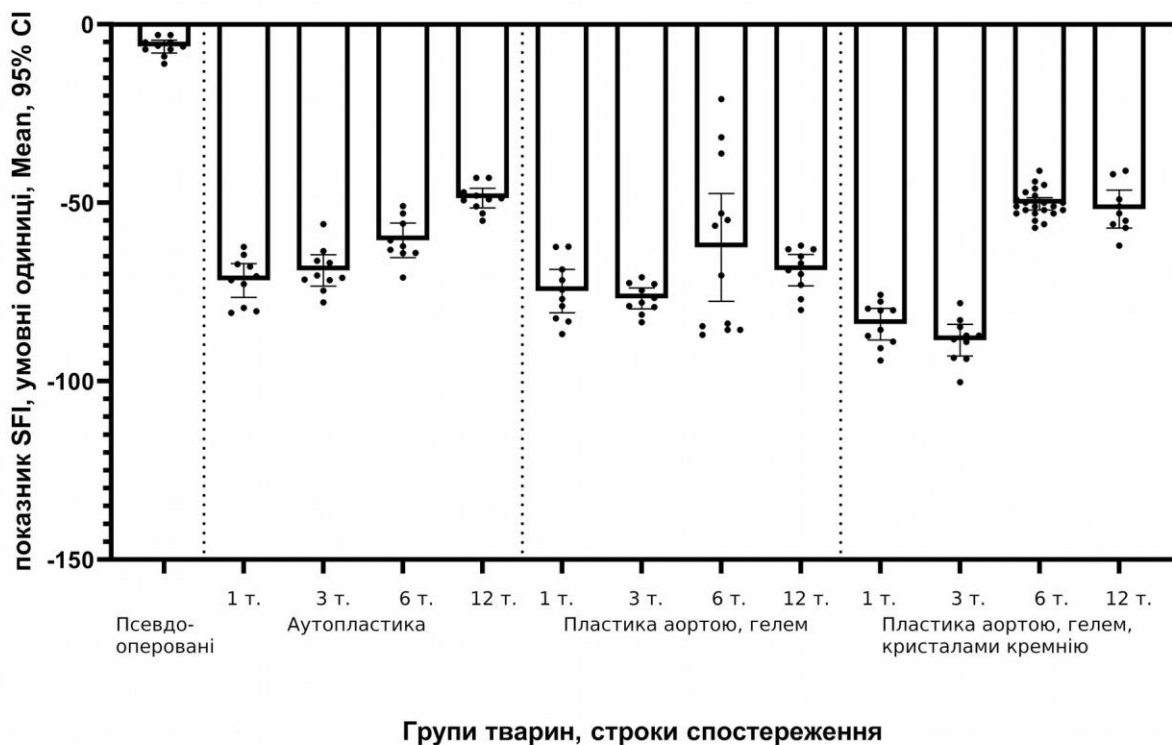


Рис.6.4. Порівняння показника SFI у щурів різних експериментальних груп. Пояснення в тексті.

Таблиця 6.4

Дані функціонально-анатомічного обстеження щурів методом аналізу відбитків, отриманих при ході із визначенням SFI. Дані представлені у вигляді Mean±SD.

Групи та строки	I група (псевдооперовані)	II група (аутопластика)	III група (Пластика аорта+гель)	IV група (пластика аорта+гель+кристали кремнію)	Статистичні критерії порівняння	
1 тиждень	-6,222±2,485	-71,76±6,641	-74,75±8,518	-84,00±6,180	P=0,0022	ANOVA, між групами
		P<0,0001	P<0,0001	P<0,0001	t-test порівняно із псевдооперованими	
		-	P=0,3941	P=0,0005	t-test порівняно із аутопластикою	
		-	-	P=0,0131	t-test порівняно із пластикою аорта+гель	
3 тижні	-68,96±6,160	-76,82±4,115	-88,50±6,211		P<0,0001	ANOVA, між групами
		P<0,0001	P<0,0001	P<0,0001	t-test порівняно із псевдооперованими	
		-	P=0,0041	P<0,0001	t-test порівняно із аутопластикою	
		-	-	P=0,0002	t-test порівняно із пластикою аорта+гель	
		P=0,4359	n/a	P=0,2176	M-W test порівняно із попереднім терміном	
6 тижні	-60,52±6,273	-62,49±23,79	-50,27±3,918		P=0,0761	ANOVA, між групами
		P<0,0001	P<0,0001	P<0,0001	t-test порівняно із псевдооперованими	
		-	n/a	n/a	t-test порівняно із аутопластикою	
		-	-	n/a	t-test порівняно із пластикою аорта+гель	
		P=0,0057	n/a	P<0,0001	M-W test порівняно із попереднім терміном	
12 тижнів	-48,70±3,833	-68,89±6,172	-51,78±6,906		P<0,0001	ANOVA, між групами
		P<0,0001	P<0,0001	P<0,0001	t-test порівняно із псевдооперованими	
		-	P<0,0001	P=0,2590	t-test порівняно із аутопластикою	
		-	-	P<0,0001	t-test порівняно із пластикою аорта+гель	
		P=0,0004	n/a	P=0,3601	M-W test порівняно із попереднім терміном	
		P<0,0001	P=0,2588	P<0,0001	K-W test, між термінами	

У аналогічних роботах, присвячених регенерації нерва через місце вставки із заміщенням протяжного дефекту нервового стовбура також показане зростання індексу функції сідничного нерва від 6 до 12 тижня з формуванням “плато” росту на віддалених термінах, проте відновлення навіть на 12 тижні було неповним [23, 52].

Аналіз даних тесту вон Фрея (Рис.6.5) свідчить про повну відсутність чутливості прооперованої кінцівки на 1 та 3 тижнях дослідження у тварин усіх експериментальних груп та відновлення чутливої функції сідничного нерва з 6 по 12 тиждень. При чому найгірші результати відновлення чутливості спостерігалися у тварин III групи. Натомість у тварин II та IV груп результати були співставно кращі, при чому, результат тварин IV групи не відрізнявся від такого у тварин II групи (Таблиця 6.5).



Рис.6.5. Порівняння порогу виникнення рефлексу відсмикування кінцівки у щурів різних експериментальних груп. Пояснення в тексті.

Дані функціонального обстеження щурів методом естезіометрії філаментами Вон Фрея із визначенням порогу больової чутливості. Дані представлені у вигляді Median, Mean $\pm$ SD.

Групи та строки	I група (псевдооперовані)	II група (аутопластика)	III група (Пластика аорта+гель)	IV група (пластика аорта+гель+кристали кремнію)	Статистичні критерії порівняння	
1 тиждень	15; 12,37 $\pm$ 2,981	100; 100	100; 100	100; 100	P=0,0022	ANOVA, між групами
3 тижні		100; 100	100; 100	100; 100	P<0,0001	ANOVA, між групами
6 тижні		60; 76,40 $\pm$ 24,38	100; 82,86 $\pm$ 20,54	100; 87,68 $\pm$ 19,22	P=0,4276	K-W, між групами
		P<0,0001	P<0,0001	P<0,0001	M-W test порівняно із псевдооперованими	
		P=0,0185	P=0,0481	P=0,1150	M-W test порівняно із попереднім терміном	
12 тижнів		26; 29,79 $\pm$ 11,88	60; 58,97 $\pm$ 21,12	26; 31,33 $\pm$ 15,05	P<0,0001	K-W test, між групами
	P<0,0001	P<0,0001	P<0,0001	M-W test порівняно із псевдооперованими		
	-	P<0,0001	P=0,9971	M-W test порівняно із аутопластикою		
	-	-	P<0,0001	M-W test порівняно із пластиком аорта+гель		
	P<0,0001	P=0,0015	P<0,0001	M-W test порівняно із попереднім терміном		
		P<0,0001	P<0,0001	P<0,0001	K-W test, між термінами	

Процеси регенерації у щурів IV групи є більш повноцінними, що також підтверджується даними не тільки естезіометричного, функціонального але і електрофізіологічного дослідження (Таблиця 6.6) Щури IV цієї групи мали м-комплекси середньої амплітуди також низькою залишалась латентність виникнення сигналів (Рис. 6.6, Рис. 6.7), що свідчить як про високу кількість волокон так і про їх високу якість. Щури II групи мали м-комплекси із зниженою амплітудою, відносно прийнятною латентністю, що свідчить про проростання великої кількості малих за діаметром нервових волокон, натомість щури із III групи мали знижену

амплітуду та тривалу латентність виникнення сигналів, що свідчить про проростання малої кількості тонких та неповноцінних волокон, недостатньо мієлінізованих нервових волокон [34, 46].

Таблиця 6.6

Дані електрофізіологічного обстеження щурів, 12 тиждень після операції.  
Дані представлені у вигляді Median; 95% CI of Median

Групи та параметри	I група (псевдооперовані)	II група (аутопластика)	III група (Пластика аорта+гель)	IV група (пластика аорта+гель+кристали кремнію)	Статистичні критерії порівняння	
Амплітуда М-відповіді, мВ	11,73; 9,580- 12,670	6,360; 2,350-8,060	2,995; 1,890-4,120	11,83; 8,890- 12,280	P<0,0001	K-W test
		P<0,0001	P<0,0001	P=0,7381	M-W test порівняно із псевдооперованими	
		-	P=0,0640	P<0,0001	M-W test порівняно із аутопластикою	
		-	-	P<0,0001	M-W test порівняно із пластикою аорта+гель	
Латентність, мс	1,0; 1,0-1,3	2,20; 2,100- 2,200	11,98; 11,20-12,35	2,100; 2,050-2,100	P<0,0001	K-W test
		P<0,0001	P<0,0001	P<0,0001	M-W test порівняно із псевдооперованими	
		-	P<0,0001	P=0,0440	M-W test порівняно із аутопластикою	
		-	-	P<0,0001	M-W test порівняно із пластикою аорта+гель	

При чому, зазвичай, результати функціонально-анатомічних методів дослідження добре корелюють з результатами морфометричних та електрофізіологічних показників відновлення нерва [77].

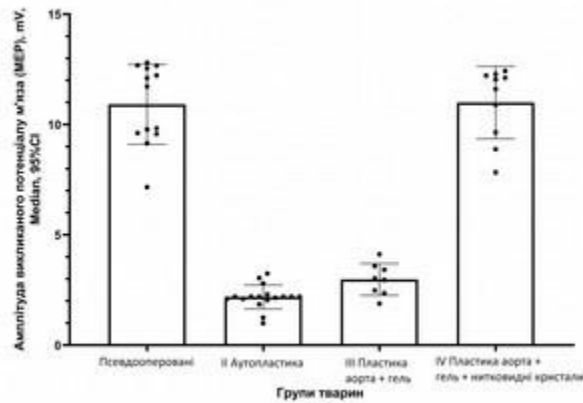


Рис.6.6. Порівняння амплітуди М-відповідей на 12 тижні дослідження у щурів різних експериментальних груп. Пояснення в тексті.

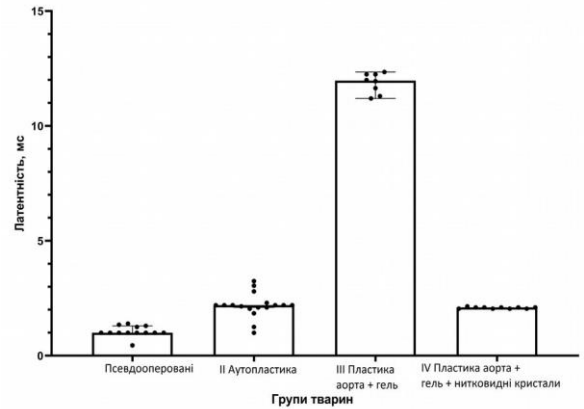


Рис.6.7. Порівняння латентності виникнення М-відповіді у щурів різних експериментальних груп. Пояснення в тексті.

Близьке розташування новоутворених нервових волокон до нитковидних кристалів кремнію та механізм формування тісного зв'язку між даними структурами у тварин IV групи пояснюється концепцією, згідно до якої, леговані бором кристали кремнію є кристалами р-типу, із “дирковим” типом провідності та дефіцитом електронів, і відповідно позитивним зарядом в речовині кристала [103].

У даному дослідженні були використані кристали кремнію р-типу (акцепторний тип), що обумовлено включенням до складу кристалічного кремнію атомів бору. Розташування атомів трьохвалентного бору в структурі кристалічної ґратки чотирьохвалентного кремнію обумовлює брак електронів в об'ємі кристала, що лежить в основі “дірчастого” типу провідності і зумовлює присутність позитивного заряду в об'ємі кристала.

У вакуумі за відсутності зовнішнього поля, що прикладене до поверхні напівпровідника, напівпровідник в цілому має бути електронейтральним. Отже, заряд на поверхневому стані має бути зкомпенсованим рівним по величині та протилежним за знаком зарядом в об'ємі напівпровідника. В силу умови електронейтральності об'ємний заряд очевидно має бути



локалізований безпосередньо в приповерхневій ділянці напівпровідника. Співіснування негативного заряду на поверхні та позитивного заряду об'єму в розділеному стані забезпечує наявність енергетичного бар'єру, що перешкоджає їх зміщенню. Таким чином, на поверхні напівпровідника зазвичай присутній дипольний шар, що складається із заряду на поверхневих станах та заряду в об'ємі, що його врівноважує. Щільність розташування таких поверхневих станів наближається до щільності розташування атомів на поверхні ( $\sim 10^{14} \text{ см}^{-2}$ ).

Вже через декілька годин після хімічної очистки кристалів за допомогою фтористоводневої кислоти, під дією кисню та вологи в атмосферному повітрі, на їх поверхні з'являється плівка тонкого окислу, що складається з різних окислів кремнію ( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{SiO}$ ,  $\text{Si}_2\text{O}_3$ ,  $\text{SiO}_2$ ) [40]. Шар окислу, що утворюється є аморфним і не має регулярної кристалічної структури, при чому товщина такого шару за даними інших дослідників  $2,5 \pm 0,5$  нм, із товщиною поверхневого шару  $\text{SiO}_2$ , що не перевищує 30 Å. [24].

За рахунок присутності у складі окислу атомів кремнію із різними ступенями окислення і наявності атомів кисню, які є більш електронегативними сам шар окислу заряджається негативно і при переміщенні з атмосферного повітря до внутрішнього середовища живого організму взаємодіє із диполями води у міжклітинній рідині, притягуючи їх, що надає поверхні окислу кристалу негативного заряду.

В той же час, загальновідомим є факт, що згідно до рідинно-мозаїчної моделі клітинної мембрани сама мембрана складається із подвійного шару фосфоліпідів, що мають полярну частину - "головку" і неполярну частину - "хвіст".

Полярна головка фосфоліпідів має хімічні групи, що заряджені позитивно, звернені назовні і також взаємодіють із диполями води у складі міжклітинної рідини. Таким чином, найбільш вірогідним поясненням тісного контакту між кристалами кремнію та нервовими волокнами є взаємодія між

шаром окислу із надлишком електронів та позитивно зарядженою зовнішньою стороною клітинної мембрани через утворення водневих зв'язків в присутності диполів води. Така взаємодія, вірогідно, має електростатичну природу (Рис. 6.8).

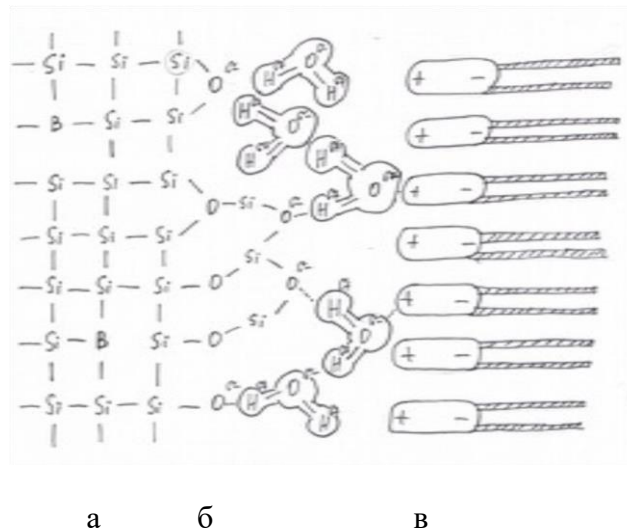


Рис. 6.8. Схематичне пояснення можливої взаємодії напівпровідникового кристалу кремнію (а), із окислом на поверхні (б) та зовнішнього боку клітинної мембрани (в)

З метою перевірки даного припущення, колегами по науковій групі було проведено попередні дослідження із використанням біосенсору, (SiNW-FET, Silicon Nano Wires — Field Effective Transistor). Дія такого сенсора заснований на принципі дії польового транзистора: між двох провідників-електродів розміщується площадка-підложка, виготовлена з напівпровідникового кремнію з шаром природнього окислу на поверхні. Присутність матеріалу, що здатний електростатично взаємодіяти із окислом на напівпровідниковій площадці змінює її вольт-амперну характеристику ( $I_{dc}(V_{bg})$ ), що може бути зареєстровано [42].

В проведеній серії дослідів використовували біосенсор, підложка якого була виготовлена із кремнію, легованого бором із природнім окислом на поверхні. За умовами експерименту було виміряно вольт-амперну характеристику кристалу кремнію за умов дії на сенсор кімнатного повітря, штучної спинномозкової рідини (ACSF) та розміщення на підложці нейрона в

штучній спинномозковій рідині.

Вольт амперна характеристика окислу на поверхні сенсора при дії атмосферного повітря представлена на Рис.6.9 “1”. Додавання на поверхню сенсора ACSF зсуває вольт-амперну характеристику системи в бік більшої напруги  $V_{bg}$  (Рис.6.9 “2”), що свідчить про появу негативного заряду на поверхні. Наступне додавання нейрона на поверхню сенсора (Рис. 6.10) зміщує вольт-амперну характеристику системи в протилежний бік (Рис.6.9 “3”), що вказує на додавання позитивного заряду, і свідчить на користь ймовірної електростатичної взаємодії між окислом на поверхні кристала кремнію та клітинною мембраною.

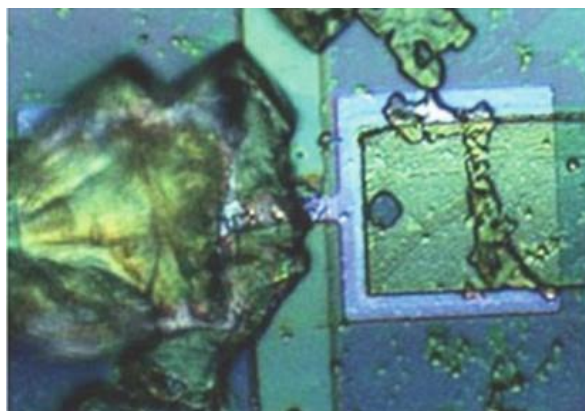
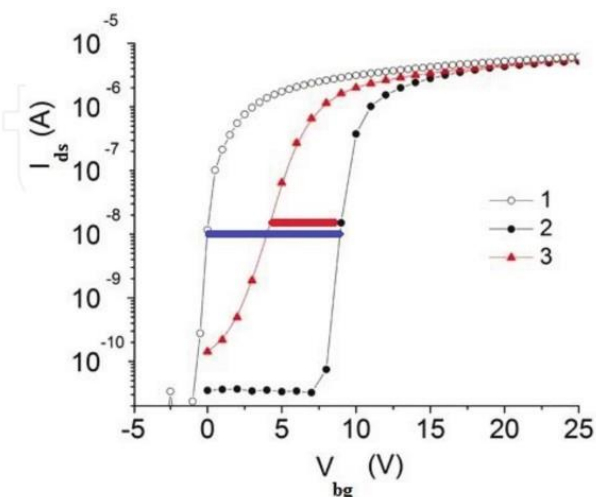


Рис. 6.9 Вольт-амперна характеристика поверхні сенсара для трьох різних станів. 1 – поверхня вкрита природнім окислом з оксиду кремнію, 2- на поверхню, вкриту окислом додано ACSF, 3- розміщено нейрон.

Рис. 6.10 Нейрон, розміщений на підложці біосенсора.

За матеріалами експерименту, проведеного Висоцькою Н.А., Климовською А.І. та ін. Рисунок наданий Климовською А.І.

За матеріалами експерименту, проведеного Висоцькою Н.А., Климовською А.І. та ін., Рисунок наданий Климовською А.І.

## ВИСНОВКИ

У дисертації на основі проведеного комплексного експериментального дослідження представлено теоретичне узагальнення та новий підхід до вирішення актуальної наукової біомедичної проблеми в галузі нейронаук – розробка нового способу відновлення цілісності тяжко травмованого периферійного нерва шляхом визначення морфологічних, функціональних та нейрофізіологічних особливостей його регенерації при використанні імплантату, що містить ниткоподібні кристали кремнію.

1. Створений тубулярний імплантат, що складається з аlogenної децелюляризованої аорти, 4% карбоксиметилцелюлозного гелю та нитковидних кристалів кремнію, що може бути використана для заміщення значних дефектів нервових стовбурів з метою стимуляції їх регенерації
2. У тварин після виконання аутонейропластики особливості відновлення периферійного нерва полягають у затримці дегенерації в ділянці аутографта, що проявляється наявністю овоїдів дегенерації в ділянці ауторграфта навіть на 6 тижні після операції, і як наслідок проявляється у надлишковому спраутингу, нерівномірному проростанню значної кількості неповноцінних нервових волокон, як це було встановлено за допомогою світлової та електронної мікроскопії, морфометричного дослідження, і що підтверджувалося даними електрофізіологічного дослідження та явилось причиною неповного відновлення функції, що було зареєстровано функціональними тестами.
3. У тварин після виконання пластики нерва імплантом з аlogenної децелюляризованої аорти та гелю особливості відновлення периферійного нерва полягають у затримці формування стрічок

Бюнгнера в просвіті імпланта, і як наслідок, у затримці проростання нервових волокон та їх мієлінізації, внаслідок відсутності структур, що грають опорну та направляючу роль, як це було встановлено за допомогою світлової та електронної мікроскопії, морфометричного дослідження і проявлялося нерівномірним проростанням малої кількості неупорядкованих нервових волокон із тонкою мієліновою оболонкою. Це підтверджувалося даними електрофізіологічного дослідження та явилось причиною незадовільного відновлення функції, що було зареєстровано функціональними та функціонально-анатомічними тестами.

4. У тварин після виконання пластики нерва імплантом з аlogenної децелюляризованої аорти, гелю та нитковидних кристалів кремнію особливості відновлення периферійного нерва полягають у прискореній та більш повноцінній регенерації, як це було встановлено за допомогою світлової, електронної мікроскопії, морфометричного дослідження. Більш повноцінна регенерація проявлялася в більш рівномірному проростанні значної кількості впорядкованих повноцінних нервових волокон, що підтверджувалося даними електрофізіологічного дослідження, та являлося причиною відносно задовільних функціональних результатів, що було зареєстровано за допомогою функціональних та функціонально-анатомічних тестів.
5. Пояснення стимуляції відновлення тяжко травмованого периферійного нерва за умов імплантації в місце травми розробленого імпланта може бути здійснено за допомогою моделі пришвидшення регенерації як завдяки присутності в просвіті імпланта впорядкованих структур, що виконують опорну та направляючу роль, так і за рахунок підвищеної спорідненості поверхонь кристалів та поляризованих мембран нервових волокон, в основі чого, ймовірно, лежить кулонівська взаємодія зарядів поверхонь. Внаслідок використання

напівпровідникових кристалів кремнію р-типу прискорення регенерації відбувається за рахунок швидкої зміни матричної та клітинної фаз на аксональну.

Таким чином, наявність нитковидних кристалів кремнію у складі імпланта нерва призводить до суттєвих позитивних кількісних та якісних змін морфологічних, функціональних та нейрофізіологічних параметрів регенерації.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Abe I, Hara Y, Nishiura Y, Ochiai N. The morphologic characteristics of nerve shortening following traumatic bone loss. *Journal of Orthopaedic Research*. 2009;27(4):472-476.
2. Aebischer P, Valentini R, Dario P, Domenici C, Galletti P. Piezoelectric guidance channels enhance regeneration in the mouse sciatic nerve after axotomy. *Brain Research*. 1987;436(1):165-168.
3. Alvites R, Rita Caseiro A, Santos Pedrosa S, Vieira Branquinho M, Ronchi G, Geuna S et al. Peripheral nerve injury and axonotmesis: State of the art and recent advances. *Cogent Medicine*. 2018;5(1):1-45.
4. Angius D, Wang H, Spinner R, Gutierrez-Cotto Y, Yaszemski M, Windebank A. A systematic review of animal models used to study nerve regeneration in tissue-engineered scaffolds. *Biomaterials*. 2012;33(32):8034-8039.
5. Anguelova G, Malessy M, van Zwet E, van Dijk J. Extensive motor axonal misrouting after conservative treatment of obstetric brachial plexus lesions. *Developmental Medicine & Child Neurology*. 2014;56(10):984-989.
6. Bain J, Mackinnon S, Hudson A, Falk R, Falk J, Hunter D. The Peripheral Nerve Allograft: An Assessment of Regeneration Across Nerve Allografts in Rats Immunosuppressed With Cyclosporin A. *Plast Reconstr Surg*. 1988;82(6):1052-66.
7. Beirowski B. Concepts for regulation of axon integrity by enwrapping glia. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2013;7.
8. Bekelis K, Missios S, Spinner R. Falls and peripheral nerve injuries: an age-dependent relationship. *Journal of Neurosurgery*. 2015;123(5):1223-1229.
9. Bekelis K, Missios S, Spinner R. Falls and peripheral nerve injuries: an age-dependent relationship. *Journal of Neurosurgery*. 2015;123(5):1223-1229.

10. Belkas J, Shoichet M, Midha R. Peripheral nerve regeneration through guidance tubes. *Neurological Research*. 2004;26(2):151-160.
11. Bilego Neto A, Silveira F, Rodrigues da Silva G, Sanada L, Fazan V. Reproducibility in Nerve Morphometry: Comparison between Methods and among Observers. *BioMed Research International*. 2013;2013:1-7.
12. Birch R, Misra P, Stewart M, Eardley W, Ramasamy A, Brown K et al. Nerve injuries sustained during warfare. *The Journal of Bone and Joint Surgery British volume*. 2012;94-B(4):523-528.
13. Bonin R, Bories C, De Koninck Y. A Simplified Up-Down Method (SUDO) for Measuring Mechanical Nociception in Rodents Using von Frey Filaments. *Molecular Pain*. 2014;10:1744-8069-10-26.
14. Castillo-Galván M, Martínez-Ruiz F, Elizondo-Omaña R, Guzmán-López S, de la Garza-Castro Ó. Estudio de la lesión nerviosa periférica en pacientes atendidos por traumatismos. *Gaceta Médica de México*. 2014;150:527-32.
15. Costa L, Simões M, Maurício A, Varejão A. Chapter 7 Methods and Protocols in Peripheral Nerve Regeneration Experimental Research^ kinematic gait analysis. *International Review of Neurobiology*. 2009;:127-139.
16. Daly W, Yao L, Zeugolis D, Windebank A, Pandit A. A biomaterials approach to peripheral nerve regeneration: bridging the peripheral nerve gap and enhancing functional recovery. *Journal of The Royal Society Interface*. 2011;9(67):202-221.
17. de Luca A, di Summa P, Lacour S, Raffoul W. Extracellular matrix components in peripheral nerve repair: how to affect neural cellular response and nerve regeneration. *Neural Regeneration Research*. 2014;9(22):1943-1948.
18. de Ruitter G, Malessy M, Yaszemski M, Windebank A, Spinner R. Designing ideal conduits for peripheral nerve repair. *Neurosurgical Focus*. 2009;26(2):E5.



19. de Ruyter G, Spinner R, Verhaagen J, Malessy M. Misdirection and guidance of regenerating axons after experimental nerve injury and repair. *Journal of Neurosurgery*. 2014;120(2):493-501.
20. Deumens R, Bozkurt A, Meek M, Marcus M, Joosten E, Weis J et al. Repairing injured peripheral nerves: Bridging the gap. *Progress in Neurobiology*. 2010;92(3):245-276.
21. Deumens R, Bozkurt A, Meek M, Marcus M, Joosten E, Weis J et al. Repairing injured peripheral nerves: Bridging the gap. *Progress in Neurobiology*. 2010;92(3):245-276.
22. Dhillon G, Lawrence S, Hutchinson D, Horch K. Residual function in peripheral nerve stumps of amputees: implications for neural control of artificial limbs. *The Journal of Hand Surgery*. 2004;29(4):605-615.
23. Ganga M, Coutinho-Netto J, Colli B, Marques Junior W, Catalão C, Santana R et al. Sciatic nerve regeneration in rats by a nerve conduit engineering with a membrane derived from natural latex. *Acta Cirurgica Brasileira*. 2012;27(12):885-891.
24. Ghita R, Logofatu C, Negrila C, Ungureanu F, Cotirlan C, Manea A et al. Study of SiO<sub>2</sub>/Si Interface by Surface Techniques. In: Basu S, ed. by. *Crystalline Silicon - Properties and Uses* [Internet]. 1st ed. InTech; 2011. p. 23-42. Available from: <https://www.intechopen.com/books/crystalline-silicon-properties-and-uses/study-of-sio2-si-interface-by-surface-techniques>
25. Glantz S. *Primer of biostatistics*. New York: McGraw-Hill; 2012; Chapter 3, How to test for Differences between Groups; p. 40-72.
26. Grinsell D, Keating C. Peripheral Nerve Reconstruction after Injury: A Review of Clinical and Experimental Therapies. *BioMed Research International*. 2014;2014:1-13.
27. Grill W, Norman S, Bellamkonda R. Implanted Neural Interfaces: Biochallenges and Engineered Solutions. *Annual Review of Biomedical Engineering*. 2009;11(1):1-24.

28. Guertin A. Microanatomy of Axon/Glial Signaling during Wallerian Degeneration. *Journal of Neuroscience*. 2005;25(13):3478-3487.
29. Hall S. The response to injury in the peripheral nervous system. *The Journal of Bone and Joint Surgery British volume*. 2005;87-B(10):1309-1319.
30. Hudson T, Zawko S, Deister C, Lundy S, Hu C, Lee K et al. Optimized Acellular Nerve Graft Is Immunologically Tolerated and Supports Regeneration. *Tissue Engineering*. 2004;10(11-12):1641-1651.
31. Hunt T, Wiesel S. Operative techniques in hand, wrist, and forearm surgery. 4th ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2010; Chapter 72, Primary Repair and Nerve Grafting Following Complete Nerve Transection in the Hand, Wrist, and Forearm; p. 599-607.
32. Jaffe L, Poo M. Neurites grow faster towards the cathode than the anode in a steady field. *Journal of Experimental Zoology*. 1979;209(1):115-127.
33. James R, Laurencin C. Regenerative engineering and bionic limbs. *Rare Metals*. 2015;34(3):143-155.
34. Jiang B, Han N, Rao F, Wang Y, Kou Y, Zhang P. Advance of Peripheral Nerve Injury Repair and Reconstruction. *Chinese Medical Journal*. 2017;130(24):2996-2998.
35. Johnson P, Duhamel R, Meezan E, Brendel K. Preparation of cell-free extracellular matrix from human peripheral nerve. *Muscle & Nerve*. 1982;5(4):335-344.
36. Kalbermatten D, Kingham P, Mahay D, Mantovani C, Pettersson J, Raffoul W et al. Fibrin matrix for suspension of regenerative cells in an artificial nerve conduit. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. 2008;61(6):669-675.
37. Kerschensteiner M, Schwab M, Lichtman J, Misgeld T. In vivo imaging of axonal degeneration and regeneration in the injured spinal cord. *Nature Medicine*. 2005;11(5):572-577.
38. Kim W, Ng J, Kunitake M, Conklin B, Yang P. Interfacing Silicon

- Nanowires with Mammalian Cells. *Journal of the American Chemical Society*. 2007;129(23):7228-7229.
39. Kim Y, Romero-Ortega M. Material considerations for peripheral nerve interfacing. *MRS Bulletin*. 2012;37(6):573-580.
  40. Kislitsin M, Korolev M, Krasnyukov A. Study of the formation of silicon oxide films from tetraethoxysilane solution using the sol-gel method. *Russian Microelectronics*. 2014;43(7):445-448.
  41. Klimovskaya A. Growth of silicon self-assembled nanowires by using gold-enhanced CVD technology. *Semiconductor Physics, Quantum Electronics and Optoelectronics*. 2018;21(3):282-287.
  42. Klimovskaya A, Chaikovskiy Y, Liptuga A, Lichodievskiy V, Serozhkin Y. Interface Nerve Tissue-Silicon Nanowire for Regeneration of Injured Nerve and Creation of Bio- Electronic Device. In: Abreu G, Aguilar M, ed. by. *Neurons - Dendrites and Axons [Internet]*. London: IntechOpen; 2019. p. 1-21. -. Available from: <https://www.intechopen.com/books/neurons-dendrites-and-axons>
  43. Kou Y, Yin X, Han N, Zhang P, Li-ya A, Xue F et al. Biological conduit small gap sleeve bridging method for peripheral nerve injury: regeneration law of nerve fibers in the conduit. *Neural Regeneration Research*. 2015;10(1):71-78.
  44. Lago N, Udina E, Ramachandran A, Navarro X. Neurobiological Assessment of Regenerative Electrodes for Bidirectional Interfacing Injured Peripheral Nerves. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. 2007;54(6):1129-1137.
  45. Lee H, Shin Y, Jung J, Seo S, Baek S, Park H. Proteasome inhibition suppresses Schwann cell dedifferentiation *in vitro* and *in vivo*. *Glia*. 2009;57(16):1825-1834.

46. Lundborg G, Dahlin L, Danielsen N, Gelberman R, Longo F, Powell H et al. Nerve regeneration in silicone chambers: Influence of gap length and of distal stump components. *Experimental Neurology*. 1982;76(2):361-375.
47. Lundborg G. Nerve regeneration and repair: A review. *Acta Orthopaedica Scandinavica*. 1987;58(2):145-169.
48. Mackinnon S, Hudson A, Bain J, Falk R, Hunter D. The Peripheral Nerve Allograft: An Assessment of Regeneration in the Immunosuppressed Host. *Plast Reconstr Surg*. 1987;79(3):436-46.
49. Matsumoto K, Ohnishi K, Kiyotani T, Sekine T, Ueda H, Nakamura T et al. Peripheral nerve regeneration across an 80-mm gap bridged by a polyglycolic acid (PGA)–collagen tube filled with laminin-coated collagen fibers: a histological and electrophysiological evaluation of regenerated nerves. *Brain Research*. 2000;868(2):315-328.
50. Menovsky T, Beek J. Carbon dioxide laser-assisted nerve repair: Effect of solder and suture material on nerve regeneration in rat sciatic nerve. *Microsurgery*. 2003;23(2):109-116.
51. Menovsky T, Beek J. Laser, fibrin glue, or suture repair of peripheral nerves: a comparative functional, histological and morphometric study in the rat sciatic nerve. *Journal of Neurosurgery*. 2001;95(4):694-699.
52. Mohammadi J, Delaviz H, Mohammadi B, Delaviz H, Rad P. Comparison of repair of peripheral nerve transection in predegenerated muscle with and without a vein graft. *BMC Neurology*. 2016;16(1):1-8.
53. Moore A, Macewan M, Santosa K, Chenard K, Ray W, Hunter D et al. Acellular nerve allografts in peripheral nerve regeneration: A comparative study. *Muscle & Nerve*. 2011;44(2):221-234.
54. Mukhatyar V, Karumbaiah L, Yeh J, Bellamkonda R. Tissue Engineering Strategies Designed to Realize the Endogenous Regenerative Potential of Peripheral Nerves. *Advanced Materials*. 2009;46(21):4670-4679.
55. Myckatyn T, MacKinnon S. A review of research endeavors to optimize

- peripheral nerve reconstruction. *Neurological Research*. 2004;26(2):124-138.
56. Navarro X, Udina E. Chapter 6 Methods and Protocols in Peripheral Nerve Regeneration Experimental Research: Electrophysiological evaluation. *International Review of Neurobiology*. 2009;:105-126.
  57. Noble J, Munro C, Prasad V, Midha R. Analysis of Upper and Lower Extremity Peripheral Nerve Injuries in a Population of Patients with Multiple Injuries. *The Journal of Trauma: Injury, Infection, and Critical Care*. 1998;45(1):116-122.
  58. Pacharinsak C, Smith J. Handbook of laboratory animal anesthesia and pain management. Rodents. 1<sup>st</sup> ed. Boca Raton: CRC Press; 2017. Chapter 4, Management of anesthesia; p 55-74
  59. Pateman C, Harding A, Glen A, Taylor C, Christmas C, Robinson P et al. Nerve guides manufactured from photocurable polymers to aid peripheral nerve repair. *Biomaterials*. 2015;49:77-89.
  60. Pellegrino R, Politis M, Ritchie J, Spencer P. Events in degenerating cat peripheral nerve: Induction of Schwann cell S phase and its relation to nerve fibre degeneration. *Journal of Neurocytology*. 1986;15(1):17-28.
  61. Petrie A, Sabin C. Medical statistics at a glance workbook. Chichester, West Sussex: Wiley-Blackwell; 2013; Chapter 5, Basic techniques for analysing data; p.19-34.
  62. Pettersson J, Kalbermatten D, McGrath A, Novikova L. Biodegradable fibrin conduit promotes long-term regeneration after peripheral nerve injury in adult rats. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. 2010;63(11):1893-1899.
  63. Pushpalatha. Bhat K. Inderbir singh's textbook of human histology with colour atlas and practical guide. New Delhi: JP Medical LTD; 2019; Chapter 11, Nervous system; p. 162-190.
  64. Rafiuddin Ahmed M, Jayakumar R. Peripheral nerve regeneration in RGD

- peptide incorporated collagen tubes. *Brain Research*. 2003;993(1-2):208-216.
65. Raimondo S, Fornaro M, Di Scipio F, Ronchi G, Giacobini Robecchi M, Geuna S. Chapter 5 Methods and Protocols in Peripheral Nerve Regeneration Experimental Research. *International Review of Neurobiology*. 2009;:81-103.
  66. Ranson S. Retrograde degeneration in the spinal nerves. *Journal of Comparative Neurology and Psychology*. 1906;16(4):265-293.
  67. Ray W, Mackinnon S. Management of nerve gaps: Autografts, allografts, nerve transfers, and end-to-side neurorrhaphy. *Experimental Neurology*. 2010;223(1):77-85.
  68. Schonauer F, Marlino S, Avvedimento S, Molea G. Chapter 6. Peripheral Nerve Reconstruction with Autologous Grafts. In: Rayegani S, ed. by. *Basic Principles of Peripheral Nerve Disorders*. 1st ed. London: IntechOpen; 2012. p. 79-91
  69. Gale G, Small R, Reinhardt K. Chapter 4. Aqueous cleaning and surface conditioning processes. In: Reinhardt K, Kern W, ed. by. *Handbook of Silicon Wafer Cleaning Technology*. 2nd ed. Norwich, New York: William Andrew; 2008. p. 201-259.
  70. Rivera J, Glebus G, Cho M. Disability following combat-sustained nerve injury of the upper limb. *The Bone & Joint Journal*. 2014;96-B(2):254-258.
  71. Robbins S, Aster J, Perkins J, Abbas A, Kumar V. *Robbins basic pathology*. Philadelphia: Elsevier; 2018. Chapter 3, Regeneration, healing and fibrosis; p. 87-118.
  72. Rodríguez F, Verdú E, Ceballos D, Navarro X. Nerve Guides Seeded with Autologous Schwann Cells Improve Nerve Regeneration. *Experimental Neurology*. 2000;161(2):571-584.
  73. Roque J, Pomini K, Buchaim R, Buchaim D, Andreo J, Roque D et al. Inside-out and standard vein grafts associated with platelet-rich plasma

- (PRP) in sciatic nerve repair. A histomorphometric study. *Acta Cirurgica Brasileira*. 2017;32(8):617-625.
74. Rossini P, Micera S, Benvenuto A, Carpaneto J, Cavallo G, Citi L et al. Double nerve intraneural interface implant on a human amputee for robotic hand control. *Clinical Neurophysiology*. 2010;121(5):777-783.
  75. Rotshenker S. Wallerian degeneration: the innate-immune response to traumatic nerve injury. *Journal of Neuroinflammation*. 2011;8(1):109.
  76. Saadat S, Eslami V, Rahimi-movaghar V. The incidence of peripheral nerve injury in trauma patients in Iran. *Turkish Journal of Trauma and Emergency Surgery*. 2011;17(6):539-544.
  77. Sarikcioglu L, Demirel B, Utuk A. Walking track analysis: an assessment method for functional recovery after sciatic nerve injury in the rat. *Folia Morphol (Warsz)*. 2009;68(1):1-7.
  78. Schmidt C, Shastri V, Vacanti J, Langer R. Stimulation of neurite outgrowth using an electrically conducting polymer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1997;94(17):8948-8953.
  79. Schoenfeld A, Dunn J, Belmont P. Pelvic, spinal and extremity wounds among combat-specific personnel serving in Iraq and Afghanistan (2003–2011): A new paradigm in military musculoskeletal medicine. *Injury*. 2013;44(12):1866-1870.
  80. Siemionow M, Brzezicki G. Chapter 8 Current Techniques and Concepts in Peripheral Nerve Repair. *International Review of Neurobiology*. 2009;:141-172.
  81. Siemionow M, Sonmez E. Nerve Allograft Transplantation: A Review. *Journal of Reconstructive Microsurgery*. 2007;23(8):511-520.
  82. Slikker W, Paule M, Wang C. Handbook of developmental neurotoxicology. 2<sup>nd</sup> ed. Academic Press; 2018. Chapter 9 - Apoptosis as a Mechanism of Developmental Neurotoxicity; p. 91-112.
  83. Sondell M, Lundborg G, Kanje M. Regeneration of the rat sciatic nerve into

- allografts made acellular through chemical extraction. *Brain Research*. 1998;795(1-2):44-54.
84. Stoll G, Griffin J, Li C, Trapp B. Wallerian degeneration in the peripheral nervous system: participation of both Schwann cells and macrophages in myelin degradation. *Journal of Neurocytology*. 1989;18(5):671-683.
85. Stoll G, Jander S, Myers R. Degeneration and regeneration of the peripheral nervous system: From Augustus Waller's observations to neuroinflammation. *Journal of the Peripheral Nervous System*. 2002;7(1):13-27.
86. Strasberg S, Hertl M, Mackinnon S, Lee C, Watanabe O, Tarasidis G et al. Peripheral Nerve Allograft Preservation Improves Regeneration and Decreases Systemic Cyclosporin A Requirements. *Experimental Neurology*. 1996;139(2):306-316.
87. Stüve O, Zettl U. Neuroinflammation of the central and peripheral nervous system: an update. *Clinical & Experimental Immunology*. 2014;175(3):333-335.
88. Sunderland S. A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function. *Brain*. 1951;74(4):491-516.
89. Terzis J, Faibisoff B, Williams B. The nerve gap: suture under tension vs. graft. *Plast Reconstr Surg*. 1975;56(2):166-170.
90. Tos P, Ronchi G, Papalia I, Sallen V, Legagneux J, Geuna S et al. Chapter 4 Methods and Protocols in Peripheral Nerve Regeneration Experimental Research: Part I—Experimental Models. *International Review of Neurobiology*. 2009;:47-79.
91. Tse R, Ko J. Nerve Glue for Upper Extremity Reconstruction. *Hand Clinics*. 2012;28(4):529-540.
92. Tsema E, Khomenko I, Bepalenko A, Buryanov O, Mishalov V, Kikh A. Клініко-статистичне дослідження рівня ампутації кінцівки у поранених. *Klinicheskaia khirurgiia*. 2017;(10):51.
93. Tsymbaliuk V, Petriv T, Molotkovets V, Vasyliiev R, Tatarchuk M, Burkush I.



- Development of walking track device for functional recovery analysis after experimental sciatic nerve injury. *World of Medicine and Biology*. 2017;13(61):157.
94. Valentini R, Aebischer P, Winn S, Galletti P. Collagen- and laminin-containing gels impede peripheral nerve regeneration through semipermeable nerve guidance channels. *Experimental Neurology*. 1987;98(2):350-356.
95. Vela F, Martínez-Chacón G, Ballestín A, Campos J, Sánchez-Margallo F, Abellán E. Animal models used to study direct peripheral nerve repair: a systematic review. *Neural Regeneration Research*. 2020;15(3):491-502.
96. Wang J, Medress Z, Barres B. Axon degeneration: Molecular mechanisms of a self-destruction pathway. *The Journal of Cell Biology*. 2012;196(1):7-18.
97. White F, Toews A, Goodrum J, Novicki D, Bouldin T, Morell P. Lipid Metabolism During Early Stages of Wallerian Degeneration in the Rat Sciatic Nerve. *Journal of Neurochemistry*. 1989;52(4):1085-1092.
98. Williams L, Longo F, Powell H, Lundborg G, Varon S. Spatial-Temporal progress of peripheral nerve regeneration within a silicone chamber: Parameters for a bioassay. *The Journal of Comparative Neurology*. 1983;218(4):460-470.
99. Wolford L, Stevao E. Considerations in Nerve Repair. *Baylor University Medical Center Proceedings*. 2003;16(2):152-156.
100. Wright J, Macefield V, van Schaik A, Tapson J. A Review of Control Strategies in Closed-Loop Neuroprosthetic Systems. *Frontiers in Neuroscience*. 2016;10.
101. Автандилов Г. Медицинская морфометрия. 1st ed. Москва: Медицина; 1990; Глава 4, Основы системного морфометрического и стереометрического анализа; с. 55-135.

- 102.Афанасьев Ю, Юрина Н. Гистология, эмбриология, цитология. 6th ed. С-Петербург: Гэотар; 2012; Глава XI. Нервная система. с. 302- 331.
- 103.Ашкрофт Н, Мермин Н. Физика твердого тела. 4е изд. Москва: Книга по требованию; 2013. Глава 28. Однородные полупроводники. с. 184-209.
- 104.Белоярцев Ф. Электромиография в анестезиологии. 1st ed. Москва: Медицина; 1980; Глава 3. Методика электромиографических исследований в анестезиологии; с. 35-74.
- 105.Герашенко С, Дельцова О, Коломійцев А, Чайковський Ю. Периферійний нерв: нейро-судинно-десмальні взаємовідношення в нормі та при патології. 1st ed. Тернопіль: Укрмедкнига; 2005. 342 с.
- 106.Коломийцев А, Чайковский Ю, Терещенко Т. Быстрый метод импрегнации азотнокислым серебром элементов периферической нервной системы пригодный для целоидиновых и парафиновых срезов. Архив анатомии, гистологии, эмбриологии. 1981;(8):93-96.
- 107.Корсак А, Чайковський Ю, Чухрай С, Чернець О. Ультраструктурні особливості неврови на етапах дегенерації та ранньої регенерації за умов різних методів впливу електрохірургічного високочастотного інструменту на периферійний нерв. Експериментальна і клінічна медицина. 2014;63(2):83-86.
- 108.Луцик О, Иванова А, Кабак К, Чайковський Ю. Гістологія людини. 5th ed. Київ: Книга Плюс; 2003; Розділ 4.9 Нервова система; с. 464-492.
- 109.Педаченко Є. Стандартизація в нейрохірургії частина 1. Травматичні ушкодження центральної та периферичної нервової системи. 1 вид.. Київ: ДУ "ІНХ НАМНУ; 2019. Розділ 3, Травматичні ушкодження периферичної нервової системи; с. 129-143.
- 110.Саркисов Д, Перов Ю. Микроскопическая техника: руководство для врачей. 2 изд. Москва: РАМН; 1996. Глава 10, Подготовка

материала к исследованию в трансмиссионном электронном микроскопе; с.207-223

- 111.Струков А, Серов В. Патологическая анатомия : учебник. 5 изд. Москва: Литтерра; 2010. Раздел 5, Воспаление; с.168-192
112. Цимбалюк В, Страфун С, Гайко О, Гайович В. Концепція відновлення функції кінцівки при травматичному ушкодженні периферичних нервів. Український нейрохірургічний журнал. 2016;(3):48-54.

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

1. Likhodiievsky V, Korsak A, Klimovskaya A, Chaikovsky Y. Silicon wires for nerve gap management: role of surface properties in nerve regeneration. Georgian medical news [Internet]. 2018 [cited 17 June 2020];284(11):115-120. Available from: <http://www.geomednews.org/shared/issues/med284.pdf>
2. Klimovskaya A, Chaikovsky Y, Liptuga A, Lichodiievskiy V, Serozhkin Y. Interface Nerve Tissue-Silicon Nanowire for Regeneration of Injured Nerve and Creation of Bio- Electronic Device. In: Abreu G, Aguilar M, ed. by. Neurons - Dendrites and Axons [Internet]. London: IntechOpen; 2019 [cited 17 June 2020]. Available from: <https://www.intechopen.com/books/neurons-dendrites-and-axons>
3. Likhodiievskiy V, Korsak A, Skopets D, Olefir S, Chukhrai S, Shamalo S et al. Long-term outcomes of rat sciatic nerve injury and its grafting with silicon wires-based conduit: distal nerve stump histology and electromyography results. Medical Science of Ukraine (MSU) [Internet]. 2019 [cited 17 June 2020];15(3-4):3-9. Available from: <https://msu-journal.com/index.php/journal/article/view/160>
4. Likhodiievskiy V. Early Experimental Results of Nerve Gap Bridging with Silicon Microwires. Innovative Biosystems and Bioengineering [Internet]. 2019 [cited 17 June 2020];3(3):168-175. Available from: <http://ibb.kpi.ua/article/view/176925>
5. Likhodiievskiy V, Korsak A, Olefir S, Zabala A, Bukovska M, Turiy M et al. Long-term functional and histological outcomes of rat's sciatic nerve recovery after severe injury and experimental treatment with silicon microwires. Ukrainian Scientific Medical Youth Journal [Internet]. 2018 [cited 17 June 2020];3-4(108):48-52. Available from: <http://mmj.nmuofficial.com/index.php/journal/article/view/22>

6. Klimovskaya A, Vysotskaya N, Chaikovsky Y, Korsak A, Lichodievskiy V, Ostrovskii I. Morphology of the Interface "Silicon Wire - Nerve Fiber". *Journal of Nano Research*. 2016;39:214-220.
7. Klimovskaya A, Chaikovsky Y, Naumova O, Vysotskaya N, Korsak A, Likhodiievskiy V et al. Coulomb interactions at the silicon wire-nervous tissue interface. *World of Medicine and Biology* [Internet]. 2016 [cited 17 June 2020];55(1):136-141. Available from: <https://womab.com.ua/en/smb-2016-01/5936>
8. Lichodievskiy V, Vysotskaya N, Ryabchikov O, Korsak A, Chaikovsky Y, Klimovskaya A et al. Application of Oxidized Silicon Nanowires for Nerve Fibers Regeneration. *Advanced Materials Research*. 2013;854:157-163.
9. Likhodiievskiy V, Korsak A, Lutsishin I, Pedchenko Y, Bukovska M, Olefir S et al. Silicon wires for nerve gap management: role of surface properties in nerve regeneration. 4th International Symposium on Peripheral Nerve Regeneration. Barcelona: European Society for the Study of Peripheral Nerve Repair and Regeneration; 2017. p. 86.
10. Ліходієвський В, Висоцька Н, Чайковський Ю, Корсак А, Клімовська А. Електрохімічні механізми формування інтерфейсу нервове волокно-ниткоподібний кристал кремнію. Конференція молодих вчених з фізики напівпровідників "Лашкарьовські читання" з міжнародною участю. Київ: Інститут фізики напівпровідників ім. В.Є. Лашкарьова НАН України; 2017. p. 113-114.
11. Likhodiievskiy V, Korsak A, Chaikovsky Y, Klimovskaya A. Nerve gap bridging by silicon semiconductor nanowires: an experimental morphological study. I-st International Symposium on peripheral nerve regeneration (NRIS). Kyiv: Bogomolets National Medical University; 2016. p. 30-31.
12. Likhodiievskiy V, Neverovskyi A, Korsak A, Kryvosheyeva O, Klimovskaya A, Vysotskaya N et al. Structure of regenerative neuroma in injured

peripheral nerve gap bridged by a conduit containing silicon nano- and microwires: an experimental morphological study. 3rd International Symposium on Peripheral Nerve Regeneration (ISPNR). Hannover: European Society for the Study of Peripheral Nerve Repair and Regeneration; 2015. p. 23.

13. Korsak A, Likhodiyevskiy V, Chaikovskiy Y, Klimovskaya A, Vysotskaya N, Lutsyshyn I et al. Effect of the size, the density and the interface morphology of silicon nanowires on the nerve fibers regeneration. European Material Research Society. Lille, Strasbourg: EMRS; 2014. p. N IV 9.
14. Высоцкая Н, Лиходиевский В, Климовская А, Корсак А, Чайковский Ю. Регенерация нервных волокон с использованием кремниевых наностержней покрытых оксидами кремния. Лашкарьовські читання - 2013. Київ: Інститут фізики напівпровідників імені В.Є. Лашкарьова НАН України; 2013. p. 205-206.