

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

*Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису*

Абдалла Ібрагім Мед'єн

УДК: 617.832-001-089.843-003.93:616-74:[615.46+611.813-018.1]:57.08

ДИСЕРТАЦІЯ
**ВПЛИВ ІМПЛАНТАЦІЇ СИНТЕТИЧНОГО ТУНЕЛЬОВАНОГО
МАТРИКСУ НА ОСНОВІ ПОЛІЕТИЛЕНГЛІКОЛЮ НА ПЕРЕБІГ
ВІДНОВНОГО ПРОЦЕСУ ПРИ ЛАЦЕРАЦІЙНІЙ ТРАВМІ СПИННОГО
МОЗКУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ**

22 «Охорона здоров'я»
222 «Медицина»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

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

_____ Абдалла І.М.

Науковий керівник:
Медведєв Володимир Вікторович
д-р мед. наук, доцент

Київ — 2022

АНОТАЦІЯ

Абдалла І.М. Вплив імплантації синтетичного тунельованого матриксу на основі поліетиленгліколю на перебіг відновного процесу при лацераційній травмі спинного мозку в експерименті. — 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 Міністерства охорони здоров'я України, Київ, 2022.

Травма спинного мозку (ТрСМ) у більшості випадків — тяжке ушкодження нервової системи (*DeVivo, 2012; Pretz et al., 2016*) з розрахунковою річною глобальною захворюваністю у ~1 млн. випадків і поширеністю у ~27 млн. осіб (*GBD 2016 ..., 2019*). Найдошкульнішими наслідками ТрСМ є пожиттєва втрата рухової й інших функцій спинного мозку нижче рівня ушкодження, котрі супроводжуються синдромом спастичності (*Holtz et al., 2017*), хронічним болем (*Finnerup et al., 2014*) і розладами вегетативної регуляції (*Hou & Rabchevsky, 2014; Hamid et al., 2018*). Причина — ушкодження шляхів довільної інервації еферентних спинномозкових нейронів, реставрація яких є першочерговим завданням відновного лікування ТрСМ. Вирішення цього завдання пов'язують з розробкою трансплантаційних засобів тканинної нейроінженерії, котрі поєднують полімерні матрикси і клітини різного ступеню диференціювання (*Ahuja et al., 2017; Liu et al., 2018; Wang et al., 2018; Liu et al., 2019; Zhang et al., 2019; Shah et al., 2020*). Тривалий час у якості перспективного матриксу розглядали аморфний гідрогель на основі N-(2-гідроксипропіл)метакриламиду (*poly(N-[2-hydroxypropyl]-methacrylamide, PHPMA; Woerly et al., 1996–2005; Pertici et al., 2013*). На даний час перевагу надають синтетичним тунельованим матриксам (*Koffler et al., 2019*), причому, лацераційні моделі ТрСМ залишаються ключовими для вивчення ефективності більшості таких засобів, не зважаючи на

значне аутогенне відновлення функцій спинного мозку при частковому перетині спинного мозку (*Alizadeh et al., 2019*).

У представленій дисертації здійснено системне порівняльне дослідження відновного впливу негайної імплантації РНРМА-гідрогелю і тунельованого поліетиленгліколевого матриксу на моделі висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку у тварин молодого віку, тобто в умовах вищої ауторегенераційної активності нервової системи (*Schwab et al., 1996; Sutherland et al., 2020*).

Дизайн експерименту. Тварини — щури–самці (~1 міс, ~50 г), інбредні похідні лінії *Wistar*. Експериментальні групи: **Tr_П** — бічний половинний перетин спинного мозку на рівні сегментів ~T₁₂–T₁₃ (*n=11*); **HG_П** — аналогічна TrСМ і негайна імплантація у рану спинного мозку фрагменту РНРМА-гідрогелю (*n=11*); **Tr_□** — висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку довжиною ~1 мм на аналогічному рівні (*n=8*); **HG_■** — аналогічна TrСМ і негайне заповнення дефекту спинного мозку фрагментом РНРМА-гідрогелю (*n=6*); **Tunnel_■** — аналогічна TrСМ і негайне заповнення дефекту спинного мозку циліндричним тунельованим матриксом на основі поліетиленгліколю, діаметром і довжиною у 1 мм, з шириною тунелів — 50 мкм (*n=8*).

Методи дослідження. Оцінку показника рухової функції (ПФ) і показника спастичності (ПС) задньої паретичної кінцівки здійснено, відповідно, за шкалою Basso–Beattie–Bresnahan (BBB) і за шкалою Ashworth у власних модифікаціях. Під час формування проаналізованих експериментальних груп застосовано критерії невключення: значення ПФ задньої іпсилатеральної кінцівки через 1 тиждень після травми — більше 9-ти балів за шкалою BBB, і/або значення ПФ задньої контрлатеральної кінцівки протягом тривалого часу — менше або дорівнює 14-ти балам за шкалою BBB (*загалом, за цими критеріями до аналізу не залучено 11 тварин*). Асимптотичні відхилення термінів тестування допущено протягом перших 3-х тиж, а також через 8 тиж і через 3 міс після травми. Загальна тривалість спостереження склала ~5 міс. Морфологічні дослідження здійснено завдяки методу імпрегнації поздовжніх зрізів спинного мозку сріблом (*групи HG_■ і Tr_□*) й імуногістохімічній ідентифікації експресії основних маркерів нервової

тканини (група **Tunnel**_□). Статистичний аналіз виконано із залученням U-тесту Манна–Уїтні (*Mann-Whitney U Test*), тесту Вілкоксона (*Wilcoxon Matched Pairs Test*) і коефіцієнту рангової кореляції Спірмена (*Spearman Rank Order Correlations*), припущення щодо значущості результату вважали вірними, якщо ймовірність реалізації протилежного твердження була меншою ніж 0.05 ($p < 0.05$).

Отримані результати (Медведев, Абдалла, Драгунцова, 2021). Через 1 тиждень після моделювання травми ПФ у групі **Tr**_□ складав (0.9 ± 0.5) бала за шкалою BBB, у групі **Tunnel**_□ — (1.4 ± 0.8) бала, у групі **HG**_■ — (3.6 ± 1.2) бала, у групі **Tr**_▮ — (5.9 ± 1.1) бала, у групі **HG**_▮ — (6.0 ± 1.0) бала. Достовірне збільшення ПФ у групі **Tr**_▮ спостерігали протягом перших 3-х тиж, у групі **HG**_▮ — протягом першого місяця і 6-го тижня, у групі **Tunnel**_□ — протягом 2-го, 3-го і 7-го тижня. Натомість, у групі **Tr**_□ при порівнянні значення 5-го місяця і 2-го тижня виявлено істотне зменшення ПФ, а у групі **HG**_■ значення ПФ взагалі змінювалося несуттєво (у всіх перелічених випадках — результати *Wilcoxon Matched Pairs Test*). Фінальне значення ПФ у групі **Tr**_□ становило (0.8 ± 0.3) бала за шкалою BBB, групі **HG**_■ — (4.5 ± 1.8) бала, у групі **Tunnel**_□ — (6.4 ± 1.8) бала, у групі **Tr**_▮ — (9.5 ± 1.0) бала, у групі **HG**_▮ — (9.5 ± 1.1) бала. Усереднене по групах **Tr**_▮, **Tr**_□ і **HG**_■ значення ПФ не корелювало, а у групах **HG**_▮ і **Tunnel**_□ — позитивно корелювало з тривалістю спостереження ($p < 0.05$, *Spearman Rank Order Correlations*).

Через 1 тиждень після травми значення ПС у групі **Tr**_▮ складало (0.3 ± 0.1) бала за шкалою Ashworth, у групі **HG**_▮ — (0.7 ± 0.2) бала, у групі **Tr**_□ — (0.7 ± 0.1) бала, у групі **HG**_■ — (0.8 ± 0.3) бала, у групі **Tunnel**_□ — (1.1 ± 0.1) бала. Впродовж експерименту значущих змін ПС у групах **HG**_■ і **Tunnel**_□ не виявляли; достовірне збільшення відмічали ($p < 0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*) у групі **HG**_▮ (протягом 3-го міс), **Tr**_▮ (протягом 2-го тижня і 2-го місяця) і **Tr**_□ (протягом 2-го, 6-го тиж, 3-го і 5-го місяця). Фінальне значення ПС у групах **Tr**_▮ і **HG**_▮ становило, відповідно, (0.8 ± 0.2) і (0.8 ± 0.3) бала за шкалою Ashworth, у групах **HG**_■ і **Tunnel**_□ — відповідно, (1.8 ± 0.7) і (1.8 ± 0.6) бала, у групі **Tr**_□ — (3.6 ± 0.3) бала. Для групи **HG**_▮ виявлено слабку, для груп **Tr**_▮ і **HG**_■ — міцнішу, а для групи **Tr**_□ — найміцнішу значущу додатну кореляцію між усередненими значеннями

ПС і тривалістю спостереження; для групи **Tunnel_□** таку кореляцію не виявлено ($p < 0.05$, *Spearman Rank Order Correlations*).

Протягом усього експерименту значущих відмінностей ПФ між групами **Tr_□** і **HG_□**, а також між групами **Tunnel_□** і **HG_■** не виявлено, для груп **Tr_□** і **HG_■** — виявлено через 5 тиж після травми, для груп **Tr_□** і **Tunnel_□** — через 4, 5 і 7 тиж після травми ($p < 0.05$; *Mann-Whitney U Test*). Значущу різницю ПС для груп **Tr_□** і **HG_□** виявлено через 1 тиждень після травми, для груп **Tr_□** і **HG_■** — протягом перших 8-ми тиж спостереження, для груп **Tr_□** і **Tunnel_□** — через 1, 7 і 8 тиж, а також через 3 і 5 міс після травми, для груп **Tunnel_□** і **HG_■** — не виявлено на жодному з термінів спостереження ($p < 0.05$; *Mann-Whitney U Test*). При порівнянні значень як ПФ, так і ПС, груп **Tr_□** і **Tr_■** достовірну різницю виявлено на усіх термінах спостереження; для груп **HG_□** і **HG_■** — істотну різницю значень ПФ виявлено на усіх термінах ($p < 0.05$; *Mann-Whitney U Test*), крім 1-го і 7-го тижня, а відмінності ПС впродовж експерименту залишались несуттєвими.

Виходячи з отриманих даних, можна стверджувати, що у молодому віці, на тлі високого ауторегенеративного потенціалу негайна імплантація РНРМА-гідрогелю у епіцентр лацераційної ТрСМ обумовлює істотний позитивний ефект лише за наявності значного просторового дефекту спинного мозку, причому виключно у найгострішому періоді травми. На наш погляд, це пов'язано з негайним антигемораїчним впливом РНРМА-гідрогелю і обмеженням вторинних альтераційних реакцій, не зважаючи на факт хаотичного проростання його товщі аксонами. Натомість, імплантація тунельованого матриксу не впливає на перебіг найгострішого періоду травми, однак істотно змінює її подальший плин, суттєво збільшуючи значення ПФ протягом перших 2-х місяців і нівелюючи регрес ПФ на останніх 2-х місяцях спостереження, що, найімовірніше, пов'язано із проростанням аксонів через тунелі матриксу і по його зовнішній поверхні.

Ключові слова: експериментальна медицина, регенеративна медицина, нейротравма, хребтно-спинномозкова травма, хірургія хребта і спинного мозку, відновлення нервової системи, заміщення дефектів біологічних тканин синтетичними матеріалами, нейроморфологія, імуногістохімія.

SUMMARY

Abdallah I.M. The effect of polyethylene glycol-based synthetic tunnelled matrix on restorative process in experimental spinal cord laceration. — Qualifying scientific work as a manuscript.

The dissertation on acquiring a scientific degree of the Doctor of Philosophy, branch of knowledge 22 «Health care», specialty 222 «Medicine». — Bogomolets National Medical University of Ministry of Public Health of Ukraine, Kyiv, 2022.

The spinal cord injury (SCI) in most cases is a severe injury of nervous system (*DeVivo, 2012; Pretz et al., 2016*) with estimated annual global incidence of ~1 million people, and estimated global prevalence of ~27 million people (*GBD 2016 ..., 2019*). The gravest consequence of the SCI is a lifelong loss of motor and other spinal cord functions below the injured region, accompanied with the spasticity syndrome (*Holtz et al., 2017*), chronic pain (*Finnerup et al., 2014*) and autonomic imbalance (*Hou & Rabchevsky, 2014; Hamid et al., 2018*). Its cause represents as injured voluntary efferent spinal neurons innervation, restoring which is a primary task of the SCI treatment. The problem could be solved through development of the tissue neuroengineering transplantation implants, which join polymer matrices and cells of various differentiation degree (*Ahuja et al., 2017; Liu et al., 2018; Wang et al., 2018; Liu et al., 2019; Zhang et al., 2019; Shah et al., 2020*). The amorphous poly(N-[2-hydroxypropyl]-methacrylamide (PHPMA) hydrogel has long been considered as a prospective matrix (*Woerly et al., 1996–2005; Pertici et al., 2013*). Nowadays the synthetic tunnelled matrices are preferred (*Koffler et al., 2019*), and the SCI laceration models stay the basic ones for most polymer implants effectiveness studies, despite significant autogenic recovery of spinal cord function after partial trans-section (*Alizadeh et al., 2019*).

The dissertation presents a systemic comparative study of the immediate PHPMA-hydrogel and polyethylene glycol-based tunnelled matrix implantation restorative effect in a spinal lateral hemi-excision in young animals, i.e., under the nervous system higher auto-regeneration (*Schwab et al., 1996; Sutherland et al., 2020*).

Study design. Male rats (~ 1 month, ~ 50 g), inbred derivatives of *Wistar line* have been used in the study. The study was designed to include 4 experimental groups: **Tr_π** — lateral hemisection of the spinal cord on the $\sim T_{12}$ – T_{13} ($n=11$) ($n=11$); **HG_π** — similar SCI with immediate matrix implantation into the injury focus ($n=11$); **Tr_□** — spinal lateral hemi-excision ~ 1 mm on the same level ($n=8$); **HG_■** — similar SCI with immediate implantation of the PHPMA-hydrogel fragment ($n=6$); **Tunnel_■** — similar SCI with immediate implantation of the cylinder polyethylene glycol-based synthetic tunnelled matrix, 1 mm in diameter and length, with the tunnel width of 50 μ m ($n=8$).

The following methods were used: estimation of the motor function index (FI) and spasticity index (SI) of the posterior paretic extremity, respectively, by Basso–Beattie–Bresnahan (BBB) and Ashworth in our modification. The non-inclusion criteria were: FI of the posterior ipsilateral extremity in 1 week after the trauma >9 BBB points and/or FI of the posterior contralateral extremity ≤ 14 BBB point during a long time (*totally — 11 animals*). The asymptotic deviations of the test dates were allowed during the first 3 weeks, as well as in 8 weeks and 3 months after the injury. Total observation duration — ~ 5 months. Morphological studies are represented by impregnation of longitudinal spinal cord sections with silver (*groups HG_■ and Tr_□*) and nerve tissue basic markers expression immunohistochemical identification (*group Tunnel_■*). The *Mann-Whitney U Test*, *Wilcoxon Matched Pairs Test*, *Spearman Rank Order Correlations* have been used. Assumptions about the significance of the result were considered true if the probability of realization of the opposite statement was less than 0.05 ($p < 0.05$).

Results. The FI in one week after the injury in group **Tr** was (0.9 ± 0.5) BBB scale points, in group **Tunnel_■** — (1.4 ± 0.8) points, in group **HG_■** — (3.6 ± 1.2) points, in group **Tr_π** — (5.9 ± 1.1) points, in group **HG_π** — (6.0 ± 1.0) points. A reliable FI increase in group **Tr_π** was observed during the first 3 weeks, in group **HG_π** — during the first 1 month and 6th week, in group **Tunnel_■** — during the 2nd, 3rd and 7th weeks. Instead, in group **Tr_□**, comparing the values of the 5th month and 2nd week, a significant FI decrease was found, with the non-significant FI changes in group **HG_■** (*the Wilcoxon Matched Pairs Test in all the recalled cases*). Final FI value in group **Tr_□** was (0.8 ± 0.3) BBB

scale points, in group **HG_■** — (4.5±1.8) points, in group **Tunnel_■** — (6.4±1.8) points, in group **Tr_⊥** — (9.5±1.0) points, in group **HG_⊥** — (9.5±1.1) points. The average for groups **Tr_⊥**, **Tr_□** i **HG_■** FI value didn't find correlations, and in groups **HG_⊥** and **Tunnel_■** — found positive correlation with the observation duration ($p < 0.05$, *Spearman Rank Order Correlations*).

In one week after the injury the SI value in group **Tr_⊥** was (0.3±0.1) Ashworth scale points, in group **HG_⊥** — (0.7±0.2) points, in group **Tr_□** — (0.7±0.1) points, in group **HG_■** — (0.8±0.3) points, in group **Tunnel_■** — (1.1±0.1) points. No significant SI changes have been detected throughout the research in groups **HG_■** and **Tunnel_■**; with reliable increase ($p < 0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*) in groups **HG_⊥** (*during the 3rd month*), **Tr_⊥** (*during the 2nd week and the 2nd month*) and **Tr_□** (*during the 2nd, 6th weeks, 3rd and 5th months*). The final SI value in groups **Tr_⊥** and **HG_⊥** was, respectively, (0.8±0.2) and (0.8±0.3) Ashworth scale points, in groups **HG_■** i **Tunnel_■** — respectively, (1.8±0.7) and (1.8±0.6) points, in group **Tr_□** — (3.6±0.3) points. Group **HG_⊥** was characterized by weak, groups **Tr_⊥**, **Tunnel_■** and **HG_■** — stronger, and group **Tr_□** — the strongest significant positive correlation between the average SI and observation duration ($p < 0.05$, *Spearman Rank Order Correlations*).

Throughout all the observation period, no significant FI differences for groups **Tr_⊥** and **HG_⊥**, as well as for groups **Tunnel_■** and **NG_■** have been detected, with the difference for groups **Tr_□** and **HG_■** — revealed in 5 weeks after the injury, for groups **Tr_□** and **Tunnel_■** — in 4, 5 and 7 weeks ($p < 0.05$; *Mann-Whitney U Test*). The SI significant difference for groups **Tr_⊥** and **HG_⊥** was detected in one week after the injury, for groups **Tr_□** and **HG_■** — during first 8 weeks after the injury, for groups **Tr_□** and **Tunnel_■** — in 1, 7 and 8 groups as well as 3 and 5 months after the injury, for groups **Tunnel_■** and **NG_■** — no significant difference has been detected at any observation stage ($p < 0.05$; *Mann-Whitney U Test*). Comparing both FI and SI values, the reliable difference was detected in groups **Tr_⊥** and **Tr_□** at all stages, in groups **HG_⊥** and **HG_■** — the FI difference was found at all stages except for the 1st and 7th weeks ($p < 0.05$; *Mann-Whitney U Test*), and the SI difference during the research was insignificant.

Concluding from the above-mentioned, it should be stated that the immediate implantation of the PHPMA-hydrogel into the laceration SCI focus in young species with the considerable auto-regenerative potential, provides for significant positive effect only with huge spatial spinal cord defect, precisely in the acutest injury stage, which, up to the author's mind, is related to its immediate antihemorrhagic effect and limitations of secondary alteration responses, despite the axons chaotic growth into the implanted matrix.

Instead, the tunnelled matrix implantation doesn't affect the acutest injury stage, but significantly changes its further course, increasing the FI values during the first two observation months and nullifying the FI regress during the last two observation months, which is most likely may be related to the axons intergrowth through the matrix tunnels and growth on the matrix external surface.

Keywords: experimental medicine, regenerative medicine, neurotrauma, spinal cord injury, surgery of the spine and spinal cord, restoration of the nervous system, replacement of defects in biological tissues with synthetic materials, neuromorphology, immunohistochemistry.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Medvediev VV, Abdallah IM, Draguntsova NG, Savosko SI, Vaslovych VV, Tsymbaliuk VI, Voitenko NV. Model of spinal cord lateral hemi-excision at the lower thoracic level for the tasks of reconstructive and experimental neurosurgery. Ukr Neurosurg J [Internet]. 2021 Sep 27;27(3):33-5. Available from: <http://theunj.org/article/view/234154>.
2. Abdallah I, Medvediev V, Draguntsova N, Voitenko N, Tsymbaliuk V. Dependence of the restorative effect of Macroporous poly(N-[2-Hydroxypropyl]-methacrylamide hydrogel on the severity of experimental lacerative spinal cord injury. USMYJ [Internet]. 2021 Dec 26;127(4):8-21. Available from: <https://mmj.nmuofficial.com/index.php/journal/article/view/840>.
3. Medvediev VV, Savosko SI, Abdallah IM, Draguntsova NG, Vaslovych VV, Tsymbaliuk VI, Voitenko NV. The efficacy of immediate implantation of macroporous poly(N-[2-hydroxypropyl]-methacrylamide) hydrogel after laceration spinal cord injury in young rats. Int J Morphol [Internet]. 2021;39(6):1749-57. Available from: http://www.intjmorphol.com/abstract/?art_id=8375.
4. Krotov V, Medvediev V, Abdallah I, Bozhenko A, Tatarchuk M, Ishchenko Y, Pichkur L, Savosko S, Tsymbaliuk V, Kopach O, Voitenko N. Phenotypes of motor deficit and pain after experimental spinal cord injury. Bioengineering [Internet]. 2022; 9(6):262. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9060262>; <https://www.mdpi.com/2306-5354/9/6/262>.

АПРОБАЦІЯ МАТЕРІАЛІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Абдалла ІМ. Відновлення рухової функції паретичної кінцівки у молодих щурів на тлі латеральної гемісекції спинного мозку й імплантації макропористого гідрогелю. В: Український науково-медичний молодіжний журнал. 2021;(122 Supplement 1), Матеріали XIII Міжнародної науково-практичної конференції

студентів та молодих вчених «Спеціальні питання та лікування захворювань ЛОР-органів, краніофасіальної ділянки та органа зору»; 2021 Бер 18-19; Київ. Київ: НМУ імені О.О. Богомольця; 2021, с. 28.

2. Медведєв ВВ, Абдалла ІМ, Драгунцова НГ. Залежність відновного ефекту імплантації аморфного макропористого гідрогелю на основі N-(2-гідроксипропіл)метакриламідю від тяжкості лацераційної травми спинного мозку молодого щура. В: Матеріали LXIV підсумкової науково-практичної конференції Здобутки клінічної та експериментальної медицини; 2021 Черв 11; Тернопіль. ТНМУ; 2021, с. 164-166.

3. Медведєв ВВ, Абдалла ІМ. Залежність відновного ефекту аморфного макропористого гідрогелю від величини травматичного дефекту спинного мозку. В: Матеріали VII З'їзду нейрохірургів України з міжнародною участю [Інтернет]; 2021 Трав 11-18; Сіде, Туреччина. Київ: ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України" [цитовано 2021 Лип 16]; с. 74-75. Доступно: <https://drive.google.com/file/d/1rir2-utQXpyDv1a0-ByvLnCPZFWCBvjn/view>.

4. Медведєв ВВ, Абдалла ІМ. Оптимізована для потреб експериментальної нейротрансплантації модель лацераційної травми спинного мозку щура зі стійким неврологічним дефіцитом. В: Матеріали VII З'їзду нейрохірургів України з міжнародною участю [Інтернет]; 2021 Трав 11-18; Сіде, Туреччина. Київ: ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України" [цитовано 2021 Лип 16]; с. 73-74. Доступно: <https://drive.google.com/file/d/1rir2-utQXpyDv1a0-ByvLnCPZFWCBvjn/view>.

5. Медведєв ВВ, Абдалла ІМ. Оптимізована модель обмеженої лацераційної травми спинного мозку зі стійким неврологічним дефіцитом. В: Панова ТІ, та ін, редактори. 42 Наукові читання імені О.О. Богомольця: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченій 140-річчю з дня народження академіка О.О. Богомольця; 2021 Трав 24; Київ. Київ: НМУ імені О.О. Богомольця; 2021, с. 68-69.

6. Гребенюк С, Медведєв В, Абдалла І, Драгунцова Н, Цимбалюк В, Войтенко Н, Білан П. Ефективність імплантації тунельованого поліетиленгліколевого

матриксу у відновленні рухової функції на моделі лацераційної травми спинного мозку. У: Матеріали VII З'їзду Української асоціації нейрохірургів [Інтернет]; 2021 Верес 16-18; Одеса, Україна. Київ: Українська асоціація нейрохірургів [цитовано 2021 Груд 02]; с. 87-88. Доступно: <https://drive.google.com/file/d/141mWXqPYFctiL2cOwNBVtBglMqAeai4m/view>.

7. Гребенюк С, Медведєв В, Шеремет Є, Ranga А, Абдалла І, Драгунцова Н, Войтенко Н, Білан П. Імуногістохімічні кореляти відновного впливу тунельованого поліетиленгліколевого матриксу на моделі лацераційної травми спинного мозку. У: Матеріали VII З'їзду Української асоціації нейрохірургів [Інтернет]; 2021 Верес 16-18; Одеса, Україна. Київ: Українська асоціація нейрохірургів [цитовано 2021 Груд 02]; с. 88-89. Доступно: <https://drive.google.com/file/d/141mWXqPYFctiL2cOwNBVtBglMqAeai4m/view>.

ЗМІСТ

Перелік умовних скорочень	16
Вступ	17
Розділ 1. Травма спинного мозку і перспективні засоби її відновного нейрохірургічного лікування (аналітичний огляд літератури)	23
1.1. Епідеміологія, основні клінічні форми і базове лікування травми спинного мозку.....	23
1.2. Патофізіологія травми спинного мозку і посттравматичної спастичності.....	25
1.3. Відновне лікування травми спинного мозку.....	29
1.4. Проблема оптимальної моделі травми спинного мозку.....	37
Висновки до розділу 1.....	41
Розділ 2. Матеріали і методи дослідження	42
2.1. Дизайн дослідження.....	42
2.1.1. Експериментальні тварини і біоетичний регламент дослідження.....	42
2.1.2. Експериментальні групи.....	43
2.1.3. Імпланти.....	43
2.2. Моделі травми спинного мозку.....	46
2.2.1. Бічний половинний перетин спинного мозку щура на рівні сегментів T ₁₂ –T ₁₃ (групи <i>Tr_□</i> і <i>HG_□</i>).....	46
2.2.2. Висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку на рівні сегментів T ₁₂ –T ₁₃ (групи <i>Tr_□</i> , <i>Tunnel_□</i> і <i>HG_□</i>).....	48
2.2.3. Алгоритм завершення операції, післяопераційні процедури і подальше утримання тварин.....	57
2.3. Оцінка рухової активності паретичної кінцівки.....	58
2.4. Оцінка спастичності паретичної кінцівки.....	61
2.5. Критерії невключення.....	63
2.6. Стандартизована часова шкала представлення результатів.....	65
2.7. Патогістологічні дослідження.....	67
2.7.1. Оглядове гістологічне дослідження.....	67

2.7.2. Імуногістохімічне дослідження.....	68
2.8. Статистична обробка цифрових даних.....	70
Розділ 3. Висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку молодого щура у нижньогрудному відділі як оптимальна модель для дослідження ефективності відновних нейротрансплантаційних втручань при спінальній травмі.....	71
3.1. Технічні особливості використаних моделей однобічної лацераційної травми спинного мозку щура.....	71
3.2. Відновлення рухової функції і динаміка спастичності паретичної кінцівки після лівобічного половинного перетину спинного мозку у нижньогрудному відділі й імплантації РНРМА-гідрогелю у тварин молодого віку.....	74
3.2.1. Рухова функція паретичної кінцівки у групах Tr_П і НГ_П у динаміці спостереження.....	74
3.2.2. Спастичність на рівні паретичної кінцівки у групах Tr_П і НГ_П	78
3.3. Відновлення рухової функції і динаміка спастичності паретичної кінцівки після висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку тварин молодого віку у нижньогрудному відділі й імплантації РНРМА-гідрогелю.....	8
2	
3.3.1. Рухова функція паретичної кінцівки у групах Tr_□ і НГ_■ у динаміці спостереження.....	82
3.3.2. Спастичність на рівні паретичної кінцівки у групах Tr_□ і НГ_■	88
3.4. Залежність перебігу відновного процесу від ступеню лацераційного ушкодження спинного мозку молодого щура.....	92
3.5. Морфологічні особливості організації ділянки висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку на тлі імплантації РНРМА-гідрогелю.....	9
7	

3.5.1. Патоморфологічна картина організації зони висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку у віддаленому періоді травми.....	97
3.5.2. Патоморфологічні особливості ділянки висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку й імплантації PHEMA-гідрогелю на віддаленому терміні спостереження.....	115
Висновки до розділу 3.....	129
Розділ 4. Вплив імплантації тунельованого матриксу на основі поліетиленгліколю на перебіг лацераційної травми спинного мозку.....	130
4.1. Динаміка рухової функції паретичної кінцівки на тлі негайної імплантації тунельованого матриксу у зону висічення бічної половини спинного мозку.....	130
4.2. Динаміка спастичності паретичної кінцівки на тлі негайної імплантації тунельованого матриксу у зону висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку.....	136
4.3. Імуногістохімічні кореляти позитивного впливу тунельованого матриксу на відновлення травмованого спинного мозку.....	142
4.4. Значущість й інтерпретація отриманих даних.....	152
4.4.1. Узагальнені дані дисертаційного дослідження на тлі сучасного стану проблеми травми спинного мозку.....	152
4.4.2. Отримані у дисертаційному дослідженні дані на тлі результатів інших груп.....	159
4.4.3. Технічні обмеження дослідження.....	167
Висновки до розділу 4.....	172
Висновки.....	173
Список використаних джерел.....	175
Додаток. Список публікацій здобувача за темою дисертації.....	210

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ГАМК — γ аміномасляна кислота

ІФ НАНУ — Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця Національної академії наук України

НМУ — Національний медичний університет імені О.О. Богомольця Міністерства охорони здоров'я України

НСК — нейрогенна стовбутова клітина

ТрСМ — травма спинного мозку

ОПП — однобічний половинний перетин спинного мозку

ПС — показник спастичності (*задньої інсилатеральної місцю травми кінцівки*)

ПФ — показник функції (*задньої інсилатеральної місцю травми кінцівки*)

ТМО — тверда мозкова оболона

ADAR — adenine deaminase acting on RNA

BBB — шкала Basso–Beattie–Bresnahan

MBP — myelin basic protein, основний білок мієліну

GFAP — glial fibrillary acidic protein, гліальний фібрилярний кислий білок

PHРМА — poly(N-[2-hydroxypropyl]-methacrylamide

5-НТ — 5-hydroxytryptamine, серотонін

ВСТУП

Актуальність теми. Попри низьку захворюваність, травма спинного мозку (ТрСМ) є тяжкою кумулятивною патологією зі значною поширеністю, котра суттєво погіршує якість життя постраждалих і обумовлює значні економічні втрати [1–5]. Найважливішими патофізіологічними компонентами раннього періоду ТрСМ є первинне руйнування нервових волокон, клітин і судин спинного мозку у епіцентрі травми і вторинне ушкодження нейронів і нервових волокон перифокальної зони внаслідок розгортання запального процесу [6, 7]. Найважливішим у клінічному плані наслідком цих процесів є порушення низхідної інервації еферентних нейронів спинного мозку, розташованих нижче рівня травми. До причин обмеження регенерації низхідних провідних шляхів після ТрСМ, крім постаксонотомічного апоптозу [8], можна відносити пригнічення олігодендрогенезу у тканині спинного мозку [9], а також експресію у зоні рубця численних репелентів аксональних конусів росту [6]. Попри це, аутогенна функціональна регенерація спинного мозку, хоч і у невеликому діапазоні, є добре відомим клінічним фактом [10, 11] і, найімовірніше, забезпечується перелаштуванням топології нейронних мереж рухової системи на супраспінальному та спінальному рівнях [12–14]. У цьому сенсі розробка засобів активування і/або оптимізації пластичності нейронних мереж є аргументованою [15–19]. У той же час, у зв'язку з істотною ауторегенераційною активністю у нижчих ссавців розробка задовільної моделі ТрСМ, котра б при відтворенні будь-якими дослідницькими групами давала аналогічний рівень неврологічного дефіциту за низької летальності і дозволяла оцінювати ефективність засобів відновного лікування, все ще залишається актуальною проблемою експериментальної нейрохірургії [7]. Слід зазначити, що найближчу до клінічних умов модель забиття чи компресії спинного мозку [7] з очевидних причин можна використовувати лише для апробації рідинних трансплантаційних засобів. Модель повного перетину — доволі проста у виконанні [7], характеризується одноманітністю неврологічного дефіциту й низким аутогенним відновленням

рухової функції задніх кінцівок експериментальних тварин [20] і з цих точок зору видається оптимальною для дослідження відновного впливу цільних об'ємних імплантаційних засобів [7]. Однак її відтворення критично залежить від якісного ветеринарного догляду і супроводжується значними стражданнями експериментальних тварин. У цьому сенсі модель бічного половинного перетину можна було б вважати компромісною, якби не складність інтраопераційної оцінки точності перетину і значне аутогенне відновлення спинного мозку щура після такого виду травми [21–24]. Крім того, доцільність пошуку моделі ТрСМ, оптимальної для апробації відновних нейротрансплантаційних втручань, увиразнюється фактом незадовільної клінічної трансляції вповні обнадійливих результатів, отриманих експериментально [7, 25, 26]. У зв'язку із цим, деякі автори вказують на необхідність стандартизації протоколів преклінічних досліджень [26–29]. Сучасні трансплантаційні засоби відновного лікування ТрСМ поєднують клітини різного ступеню диференціювання і полімерні матрикси [16, 17]. Одним із перспективних матриксів є макропористий гідрогель на основі N-(2-гідроксипропіл)метакриламиду (англ. — *poly(N-[2-hydroxypropyl]-methacrylamide hydrogel, РНРМА-гідрогель)*) [30–40], у тому числі, з огляду на його ефективність у поєднанні з алогенними стовбуровими клітинами різного виду [41–49]. Попередні дослідження виявили позитивний ефект негайної імплантації РНРМА-гідрогелю у епіцентр ТрСМ [31–36], у тому числі на моделі бічного половинного перетину або висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку щура [37, 38]. При цьому, моніторинг рухової функції паретичних кінцівок згідно зі стандартною для таких досліджень шкалою Basso–Beattie–Bresnahan (BBB) здійснено лише у двох роботах [35, 38]. Її лише у одній за допомогою шкали BBB досліджено вплив РНРМА-гідрогелю на відновлення рухової функції паретичної кінцівки після висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку [38]. Дослідження ефективності імплантації сучасних, лінійно впорядкованих, або тунельованих матриксів на моделях ТрСМ нечасті [19, 50, 51], причому тільки у одному із них з'ясовано ефективність матриксу такого типу, синтезованого з поліетиленгліколю, що, правда, у поєднанні з нейрогенними

прогеніторами [50]. Сукупність перелічених обставин мотивувала реалізацію представленого порівняльного експериментального дослідження відновного процесу після ТрСМ за різної довжини лацераційного дефекту спинного мозку і на тлі його заміщення аморфним чи тунельованим матриксом у тварин молодого віку, тобто в умовах високого ауторегенераційного потенціалу організму [52, 53].

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційне дослідження виконано на базі Інституту фізіології імені О.О. Богомольця Національної академії наук України (*надалі — ІФ НАНУ*) у рамках договору про співпрацю, укладеного між Національним медичним університетом імені О.О. Богомольця Міністерства охорони здоров'я України (*надалі — НМУ*) і ІФ НАНУ 22 квітня 2015 року. Первинні дані отримано і опрацьовано у контексті виконання двох ініціативно-пошукових робіт кафедри нейрохірургії НМУ — *«Дослідити особливості розвитку синдрому спастичності при травмі спинного мозку в умовах застосування відновних нейроінженерних втручань» (2015–2017 рр., № держ. реєстр.: 0115U000013)* і *«Дослідити ефективність новітніх біоінженерних засобів відновлення цілісності периферичного нерва і спинного мозку при їхньому лацераційному ушкодженні» (2021–2023 рр., № держ. реєстр.: 0121U108052)*.

Мета дослідження: покращити результати відновного лікування експериментальної травми спинного мозку.

Завдання дослідження.

1. Оптимізувати модель об'ємного лацераційного ушкодження спинного мозку.
2. Дослідити залежність аутогенного відновлення рухової функції і відновного ефекту РНРМА-гідрогелю від тяжкості лацераційної травми спинного мозку.
3. Здійснити порівняльний аналіз впливу негайної імплантації тунельованого матриксу й РНРМА-гідрогелю у зону травматичного дефекту спинного мозку на відновлення рухової функції й динаміку спастичності паретичної кінцівки.
4. Дослідити патогістологічні та імуногістохімічні кореляти відновного впливу РНРМА-гідрогелю і тунельованого матриксу на перебіг зазначеного виду лацераційної травми спинного мозку.

5. На основі комплексного порівняльного аналізу запропонувати базовий інженерний дизайн синтетичного імплантаційного засобу для відновного нейрохірургічного лікування травми спинного мозку.

Об'єкт дослідження — лацераційна травма спинного мозку.

Предмет дослідження — кількісні та якісні дані, отримані під час неврологічного, морфологічного і статистичного досліджень перебігу лацераційної травми спинного мозку у відтворених експериментальних умовах.

Методи дослідження. *Експериментальний* — моделювання та відновне нейрохірургічне лікування різних видів лацераційної травми спинного мозку; дослідження рухової функції і спастичності паретичної кінцівки. *Морфологічний* — макроскопічне, світлооптичне та імуногістохімічне дослідження спинного мозку у зоні травми й нейроінженерного втручання. *Метод статистичного аналізу* — усереднення первинних цифрових даних, встановлення достовірних відмінностей чи кореляції значень досліджуваних показників.

Наукова новизна отриманих результатів.

1. У роботі оптимізовано модель висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку у нижньогрудному відділі молодого щура, яка дозволяє відтворювати одноманітний глибокий однобічний руховий дефіцит, поєднаний зі стійким і просторово чітким дефектом спинномозкової речовини і є інструментом вибору для апробації матриксних нейроінженерних засобів відновного лікування спінальної травми.
2. Вперше з'ясовано, що у молодому віці РНРМА-гідрогель обумовлює істотний ранній позитивний вплив на рухову функцію паретичної кінцівки лише при імплантації у зону об'ємного травматичного дефекту спинного мозку.
3. Вперше виявлено, що формування імплантованим РНРМА-гідрогелем умов для росту аксонів у межах об'ємного травматичного дефекту спинного мозку не є значущою складовою механізму його позитивного впливу на відновлення рухової функції паретичної кінцівки.

4. Вперше встановлено, що імплантація тунельованого матриксу на основі поліетиленгліколю суттєво збільшує результат відновлення рухової функції паретичної кінцівки, не впливаючи на перебіг найгострішого періоду травми.

5. Вперше з'ясовано, що позитивний ефект тунельованого матриксу на основі поліетиленгліколю стосовно рухової функції паретичної кінцівки травмованої тварини пов'язаний зі створенням умов для впорядкованого росту аксонів через зону імплантації — у тунелях матриксу і по його зовнішній поверхні.

Практичне значення і шляхи впровадження отриманих результатів.

Отримані результати дозволяють розглядати запропонований інженерний дизайн мікроструктурно впорядкованого синтетичного матриксу на основі поліетиленгліколю у якості базового для подальшої розробки дієвих нейротрансплантаційних засобів відновного лікування травми спинного мозку. Оптимізована модель травми спинного мозку може бути впроваджена у роботу вітчизняних і закордонних лабораторій експериментальної нейрохірургії, фізіології і патофізіології нервової системи. Основні положення дисертації можуть бути використані у підготовці лекційних курсів та практичних занять для студентів, інтернів, ординаторів й аспірантів закладів вищої освіти медико-біологічного профілю.

Особистий внесок здобувача. Зважаючи на технічну складність й необхідність вузької професійної спеціалізації для якісного розв'язання завдань дослідження, у виконанні зазначених далі складових роботи брали участь ряд суміжних фахівців, що відображено у публікаціях за темою дисертації: д.мед.н. проф. кафедри нейрохірургії Медведєв В.В. (*експериментальна частина, український текст рукопису*), д.біол.н. проф. Білан П.В. і д.біол.н. проф. Войтенко Н.В. (*ідея дослідження, конструювання тунельованого матриксу, імуногістохімічне дослідження*), к.біол.н. Гребенюк С.Е. (*ідея дослідження, виготовлення тунельованого матриксу*), к.біол.н. Рибачук О.А. (*імуногістохімічне дослідження*), к.біол.н. доц. Савосько С.І. (*гістологічне дослідження*), наук. співроб. Драгунцова Н.Г. (*статистичний аналіз*), Dr. E. Pinet (*виготовлення РНРМА-гідрогелю*), д.мед.н. Ямінський Ю.Я. (*надання РНРМА-*

гідрогелю для апробації), к.біол.н. Є.Ю. Шеремет (імуногістохімічне дослідження).

Апробація результатів дисертаційної роботи. Основні положення дисертації було представлено й обговорено на засіданні кафедри нейрохірургії НМУ від 08 червня 2022-го року (протокол № 17). Результати дисертації оприлюднено у межах низки фахових конференцій: XIII Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених "Спеціальні питання та лікування захворювань ЛОР-органів, краніофасіальної ділянки та органа зору" (18-19 березня 2021 р., Київ), LXIV Підсумкової науково-практичної конференції "Здобутки клінічної та експериментальної медицини" (11 червня 2021 р., Тернопіль), VII З'їзду нейрохірургів України з міжнародною участю (11-18 травня 2021 р., Сіде, Туреччина), Науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченій 140-річчю з дня народження академіка О.О. Богомольця "42 Наукові читання імені О.О. Богомольця" (24 травня 2021 р., Київ) і VII З'їзду Української асоціації нейрохірургів (16-18 вересня 2021 р., Одеса).

Публікації матеріалів дослідження. За матеріалами науково-кваліфікаційної роботи опубліковано 11 наукових праць у фахових вітчизняних та зарубіжних журналах і збірниках матеріалів, у тому числі 2 статті у виданнях, віднесених МОН України до категорії наукових фахових, 2 статті у періодичних виданнях, що індексуються у наукометричних базах *Scopus* і/або *Web of Science*, а також 7 тезових публікацій у матеріалах фахових конференцій, конгресів і з'їздів.

Структура та обсяг дисертації. Науково-кваліфікаційна робота складається зі вступу, аналітичного огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, двох розділів із викладом отриманих результатів і їх обговоренням, висновків, списку використаних літературних джерел та додатку. Загальний обсяг дисертації становить 213 сторінок, робота проілюстрована 81 рисунком. Список використаних джерел містить 232 найменування, зокрема 36 кирилицею, 196 латиницею.

РОЗДІЛ 1
ТРАВМА СПИННОГО МОЗКУ І ПЕРСПЕКТИВНІ ЗАСОБИ ЇЇ
ВІДНОВНОГО НЕЙРОХІРУРГІЧНОГО ЛІКУВАННЯ
(аналітичний огляд літератури)

1.1. Епідеміологія, основні клінічні форми і базове лікування травми спинного мозку

Травма спинного мозку (ТрСМ) за багатьма показниками непересічний вид ушкодження нервової системи з істотною летальністю і частою інвалідизацією, котра суттєво зменшує тривалість життя постраждалих і погіршує його якість [1–5]. Розрахункова глобальна захворюваність для ТрСМ сягає ~1 млн випадків [5], з яких близько 3 тис. випадків реєструють в Україні [54], а розрахункова глобальна поширеність для цього виду травми становить ~27 млн. осіб [5]. За іншими даними, глобальний річний рівень захворюваності на ТрСМ сягає 10.5 випадків на 100 тис. населення, причому 13.7 випадків на 100 тис. населення — у країнах середнього і низького достатку, 8.7 випадків на 100 тис. населення — у країнах високого достатку, 3.4 на 100 тис. населення — у Європейському регіоні [55]. ТрСМ виникає у чоловіків щонайменше у 2 рази частіше, ніж у жінок; найбільший відсоток випадків серед чоловіків припадає на осіб у віці 20–29 і більше 70-ти років, серед жінок — 15–19 і більше 60-ти років [56, 57]. Серед причин ТрСМ основними слід вважати дорожньо-транспортні пригоди (*для дітей і осіб зрілого віку*), падіння (*для осіб літнього віку*), а також заняття спортом і сільським господарюванням [56]. На травми шийного відділу хребта припадає 43,9–61,5 %, грудного відділу — 17,3–44,9 %, поперекового — 7–21,6 % усіх випадків ТрСМ [56]. Летальність для різних вікових груп і клінічних видів ТрСМ коливається у межах від 0,1 % до 30 % [1], причому основними причинами смерті при ТрСМ залишаються пневмонія й дихальна недостатність, гнійно-запальні

ускладнення, тромбоемболія легеневої артерії, а також самогубство і вбивство (“*suicide and homicide*”) [1]. При цьому у країнах з низьким чи середнім рівнем доходів на душу населення лише 5–15 % спінальних пацієнтів мають доступ до повного спектру засобів, що полегшують життя та самообслуговування [57].

ТрСМ є причиною ряду ускладнень, котрі істотно погіршують якість життя і збільшують щорічні витрати, пов’язані із лікуванням і доглядом за постраждалими [2, 3]. Найпоширеніші із них — спастичність [58, 59], хронічний біль [60], розлади вегетативної регуляції [61] і пов’язані з цим порушення функції серцево-судинної [62], травної [63], сечової [64] і статеві систем [65], а також, ймовірно, афективні [66, 67] і когнітивні розлади [68].

Серед усіх випадків ТрСМ виділяють ізольовану травму хребта, ізольоване ушкодження спинного мозку і, найпоширеніше, поєднане ушкодження хребта і спинного мозку [69]. Більшість випадків ТрСМ з патоморфологічної точки зору класифікуються як забиття, стиснення чи розчавлення спинного мозку [69]. Окрім закритої, трапляється також відкрита ТрСМ, серед випадків якої виокремлюють проникні та непроникні ушкодження [69]. Відкрита проникна ТрСМ у мирний час характерна для чоловіків молодого віку [73], причому її частота, найімовірніше, суттєво більша під час збройних конфліктів [74]. Механізм ушкодження спинного мозку при такій формі ТрСМ включає пряму механічну дію, комоційний та кавітаційний компоненти [75]. Мабуть, найчастішою її патоморфологічною формою є одна із ключових під час збройних конфліктів [70] і у експериментальній нейрохірургії [7] — лацераційна ТрСМ [71, 72].

Базовий лікувальний алгоритм при ТрСМ у найгострішому періоді на догоспітальному етапі включає підтримання життєво важливих функцій організму, іммобілізацію хребта, зупинку кровотечі, системне уведення метилпреднізолону, анальгетиків і седативних препаратів, катетеризацію сечового міхура і його спорожнення [69]. На госпітальному етапі консервативне лікування включає використання стероїдних протизапальних засобів, протинабрякову, антиоксидантну та нейропротективну терапію [76], спорожнення нижніх відділів товстої кишки, а також сигмовидної і прямої кишки. Ургентне хірургічне

втручання показане при будь-яких нестабільних травмах хребта або у випадку неврологічно значимого ушкодження спинного мозку сторонім тілом чи уламком хребця і включає термінову декомпресію спинного мозку, реконструкцію і стабілізацію хребта [69, 76, 77]. Подальший догляд і лікування пацієнтів з ТрСМ спрямовані на попередження численних ускладнень і, зазвичай, носять консервативний характер [69].

1.2. Патолофізіологія травми спинного мозку і посттравматичної спастичності

Як уже зазначалося, причиною характерного неврологічного дефіциту при ТрСМ є ушкодження довгих нервових волокон у ділянці травми, котрі інервують еферентні нейрони передніх і бічних рогів спинного мозку, розташовані нижче епіцентру травми, й каудальні вегетативні парасимпатичні центри. Патогенез ТрСМ включає ряд здебільшого послідовних процесів [6, 7]: первинне руйнування нервових волокон, клітин і судин спинного мозку у епіцентрі травми й формування спінального шоку; вторинне ушкодження клітин і волокон перифокальної зони внаслідок розгортання запалення, відтерміновану апоптотичну загибель клітин перифокальної зони та дистатних ділянок мозку; поступову елімінацію спінального шоку і формування надмірної збудливості нейронів спинного мозку з маніфестацією спастичності, хронічного больового синдрому та регіонарної вегетативної дизрефлексії; ремієлінізацію нервових волокон і реінервацію каудальніше розташованих нейронів за участю супраспінальних і пропріоспінальних нейронних мереж чи шляхом регенераційного росту перетнутих аксонів; організацію зони травми, формування хронічної прогресуючої мієлопатії [78] і квазіенцефалопатії [79]. Перелічені тканинні процеси регулюються широким спектром факторів міжклітинної взаємодії, зокрема, цитокінами [80] і деякими факторами росту [81].

Попри це, на даний час детально описано певне самовільне відновлення функцій спинного мозку людини і експериментальних тварин [10, 11, 82, 83]. Так, близько 20 % спінальних пацієнтів категорії AIS¹-А протягом першого року після травми переходять у іншу клінічну категорію [44], або ~4–10 % пацієнтів категорії AIS-А у період після першого місяця ТрСМ переходять у категорію AIS-В [46]. Аутогенне відновлення функцій спинного мозку, котре не пов'язане із регресом спінального шоку, найімовірніше, забезпечується пластичністю нейронних мереж [12–14, 84–88] на супраспінальному [12, 13, 84, 86, 87] і спінальному [13, 14, 84, 85, 88] рівнях, зокрема, за участю власних нейронів спинного мозку [8, 14, 88].

І все ж, самовільне відновлення втрачених внаслідок спінальної травми функцій обмежене, у першу чергу, через пригнічення регенераційного росту аксонів у епіцентрі організації. Причинами такого обмеження є постаксонотомічний апоптоз нейронів [8], пригнічення олігодендрогенезу у ділянці травми спинного мозку [9], експресія у товщі рубця репелентів аксональних конусів росту [6] тощо.

Стосовно динаміки відновлення рефлекторної активності спинного мозку після ТрСМ виділяють 4 фази [89]: 1) арефлексії/гіпорефлексії (*перша доба*); 2) денерваційної гіперчутливості мотонейронів (*2–4-та доба*), поступового відновлення глибоких сухожилкових і шкірних рефлексів, а також електронейрографічного Н-рефлексу з великогомілкового нерва, появи симптому Бабінського; 3) формування типової клінічної картини центрального парезу (*4–5-та доба — кінець 1-го місяця*); 4) формування посттравматичної спастичності, хронічного больового синдрому, вегетативної дисфункції на тлі певного відновлення рухової функції і чутливості (*2–12-ий місяць*).

На даний час можна припускати, що спінальний шок є наслідком зникнення серотонінергічних і норадренергічних низхідних стовбурових впливів, котрі у нормі забезпечують так звану "*платоподібну*" деполяризацію клітинної мембрани мотонейрона. Без такої деполяризації жодні глутаматергічні впливи на мотонейрон — від сегментарних аферентів чи від кірково-спинномозкових

¹ ASIA (*American Spinal Injury Association*) Impairment Scale.

волокон — не в змозі ініціювати потенціал дії. Випереджуючи матеріал, зазначимо, що згодом, під впливом запальних реакцій нижче рівня травми у мотонейронах суттєво зменшується активність й експресія деамінази ADAR2 (*adenine deaminase acting on RNA 2*), котра у нормі редагує пре-мРНК серотонінових рецепторів 5-HT_{2C}: нередатовані форми згаданих рецепторів володіють високою афінністю до медіатора або й узагалі самоактивацією [90]. У цьому вбачають один із найважливіших механізмів формування спастичності (див. далі).

Спастичність — розлад функції денервованої еферентної ланки рухового апарату у межах синдрому центрального парезу, для якого характерне посилення міотатичних рефлексів (*J.B. Nielsen та співавт., 2007*). Цей відомий патологічний стан виявляють у 45–78 % спінальних хворих [58, 59]; його ступінь оцінюють за шкалою Ashworth [91] і електронейроміографічно — як збільшення співвідношення амплітуд Н- і М-відповіді [92, 93]. Хоча обидва методи мають ряд істотних недоліків (див. п. 4.4.3).

Стосовно механізмів спастичності свого часу було висунуто ряд гіпотез, наприклад, дефіциту постактиваційної депресії чи пресинаптичного гальмування [90, 94], пригнічення дисинаптичного реципрокного Іа-залежного гальмування [58, 94], зменшення зворотнього [58] чи аутогенного (*Ib-залежного*) гальмування [94] тощо. На даний час увага більшості оглядачів зосереджена на медіаторних механізмах формування розладу, наприклад, на глутаматергічному [95], ГАМК-ергічному [95–97] і, особливо, на серотонін- та норадренергічному.

Приміром, як уже побіжно відмічалось, встановлено, що у випадку спастичності мотонейрони набувають здатності генерувати "плато-подібні" деполяризаційні потенціали незалежно від серотонін/норадренергічних супраспінальних впливів [98], найімовірніше, у відповідь на глутаматергічну стимуляцію сегментарними аферентами спинного мозку [90]. Найбільш поширеними на поверхні мотонейрона, ймовірно, є рецептори 5-HT_{2A} (*5-hydroxytryptamine receptor 2A*) і 5-HT_{2C}. Пре-мРНК 5-HT_{2C} зазнає альтернативного сплайсингу [99], а також редагування деаміназою ADAR2 і, можливо, інтерферон-

γ -залежною деаміназою ADAR1 [100, 101]. В залежності від комбінацій місць деамінування можливе утворення численних варіантів мРНК і амінокислотної послідовності рецептора. Нередугований варіант володіє значною конституційною та ліганд-залежною активністю [102]; редугування ж, навпаки, призводить до зменшення чутливості до серотоніну [100]. В нормі експресія та активність ADAR2 у тканині спинного мозку значна, за спінальної травми — суттєво зменшується, у тому числі, ймовірно, і у мотонейронах [100], причому, у зв'язку із розгортанням локального запалення [100]. Це й розглядають як можливий молекулярний механізм спастичності: зниження експресії ADAR2 реєструють на 8-му тижні після моделювання спінальної травми [100], збільшення експресії 5-HT_{2C} мотонейронами спостерігають не раніше 14-ї доби, причому, достовірно — не раніше 45-ї доби [103]. Іншими словами, при спастичності вірогідна трансформація серетонінового рецепторного апарату мотонейронів у бік експресії конституційно активних і водночас надмірно чутливих до ліганду форм 5-HT_{2C}, що обумовлює полегшення генерування "плато-потенціалів" у відповідь на триваючу сегментарну стимуляцію аферентами спинного мозку. Зазначимо, що у людини прямі докази існування такого механізму спастичності з очевидних технічних причин на даний час отримати неможливо [104]. Схожу роль у патогенезі спастичності вбачають також і для норадреналіну [105].

На даний час однозначна відповідь на питання щодо синтезу обох медіаторів у спинному мозку відсутня [106, 107]. Однак, навіть якщо після ТрСМ такий синтез існує на мінімальному рівні, в умовах високої афінності нередугованих форм рецепторів до лігандів [103] це могло б бути істотним фактором формування спастичності.

Іншим важливим елементом патогенезу хронічного больового синдрому, спастичності та синдрому вегетативної дисфункції після ТрСМ є пластичність нейронних мереж [108–110]. І крім того, ймовірним кандидатом у механізми спастичності є збільшення активності ноцицептивних мереж спинного мозку [111–113]: на рівні прояву посттравматичної спастичності виявлено істотне збільшення стимуляційного впливу на збуджувальні інтернейрони драглистої

речовини спинного мозку, зменшення — на гальмівні [111]. Враховуючи наявність мережеских зв'язків між нейронами драглистої речовини і мотонейронами, в умовах спінальної травми можлива реалізація спільного патогенетичного механізму спастичності і больового синдрому — тривалого збільшення збуджувальної активності у спінальних мережах ноцицептивної системи [111].

Нарешті, у патогенезі спастичності певну роль можуть відігравати так звані ліквор-контактувальні нейрони — непересічні субпендимарні нейроцити мозку [114–116], котрі контактують з церебро-спінальною рідиною і відсилають поширені, повністю нерозкриті проєкції на мережі головного й спинного мозку, продукують катехоламіни й серотонін [117], а тому можуть розглядатися як джерело цих медіаторів нижче рівня ТрСМ. З такої точки зору істотне значення у патогенезі спастичності має зміна ліквородинаміки, фізичних властивостей і складу ліквору.

1.3. Відновне лікування травми спинного мозку

Попри можливість певної аутогенної регенерації [10, 11, 82, 83], задовільне відновлення функції спинного мозку при тяжкій ТрСМ у ссавців і, тим більше, у людини — явище рідкісне [10, 11] і пов'язане, як уже зазначалося, з реалізацією пластичності нейронних мереж [84–88]. Оскільки найістотнішою для формування клінічної картини ТрСМ у більшості випадків є руйнування довгоаксонних низхідних проєкцій головного мозку, при локалізації вогнища травми поза зонами рухової інервації кінцівок першочеговим завданням відновного лікування є відтворення супраспінальної інервації мотонейронів і еферентних нейронів регуляції функції тазових органів. Вирішення цього завдання вбачають у створенні засобів стимуляції пластичності нейронних мереж мозку [15–19, 76,

118–120], а також у протезуванні функції тієї чи іншої частини рухової системи [120–122].

Найвідомішим засобом першого із двох зазначених підходів є тканинна нейроінженерія, котра ґрунтується на створенні умов для пригнічення вторинної альтерації нервових структур, а також — для стимуляції регенераційного росту аксонів у травмованому сегменті спинного мозку [15–19, 76, 118–120]. Перспективними нейроінженерними засобами відновного лікування ТрСМ на даний час є трансплантаційні та молекулярно-генетичні втручання, спрямовані на стимуляцію росту аксонів через зону травми, їх мієлінізацію, нівелювання впливу факторів, що пригнічують аксоногенез. Зважаючи на превалювання серед морфологічних видів ТрСМ забиття і стиснення, такі засоби можна було б імплантувати у епіцентр травми лише після видалення ушкодженої речовини спинного мозку чи конгломерату уже сформованого рубця. Додатково мотивує розробку нейроінженерних засобів той факт, що існування довільної крокової локомоції у кішки корелює зі збереженням лише 10 % поперечного перерізу білої речовини спинного мозку, у мавпи задовільне відновлення функції задніх кінцівок спостерігають при збереженні 25 %, а у людини — менш ніж 50 % поперечного перерізу спинного мозку [123].

У недавньому минулому у якості одного із перших засобів такого типу активно досліджувалася тканинна нейротрансплантація [124–127]. Зокрема, було з'ясовано, що алотрансплантація тканини зрілої нюхової цибули, фетального мозочка чи фетальної нирки у ділянку бічного половинного перетину спинного мозку дорослого щура у цілому не призводить до істотного покращення рухової функції задньої паретичної кінцівки, однак, суттєво впливає на динаміку відновного процесу і спастичності [128–136]. Так, алотрансплантація фрагменту зрілої нюхової цибулини у ранньому періоді травми забезпечує достовірне збільшення показника функції паретичної кінцівки протягом першого місяця з подальшим поступовим зменшенням до 7-го місяця спостереження [128]. Алотрансплантація фрагмента фетального мозочка перетворює рівень рухової функції паретичної кінцівки у константний [131], а алотрансплантація фрагмента

фетальної нирки помірно прискорює відновлення рухової функції протягом першого місяця, однак у довгостроковій перспективі не впливає на перебіг і результат відновного процесу [129]. У будь-якому випадку, виявлені тимчасові позитивні ефекти тканинної нейротрансплантації можна пов'язувати з гліогенною спроможністю трансплантату, факторним впливом на мотонейрони верхніх поперекових сегментів та на пропріоспінальні нейрони, за участю яких теоретично можуть налагоджуватися альтернативні шляхи низхідної передачі збудження.

У той же час виявлено, що алотрансплантація фрагменту зрілої нюхової цибулини у ділянку бічного половинного перетину спинного мозку дорослого щура через 2 тиж істотно зменшує спастичність на рівні розташованих дистальніше від місця травми каудальних сегментів спинного мозку і потенціює розвиток спінальної дизрефлексії та спастичності у прилеглих до зони травми каудальних сегментах [130]. Алотрансплантація фрагменту фетального мозочка обумовлює ранній дебют спастичності і достовірно збільшує її рівень на перших трьох тижнях спостереження [135]. Алотрансплантація фрагменту фетальної нирки теж істотно потенціює спастичність протягом перших двох тижнів спостереження [132]. Як і у випадку рухової функції, у довготривалій перспективі вплив усіх трьох видів тканинної нейротрансплантації на рівень спастичності несуттєвий. Загалом, можна стверджувати, що протягом першого місяця негайна алотрансплантація фрагменту фетального мозочка у зону бічного половинного перетину спинного мозку дорослого щура потенціює спастичність, тоді як алотрансплантація фрагменту зрілої нюхової цибулини — пригнічує спастичність [136]. Це корелює з медіаторним фенотипом нащадків нейрогенних клітин двох зазначених зон інтактного мозку — переважно глутаматергічним (*фетальний мозочок*) і переважно ГАМК-ергічним (*нюхова цибулина*) [136].

Протягом останніх двох десятиліть активно досліджується ефективність відновного впливу аморфних пористих риштувань, або матриксів різної хімічної структури, котрі через характерні фізико-хімічні властивості у літературі отримали назву гідрогелів. Найчастіше вітворюваний дизайн експериментальної

апробації таких засобів — негайна імплантація у ділянку лацераційної травми спинного мозку. У якості базових речовин, з яких формують матрикси для лікування ТрСМ, найвідомішими є альгінат, агароза, колаген, фібронектин, фібрин, матригель (*matrigel*), гелланова камедь (*англ.* — *gellan-gum*), полілактат, полілактаткогліколат (*poly(lactic-co-glycolic acid)*), поліетиленгліколь (*poly(ethylene glycol)*), полігідроксиетилметакрилат (*poly(2-hydroxyethyl methacrylate)*), полігідроксипропілметакрилат (*poly(hydroxypropyl methacrylate)*), полігідроксипропілметакриламід (*poly(N-[2-hydroxypropyl]-methacrylamide, PHPMA)*) [16, 17, 18, 19, 30–38, 118].

Одним із перспективних матриксів є макропористий РНРМА-гідрогель [30–38]. Попередні дослідження виявили позитивний ефект негайної імплантації РНРМА-гідрогелю на моделі повного перетину з висіченням двохміліметрового фрагменту спинного мозку дорослого щура (*лінія Sprague-Dawley, 200-250 г*) на рівні хребця Т₉ [31, 32], на моделі повного перетину з висіченням трьохміліметрового фрагменту спинного мозку дорослого щура (*лінія Sprague-Dawley, 200-250 г*) на рівні хребця Т₅ [34], на моделі бічного половинного перетину спинного мозку новонародженого щура на рівні хребця Т₁₀ [34], на моделі повного перетину з висіченням трьохміліметрового фрагменту спинного мозку дорослої кішки на рівні хребців Т₆–Т₇ [33, 36]. Схожі результати отримано також після відтермінованої імплантації РНРМА-гідрогелю через 14 тиж після 5-хвилинної компресійної ТрСМ дорослого щура (*лінія Sprague-Dawley, 200–250 г*) на рівні хребців Т₈/Т₉ у порожнину після видалення серцевини зони післятравматичної організації спинного мозку [35] і після висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку довжиною 3 мм у дорослого щура (*лінія Wistar Hanover, 250 г*) на рівні хребця Т₅ [37] чи довжиною 1 мм у дорослого щура (*лінія Sprague Dawley, 8 тиж*) на рівні хребця Т₁₀ [38]. При цьому, оцінку рухової функції паретично кінцівки згідно зі шкалою Basso–Beattie–Bresnahan (BBB) здійснювали на моделі відтермінованої імплантації РНРМА-гідрогелю у ділянку висічення посттравматичного рубця спинного мозку дорослого щура на рівні хребців Т₈/Т₉ (*лінія Sprague-Dawley, 200–250 г*) [35], а також на моделі висічення

бічного половинного фрагменту спинного мозку довжиною 1 мм у дорослого щура (лінія *Sprague Dawley*, 8 тиж) на рівні хребця T₁₀ [38] і на моделі бічного половинного перетину спинного мозку дорослого щура у нижньогрудному відділі [39, 40], у тому числі у випадку попередньої асоціації РНРМА-гідрогелю з алогенними стовбуровими клітинами різного фенотипу [41–49].

Загалом, припускають, що кращі результати відновного лікування ТрСМ можна отримати при імплантації гідрогелів, асоційованих зі стовбуровими чи прогеніторними клітинами [16–19]. Мабуть, найперспективнішим на даний час є використання для таких цілей лінійно впорядкованих, або тунельованих матриксів [19], асоційованих з прогеніторами [50] чи зі спрямовувачами росту аксонів [51].

Попри це, очевидно, що у випадку забиття чи стиснення спинного мозку єдиним реалістичним засобом відновного нейрохірургічного лікування залишається локальна клітинна трансплантація у речовину спинного мозку [137, 138] і/або факторна векторизація росту аксонів через зону травми [139, 140] поряд з нівелюванням дії тканинних репелентів [6, 76, 141]. Перелік клітин, ефективність ізольованої трансплантації яких при ТрСМ доведено в умовах експерименту на нижчих ссавцях, включає нейрогенні і мезенхимальні стовбурові клітини різного походження, стовбурові клітини нервового гребня, нюхові огортаючі гліоцити, олігодендрогліальні і ендотеліальні прогенітори, олігодендроцити, шванівські клітини тощо [137, 138].

На даний час у якості клітинної складової нейроінженерних засобів при ТрСМ найінтенсивніше досліджуються мезенхимальні стовбурові клітини різного походження [137, 142, 143], позитивний ефект яких пов'язують з патотропним хомінгом [3], рідкісним *in vivo* явищем нейрогенного трансдиференціювання [3, 144–148], зі здатністю до злиття з клітинами спинного мозку [149], мікровезикулярними [119, 150, 151], факторними [3] чи контактними [3, 152] впливами на регенерацію ушкоджених нервових волокон спинного мозку [138]. З'ясовано, що трансплантація клітин цього фенотипу без використання супутніх нейроінженерних засобів покращує рухову функцію паретичних

кінцівок щура на моделі забиття чи стиснення спинного мозку у середньому на 3,9 балів за шкалою BBB, тобто на 20 % від об'єму функції інтактної задньої кінцівки [3]. Однак, аналіз деяких експериментальних робіт такого дизайну [153] дозволяє стверджувати, що ефективність трансплантації прогеніторів у формі суспензії є дискусійною, оскільки шкала BBB не виявляє значущого збільшення рухової функції на тлі втручання.

З точки зору доступності оптимальним джерелом незрілих клітин для тканинної нейроінженерії є стовбурові клітини, похідні нервового гребня, зокрема, кістково-мозкового [154] та епідермального фолікулярного [155] походження. Останні розташовані у так званому валику бруньки волосяного фолікула (*особливе потовщення піхви волосяного фолікула; англ. — hair follicle bulge*), у точці прикріплення м'язу, котрий піднімає волосину.

Ефективність ізольованої трансплантації нейрогенних стовбурових клітин (НСК) на різних моделях ТрСМ вивчається протягом останніх 15-ти років [137]. Суттєвим недоліком цього компоненту нейроінженерних засобів є його важкодоступність (*див. [156]*). Тим не менше, у контексті експериментальних досліджень, ефективність трансплантації НСК через генеалогічну близькість до нервової тканини спинного мозку можна було б розглядати як еталонну.

Здійснений нещодавно цикл робіт, присвячений вивченню ефективності трансплантації різних видів стовбурових клітин у комплексі з аморфним макропористим РНРМА-гідрогелем [41–49], з обмеженою достовірністю виявив, що імплантація у зону травми РНРМА-гідрогелю, асоційованого з ксеногенними НСК, суттєво збільшує ранній нейропротективний вплив матриксу і подовжує тривалість періоду істотного збільшення рухової функції паретичної кінцівки. Ксенотрансплантація стовбурових клітин кісткового мозку у асоціації з РНРМА-гідрогелем подовжує значуще збільшення рухової функції паретичної кінцівки. У той же час, ксенотрансплантація стовбурових клітин, похідних нервового гребня, у поєднанні з макропористим гідрогелем попри збільшення приросту рухової функції обумовлює її регрес у віддаленому періоді травми. Кожен з перелічених видів клітинної ксенотрансплантації істотно змінює динаміку спастичності, не

впливаючи на її рівень у порівнянні з випадками імплантації "порожнього" РНРМА-гідрогелю. При цьому трансплантовані клітини виживають і диференціюються по нейрональному фенотипу, а сам матрикс пронизується потужними розростаннями нервових волокон реципієнтного спинного мозку.

Стосовно властивостей поліетиленгліколю і його хімічних модифікацій у трансплантаційній перспективні (*біосумісність, нетоксичність, здатність до біодеградації тощо*) на даний час накопичено значну кількість інформації [118]. У якості основних механізмів позитивного впливу матриксів на основі цієї речовини у лікуванні експериментальної ТрСМ відомо, що поліетиленгліколь, володіючи гідрофільними сурфактантними властивостями, сприяє злиттю клітинних мембран, їхній плинності (*fluidity*) [118], чим, ймовірно, усуває наслідки механічного ушкодження мембран клітин і аксонів. Крім того, у гострому періоді ТрСМ поліетиленгліколеві імплантати пригнічують дегенерацію нервових волокон, створюють сприятливе оточення для їхньої регенерації, стимулюють ангиогенез, пригнічують утворення гліозного рубця, стимулюють регенераційний ріст аксонів і формування синапсів із клітинами спинного мозку [118]. Одним із важливих факторів такого впливу поліетиленгліколю є його добра проникність для численних регуляторів тканинних процесів [118].

Слід зазначити, що попри обнадійливі результати численних експериментальних досліджень ефективності відновного лікування ТрСМ, проблема їхньої клінічної трансляції залишається однією із засадничих [16, 157–165]: часто дані, отримані в умовах експерименту на тваринах, не отримують клінічного підтвердження [26]. Це, з одного боку, свідчить про низьку ефективність апробовуваних засобів, з іншого — демонструє необхідність стандартизації дослідницьких протоколів [26, 27].

У цьому сенсі слід зауважити, що найближчі до клінічних умов моделі ТрСМ — забиття чи компресії спинного мозку [158–160, 167], при відтворенні на нижчих ссавцях характеризуються значним самовільним відновленням рухової функції паретичних кінцівок [167]. Одноманітності неврологічного дефіциту за

такого виду ТрСМ можна досягнути хіба що збільшенням тяжкості ушкодження (див. [168]). Модель повного перетину — доволі проста у виконанні [7], характеризується високою відтворюваністю, одноманітністю неврологічного дефіциту й суттєво низьким аутогенним відновленням рухової функції (див., *приміром*, [20, 83]). Цим вона найбільш компліментарна дослідженням ефективності цільних об'ємних нейротрансплантаційних засобів [7]. Однак, її відтворення є етично неприйнятним, оскільки супроводжується значними стражданнями експериментальних тварин і вимагає наявності якісного ветеринарного супроводу. У цьому сенсі модель бічного половинного перетину видається компромісною. Проте, її недоліком є значне аутогенне відновлення спинного мозку щура [21–24], що поряд з істотними мікрохірургічними вимогами і неможливістю інтраопераційної оцінки точності перетину перетворює модель у проблематичну. Отже, проблема оптимальної моделі ТрСМ для апробації нейроінженерних засобів лікування цієї патології залишається невирішеною (див. *далі*).

Альтернативним напрямком відновлення втрачених внаслідок ТрСМ спроможностей пацієнта є біонічне протезування з використанням так званих "*екзоскелетів*". Не дивлячись на успішний розвиток [120–122], широкий вжиток цієї технології гальмується рядом практичних умов, наприклад, необхідністю збереження мінімальної усвідомленої рухової активності паретичних кінцівок і оптимізації функції тазових органів у пацієнта, а також потребою у нівелюванні спастичності.

Інший важливий напрямок відновного лікування ТрСМ — фізична нейрореабілітація із залученням роботизованих тренажерів, методології "*нейрозворотнього зв'язку*" та інших засобів збільшення усвідомленої рухової активності паретичних кінцівок. Відомими засобами цієї категорії є заняття на кроковій доріжці з частковим підтриманням маси пацієнта, силовий тренінг максимальної інтенсивності, пропріоцептивне нервово-м'язове полегшення, іпотерапія, гідротерапія тощо [90]. Основними механізмами позитивного впливу засобів фізичної нейрореабілітації слід вважати вплив пасивної рухової

активності на зменшення спастичності та збільшення об'єму й сили довільних рухів паретичної кінцівки [169], збільшення мотивації пацієнта шляхом демонстрації йому показників успішності у режимі реального часу тощо. На думку деяких дослідників, найефективнішим засобом зменшення спастичності та покращення довільної рухової активності є використання реабілітаційного лікування з моделюванням типових для звичної локомоції рухів [90]. Важливо також, що засоби фізичної нейрореабілітації чинять позитивний вплив на перебіг автономної дизрефлексії при ТрСМ, наприклад, її судинного компонента [170].

Не викликає сумніву, що найперспективнішим напрямом відновного лікування ТрСМ є поєднання підходів тканинної нейроінженерії і фізичної реабілітації [163]. Однак, їх узгодження у межах комплексної схеми лікування є далеко нетривіальним завданням. Приміром, відомо, що нейроінженерні втручання збільшують частку серотонінергічних волокон каудальніше рівня травми спинного мозку [171]. На тлі надмірної чутливості рецепторів 5-НТ_{2C} денервованих мотонейронів такий результат може поглиблювати посттравматичну спастичність, що істотно впливатиме на результат лікування. Отже, з'ясування динаміки спастичності повинно входити до кола обов'язкових завдань преклінічного дослідження будь-якого нейроінженерного засобу відновного лікування ТрСМ.

1.4. Проблема оптимальної моделі травми спинного мозку

Як уже зазначалось, пошук ефективних засобів відновного лікування ТрСМ увиразнив відому біомедичну проблему — незадовільну клінічну трансляцію даних, отриманих у експериментах на тваринах чи на інших біологічних об'єктах [7, 25, 26]. Ймовірно, чільною причиною цієї проблеми є нерелевантність моделей досліджуваних патологічних процесів [7, 26–29]. Приміром, найпоширенішою патоморфологічною формою ТрСМ у клінічних умовах є забиття [7, 28, 29, 160],

однак використання цільних об'ємних (*солідних*) імплантатів при такому виді травми можливе лише за умови, що їхній відновний вплив гарантовано перевищуватиме найуспішнішу аутогенну регенерацію спинного мозку. Тобто, позитивний вплив імплантату перевищуватиме шкоду від видалення післятравматичного рубця під час формування ложа для імплантації. Саме тому в умовах експерименту лацераційні моделі ТрСМ залишаються безальтернативними [7]. Як уже зазначалося, модель повного перетину спинного мозку, попри технічну простоту [7], має перестороги біоетичного і ветеринарного характеру, а модель одностороннього половинного перетину (ОПП), або латеральної гемісекції спинного мозку у нижчих ссавців характеризується значним аутогенним відновленням рухової функції паретичної кінцівки [7]. Стосовно останньої особливості, базове дослідження [21] показало, що при виконанні ОПП на рівні T₁₃ у молодих щурів-самців масою 100–125 г функція задньої іпсилатеральної кінцівки на 35-ту добу сягала 15-ти (*лінія Long–Evans*), 16-ти (*лінія Wistar*) і 17-ти (*лінія Sprague–Dawley*) балів за шкалою BBB. Схожі результати отримано й іншими групами [22–24]. Результати аутогенного відновлення рухової функції після так званої дорзальної гемісекції спинного мозку щура схожі [172]. При ушкодженні кірково-спинномозкового шляху щура відновлення до рівня 13-ти балів за шкалою BBB спостерігають уже протягом першого тижня, руброспинального шляху — протягом 7-ми тиж після травми [172]. Ушкодження інших низхідних шляхів супроводжується неврологічним дефіцитом, котрий суттєво регресує протягом першого місяця [172], за виключенням випадку руйнування сітчасто-спинномозкового шляху [172]. Цей шлях у щурів розташований у вентролатеральній частині білої речовини спинного мозку і відіграє ключову роль у генеруванні крокової локомоції [172]. Приміром, збереження навіть менш ніж 5 % площі білої речовини вентролатерального пучка білої речовини спинного мозку щура на рівні T₉–T₁₁ є передумовою істотного відновлення локомоторної функції задньої кінцівки [172, 173].

Сумнівно, щоб описані у літературі приклади швидкого відновлення функції паретичної кінцівки щура після ОПП були наслідком компенсаторної перебудови

внутрішньоспінальних зв'язків чи росту низхідних аксональних закінчень *de novo*, оскільки такі механізми регенерації зазвичай реалізуються на більших часових інтервалах [174, С. 428–429]. Тому, вповні можливо, що при виконанні описаних варіантів ОПП найлатеральніше і вентральніше розташовані волокна (*передусім, сітчасто-спинномозкового шляху*) залишалися фізично інтактними і знавали лише вторинного, приміром, демієлізаційного ушкодження. У протилежному випадку, повнота перетину іпсилатеральної половини спинного мозку при моделюванні ОПП абсолютна, а самовільне відновлення низхідної інервації мотонейронів паретичної кінцівки при ОПП відбувається завдяки пропріоспінальним нейронам контрлатеральної частини спинного мозку [174, С. 427–428]. Приміром, на 40-ву добу після виконання ОПП ($n=5$) на рівні хребця C_3 без супутніх морфологічних ознак ушкодження контрлатеральної частини спинного мозку у дорослих щурів–самок рівень рухової функції задньої іпсилатеральної кінцівки складав 21 бал за шкалою ВВВ [22], а після виконання ОПП на рівні хребців T_9 – T_{10} ($n=4$) з морфологічними ознаками парамедіанного ушкодження контрлатеральної частини спинного мозку — сягав лише 15-ти балів за шкалою ВВВ. У іншій праці [23] станом на 42-гу добу після ОПП на рівні сегменту спинного мозку T_{10} фіксували рівень рухової функції задньої іпсилатеральної кінцівки на рівні 13–14-ти балів за шкалою ВВВ, причому протилежна частина спинного мозку теж зазнавала ушкодження, оскільки цей же показник задньої контрлатеральної кінцівки протягом першого тижня після моделювання травми був вкрай низьким, збільшуючись з ~5-ти до 15–16-ти балів за шкалою ВВВ. Зауважимо, що низькі значення рухової функції задньої контрлатеральної кінцівки можна теоретично пов'язувати з нерелевантністю шкали ВВВ на тлі бічного половинного перетину, про що йтиметься у п. 4.4.3. Якщо ж ні — ураження контрлатеральної частини спинного мозку на рівні виконання ОПП таки має місце і відбувається первинно, вторинно або внаслідок ушкодження судин з контрлатеральним поширенням полів васкуляризації.

Поряд з цим, у експериментальній нейрохірургії використовується інша модель лацераційної ТрСМ — висічення (*excision* [175, 176]) його бічного

половинного фрагменту. Аутогенне відновлення рухової функції паретичної кінцівки щура за таких умов менше. Приміром, після висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку довжиною 3 мм у дорослого щура на рівні T₈ через 8 тиж реєстрували рухову функцію задньої іпсилатеральної кінцівки на рівні ~6 балів за шкалою BBB [177]. У іншому дослідженні [178], після висічення половинного фрагменту спинного мозку довжиною 2 мм на рівні хребців T₉–T₁₀ у дорослого щура рівень рухової функції задньої іпсилатеральної кінцівки станом на 70-ту добу після травми відповідав ~4.8 балам BBB (*причому автори подають ознаки дефіциту рухової функції задньої контрлатеральної кінцівки станом на 30-ту добу спостереження*). Дещо відмінні результати висвітлено в уже цитованій нами праці [38]: у дорослих щурів через 14 тиж після однобічного одноміліметрового висічення спинного мозку на рівні T₁₀ рухову функцію задньої іпсилатеральної кінцівки оцінювали на рівні ~9-ти балів BBB. Існують і зовсім ексцентричні дані [179]: через 55 діб після висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку дорослого щура довжиною 1–2 мм на рівні хребців T₇–T₉ самовільне відновлення рухової функції задньої іпсилатеральної кінцівки сягало 11-ти балів BBB. При цьому автори спостерігали значний руховий дефіцит задньої контрлатеральної кінцівки: на 56-ту добу після травми рівень її рухової функції складав ~15 балів BBB.

З хірургічної точки зору обмеженіше аутогенне відновлення рухової функції при висіченні бічного половинного фрагменту спинного мозку можна інтерпретувати у контексті повноти перетину низхідних волокон: при висіченні, на відміну від звичайного половинного перетину, розкривається і добре візуалізується епіцентр травми, що полегшує виявлення залишків неперетнутої речовини спинного мозку. Альтернативне пояснення, на наш погляд, полягає у тому, що для налагодження низхідної передачі нервових імпульсів "в обхід" ділянки травми залучаються перш за все короткоаксонні пропріоспінальні нейрони (*див.* [180]). Отже, якщо роство-каудальна довжина епіцентру травми перевищує поле інервації цих нейронів, ймовірність аутогенного відновлення шляхів низхідної передачі кіркових впливів істотно зменшується. Можливо,

преферентне залучення у таких випадках саме інтернейронів з малою площею власних полів інервації пов'язане з найбільшим розміром їхньої популяції, що потребує окремого експериментального з'ясування.

Висновки до розділу 1

1. ТрСМ є кумулятивною патологією з низькою річною захворюваністю і значною поширеністю, котра торкається здебільшого осіб працездатного віку, зазвичай спричиняє пожиттєву інвалідизацію і обумовлює істотні фінансові витрати, спрямовані на лікування й догляд за постраждалими, трансформацію громадської інфраструктури тощо.

2. Найперспективнішим засобом відновного нейрохірургічного лікування ТрСМ є нейроінженерне створення умов для регенераційного росту невових волокон через або мимохідь епіцентру травми.

3. Оптимальною моделлю ТрСМ для вивчення ефективності таких засобів слід вважати висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку щура.

4. Попри тривале дослідження ефективності аморфних пористих матриксів у лікуванні ТрСМ, на даний час існують поодинокі праці, у яких з'ясовано відновний потенціал РНРМА-гідрогелю.

5. Серед існуючої літератури описано нечисленні спостереження стосовно відновних властивостей тунельованих лінійних матриксів останнього покоління.

6. Враховуючи усталене переконання стосовно залежності регенераційного потенціалу нервової системи від віку організму [52, 53], доцільно здійснити комплексний порівняльний аналіз ефективності імплантації РНРМА-гідрогелю і тунельованого матриксу на основі поліетиленгліколя у відновному лікуванні лацераційної ТрСМ тварин молодого віку.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Дизайн дослідження

2.1.1 Експериментальні тварини і біоетичний регламент дослідження.

Дослідження виконано на 44² білих безпородних щурах, інбредних похідних лінії *Wistar* віварію ІФ НАНУ, віком ~1 міс, масою — ~50 г³. Тварини утримували при температурі середовища 18–22° С за природнього циркадного світлового циклу, харчування збалансованим комбінованим кормом *ad libitum* і перманентного вентиляювання приміщення.

Біоетичний регламент дослідження сформовано з урахуванням Директиви "Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes"⁴, Конвенції "European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes"⁵ (1986) та Закону України №3447-IV "Про захист тварин від жорстокого поводження"⁶ (2006).

Біоетичний регламент дослідження схвалено Комісією з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень НМУ (протокол № 114 від 10.10.2018 р.).

² У зазначену сукупність не зараховано тварини, котрі загинули на етапі операції чи у післяопераційному періоді; кількість таких тварин була невеликою й спеціально не фіксувалася. До зазначеної сукупності також не зараховано тварини, котрі після моделювання травми відповідали критеріям невключення (*див. п. 2.5*).

³ Масу тварини вимірювали щоразу для розрахунку індивідуальної дози наркотичних препаратів, однак обидва біометричні показники спеціально не фіксували.

⁴ <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/cc3a8ccb-5a30-4b6e-8da8-b13348caeb0c/language-en>.

⁵ <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A21999A0824%2801%29>.

⁶ <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text>.

2.1.2. Експериментальні групи.

- Група **Tr_□** (*trauma, hemi-excision*) — висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку довжиною 1 мм на рівні сегментів $\sim T_{12}-T_{13}$ ($n=8$);
- Група **Tunnel_□** (*hemi-excision + tunnelated matrix*) — висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку довжиною 1 мм на рівні сегментів $\sim T_{12}-T_{13}$ і негайне заповнення дефекту тунельованим матриксом ($n=7+1^7$).
- Група **HG_□** (*hemi-excision + hydrogel*) — висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку довжиною 1 мм на рівні сегментів $\sim T_{12}-T_{13}$ і негайне заповнення дефекту фрагментом РНРМА-гідрогелю ($n=6$).
- Група **Tr_Т** (*trauma, hemi-section*) — бічний половинний перетин спинного мозку на рівні сегментів $\sim T_{12}-T_{13}$ ($n=11$).
- Група **HG_Т** (*hemi-section + hydrogel*) — бічний половинний перетин спинного мозку на рівні сегментів $\sim T_{12}-T_{13}$ і негайне заповнення зони перетину фрагментом РНРМА-гідрогелю ($n=11$).

2.1.3. Імплантати.

Макропористий РНРМА-гідрогель — полімерний матеріал, синтезований в лабораторії Е. Pinet (*FISO Technologies Inc., Canada*) з N-(2-гідроксипропіл)метакриламідом шляхом радикальної полімеризації з формуванням дивінілових поперечних зв'язків у присутності азоту у якості газової фази середовища [38–40]. РНРМА-гідрогель містить численні аморфні пори діаметром від менше ніж 2 нм до 300 нм [32, 33]. Гідрогель надано для апробації у межах цієї роботи д.мед.н. Ю.Я. Ямінським.

⁷ Одну тварину групи виведено з експерименту через ~ 3 міс спостереження для імуногістохімічного дослідження, результати групи подано без неї і окремо з урахуванням її даних (*див. розділ 4*).

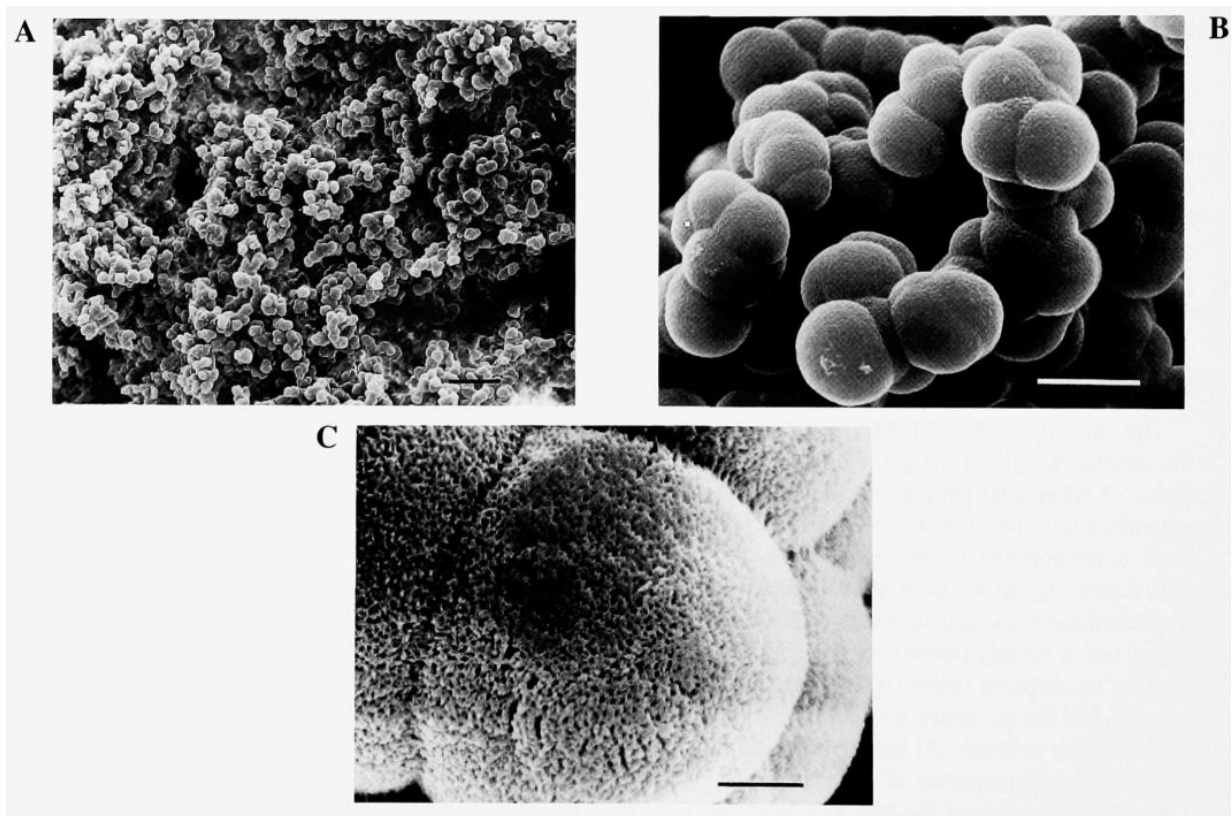


Рисунок 2.1 — Сканувальне електронне мікрофото фрагменту РНРМА-гідрогелю за S. Woerly та співавторами (1999) [32]. Довжина масштабної смужки: А — 20 мкм; В — 4 мкм; С — 1 мкм.

Тунельований матрикс на основі поліетиленгліколю (рис. 2.2, див. також рис. 4.7) виготовлено к.біол.н. С.Е. Гребенюком на базі Католицького університету Левена⁸ і надано для апробації у межах цієї роботи д.біол.н. проф. П.В. Біланом. Матрикс проектували з попередніх ескізів у комп'ютерній програмі *Solid Edge* (Siemens, Німеччина) і виготовляли методом двофотонної полімеризувальної стереолітографії на устаткуванні *Professional GT* (Nanoscribe GmbH, Німеччина) з суміші преполімерів — 88 % поліетиленгліколю-діакрилату масою 700 Да (Sigma-Aldrich, USA; Tokyo Chemical Industry Co., Ltd, Japan) і 10 % пентаеритритол-триакрилату (Sigma-Aldrich, USA), з додаванням 2 % фотоініціатора *Irgacure 369* (BASF SE, Німеччина). Залишки преполімерів

⁸ Katholieke Universiteit Leuven, Department of Mechanical Engineering, Leuven, Belgium.

видаляли відмиванням у етанолі протягом 7 діб зі щодобовою заміною розчинника. Імпланти мали циліндричну форму, довжину — 1 мм, діаметр — 1 мм, ширину тунелів — 50 мкм. Матрикси зберігали у 96 % розчині етанолу, безпосередньо перед імплантацією переносили у ізотонічний розчин натрію хлориду, далі — у свіжоприготовлений розчин гідроксиметилхіноксаліндіоксиду⁹ (ПАТ "Фармак", Україна) і двічі експонували у ньому по ~20 хв. Надлишкову, крапельну частину антибактерійного розчину навколо матриксу прибирали дотиком до м'яза чи фасції у межах операційної рани.

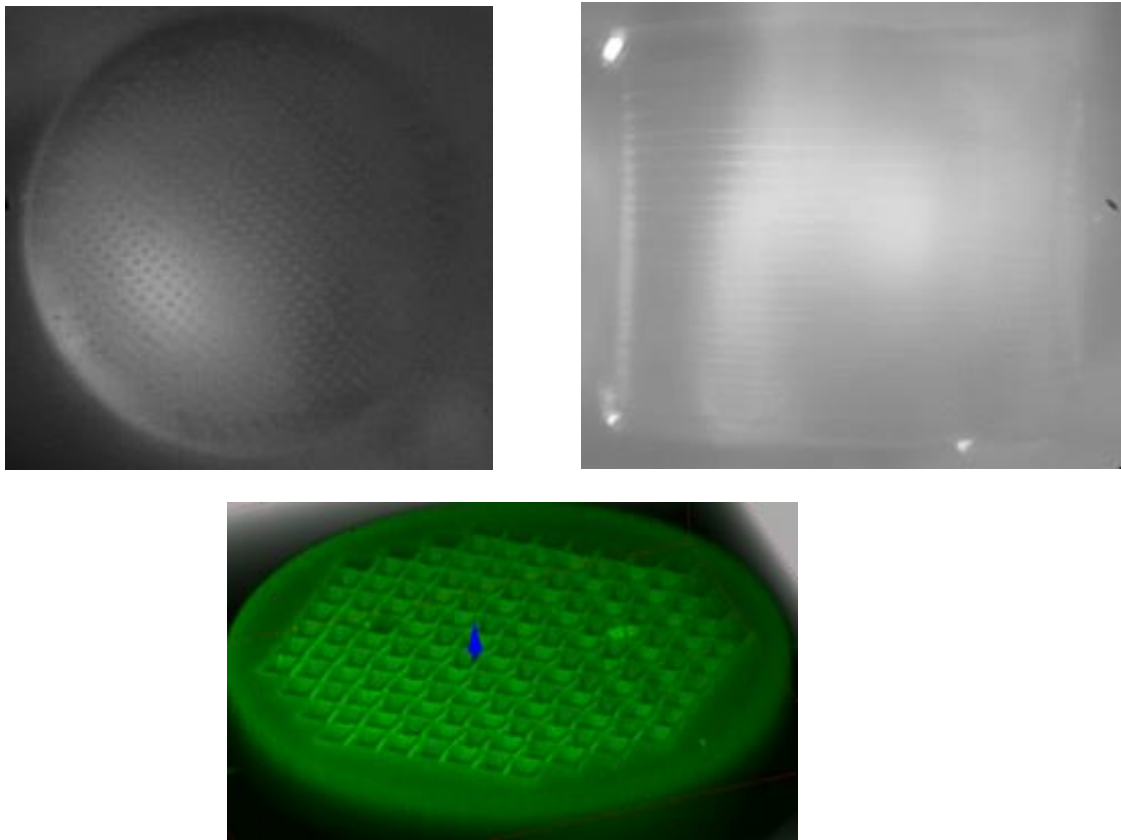


Рисунок 2.2 — Тунельований імплантат на основі поліетиленгліколю у проникному світлі (*верхній ряд, ліворуч — вигляд з торця, праворуч — вигляд збоку*), а також після тривимірної реконструкції торцевої зони з аутофлуорисцентних зображень. Розміри імплантата зазначено у тексті

⁹ 1 % розчин гідроксиметилхіноксаліндіоксиду розводили у співвідношенні 1:10 у ізотонічному розчині натрію хлориду.

2.2. Моделі травми спинного мозку

2.2.1. Бічний половинний перетин спинного мозку щура на рівні сегментів $\sim T_{12}$ – T_{13} (групи $Tr_{\text{П}}$ і $HC_{\text{П}}$).

Хірургічні втручання здійснювали за загального знеболення, що досягали шляхом внутрішньоочеревинного введення суміші розчинів ксилазину (*Biowet, Польща*; ~ 15 мг/кг) і кетаміну (*ПАТ "Фармак", Україна*; ~ 70 мг/кг), з помірними асептичними заходами й у більшості випадків — за умови підігрівання операційного столика [181]. Після щадного видалення шерстистого покриву спинної та поперекової ділянки, тварину фіксували на операційному столику червцем донизу, поверхню шкіри дезінфекували 5 % спиртовим розчином йоду або розчином повідон-йоду (*EGIS, Угорщина*) [181]. Зону моделювання травми визначали шляхом пальпаторного виявлення каудального краю грудної клітки у місці її фіксації до хребта [181]. З огляду на рухомість останніх пар ребер (*costae fluctuantes*) у гризунів [182, 183], їх теоретично меншу осифікацію у молодих особин, місце зупинки пальців хірурга при виявленні ригідної вершини кута між грудною кліткою і хребтом вповні може розташовуватися вище середини хребця T_{13} [181]. Ця обставина, поряд з відсутністю спеціальної візуалізації шийкових частин ребер і місць їх фіксації до хребта й відсутністю рентгенологічного контролю дозволяє локалізувати ділянку ламінектомії приблизно, найімовірніше — на рівні хребців T_{11} – T_{12} , або, з урахуванням приблизних скелетотопічних даних [184, 185], скорегованих на вік тварини [186, 187] — на рівні сегментів спинного мозку T_{12} – T_{13} [181].

Шкіру розтинали по серединній лінії на рівні хребців $\sim T_9$ – L_2 , остисті відростки скелетували, кровотечу спиняли шляхом тампонування. Міждужкове перфорування каналу хребта здійснювали притупленим списоподібним сталевим стрижнем товщиною 1 мм, обмежену, латералізовану ліворуч ламінектомію виконували зігнутих по ребру "москітоподібним" затискачем [181]. Визначення стану твердої мозкової оболони (ТМО) у межах кісткового вікна, як і вивільнення

спинного мозку від прилеглих нервових стовбурів, не здійснювали. Після самовільної зупинки кровотечі за допомогою голки інсулінового шприца наскрізно, у вентральному напрямку проколуювали спинний мозок якомога ближче до лівого краю задньої серединної вени, прагнучи витримати перпендикулярне розташування голки до дорзальної поверхні спинного мозку [181]. У рану спинного мозку заводили одну з бранш офтальмологічних ножиць, другою браншою охоплювали ліву половину поперечника спинного мозку разом зі стовбурами нервових корінців і перетинали у кілька прийомів (рис. 2.3) [181]. У рану спинного мозку заводили зведені бранші скривленого по ребру офтальмологічного пінцета і впираючись ними в передню стінку каналу хребта, проходили по її внутрішній поверхні у напрямку від передньої серединної лінії до краю відлому дужки, завдяки чому зменшували ймовірність неповного перетину латеральних ділянок білої речовини спинного мозку і травмували стовбури вентральних корінців (*часто супроводжувалося синхронними руховими відповідями*) [181]. Після самовільної зупинки кровотечі у тварин групи **НГ_т** рану спинного мозку заповнювали фрагментом РНРМА-гідрогелю.

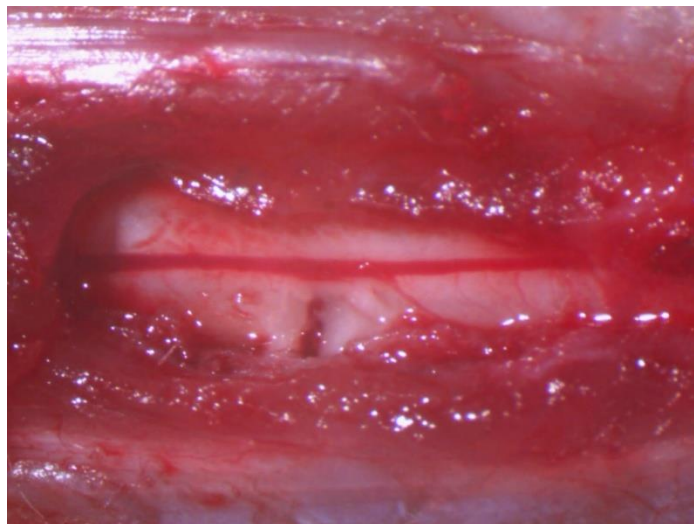


Рисунок 2.3 — Вигляд операційного поля після бічного половинного перетину спинного мозку одномісячного щура у нижньогрудному відділі, відразу після загибелі тварини внаслідок передозування наркотичних препаратів

2.2.2. Висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку на рівні сегментів ~T₁₂–T₁₃ (групи **Tr**_□, **Tunnel**_□ і **HG**_■).

Хірургічні втручання здійснювали за аналогічного протоколу загального знеболення, передопераційного алгоритму, методу визначення рівня втручання і техніки виконання оперативного доступу (див. п. 2.2.1). За допомогою голки інсулінового шприца вздовж лівого краю задньої серединної вени формували три наскрізні дорзо-вентральні проколи спинного мозку на відстані ~0.5 мм один від одного [181]. У кожні два сусідні проколи вводили по одній бранші розкритих офтальмологічних ножниць і у кілька прийомів формували поздовжній парамедіанний розтин спинного мозку [181]. У ростральний і каудальний кінець рани спинного мозку заводили одну з бранш офтальмологічних ножиць, другою браншою охоплювали ліву половину поперечника спинного мозку разом із стовбурами задніх корінців і перетинали у кілька прийомів. Таким чином формували висічений з трьох боків фрагмент речовини лівої половини спинного мозку, довжиною ~1 мм [181]. Речовину спинного мозку у межах сформованого фрагмента видаляли скривленим по ребру і прямим офтальмологічним пінцетом під робочим збільшенням операційного мікроскопа, формуючи протягом ~20-30 хв дефект спинного мозку (рис. 2.4, 2.5) [181]. У тварин групи **Tunnel**_□ рану формували такої довжини, щоб імплантат менш-більш щільно фіксувався її торцями. Натомість, враховуючи відсутність такої вимоги у групах **Tr**_□ і **HG**_■, рострокаудальний розмір дефекту інколи дещо збільшували, видаляючи нежиттєздатні тканини торців. Зокрема, аналіз інтраопераційних мікрофотограм (рис. 2.4, 2.5) свідчить, що у групі **Tr**_□ 4 тварини з 12¹⁰ мали більший рострокаудальний розмір рани спинного мозку, ніж поперечний, у групі **HG**_■ — на наш погляд, 2 з 9¹¹ (рис. 2.6–2.9). У тварин групи **HG**_■ рану спинного мозку заповнювали фрагментом РНРМА-гідрогелю (рис. 2.6–2.9), у групі **Tunnel**_□ — тунельованим матриксом (рис. 2.10–2.11).

¹⁰ йдеться про тварин, котрим виконано цей етап операції, без урахування їхньої подальшої долі.

¹¹ ймовірно, усі ці тварини успішно перенесли операцію і післяопераційний період, однак 3 з них не включено у групу **HG**_■ (див. п. 2.5).

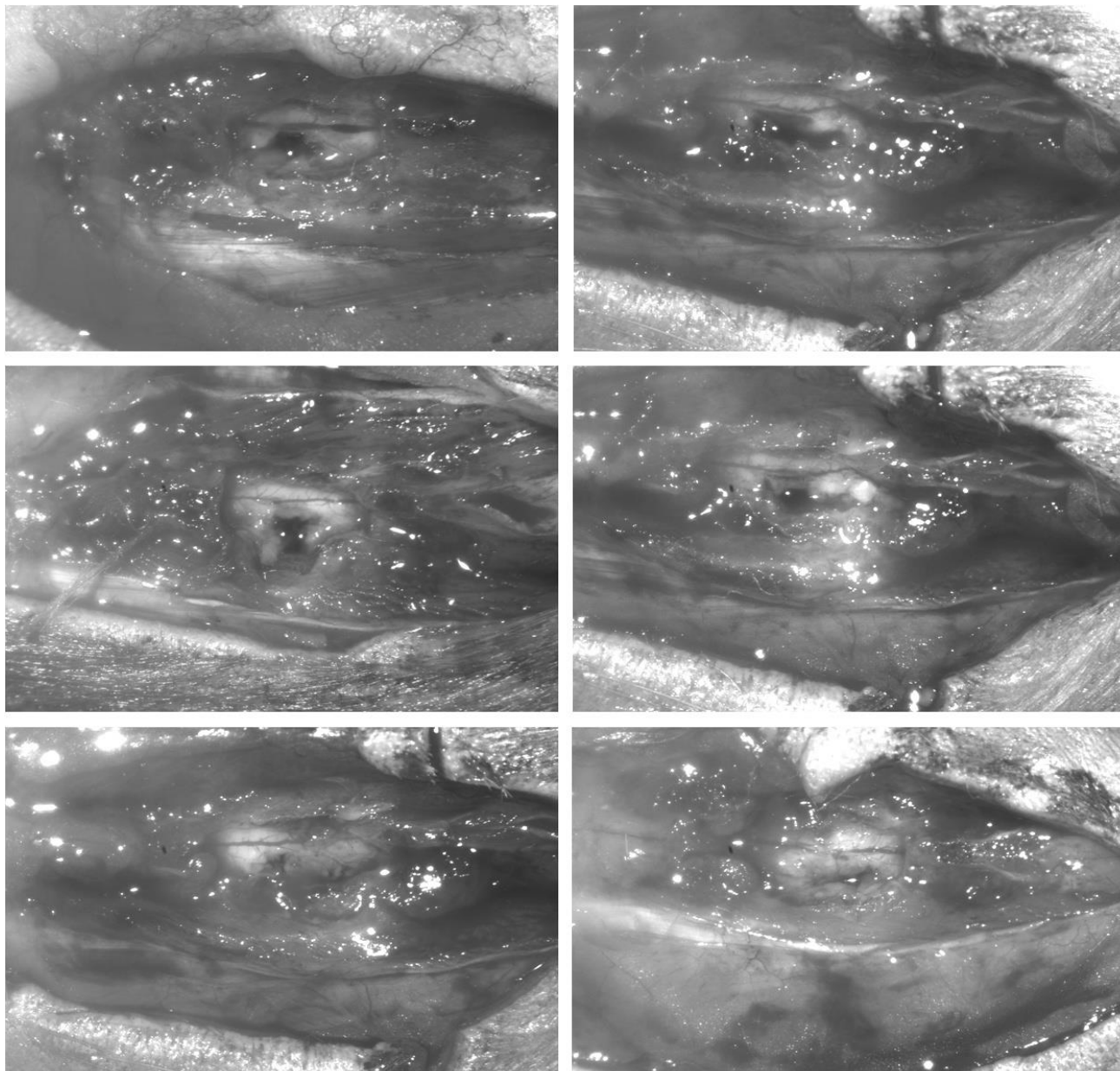


Рисунок 2.4 — Інтраопераційні спостереження травматичного дефекту, відтвореного у тварин групи **Tr_□**.

Примітка: тут і надалі співставлення інтраопераційної картини з функціональною і патоморфологічною не здійснювали, оскільки маркування проводили через 1 тиждень після операції лише тих тварин, котрі успішно перенесли післяопераційний період

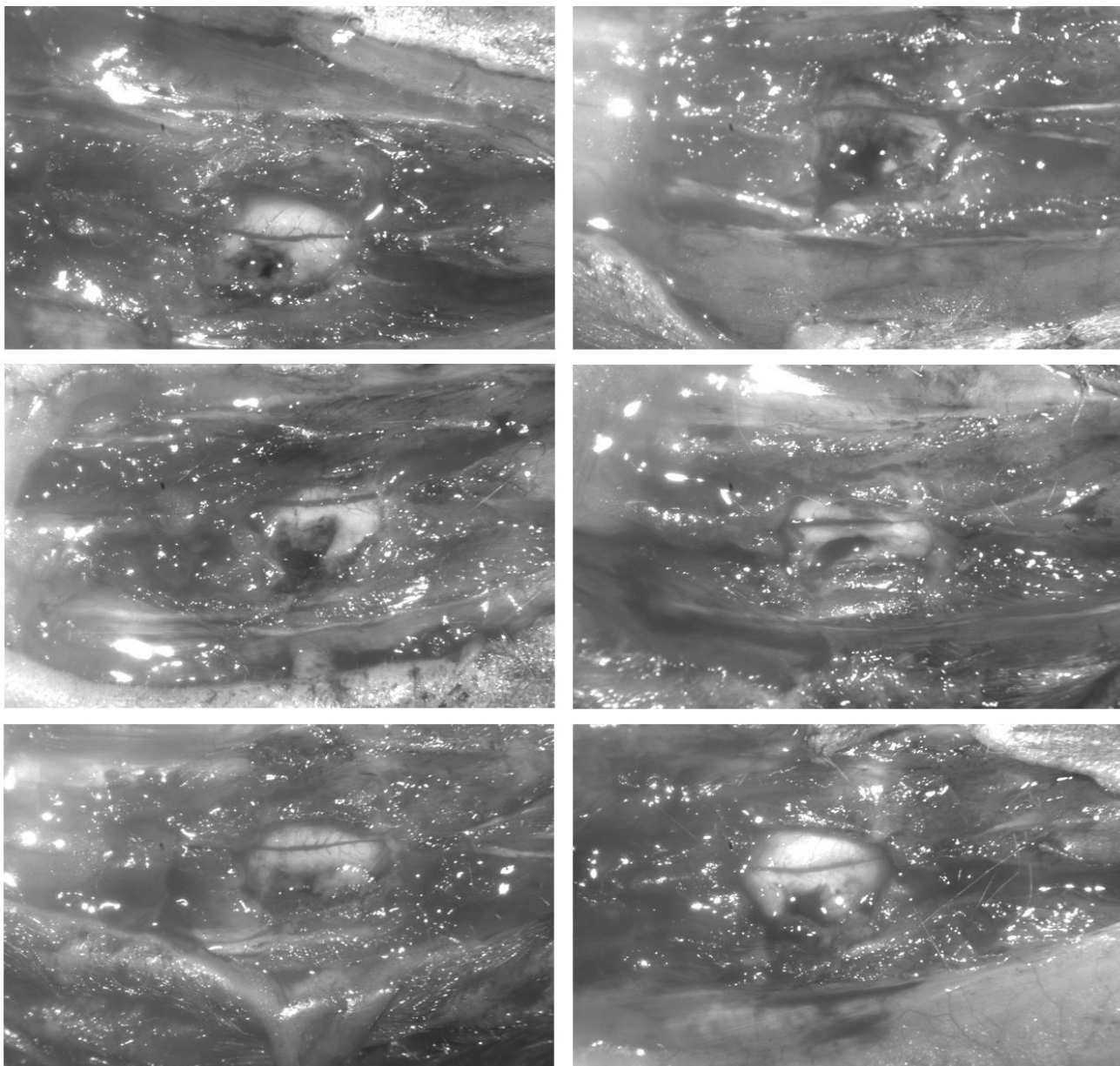


Рисунок 2.5 — Інтраопераційні спостереження травматичного дефекту, відтвореного у тварин групи **Tr_□** (продовження)

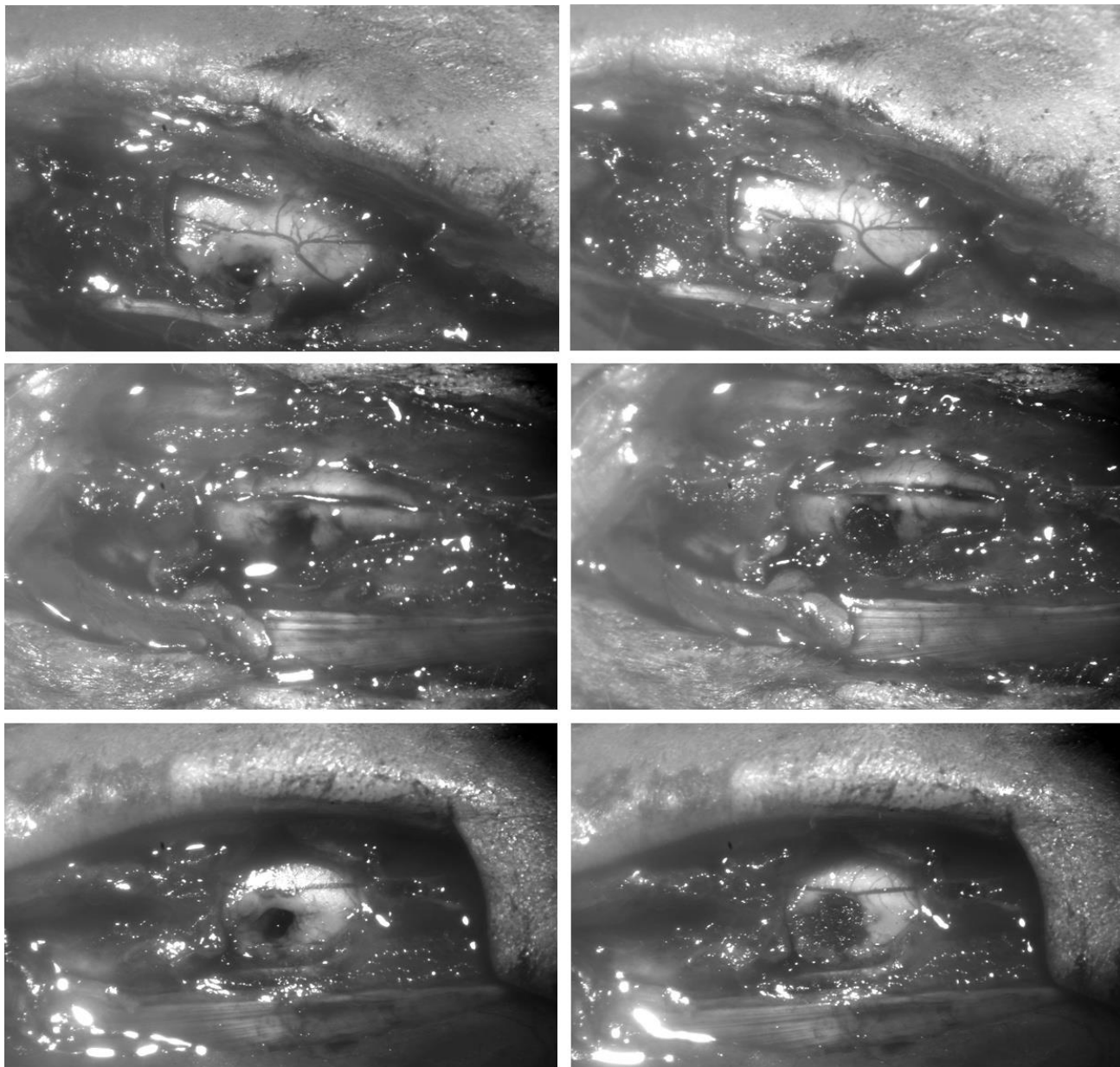


Рисунок 2.6 — Інтраопераційні спостереження травматичного дефекту, заповненого РНРМА-гідрогелем (*група НГ_■, продовження*).

Примітка: тут і надалі співставлення інтраопераційної картини з функціональною і патоморфологічною не здійснювали, оскільки маркування проводили через 1 тиждень після операції лише тих тварин, котрі успішно перенесли післяопераційний період

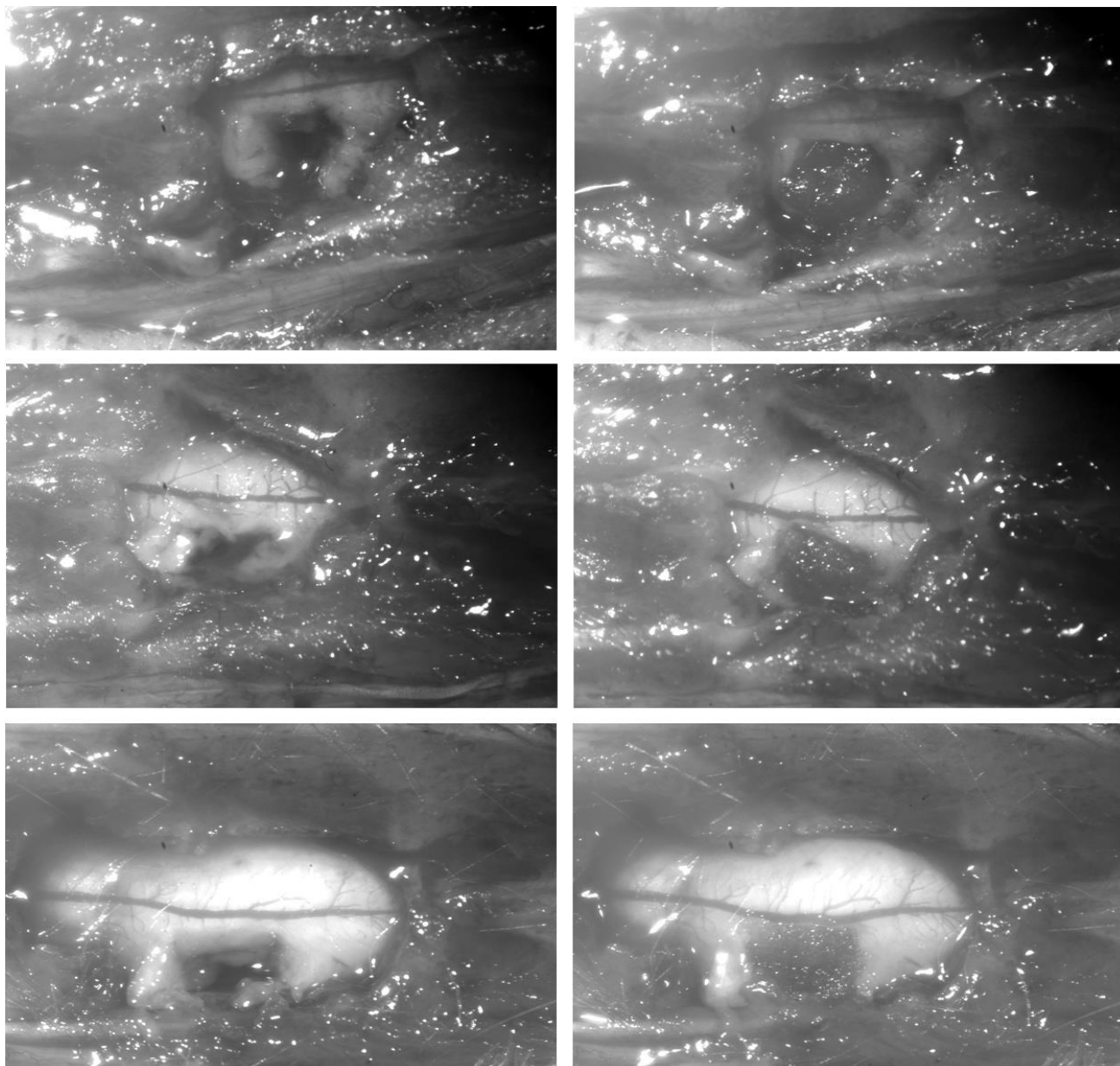


Рисунок 2.7 — Інтраопераційні спостереження травматичного дефекту, заповненого РНРМА-гідрогелем (група **НГ₁**, продовження)

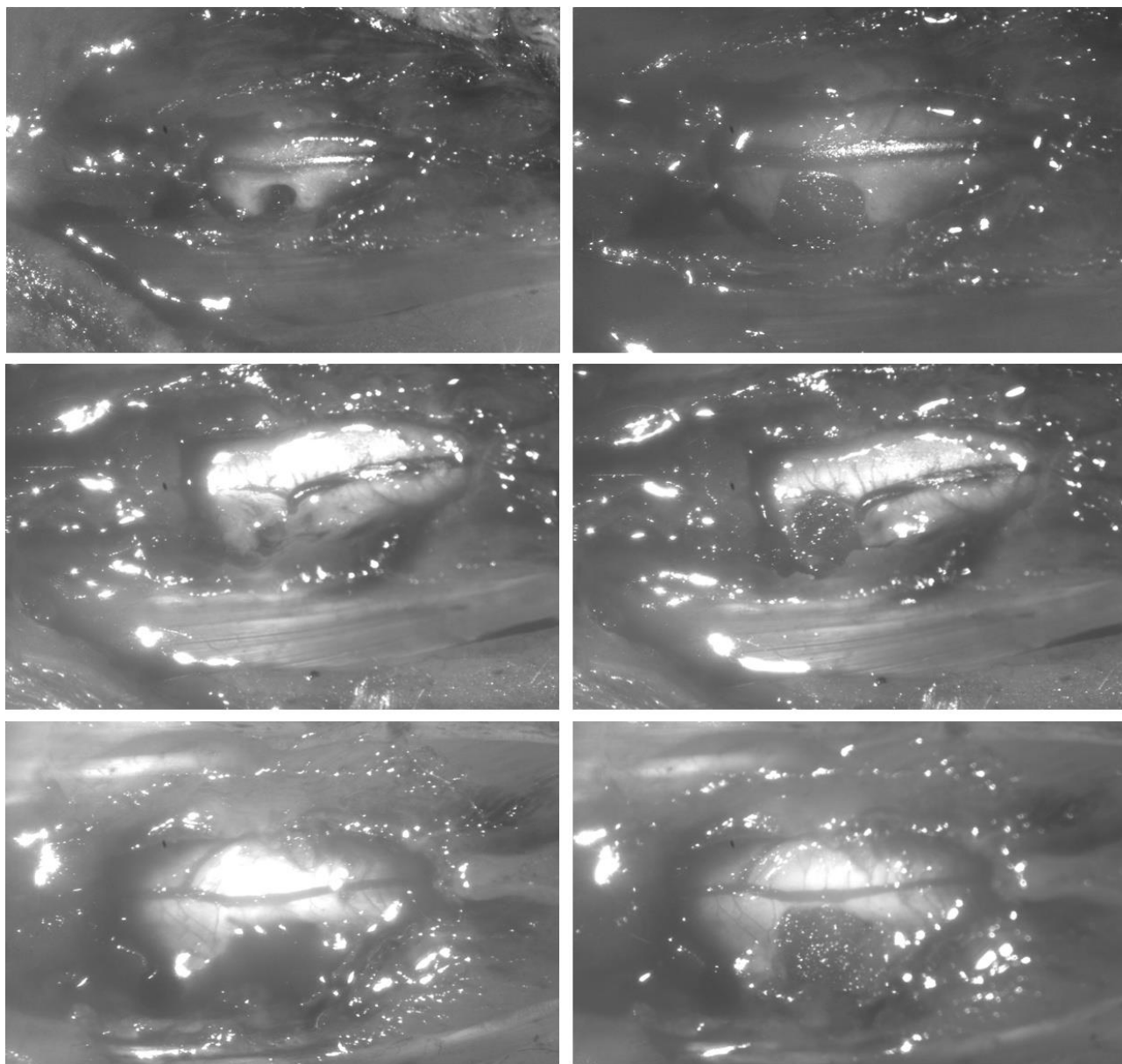
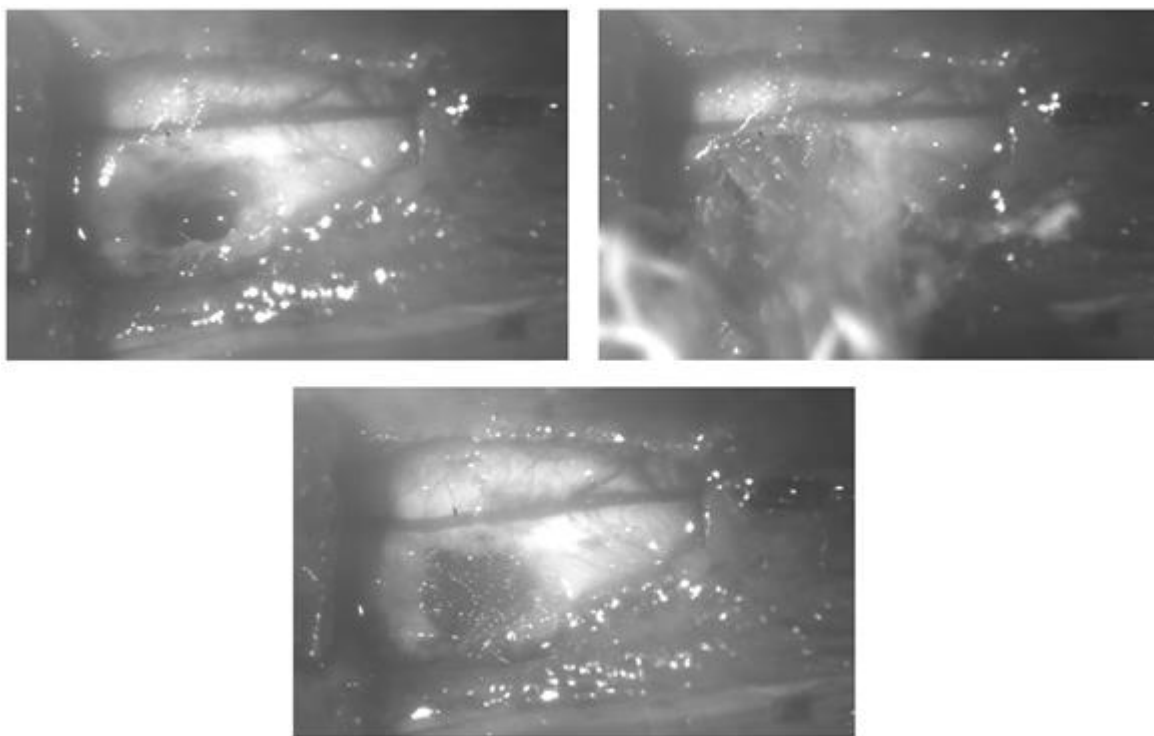
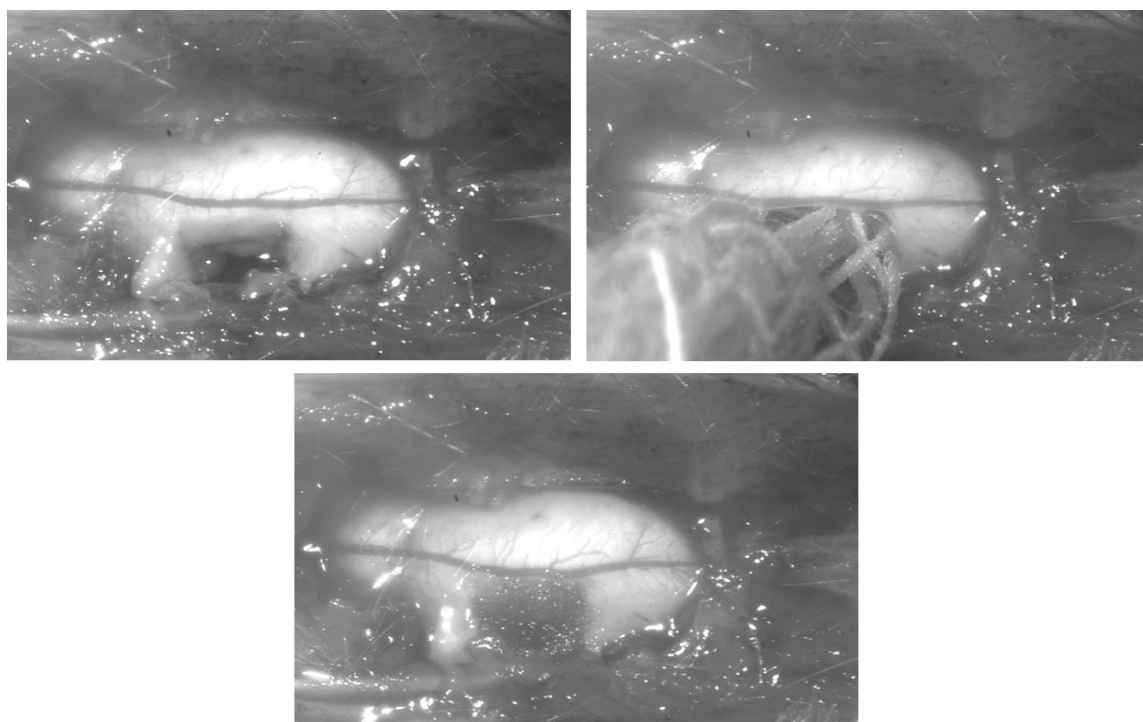


Рисунок 2.8 — Інтраопераційні спостереження травматичного дефекту, заповненого РНРМА-гідрогелем (*група НГ_а, продовження*)



а



б

Рисунок 2.9 — Два інтраопераційні спостереження у групі **HG₁** (а, б).
 Зафіксовано (зліва направо і зверху вниз) стан після висчення бічного
 половинного фрагменту спинного мозку, верифікація повноти перетину і
 просушування рани спинного мозку, заповнення рани РНРМА-гідрогелем

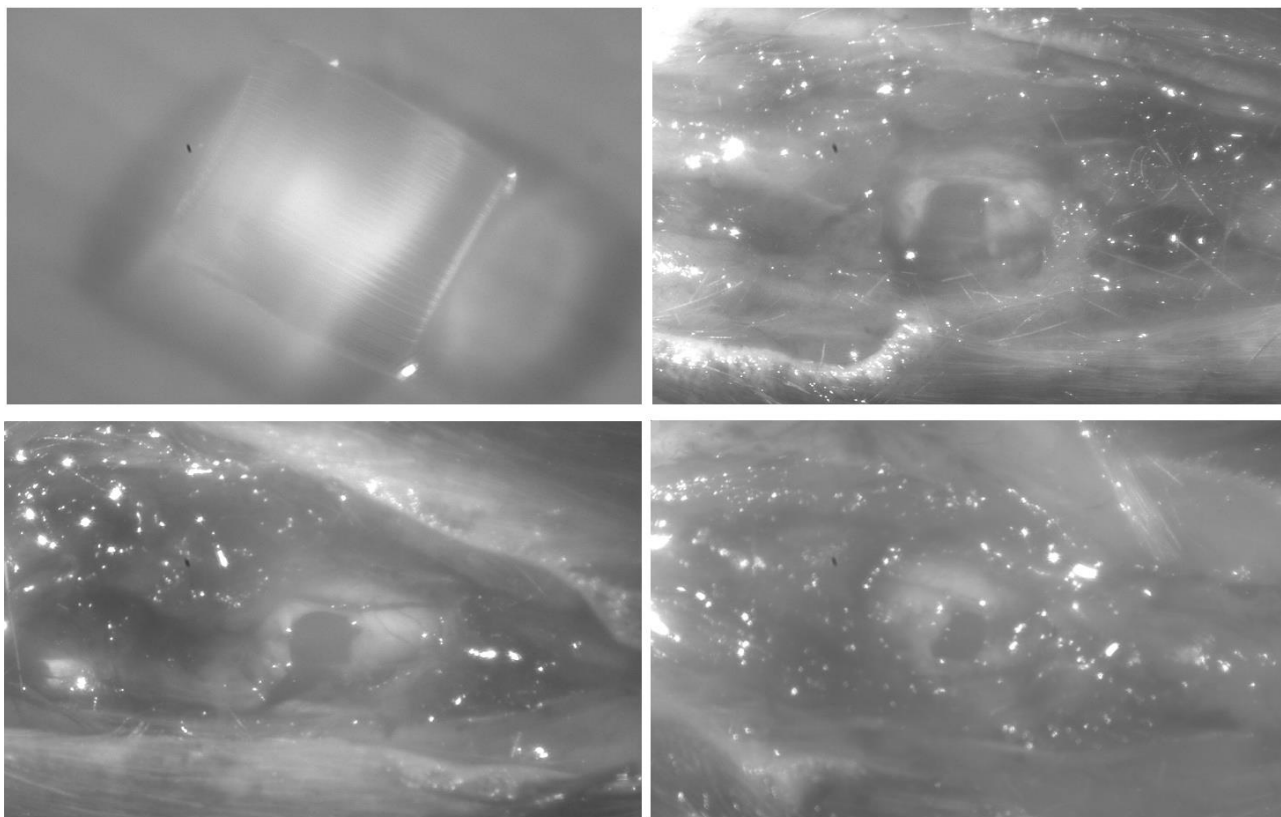


Рисунок 2.10 — Тунельований матрикс до (*ліворуч вгорі*) і після імплантації (*три різні спостереження у групі Tunnel*). Як і у попередніх випадках, співставлення інтраопераційної картини з функціональною і патоморфологічною не здійснювали, оскільки маркування проводили через 1 тиждень після операції лише тих тварин, котрі успішно перенесли післяопераційний період

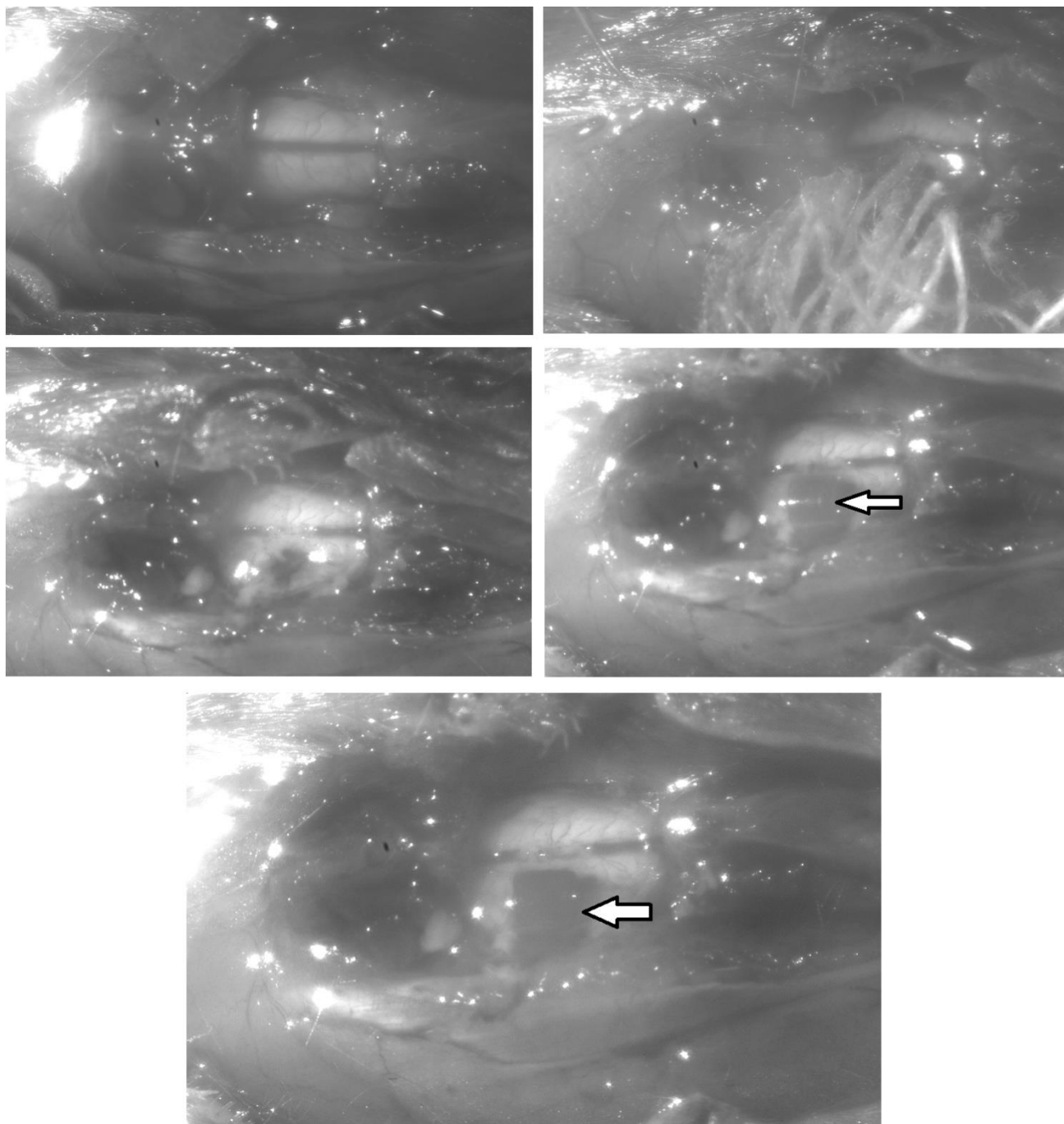


Рисунок 2.11 — Етапи імплантації тунельованого матриксу (*позначений стрілкою*) у однієї тварини. Інтраопераційні мікрофото. Зліва направо і зверху вниз: інтактний спинний мозок; контроль глибини дефекту і аспірування ліквору й крові марлевою салфеткою; дефект спинного мозку, підготовлений до імплантації матриксу; укладка матриксу над поверхнею у зоні дефекту; ділянка травми після занурення матриксу у зону дефекту

2.2.3. Алгоритм завершення операції, післяопераційні процедури і подальше утримання тварин.

У тварин обох груп після самовільної зупинки кровотечі й помірного видалення крові шляхом капілярного всмоктування марлевою салфеткою вікно доступу у канал хребта прикривали вилученим у межах рани фрагментом підшкірної фасції, м'які тканини та шкіру зашивали у два ряди вузлових швів [181]. Ділянку рани обробляли розчином повідон-йоду (*EGIS, Угорщина*).

З метою профілактики інфекційних ускладнень у задню шийну ділянку підшкірно вводили розчин біциліну-5 (*ВАТ "Київмедпрепарат", Україна*) у дозі ~0.5 млн ОД на 1 кг маси [181]. У якості протизапальної і протинабрякової терапії застосовували внутрішньоочеревинне введення розчину дексаметазону (*KRKA, Словенія*) у дозі ~5 мг/кг маси [181].

Після операції до моменту повного виходу зі стану загального знеболення тварини утримували за підвищеної температури повітря [181]. З метою профілактики офтальмологічних ускладнень у більшості випадків зовнішню частину очного яблука знерухомленої тварини крапельно зволожували фізіологічним розчином [181].

У подальшому тварини утримували по 2–3 особини¹² у спеціальних пластикових клітках з горизонтальною накривною решіткою, із зовнішнім розміром дна ~40×30 см й зовнішньою висотою ~16 см, а також індивідуально¹³, у клітках аналогічної конструкції із зовнішнім розміром дна ~38×22 см й зовнішньою висотою ~16 см, при середній температурі повітря 18–22° С, з періодичною заміною тирсової підкладки [181].

¹² підгрупа групи **Tr_т** (від 04.04.2019, n=6) — 2 клітки по 3 тварини у кожній; група **HG_■** — 3 клітки по 2–3 тварини у кожній.

¹³ тварини груп **Tunnel_■** і **Tr_□**, а також, ймовірно, групи **HG_т** і підгрупи групи **Tr_т** (від 15.04.2019, n=5).

2.3. Оцінка рухової активності паретичної кінцівки

Показник функції (ПФ) задньої іпсилатеральної щодо епіцентру травми кінцівки¹⁴ визначали за допомогою шкали, запропонованої D.M. Basso, M.S. Beattie та J.C. Bresnahan (BBB) [167], у наших технічних модифікаціях (табл. 2.1, п. 4.4.3) [181], під час спостереження за руховою активністю тварини на горизонтальній відкритій твердій поверхні нерегламентованої форми, площі, розміру і природи, без відеофіксації, реєстрації добового часу і тривалості дослідження кожної тварини.

Таблиця 2.1 — Шкала BBB для оцінки рухової функції задніх кінцівок щура після травми спинного мозку [181]

1	2
Бали	Провідні ознаки рухової функції задніх кінцівок (задньої кінцівки) під час односпрямованої крокової локомоції, котрі відповідають вказаним у боковому величинам бального показника
0	Видима рухова активність задньої кінцівки відсутня.
1	Слабкі рухи у одному–двох суглобах задньої кінцівки.
2	Поширені рухи у одному суглобі задньої кінцівки. АБО: поширені рухи у одному суглобі і слабкі рухи у ще одному суглобі задньої кінцівки.
3	Поширені рухи у двох суглобах задньої кінцівки.
4	Слабкі рухи у всіх трьох суглобах задньої кінцівки.
5	Слабкі рухи у двох і поширені — у третьому суглобі задньої кінцівки.
6	Поширені рухи у двох і слабкі — у третьому суглобі задньої кінцівки.
7	Поширені рухи у всіх трьох суглобах задньої кінцівки.
8	"Підмітальні" трисуглобові рухи задньою кінцівкою без підтримання маси тіла. АБО: крокові синергії задньої кінцівки підошвою вниз (плантарна установка) без підтримування маси тіла.
9	Крокові рухи з плантарною установкою стопи, підтриманням маси тіла лише у стаціонарній позиції. АБО: поодинокі, часті чи перманентні кроки з підтриманням маси тіла з установкою стопи виключно підошвою вверх.

¹⁴ випадках, коли йтиметься про рівень рухової функції обох задніх кінцівок чи контрлатеральної епіцентру травми кінцівки аббревіатуру "ПФ" доповнювали відповідною вказівкою.

Продовження таблиці 2.1

1	2
10	Поодинокі кроки із підтриманням маси тіла і плантарною установкою стопи; координація крокових рухів передніх і задніх кінцівок відсутня.
11	Часті або перманентні кроки з підтриманням маси тіла і плантарною установкою стопи; координація крокових рухів передніх і задніх кінцівок відсутня.
12	Часті або перманентні кроки з підтриманням маси тіла і плантарною установкою стопи; поодинокі випадки координації крокових рухів передніх і задніх кінцівок.
13	Часті або перманентні кроки з підтриманням маси тіла і плантарною установкою стопи; часті випадки координації крокових рухів передніх і задніх кінцівок.
14	Перманентне крокування з підтриманням маси тіла, плантарною установкою стопи і координацією крокових рухів передніх і задніх кінцівок; у переважній більшості кроків — на початку і наприкінці опорної фази крокового циклу стопа ротована всередину чи назовні. АБО: часті кроки з плантарною установкою стопи й перманентною передньо-задньою координацією крокових рухів кінцівок, поміж яких виявляють поодинокі кроки з дорзальною установкою стопи.
15	Перманентне крокування підошвою вниз з передньо-задньою координацією крокових рухів кінцівок; під час крокової локомоції тварини рідко виявляють звичний для фази перенесення кінцівки повний відрив пальців стопи від горизонтальної поверхні руху; у переважній більшості кроків на початку опорної фази крокового циклу стопа орієнтована паралельно до осі тіла.
16	Перманентне крокування підошвою вниз з передньо-задньою координацією рухів кінцівок, часто виявляють кроки з повним відривом пальців від поверхні руху у фазі переносу стопи; у переважній більшості кроків на початку опорної фази стопа орієнтована паралельно до осі тіла, а наприкінці — ротована.
17	Перманентне крокування підошвою вниз з передньо-задньою координацією рухів кінцівок, часто виявляють кроки з повним відривом пальців від поверхні руху у фазі переносу стопи; у переважній більшості кроків на початку і наприкінці опорної фази стопа орієнтована паралельно до осі тіла.
18	Перманентне крокування підошвою вниз з передньо-задньою координацією рухів кінцівок і повним відривом пальців від поверхні руху у фазі переносу стопи; у переважній більшості кроків на початку опорної фази стопа орієнтована паралельно до осі тіла, а наприкінці — ротована.

Продовження таблиці 2.1

1	2
19	Перманентне крокування підошвою вниз з передньо-задньою координацією рухів кінцівок і повним відривом пальців від поверхні руху у фазі переносу стопи; у переважній більшості кроків на початку і наприкінці опорної фази стопа орієнтована паралельно до осі тіла; відсутність утримання або тимчасове утримання хвоста над поверхнею локомоції.
20	Перманентне крокування підошвою вниз з передньо-задньою координацією рухів кінцівок і повним відривом пальців від поверхні руху у фазі переносу стопи; у переважній більшості кроків на початку і наприкінці опорної фази стопа орієнтована паралельно до осі тіла; перманентне утримання хвоста над поверхнею локомоції; наявність локомоторної транслатеральної нестабільності тулуба у вигляді крокового бічного завалювання чи навіть часткового бічного обвалювання.
21	Перманентне крокування підошвою вниз з передньо-задньою координацією рухів кінцівок і повним відривом пальців від поверхні руху у фазі переносу стопи, переважно паралельна стосовно основної осі тіла орієнтація стопи впродовж усієї опорної фази крокового циклу, перманентне утримання хвоста над поверхнею локомоції, відсутність порушень транслатеральної локомоторної стабільності тулуба.

Облік значень ПФ здійснювали не раніше 6-ї доби¹⁵ після травми, з огляду на біоетичний регламент роботи з експериментальними тваринами [181]. У випадку виявлення під час тестування ознак обох сусідніх значень ПФ зараховували половинне значення [181].

З метою деталізації перебігу відновного процесу розраховували абсолютний тижневий приріст ПФ¹⁶ [181]:

$$\{V_{\text{ПФ}}\}_n = \frac{\text{ПФ}_n - \text{ПФ}_{n-1}}{k}, \text{ де } n \text{ — порядковий номер спостереження, } k \text{ — кількість тижнів у оцінюваному часовому інтервалі.}$$

¹⁵ за умови, що добу операції вважають нульовою; у групі **Tunnel** — на 6-ту добу, у групі **Tr₀** — на 7-му добу, у групі **HG₁** — на 9-ту добу, у підгрупі групи **Tr_T** (від 15.04.2019; n=5) і у групі **HG_T** — на 8-му добу.

¹⁶ швидкість зміни ПФ з точністю до одного тижня згідно зі стандартизованою часовою шкалою (див. п. 2.6).

Розрахунок здійснювали у програмному пакеті STATISTICA 10.0 на персональному комп'ютері, умовно приймаючи значення ПФ і $V_{\text{ПФ}}$ відразу після виходу тварини зі стану загального знеболення рівним нулю (*стан спінального шоку*) [181]. Умовно приймали, що 3 міс відповідають 12-ти тижням, 4 міс — 16-ти тижням, а 5 міс — 20-ти тижням спостереження. Враховуючи принульові значення $V_{\text{ПФ}}$ на цих термінах спостереження, таке спрощення, найімовірніше, не повпливало на вірогідність отриманих результатів [181].

2.4. Оцінка спастичності паретичної кінцівки

Показник спастичності (ПС) задньої іпсилатеральної щодо епіцентру травми кінцівки¹⁷ оцінювали за прилаштованою до експериментальних умов шкалою Ashworth [188, 189] у нашій технічній модифікації (*табл. 2.2*) [181], без акліматизаційного тренування й релаксаційного засліплення тварин, утримуючи тварину за хвостовий кінець у горизонтальному положенні, під час різних видів поведінки¹⁸. Визначення ПС здійснювали не раніше 6-ї доби з біоетичних міркувань, значення ПС відразу після моделювання травми умовно приймали рівним нулю (*стан спінального шоку*) [181]. Використовували додаткові критерії верифікації легкого спастичного парезу (*табл. 2.2, пункт "0.5 балів"*) [181]. Зазвичай, усі значення ПС на рівні 0 і ≥ 1 бала виявляли на рівні надп'яtkовогомілкового суглобу, досліджуючи силу спротиву тильному згинанню стопи з різною швидкістю; значення ПС на рівні 0.5 бала визначали також на рівні колінного і кульшового суглобів (*табл. 2.2, пункт "0.5 балів"*) [181]. У випадку виявлення ознак двох сусідніх значень ПС зараховували половинне значення

¹⁷ випадках, коли йтиметься про рівень рухової функції обох задніх кінцівок чи контрлатеральної епіцентру травми кінцівки аббревіатуру "ПС" доповнювали відповідною вказівкою.

¹⁸ прагнення втечі, стан локомоторного спокою чи прагнення аддукційно-флексійного вивільнення паретичної кінцівки з руки експериментатора.

[181]. Абсолютний тижневий приріст ПС ($V_{ПС}$) визначали за алгоритмом, описаним для $V_{ПФ}$ (п. 2.3) [181].

Таблиця 2.2 — Модифікована шкала Ashworth для оцінки спастичності паретичної кінцівки [181]

Бали	Клінічний еквівалент
0	Збільшення спротиву м'язів розтягові при пасивному русі у суглобі відсутнє.
0.5	Відчутніше у паретичній кінцівці, ніж в умовно інтактній (у даному дослідженні — контрлатеральній), тремтіння під час її відтягнення за стопу у бік і/або гіперметричне розгинання паретичної кінцівки під час поструральної протидії різкій тракції тварини за хвіст по горизонтальній поверхні.
1	Легке підвищення м'язового спротиву під час пасивного руху у суглобі, наявність 'catch'-феномену.
2	Відчутне підвищення спротиву м'язів протягом усього об'єму пасивного руху, пасивні рухи у суглобі можливі у повному обсязі при доволі легкому зусиллі.
3	Значне підвищення спротиву м'язів під час пасивного руху у суглобі; пасивні рухи у суглобі у деяких випадках певною мірою обмежені (без верифікації додатковим зулллям).
4	Виражена контрактура — істотне обмеження пасивної рухомості у суглобі (у межах, котрі визначаються больовою реакцією тварини), у деяких випадках — анкілоз.

Визначення ПФ і ПС здійснено одним і тим самим експериментатором, умовно засліпленим як стосовно індивідуальних ознак усіх прооперованих ним тварин, так і стосовно попередніх результатів тестування.

2.5. Критерії невключення

Кількість усіх тварин, котрі успішно перенесли хірургічне втручання і післяопераційний період склала 56 особин. До складу груп для подальшого обрахунку результатів (п. 2.1.1) не включали тварини, котрі на першому терміні спостереження демонстрували ПФ паретичної кінцівки на рівні, більшому 9-ти балів ВВВ [181] (у групі Tr_{\square} — 2 тварини¹⁹; у групі Tr_{\square} — 1 тварина²⁰; у групі HG_{\square} — 3 тварини²¹, у групі HG_{\blacksquare} — 2 тварини²²), а також тварини зі **стійким** дефіцитом рухової функції задньої контрлатеральної кінцівки²³ [181] (у групі Tr_{\square} — 2 тварини²⁴; у групі HG_{\blacksquare} — 1 тварина; у групах $Tunnel_{\blacksquare}$, Tr_{\square} і HG_{\square} — двобічний дефіцит не спостерігали²⁵). Усього до обрахунку не включено 8 тварин на основі першого із зазначених критеріїв²⁶ і 3 тварини на основі другого критерію²⁷. Загальна частка тварин, результати котрих не враховували у аналізі склала 19.7 %.

¹⁹ станом на 8-му добу спостереження ПФ і ПС у обох тварин складав, відповідно, 10 балів за шкалою ВВВ і 0.5 бала за шкалою Ashworth.

²⁰ ПФ тварини складав 14 балів за шкалою ВВВ, ПС — 0–0.5 бала за шкалою Ashworth у період від 7-ї доби і щонайменше до кінця 3-го місяця спостереження.

²¹ станом на 8-му добу після травми ПФ складав, відповідно, 13, 10 і 13 балів за шкалою ВВВ через 1 тиждень після травми.

²² станом на 9-ту добу після травми ПФ складав 11.5 і 13 балів за шкалою ВВВ, ПС у обох тварини — 0 балів за шкалою Ashworth.

²³ Тобто, ПФ контрлатеральної кінцівки протягом експерименту не перевищував 14 балів ВВВ (≤ 14 балів за шкалою ВВВ), що відповідало, приміром, наявності дискоординації (пролабування) крокових рухів контрлатеральної кінцівки, відсутністю постійного підтримання маси тіла кінцівкою при русі по горизонтальній поверхні чи взагалі відсутності підтримання маси тіла. Зважаючи на це, у групі Tr_{\square} одна тварина з ознаками легкого дефіциту задньої контрлатеральної місцю травми кінцівки на першому терміні спостереження (за нашими спостереженнями ПФ — 15–16 балів за шкалою ВВВ) залишена у обрахунку. Основний мотив такого рішення — тимчасовий характер дефіциту. Причина вибору зазначеного вище рівня ПФ у якості критерію невключення для моделей з однібічним руховим дефіцитом є, на наш погляд, істотна обмеженість верифікаційного потенціалу шкали ВВВ у на рівні вище 14 балів (див. п. 4.4.3).

²⁴ **Перша тварина:** ПФ задньої контрлатеральної кінцівки через 1 тиждень після травми складав 0 балів за шкалою ВВВ, ПФ задньої іпсилатеральної кінцівки на цьому ж терміні — 6 балів за шкалою ВВВ, причому, ПС задньої контрлатеральної кінцівки через 1 тиждень після травми складав 0.5 бала за шкалою Ashworth, а ПС задньої іпсилатеральної кінцівки — 1 бал за шкалою Ashworth. **Друга тварина:** ПФ задньої контрлатеральної кінцівки через 1 тиждень після травми складав 9 балів за шкалою ВВВ, ПФ задньої іпсилатеральної кінцівки на цьому ж терміні — 0 балів за шкалою ВВВ, причому, ПС задньої контрлатеральної кінцівки через 1 тиждень після травми складав 0.5 бала за шкалою Ashworth, а ПС задньої іпсилатеральної кінцівки — 0.5 бала за шкалою Ashworth.

²⁵ Виходячи з наявної протокольної інформації, у групі $Tunnel_{\blacksquare}$ спостерігали дефіцит задньої контрлатеральної місцю травми кінцівки (ПФ на рівні 8-ми балів за шкалою ВВВ) лише через 1 тиждень після травми.

²⁶ 14.3 % від усіх тварин, котрі успішно перенесли оперативне втручання і післяопераційний період.

²⁷ 5.4 % від усіх тварин, котрі успішно перенесли оперативне втручання і післяопераційний період.

До складу експериментальних груп, проаналізованих у цьому дослідженні залучено 44 тварини²⁸.

Протягом експерименту ознак самоушкоджувальної поведінки, регіонарних трофічних і/або гнійнозапальних процесів, котрі вимагали б негайного еванатичного припинення страждань тварини, не виявляли.

У аналіз також прагнули не виключати тварини з ознаками стійкого периферичного парезу, тобто ураження мотонейронів нижніх кінцівок, локалізованих у сегментах L₃–L₆ [181, 190]. Випадки очевидного іпсилатерального парезу м'язів черевної стінки спеціально не реєстрували [181]; часту або характерну для тієї чи іншої групи маніфестацію такого симптому не спостерігали.

У групі **Tunnel**, враховуючи особливості динаміки відновлення функції задніх кінцівок за більшості моделей ТрСМ і у всіх експериментальних групах (*відсутність достовірних змін показників, починаючи з 2-го місяця*) у тварини №4 і №7 було відтворено значення ПФ і ПС на двох останніх термінах спостереження. Причина — передчасна загибель обох тварини, найімовірніше, пов'язана з гострою запальною патологією легень.

Одна тварина групи **Tunnel** (№3) станом на 6-ту добу спостереження демонструвала рівень ПФ задньої контрлатеральної стосовно епіцентру травми кінцівки на рівні 8-ми балів за шкалою ВВВ. Протягом наступних тижнів виразність парезу зменшувалася, рівень ПФ, ймовірно (*див. п. 4.4.3*), був більшим 15-ти балів ВВВ. При цьому ПФ задньої іпсилатеральної стосовно епіцентру травми кінцівки протягом перших 3-х місяців спостереження збільшувався від 1-го до ~13-ти балів ВВВ. З огляду на це, тварину залишили у обрахунку.

Інша тварина групи **Tunnel** (№8) загинула з невідомих причин між 3.5 і 4.5 тижнями спостереження зі значенням ПФ на рівні 3-х балів за шкалою ВВВ і ПС на рівні 2.5 бала за шкалою Ashworth. Враховуючи її проміжне становище між особинами з відсутністю відновлення рухової активності паретичної кінцівки

²⁸ стосовно однієї тварини групи, котра передчасно загинула наприкінці першого місяця спостереження, і не була включена до групи **Tunnel** (тварина №8) — повідомлено нижче.

протягом усього експерименту²⁹ і тваринами з істотним покращенням рухової функції після 3-го тижня спостереження³⁰, дані цієї тварини не екстраполювали і не залучали в обрахунок на жодному з термінів спостереження.

Нарешті, як уже зазначалося (*n. 2.1.1*), ще одну тварину групи **Tunnel** з метою проведення імуногістохімічного дослідження вилучили через 3 міс після моделювання травми зі значенням ПФ у 13 балів за шкалою BBB і значенням ПС у 0 балів за шкалою Ashworth. ПФ і ПС у групі **Tunnel** з урахуванням результатів цієї тварини через 2 і 3 міс спостереження аналізували окремо.

2.6. Стандартизована часова шкала представлення результатів

Стан рухової системи відображали згідно зі стандартизованою часовою шкалою: протягом перших двох місяців — щотижнево (*1–8 тиж*), у подальшому — щомісячно, через 3, 4 і 5 міс після травми [181]. При цьому, при відображенні тривалості спостереження у тижнях мінімальною одиницею часу вважали 7 діб, при відображенні у місяцях — проміжок між однаковими календарними датами двох сусідніх місяців (*нехтуючи варіаціями тривалості місяця протягом року*) [181].

У виняткових випадках, коли окремі терміни визначення ПФ і ПС деяких тварин чи груп відрізнялися від описаних щойно або були відсутні³¹, приведення даних до стандартизованої часової шкали здійснювали шляхом лінійної інтерполяції за алгоритмом віднайдення ковзного середнього³² [181]. З цієї

²⁹ Йдеться про тварини №6 і №7 зі значенням ПФ у 0 балів за шкалою BBB і значенням ПС — у 4 бали за шкалою Ashworth наприкінці експерименту.

³⁰ Йдеться про тварини №2, №3, №4, №5 зі значеннями ПФ, відповідно, 7, 8, 8 і 8 балів за шкалою BBB через 3 тиж після травми, а також 8, 12.5, 9 і 9.5 балів за шкалою BBB — наприкінці експерименту.

³¹ у групі **Tunnel** відсутні результати через 2 тиж після травми; у групі **Tr_т**, **HG_т** і у підгрупі групи **HG_т** (*від 25.04.2019, n=5*) — через 6 тиж після травми; у іншій підгрупі групи **HG_т** (*від 29.08.2019, n=6*) — через 4 і 5 міс після травми; у підгрупі групи **Tr_т** (*від 15.04.2019, n=5*) — через 7 тиж, 3 і 4 міс після травми.

³² Приміром, у одній з підгруп групи **Tr_т** (*від 15.04.2019; n=5*) результати через 3 міс після травми відтворено зазначеним алгоритмом, виходячи з результатів тестування через 2 міс і 12 діб та 3 міс і 12 діб після травми; значення ПФ і ПС у цій же підгрупі через 4 міс після травми відтворено аналогічним чином зі значень станом через 3 і 5 міс. У підгрупі групи **HG_т** (*від 29.08.2019, n=6*) значення ПФ і ПС через 5 міс після травми відтворено цим

метою, якщо існуючі значення показника навколо точки реконструкції відрізнялися, відтворюване значення показника отримували як їх середнє арифметичне [181]. Для усіх інших випадків асимптотичні відхилення реальних термінів тестування від величин відповідних термінів стандартизованої шкали представлення результатів виявляли протягом першого місяця (*групи Tunnel_□, Tr_□, HG_■, HG_□*) і через 8 тиж (*підгрупа групи HG_□*); для інших часових точок в усіх групах — відхилення не перевищувало 12 % від величини кожного відповідного терміну стандартизованої шкали представлення результатів³³. У зв'язку із цим асимптотичні відмінності реальних термінів тестування між підгрупами і групами³⁴ виявляли протягом перших трьох тижнів спостереження, а також через 8 тиж і через 3 міс після травми; на інших часових точках відмінності не перевищували 11 % від величини кожного відповідного терміну стандартизованої шкали представлення результатів.

Оцінюючи значення $V_{\text{ПФ}}$ і $V_{\text{ПС}}$, а також результати порівняльного статистичного аналізу з позиції наведених уточнень, слід враховувати, що після

же алгоритмом з урахуванням результатів, отриманих через 4 міс і 2 тиж (*4 міс + 17 діб*) після травми і через 5 міс і 3 тиж (*5 міс + 19 діб*) після травми; значення ПФ і ПС через 4 міс реконструйовано аналогічним чином з використанням значень у точках 3 і 5 міс. У підгрупі групи **Tr_□** (від 04.04.2019; $n=6$) і групи **HG_□** (від 29.08.2019, $n=6$) точну дату тестування через, відповідно, 1 і 5 тиж після травми втрачено.

³³ Так, для однієї з підгруп групи **Tr_□** (від 15.04.2019, $n=5$) протягом першого місяця спостереження відмінності складала ~14–29 % від величини відповідного терміну стандартизованої шкали представлення результатів. У іншій підгрупі групи **Tr_□** (від 04.04.2019, $n=6$) точна дата першого тестування залишилась невідомою. У групі **HG_■** станом через 1 тиждень, а групі **HG_□** — через 1 і 2 тиж відмінності складала ~14–29 % від величини відповідного терміну стандартизованої шкали представлення результатів. У підгрупі групи **HG_□** (від 25.04.2019 р.; $n=5$) через 8 тиж відмінності склали 21 % від величини відповідного терміну стандартизованої шкали представлення результатів. Для інших термінів спостереження відхилення складала ~7 % (*група Tr_□ і підгрупа групи Tr_□ від 04.04.2019, $n=6$*), 11.4 % (*підгрупа групи Tr_□ від 15.04.2019, $n=5$*), 4.1 % (*група HG_■*), 8.8 % і 7.6 % (*підгрупи групи HG_□ від 25.04.2019 р. і від 29.08.2019, відповідно*). У групі **Tunnel_□** найбільше відхилення терміну тестування від терміну стандартизованої шкали представлення результатів реєстрували через 1 тиждень після травми (14.3 %), на інших термінах відхилення не перевищували 4.8 %.

³⁴ Йдеться про відмінності між підгрупами групи **Tr_□**, а також при порівнянні з групою **Tr_□**, при порівнянні підгруп групи **HG_□** між собою і групою **HG_■**, при порівнянні груп **Tr_□** і **HG_■** між собою і при порівнянні підгруп груп **Tr_□** і **HG_□**, а також при порівнянні груп **Tr_□** і **HG_■** з групою **Tunnel_□**. Так, при порівнянні підгруп групи **Tr_□** між собою і групою **Tr_□** — протягом перших трьох тижнів спостереження відмінності складала ~(22–29) % від величини відповідного терміну шкали представлення результатів, на інших термінах вона — не перевищували 11 %. При порівнянні підгруп групи **HG_□** між собою і групою **HG_■** — протягом перших двох тижнів спостереження відмінності складала (14.3–17.3) %, через 8 тиж — 21 %, через 3 міс — 12.1 %, на інших термінах — не перевищували 10.6 %. При порівнянні груп **Tr_□** і **HG_■** — через 1 тиждень після травми відмінності складала 28.6 %, на інших термінах — не перевищували 7.1 %. При порівнянні підгруп груп **Tr_□** і **HG_□** — протягом перших двох тижнів спостереження відмінності складала (14.3–21.5) %, через 8 тиж — 18.2 %, на інших термінах — не перевищували 10.8 %. При порівнянні груп **Tunnel_□** і **Tr_□** — через 1 тиждень після травми відмінності складала 14.3 %, на інших термінах — не перевищували 9.5 %. При порівнянні груп **Tunnel_□** і **HG_■** — через 1 тиждень після травми відмінності складала 42.9 %, на інших термінах — не перевищували 5.9 %. У всіх перелічених випадках йдеться про відхилення від величини кожного відповідного терміну стандартизованої шкали представлення результатів.

першого місяця спостереження відрізки істотної стабільної односпрямованої динаміки на розглянутих моделях ТрСМ [21–24, 38, 178, 179, 191, 192], зазвичай, відсутні [181].

2.7. Патогістологічні дослідження

2.7.1. Оглядове гістологічне дослідження.

З метою візуалізації нервових волокон у фіксованих препаратах використовували метод імпрегнації поздовжніх зрізів спинного мозку азотнокислим сріблом [181, 193]. У дослідження залучили матеріал 4-х тварин групи **Tr_□** і 4-х тварин групи **НГ_■**. Спеціальне співставлення результатів функціонального тестування і морфологічної картини зазначених тварин не здійснювали. Відразу після забиття тварини шляхом передозування вказаних вище наркотичних засобів (*n. 2.1.1*), ділянку хребта, котра включала зону травми, вилучали, поміщали у 4 % розчин параформальдегіду [181]. Через кілька тижнів шляхом мікропрепарування виокремлювали спинний мозок, лезом відсікали лишню частину каудальної та ростральної ділянок, звужуючи зону навколо травми [181]. Під час гістологічної обробки матеріал розміщували на поверхні металевого робочого блоку мікротома-криостата (*МК-25, СРСР*), заморожували до близько -20°C і формували поздовжні зрізи товщиною 15 мкм, які уміщали у водопровідну воду кімнатної температури. Візуально найякісніші зрізи відбирали і скляним гачком переносили для зберігання у 1 % розчин кислого формаліну [181]. Через ~1 добу з метою збільшення проникності мієлінових оболонок для азотнокислого срібла, зрізи переносили у органічний розчинник піридин, через 24 год — у посудину із водопровідною водою (*тричі по 10 хв*), далі — у посудину з дистильованою водою (*тричі по 5 хв*) і у 30 % розчин азотнокислого срібла [181]. Через 24 год зрізи переносили у дистильовану воду на менш ніж 1 хв, далі — у 1 % розчин кислого формаліну (*тричі по 3 по 4 хв*), згодом — у розчин аміачного

срібла (на ~2 хв), який готували *ex tempore* з 30 % розчину азотнокислого срібла титруванням 25 % розчином аміаку до повного розчинення осаду з фільтрацією [181]. Опісля зрізи уміщали у 1 % розчин кислого формаліну до набуття ними коричневого забарвлення, далі — у 0.5 % розчин кислого формаліну з вмістом глюкози ~1–2 % (на 15–20 с), у слабкий розчин аміаку (на ~30 с) і у дистильовану воду (на 10–15 хв) [181]. Насамкінець, зрізи на кілька хвилин переносили у 99.8 % розчин ізопропілового спирту, після чого у розчин опускали предметне скельце, яким підхоплювали і виймали необхідний зріз [181]. Надлишок спирту зі скельця прибирали фільтрувальним папером, не торкаючись зрізу, до повного осушення. На зріз наносили 1–2 краплини канадського бальзаму і вкривали тонким скельцем. Після однодобового просушування зрізи вважали готовими для мікроскопування [181].

Перегляд здійснювали на світлооптичному мікроскопі *Axiophot (OPTON, Німеччина)* зі збільшенням об'єктиву у 2.5, 10, 20 і 40 разів, збільшенням оптичного перехідника — у 2 рази і окуляра — у 10 разів [181]. Зображення фіксували цифровою камерою *Canon 600 (CANON INC., Тайвань)*, калібрували на комп'ютерному аналізаторі *CAI-01ABH (SELMi, Україна)* з використанням спеціального програмного забезпечення (*Kappa opto-electronics GmbH, Німеччина*) і об'єкт-мікрометра *Carl Zeiss ((0.01–1.0) мм; $\delta \pm 15\%$)* [181]. Формування панорамних зображень з первинних здійснювали у програмному пакеті *Adobe Photoshop* на персональному комп'ютері [181].

2.7.2. Імуногістохімічне дослідження.

З метою звільнення судин спинного мозку від елементів крові виведення тварин групи **Tunnel** здійснювали через процедуру преперфузії серцевосудинної системи розчином параформальдегіду. З цією метою кожну тварину наркотизували парами ефіру, фіксували на операційному столику черевцем доверху, широко розкривали грудну клітку, оголювали верхівку серця, яку перфорували голкою, під'єднаною до ємності з охолодженим фізіологічним

розчином. Стінку правого передсердя надсікали мікроножицями і з працюючим серцем виконували перфузію судин тварини охолодженим фізіологічним розчином, далі — 4 % розчином параформальдегіду до появи фібриляцій м'язів кінцівок, тулуба і хвоста. У префіксованої таким способом тварини блоком вилучали частину хребта з ділянкою імплантації і переносили у 4 % розчин параформальдегіду. Спинний мозок вивільняли шляхом мікропрепарування через ~1–2 тиж, промивали 0.1 М розчином фосфатного буферу, поміщали у рідкий 2 % розчин агарози і охолоджували до 4° С. Поздовжні зрізи спинного мозку необхідної товщини формували на вібротомі *CAMPDEN 765* (*Campden Instruments Ltd, Велика Британія*).

Для ідентифікації аксонів, клітинних ядер і гліоцитів використовували імуногістохімічну візуалізацію за допомогою опосередкованого специфічними антитілами зв'язування флюорофо-вмісних антитіл з субстратом і перегляду картини флюорисценції, викликаній опроміненням лазерними променями спеціальної частоти, генерованими конфокальним мікроскопом *FluoView FV1000* (*Olympus Inc., США*). Перелік використаних антитіл включав: *anti-GFAP* (*produced in rabbit, DAKO, Z0334; 1:500, polyclonal*), *anti-MBP* (*produced in rabbit, Novus Biological, NB110-79873SS; 1:200, polyclonal*), *anti-β-Tubulin* (*produced in mouse, Sigma, T5076; 1:500, monoclonal*), *donkey anti-Mouse IgG* (*H+L, secondary antibody, Alexa Fluor 555, Thermo Fisher Scientific, A-31570*), *donkey anti-Rabbit IgG* (*H+L, secondary antibody, Alexa Fluor 488, Thermo Fisher Scientific, A-21206*), *donkey anti-Rabbit IgG* (*H+L, Secondary Antibody, Alexa Fluor 647, Thermo Fisher Scientific, A-31573*).

Зрізи спинного мозку відмивали 0.1 М розчином фосфатного буферу, обробляли блокувальним розчином (0,3 % *TritonX-100*, 0,5 % бичачого сироваткового альбуміну) й протягом 24 год інкубували у суміші пеелічених вище первинних антитіл. Після відмивання 0.1 М розчином фосфатного буферу зрізи протягом 1 год витримували у розчині з сумішшю зазначених вище вторинних антитіл і після повторного відмивання 0.1 М розчином фосфатного буферу фіксували покривним склом у спеціальному середовищі для флуоресцентних

препаратів (*Dako, Данія*). Викликану флуоресценцію візуалізували за допомогою конфокального мікроскопа *FluoView FV1000 (Olympus Inc., США)* з цифровою фотокамерою, поєднаною з комп'ютером загального користування.

2.8. Статистична обробка цифрових даних

Статистичну обробку результатів вимірювання ПФ і ПС паретичної кінцівки здійснювали за допомогою програмного пакету STATISTICA 10.0 на персональному комп'ютері [181]. Автоматично усереднені засобами описової статистики величини представляли у вигляді $M \pm SE$, де M (*англ. – mean*) — середнє значення величини, SE (*англ. – standard error*) — стандартна похибка середнього значення величини [181].

Для порівняльної оцінки середніх значень ПФ та ПС використовували непараметричний тест Манна-Уїтні (*Mann-Whitney U-test*) [181]. Достовірність відмінностей значень ПФ та ПС на різних термінах спостереження кожної окремої групи оцінювали тестом Вілкоксона (*Wilcoxon Matched Pairs Test*) [181]. Кореляцію між індивідуальними значеннями ПФ та ПС на кожному з термінів спостереження, а також між середніми по групам значеннями ПФ, ПС і величиною терміну спостереження оцінювали за допомогою непараметричного коефіцієнту рангової кореляції Спірмена (*Spearman Rank Order Correlations*) [181]. Результати оцінки виражали у вигляді значення коефіцієнту кореляції r із вказівкою значущості.

У всіх випадках припущення щодо статистичної значущості отриманого результату вважали вірними, якщо ймовірність реалізації протилежного твердження була меншою ніж 0.05 ($p < 0.05$) [181].

РОЗДІЛ 3

ВИСІЧЕННЯ БІЧНОГО ПОЛОВИННОГО ФРАГМЕНТУ СПИННОГО МОЗКУ МОЛОДОГО ЩУРА У НИЖНЬОГРУДНОМУ ВІДДІЛІ ЯК ОПТИМАЛЬНА МОДЕЛЬ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ВІДНОВНИХ НЕЙРОТРАНСПЛАНТАЦІЙНИХ ВТРУЧАНЬ ПРИ СПІНАЛЬНІЙ ТРАВМІ

3.1. Технічні особливості використаних моделей однобічної лацераційної травми спинного мозку щура.

Обидві використані у дослідженні моделі мають схожі технічні особливості, котрі потребують окремого ретельного розгляду [181]. На поперечному зрізі хребта зрілого щура у нижньогрудному відділі виявляють симетричні латероventральні поширення хребтового каналу [181, 194–197]. Причому, лише мала частина дорзальної поверхні дужки хребця на цьому рівні може бути видалена без ушкодження міжхребцевих суглобів, тобто, повне розкриття дорзальної поверхні спинного мозку вимагає резекції суглобових виростів і з очевидних причин може призвести до зменшення стабільності хребта [181]. Враховуючи латероventральне розташування важливого для локомоції щура сітчасто-спинномозкового шляху [172], неповний перетин спинного мозку (у зв'язку із зазначеною анатомічною особливістю хребтового каналу) може бути причиною істотного аутогенного відновлення рухової активності задньої паретичної кінцівки. Отже, сліпий контроль повноти перетину є важливим моментом відтворення лацераційної ТрСМ [181].

Іншою умовою коректного виконання моделі однобічного ушкодження спинного мозку є збереження цілісності задньої серединної вени [181]. У випадку її ушкодження спостерігається блискавичне наростання набряку–набухання спинного мозку на рівні втручання з формуванням глибокої перманентної

нижньої параплегії [181]. Тому важливо обмежувати зону мієлотомії парасагітально [181].

Питання точного окреслення місця травми вздовж ростро-каудальної осі, незважаючи на вдавану простоту, — складне, перш за все, виходячи з вікових і, не виключено, внутрішньовидових особливостей скелетотопії спинного мозку щура [181]. Зазвичай, для вибору зони травми використовують пальпаторне визначення каудального краю грудної клітки глибоко анестезованої тварини у місці її фіксації до хребта — рівня ймовірного розташування хребця T₁₃. Однак, такий спосіб, з огляду на більшу рухомість останніх пар ребер (*costae fluctuantes*, як відомо, наявні й у гризунів [182, 183]), без візуалізації шийкових частин ребер і місць їх фіксації до хребта³⁵ чи без рентгенологічного контролю, — не надійний і дозволяє локалізувати ділянку ламінектомії лиш приблизно. Тим більше, слід враховувати теоретично меншу осифікацію, а тому більшу рухомість і гнучкість *costae fluctuantes* у щурів місячного віку, що може означати вище розташування точки зупинки пальців хірурга при виявленні ригідної вершини кута між краєм грудної клітки і хребтом [181]. Тому, на нашу думку, у дорослих тварин визначений таким прийомом рівень ламінектомії припадає найчастіше на хребці T₁₁–T₁₂, у молодих — на хребець T₁₁ [181]. Зважаючи на наявну, певною мірою неоднозначну літературну інформацію стосовно скелетотопії спинного мозку [181, 184, 185], можемо припускати, що у дорослих тварин цей рівень відповідає сегментам T₁₃–L₁ [181]. Однак, добре відомо, що скелетотопія спинного мозку має вікові особливості. Приміром, у дорослої людини каудальний кінець спинного мозку локалізовано на рівні нижньої третини хребця L₁ – верхньої третини хребця L₂ [198], у новонароджених — приблизно на один хребець нижче [199, 200]. У дорослого щура каудальний кінець спинного мозку знаходять на рівні між хребцями L₃ і L₄ чи між хребцями L₄ і L₅ [186], у 20-добового щура (*Sprague-Dawley*, *n=1*) — на рівні хребця L₆ [187], так що, на думку авторів [187], різниця локалізації ділянки планованої травми повинна складати 15–20 мм каудальніше у порівнянні з дорослими екземплярами [181]. Маса тварин, залучених до нашого

³⁵ така візуалізація можлива лише шляхом мікропрепарування зі значною ймовірністю пневмотораксу.

дослідження, щонайменше у 4–5 разів менша, ніж дорослих, отже зона травми спинного мозку за аналогічної процедури з'ясування вершини кута між нижнім краєм грудної клітки і хребтом у нашому випадку відповідала сегментам спинного мозку T_{12} – T_{13} і асоційованим з ними нервовим корінцям сегментів T_{12} і, можливо, T_{11} й T_{13} [181].

Інервація м'язів черевної стінки щура загалом забезпечується спиномозковими нервами T_6 – L_1 , а її серединної частини — нервами T_7 – T_{10} [181, 201]. Ураження спиномозкових нервів під час контролю повноти перетину половини спинного мозку при виконанні ламінектомії у зоні хребців T_{11} – T_{12} не може спричинити видимий парез м'язів черевної стінки, оскільки на зазначеному рівні у каналі хребта перебувають стовбури спиномозкових нервів T_{11} – L_2 [181, 185]. Отже, факт добре видимого парезу черевної стінки свідчить, перш за все, про виконання травми на рівні, вищому, ніж T_{11} або про суттєве ростральне поширення вторинних альтераційних реакцій у речовині травмованого спинного мозку [181]. Такий стан з очевидних причин також впливає на симетрію тіла і якість рухової активності тварини, а тому, на наш погляд, може істотно утруднювати верифікацію рівня рухової функції задньої перетичної кінцівки за шкалою ВВВ [181].

Нарешті, відомо, що мотонейрони основних м'язів задньої кінцівки щура зосереджені на рівні сегментів спинного мозку L_3 – L_6 [181, 190], отже наявність стійкого периферичного парезу у експериментальної тварини вірогідно свідчить про каудалізоване виконання травми або поширення вторинних альтераційних реакцій на основні мотонейронні групи задньої кінцівки [181].

Отже, обидва описані симптоми — наявність у тварини виразного іпсилатерального в'ялого парезу черевної стінки чи задньої кінцівки після моделювання однобічного ушкодження спинного мозку — слід використовувати як обов'язкові критерії невключення, збільшуючи цим самим однорідність експериментальних груп стосовно рострокауального розташування епіцентру травми, тобто відбираючи лише тих тварин, у яких він розташований на оптимальному рівні, у межах сегментів T_{12} – L_1 [181].

3.2. Відновлення рухової функції і динаміка спастичності паретичної кінцівки після лівобічного половинного перетину спинного мозку у нижньогрудному відділі й імплантації РНРМА-гідрогелю у тварин молодого віку

3.2.1. Рухова функція паретичної кінцівки у групах Tr_{τ} і HG_{τ} у динаміці спостереження.

Найхарактернішою і несподіваною рисою динаміки відновного процесу у групах Tr_{τ} і HG_{τ} виявилась їхня очевидна ідентичність (рис. 3.1) [181, 202, 203, 204], котра, щоправда, була певною мірою урізноманітнена наявністю відтермінованого значущого приросту ПФ у групі HG_{τ} й деякими відмінностями розподілу значень ПФ на ключових термінах спостереження (рис. 3.2, 3.3).

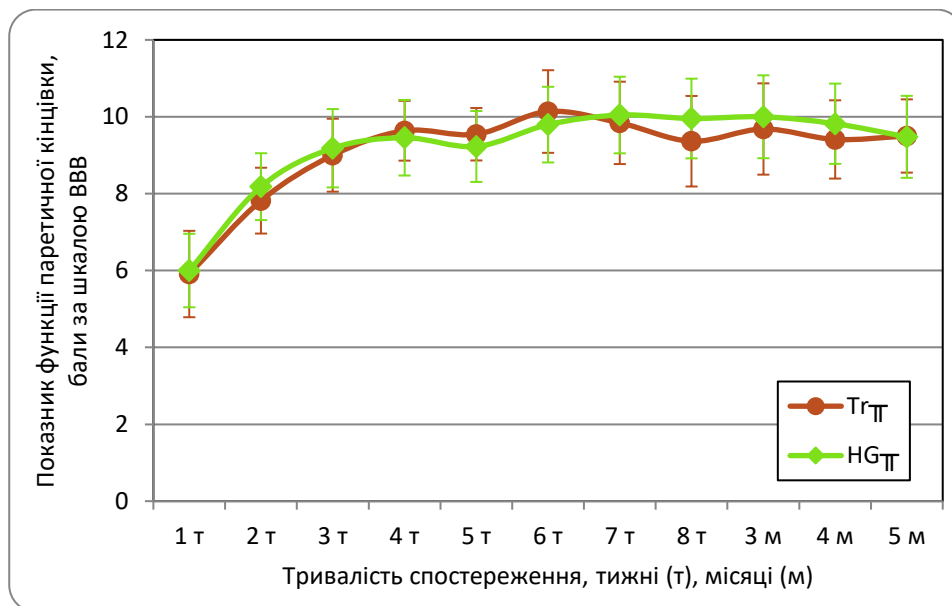


Рисунок 3.1 — Динаміка значень ПФ у групах Tr_{τ} і HG_{τ} впродовж експерименту, наведена згідно зі стандартизованою часовою шкалою.

Пояснення у тексті

Через 1 тиждень після моделювання травми ПФ у групі **Tr_т** складав (5.9 ± 1.1) бала за шкалою ВВВ, у групі **НГ_т** — (6.0 ± 1.0) бала. Вихід значень ПФ на умовне "плато" в обох групах відбувався протягом першого місяця, фактичний максимум у групі **Tr_т** (10.1 ± 1.1) бала за шкалою ВВВ) фіксували через 6 тиж після моделювання травми, у групі **НГ_т** — через 7 тиж (10.1 ± 1.0) бала за шкалою ВВВ) [181, 202, 204]. Достовірне збільшення ПФ у групі **Tr_т** обмежувалось першими 3-ма тиж спостереження ($p < 0.05$ при порівнянні значень на різних термінах спостереження у вказаному часовому проміжку; *Wilcoxon Matched Pairs Test*). У групі **НГ_т** значущий приріст ПФ констатували станом на 2-й і 4-й тиждень, а також впродовж 6–8-го тижня спостереження ($p < 0.05$ при порівнянні значень на вказаних термінах із значеннями, відповідно, через 1, 2 і 5 тиж; *Wilcoxon Matched Pairs Test*) [181, 202, 204]. Друга хвиля значущого приросту у групі **НГ_т** нівелювалася протягом 3-го місяця: різниця значення ПФ станом на кінець 3-го, 4-го і 5-го місяця зі значенням ПФ через 5 тиж спостереження виявилася недостовірною ($p > 0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*) [202, 204].

Мабуть, саме завдяки існуванню другої хвилі значущого приросту ПФ у групі **НГ_т** спостерігали істотну позитивну кореляцію усереднених значень ПФ і показника тривалості спостереження ($r = 0.77$; $p < 0.05$, *Spearman Rank Order Correlations*) [202, 204]. У групі **Tr_т** величина коефіцієнту рангової кореляції за таких умов склала $r = 0.45$ ($p > 0.05$, *Spearman Rank Order Correlations*) [181, 204]. Значення ПФ наприкінці експерименту у групі **Tr_т** і групі **НГ_т** склали, відповідно, (9.5 ± 1.0) і (9.5 ± 1.1) бала за шкалою ВВВ (рис. 3.1) [181, 202, 203, 204].

Загалом, незважаючи на певні своєрідності динаміки значень ПФ, протягом усього періоду спостереження значущих відмінностей цього показника між групами **Tr_т** і **НГ_т** не виявлено ($p > 0.05$; *Mann-Whitney U Test*) [202, 203, 204].

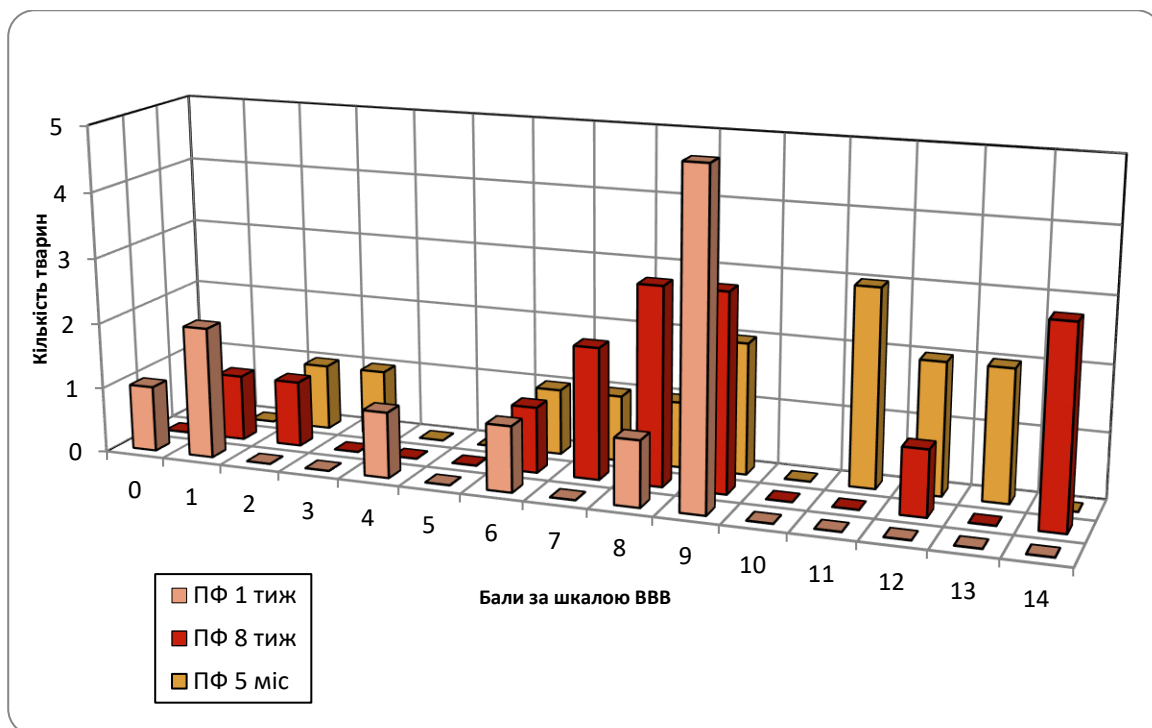


Рисунок 3.2 — Розподіл значень ПФ у групі Tr_T через 1 і 8 тиж, а також через 5 міс після моделювання травми. *Примітка:* за наявності нецілого значення ПФ тварину зараховували до обох суміжних цілих значень

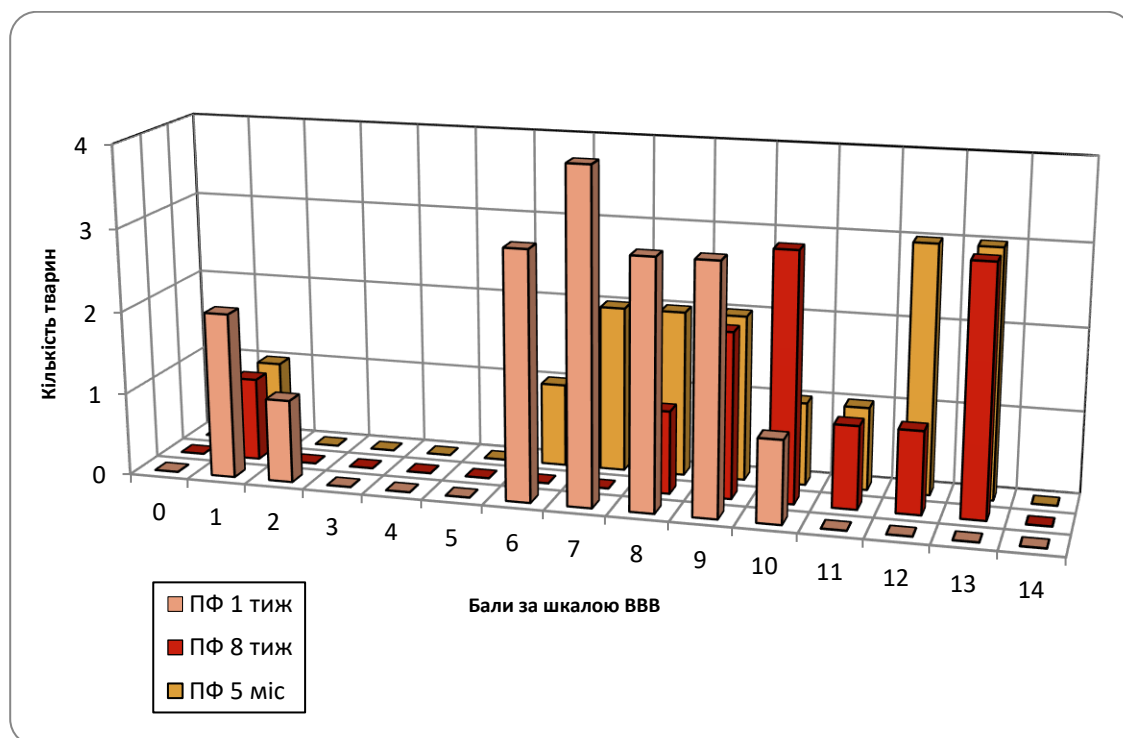


Рисунок 3.3 — Розподіл значень ПФ у групі HG_T через 1 і 8 тиж, а також через 5 міс після моделювання травми. *Примітка:* за наявності нецілого значення ПФ тварину зараховували до обох суміжних цілих значень

Динаміка абсолютного тижневого приросту ПФ ($V_{\text{ПФ}}$) у обох групах теж виявилася ідентичною [181] (рис. 3.4). Протягом першого тижня спостереження значення цього показника у групі $\text{Tr}_{\text{П}}$ складало (5.9 ± 1.1) бала/тиж, у групі $\text{HG}_{\text{П}}$ — (6.0 ± 1.0) бала/тиж, на другому тижні — (1.9 ± 0.4) бала/тиж і (2.2 ± 0.6) бала/тиж, на третьому — (1.2 ± 0.4) бала/тиж і (1.0 ± 0.6) бала/тиж, відповідно.

Зменшення $V_{\text{ПФ}}$ протягом 2-го тижня виявилось достовірним при порівнянні значень показника першого тижня з показниками на решті відрізках спостереження ($p < 0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*). Значущу відмінність $V_{\text{ПФ}}$ на 2-му тижні виявляли при порівнянні зі значеннями показника на 4-му, 5-му, 7-му і 8-му тижні і на 3-му, 4-му і 5-му місяці спостереження у групі $\text{Tr}_{\text{П}}$, а також при порівнянні зі значеннями показника на 4-му тижні і на усіх наступних відрізках у групі $\text{HG}_{\text{П}}$ ($p < 0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*). У групі $\text{Tr}_{\text{П}}$ статистично значущу відмінність виявляли також і при порівнянні значення $V_{\text{ПФ}}$ на 3-му тижні зі значеннями на 7-му і 8-му тижні і 3-му, 4-му і 5-му місяці спостереження ($p < 0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*). У групі $\text{HG}_{\text{П}}$ істотну відмінність відносно значення $V_{\text{ПФ}}$ на 3-му тижні виявляли лише при порівнянні зі значенням на 4-му місяці експерименту ($p < 0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*).

Загалом, перша фаза відновного процесу у обох групах вичерпувалася протягом першого місяця спостереження; після перерви на 5-му тижні значення $V_{\text{ПФ}}$ збільшувалося до ~ 0.6 балів/тиж на 6-му тижні, причому у групі $\text{HG}_{\text{П}}$ це збільшення виявилось достовірним відносно показників 2–5-го місяця спостереження ($p < 0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*). У подальшому спостерігали принульові коливання значень $V_{\text{ПФ}}$ (рис. 3.4).

Загалом, середнє значення $V_{\text{ПФ}}$ протягом усього експерименту у групі $\text{Tr}_{\text{П}}$ складало (0.9 ± 0.1) бала/тиж, у групі $\text{HG}_{\text{П}}$ — (0.9 ± 0.1) бала/тиж. Протягом перших 2-х місяців середнє значення $V_{\text{ПФ}}$ у групі $\text{Tr}_{\text{П}}$ складало (1.2 ± 0.1) бала/тиж, у групі $\text{HG}_{\text{П}}$ — (1.2 ± 0.1) бала/тиж.

Жодних істотних відмінностей величини $V_{\text{ПФ}}$ у обох групах при попарному порівнянні на кожному з термінів спостереження виявлено не було ($p > 0.05$; *Mann-Whitney U Test*).

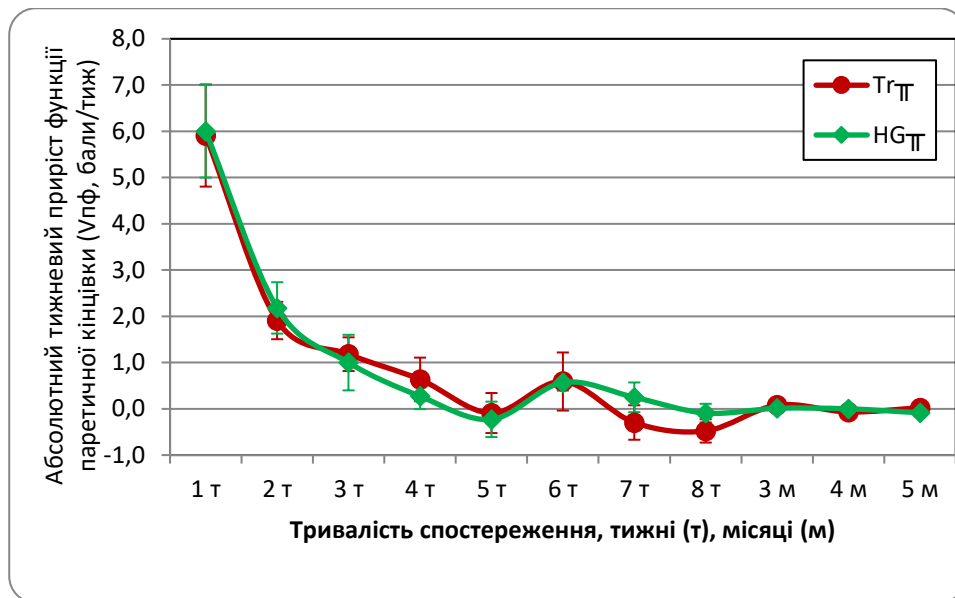


Рисунок 3.4 — Динаміка значень $V_{пф}$ у групах Tr_T і HG_T впродовж експерименту, наведена згідно зі стандартизованою часовою шкалою.

Пояснення у тексті

Факт наявності відтермінованого приросту ПФ протягом 2-го місяця після моделювання травми й імплантації РНРМА-гідрогелю повністю комплементарний попереднім спостереженням, виконаним на дорослих тваринах іншої лінії [39, 40, 174]. Однак, у тварин молодого віку такий приріст не спричинив істотної переваги ПФ групи HG_T відносно ПФ групи Tr_T .

3.2.2. Спастичність на рівні паретичної кінцівки у групах Tr_T і HG_T .

Як і у випадку ПФ, значення і динаміка ПС у групах Tr_T і HG_T виявились схожими [202, 204] (рис. 3.5). Єдиним терміном спостереження, на котрому виявляли значущу різницю ПС обох груп був кінець 1-го тижня ($p=0.03$; *Mann-Whitney U Test*); у цій часовій точці усереднені значення ПС у групах Tr_T і HG_T склали, відповідно, (0.3 ± 0.1) і (0.7 ± 0.2) бала за шкалою Ashworth (рис. 3.5).

Протягом 1-го місяця у групі **НГ_П** спостерігали недостовірне зменшення ПС до мінімального впродовж експерименту значення у (0.5 ± 0.2) бала за шкалою Ashworth [202, 204] (рис. 3.5). Протягом наступних двох місяців у групі **НГ_П** відмічали поступове збільшення ПС до максимуму $((0.9 \pm 0.3)$ бала за шкалою Ashworth), котрий фіксували через 3 і 4 міс після моделювання травми. Значення ПС на цих двох термінах спостереження істотно ($p < 0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*) відрізнялися від значень на 4–6-му тижні (стосовно значення ПС станом на кінець 3-го місяця) і зі значеннями на 5–7-му тижні (стосовно значення ПС станом на кінець 4-го місяця) [202, 204]. Як результат — для групи **НГ_П** була характерною слабка значуща додатна кореляція між усередненими значеннями ПС і величиною терміну спостереження ($r = 0.6$; $p < 0.05$, *Spearman Rank Order Correlations*) [202, 204].

Динаміка ПС у групі **Tr_П** характеризувалася двома достовірними екстремумами: на 2–4-му тижні $((0.6 \pm 0.1)$ бала за шкалою Ashworth; $p < 0.05$ при порівнянні зі значеннями ПС через 1 тиждень після моделювання травми, *Wilcoxon Matched Pairs Test*) і на 8-му тижні $((0.8 \pm 0.1)$ бала за шкалою Ashworth; $p < 0.05$ при порівнянні зі значеннями ПС через 1, 4 і 5 тиж після моделювання травми, *Wilcoxon Matched Pairs Test*) [181, 202, 204] (рис. 3.5).

Фінальне значення ПС у обох групах було майже ідентичним і складало ~ 1 бала за шкалою Ashworth (рис. 3.5). Це значення виявилось фактичним, однак, недостовірним максимумом для групи **Tr_П**.

У цілому для групи **Tr_П** була характерною міцніша достовірна додатна кореляція між усередненими значеннями ПС і величиною терміну спостереження ($r = 0.83$; $p < 0.05$, *Spearman Rank Order Correlations*) [181, 202, 204].

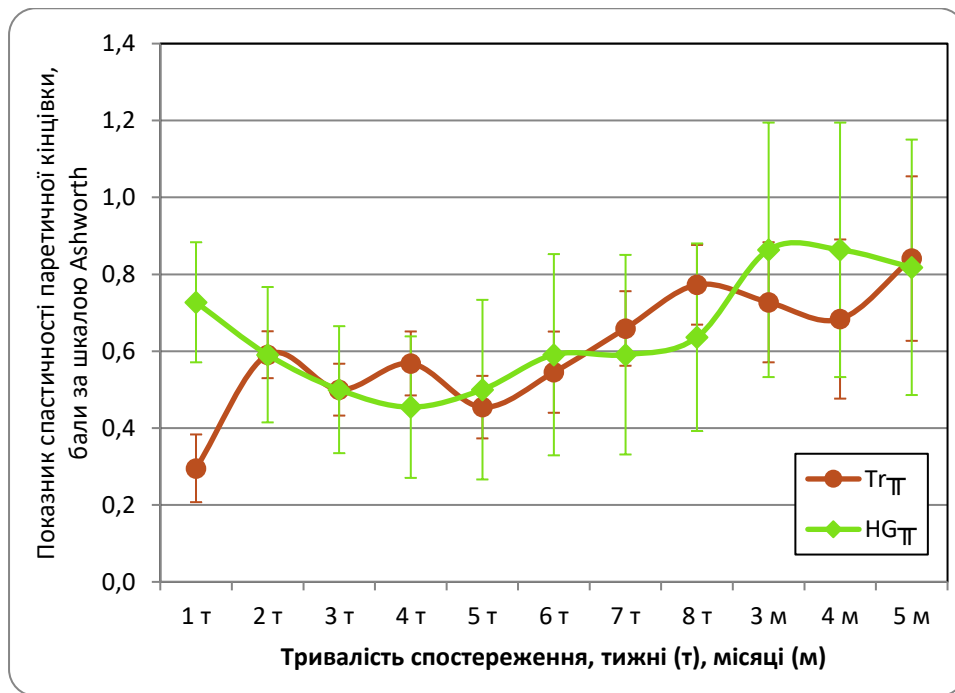


Рисунок 3.5 — Динаміка значень ПС у групах **Tr_T** і **HG_T** впродовж експерименту, наведена згідно зі стандартизованою часовою шкалою.

Пояснення у тексті

Динаміка абсолютного тижневого приросту ПС ($V_{\text{ПС}}$), на відміну від динаміки $V_{\text{ПФ}}$, у обох групах істотно відрізнялася, зокрема, протягом перших двох тижнів експерименту (рис. 3.6).

Через тиждень від моменту моделювання травми значення цього показника у групі **Tr_T** складало (0.3 ± 0.1) бала/тиж [181], у групі **HG_T** — (0.7 ± 0.2) бала/тиж. Через 2 тиж після початку експерименту значення показника у групі **Tr_T** залишалося незмінним — (0.3 ± 0.1) бала/тиж [181], тоді як у групі **HG_T** — зменшувалося до нульового рівня і залишалося таким до завершення експерименту (рис. 3.6). Зменшення $V_{\text{ПС}}$ до нульової позначки у групі **Tr_T** спостерігали на наступному, 3-му тижні; у подальшому значення показника коливались навколо нуля [181] (рис. 3.6).

Різниця значень $V_{\text{ПС}}$ у групах на перших двох тижнях спостереження виявилася значущою ($p=0.03$; *Mann-Whitney U Test*), через 1 тиждень після травми

— на користь групи $\mathbf{HG}_{\text{Т}}$, через 2 тиж — на користь групи $\mathbf{Tr}_{\text{Т}}$ (рис. 3.6). Зменшення $V_{\text{ПС}}$ у групі $\mathbf{Tr}_{\text{Т}}$ на 3-му тижні спостереження виявилось достовірним, оскільки при порівнянні значення 5-го тижня зі значенням 2-го тижня різниця була значущою ($p=0.018$), а при порівнянні значення 5-го тижня зі значенням 2-го — ні ($p=0.75$; у обох випадках — *Wilcoxon Matched Pairs Test*). Істотно менші значення $V_{\text{ПС}}$ у групі відносно значень перших двох тижнів виявляли на 5-му (відносно значення 2-го тижня) і на 3–5-му місяці (відносно значення 1-го і 2-го тижнів; $p<0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*) [181]. У групі ж $\mathbf{HG}_{\text{Т}}$ динаміка $V_{\text{ПС}}$ була суттєво іншою: значущу різницю виявляли при порівнянні величини показника протягом першого тижня і протягом усіх інших відрізків спостереження ($p<0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*). Загалом, середнє значення $V_{\text{ПС}}$ протягом усього експерименту й протягом перших двох місяців у обох групах склало (0.1 ± 0.0) бала/тиж.

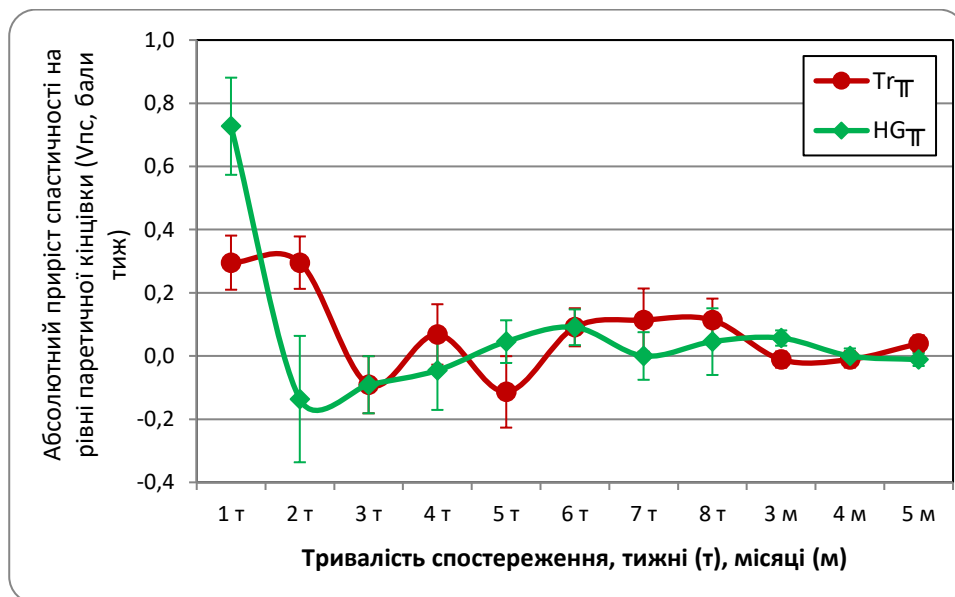


Рисунок 3.6 — Динаміка значень $V_{\text{ПС}}$ у групах $\mathbf{Tr}_{\text{Т}}$ і $\mathbf{HG}_{\text{Т}}$ впродовж експерименту, наведена згідно зі стандартизованою часовою шкалою.

Пояснення у тексті

При аналізі середніх значень ПФ і ПС впродовж усього експерименту (рис. 3.7, 3.8) у обох групах кореляції між цими показниками не виявлено ($p>0.05$,

Spearman Rank Order Correlations): коефіцієнт рангової кореляції між усередненими на кожному терміні значеннями ПФ і ПС для групи \mathbf{Tr}_T склав $r=0.19$, для групи \mathbf{HG}_T — $r=0.36$ [181, 202, 204].

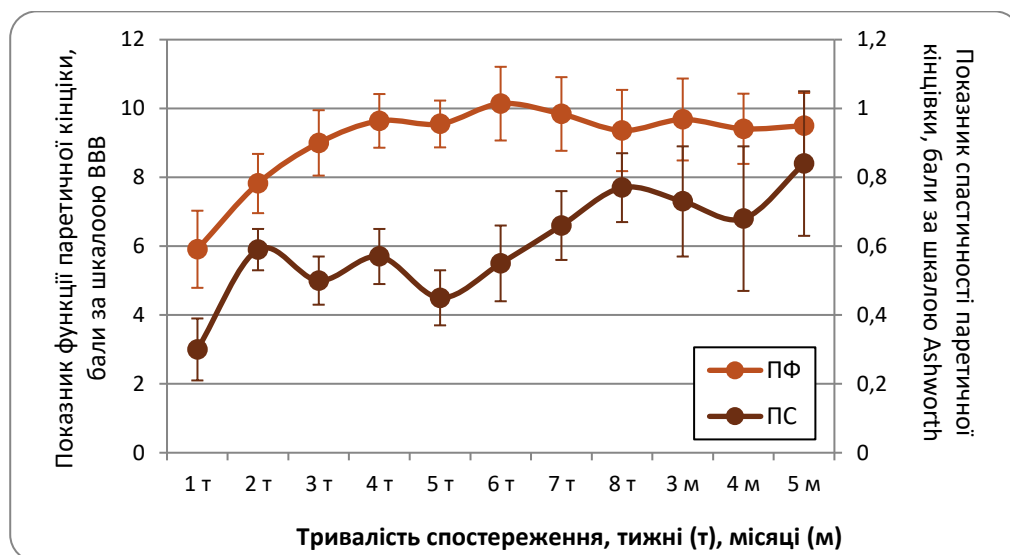


Рисунок 3.7 — Порівняльна динаміка усереднених значень ПФ і ПС у групі \mathbf{Tr}_T впродовж загального періоду спостереження, згідно зі стандартизованою часовою шкалою

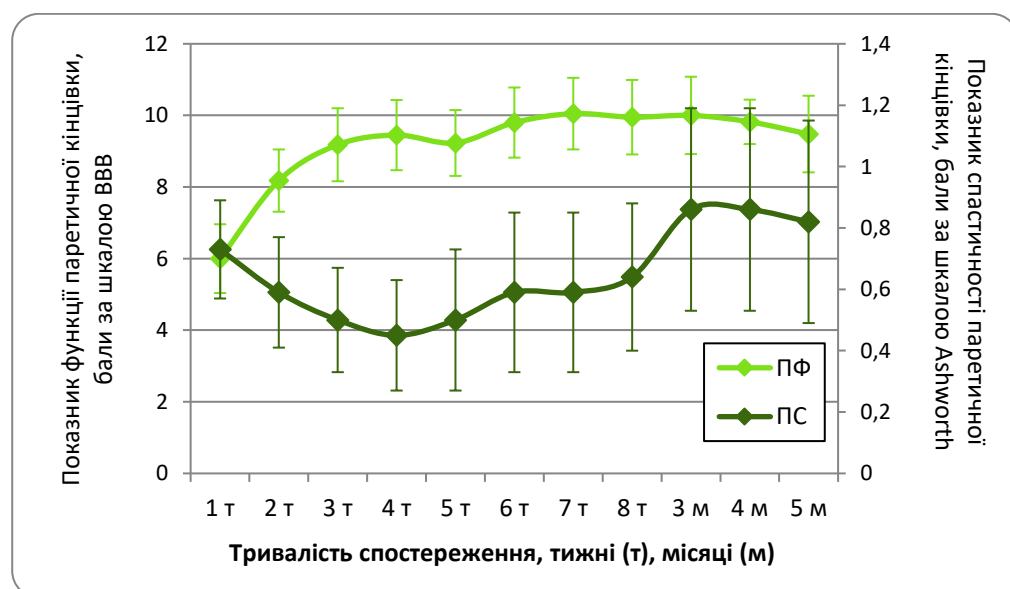


Рисунок 3.8 — Порівняльна динаміка усереднених значень ПФ і ПС у групі \mathbf{HG}_T впродовж загального періоду спостереження, згідно зі стандартизованою часовою шкалою

При аналізі пар індивідуальних значень ПФ і ПС на кожному з термінів спостереження достовірну негативну кореляцію спостерігали через 1 і 4 тиж, 3 і 5 міс після травми (група Tr_{\square}) і через 3, 5 і 6 тиж, 3, 4 і 5 міс після травми (група HG_{\square} ; у обох випадках — $p < 0.05$, Spearman Rank Order Correlations) [181, 202, 204]. Цим пара груп Tr_{\square} і HG_{\square} істотно відрізняється від інших трьох груп (див. далі), що, на нашу думку, пов'язано з низькою верифікаційною здатністю шкали Ashworth на тлі легкого центрального парезу, тобто в умовах легкої спастичності і значної функціональної активності паретичної кінцівки. Хоча для виявлення такого стану ми використовували додаткові симптоми (див. п. 2.4): виразніше у паретичній кінцівці тремтінням під час мануального розтягу м'язів на тлі відтягнення лапи убік і/або надмірне розгинанням патеричної задньої лапи у межах постуральної протидії різкій тракції тварини за хвостовий кінець на горизонтальній поверхні.

3.3. Відновлення рухової функції і динаміка спастичності паретичної кінцівки після висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку тварин молодого віку у нижньогрудному відділі й імплантації РНРМА-гідрогелю

3.3.1. Рухова функція паретичної кінцівки у групах Tr_{\square} і HG_{\square} у динаміці спостереження.

На відміну від груп Tr_{\square} і HG_{\square} , розподіл значень ПФ (рис. 3.9, 3.10), рівень і динаміка ПФ (рис. 3.11) і $V_{\text{ПФ}}$ (рис. 3.12) у групах Tr_{\square} і HG_{\square} драматично відрізнялися [181, 202, 204–208].

У групі Tr_{\square} через 1 тиждень після моделювання травми ПФ паретичної кінцівки складав (0.9 ± 0.5) бала за шкалою ВВВ (рис. 3.11) [181, 202, 204, 208, 209]. Протягом наступного тижня ПФ у групі сягав фактичного, однак, недостовірною максимуму — (1.9 ± 0.7) бала за шкалою ВВВ ($p > 0.05$ при порівнянні зі значеннями

першого і третього тижня; *Wilcoxon Matched Pairs Test*) (рис. 3.11) [181, 202, 204, 208]. Схожі значення ПФ фіксували й наприкінці 2-го та 3-го місяця спостереження — (1.9 ± 1.0) бала за шкалою ВВВ (рис. 3.11). Для групи був характерним регрес значень ПФ протягом 4–5-го місяця спостереження (рис. 3.11): фінальне значення ПФ становило (0.8 ± 0.3) бала за шкалою ВВВ і виявилось істотно меншим, ніж значення наприкінці 2-го тижня спостереження ($p=0.035$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*) [181, 202, 204, 208]. Усі інші зміни ПФ у групі були незначущими ($p>0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*). Причому, усереднені по групі \mathbf{Tr}_{\square} значення ПФ не демонстрували жодної істотної кореляції з показником тривалості спостереження ($r=0.02$; $p>0.05$, *Spearman Rank Order Correlations*) [181, 202, 204, 208].

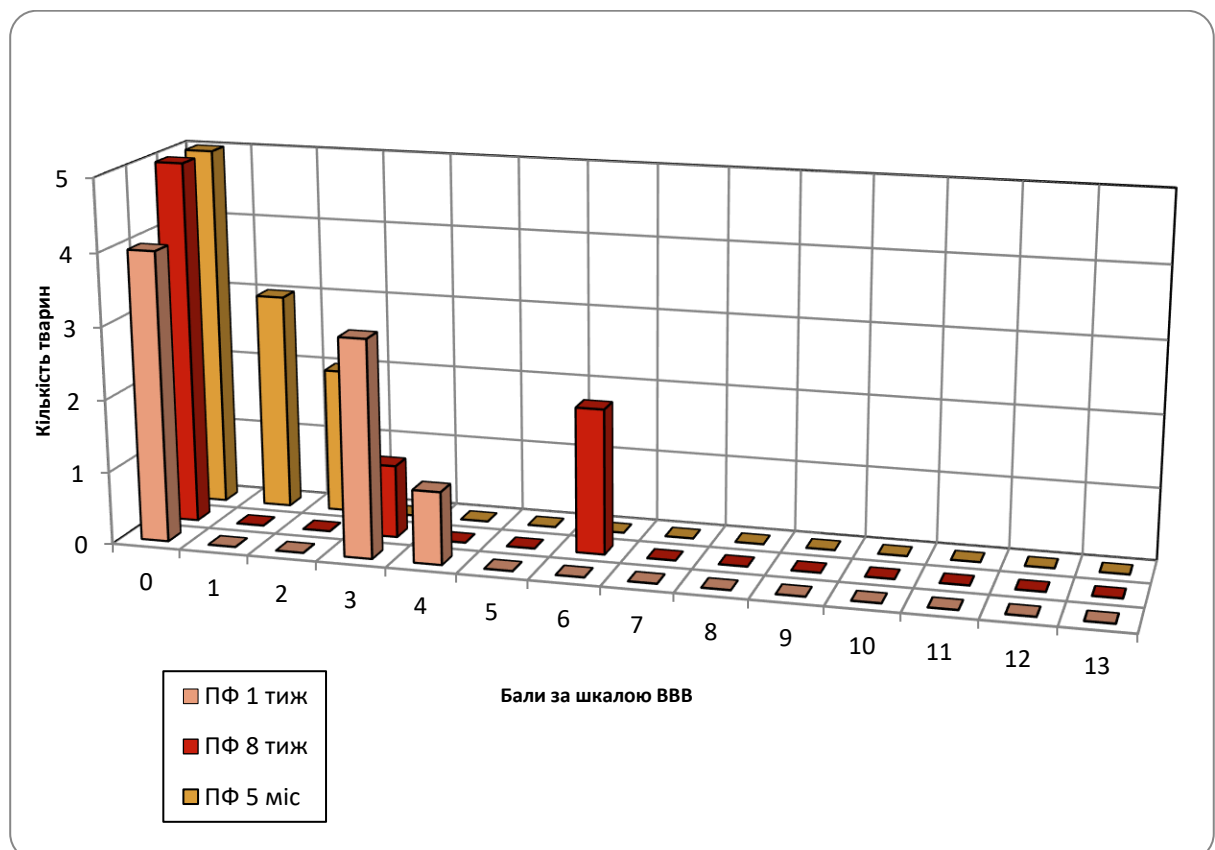


Рисунок 3.9 — Розподіл значень ПФ у групі \mathbf{Tr}_{\square} на ключових термінах спостереження. *Примітка:* у випадку нецілого значення ПФ тварину зараховували до обох суміжних цілих значень

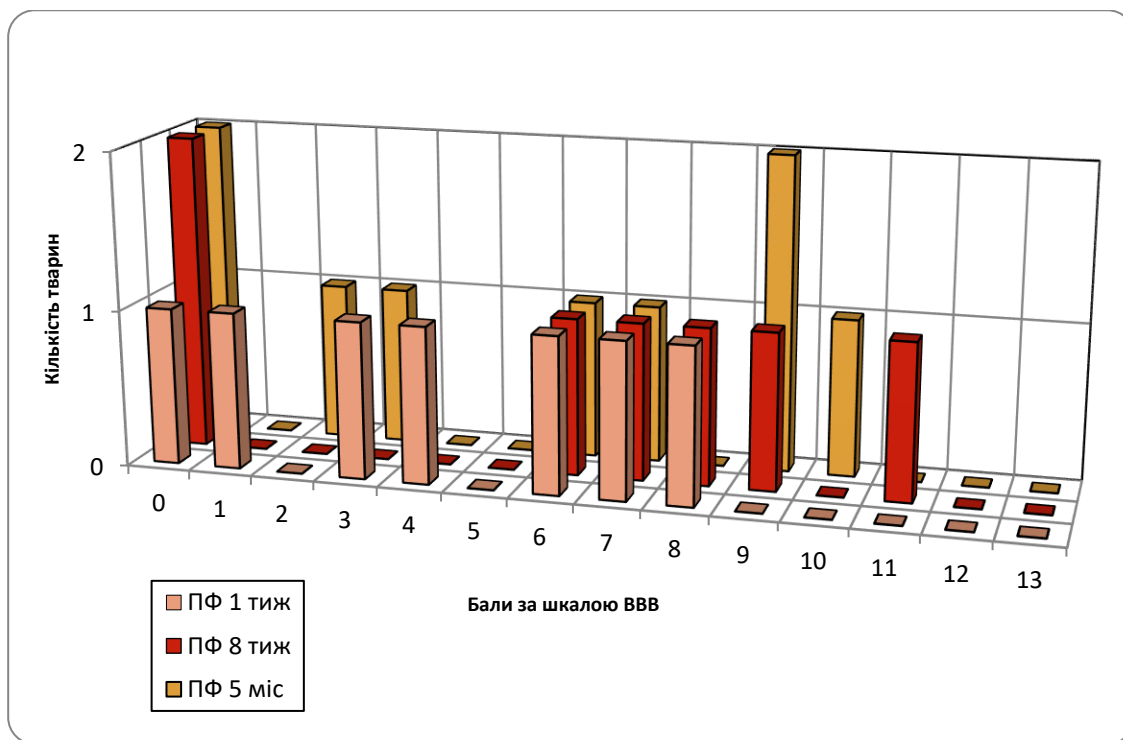


Рисунок 3.10 — Розподіл значень ПФ у групі **HG** на ключових термінах спостереження. *Примітка:* у випадку нецілого значення ПФ тварину зараховували до обох суміжних цілих значень

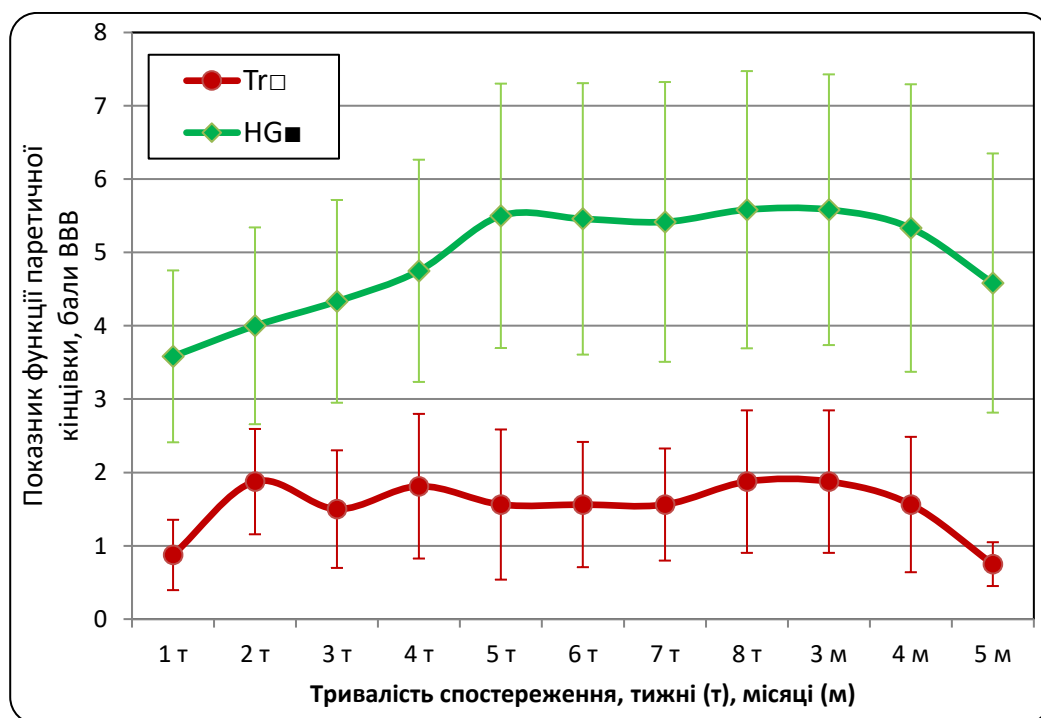


Рисунок 3.11 — Динаміка значень ПФ у групах **Tr** і **HG** впродовж експерименту, наведена згідно зі стандартизованою часовою шкалою.

Пояснення у тексті

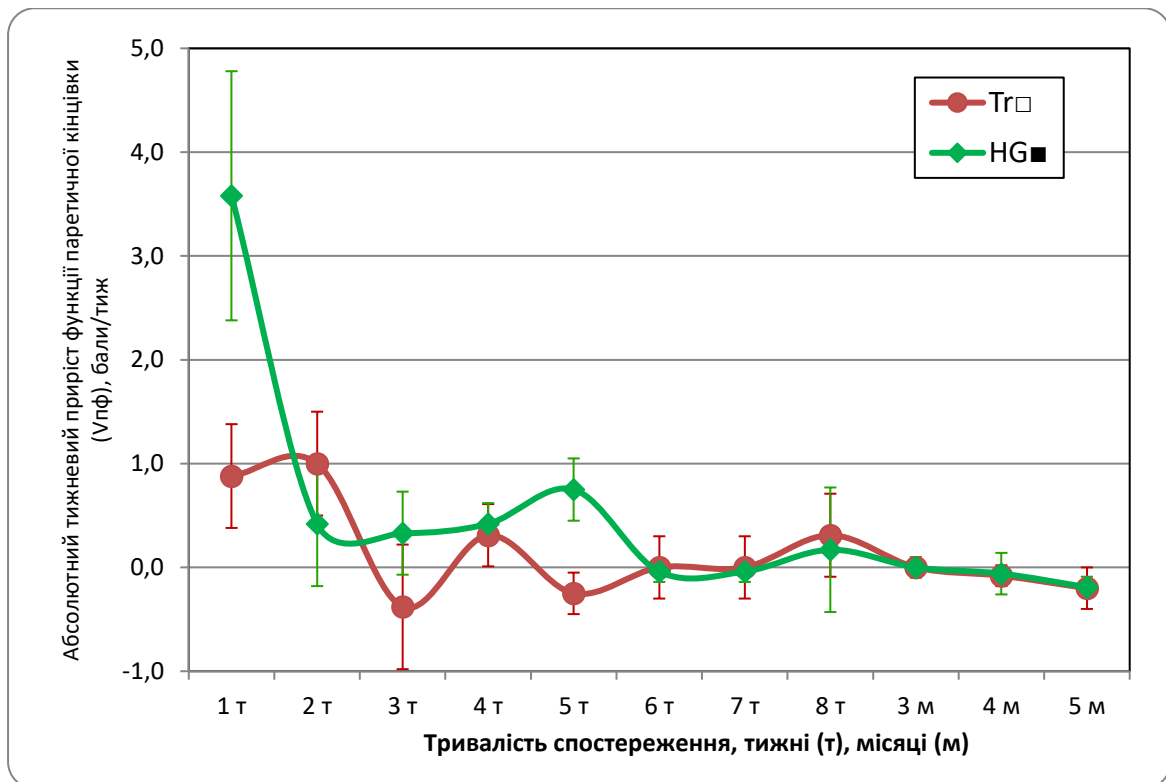


Рисунок 3.12 — Динаміка значень $V_{\text{ПФ}}$ у групах **Tr□** і **HG■** впродовж експерименту, наведена згідно зі стандартизованою часовою шкалою.

Пояснення у тексті

Максимальні значення абсолютного тижневого приросту ПФ ($V_{\text{ПФ}}$) у групі **Tr□** виявляли протягом перших двох тижнів спостереження ((0.9 ± 0.5) бала/тиж і (1.0 ± 0.5) бала/тиж; рис. 3.12) [181]. На 3-му тижні $V_{\text{ПФ}}$ у групі склав (-0.4 ± 0.6) бала/тиж і у подальшому спостерігали принульові коливання значень показника (рис. 3.12) [181]. Уцілому, середні значення $V_{\text{ПФ}}$ протягом усього експерименту у групі **Tr□** виявилось близьким до нуля ((0.1 ± 0.1) бала/тиж), зменшення $V_{\text{ПФ}}$ протягом експерименту набувало статистичної значущості лише при порівнянні значень 5-го тижня і двох останніх місяців зі значенням 1-го тижня ($p < 0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*) [181]. Протягом перших 2-х місяців середні значення $V_{\text{ПФ}}$ склали (0.2 ± 0.1) бала/тиж [181].

Значення ПФ паретичної кінцівки у групі **HG■** через 1 тиждень після моделювання травми й імплантації РНРМА-гідрогелю складало (3.6 ± 1.2) бала за шкалою ВВВ (рис. 3.11) й протягом усього періоду спостереження ПФ у цій групі

не демонстрував статистично значущих змін ($p > 0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*) [202, 204, 208]. Фактичний максимум фіксували у період 5–12-го тижня спостереження ($\sim(5.6 \pm 1.9)$ бала за шкалою ВВВ; *рис. 3.11*); протягом 4–5-го місяця, як і у групі **Tr_□**, спостерігали недостовірний регрес ПФ, так що станом на кінець експерименту ПФ склав (4.5 ± 1.8) бала за шкалою ВВВ (*рис. 3.11*) [202, 204, 208].

Починаючи з 6-го тижня динаміка значень ПФ у **Tr_□** і **HG_■** демонструвала паралелізм, що добре видно при графічному їх співпредставленні (*рис. 3.11*) [202, 208]. Єдиним терміном спостереження, де вдалося зафіксувати значущу різницю між значенням ПФ групи **HG_■** і групи **Tr_□**, виявився кінець 5-го тижня експерименту ($p = 0.038$, *Mann-Whitney U Test*) [202, 204, 208]. Важливо також, що усереднений по групі **HG_■** ПФ не демонстрував істотної кореляції з показником тривалості спостереження ($r = 0.57$; $p > 0.05$, *Spearman Rank Order Correlations*) [202, 204, 208].

Максимальне значення абсолютного тижневого приросту ПФ ($V_{\text{ПФ}}$) у групі **HG_■** виявляли на першому тижні ((3.6 ± 1.2) бала/тиж; *рис. 3.12*). Однак, така драматична різниця $V_{\text{ПФ}}$ на цьому терміні спостереження у групі **HG_■** й у групі **Tr_□** (*рис. 3.12*) виявилася недостовірною ($p > 0.05$, *Mann-Whitney U Test*). Натомість на 5-му тижні виявлено істотну перевагу $V_{\text{ПФ}}$ у групі **HG_■** над значенням $V_{\text{ПФ}}$ групи **Tr_□** ($p = 0.012$, *Mann-Whitney U Test*). Протягом 2–5-го тижня спостереження значення $V_{\text{ПФ}}$ коливалися поблизу позначки у 0.5 бала/тиж, у подальшому — навколо нуля (*рис. 3.12*). Зменшення $V_{\text{ПФ}}$ у групі **HG_■** набувало статистичної значущості починаючи з 2-го тижня: значення $V_{\text{ПФ}}$ на першому тижні виявилось істотно більшим, ніж на решті термінів спостереження ($p < 0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*). Середнє значення $V_{\text{ПФ}}$ протягом усього експерименту у групі **HG_■** склало (0.5 ± 0.2) балів/тиж, не відрізняючись істотно від аналогічного показника, розрахованого для групи **Tr_□** ($p > 0.05$, *Mann-Whitney U Test*). Схожим чином, протягом перших 2-х місяців середнє значення $V_{\text{ПФ}}$ у групі **HG_■** виявилось на рівні (0.7 ± 0.2) бала/тиж, істотно не відрізняючись від аналогічного показника групи **Tr_□** ($p > 0.05$, *Mann-Whitney U Test*).

3.3.2. Спастичність на рівні паретичної кінцівки у групах Tr_{\square} і HG_{\blacksquare} .

Як і у випадку ПФ, значення і динаміка ПС протягом експерименту у групах Tr_{\square} і HG_{\blacksquare} істотно відрізнялися [181, 202, 204–208] (рис. 3.13, 3.14). Так, через 1 тиждень після моделювання травми значення ПС у групі Tr_{\square} складало (0.7 ± 0.1) , протягом наступного тижня спостерігали істотне ($p=0.012$ при порівнянні зі значенням першого тижня, *Wilcoxon Matched Pairs Test*) драматичне збільшення значення показника до (2.3 ± 0.3) бала за шкалою Ashworth [181, 202, 204, 208, 209] (рис. 3.13). Увесь подальший період характеризувався неухильним збільшенням ПС, істотним станом на кінець 7-го тижня (відносно значення на 2-му тижні — $p=0.05$), а також станом на кінець 3-го місяця (відносно значення на 3-му тижні — $p=0.043$), 4-го місяця (відносно значення на 5-му тижні — $p=0.043$) і 5-го місяця (відносно значення на 5-му і 6-му тижні — $p=0.043$, у всіх перерахованих випадках — *Wilcoxon Matched Pairs Test*) [181, 202, 204, 208]. Фінальне значення ПС у групі Tr_{\square} склало (3.6 ± 0.3) бала за шкалою Ashworth [181, 202, 204, 208, 209] (рис. 3.13): 6 із 8-ми тварин демонстрували максимально можливе значення ПС (4 бала за шкалою Ashworth).

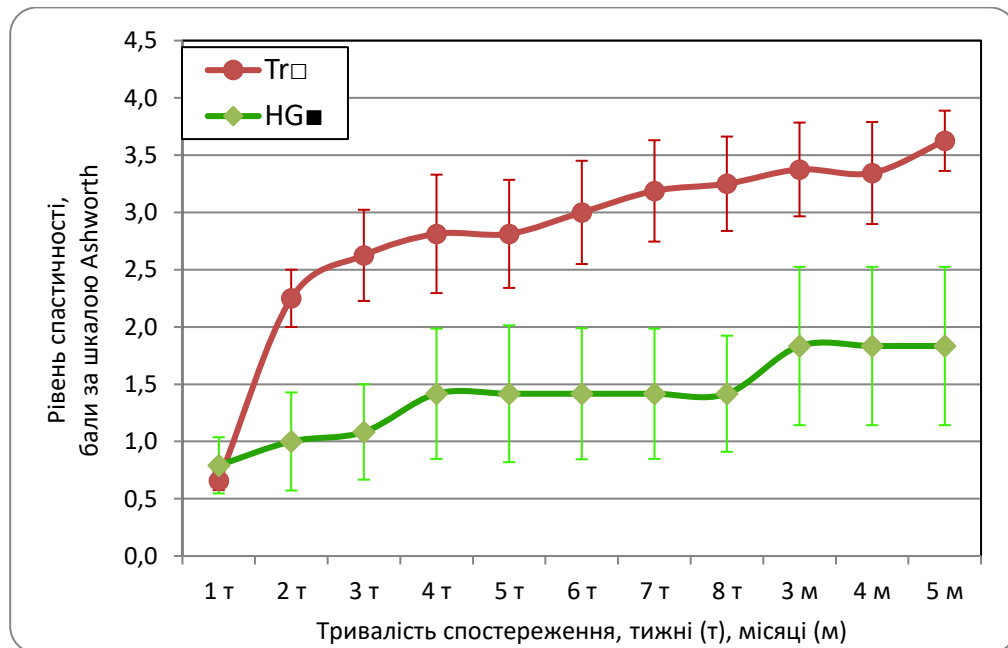


Рисунок 3.13 — Динаміка значень ПС у групах Tr_{\square} і HG_{\blacksquare} впродовж експерименту, наведена згідно зі стандартизованою часовою шкалою.

Пояснення у тексті

Прогредієнтне (починаючи з 3-го тижня — майже лінійне) збільшення рівня спастичності паретичної кінцівки у тварин групи $\text{Tr}\square$ впродовж спостереження (рис. 3.13) верифіковано також і величиною коефіцієнту рангової кореляції між усередненими значеннями ПС і тривалістю спостереження ($r=0.99$; $p<0.05$, *Spearman Rank Order Correlations*) [181, 202, 204, 208].

Найбільші значення абсолютного тижневого приросту ПС ($V_{\text{ПС}}$) у групі $\text{Tr}\square$ спостерігали протягом перших двох тижнів експерименту, причому достовірний максимум припадав на другий тиждень ((1.6 ± 0.2) бала/тиж), істотно відрізняючись від значень першого тижня ($p=0.0173$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*) [181] (рис. 3.14). Значення $V_{\text{ПС}}$ на 3-му тижні і на усіх наступних відрізках спостереження були істотно меншими, ніж на 2-му тижні ($p<0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*) [181]. Достовірно менші, ніж на першому тижні, значення $V_{\text{ПС}}$ спостерігали починаючи з 5-го тижня експерименту і до його завершення ($p<0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*) [181]. Протягом 3-го тижня $V_{\text{ПС}}$ у групі склав (0.4 ± 0.3) бала/тиж, у подальшому коливався навколо нуля [181] (рис. 3.14). Середнє значення $V_{\text{ПС}}$ протягом усього експерименту у групі склало (0.3 ± 0.0) бала/тиж, протягом перших 2-х місяців — сягало (0.4 ± 0.1) бала/тиж [181].

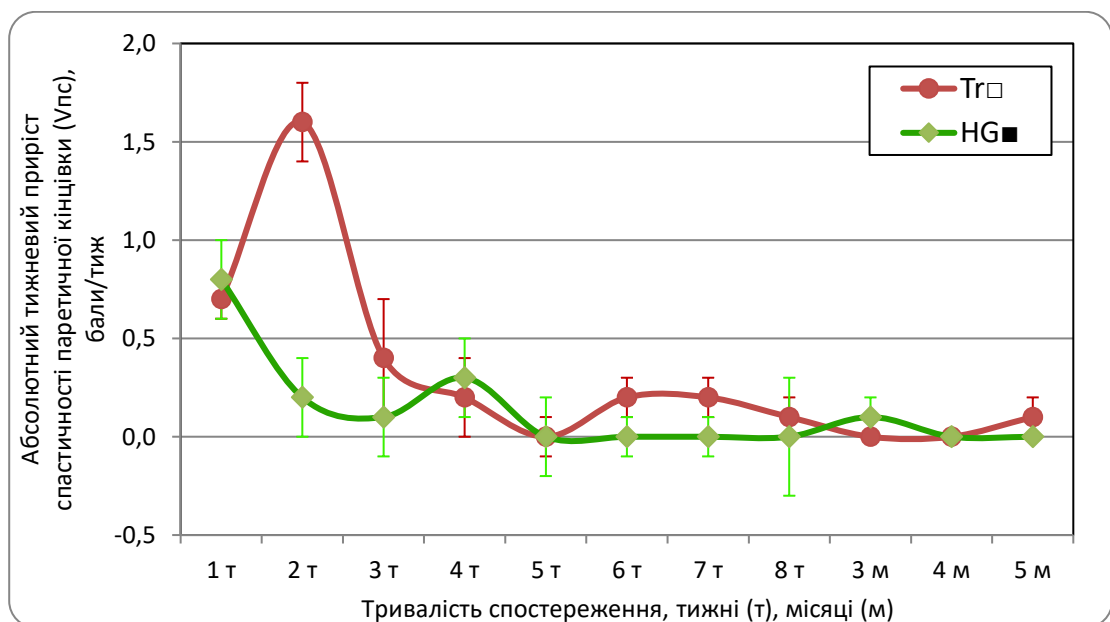


Рисунок 3.14 — Динаміка значень $V_{\text{ПС}}$ у групах $\text{Tr}\square$ і $\text{HG}\blacksquare$ впродовж експерименту, наведена згідно зі стандартизованою часовою шкалою.

Пояснення у тексті

Натомість, у групі **HG_■** через 1 тиждень після моделювання травми ПС складав (0.8 ± 0.3) бала за шкалою Ashworth (рис. 3.13) і протягом усього періоду спостереження значущих змін значення показника не виявляли ($p > 0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*) [202, 204, 208]. Основний сегмент фактичного приросту ПС у групі спостерігали протягом 2-го і 4-го тижня, впродовж усього 2-го місяця показник залишався незмінним (~ 1.4 бала за шкалою Ashworth); черговий фактичний приріст ПС фіксували протягом 3–5-го місяця експерименту [202, 204, 208] (рис. 3.13). Фінальне значення ПС у групі склало (1.8 ± 0.7) бала за шкалою Ashworth [202, 204, 208] (рис. 3.13).

При порівнянні значень ПС групи **HG_■** і групи **Tr_□** значущу різницю виявляли ($p < 0.05$, *Mann-Whitney U Test*) лише протягом перших 2-х місяців спостереження (через 2, 3, 6, 7 і 8 тиж після моделювання травми) [202, 204, 208].

Збільшення рівня спастичності паретичної кінцівки у тварин групи **HG_■** у масштабі усього експерименту (рис. 3.13) доведено величиною коефіцієнту рангової кореляції ($r = 0.94$; $p < 0.05$, *Spearman Rank Order Correlations*) між усередненими значеннями ПС і тривалістю спостереження [202, 204, 208].

У групі **HG_■** реєстрували 2 екстремуми абсолютного тижневого приросту ПС ($V_{\text{ПС}}$) — на першому тижні ((0.8 ± 0.2) бала/тиж) і на 4-му тижні ((0.3 ± 0.2) бала/тиж; рис. 3.14). Достовірну відмінність від значення першого тижня виявляли на 4-му, 6-му, 7-му тижнях і впродовж 3–5-го місяця експерименту ($p < 0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*). На 2-му тижні виявлено істотну перевагу $V_{\text{ПС}}$ групи **Tr_□** над показником групи **HG_■** ($p = 0.007$, *Mann-Whitney U Test*).

Середнє значення $V_{\text{ПС}}$ протягом усього експерименту у групі **HG_■** склало (0.1 ± 0.1) бала/тиж, достовірно поступаючись аналогічному показнику, розрахованому для групи **Tr_□** ($p = 0.014$, *Mann-Whitney U Test*). Протягом перших 2-х місяців середнє значення $V_{\text{ПС}}$ у групі **HG_■** склало (0.2 ± 0.1) бала/тиж, теж суттєво поступаючись показнику, розрахованому для групи **Tr_□** ($p = 0.016$, *Mann-Whitney U Test*).

При аналізі середніх значень ПФ і ПС впродовж загального періоду спостереження (рис. 3.15, 3.16) у обох групах кореляції між цими величинами, як

це не дивно, виявлено не було ($p > 0.05$, *Spearman Rank Order Correlations*) [181, 202, 204, 208]: коефіцієнт рангової кореляції між усередненими на кожному терміні значеннями ПФ і ПС для групи **Tr** склав $r = 0.07$, для групи **HG** — $r = 0.58$.

Натомість при аналізі пар індивідуальних значень ПФ і ПС на кожному з термінів спостереження у всіх групах відмічали здебільшого міцну негативну кореляцію [181, 202, 204, 208]. У групі **Tr** достовірну від'ємну кореляцію між індивідуальними значеннями ПФ і ПС виявляли на 5-му ($r = -0.78$), 7-му ($r = -0.81$), 8-му тижнях ($r = -0.81$) і через 3 ($r = -0.92$) і 4 місяці ($r = -0.88$) після моделювання травми ($p < 0.05$, *Spearman Rank Order Correlations*). У групі **HG** відсутність кореляції між індивідуальними значеннями обох показників виявляли лише на через 1 і 5 тиж після моделювання травми ($p > 0.05$, *Spearman Rank Order Correlations*) [181, 202, 204, 208].

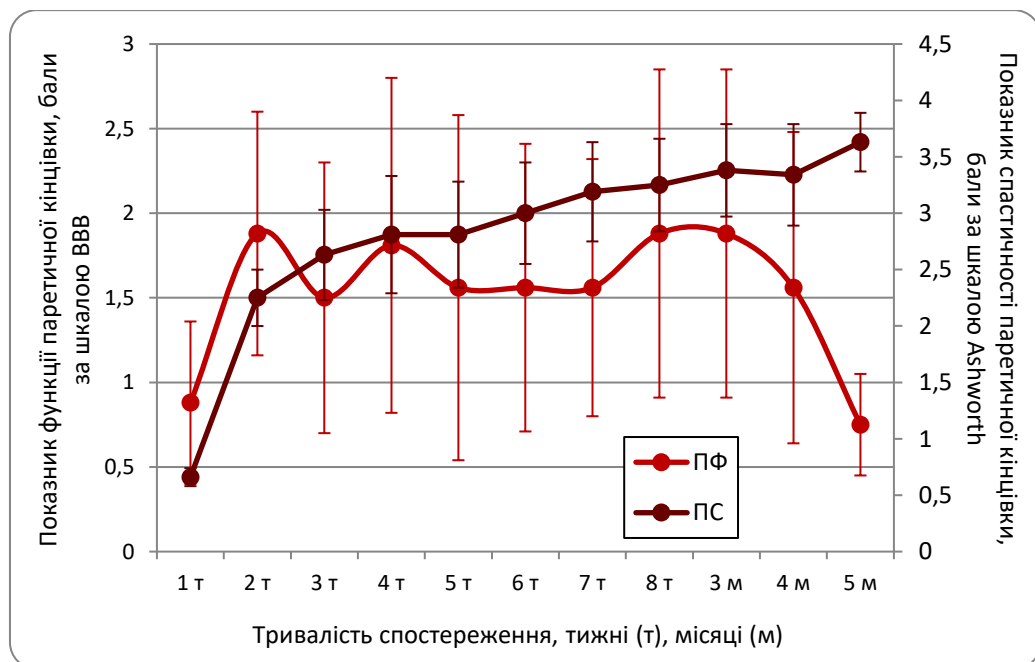


Рисунок 3.15 — Порівняльна динаміка усереднених значень ПФ і ПС у групі **Tr** впродовж загального періоду спостереження, згідно зі стандартизованою часовою шкалою

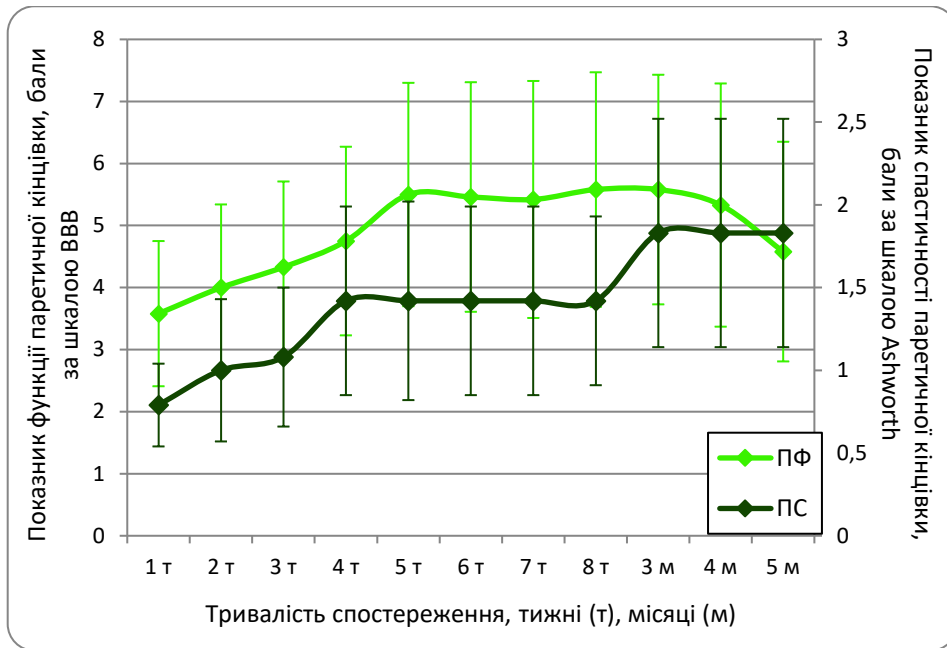


Рисунок 3.16 — Порівняльна динаміка усереднених значень ПФ і ПС у групі **НГ** впродовж загального періоду спостереження, згідно зі стандартизованою часовою шкалою

3.4. Залежність перебігу відновного процесу від ступеню лацераційного ушкодження спинного мозку молодого щура

Значення характеру травми, тобто наявності не лише перетину нервових волокон, а й просторового дефекту спинного мозку — істотної відстані між кульцями перетнутих волокон, увиразнюється при прямому порівнянні досліджуваних нами показників ($ПФ$, $ПС$, $V_{ПФ}$ і $V_{ПС}$) на усіх термінах спостереження між групами Tr_{\top} і Tr_{\square} [181, 202–208] (рис. 3.17–3.20). Приміром, при порівнянні значень як ПФ, так і ПС, груп Tr_{\top} і Tr_{\square} статистично достовірну різницю виявлено на усіх без винятку термінах спостереження ($p < 0.05$; *Mann-Whitney U Test*) [181].

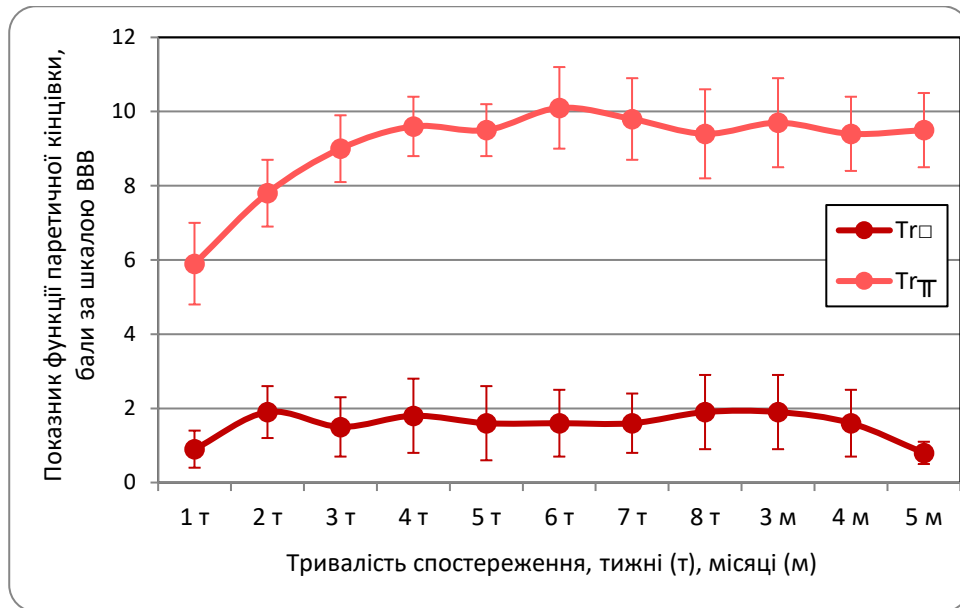


Рисунок 3.17 — Співставлення графічного виразу динаміки ПФ у групах Tr_Π і Tr_\square згідно зі стандартизованою часовою шкалою. Статистично значуща різниця наявна на усіх термінах спостереження ($p < 0.05$; *Mann-Whitney U Test*)

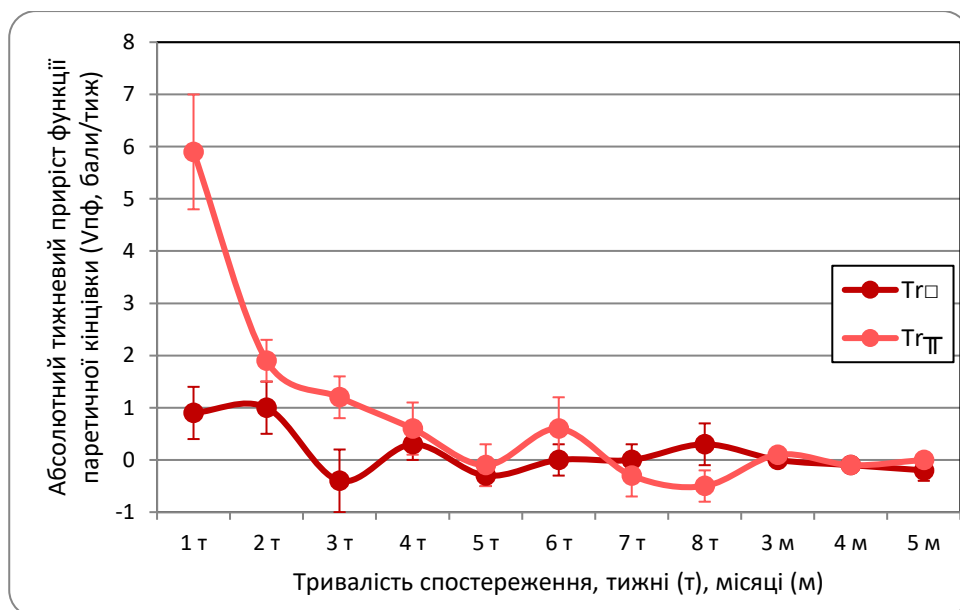


Рисунок 3.18 — Співставлення графічного виразу динаміки $V_{\text{ПФ}}$ у групах Tr_Π і Tr_\square згідно зі стандартизованою часовою шкалою. Статистично значущу різницю між значеннями $V_{\text{ПФ}}$ виявляли через 1 і 3 тижні після моделювання травми ($p < 0.03$; *Mann-Whitney U Test*)

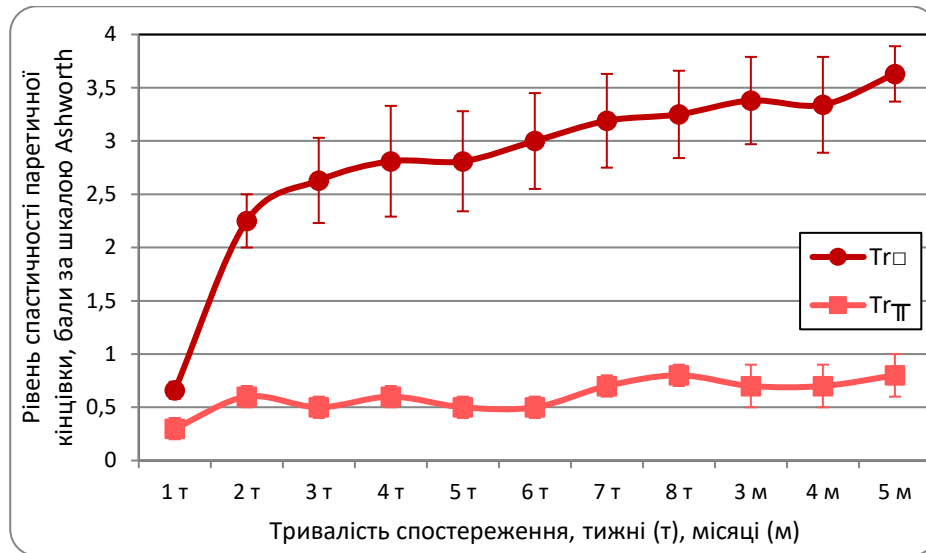


Рисунок 3.19 — Співставлення графічного виразу динаміки ПС у групах Tr_{\square} і Tr_{Π} згідно зі стандартизованою часовою шкалою. Статистично значуща різниця наявна на усіх термінах спостереження ($p < 0.05$; *Mann-Whitney U Test*)

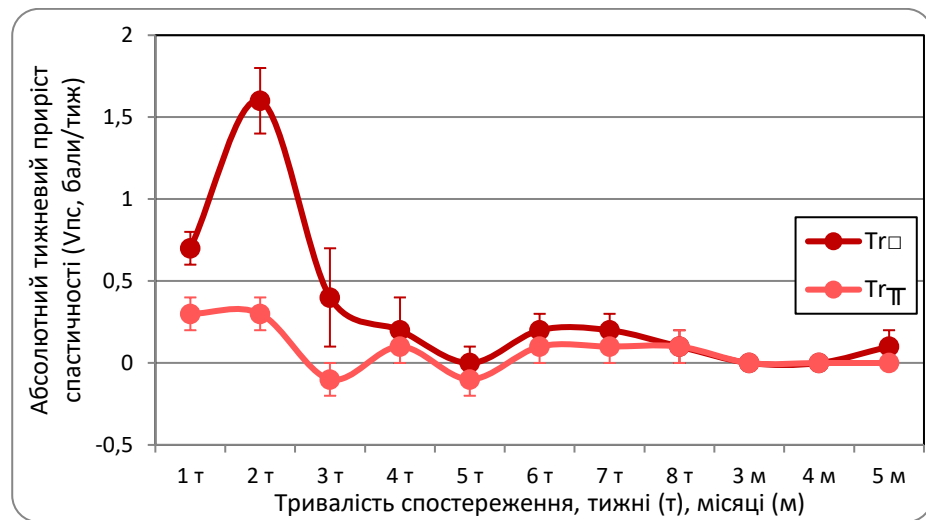


Рисунок 3.20 — Співставлення графічного виразу динаміки V_{Π} у групах Tr_{Π} і Tr_{\square} згідно зі стандартизованою часовою шкалою. Статистично значущу різницю між значеннями V_{Π} виявляли протягом перших трьох тижнів експерименту ($p < 0.03$; *Mann-Whitney U Test*)

Наявність гідрогелевого імплантату у ділянці травми істотно послаблює цю особливість: для пари HG_{Π} і HG_{\square} достовірну різницю ПФ виявлено на усіх термінах, за винятком 1-го і 7-го тижня спостереження ($p < 0.05$; *Mann-Whitney U*)

Test), а відмінності значень ПС взагалі виявилися незначущими впродовж усього періоду спостереження ($p > 0.05$; *Mann-Whitney U Test*) [202, 204, 208] (рис. 3.21–3.24). Різниця динаміки відновного процесу за різної тяжкості травми виявилася виразнішою при порівнянні значень $V_{\text{ПФ}}$: у групах $\text{Tr}_{\text{т}}$ і $\text{Tr}_{\text{□}}$ вони істотно відрізнялися на першому і третьому тижнях після моделювання травми ($p < 0.03$; *Mann-Whitney U Test*), а у групах $\text{HG}_{\text{т}}$ і $\text{HG}_{\text{■}}$ — лише на 6-му тижні спостереження ($p = 0.028$; *Mann-Whitney U Test*). Середнє значення $V_{\text{ПФ}}$ за період перших двох місяців і протягом експерименту у цілому істотно відрізнялось і у межах пари $\text{Tr}_{\text{т}}$ і $\text{Tr}_{\text{□}}$ ($p < 0.001$; *Mann-Whitney U Test*), і у межах пари $\text{HG}_{\text{т}}$ і $\text{HG}_{\text{■}}$ ($p < 0.05$; *Mann-Whitney U Test*). Значення $V_{\text{ПС}}$ у групах $\text{Tr}_{\text{т}}$ і $\text{Tr}_{\text{□}}$ достовірно відрізнялися протягом перших трьох тижнів експерименту ($p \leq 0.03$; *Mann-Whitney U Test*), у групах $\text{HG}_{\text{т}}$ і $\text{HG}_{\text{■}}$ — не відрізнялися на жодному з термінів спостереження ($p > 0.05$; *Mann-Whitney U Test*). Середнє значення $V_{\text{ПС}}$ за період перших двох місяців і протягом експерименту в цілому істотно відрізнялось лише у межах пари $\text{Tr}_{\text{т}}$ і $\text{Tr}_{\text{□}}$ ($p < 0.001$; *Mann-Whitney U Test*).

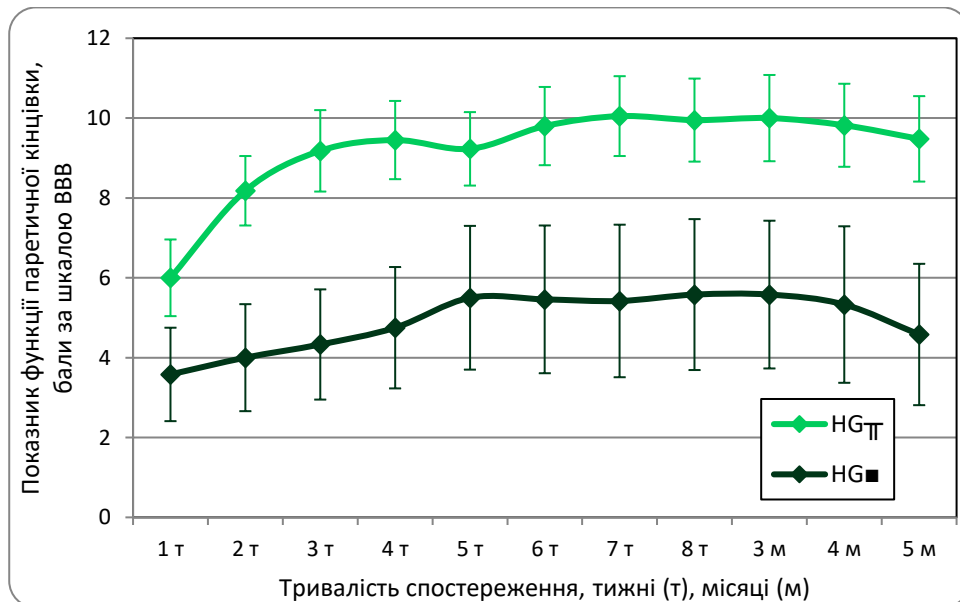


Рисунок 3.21 — Співставлення графічного виразу динаміки ПФ у групах $\text{HG}_{\text{т}}$ і $\text{HG}_{\text{■}}$ згідно зі стандартизованою часовою шкалою. Терміни, на яких виявляли статистично значущу різницю між значеннями ПФ, перелічено у тексті

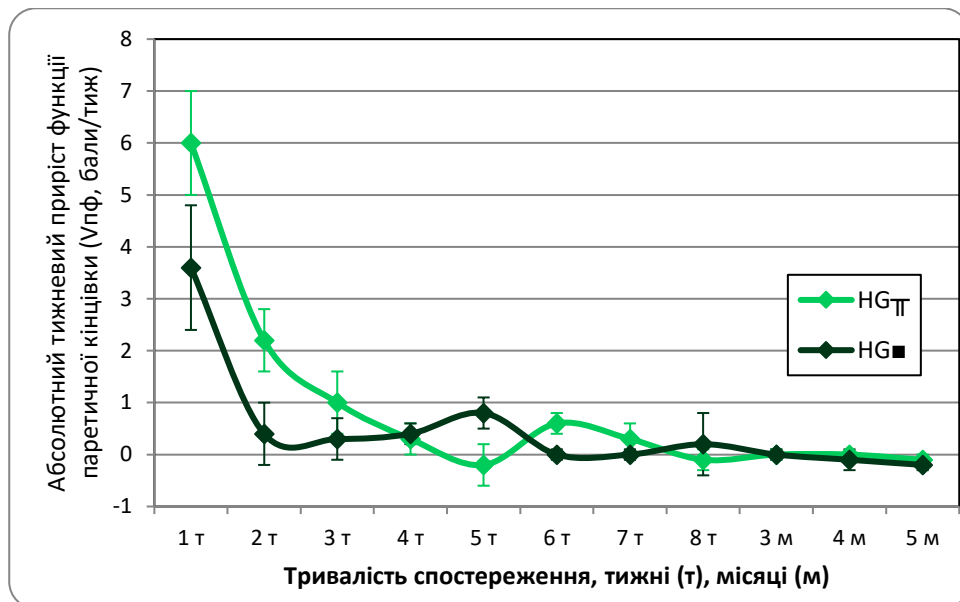


Рисунок 3.22 — Співставлення графічного виразу динаміки $V_{\text{ПФ}}$ у групах $\text{HG}_{\text{П}}$ і $\text{HG}_{\text{■}}$ згідно зі стандартизованою часовою шкалою. Статистично значущу різницю між значеннями $V_{\text{ПФ}}$ виявляли лише на 6-му тижні спостереження ($p=0.028$; *Mann-Whitney U Test*)

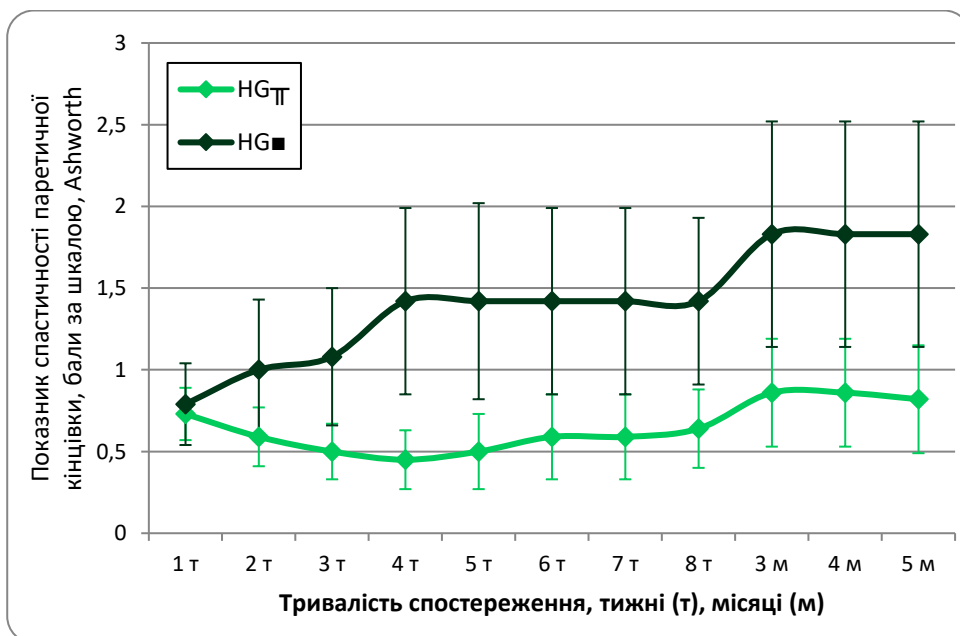


Рисунок 3.23 — Співставлення графічного виразу динаміки ПС у групах $\text{HG}_{\text{П}}$ і $\text{HG}_{\text{■}}$ згідно зі стандартизованою часовою шкалою. Відмінності значень ПС впродовж усього періоду спостереження виявилися незначущими ($p>0.05$; *Mann-Whitney U Test*)

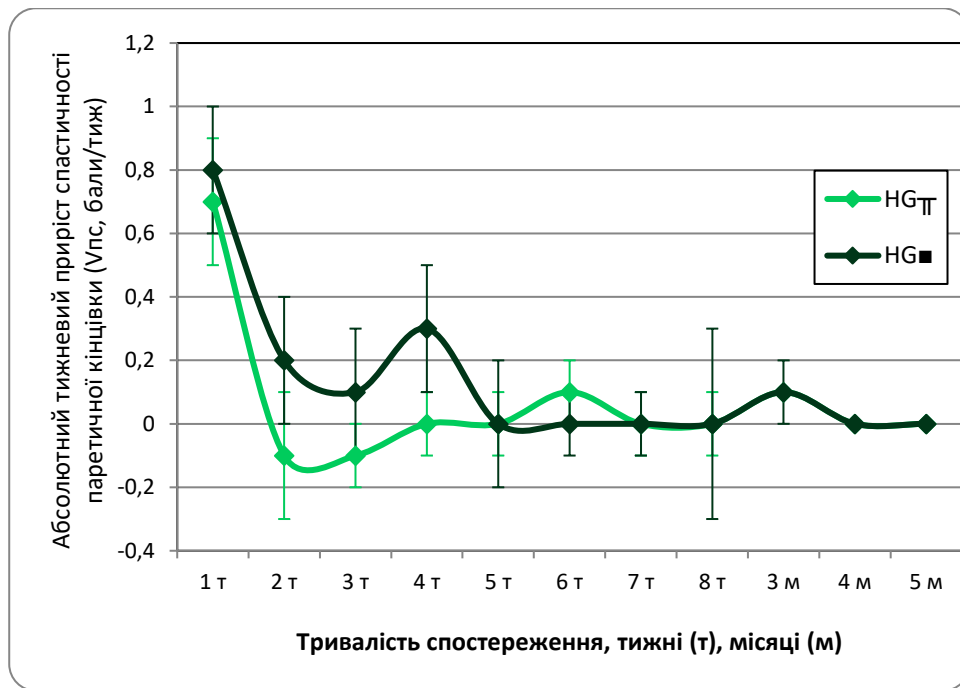


Рисунок 3.24 — Співставлення графічного виразу динаміки V_{PC} у групах HG_{Π} і HG_{\blacksquare} , згідно зі стандартизованою часовою шкалою. Значення V_{PC} груп не відрізнялися на жодному з термінів спостереження ($p > 0.05$; *Mann-Whitney U Test*)

3.5. Морфологічні особливості організації ділянки висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку на тлі імплантації РНРМА-гідрогелю

3.5.1. Патоморфологічна картина організації зони висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку у віддаленому періоді травми.

Аналіз патоморфологічної картини у ділянці висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку (група Tr_{\square}) через ~ 5 міс після моделювання травми у цілому свідчить про відсутність значимої аутогенної регенерації нервово-волоконного апарату і цим самим пояснює результати дослідження рівня рухової функції задньої паретичної кінцівки у тварин групи Tr_{\square} .

Серед матеріалу, отриманого для патогістологічного імпрегнаційного дослідження у тварин групи Tr_\square , виявлено 3 різні картини організації ділянки травми [181]: 1) без заповнення дефекту рубцевою тканиною або без міцної її асоціації із речовиною спинного мозку (рис. 3.25–3.27); 2) із помірним заповненням рубцевою тканиною дефекту і доволі стійкою її асоціацією із речовиною спинного мозку (рис. 3.28); 3) з ймовірним об'ємним виповненням зони дефекту рубцевим конгломератом і легкою його сегрегацією під час мікропрепарування (рис. 3.29) [181].

У перших двох випадках (особливо див. рис. 3.27) спостерігали симетричну, ростральну і каудальну післятравматичну атрофію лівої половини спинного мозку: від ділянки епіцентру травми у обидва боки товщина речовини травмованої половини спинного мозку повільно збільшується [181]. Епіцентром травми, на наш погляд, слід вважати пласку ділянку, умовне "дно" якої на поздовжніх зрізах впереться у виразне доволі широке пасмо центральних, паралельних основній осі спинного мозку товстих нервових волокон (рис. 3.25–3.27) [181]. Це пасмо, на нашу думку, з високою ймовірністю слід співвідносити з основною у гризунів [172, 210], дорзально-прицентральною парамедіанною порцією кірково-спинномозкового шляху [181]. Якщо таке припущення вірне, у більшості переглянутих випадків (рис. 3.25–3.27) слід констатувати відсутність візуальних ознак перетину зазначеної порції шляху [181]. Незважаючи на це, у тварини, матеріал якої представлено на рис. 3.27, значення ПФ і ПС на момент забиття складали, відповідно, 0 балів за шкалою ВВВ і 4 бала за шкалою Ashworth. Інтерпретація такого дисонансу може полягати у скромнішій ролі кірково-спинномозкового шляху щура у забезпеченні локомоції [172, 181]. Стосовно відсутності сполучнотканинної оболонки над епіцентром травми (рис. 3.25–3.26), можна припускати її сепарацію під час мікропрепарування.

У другому спостереженні (рис. 3.28; значення ПФ і ПС тварини на момент забиття, відповідно, 0.5 бала за шкалою ВВВ і 4 бала за шкалою Ashworth) зміни товщини перетнутої частини спинного мозку вздовж роство-каудальної осі схожі, однак епіцентр травми заповнений вузлом щільного багатопарового

сполучнотканинного конгломерату, котрий рострально і каудально продовжується у потовщену мозкову оболону і не компенсує дефіцит об'єму спинного мозку у фокусі травми [181].

У третьому спостереженні (*рис. 3.29*; значення ПФ і ПС тварини на момент забиття, відповідно, 2 бала за шкалою BBB і 3 бала за шкалою Ashworth) рубцевий конгломерат, найімовірніше, ненавмисно легко від'єднано від ложа дефекту спинного мозку під час мікропрепарування [181]. На представленому гістологічному зрізі (*рис. 3.29 ліворуч*) добре видно, що збереженою залишається лише чверть серединної смуги поздовжніх волокон умовного "дно" рани [181]. На іншому поздовжньому зрізі (*рис. 3.29 праворуч*), отриманому у цієї ж тварини, центральне пасмо поздовжніх волокон у ділянці травми відсутнє, однак відразу ростральніше і каудальніше — наявне [181]. І не зважаючи на це, у досліджуваній тварини — джерела представленого патоморфологічного матеріалу протягом усього експерименту виразних розладів рухової функції задньої контрлатеральної кінцівки не спостерігали [181].

При порівнянні описаних щойно варіантів організації зони висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку з ділянкою організації після бічного половинного перетину спинного мозку дорослого щура (*рис. 3.30*) відмінності патоморфологічної картини очевидні: у випадку половинного висічення ймовірність аутогенного проростання волокон через зону післятравматичної організації істотно нижча (*якщо взагалі можлива*), аніж у випадку половинного перетину [181]. Прицільне гістологічне дослідження зрізів спинного мозку тварин групи Tr_{\square} , виконане на аналогічному терміні спостереження розкриває структурні особливості центральної групи волокон, котрі формують умовне "дно" рани спинного мозку (*рис. 3.31*), а також стан контрлатеральної, умовно інтактною частки спинного мозку (*рис. 3.32*) — істотно відмінний навіть на відстані від епіцентру травми (*рис. 3.33–3.36*). Серцевина рубцевого конгломерату у епіцентрі травми сформована щільними сполучнотканинними волокнами (*рис. 3.37–3.39*) і, найімовірніше, вільна від нервових волокон, на відміну від частини, прилеглої до речовини спинного мозку (*рис. 3.38, 3.39*).

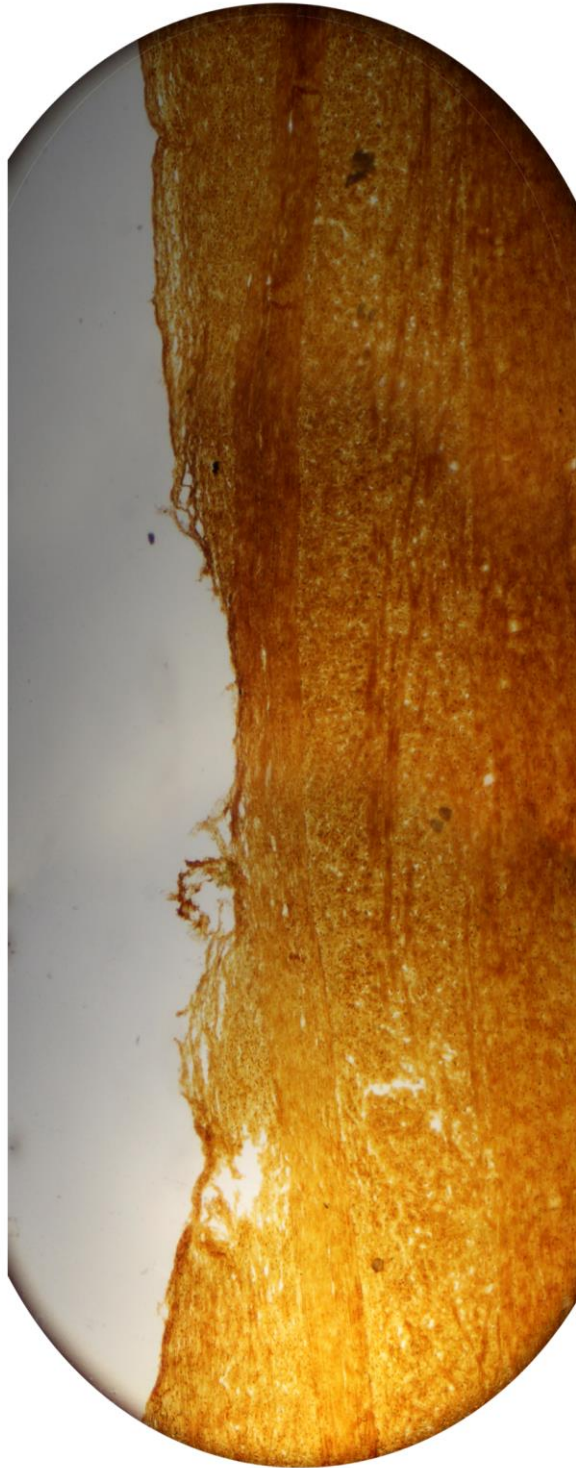


Рисунок 3.25 — Реконструйоване з мікрофотограм трьох суміжних полів зору панорамне зображення травмованої ділянки спинного мозку через ~5 міс після моделювання травми (*тварина групи Tr_□*). Імпрегнація поздовжніх гістологічних зрізів сріблом. Збільшення у межах кожного поля зору — $\times 50$. Ліворуч — ушкоджена половина спинного мозку. Ростро-каудальну орієнтацію не зазначено

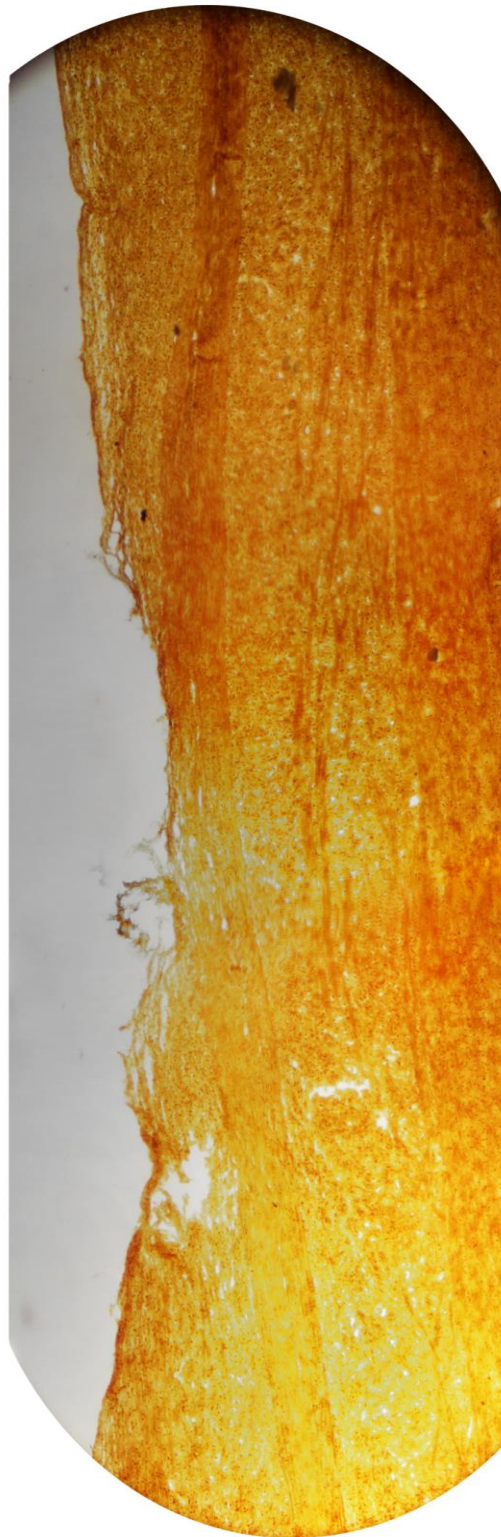


Рисунок 3.26 — Реконструйоване з мікрофотограм трьох суміжних полів зору панорамне зображення травмованої ділянки спинного мозку через ~5 міс після моделювання травми. Матеріал отримано з того ж джерела, що і у попередньому випадку (рис. 3.25). Імпрегнація поздовжніх гістологічних зрізів сріблом. Збільшення у межах кожного поля зору — $\times 50$. Ліворуч — ушкоджена половина спинного мозку. Ростро-каудальну орієнтацію не зазначено

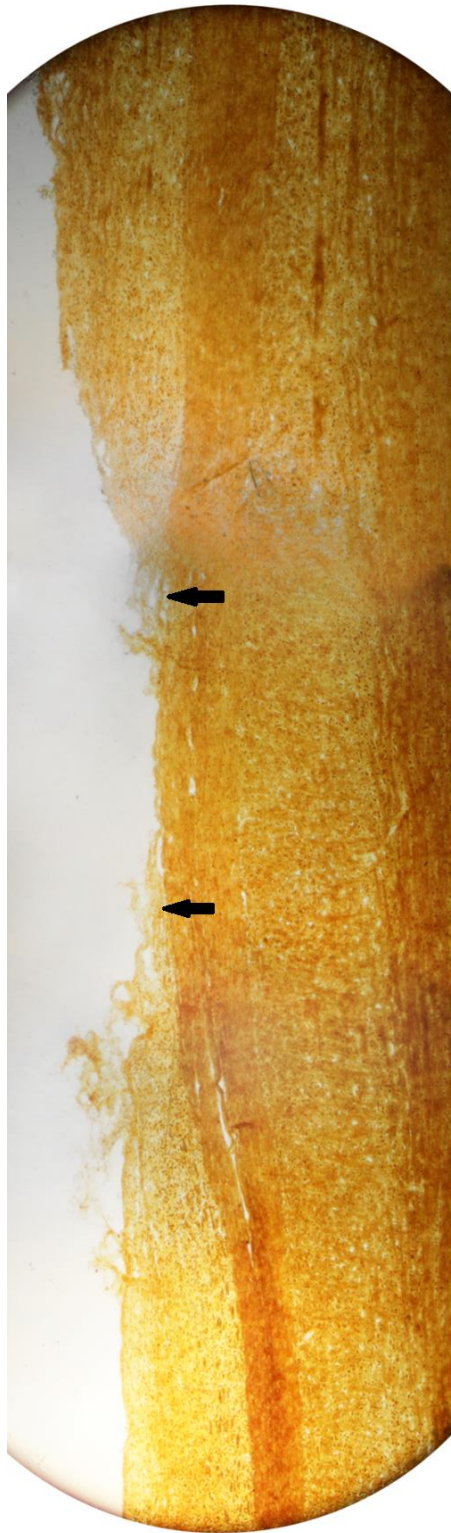


Рисунок 3.27 — Реконструйоване з мікрофотограм трьох суміжних полів зору панорамне зображення травмованої ділянки спинного мозку через ~5 міс після моделювання травми (*тварина групи Tr_□*). Імпрегнація поздовжніх гістологічних зрізів сріблом. Збільшення у межах кожного поля зору — $\times 50$. Ліворуч — ушкоджена половина спинного мозку. Ростро-каудальну орієнтацію не зазначено, епіцентр висічення обмежено стрілками



Рисунок 3.28 — Реконструйоване з мікрофотограм п'ятьох суміжних полів зору панорамне зображення травмованої ділянки спинного мозку через ~5 міс після моделювання травми (*тварина групи Tr_□*). Імпрегнація поздовжніх гістологічних зрізів сріблом. Збільшення у межах кожного поля зору — ×50. Ушкоджена половина спинного мозку — ліворуч. Родро-каудальну орієнтацію не зазначено

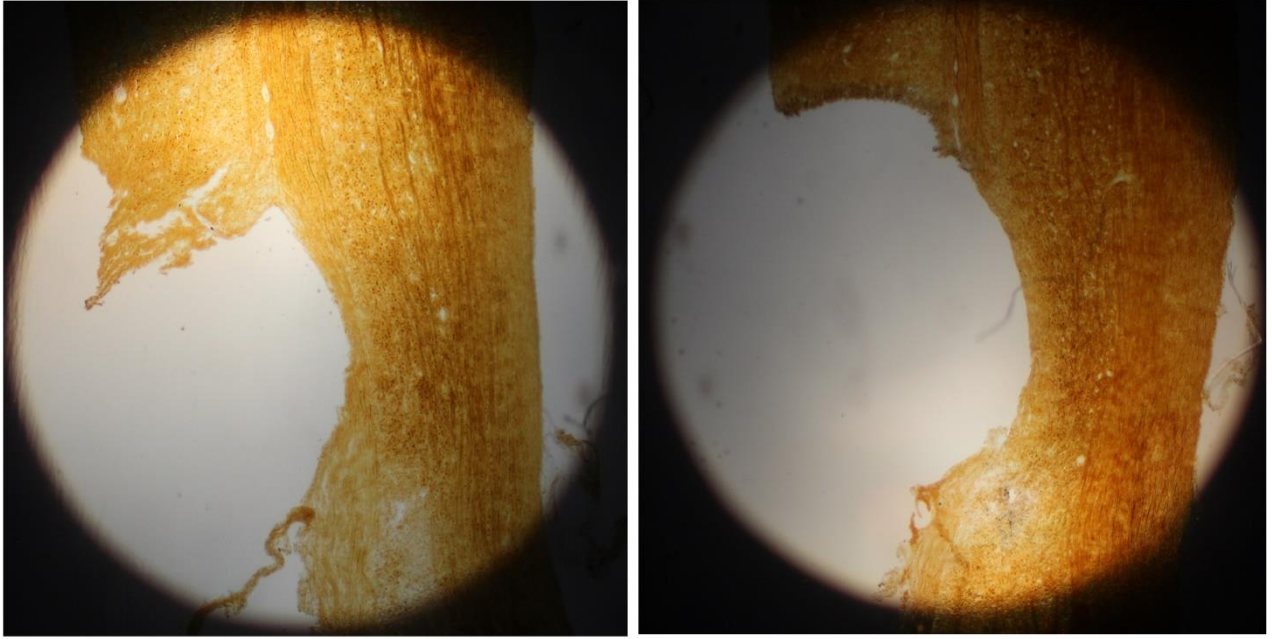


Рисунок 3.29 — Альтернативний варіант організації ділянки висічення бічного половинного фрагменту речовини спинного мозку через ~5 міс після моделювання травми (тварина №3 групи Tr_{\square} , ПФ — 2 бала за шкалою BBB, ПС — 3 бала за шкалою Ashworth). Імпрегнація поздовжнього гістологічного зрізу сріблом. Збільшення — $\times 50$. Ушкоджена половина спинного мозку на обох мікрофотограмах — ліворуч. Росто-каудальну орієнтацію не зазначено. Рубець неінтегрований з речовиною спинного мозку, найімовірніше, був легко вилущений із ложа рани під час мікропрепарування. На мікрофото ліворуч добре видно збережену четверту частину (на рівні зрізу) серединного пласту поздовжніх волокон, котра формує умовне "дно" рани. На мікрофотограмі праворуч перетин усього поперечника центрального пасма нервових волокон очевидний. Попри те, що серединне пасмо волокон найраціональніше асоціювати з дорзальною порцією *tr. corticospinalis*, у жодної тварини цієї групи, матеріал котрих використано для патоморфологічного дослідження, протягом експерименту виразних розладів рухової функції задньої контрлатеральної кінцівки виявлено не було

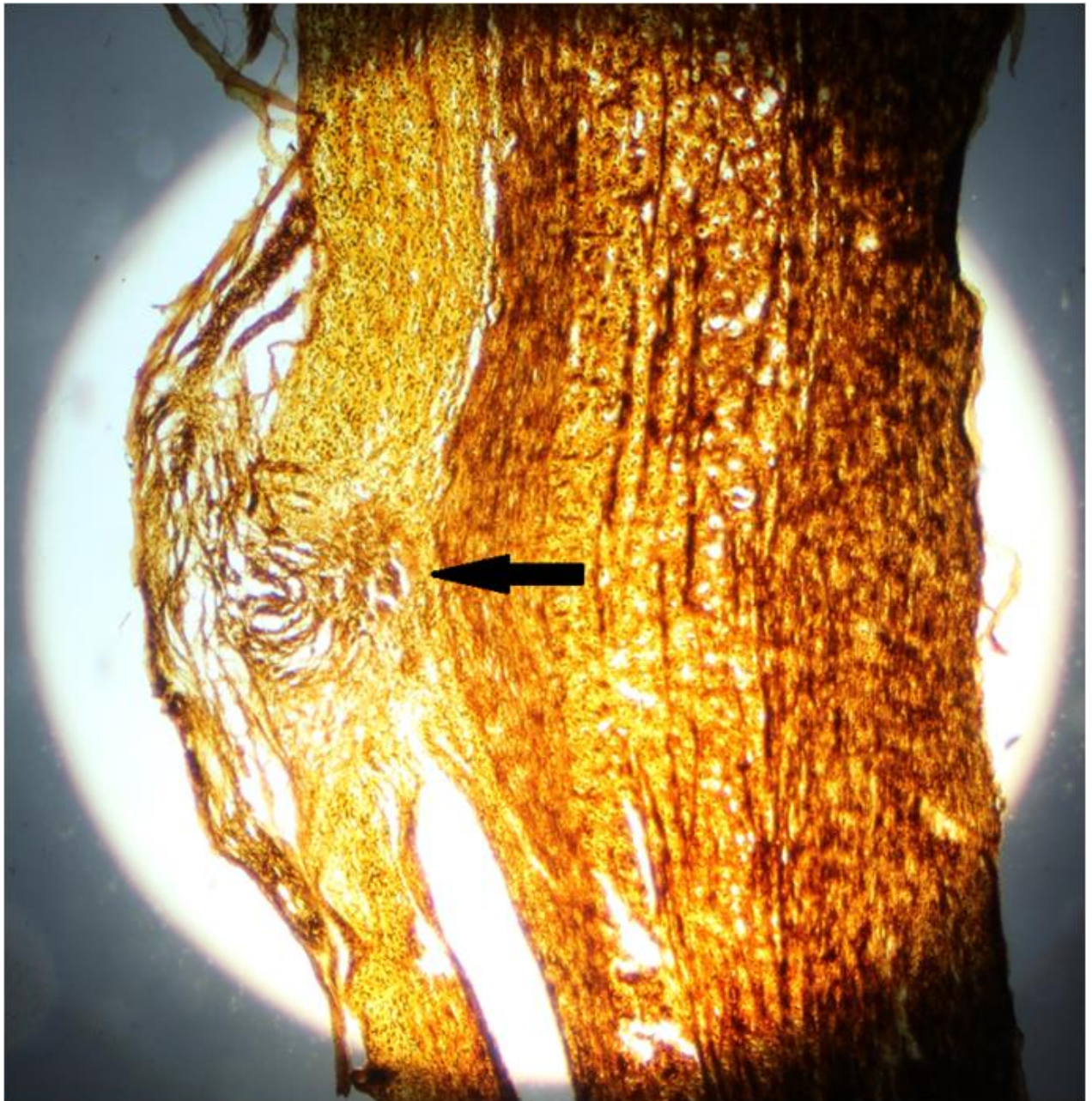


Рисунок 3.30 — Ділянка спинного мозку через ~7 міс після його бічного половинного перетину, аналогічного модельованому у групі **Tr_т**, однак, здійсненого у дорослої тварини [181]. ПФ на момент забиття — 2 бала за шкалою ВВВ, ПС — 2 бала за шкалою Ashworth. Імпрегнація поздовжнього гістологічного зрізу сріблом. Збільшення — $\times 50$. Ушкоджена половина спинного мозку — ліворуч. Ростро-каудальну орієнтацію не зазначено. Ділянку післятравматичного рубця вказано стрілкою, яка розташована упоперек над пасмом волокон кірково-спинномозкового шляху (*пояснення у тексті*)

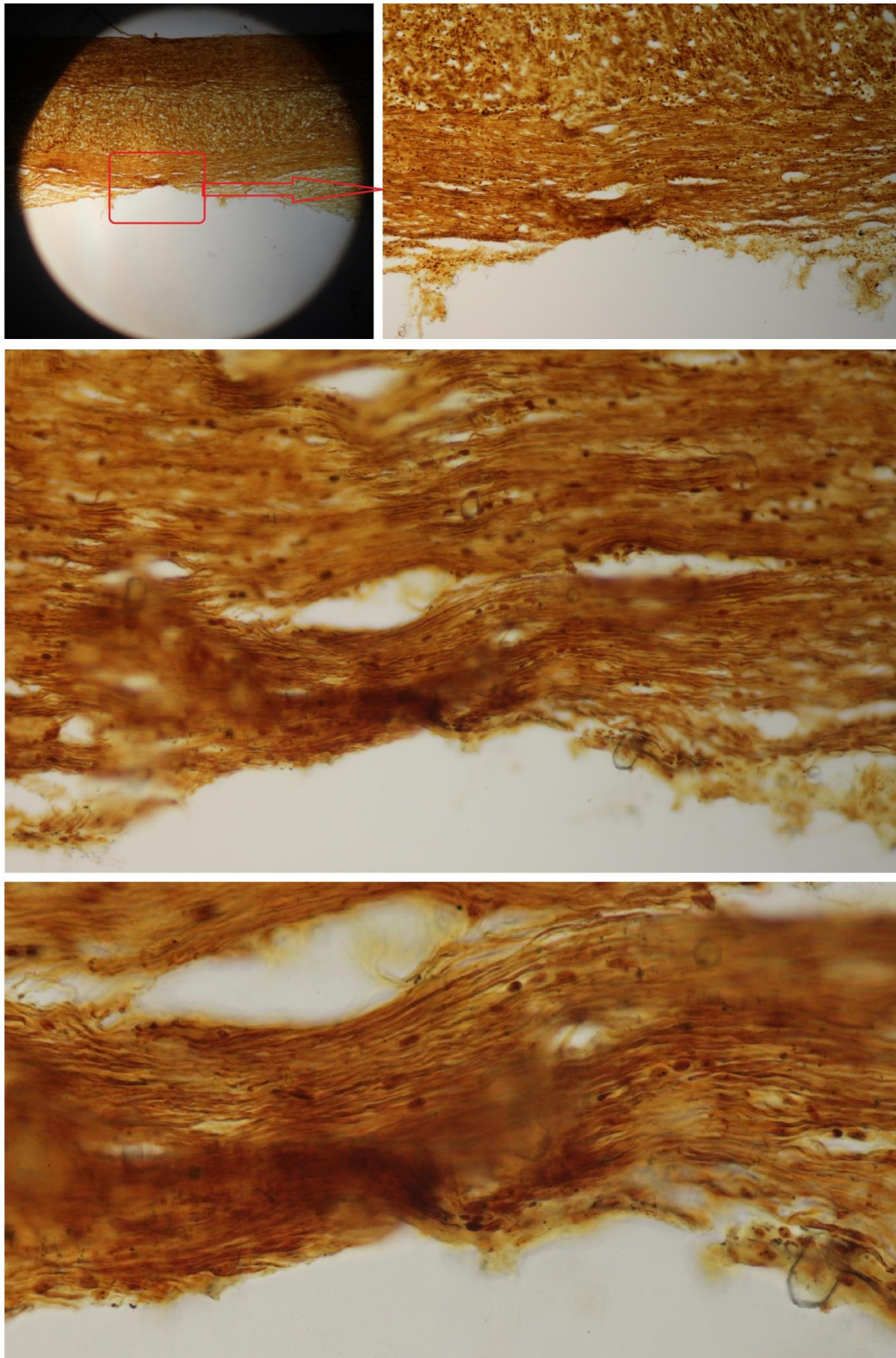


Рисунок 3.31 — Ділянка умовного "дна" рани спинного мозку з волокнами, найімовірніше, дорзальної частки *tr. corticospinalis*. Матеріал однієї з тварин групи **Tr**_□. Імпрегнація поздовжнього гістологічного зрізу сріблом. Колаж зображень, отриманих за різного збільшення без співмасштабування (величини первинних збільшень мікрофотограм: ×50 — вгорі ліворуч, ×200 — вгорі праворуч, ×400 — проміжний ряд, ×800 — нижнє мікрофото). Ростро-каудальну орієнтацію зрізу не зазначено

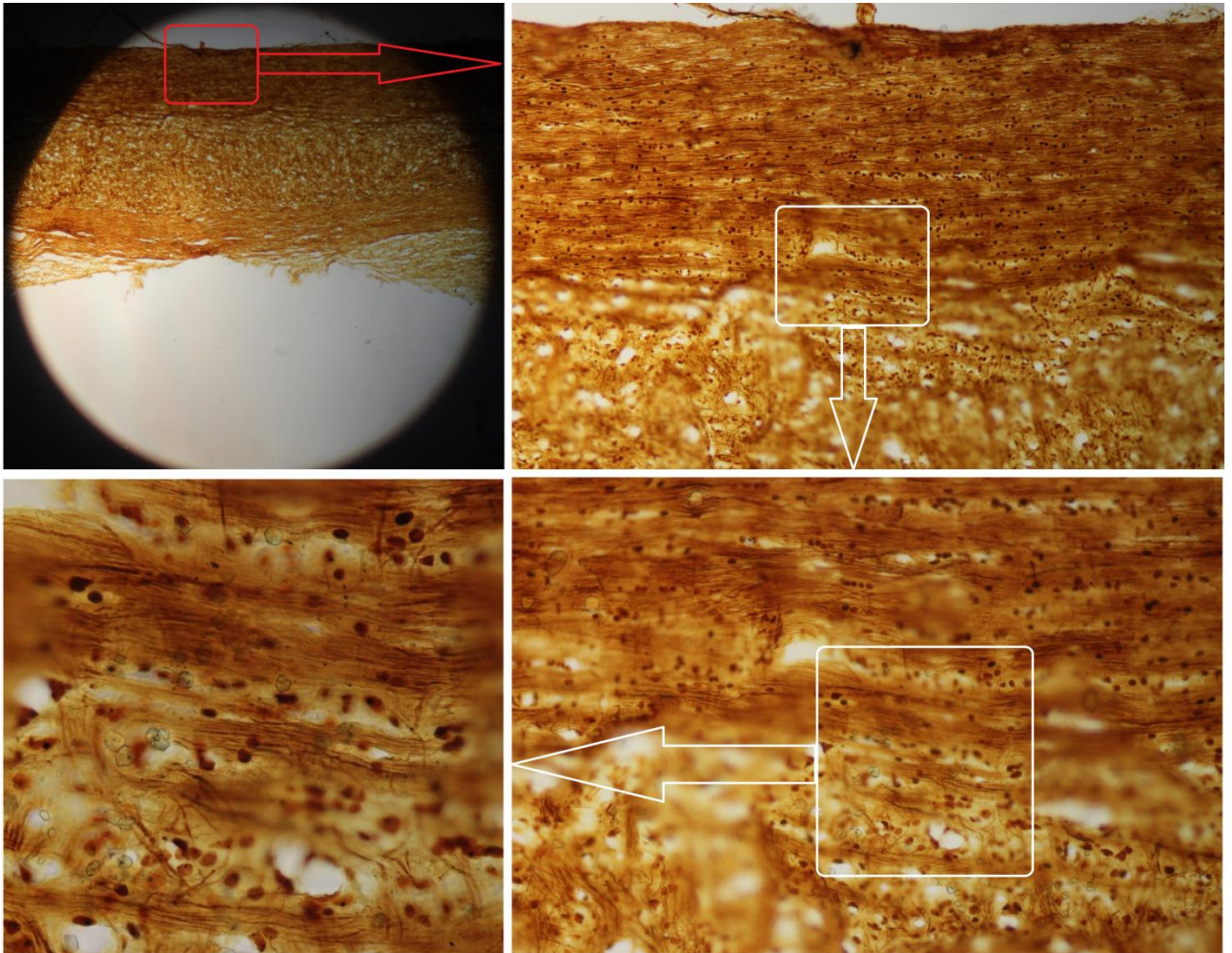


Рисунок 3.32 — Речовина контрлатеральної, умовно інтактної частини спинного мозку на рівні висічення. Матеріал однієї з тварин групи **Tr**_□. Імпрегнація поздовжнього гістологічного зрізу сріблом. Колаж зображень, отриманих за різного збільшення без співмасштабування (величини первинних збільшень мікрофотограм: ×50 — вгорі ліворуч, ×200 — вгорі праворуч, ×400 — внизу праворуч, ×800 — внизу ліворуч). Ростро-каудальну орієнтацію зрізу не зазначено. На максимальному збільшенні (внизу ліворуч) добре видно пучки паралельних нервових волокон з періодичними відгалуженнями у бік клітинного компоненту, ймовірно, сірої речовини спинного мозку

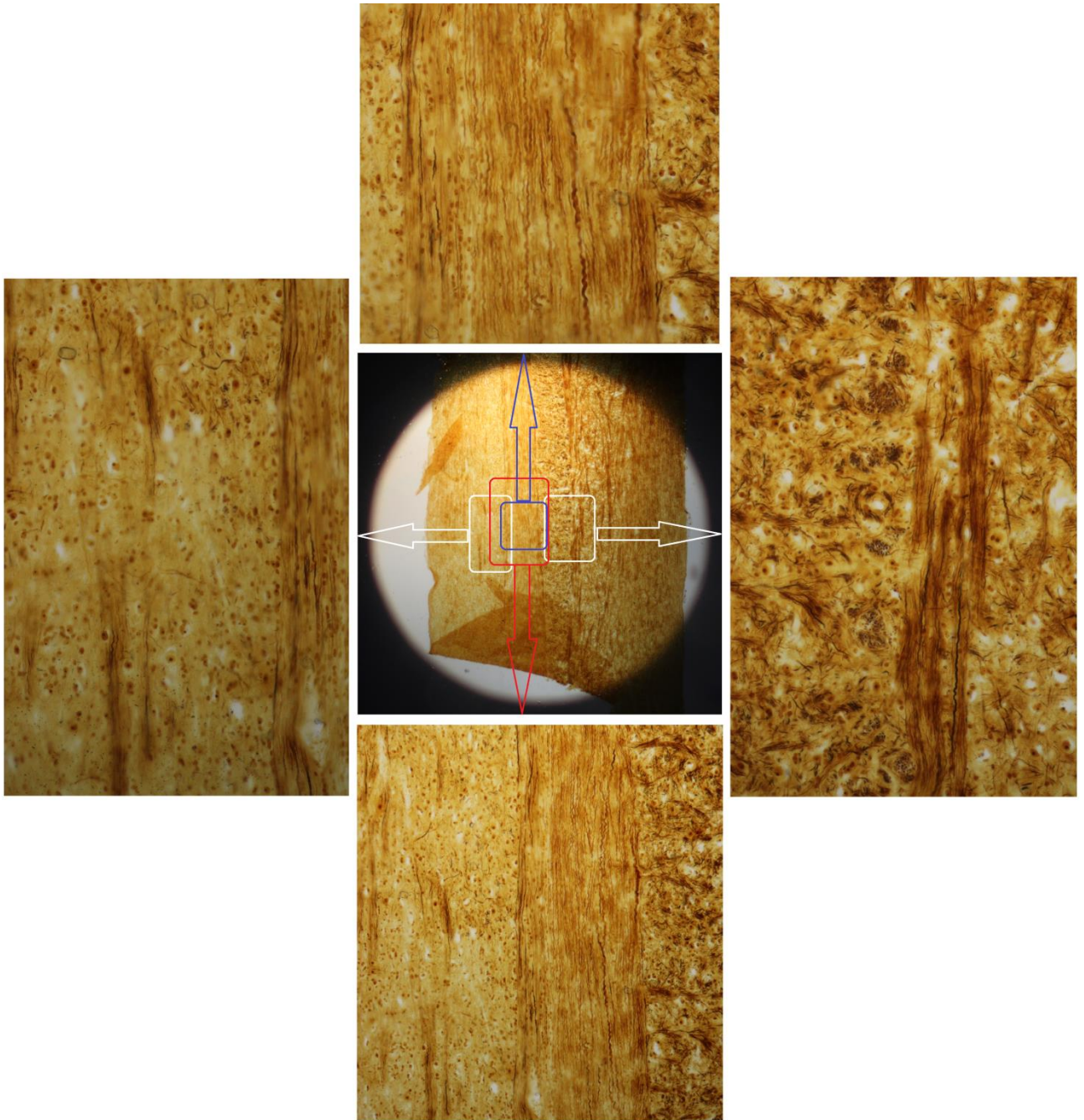


Рисунок 3.33 — Речовина спинного мозку на невеликій відстані від епіцентру травми. Матеріал однієї з тварин групи **Tr**_□. Імпрегнація поздовжнього гістологічного зрізу сріблом. Колаж зображень, отриманих за різного збільшення без співмасштабування (величини первинних збільшень мікрофотограм: ×50 — у центрі, ×200 — внизу, ×400 — вгорі, праворуч, ліворуч). Ростро-каудальну орієнтацію зрізу не зазначено. Центральне пасмо волокон (найімовірніше) — вгорі і внизу; іпсилатеральна стосовно епіцентру травми частина спинного мозку (вдвічі менша за шириною ніж контрлатеральна) — ліворуч, контрлатеральна — праворуч

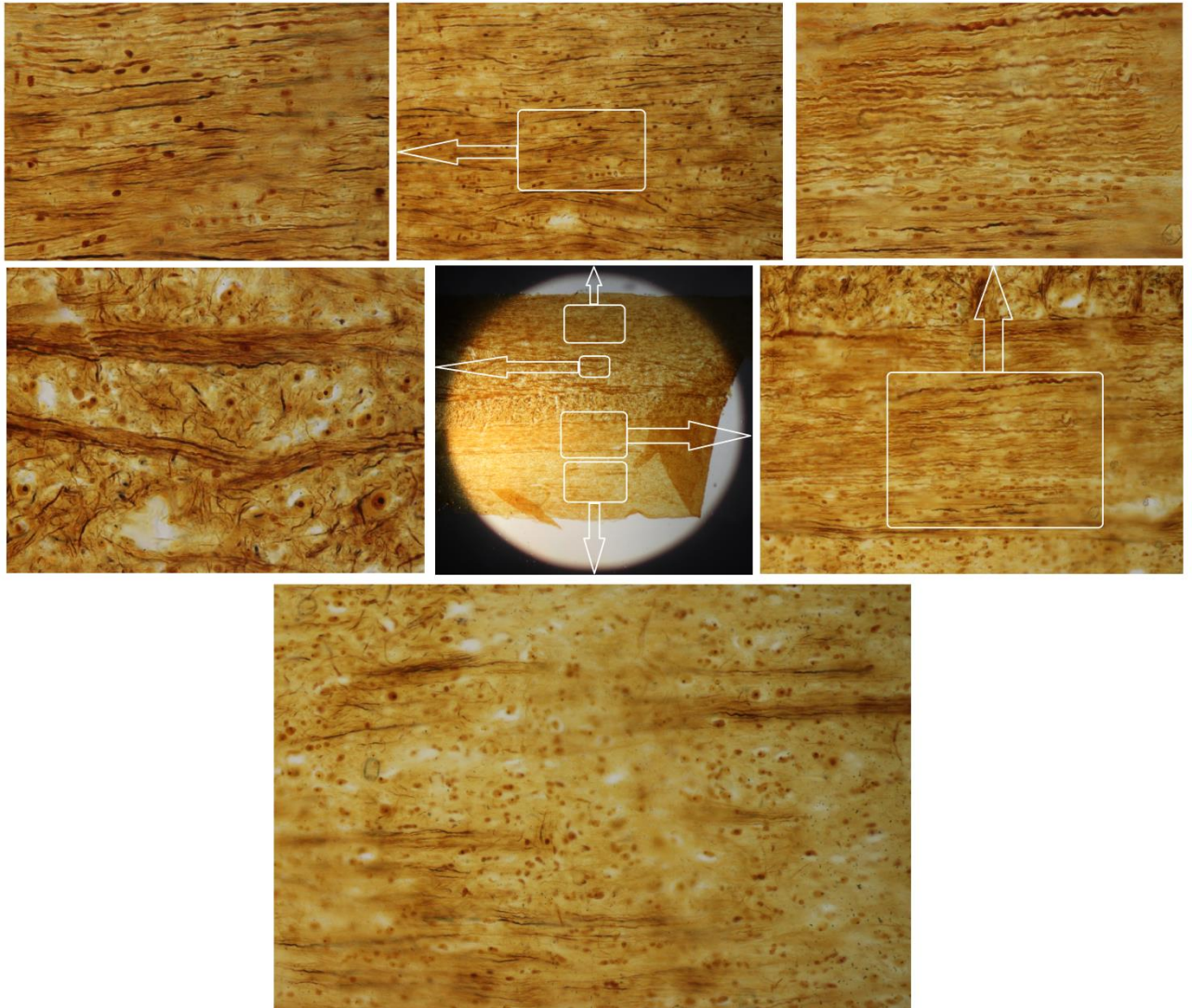


Рисунок 3.33 — Речовина спинного мозку на невеликій відстані від епіцентру травми. Матеріал однієї з тварин групи **Tr**_□. Імпрегнація поздовжнього гістологічного зрізу сріблом. Колаж зображень, отриманих за різного збільшення, без співмасштабування (*величини первинних збільшень мікрофотограм вказано нижче*). Ростро-каудальну орієнтацію зрізу не зазначено. Оглядове мікрофото — у центрі ($\times 50$). Центральне пасмо волокон (*найімовірніше*) — на мікрофото праворуч ($\times 400$); вдвічі меша за шириною іпсилатеральна стосовно епіцентру травми частина спинного мозку — на мікрофото внизу ($\times 400$), контрлатеральна — на мікрофото вгорі ($\times 400$). Елементи контрлатеральної частки — на мікрофото ліворуч ($\times 800$), елементи центрального пасма — на мікрофото вгорі праворуч ($\times 800$)

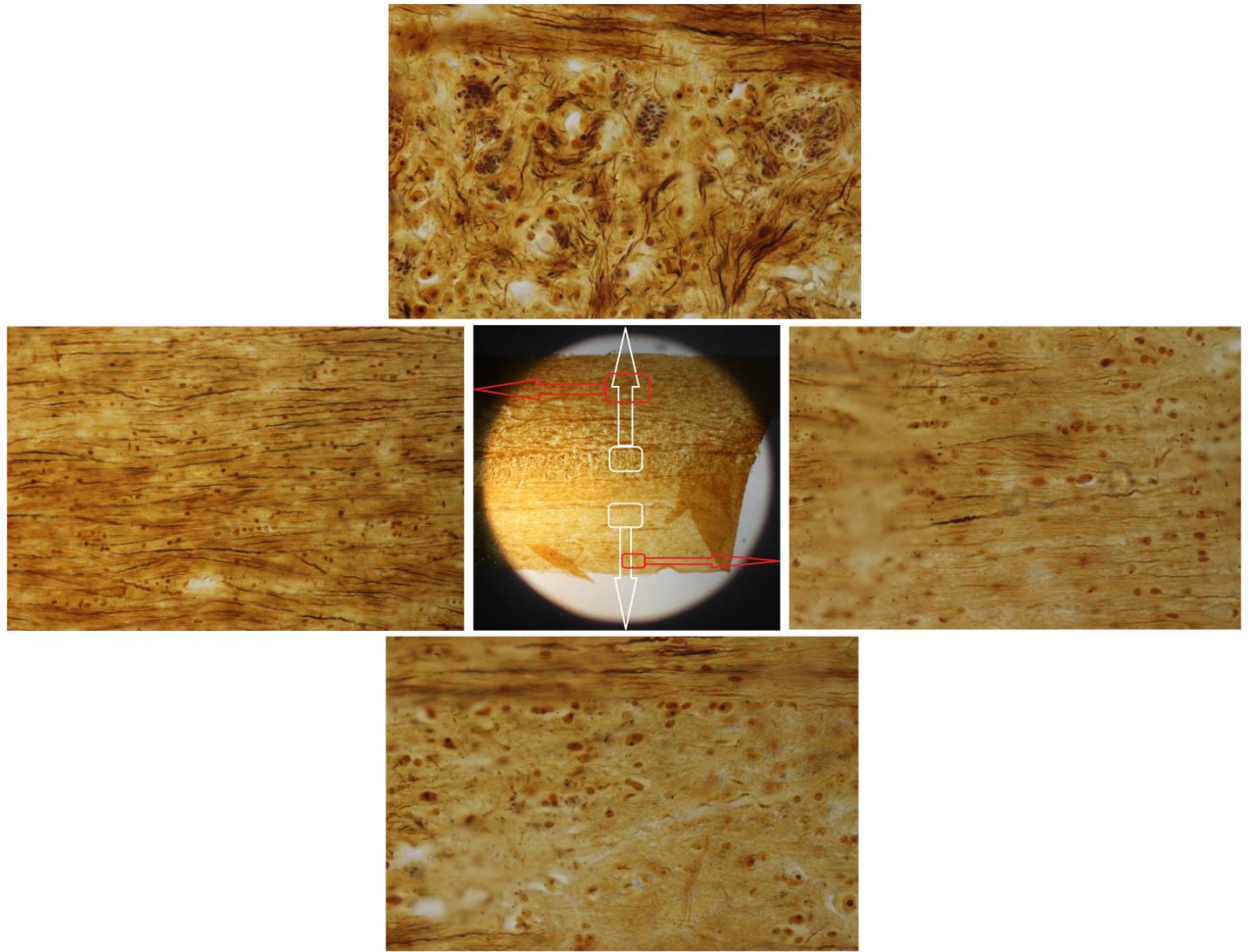


Рисунок 3.34 — Речовина спинного мозку на невеликій відстані від епіцентру травми, найімовірніше — ростральніше. Матеріал групи **Tr_□**. Імпрегнація поздовжнього гістологічного зрізу сріблом. Колаж зображень, отиманих за різного збільшення, без співмасштабування (*величини первинних збільшень мікрофотограм вказано нижче*). Ростро-каудальну орієнтацію зрізу не відтворено. Оглядове мікрофото — у центрі ($\times 50$). Елементи прицентральної контрлатеральної частки — на мікрофото вгорі ($\times 800$), на віддалі від центральної осі — на мікрофото ліворуч ($\times 400$); елементи прицентральної іпсилатеральної частки — на мікрофото внизу ($\times 800$), на віддалі від центральної осі — на мікрофото праворуч ($\times 800$)

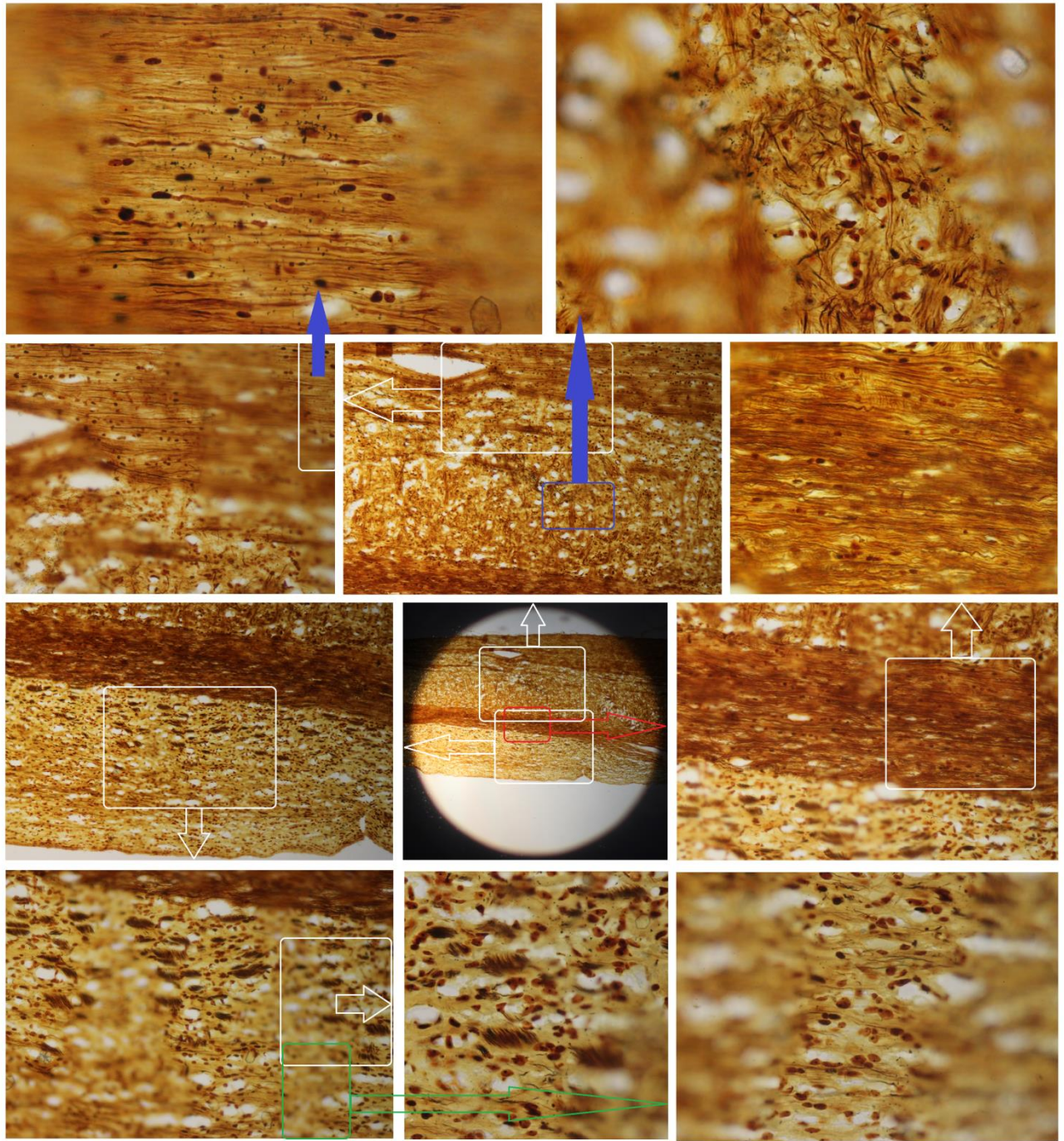


Рисунок 3.35 — Речовина спинного мозку на невеликій відстані від епіцентру травми. Матеріал однієї з тварин групи **Tr_□**. Імпрегнація поздовжнього гістологічного зрізу сріблом. Колаж зображень, отриманих за різного збільшення, без співмасштабування (величини первинних збільшень мікрофотограм: $\times 50$ — у центрі, $\times 200$ — третій ряд зверху ліворуч, а також другий ряд зверху посередині, $\times 400$ — другий ряд зверху ліворуч, третій ряд зверху праворуч, нижній ряд ліворуч, $\times 800$ — верхній ряд, другий ряд зверху праворуч і нижній ряд по середині й праворуч). Ростро-каудальну орієнтацію зрізу не зазначено. На оглядовому центральному мікрофото травмована частина спинного мозку внизу, умовно інтактна — вгорі

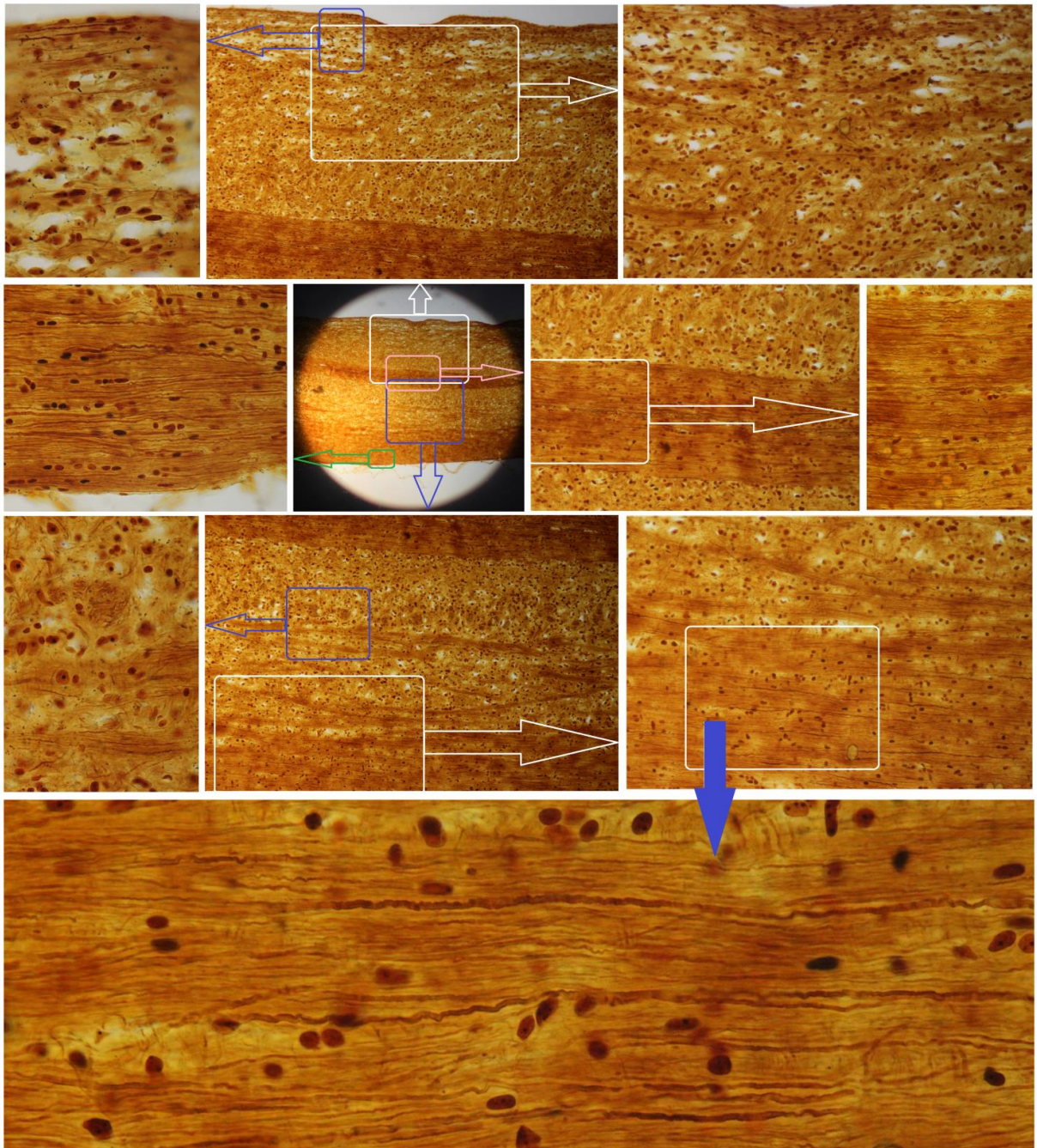


Рисунок 3.36 — Речовина спинного мозку на невеликій відстані від епіцентру травми. Матеріал однієї з тварин групи **Tr**_□. Імпрегнація поздовжнього гістологічного зрізу сріблом. Колаж зображень, отриманих за різного збільшення, без співмасштабування (величини первинних збільшень мікрофотограм: ×50 — другий ряд зверху друга ліворуч; ×200 — верхній ряд посередині, другий ряд зверху друга праворуч, третій ряд зверху посередині; ×400 — верхній ряд крайня праворуч, другий ряд зверху крайня ліворуч і праворуч, третій ряд зверху крайня праворуч; ×800 — верхній ряд крайня ліворуч, третій ряд зверху крайня ліворуч і нижній ряд). Ростро-каудальну орієнтацію зрізу не зазначено. На оглядовому мікрофото травмована частина спинного мозку вгорі, умовно інтактна — внизу

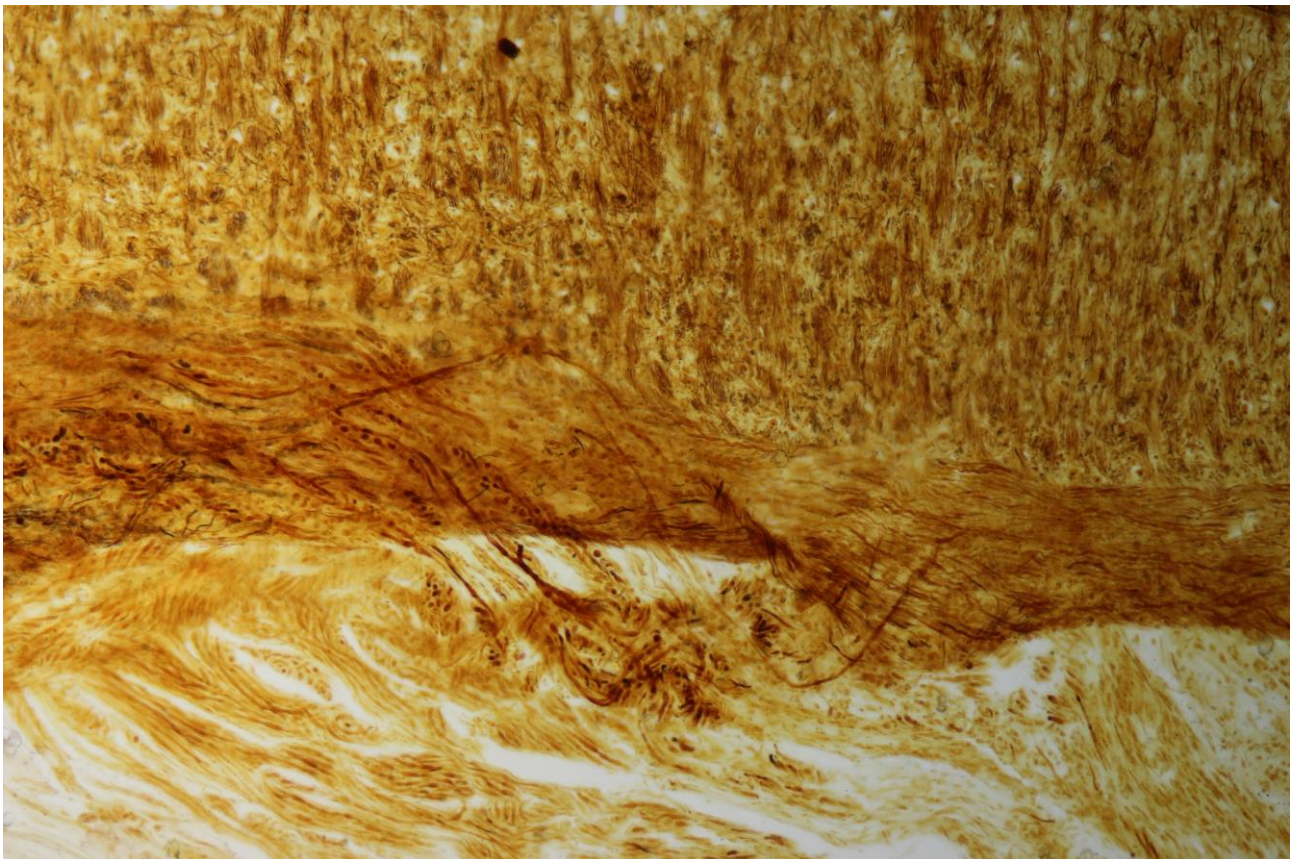
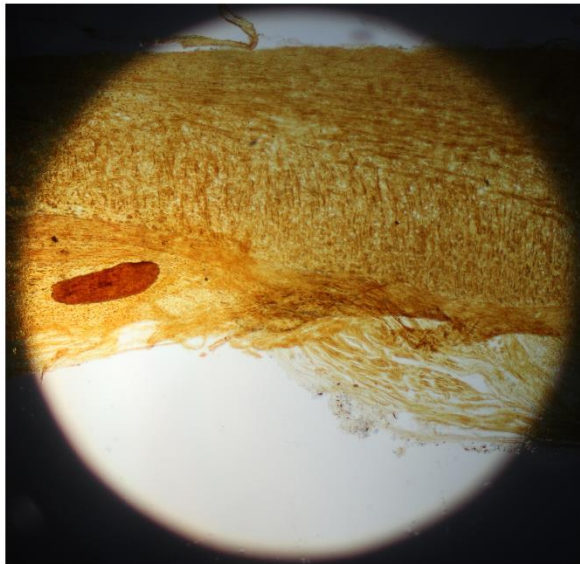


Рисунок 3.37 — Структура ділянки спинного мозку після половинного висічення, зображеної на рис. 3.28. Матеріал однієї з тварин групи **Tr**_□. Імпрегнація поздовжнього гістологічного зрізу сріблом. Колаж зображень, отриманих за різного збільшення, без співмасштабування (*первинне збільшення мікрофото вгорі — ×50, внизу — ×200*). Епіцентр травми вкритий товстою сполучнотканинною ковдрою

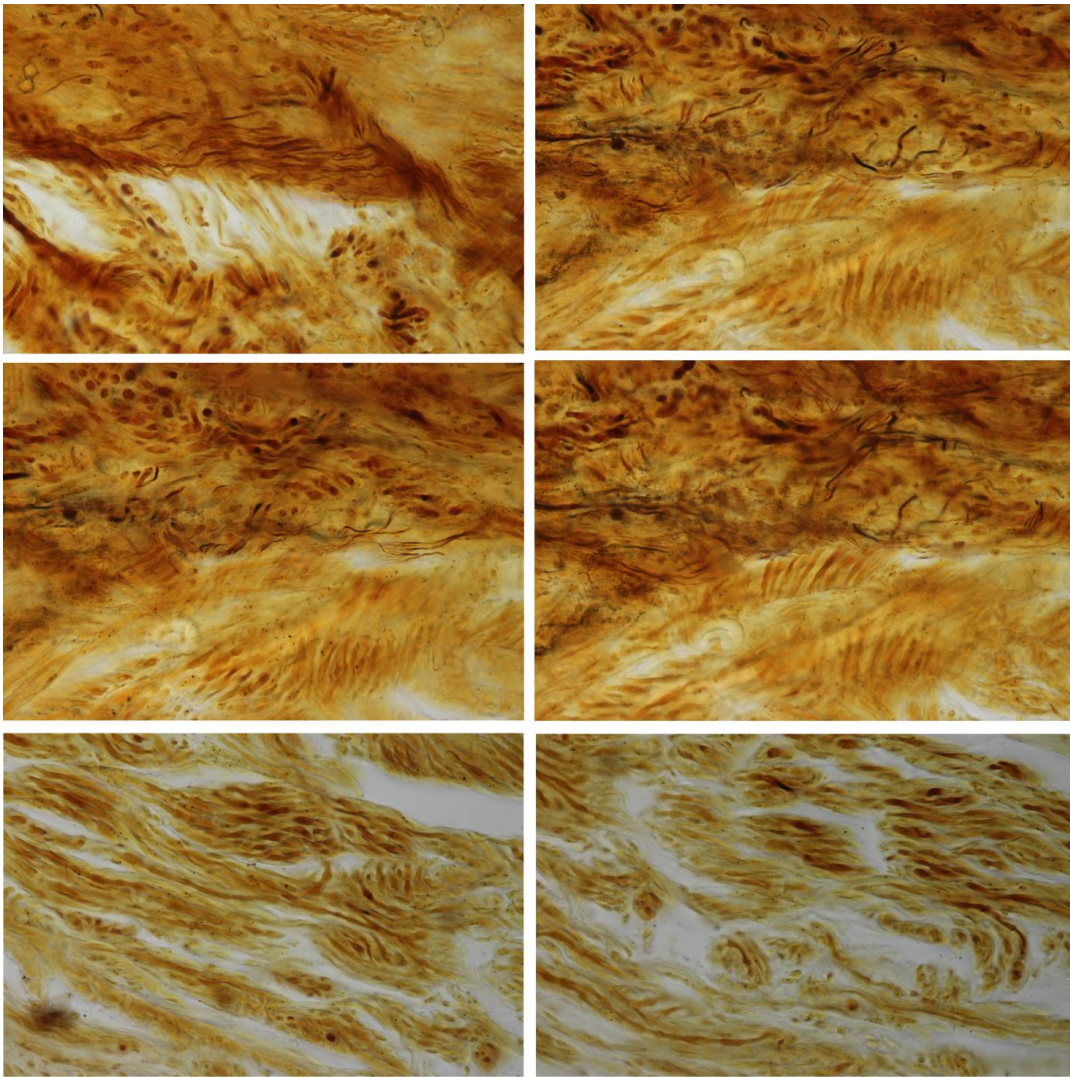


Рисунок 3.38 — Спостереження те саме, що і на рис. 3.37. Нижній ряд — "вервичні" фібротичні структури у товщі рубця, а також тонші, ймовірно, нервові волокна (верхній ряд праворуч і середній ряд, чорний колір). Збільшення — $\times 800$

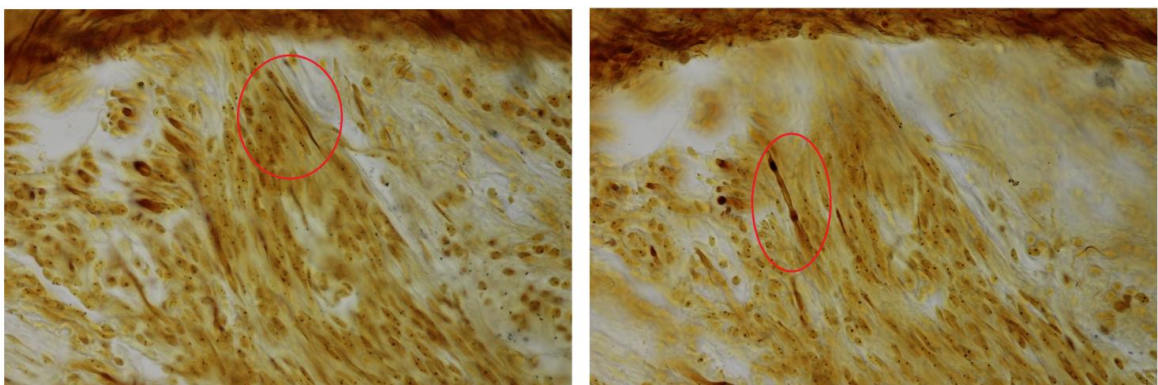


Рисунок 3.39 — Спостереження те саме, що і на на рис. 3.37. Інтенсивно забарвлені лінійні, ймовірно, фібротичні структури рубця (окреслено червоним еліпсом), ліворуч — без характерної "вервичної" морфології. Збільшення — $\times 800$

3.5.2. Патоморфологічні особливості ділянки висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку й імплантації РНРМА-гідрогелю на віддаленому терміні спостереження.

Гістологічна картина у ділянці імплантації РНРМА-гідрогелю у товщу спинного мозку досить повно розкрита у ряді закордонних [30-38] і вітчизняних [39, 40, 174] праць, серед яких лише у одній [34] використано техніку імпрегнації зрізів сріблом. Добре відомо, що РНРМА-гідрогель, виповнюючись гліофіброзною тканиною, створює умови для вrostання аксонів, що засвідчено, окрім іншого, імуногістохімічно [33, 38–40]. Більш того, за допомогою відомих методів відслідковування аксонів спеціальними барвниками-мітками (*англ.* — *axonal tracing*) отримано вагомні аргументи на користь наскрізного проростання поздовжніх нервових волокон спинного мозку через ділянку імплантації [33, 34, 35].

Згадуване вище неприцільне дослідження з використанням техніки імпрегнації зрізів сріблом [34] очікувано виявило нервові волокна у речовині РНРМА-гідрогелю, імплантованого у ділянку бічного половинного перетину спинного мозку дводенного щура. Наші дані вцілому компліментарні цим результатам. Так, через ~5 міс після травми у групі **НГ** ділянка імплантації виявилась заповненою фрагментами РНРМА-гідрогелю, оточеного численними веретеневидними клітинами гліофіброзної рубцевої тканини (*рис. 3.40–3.51*) [208]. Ця тканина має комірчасту структуру, розмежовуючи акуратні "бульбашкоподібні" фрагменти щільної речовини РНРМА-гідрогелю (*рис. 3.40–3.48, 3.51*), і є місцем росту нервових волокон — поодиноких (*рис. 3.40–3.43, 3.45–3.48, 3.51*) або зібраних у малі групи (*рис. 3.46*), часто різнонаправлених (*рис. 3.43, 3.45–3.47, 3.51*) і навіть рекурентних (*рис. 3.51, третій ряд зверху мікрофото ліворуч*) [208]. Під час організації, нервові волокна, найімовірніше, врастають у товщу РНРМА-гідрогелю з прилеглої речовини спинного мозку (*рис. 3.42, рис. 3.47, верхній ряд мікрофото праворуч*) або з фіброзно змінених оболонок мозку над епіцентром травми (*рис. 3.50, мікрофото внизу праворуч*) [208]. Стосовно джерел їхньої появи у оболонках після ТрСМ достовірна інформація на даний час відсутня.

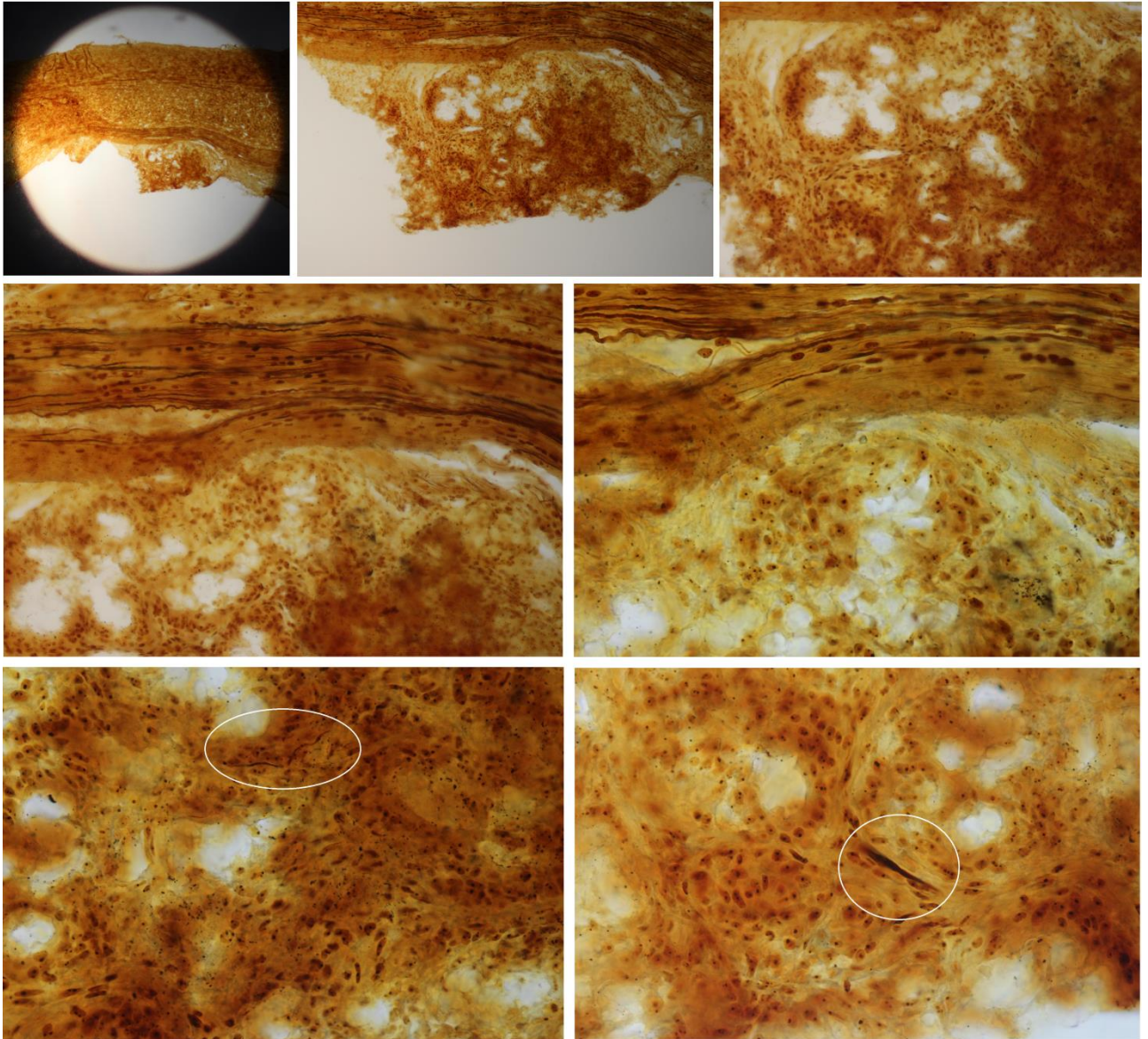


Рисунок 3.40 — Речовина спинного мозку у епіцентрі висічення бічного половинного фрагменту й імплантації РНРМА-гідрогелю через ~5 міс спостереження. Матеріал однієї з тварин групи **НГ_а**. Імпрегнація поздовжнього гістологічного зрізу сріблом. Колаж зображень, отриманих за різного збільшення, без співмасштабування (величини первинних збільшень мікрофотограм: верхній ряд зліва направо — $\times 50$, $\times 200$ і $\times 400$; другий ряд зверху, ліворуч — $\times 400$, решта мікрофотограм — $\times 800$). Ростро-каудальну орієнтацію зрізу не зазначено. На оглядовому мікрофото травмована частина спинного мозку разом з імплантатом — внизу, умовно інтактна — вгорі. На цьому ж мікрофото добре розкрито повноту висічення, стан центрального пасма крупних поздовжніх волокон і частину асоційованого з речовиною спинного мозку РНРМА-гідрогелю. Іншу частину матриксу втрачено на етапі мікропрепарування фіксованого матеріалу або під час виготовлення зрізів. На двох мікрофото нижнього ряду еліпсоїдами окреслено ділянки ходу двох поодиноких нервових волокон (безсумнівно — на мікрофото ліворуч) у товщі гліофіброзної тканини поміж характерними "бульбашковими" грудочками гідрогелю (білі круглясті структури невеликої площі)

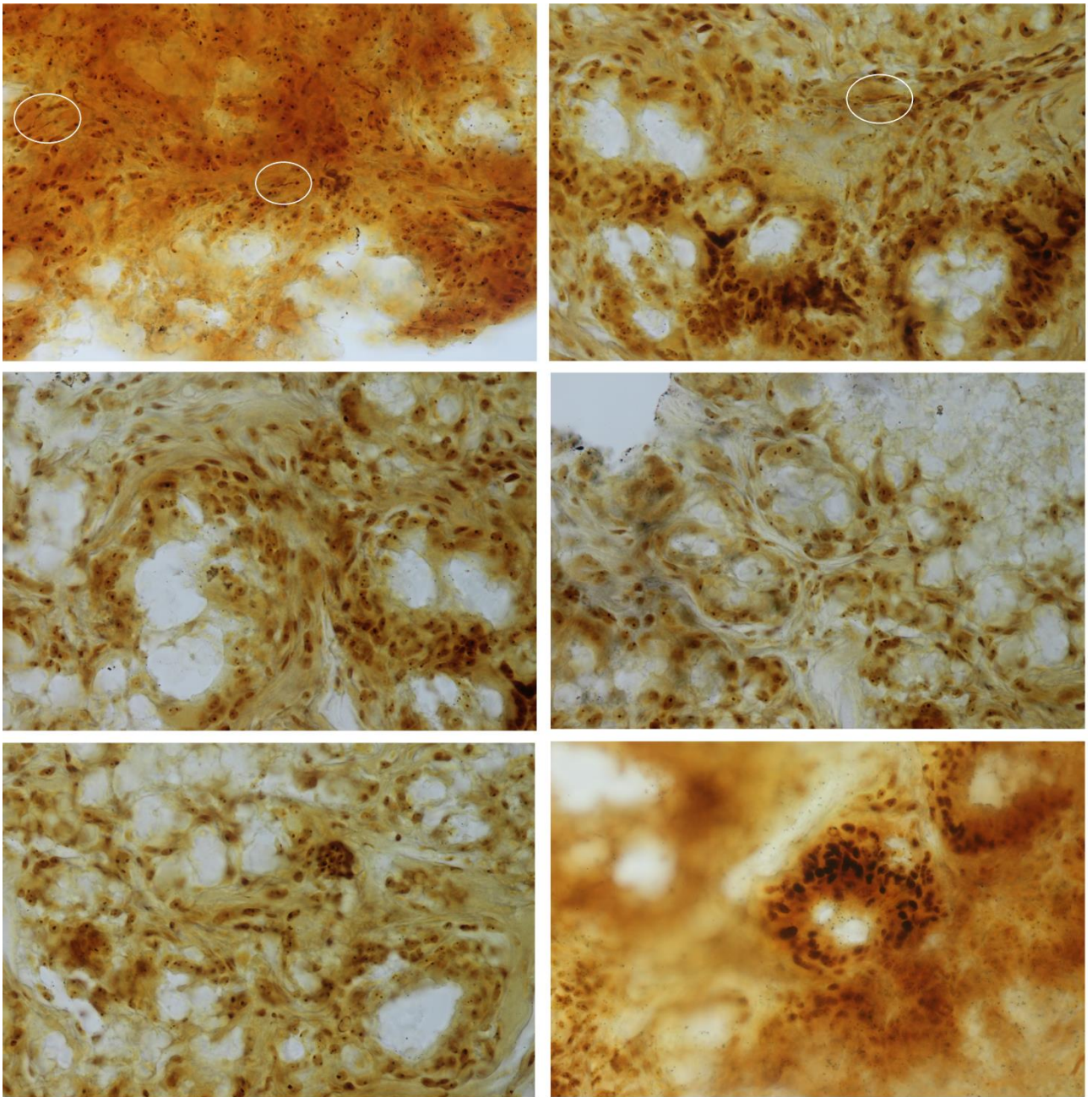


Рисунок 3.41 — Речовина спинного мозку у місці висічення бічного половинного фрагменту й імплантації РНРМА-гідрогелю через ~5 міс спостереження. Матеріал однієї з тварин групи **НГ_н**. Імпрегнація поздовжнього гістологічного зрізу сріблом. Колаж зображень, отриманих за різного збільшення, без співмасштабування (величини первинних збільшень мікрофотограм: верхній ряд ліворуч — $\times 400$, решта — $\times 800$). Ростро-каудальну орієнтацію зрізу не зазначено. Добре візуалізовано щедрі гліофіброзні розростання поміж "бульбашковими" білими фрагментами РНРМА-гідрогелю. На двох мікрофото верхнього ряду еліпсоїдами окреслено ділянки розташування поодиноких волокон, котрі при збільшенні зображення (тут не відображено) нагадують нервові

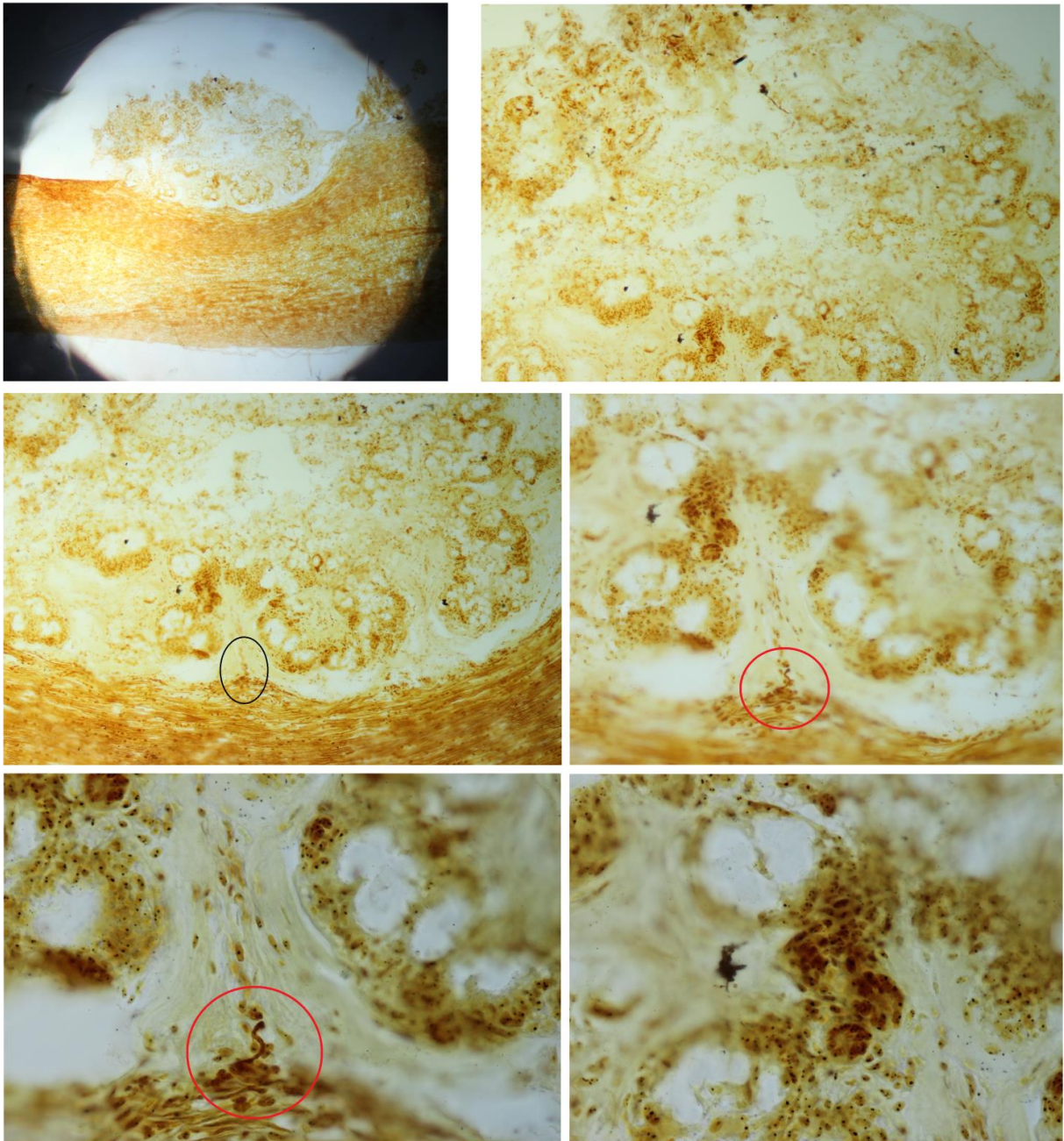


Рисунок 3.42 — Речовина спинного мозку у місці висічення бічного половинного фрагменту й імплантації РНРМА-гідрогелю через ~ 5 міс спостереження. Матеріал однієї із тварин групи **НГ**. Імпрегнація поздовжнього гістологічного зрізу сріблом. Колаж зображень, отриманих за різного збільшення, без співмасштабування (величини первинних збільшень мікрофотограм: верхній ряд ліворуч — $\times 50$, праворуч — $\times 200$, середній ряд ліворуч — $\times 200$, праворуч — $\times 400$, нижній ряд — $\times 800$). На оглядовому мікрофото верхнього ряду — імплантат вгорі, умовно інтактна частина спинного мозку внизу. Рostro-каудальну орієнтацію зрізу не зазначено. Гліофіброзні розростання поміж "бульбашковими" білими фрагментами РНРМА-гідрогелю сформовано різними фракціями клітин — з різними розмірами соми (нижній ряд ліворуч). Місце входу нервового волокна із парамедіанного пасма поздовжніх волокон спинного мозку у товщу внутрішньоімплантатової гліофіброзної тканини на мікрофотограмах, виконаних за різного збільшення, окреслено еліпсом

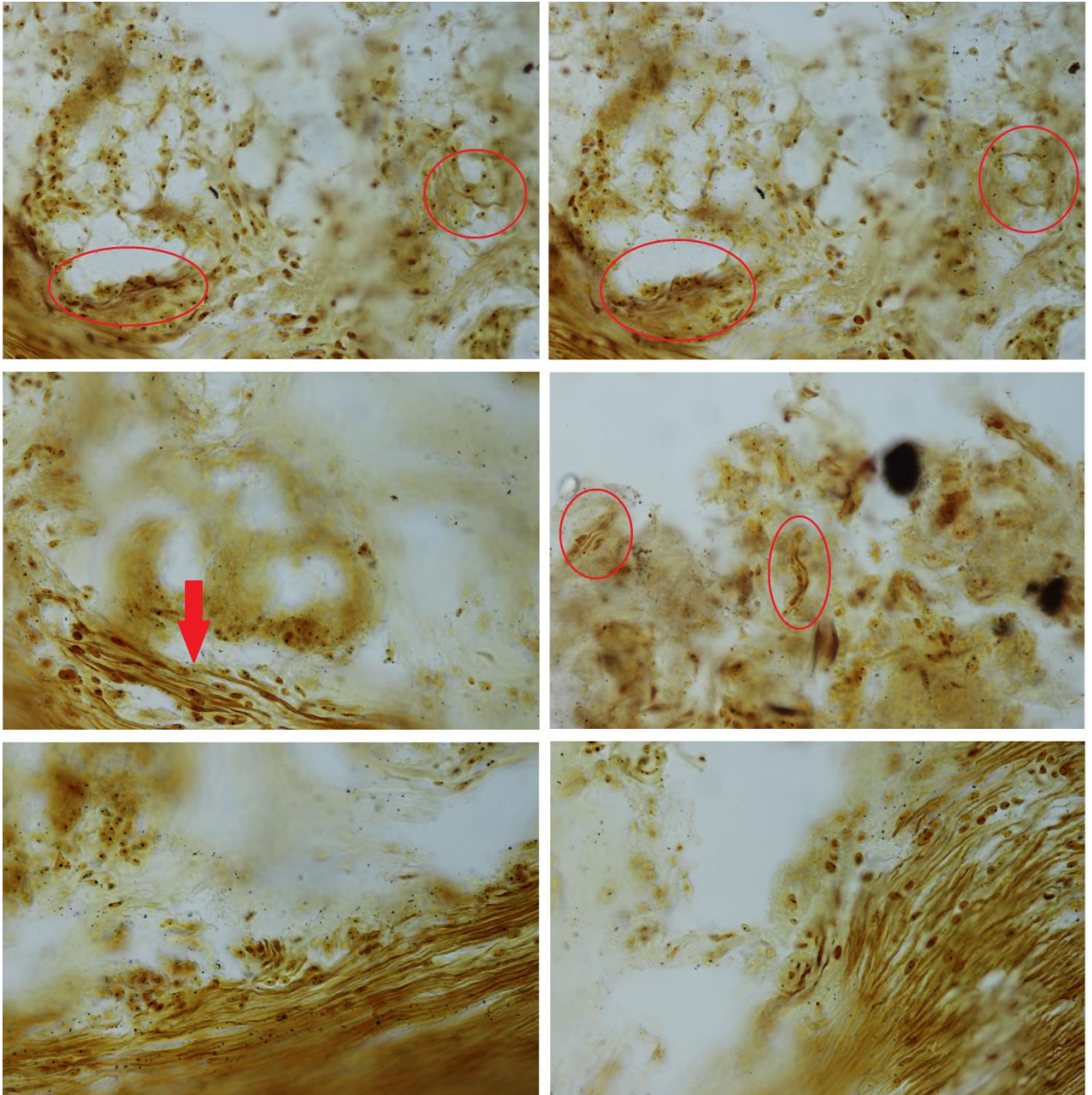


Рисунок 3.43 — Речовина спинного мозку у місці висічення бічного половинного фрагменту й імплантації РНРМА-гідрогелю через ~5 міс спостереження. Матеріал однієї з тварин групи **НГ_н**. Імпрегнація поздовжнього гістологічного зрізу сріблом. Колаж зображень, отриманих за збільшення у 800 разів. Рostro-каудальну орієнтацію зрізу не зазначено. На трьох мікрофотограмах (*мікрофото середнього ряду ліворуч, вказано стрілкою, і обидва мікрофото нижнього ряду*) візуалізовано пучки нервових волокон речовини спинного мозку, прилеглої до зони імплантації

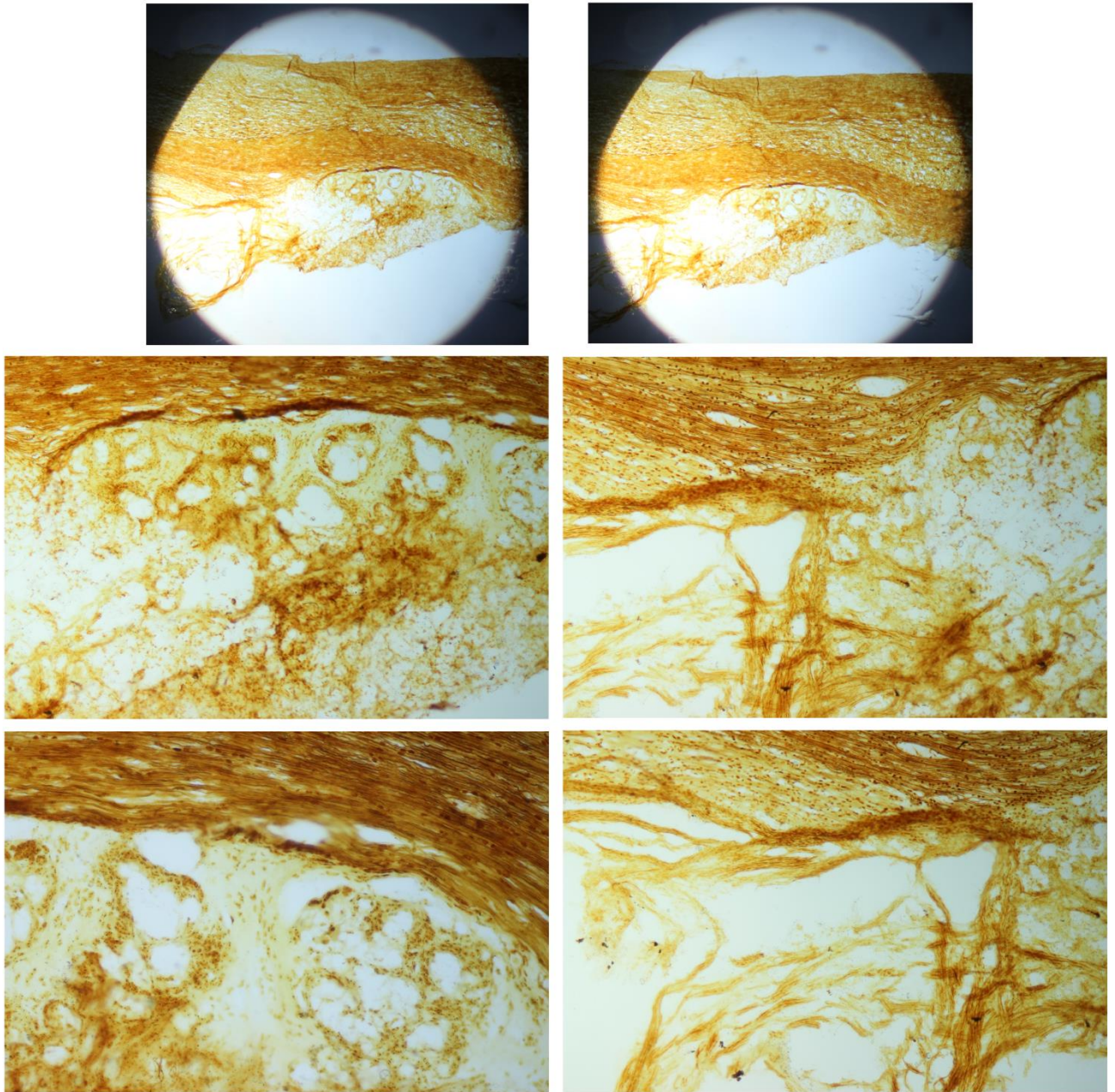


Рисунок 3.44 — Речовина спинного мозку у місці висічення бічного половинного фрагменту й імплантації РНРМА-гідрогелю через ~5 міс спостереження. Матеріал однієї з тварин групи **НГ_н**. Імпрегнація поздовжнього гістологічного зрізу сріблом. Колаж зображень, отриманих за різного збільшення, без співмасштабування (*величини первинних збільшень мікрофотограм: верхній ряд — ×50, середній ряд ліворуч — ×200, середній ряд праворуч і нижній ряд — ×400*). Ростро-каудальну орієнтацію зрізу не зазначено. На оглядових мікрофотограмах верхнього ряду травмована частина спинного мозку з імплантатом — внизу, умовно інтактна — вгорі. Добре візуалізовано нервові волокна прилеглої до імплантата речовини спинного мозку й інтенсивно забарвлені волокнисті елементи розростань травмованої оболони поблизу полюса імплантата

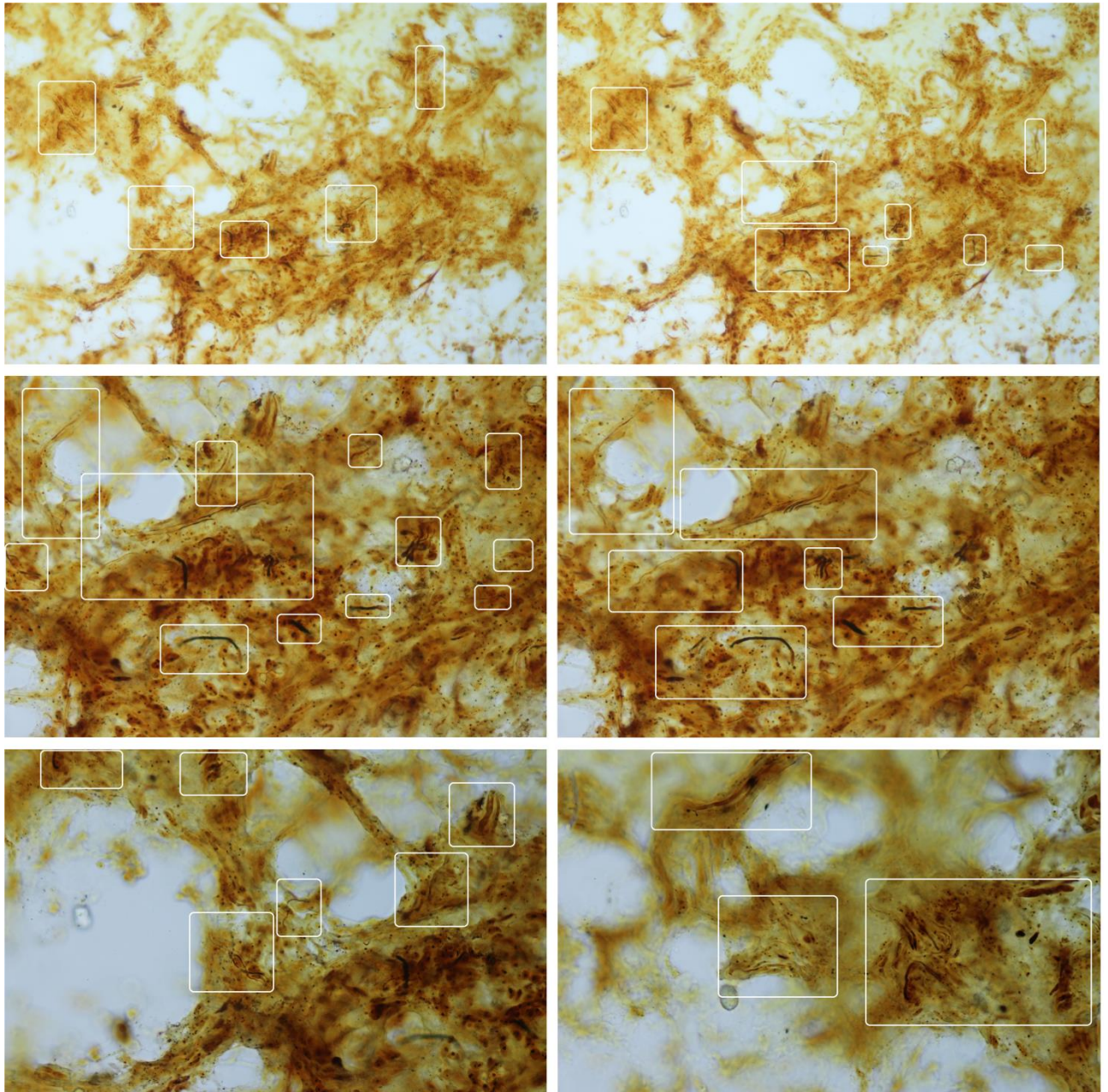


Рисунок 3.45 — Речовина спинного мозку у місці висічення бічного половинного фрагменту й імплантації РНРМА-гідрогелю через ~5 міс спостереження. Матеріал однієї з тварин групи **НГ₁**. Імпрегнація поздовжнього гістологічного зрізу сріблом. Колаж зображень, отриманих за різного збільшення, без співмасштабування (*величини первинних збільшень мікрофотограм: верхній ряд — ×200, середній ряд — ×400, нижній ряд — ×800*).

Ростро-каудальну орієнтацію зрізу не зазначено. Ділянки розташування поодиноких і множинних волокон гліофіброзного нововмісту імплантата, котрі нагадують нервові, обведено прямокутниками

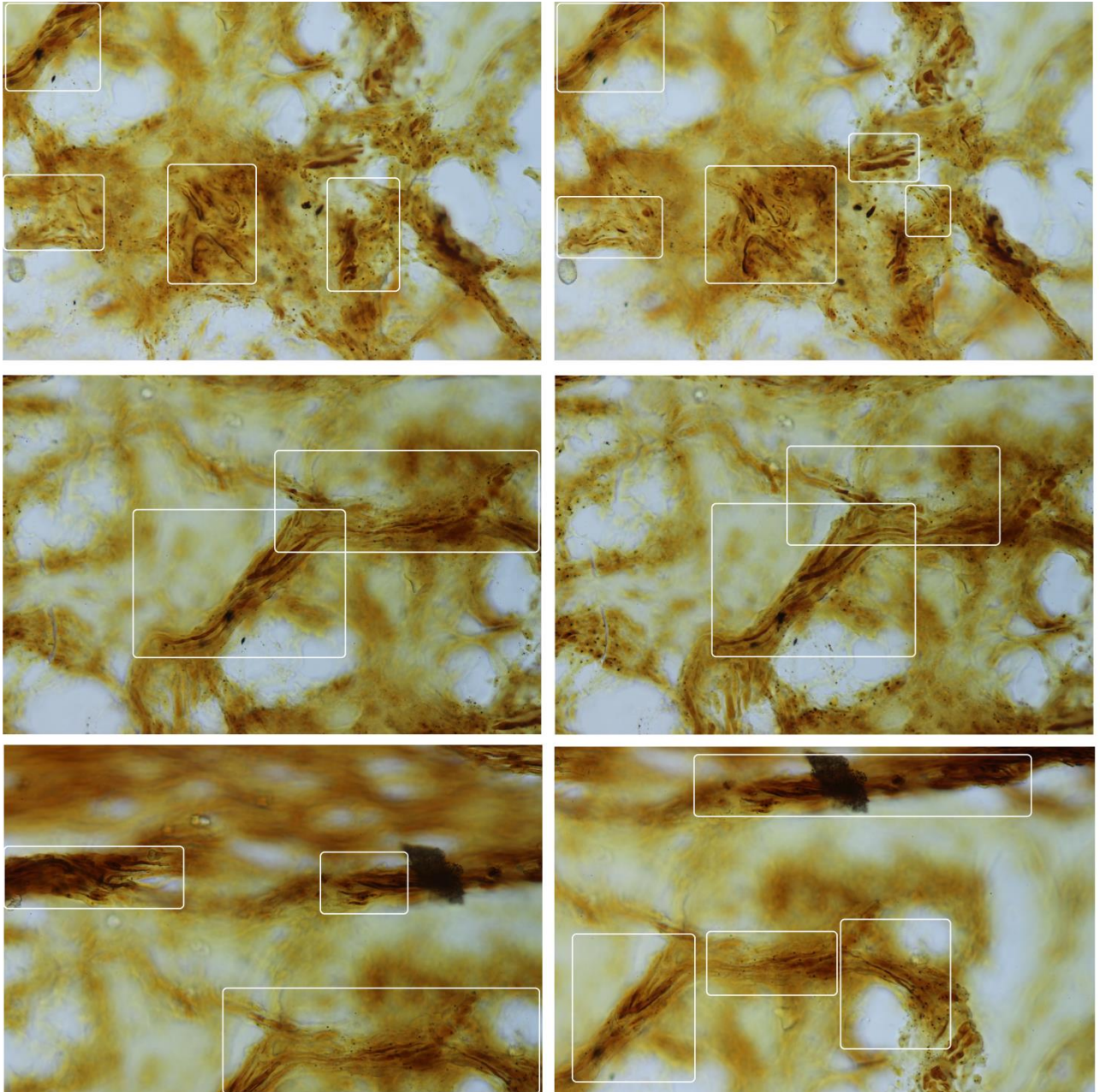


Рисунок 3.46 — Речовина спинного мозку у місці висічення бічного половинного фрагменту й імплантації РНРМА-гідрогелю через ~5 міс спостереження. Матеріал однієї з тварин групи **НГ_н**. Імпрегнація поздовжнього гістологічного зрізу сріблом. Колаж зображень, отриманих за різного збільшення, без співмасштабування (*величини первинних збільшень мікрофотограм: верхній ряд — $\times 400$, середній і нижній ряд — $\times 800$ за різної фокусної відстані*). Росто-каудальну орієнтацію зрізу не зазначено. Прямокутниками окреслено ділянки розташування поодиноких волокон і впорядкованих пучків волокон з ознаками нервових у гліофіброзному нововмісті імплантата

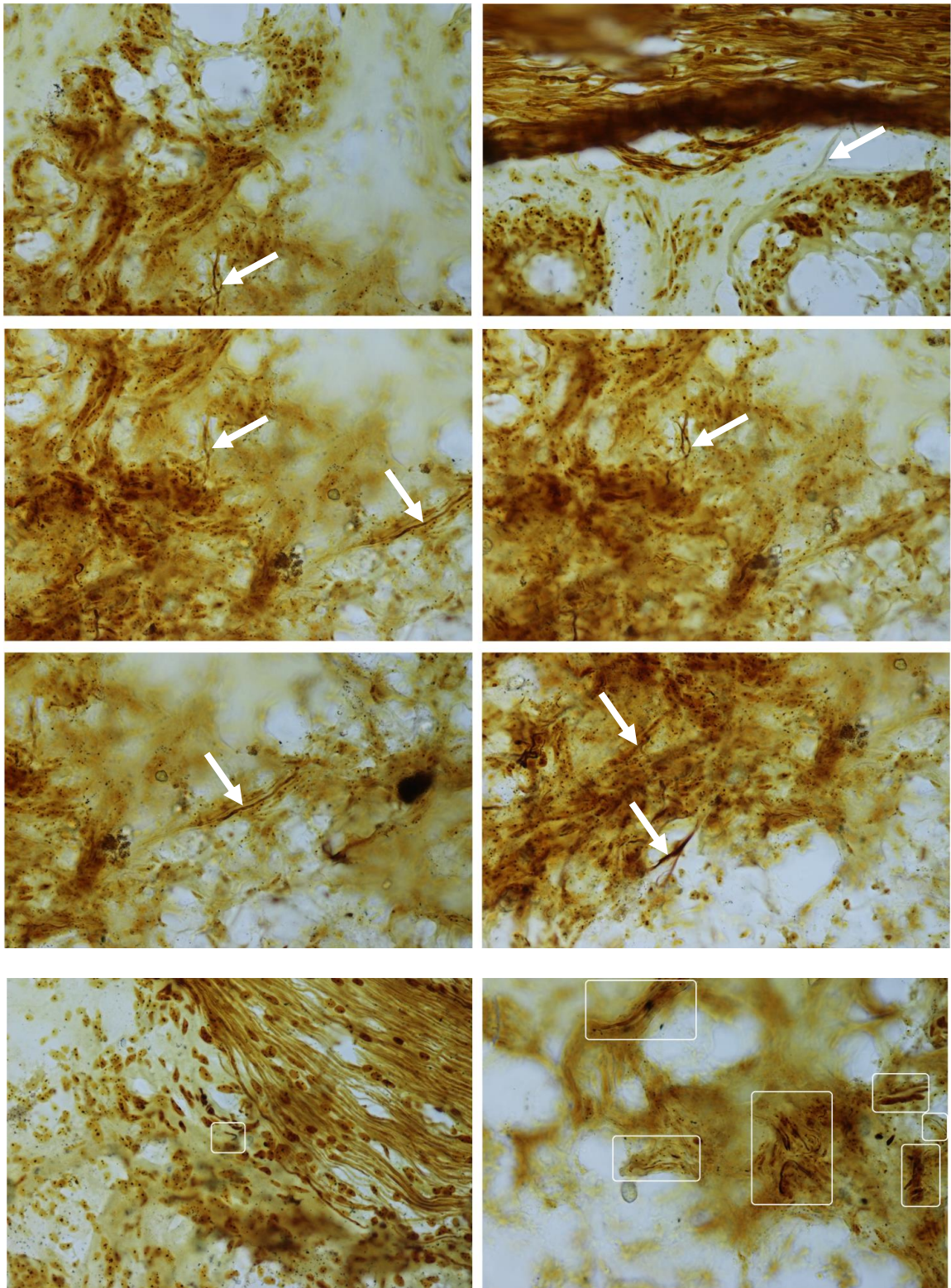


Рисунок 3.47 — Речовина спинного мозку у місці висічення бічного половинного фрагменту й імплантації РНРМА-гідрогелю через ~5 міс спостереження. Матеріал однієї з тварин групи **НГ_а**. Імпрегнація поздовжнього гістологічного зрізу сріблом. Колаж зображень, отриманих за збільшення у 800 разів. Росто-каудальну орієнтацію зрізу не зазначено. Стрілками відмічено поодинокі волокна з ознаками нервових у гліофіброзному нововмісті імплантата (на мікрофотограмах нижнього ряду — обведено прямокутниками), у тому числі на межі з нервовими волокнами власної речовини спинного мозку (верхній ряд праворуч і нижній ряд ліворуч)

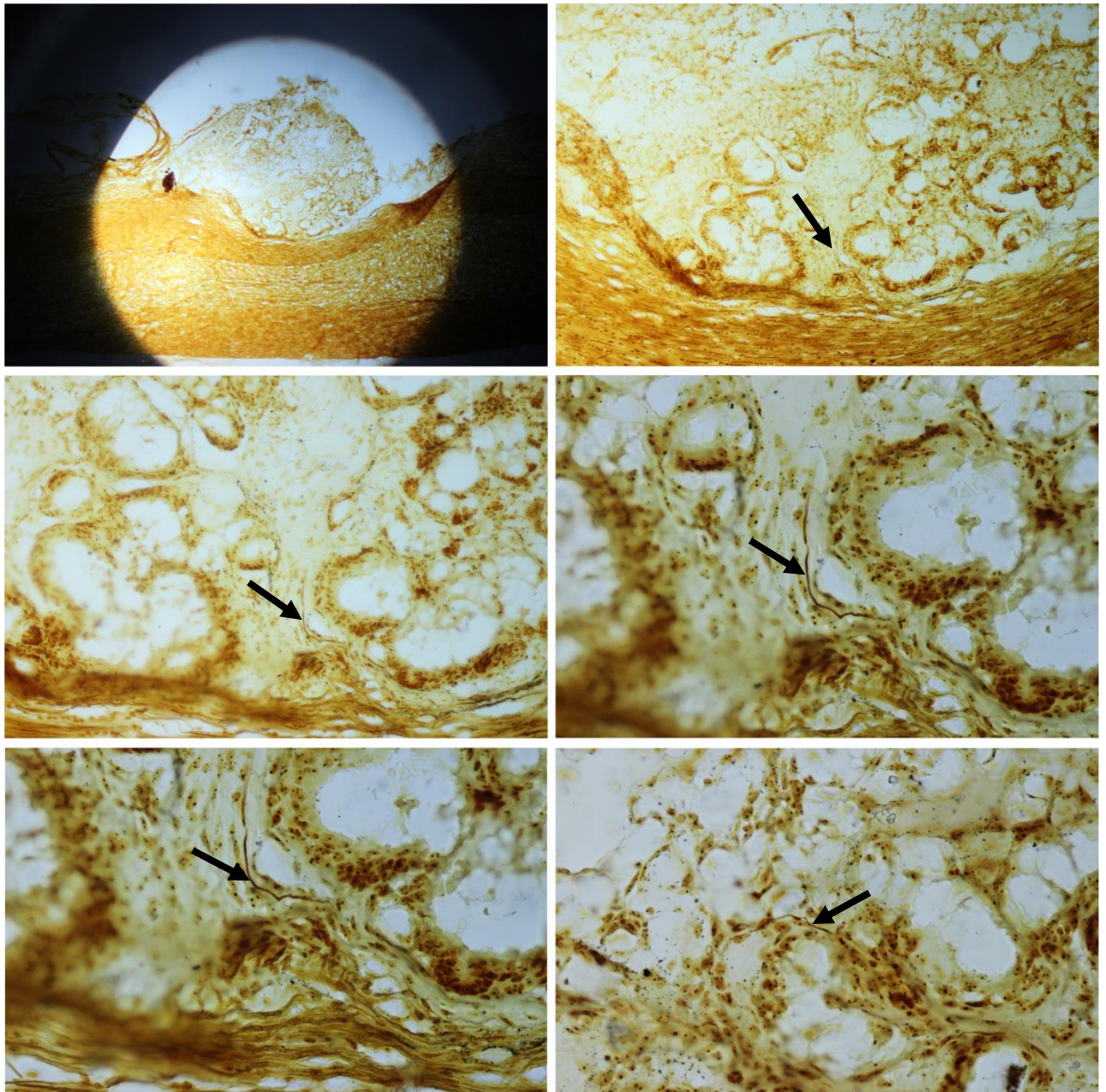


Рисунок 3.48 — Речовина спинного мозку у місці висічення бічного половинного фрагменту й імплантації РНРМА-гідрогелю через ~5 міс спостереження. Матеріал однієї з тварин групи **НГ**. Імпрегнація поздовжнього гістологічного зрізу сріблом. Колаж зображень, отриманих за різного збільшення, без співмасштабування (*величини первинних збільшень мікрофотограм: верхній ряд ліворуч — $\times 50$, верхній ряд праворуч — $\times 200$, середній ряд ліворуч — $\times 400$, середній ряд праворуч і весь нижній ряд — $\times 800$*). На оглядовій мікрофотограмі верхнього ряду травмована частина спинного мозку з імплантатом — вгорі, умовно інтактна — внизу. На мікрофотограмах верхнього ряду (*праворуч*), середнього ряду і нижнього ряду (*ліворуч*) відображено нерве волокно поблизу суміжної власної речовини спинного мозку за різного збільшення. Ідентифіковані *ad oculus* нервові волокна позначено стрілками

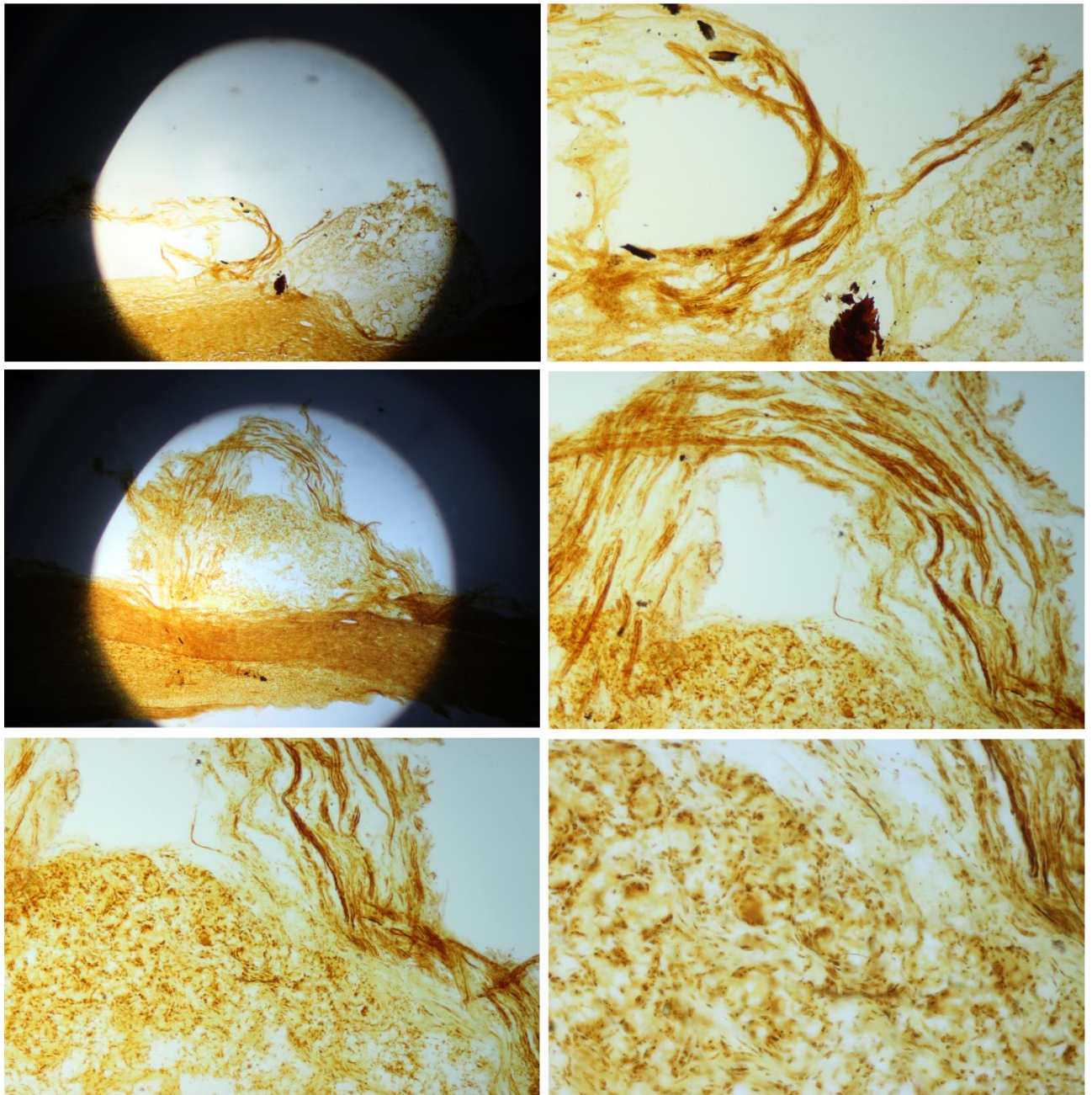


Рисунок 3.49 — Речовина спинного мозку у місці висічення бічного половинного фрагменту й імплантації РНРМА-гідрогелю через ~5 міс спостереження. Матеріал однієї з тварин групи **НГ₁**. Імпрегнація поздовжнього гістологічного зрізу сріблом. Колаж зображень, отриманих за різного збільшення, без співмасштабування (*величини первинних збільшень мікрофотограм: верхній і середній ряд ліворуч — ×50, верхній і середній ряд праворуч — ×200, нижній ряд ліворуч — ×200, нижній ряд праворуч — ×400*). Ростро-каудальну орієнтацію зрізу не зазначено. На оглядових мікрофотограмах травмована частина спинного мозку з імплантатом — вгорі, умовно інтактна — внизу. Волокнисті структури навколо імплантату, найімовірніше, — нервові корінці спинного мозку, асоційовані з травмованою оболонкою

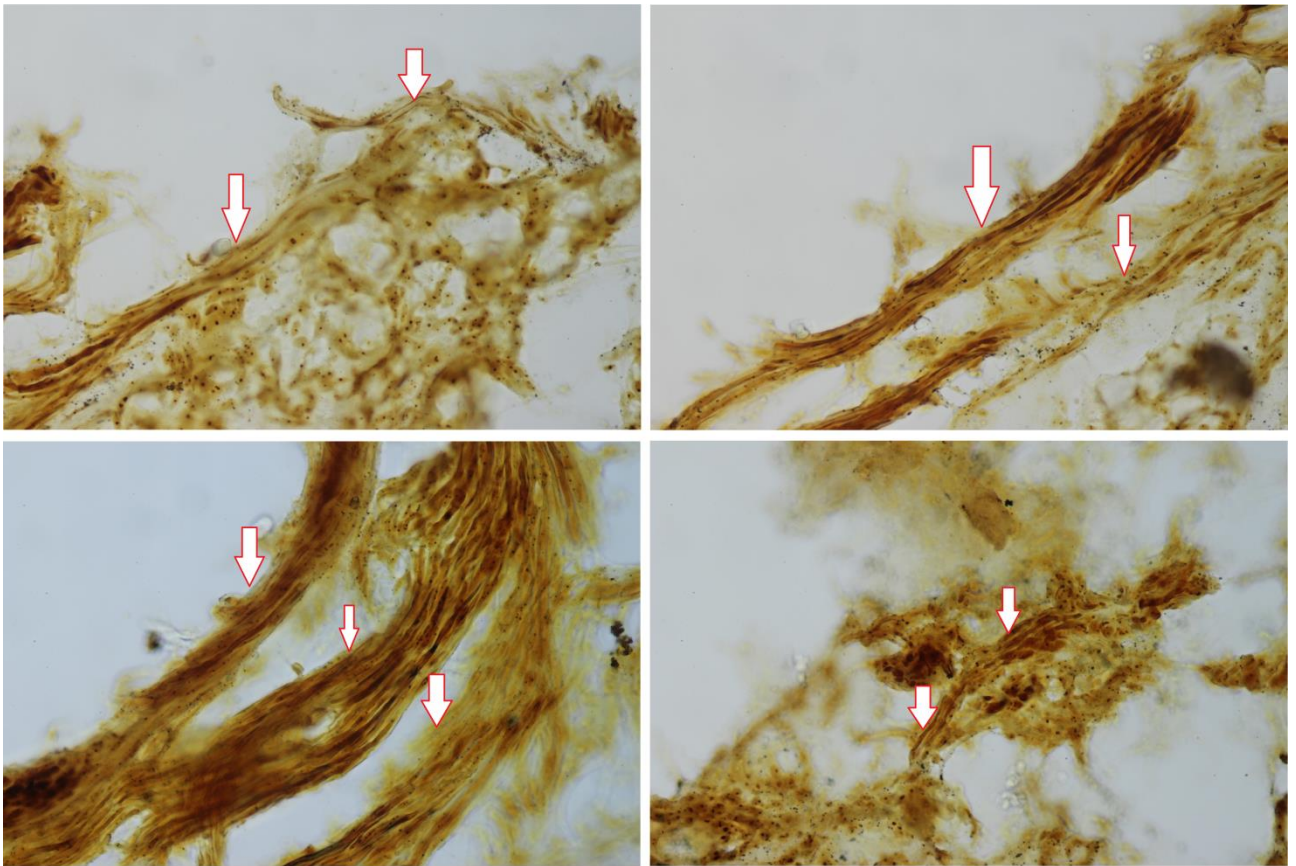


Рисунок 3.50 — Речовина спинного мозку у місці висічення бічного половинного фрагменту й імплантації РНРМА-гідрогелю через ~5 міс спостереження. Матеріал однієї з тварин групи **НГ₁**, частково відображений на попередньому рисунку. Імпрегнація поздовжнього гістологічного зрізу сріблом. Колаж зображень, отриманих за різного збільшення, без співмасштабування (величини первинних збільшень мікрофотограм: *внизу ліворуч* — $\times 800$, *решта* — $\times 400$). Стрілками позначено пучки волокон з характерною морфологією — найімовірніше, нервові корінці спинного мозку, асоційовані зі зміненою оболонкою. Мікрофото, розміщене у нижньому ряду праворуч найяскравіше демонструє просторове поєднання таких пучків з гліофіброзною тканиною, прилеглою до фрагментів РНРМА-гідрогелю

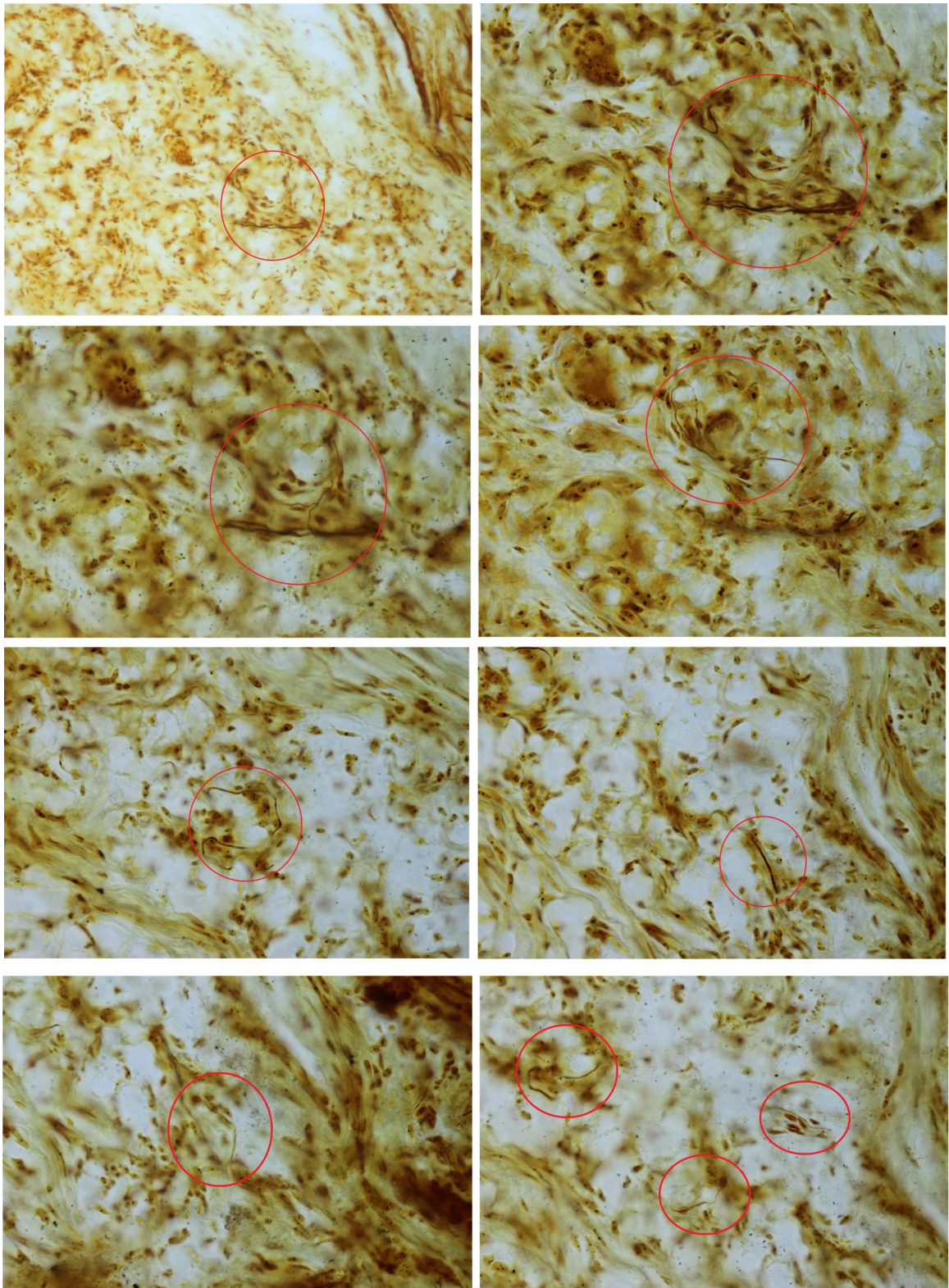


Рисунок 3.51 — Речовина спинного мозку у місці висічення бічного половинного фрагменту й імплантації РНРМА-гідрогелю через ~5 міс спостереження. Матеріал однієї з тварин групи **НГ₁**. Імпрегнація поздовжнього гістологічного зрізу сріблом. Колаж зображень, отриманих за різного збільшення, без співмасштабування (*величини первинних збільшень мікрофотограм: верхньої ліворуч — $\times 400$, решти — $\times 800$*). Ростро-каудальну орієнтацію зрізу не зазначено. Поодинокі волокна з ознаками нервових у гліюфіброзному нововмісті імплантата окреслено червоними еліпсоїдами

Оглядаючи наведені у цьому розділі дані, варто зазначити, що імплантація РНРМА-гідрогелю у ділянку висічення фрагменту речовини спинного мозку обумовлює істотний позитивний ефект у дуже ранньому періоді травми, ймовірно, у найгострішому, незважаючи на створення умов для вrostання у ділянку імплантації нервових волокон. Впродовж наступного періоду травми імплантований РНРМА-гідрогель не чинить істотного впливу на перебіг відновного процесу, не змінюючи динаміку ПФ у порівнянні з групою **Tr_□**. Іншим очевидним результатом проведених досліджень є те, що РНРМА-гідрогель, ймовірно, через вищий регенеративний потенціал нервової системи у молодому віці, проявляє відчутний позитивний ефект лише при значних просторових дефектах, але не при звичайному бічному половинному перетині спинного мозку. Натомість, на тлі бічного половинного перетину спинного мозку імплантація РНРМА-гідрогелю супроводжується істотним позитивним впливом у дорослих тварини [39, 40, 174].

Для з'ясування механізмів раннього позитивного впливу РНРМА-гідрогелю на перебіг **Tr_{СМ}**, на наш погляд, перш за все слід враховувати його антигеморагічні властивості. Обмежуючи кровотечу із ушкоджених судин у епіцентрі травми, РНРМА-гідрогель може, окрім іншого, зменшувати імбібіцію речовини спинного мозку кров'ю, а також обмежувати її прямий контакт з ліквором, блокуючи один із шляхів зустрічі елементів імунної системи з раптово звільненими у епіцентрі травми мозковими антигенами. Таким чином досягається зменшення вторинної, опосередкованої імунними механізмами, альтерації спинного мозку, котра стосовно нервових волокон (*виразником стану яких, фактично, і є значення ПФ*) проявляється демієлінізацією й подальшим ушкодженням. Цікаво, що, найімовірніше, за такого виду травми (*група **HG_■***) елементи речовини спинного мозку, вбережені у описаний щойно гіпотетичний спосіб у гострому періоді **Tr_{СМ}**, не забезпечують подальшого прогресивного збільшення рухової функції паретичної кінцівки.

З цієї точки зору, в умовах високого ауторегенеративного потенціалу нервової системи у молодих тварин, притуплення реакцій вторинної альтерації

навколо зони бічного половинного перетину негайно імплантованим РНРМА-гідрогелем (*група НГ_П*) втрачає істотне для відновного процесу значення, оскільки щедро компенсується механізмами самовільної регенерації. І все ж, будучи імплантованим у тварин цього віку у ділянку об'ємного просторового дефекту спинного мозку (*група НГ_■*), РНРМА-гідрогель наближає регенераційний процес до такого, що характерний для випадку бічного половинного перетину (*група НГ_П*), ймовірно, створюючи зону просторового і факторного єднання між кульцями половинника спинного мозку.

Висновки до розділу 3

1. Модель висічення бічного половинного фрагменту речовини спинного мозку у нижньогрудному відділі дозволяє відтворити стійкий глибокий однобічний дефіцит рухової функції навіть на тлі високого ауторегенераційного потенціалу молодих тварин.
2. Модель дозволяє з'ясувати відновний ефект нейротрансплантатів, котрий за помірнішого лацераційного ушкодження спинного мозку повністю маскується власним ауторегенераційним потенціалом спинного мозку.
3. Негайна імплантація РНРМА-гідрогелю у тварин молодого віку чинить істотний позитивний вплив на стан рухової функції паретичної кінцівки у найгострішому періоді лацераційної ТрСМ, причому лише у випадку висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку, але не на тлі бічного половинного перетину.

РОЗДІЛ 4

ВПЛИВ ІМПЛАНТАЦІЇ ТУНЕЛЬОВАНОГО МАТРИКСУ НА ОСНОВІ ПОЛІЕТИЛЕНГЛІКОЛЮ НА ПЕРЕБІГ ЛАЦЕРАЦІЙНОЇ ТРАВМИ СПИННОГО МОЗКУ

4.1. Динаміка рухової функції паретичної кінцівки на тлі негайної імплантації тунельованого матриксу у зону висічення бічної половини спинного мозку

Імплантація тунельованого матриксу на основі поліетиленгліколю істотно змінює перебіг і результат відновного процесу, що видно із порівняння розподілу значень ПФ на основних термінах спостереження (рис. 4.1), а також із аналізу динаміки значень ПФ (рис. 4.2) у групі **Tunnel_□**. Так, через 1 тиждень після моделювання травми й імплантації тунельованого матриксу ПФ паретичної кінцівки у групі **Tunnel_□** складав (1.4 ± 0.8) бала за шкалою ВВВ, істотно ($p < 0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*) збільшувався протягом наступних 2-х тижнів до значення (5.3 ± 1.4) бала за шкалою ВВВ (рис. 4.2). Наступне достовірне збільшення спостерігали протягом 7-го тижня (до (6.7 ± 1.7) бала за шкалою ВВВ, істотну різницю виявлено при порівнянні зі значенням 3-го і 6-го тижнів; $p < 0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*). Максимум ПФ у групі виявляли через 7 тиж після травми ((6.7 ± 1.7) бала ВВВ; рис. 4.2) [211], а з урахуванням результатів тварини, біоматеріал котрої використано для імуногістохімічного дослідження через 3 міс спостереження, значення ПФ через 8 тиж і через 3 міс після травми склало (7.3 ± 1.7) бала за шкалою ВВВ і виявилось максимальним серед груп з моделлю висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку (групи **Tr_□**, **Tunnel_□** і **HG_■**; рис. 4.2). У подальшому, до кінця 5-го місяця значущих змін ПФ у групі не спостерігали ($p > 0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*). Кінцеве значення ПФ (через 5 міс після травми) у групі склало (6.4 ± 1.8) бала за шкалою ВВВ [211] (рис. 4.2).

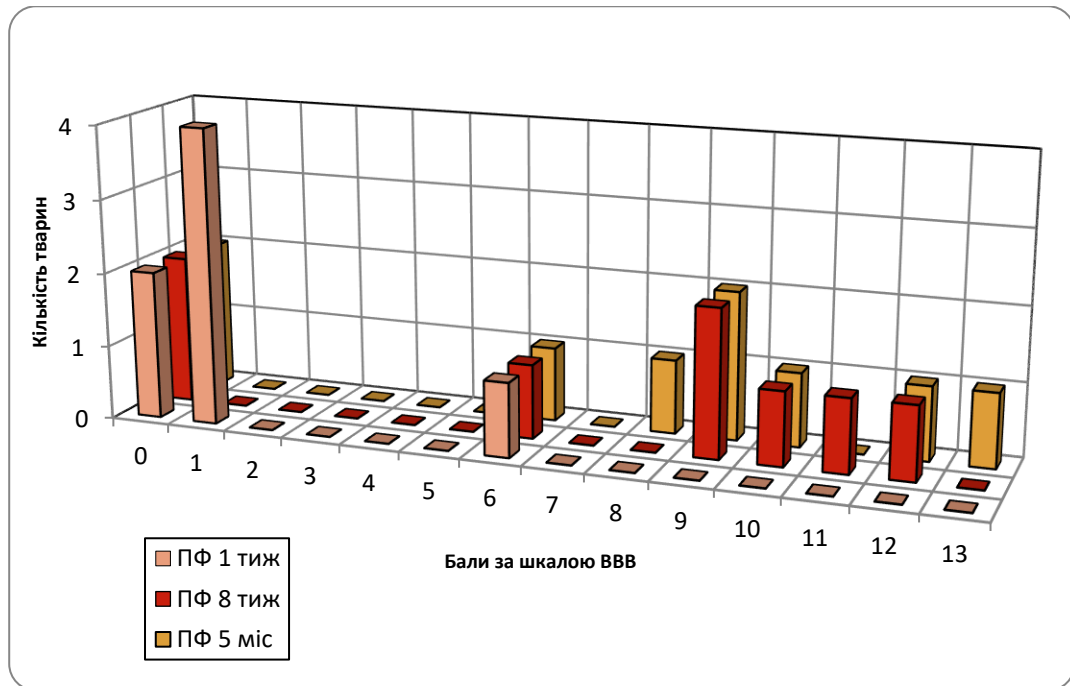


Рисунок 4.1 — Розподіл значень ПФ у групі **Tunnel** на ключових термінах спостереження (без врахування показників тварини, котру вивели з експерименту наприкінці 3-го місяця для імуногістохімічного дослідження). У випадку нецілого значення ПФ тварину зараховували до обох суміжних цілих значень

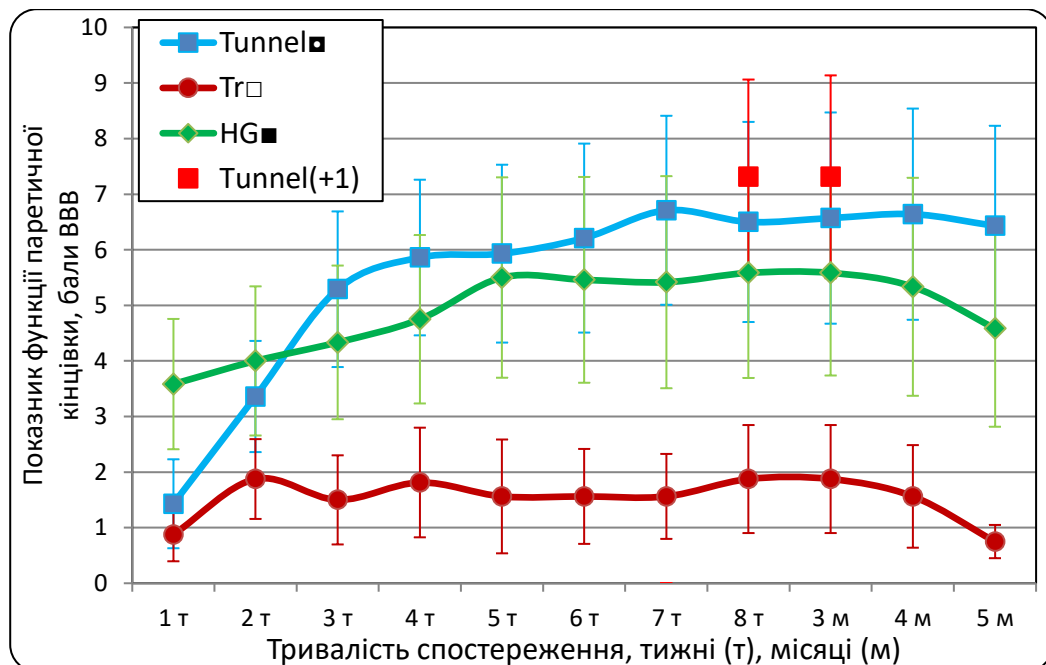


Рисунок 4.2 — Динаміка значень ПФ у групах **Tunnel**, **Tr** і **HG** з урахуванням показників тварини, котру вивели з експерименту наприкінці 3-го місяця для імуногістохімічного дослідження (**Tunnel(+1)**). Дані наведено згідно зі стандартизованою часовою шкалою. Пояснення у тексті

Для порівняння, у групі **Tr_□** через 1 тиждень після моделювання травми ПФ задньої іпсилатеральної кінцівки складав (0.9 ± 0.5) бала за шкалою BBB [181, 202, 204, 206–208], у групі **HG_■** — (3.6 ± 1.2) бала [202, 204, 205, 208] (рис. 4.2), не відрізняючись істотно між собою і від показника групи **Tunnel_■** ($p > 0.05$, *Mann-Whitney U Test*). Фактичний максимум значень ПФ у групі **Tr_□** реєстрували через 2 тиж, а у групі **HG_■** — через 8 тиж і через 3 міс спостереження [181, 202, 204, 208] (рис. 4.2). У обох групах протягом 4-го і 5-го місяця спостерігали регрес ПФ (рис. 4.2): у групі **Tr_□** — до (0.8 ± 0.3) бала за шкалою BBB, у групі **HG_■** — до (4.5 ± 1.8) бала [181, 202, 204, 208]. Причому, у групі **Tr_□** істотну різницю фіксували лише при порівнянні значень ПФ через 2 тиж і через 5 міс ($p = 0.035$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*), а у групі **HG_■** — взагалі не виявляли ($p > 0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*) [181, 202, 204, 208]. Достовірну різницю ($p < 0.05$, *Mann-Whitney U Test*) значень ПФ груп **Tunnel_■** і **Tr_□** виявили через 4, 5 і 7 тиж спостереження [211] або через 4, 5, 7, 8 тиж і через 3 міс з урахуванням результатів тварини групи **Tunnel_■**, виведеної для імуногістохімічного дослідження наприкінці 3-го місяця. Причому, максимальну фактичну різницю значень ПФ у обох групах (~ 5.4 бала BBB) спостерігали через 7 тиж і через 5 міс, а з урахуванням додаткової тварини групи **Tunnel_■** — ще і через 8 тиж і через 3 міс після травми (рис. 4.2). Істотну різницю значень ПФ груп **HG_■** і **Tr_□** було виявлено лише через 5 тиж після травми ($p = 0.038$, *Mann-Whitney U Test*) [202, 204, 208], а для значень груп **Tunnel_■** і **HG_■** вона впродовж усього експерименту була відсутня ($p > 0.05$, *Mann-Whitney U Test*), не зважаючи на врахування результатів тварини, біологічний матеріал котрої вилучали для імуногістохімічного дослідження наприкінці 3-го місяця спостереження.

Характерне для групи **Tunnel_■** неухильне збільшення функції паретичної кінцівки впродовж експерименту доводиться також величиною коефіцієнту рангової кореляції ($r = 0.85$; $p < 0.05$, *Spearman Rank Order Correlations*) між усередненими значеннями ПФ і тривалістю спостереження. Натомість, як уже відмічалось (п. 3.3.1), середні значення ПФ у групах **Tr_□** і **HG_■** не виявляли жодної істотної кореляції з показником тривалості спостереження (*коефіцієнт рангової*

кореляції складав, відповідно, $r=0.02$ і $r=0.57$; $p>0.05$, Spearman Rank Order Correlations) [181, 202, 204, 208].

Максимальні значення абсолютного тижневого приросту ПФ ($V_{\text{ПФ}}$) у групі **Tunnel** виявляли для першого ((1.4 ± 0.8) бала/тиж), другого і третього ((1.9 ± 0.6) бала/тиж) тижня спостереження (рис. 4.3). Протягом 4–7-го тижня значення $V_{\text{ПФ}}$ коливалися навколо позначки у 0.5 бала/тиж, у подальшому — біля нуля (рис. 4.3). Для порівняння, у групі **Tr** максимальні значення $V_{\text{ПФ}}$ виявляли протягом перших двох тижнів спостереження [181] (рис. 4.3), а істотну різницю зі значенням групи **Tunnel** — лише на 3-му тижні (перевага на користь групи **Tunnel**: (1.9 ± 0.6) бала/тиж проти (-0.4 ± 0.6) бала/тиж; $p=0.017$, Mann-Whitney U Test). Максимальне значення $V_{\text{ПФ}}$ у групі **HG** виявляли на першому тижні ((3.6 ± 1.2) бала/тиж; рис. 4.3), однак, воно відрізнялося від значень групи **Tr** і групи **Tunnel** недостовірно ($p>0.05$, Mann-Whitney U Test). Натомість на 5-му тижні виявлено істотну перевагу $V_{\text{ПФ}}$ групи **HG** над значенням $V_{\text{ПФ}}$ групи **Tr** ($p=0.012$, Mann-Whitney U Test), а на 7-му тижні значення $V_{\text{ПФ}}$ групи **HG** істотно поступалося значенню $V_{\text{ПФ}}$ групи **Tunnel** ((0.5 ± 0.2) бала/тиж проти (-0.04 ± 0.1) бала/тиж; $p=0.037$, Mann-Whitney U Test; рис. 4.3).

Зменшення $V_{\text{ПФ}}$ у групі **Tunnel** протягом експерименту набувало статистичної значущості починаючи з 5-го тижня експерименту: значення показника на 5-му і 8-му тижнях, а також на 3–5-му місяцях істотно поступались значенням протягом перших трьох тижнів ($p<0.05$, Wilcoxon Matched Pairs Test), а значення $V_{\text{ПФ}}$ впродовж 3–5-го місяця виявлялись меншими ще й стосовно значення 7-го тижня ($p<0.05$, Wilcoxon Matched Pairs Test). У той же час, у групі **Tr** зменшення $V_{\text{ПФ}}$ протягом експерименту набувало статистичної значущості лише при порівнянні значень 5-го тижня і двох останніх місяців зі значенням першого тижня спостереження ($p<0.05$, Wilcoxon Matched Pairs Test) [181], а у групі **HG** зменшення $V_{\text{ПФ}}$ набувало значущості починаючи уже з другого тижня: значення $V_{\text{ПФ}}$ виявилося істотно меншим на усіх наступних термінах спостереження ($p<0.05$, Wilcoxon Matched Pairs Test).

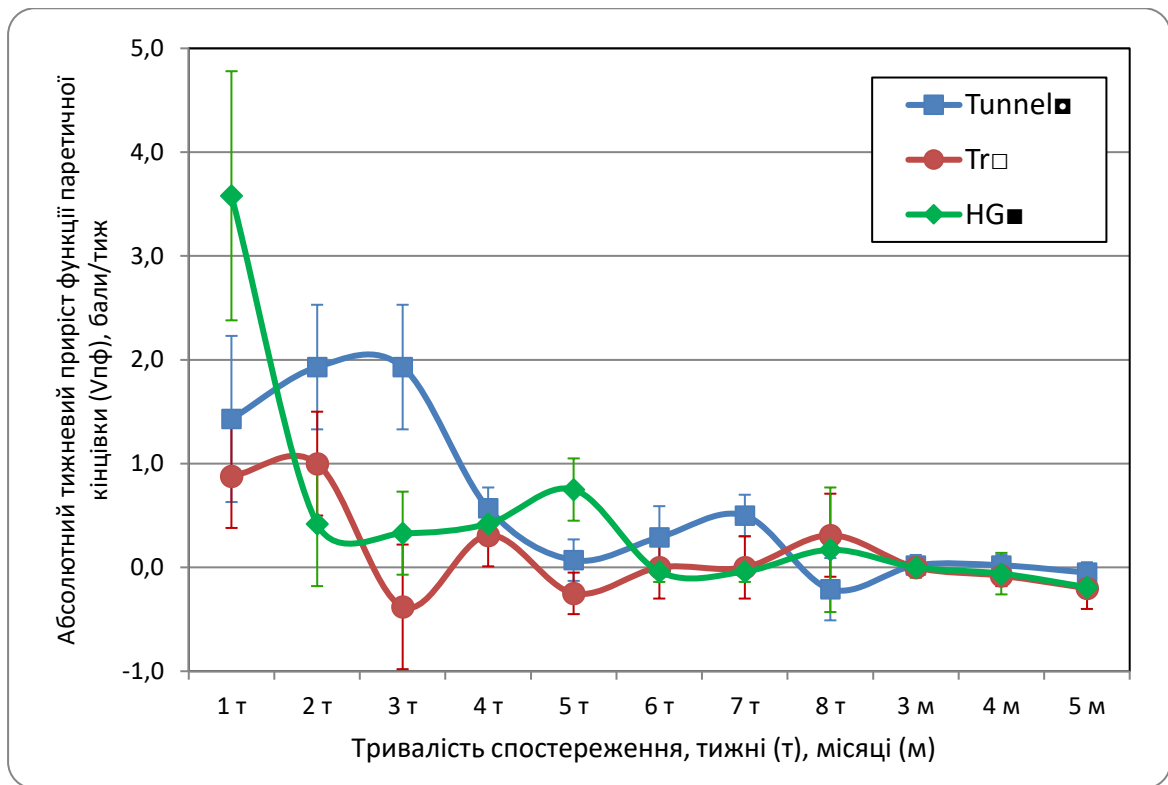


Рисунок 4.3 — Динаміка значень $V_{\text{ПФ}}$ у групах **Tunnel**, **Tr** і **HG** (без урахування тварини, котру вивели з експерименту наприкінці 3-го місяця для імуногістохімічного дослідження). Дані наведено згідно зі стандартизованою часовою шкалою. Пояснення у тексті

Загалом, середні значення $V_{\text{ПФ}}$ протягом усього експерименту у групі **Tunnel** склали (0.6 ± 0.2) бала/тиж, а протягом перших 8-ми тижнів — (0.8 ± 0.2) бала/тиж. Причому, середні значення $V_{\text{ПФ}}$ у групі **Tr** протягом перших 8-ми тижнів склали (0.2 ± 0.1) бала/тиж [181], достовірно поступаючись показнику групи **Tunnel** ($p=0.044$, *Mann-Whitney U Test*), а середні значення $V_{\text{ПФ}}$ протягом усього експерименту виявилось близьким до нуля ((0.1 ± 0.1) бала/тиж), не відрізняючись істотно від аналогічного показника, розрахованого для групи **Tunnel** ($p>0.05$, *Mann-Whitney U Test*). Натомість, у групі **HG** середні значення $V_{\text{ПФ}}$ протягом перших 8-ми тижнів склали (0.7 ± 0.2) бала/тиж, а протягом усього експерименту — (0.5 ± 0.2) бала/тиж, істотно не відрізняючись у обох випадках від аналогічного показника, розрахованого для групи **Tr** і для групи **Tunnel** ($p>0.05$, *Mann-Whitney U Test*).

Оцінюючи отримані результати, слід нагадати, що імплантація РНРМА-гідрогелю у ділянку висічення фрагменту речовини спинного мозку обумовлює позитивний ефект у дуже ранньому періоді травми, ймовірно, обмежуючи кровотечу і у зв'язку із цим — вторинну альтерацію спинного мозку й демієлінізацію нервових волокон (*n. 3.5.2*). У подальшому ж, не зважаючи на створення умов для вrostання аксонів у ділянку імплантації, а також всупереч гіпотетичному збереженню деяких елементів травмованого спинного мозку від вторинної альтерації, РНРМА-гідрогель не змінює динаміку ПФ у порівнянні з групою **Tr_□** (*n. 3.5.2*). Натомість, імплантація тунельованого матриксу на основі поліетиленгліколю, найімовірніше, не впливає на перебіг найгострішого періоду травми, що доводиться схожістю значень ПФ у групах **Tr_□** і **Tunnel_■** на ранніх термінах спостереження, однак чинить істотний вплив на подальші процеси, суттєво збільшуючи значення ПФ впродовж перших двох місяців експерименту, а на останніх двох місяцях нівелюючи регрес ПФ. Це означає, що, не дивлячись на втрату певної частини функційно значимих елементів спинного мозку у зв'язку з розгортанням вторинної альтерації, тунельований матрикс потенціює і, мабуть, створює умови для істотно інших, результативних відновних реакцій раннього і проміжного періоду TrСМ — від ремієлінізації до проростання нервових волокон через зону травми і реінервації популяцій мотонейронів паретичної кінцівки. Ці реакції у кінцевому висліді вповні компенсують наслідки втрати ряду елементів спинного мозку у найгострішому періоді травми, — тих елементів, котрі, як уже припускалось, зберігаються завдяки негайній імплантації у ділянку висічення фрагменту РНРМА-гідрогелю (*група HG_■*). Підтвердження цих припущень стосовно механізмів позитивного ефекту тунельованого матриксу на основі поліетиленглікою було отримано завдяки прецизійному імуногістохімічному дослідженню (*n. 4.3*).

4.2. Динаміка спастичності паретичної кінцівки на тлі негайної імплантації тунельованого матриксу у зону висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку

У групі **Tunnel** через 1 тиждень після моделювання травми й імплантації матриксу ПС паретичної кінцівки виявився найбільшим серед трьох груп (**Tr**, **HG**, **Tunnel**) і складав (1.1 ± 0.1) бала за шкалою Ashworth (рис. 4.4). На цьому терміні спостереження значення ПС у групі **Tr** складало (0.7 ± 0.1) бала за шкалою Ashworth (рис. 4.4) [181, 202, 204, 208], достовірно поступаючись значенню групи **Tunnel** ($p < 0.05$, *Mann-Whitney U Test*). Протягом усіх 5-ти місяців значущих змін ПС у групі **Tunnel** не виявляли ($p > 0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*), хоча відмічали фактичне збільшення показника до (1.6 ± 0.6) бала за шкалою Ashworth станом на кінець 3-го тижня і навіть до рівня (1.8 ± 0.6) бала станом на кінець 5-го місяця спостереження (рис. 4.4). Натомість, у групі **Tr** уже протягом 2-го тижня спостерігали істотне ($p = 0.012$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*), драматичне збільшення ПС до рівня (2.3 ± 0.3) бала за шкалою Ashworth (рис. 4.4) [181, 202, 204, 208]. Подальша динаміка спастичності паретичної кінцівки у групі **Tr** характеризувалася неухильним збільшенням ПС, істотним станом на 7-й тиждень (відносно значення на 2-му тижні, $p = 0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*), станом на 3-й місяць (відносно значення на 3-му тижні), станом на 4-й місяць (відносно значення на 5-му тижні) і станом на 5-й місяць (відносно значення на 5-му тижні; у всіх зазначених випадках — $p < 0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*) [181, 202, 204, 208]. Фінальне ж значення ПС у групі **Tr** склало (3.6 ± 0.3) бала за шкалою Ashworth (рис. 4.4) [181, 202, 204, 208], причому значущу перевагу ПС групи **Tr** над показником групи **Tunnel** ($p < 0.05$, *Mann-Whitney U Test*) фіксували через 1, 7 і 8 тиж, а також через 3 і 5 міс після моделювання травми, незалежно від врахування результатів тварини групи **Tunnel**, виведеної з експерименту наприкінці 3-го місяця для імуногістохімічного дослідження.

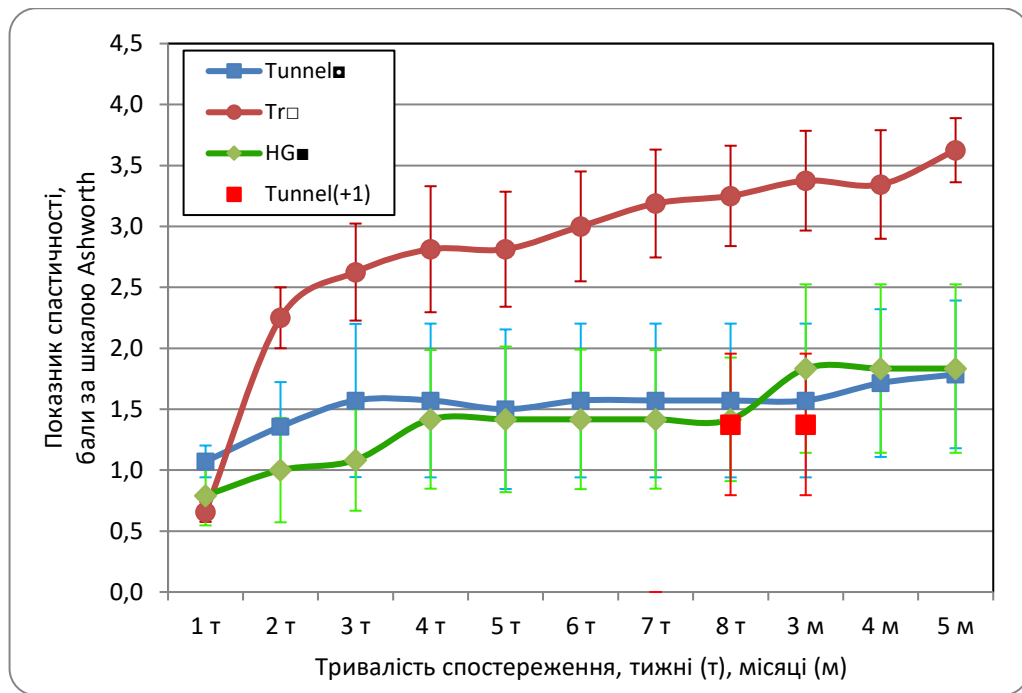


Рисунок 4.4 — Динаміка значень ПС у групах **Tunnel**, **Tr** і **HG** з урахуванням показників тварини, котру вивели з експерименту наприкінці 3-го місяця для імуногістохімічного дослідження (**Tunnel(+1)**). Дані наведено згідно зі стандартизованою часовою шкалою. Пояснення у тексті

Значення і динаміка ПС у групі **HG** значною мірою нагадувала описану щойно для групи **Tunnel** (рис. 4.4). Так, через 1 тиждень після моделювання травми ПС у групі склав (0.8 ± 0.3) бала за шкалою Ashworth (рис. 4.4) [202, 204, 208], відрізняючись від показників груп **Tunnel** і **Tr** недостовірно ($p > 0.05$, *Mann-Whitney U Test*). Як і у групі **Tunnel**, протягом усього періоду спостереження значущих змін ПС у групі **HG** не виявляли ($p > 0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*), причому основний сегмент фактичного приросту ПС спостерігали протягом 2-го і 4-го тижня (рис. 4.4), а впродовж 5–8-го тижня показник залишався незмінним (~ 1.4 бала за шкалою Ashworth; рис. 4.4) [202, 204, 208]. Знову ж таки, нагадуючи динаміку ПС у групі **Tunnel**, наступний фактичний приріст ПС у групі **HG** припадав на період 3–5-го місяця експерименту (рис. 4.4) [202, 204, 208]. Фінальне значення ПС у групі **HG** склало (1.8 ± 0.7) бала за шкалою Ashworth [202, 204, 208] і виявилось практично

ідентичним фінальному значенню ПС у групі **Tunnel** (рис. 4.4). Достовірну різницю між значеннями ПС цих двох груп не виявили на жодному з термінів спостереження, незважаючи на врахування результатів тварини групи **Tunnel**, біоматеріал котрої через 3 міс спостереження використали для імуногістохімічного дослідження ($p > 0.05$, *Mann-Whitney U Test*). У той же час, на відміну від групи **Tunnel**, при порівнянні значень ПС групи **HG** зі значеннями ПС групи **Tr** істотну різницю виявляли лише протягом перших 2-х місяців спостереження (через 2, 3, 6, 7 і 8 тиж після моделювання травми; $p < 0.05$, *Mann-Whitney U Test*).

Відсутність істотних змін ПС у групі **Tunnel** впродовж експерименту ($p > 0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*) доведено також відсутністю суттєвої кореляції середнього значення ПС і тривалості спостереження ($r = 0.60$; $p > 0.05$, *Spearman Rank Order Correlations*). Натомість для групи **Tr** і **HG** отримано протилежний результат (відповідно, $r = 0.99$ і $r = 0.94$; $p < 0.05$, *Spearman Rank Order Correlations*) [181, 202, 204, 208].

Максимальне значення абсолютного тижневого приросту ПС ($V_{\text{ПС}}$) у групі **Tunnel** виявляли на першому тижні ((1.1 ± 0.1) бала/тиж), протягом наступних двох тижнів показник утримувалася на рівні (0.3 ± 0.3) бала/тиж і (0.2 ± 0.3) бала/тиж, а починаючи з 4-го тижня перебував поблизу нуля (рис. 4.5). Зменшення $V_{\text{ПС}}$ протягом експерименту у групі набувало статистичної достовірності починаючи з 2-го тижня: значення $V_{\text{ПС}}$ на першому тижні виявилось істотно більшим, ніж на решті термінів спостереження ($p < 0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*). Схожим чином, найбільші значення $V_{\text{ПС}}$ у групі **Tr** спостерігали протягом перших двох тижнів експерименту, причому достовірний максимум припадав на 2-й тиждень ((1.6 ± 0.2) бала/тиж; рис. 4.5), значущо відрізняючись від значень першого й усіх інших термінів спостереження ($p < 0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*) [181]. Достовірно менші, ніж на першому тижні, значення $V_{\text{ПС}}$ у групі **Tr** спостерігали починаючи з 5-го тижня експерименту і до його завершення ($p < 0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*) [181]. На перших двох термінах спостереження значення $V_{\text{ПС}}$ у групі **Tr** виявилися істотно відмінними від значень групи

Tunnel_o: на першому тижні меншими ($p=0.026$, *Mann-Whitney U Test*), на другому — більшими ($p=0.003$, *Mann-Whitney U Test*). Починаючи з 4-го тижня значення $V_{\text{ПС}}$ у групі **Tr_o** коливалися навколо нуля [181], і все ж, на 7-му тижні виявляли істотну перевагу $V_{\text{ПС}}$ над показником групи **Tunnel_o** ($p=0.044$, *Mann-Whitney U Test*). Нарешті, для порівняння також нагадаємо, що у групі впродовж експерименту **HG_o** реєстрували 2 максимуми значень $V_{\text{ПС}}$ — на першому ((0.8 ± 0.2) бала/тиж) і на четвертому тижні ((0.3 ± 0.2) бала/тиж; рис. 4.5), причому, статистично достовірну різницю зі значенням першого тижня виявляли для значень 4-го, 6-го і 7-го тижня, а також впродовж 3–5-го місяця експерименту ($p < 0.05$, *Wilcoxon Matched Pairs Test*). Істотну перевагу значень $V_{\text{ПС}}$ групи **HG_o** над показником групи **Tunnel_o** не виявлено на жодному з термінів спостереження, тоді як значущу перевагу $V_{\text{ПС}}$ групи **Tr_o** над показником групи **HG_o** зафіксовано на 2-му тижні ($p=0.007$, *Mann-Whitney U Test*).

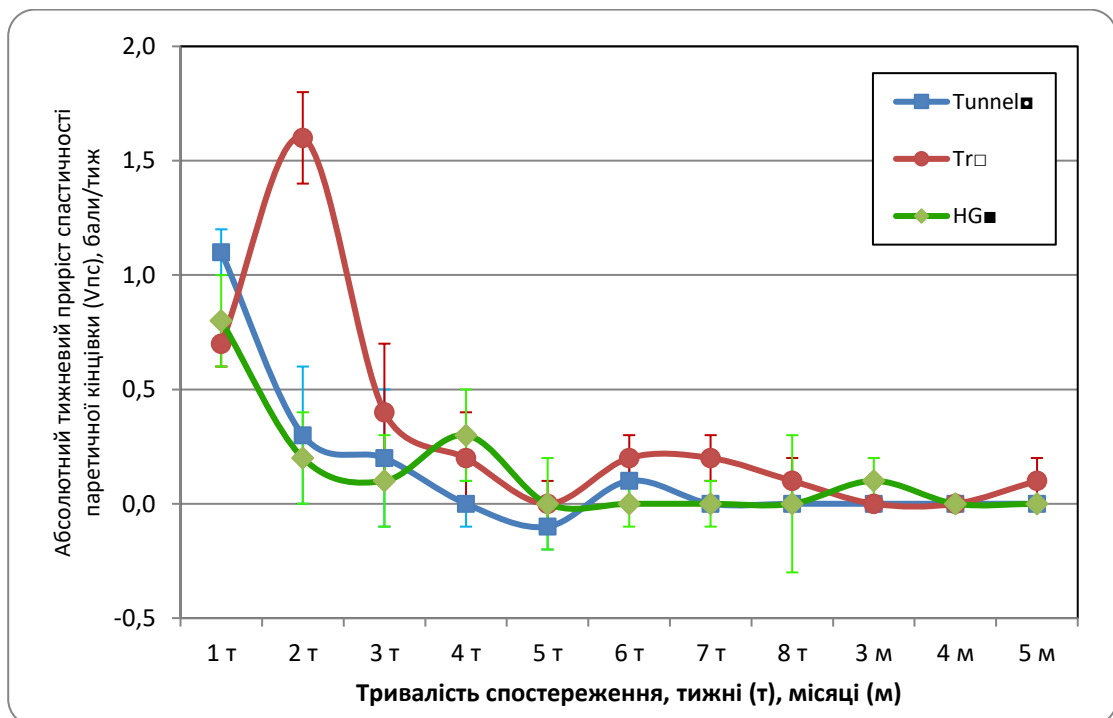


Рисунок 4.5 — Динаміка значень $V_{\text{ПС}}$ у групах **Tunnel_o**, **Tr_o** і **HG_o** (без урахування тварини, котру вивели з експерименту наприкінці 3-го місяця для імуногістохімічного дослідження). Дані наведено згідно зі стандартизованою часовою шкалою. Пояснення у тексті

Середнє значення $V_{\text{ПС}}$ протягом усього експерименту у групі **Tunnel** складало (0.1 ± 0.1) бала/тиж, а протягом перших 8-ми тижнів — (0.2 ± 0.1) бала/тиж. Натомість, у групі **Tr** значення обох показників виявилися, відповідно, (0.3 ± 0.0) бала/тиж і (0.4 ± 0.1) бала/тиж [181], істотно переважаючи аналогічні показники, розраховані для групи **Tunnel** ($p < 0.05$, *Mann-Whitney U Test*). У групі **HG**, як і у групі **Tunnel**, значення обох показників складало, відповідно, (0.1 ± 0.1) бала/тиж і (0.2 ± 0.1) бала/тиж, достовірно відрізняючись від аналогічних показників, розрахованих для групи **Tr** ($p < 0.05$, *Mann-Whitney U Test*). Істотних відмінностей значень обох показників груп **Tunnel** і **HG** виявлено не було ($p > 0.05$, *Mann-Whitney U Test*).

При аналізі середніх значень ПФ і ПС впродовж експерименту (рис. 4.6) кореляцію між цими величинами у групі **Tunnel**, як і у групах **Tr** й **HG**, виявлено не було: коефіцієнт рангової кореляції між середніми значеннями ПФ і ПС для групи **Tunnel** склав $r = 0.28$, для групи **Tr** — $r = 0.07$, для групи **HG** — $r = 0.58$ (у всіх випадках — $p > 0.05$, *Spearman Rank Order Correlations*) [181, 202, 204, 208].

При аналізі середніх значень $V_{\text{ПФ}}$ і $V_{\text{ПС}}$ впродовж експерименту істотну додатну кореляцію між цими величинами віднайдено для групи **HG** ($r = 0.66$; $p < 0.05$, *Spearman Rank Order Correlations*).

Натомість при аналізі пар індивідуальних значень ПФ і ПС на кожному з термінів спостереження у групі **Tunnel**, як і у групах **Tr** й **HG**, відмічали здебільшого міцну негативну кореляцію. Так, у групі **Tunnel**, незважаючи на результати тварини, вилученої через 3 міс спостереження для імуногістохімічного дослідження, на усіх термінах спостереження, за виключенням першого, коефіцієнт рангової кореляції був меншим або дорівнював -0.82 ($r \leq -0.82$; $p < 0.05$, *Spearman Rank Order Correlations*). У групі **Tr** достовірну від'ємну кореляцію між індивідуальними значеннями ПФ і ПС виявляли через 5 ($r = -0.78$), 7 ($r = -0.81$) і 8 тиж ($r = -0.81$), а також через 3 ($r = -0.92$) і 4 міс ($r = -0.88$) після моделювання травми (для всіх перерахованих випадків — $p < 0.05$, *Spearman Rank Order Correlations*) [181, 202, 204, 208]. У групі **HG** значущу від'ємну кореляцію

між індивідуальними значеннями ПФ і ПС не виявлено лише через 1 і 5 тиж після моделювання травми [202, 204, 208].

Натомість кореляція між індивідуальними значеннями $V_{\text{ПФ}}$ і $V_{\text{ПС}}$ на кожному з термінів спостереження у всіх трьох групах (**Tunnel**, **Tr** й **HG**) була здебільшого незначущою ($p > 0.05$, *Spearman Rank Order Correlations*): достовірна від'ємна кореляція виявлена між індивідуальними через 2 і 3 тиж значеннями і між середніми за період 8-ми тиж і 5 міс значеннями $V_{\text{ПФ}}$ і $V_{\text{ПС}}$ у групі **Tunnel**, а також лише для середніх за період 8-ми тиж і 5 міс значень $V_{\text{ПФ}}$ і $V_{\text{ПС}}$ у групі **Tr** і у групі **HG**.

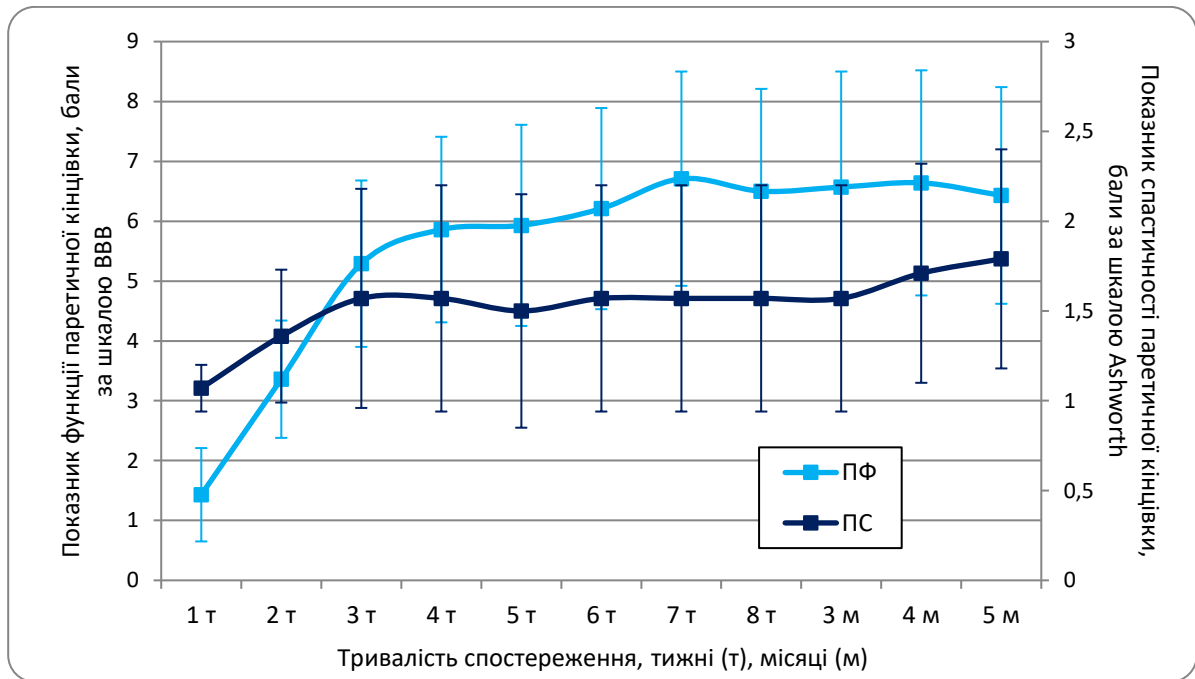


Рисунок 4.6 — Порівняльна динаміка усереднених значень ПФ і ПС у групі **Tunnel** впродовж загального періоду спостереження, згідно зі стандартизованою часовою шкалою

З огляду на отримані результати моніторингу спастичності паретичної кінцівки у групах **Tunnel**, **Tr** й **HG**, варто зазначити, що значуща перевага

величини ПС паретичної кінцівки у групі **Tunnel_□** у порівнянні з групою **Tr_□** через 1 тиждень після моделювання травми може бути наслідком механічного впливу ригідного матриксу на нейронні мережі спинного мозку. Таке припущення підтверджується, окрім іншого, відсутністю достовірної переваги ПС над показником групи **Tr_□** на аналогічному терміні після негайної імплантації у зону травми м'якого матриксу — РНРМА-гідрогелю (група **HG_■**). Можливі механоцептивні механізми такого ефекту розглянуто у п. 4.4.2.

4.3. Імуногістохімічні кореляти позитивного впливу тунельованого матриксу на відновлення травмованого спинного мозку

На поздовжніх зрізах спинного мозку тварини групи **Tunnel_□**³⁶ через 3 міс після імплантації тунельований матрикс (рис. 2.2, 4.7, п. 2.1.2) добре інтегрований з тканинним оточенням (рис. 4.8). Раціонально припускати, що смужка мозкової речовини, котра облямовує матрикс зовні, виникла після імплантації, а не є наслідком неповного руйнування бічних ділянок спинного мозку у епіцентрі травми. Варто також зазначити, що з моменту імплантації тварини істотно власні біометричні показники, приміром, маса тіла за цей період часу зростала з ~50 г до ~250 г. Можливо, зміни розміру спинного мозку менш драматичні, однак їхнє існування, на наш погляд, безсумнівне й не потребує ретельного порівняльно-анатомічного підтвердження. Причому, постнатальне збільшення розмірів мозку у ссавців неможливе поза істотним ростовим і тому регенераційним потенціалом нервової системи у молодому віці, у всякому випадку, обернена залежність регенераційного потенціалу центральних відділів нервової системи від віку — добре відомий факт [52, 53]. Так чи інакше, на нашу думку, "зануреність" матриксу у речовину спинного мозку може свідчити про інтенсивний ріст мозкової речовини по його зовнішній поверхні [212].

³⁶ ПФ тварини на момент забиття складав ~13 балів за шкалою BBB, ПС — 0 балів за шкалою Ashworth.

Іншим, комплементарним цій особливості, фактом є низька фіброгенна активність довкола матриксу: ми не спостерігали формування значимого об'єму гліофіброзної тканини, чи інкапсулювання матриксу [212]. Це свідчить про його задовільну сумісність — біологічну загалом й тканинну зокрема.

Оглядові поздовжні морфограми (*рис. 4.9*) свідчать про деформацію матриксу у речовині мозку: діаметр його торцевих частин, скоріш за все, істотно поступається діаметру серединного у рострокаудальному вимірі поперечного перерізу. Водночас, на момент дослідження (*через 3 і 5 міс після імплантації*) матрикс володіє твердістю і крихкістю, що є істотною перешкодою у виготовленні якісних цільних гістологічних зрізів зафіксованих препаратів. Ймовірно, постімплантаційні зміни геометрії матрикса на тлі високої крихкості свідчать про його складні, неоднозначні, обумовлені фізико-хімічною природою, механічні властивості.

Під час імуногістохімічного дослідження було зафіксовано істотну аутофлюорисцентну активність речовини матриксу при опроміненні електромагнітними хвилями ультрафіолетового діапазону. Уцілому, ця особливість утруднює ідентифікацію β -тубулін- і GFAP-позитивних структур у межах матриксу, а також візуалізацію ядер клітин за допомогою маркеру Nucleostain (*рис. 4.10*).

З обох торців тунельованого імплантату, між поздовжньою впорядкованою волокнистою речовиною спинного мозку і витонченою впорядкованою зоною входу у матрикс візуалізується турбулентна перехідна ділянка з вмістом просторово невпорядкованого волокнистого компоненту (*рис. 4.10*). Перед входом у матрикс волокниста речовина перехідної зони збирається у пучки, кожен з яких заходить у певний канал матриксу і наскрізно пронизує його вздовж (*рис. 4.9*) [212]. Тим не менше, не всі канали матриксу виявилися заповненими мозковою речовиною (*рис. 4.9*) [212], котра *ad oculus* під час препарування має білуватий колір. Загалом, ця приторцева ділянка спинного мозку на поздовжніх зрізах нагадує електротехнічний шлейф матриці для з'єднання компонентів того чи іншого засобу обробки інформації.

Вивчення прицільних оптично фільтрованих і оброблених цифровими засобами зображень (рис. 4.11–4.13), особливо з візуалізацією експресії β -тубуліну (рис. 4.12, 4.13), дозволяє стверджувати, що довгі лінійні волокнисті структури на вході у тунелі матриксу і у самих тунелях — є аксонами, оточеними MBP- і GFAP-позитивним клітинним апаратом (позитивним стосовно ядерного маркера Hoechst) [212]. Багатокомпонентні циліндричні структури у порожнинах тунелів практично завжди містять судини, заповнені еритроцитами (рис. 4.13, 4.14), котрі, як відомо, експресують хоча б одну з ізоформ β -тубуліну [213, 214].

Реконструкція імуногістохімічних зображень виявляє можливість проростання β -тубулін-позитивних волокон через усю довжину тунелів (рис. 4.12) [212]. Цифрова реконструкція поперечних зрізів і тривимірних зображень із серійних поздовжніх зображень (рис. 4.14) свідчить, що біогенний вміст не займає увесь об'єм кожного непорожнього тунеля, однак, має площу поперечного перерізу меншу, ніж просвіт тунеля (рис. 4.14). Крім того, як уже зазначалося, не усі тунелі стають ділянкою росту описаних структур [212].

Зважаючи на значуще збільшення ПФ у групі **Tunnel_o** протягом, щонайменше, 2-го і 3-го тижня, а також протягом 7-го тижня спостереження на тлі відсутності будь-якого істотного збільшення ПФ у групах **Tr_o** і **HG_o**, можна припускати, що тривале [174] проростання нервових волокон через зону травми по зовнішній поверхні матриксу і у товщі тунелів є основним фактором відновлення рухової функції паретичної кінцівки після висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку й негайної імплантації тунельованого матриксу [212].

У цьому сенсі слід зазначити, що інші отримані нами патоморфологічні дані не дозволяють розглядати проростання нервових волокон у тунелі імплантованого матриксу єдиною, достатньою умовою істотного відновлення рухової функції паретичної кінцівки. Приміром, у тварини №3 групи **Tunnel_o** з високим значенням ПФ через 5 міс після травми (12.5 бала за шкалою BBB) відмічали істотне відхилення осі матриксу від основної осі спинного мозку (майже поперечне розташування). У тварини №1 зі значенням ПФ через 5 міс

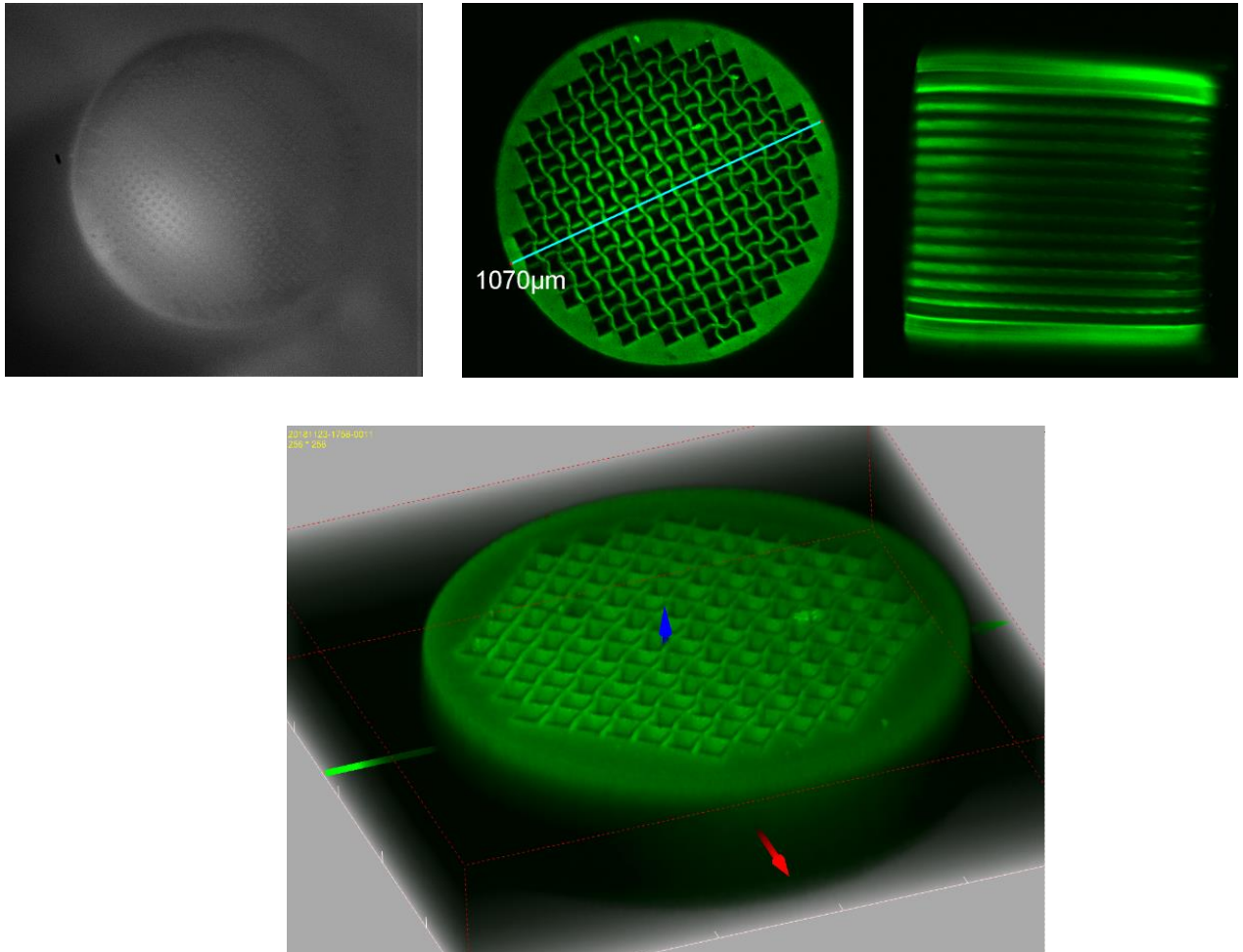


Рисунок 4.7 — Загальний вигляд тунельованого імплантату на основі поліетиленгліколю, використаного у роботі. Результат аутофлюорисцентної картини, отриманої за допомогою конфокального мікроскопа при опроміненні імпланту хвилями певної довжини (*верхній ряд, зелений колір*), тримірна реконструкція зображення (*нижнє зображення*). Розміри імплантата зазначено на рисунку і у тексті (п. 2.1.3)

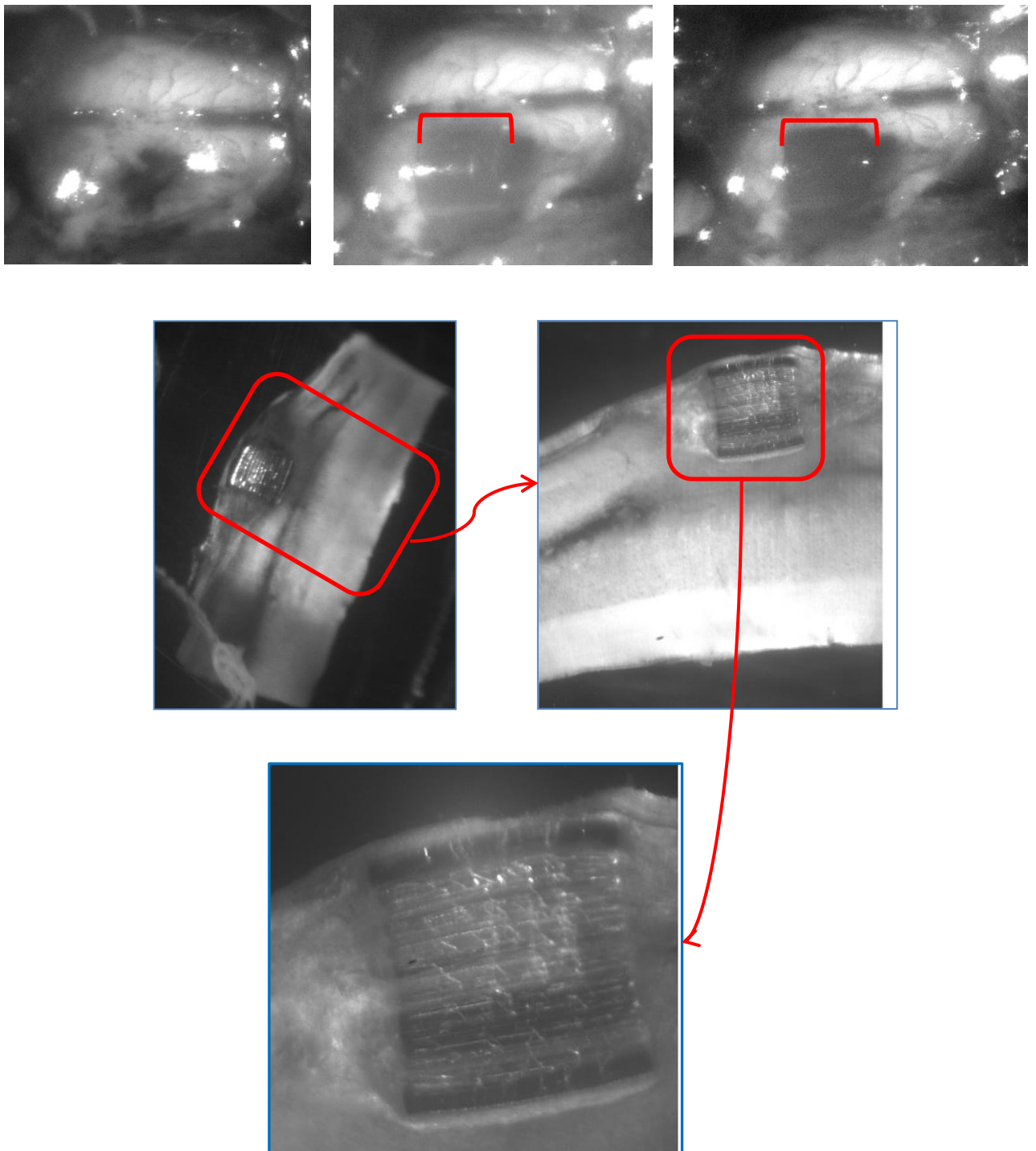


Рисунок 4.8 — Інтраопераційні мікрофото етапів імплантації тунельованого матриксу (*верхній ряд*) і вигляд зрізу фіксованого спинного мозку через 3 міс після імплантації (*середній і нижній ряд; серія зображень без співмасштабування*). Розміри імплантата зазначено у п. 2.1.3

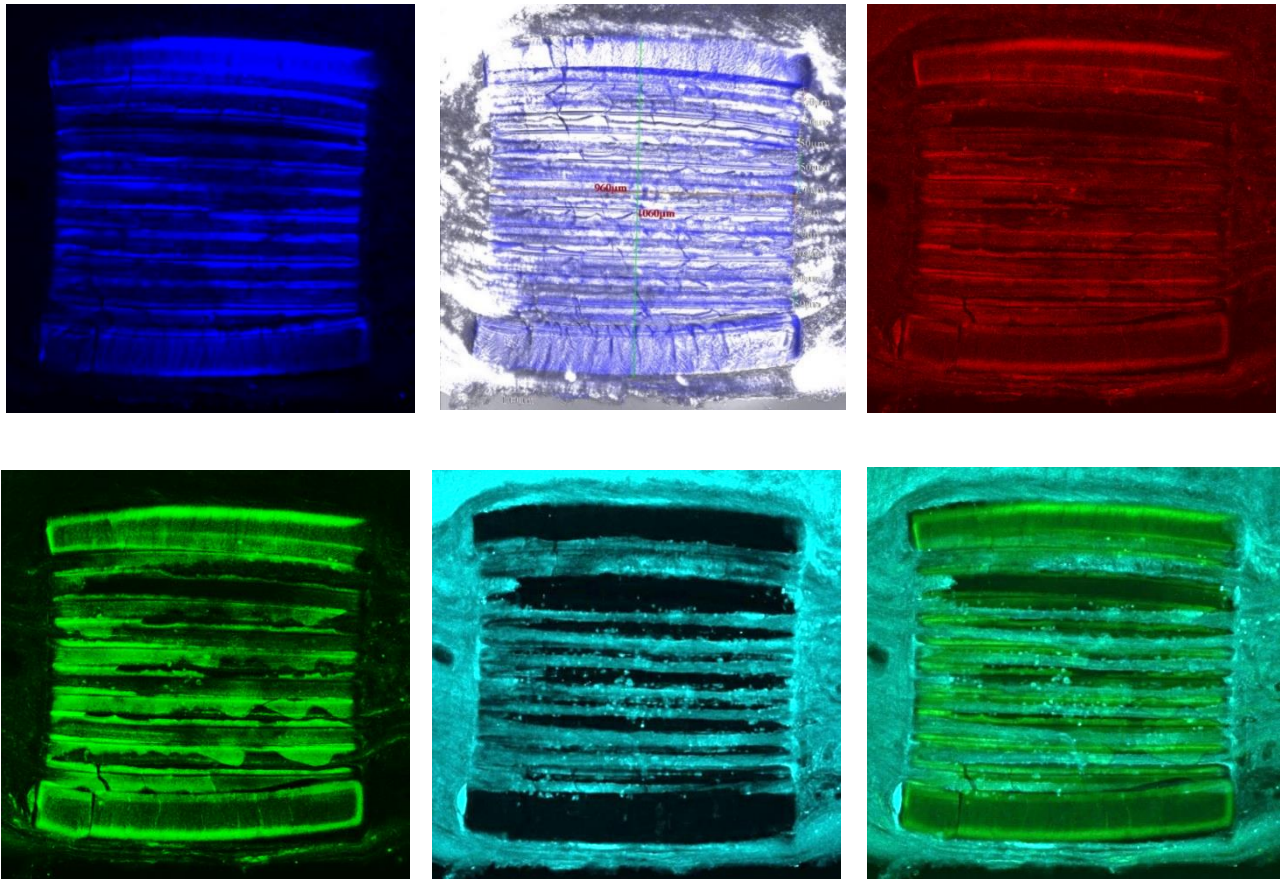


Рисунок 4.9 — Флюорисцентна картина зрізів, опромінених ультрафіолетом задля візуалізації ядерного маркера Hoechst (*синій колір, поряд праворуч — співнакладання з оптичною картиною у проникному світлі*), а також опромінених електромагнітними хвилями спеціальної частоти після обробки антитілами проти β -тубуліну (*червоний колір*), основного білка мієліну (*MBP, сіро-блакитний колір*) і проти гліального кислого фібрилярного білка (*GFAP, зелений колір*). Розміри імплантата зазначено у п. 2.1.3

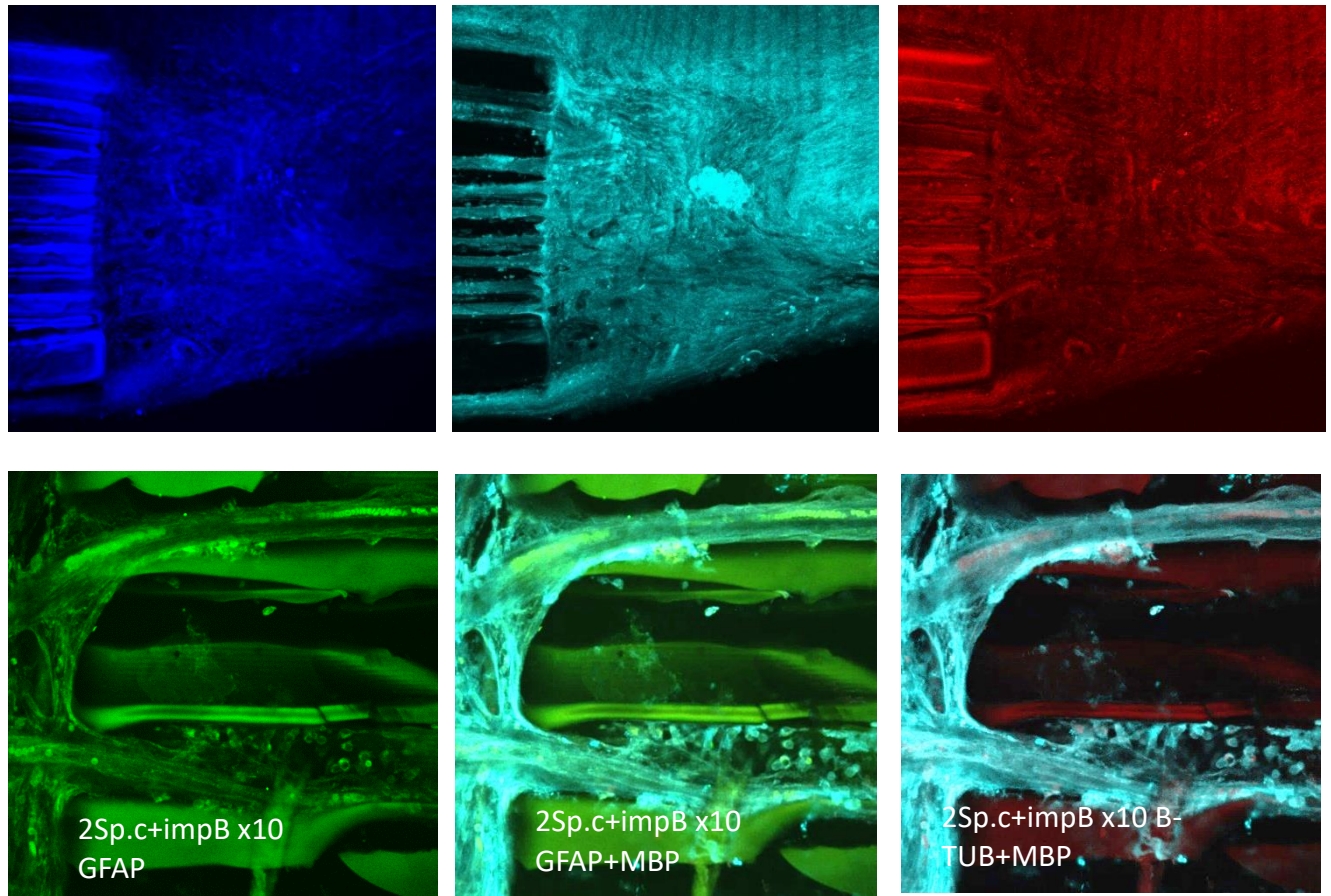


Рисунок 4.10 — Зона входження волокнистої речовини спинного мозку у тунелі імплантату. Імуногістохімічна ідентифікація маркерних антигенів. Верхній ряд (зліва направо): ідентифікація ядерного ДНК-маркера Hoechst (синій колір), МВР (сіро-блакитний колір) і β -тубуліну (червоний колір). На мікрофото нижнього ряду наведено ділянку входу у два тунеля матрикса (зліва направо): ідентифікація експресії GFAP (зелений колір), конфокальне співнакладання картини експресії GFAP (зелений колір) і МВР (сіро-блакитний колір), а також МВР і β -тубуліну (червоний колір). Ширина тунелів — 50 мкм

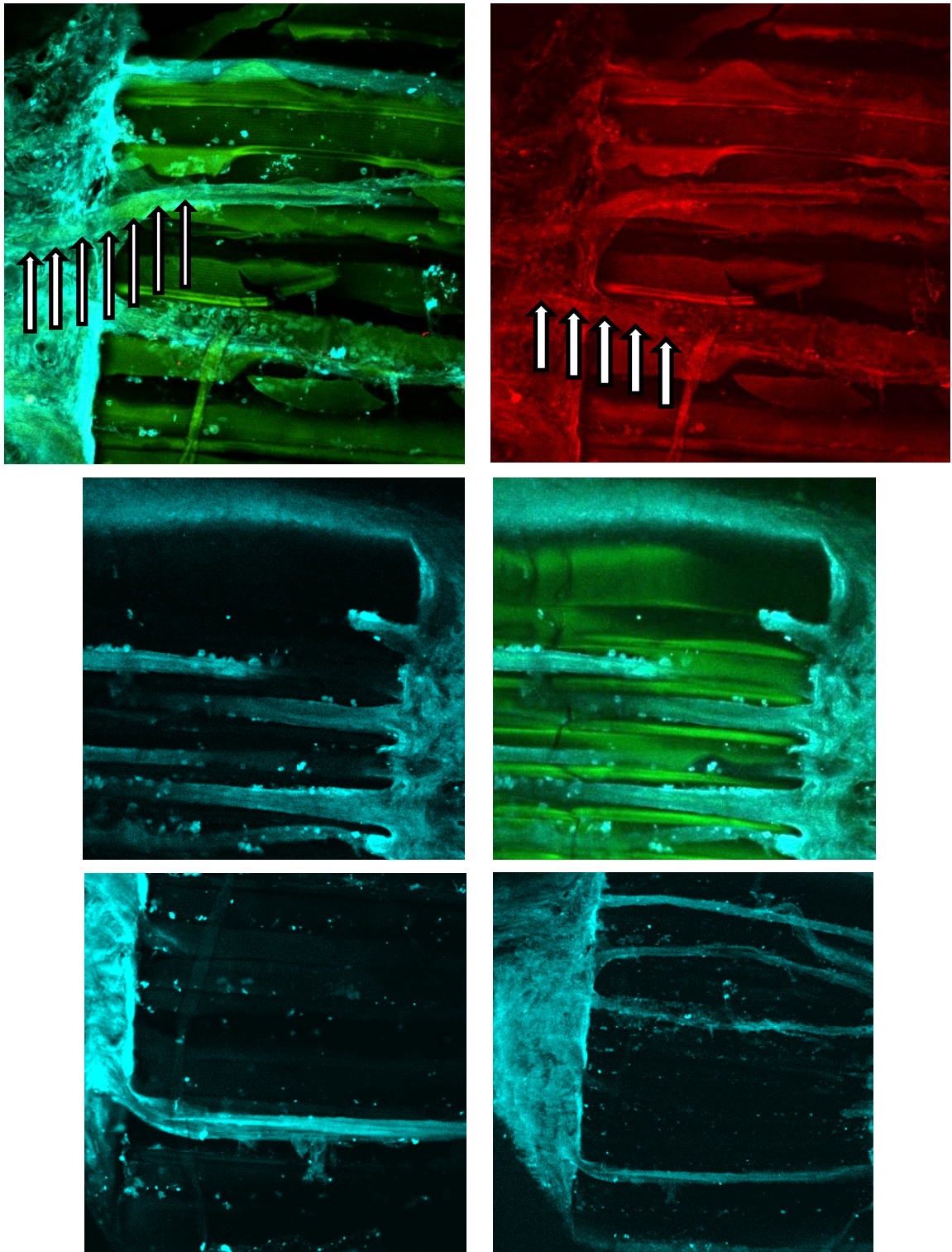


Рисунок 4.11 — Зона входження волокнистої речовини спинного мозку у тунелі імплантату. Імуногістохімічна ідентифікація маркерних антигенів. Верхній ряд (зліва направо): конфокальне співнакладання картини експресії GFAP (зелений колір) і МВР (сіро-блакитний колір), а також ідентифікація експресії β -тубуліну (червоний колір). Стрілками відображено ознаки поздовжньої волоконної структурності. Нижній ряд (зліва направо): ідентифікація експресії МВР (сіро-блакитний колір), конфокальне співнакладання картини експресії GFAP (зелений колір) і МВР (сіро-блакитний колір), а також інші дві ділянки входу у тунелі матриксу (ідентифікація експресії МВР). Співмасштабування зображень верхнього і нижнього рядів не виконували

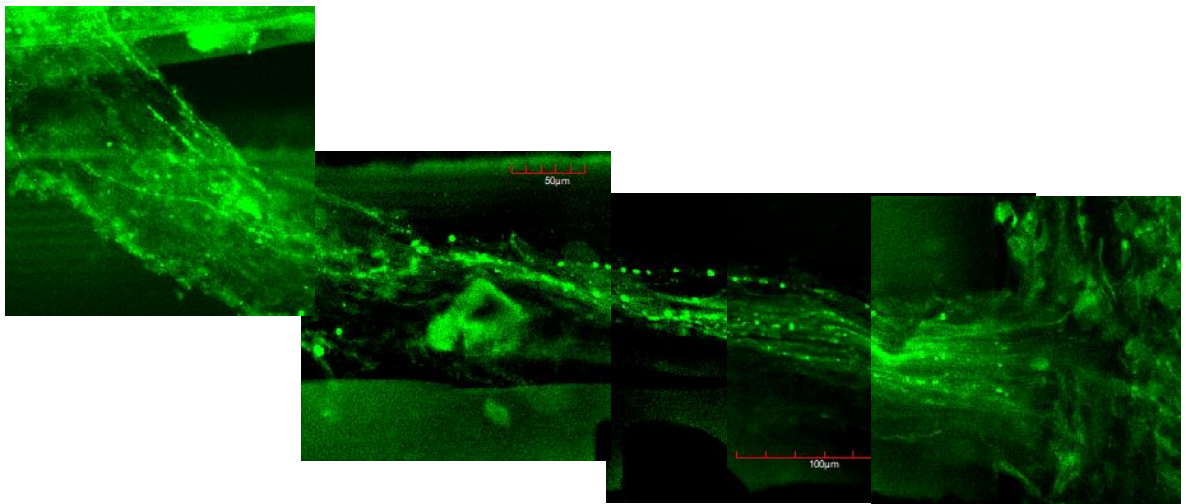
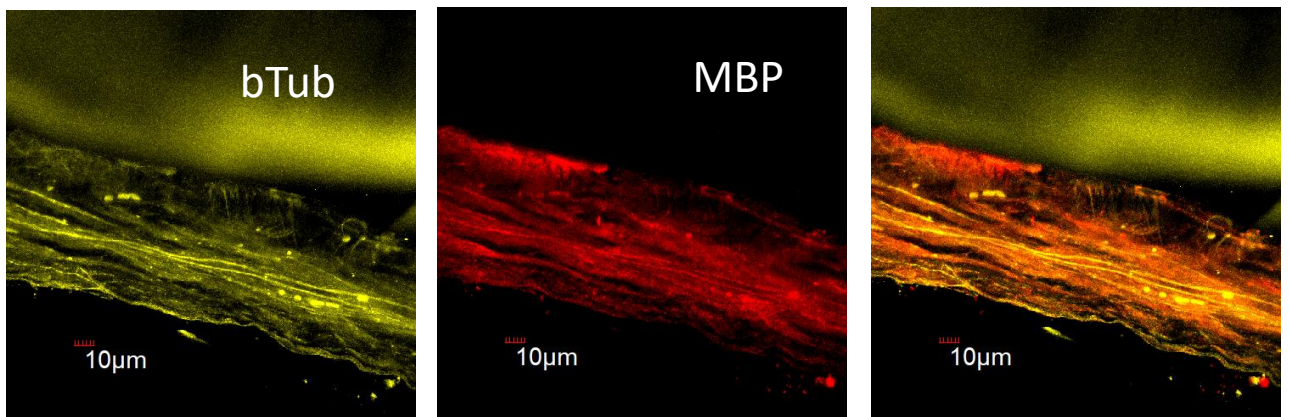


Рисунок 4.12 — β -тубулін-позитивні (*bTub*, жовтий колір) волокнисті структури (найімовірніше, аксони), розташовані вздовж зовнішньої поверхні імплантату (верхній ряд; *merge* — конфокальне співнакладання обох зображень), а також у тунелі імпланту, пронизуючи його вздовж (нижній ряд, зелений колір; панорамне реконструйоване зображення). Масштабні смужки наведено на зображеннях

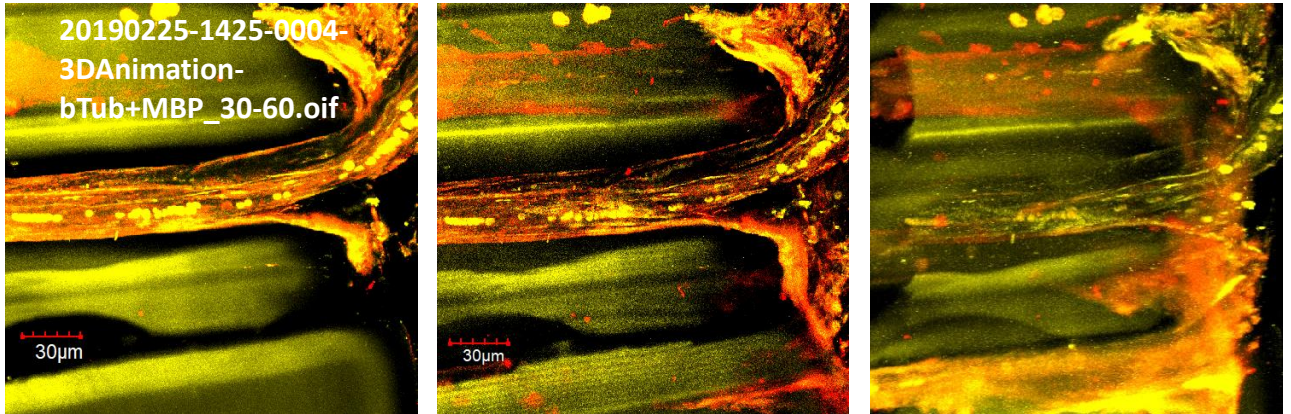


Рисунок 4.13 — Волокнисті структури у вході у один з тунелів імплантату, непрямо забарвлені через антитіла до β -тубуліну (*найімовірніше, аксони*) і МВР при конфокальному співставленні зображень. Кулясті утвори — найімовірніше, β -тубулін-позитивні еритроцити

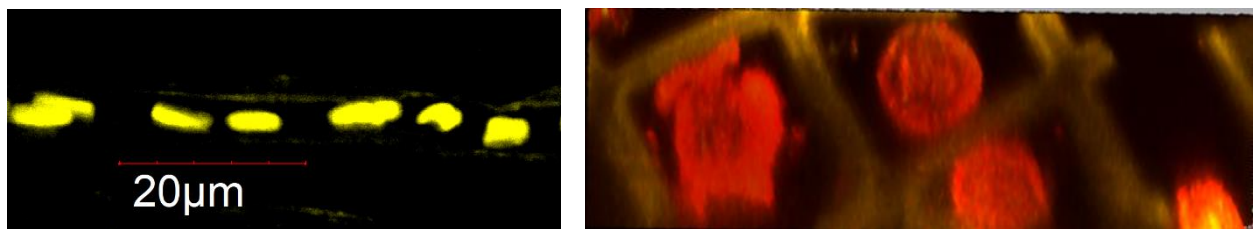
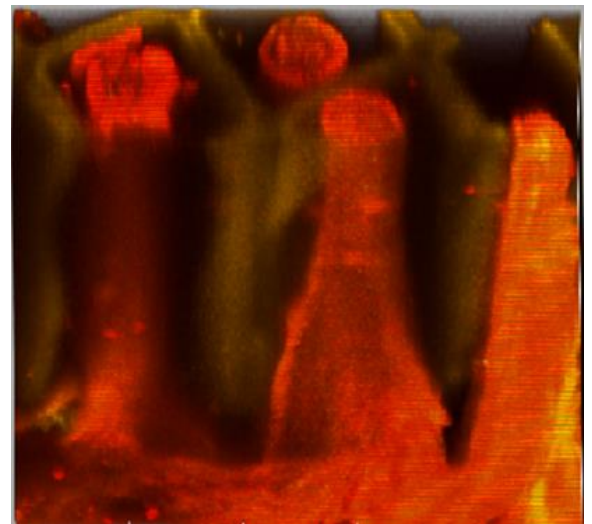


Рисунок 4.14 — β -тубулін-позитивні еритроцити у тунелі імплантату (*ліворуч*). Цифрова реконструкція поперечних зрізів (*посередні*) і тривимірного зображення у торцевій зоні імплантату (*праворуч*) із серії поздовжніх зрізів, забарвлених флюорофорами за допомогою антитіл проти β -тубуліну і МВР



Стінки тунелів — жовто-зеленого кольору (*аутофлюорисцентна картина при опроміненні електромагнітними хвилями емітентної стосовно флюорофорів частоти*), вміст тунелів — червоного кольору. Ширина тунелів на реконструйованих зображеннях — 50 мкм

після травми на рівні 6-ти балів за шкалою BBB ростральна частина матриксу виявився взагалі неінтегрованою у речовину спинного мозку. Отже, зважаючи на результати імуногістохімічного дослідження, раціонально припустити, що важливе значення для відновлення рухової функції паретичної кінцівки має ріст аксонів не лише у тунелях, але й, можливо, по зовнішній поверхні матриксу, оскільки ця ділянка у дослідженої тварини виявилася добре виповненою впорядкованими, паралельно розташованими стосовно умовної ростро-каудальної осі спинного мозку волокнами (рис. 4.12) [212]. Отже, створення просторового мосту між "культями" бічного половинника спинного мозку навіть у такий спосіб, може слугувати доброю передумовою результативного відновного росту аксонів через ділянку травматичного дефекту [212]. Крім того, зважаючи на оперативно-хірургічну варіативність будь-якого втручання і беручи до уваги невеликі розміри груп **Tr_□** і **Tunnel_□**, не варто виключати можливість неповного перетину волоконного апарату спинного мозку на боці травми у перелічених випадках. Верифікація цих припущень потребує додаткових досліджень.

4.4. Значущість й інтерпретація отриманих даних

4.4.1. Узагальнені дані дисертаційного дослідження на тлі сучасного стану проблеми травми спинного мозку.

Виходячи з сучасних епідеміологічних даних, попри низьку захворюваність, ТрСМ є кумулятивною патологією зі значною поширеністю, котра призводить до суттєвого погіршення якості життя постраждалих і обумовлює значні економічні втрати [1–5, 55]. Основною причиною характерного неврологічного дефіциту при ТрСМ є ушкодження довгих нервових волокон у ділянці травми, котрі інервують еферентні нейрони передніх і бічних рогів спинного мозку, розташовані нижче рівня ушкодження, а також каудальні вегетативні парасимпатичні центри. Найважливішими патофізіологічними компонентами раннього періоду ТрСМ є

первинне руйнування нервових волокон, клітин і судин спинного мозку у епіцентрі травми, а також вторинне ушкодження елементів нейронної мережі у перифокальній зоні внаслідок розгортання запального процесу [6, 7]. До причин обмеження регенерації аксонів низхідних провідних шляхів після ТрСМ можна відносити постаксонотомічний апоптоз нейронів [8], пригнічення утворення клітин олігодендроцитів у епіцентрі травми [9], а також експресію у зоні рубця численних репелентів аксональних конусів росту [6]. Попри це, обмежена аутогенна функціональна регенерація спинного мозку є добре відомим клінічним фактом [10, 11] і, найімовірніше, забезпечується перелаштуванням топології нейронних мереж рухової системи на супраспінальному та спінальному рівнях [12–14, 25, 84–88]. У цьому сенсі розробка засобів активування і/або оптимізації пластичності нейронних мереж, перш за все, імплантаційних матриксів, є аргументованою [15–19].

Серед робіт, присвячених з'ясуванню ефективності імплантації РНРМА-гідрогелю у епіцентр ТрСМ [30–38], лише у двох відтворено висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку дорослого щура на рівні грудного відділу [37, 38], причому лише у одній [38] для аналізу відновного процесу залучено оцінку рухової функції паретичної кінцівки за шкалою BBB. Перелік праць, у яких досліджено ефективність імплантації тунельованих матриксів у відновному лікуванні лацераційної ТрСМ теж обмежений [50, 215, 216]. З цієї точки зору виконане нами дослідження слід вважати вповні актуальним.

Коротко, отримані у даній роботі результати, наступні [181, 202, 204, 208–212]. Через 1 тиждень після моделювання травми ПФ у групі **Tr_□** складав (0.9 ± 0.5) бала за шкалою BBB, у групі **Tunnel_■** — (1.4 ± 0.8) бала, у групі **HG_■** — (3.6 ± 1.2) бала, у групі **Tr_▴** — (5.9 ± 1.1) бала, у групі **HG_▴** — (6.0 ± 1.0) бала [181, 202, 204, 208, 209]. Достовірне збільшення ПФ у групі **Tr_▴** спостерігали протягом перших 3-х тиж, у групі **HG_▴** — протягом першого місяця і 6-го тижня, у групі **Tunnel_■** — протягом 2-го, 3-го і 7-го тижня; натомість, у групі **Tr_□** при порівнянні значення 5-го місяця і 2-го тижня виявлено істотне зменшення ПФ, а у групі **HG_■** значення ПФ протягом усього спостереження взагалі змінювалося неістотно (у всіх

перелічених випадках — результати Wilcoxon Matched Pairs Test) [181, 202, 204, 208, 210]. Фактичне максимальне значення ПФ у групі **Tr_т** складало (10.1±1.1) бала за шкалою BBB (через 6 тиж після травми), у групі **Tr_к** — (1.9±1.0) бала (через 2 тиж, а також через 2 і 3 міс після травми), у групі **HG_н** — (5.6±1.9) бала (через 2 і 3 міс після травми), у групі **Tunnel_к** — (6.7±1.7) бала BBB (через 7 тиж після травми), у групі **HG_т** — (10.7±0.6) бала (через 4 міс після травми) [181, 202, 204, 208, 210]. Фінальне значення ПФ у групі **Tr_к** становило (0.8±0.3) бала BBB, групі **HG_н** — (4.5±1.8) бала, у групі **Tunnel_к** — (6.4±1.8) бала BBB, у групі **Tr_т** — (9.5±1.0) бала, у групі **HG_т** — (9.5±1.1) бала. Усереднене по групах **Tr_т**, **Tr_к** і **HG_н** значення ПФ не корелювало (відповідно, $r=0.45$, $r=0.02$ і $r=0.57$; $p>0.05$, Spearman Rank Order Correlations), а у групах **HG_т** і **Tunnel_к** — позитивно корелювало з показником тривалості спостереження (відповідно, $r=0.77$ і $r=0.85$; $p<0.05$, Spearman Rank Order Correlations) [181, 202, 204, 208, 210].

Через 1 тиждень після травми значення ПС у групі **Tr_т** складало (0.3±0.1) бала за шкалою Ashworth, у групі **HG_т** — (0.7±0.2) бала, у групі **Tr_к** — (0.7±0.1) бала, у групі **HG_н** — (0.8±0.3) бала, у групі **Tunnel_к** — (1.1±0.1) бала [181, 202, 204, 208, 209]. Впродовж експерименту значущих змін ПС у групах **HG_н** і **Tunnel_к** не виявляли; достовірне збільшення відмічали у групах **HG_т** (протягом 3-го міс), **Tr_т** (протягом 2-го тижня і 2-го місяця) і у групі **Tr_к** (протягом 2-го, 6-го тиж, 3-го і 5-го місяця; у всіх перелічених випадках — результати Wilcoxon Matched Pairs Test) [181, 202, 204, 208]. Фактичний максимум ПС для групи **Tr_т** склав (0.8±0.2) бала за шкалою Ashworth (через 5 міс після травми), для групи **HG_т** — (0.9±0.3) бала (через 3 і 4 міс після травми), для групи **HG_н** — (1.8±0.7) бала (через 4 і 5 міс після травми), для групи **Tunnel_к** — (1.8±0.6) бала (через 5 міс після травми), для групи **Tr_к** — (3.6±0.3) бала (через 5 міс після травми) [181, 202, 204, 208]. Фінальне значення ПС у групах **Tr_т** і **HG_т** становило, відповідно, (0.8±0.2) бала і (0.8±0.3) бала за шкалою Ashworth, у групах **HG_н** і **Tunnel_к** — відповідно, (1.8±0.7) бала і (1.8±0.6) бала, у групі **Tr_к** — (3.6±0.3) бала [181, 202, 204, 208]. Для групи **HG_т** була характерною слабка ($r=0.60$), для групи **Tr_т** ($r=0.83$) і **HG_н** ($r=0.94$) — відповідно, міцніша й виразніше міцніша, а для групи **Tr_к** ($r=0.99$) —

найміцніша значуща додатна кореляція між усередненими значеннями ПС і величиною терміну спостереження (для всіх перелічених випадків — $p < 0.05$, Spearman Rank Order Correlations); для групи **Tunnel_▣** таку кореляцію не виявлено ($r = 0.60$, $p > 0.05$, Spearman Rank Order Correlations) [181, 202, 204, 208].

При аналізі пар середніх значень ПФ і ПС впродовж загального періоду спостереження кореляції між цими показниками для жодної з груп не виявлено (у всіх випадках — $p > 0.05$, Spearman Rank Order Correlations) [181, 202, 204, 208]. При аналізі пар індивідуальних значень ПФ і ПС на кожному з термінів спостереження достовірну негативну кореляцію спостерігали на усіх термінах, крім першого³⁷ (група **Tunnel_▣**), через 1 і 4 тиж, 3 і 5 міс після травми (група **Tr_▣**) і через 3, 5 і 6 тиж, 3 і 5 міс після травми (група **HG_▣**), через 5, 7, 8 тиж і через 3 і 4 міс (група **Tr_▣**), а також на усіх термінах, окрім 1-го і 5-го тижня (група **HG_▣**; у всіх перелічених випадках — $p < 0.05$, Spearman Rank Order Correlations) [181, 202, 204, 208].

Протягом усього періоду спостереження істотних відмінностей значень ПФ для груп **Tr_▣** і **HG_▣**, а також для груп **Tunnel_▣** і **NG_▣** — не виявлено³⁸, для груп **Tr_▣** і **HG_▣** — виявлено через 5 тиж після травми, для груп **Tr_▣** і **Tunnel_▣** — через 4, 5 і 7 тиж спостереження³⁹ ($p < 0.05$; Mann-Whitney U Test) [181, 202, 204, 208, 211]. Значущу різницю ПС для груп **Tr_▣** і **HG_▣** виявляли через 1 тиждень після травми, для груп **Tr_▣** і **HG_▣** — протягом перших 8-ми тиж спостереження [181, 202, 204, 208], для груп **Tr_▣** і **Tunnel_▣** — через 1, 7 і 8 тиж, а також через 3 і 5 міс після моделювання травми⁴⁰, для груп **Tunnel_▣** і **NG_▣** — не виявили на жодному з термінів спостереження⁴¹ ($p < 0.05$; Mann-Whitney U Test). При порівнянні значень як ПФ, так і ПС, у групах **Tr_▣** і **Tr_▣** достовірну різницю виявлено на усіх термінах спостереження ($p < 0.05$; Mann-Whitney U Test), для груп **HG_▣** і **HG_▣** — істотну різницю ПФ виявлено на усіх термінах ($p < 0.05$; Mann-Whitney U Test), крім 1-го і

³⁷ незалежно від врахування результатів тварини з групи **Tunnel_▣**, котру вивели з експерименту наприкінці 3-го місяця для імуногістохімічного дослідження.

³⁸ див. виноску 37.

³⁹ або через 4, 5, 7, 8 тиж і через 3 міс з урахуванням результатів тварини групи **Tunnel_▣**, виведеної для імуногістохімічного дослідження наприкінці 3-го місяця.

⁴⁰ див. виноску 37.

⁴¹ див. виноску 37.

7-го тижня, а відмінності ПС впродовж експерименту залишались несуттєвими ($p > 0.05$; *Mann-Whitney U Test*) [181, 202, 204, 208].

Отримані дані, на нашу думку, свідчать, що модель висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку у нижньогрудному відділі молодих тварин у нашій модифікації відтворює доволі одноманітний глибокий однобічний руховий дефіцит за збереження функції контрлатеральної частки спинного мозку [181, 202, 204, 208, 209]. При цьому формується чіткий половинний дефект речовини спинного мозку, котрий протягом тривалого атрофічного процесу може набувати різної форми у ростральному і каудальному напрямках, по-різному виповнюватися рубцевою тканиною, а його умовне "дно", спрямоване до середини спинного мозку, може містити різну кількість поздовжніх волокон основної порції кірково-спинномозкового (*найімовірніше*) шляху [181]. Останнє, однак, не впливає на повноту реалізації основного об'єму рухових функцій задніх кінцівок [181]. Переліченими особливостями патоморфологічна картина у ділянці висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку у молодого щура істотно відрізняється від морфології організованої зони бічного половинного перетину спинного мозку дорослого щура [181]. І завдяки цим рисам у випадку висічення, на відміну від половинного перетину, ймовірність аутогенного проростання нервових волокон через зону післятравматичної організації малоімовірна.

Згідно з отриманими даними, РНРМА-гідрогель покращує відновлення рухової функції після висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку⁴² і зменшує спастичність у паретичній кінцівці⁴³ [202, 204, 208]. При цьому, значна частина позитивного функціонального ефекту РНРМА-гідрогелю формується протягом першого тижня після травми [202, 208] — у період найінтенсивнішого розвитку фокального запального процесу, котрий обумовлює вторинне ушкодження спинного мозку [7]. Одним із тригерів такого процесу є, безперечно, руйнування численних дрібних судин у епіцентрі травми і пов'язана

⁴² достовірно — лише станом на кінець 5-го тижня після травми згідно зі стандартизованою часовою шкалою представлення результатів дослідження.

⁴³ достовірно — протягом перших 2-х міс після травми.

з цим локальна геморагія. За нашими спостереженнями, РНРМА-гідрогель одразу після імплантації суттєво зменшує кровотечу з травмованої речовини спинного мозку [202, 208]. Ми припускаємо, що саме у такий спосіб імплантат зменшує імбібіцію прилеглої речовини спинного мозку кров'ю, обмежує прямий контакт мозкової речовини з ліквором і тому — зупиняє один із шляхів активації імунної відповіді [202, 208]. Якщо це дійсно так, ранній позитивний ефект РНРМА-гідрогелю отримує патофізіологічне підґрунтя: його негайна після лацераційної травми імплантація зменшує вторинне запальне ураження спинного мозку [202, 208]. Мабуть, саме за рахунок такого раннього позитивного впливу імплантація РНРМА-гідрогелю істотно послаблює відмінності значень ПФ і ПС за двох досліджуваних видів лацераційної ТрСМ: різниця абсолютна при порівнянні значень обох показників груп Tr_{\top} і Tr_{\square} , неповна — при порівнянні значень ПФ, і відсутня — при порівнянні значень ПС груп HG_{\top} і HG_{\square} [202, 208]. Враховуючи значну наближеність значень як ПФ, так і ПС, груп Tr_{\top} і HG_{\top} , це опосередковано свідчить на користь істотного позитивного ефекту РНРМА-гідрогелю саме на тлі лацераційної травми зі значним дефектом спинного мозку [202, 208]. Водночас, відсутність будь-якого значимого ефекту імплантації РНРМА-гідрогелю в умовах високого ауторегенераційного потенціалу й слабшої лацераційної ТрСМ (групи Tr_{\top} і HG_{\top}) вказує на те, що результативне самовільне відновлення спинного мозку може успішно компенсувати наслідки травми і цим самим позбавляє РНРМА-гідрогель статусу необхідної умови відновного процесу [202, 208].

Таким чином, імплантація РНРМА-гідрогелю у ділянку висічення фрагменту речовини спинного мозку обумовлює позитивний ефект у дуже ранньому періоді травми, ймовірно, обмежуючи вторинне ушкодження щонайменше провідникового апарату, виразником стану якого є реєстрована рухова функція задніх кінцівок. У подальшому ж РНРМА-гідрогель не чинить істотного впливу на відновний процес, тобто сукупність елементів речовини спинного мозку, котрі зберігаються завдяки негайній імплантації РНРМА-гідрогелю, не беруть участь і не забезпечують істотного відтермінованого відновлення функції спинного мозку

за такого виду лацераційної травми, що виражається відсутністю значущих змін рівня ПФ у групі **HG_■** протягом усього періоду спостереження.

Не викликає також сумніву і те, що РНРМА-гідрогель у зоні травматичного дефекту спинного мозку формує умови для регенераційного росту аксонів [33–35, 38], що підтверджено також і нашими спостереженнями [208]: у віддаленому періоді між фрагментами імплантованого РНРМА-гідрогелю, у товщі гліофіброзної тканини виявляли поодинокі або зібрані у дрібні групи нервові волокна. Однак значимість цього компонента у відновленні рухової функції паретичної кінцівки щонайменше за цих експериментальних умов, сумнівна [202, 208].

Імплантація тунельованого матриксу на основі поліетиленгліколю, на відміну від РНРМА-гідрогелю, не впливає на перебіг найгострішого періоду ТрСМ, однак істотно збільшує значення ПФ протягом перших 2-х місяців і нівелює регрес ПФ на останніх 2-х місяцях спостереження [211]. Це означає, що, не дивлячись на втрату певної частини функційно значимих елементів спинного мозку (*котрі, ймовірно, зберігаються у випадку імплантації РНРМА-гідрогелю*), тунельований матрикс створює умови для ряду відновних тканинних реакцій раннього і проміжного періоду ТрСМ — від ремієлінізації до росту нервових волокон через зону травми і реінервації каудальних популяцій мотонейронів. Ці реакції вповні компенсують⁴⁴ ймовірну втрату ряду елементів спинного мозку у найгострішому періоді травми.

Крім того, незважаючи на відсутність істотної різниці значень ПФ і ПС груп **Tunnel_■** і **HG_■**, порівняння відмінностей значень ПФ і ПС у групах **Tunnel_■** і **Tr_□**, а також **HG_■** і **Tr_□** впродовж експерименту демонструє, що тунельований матрикс чинить відчутніший позитивний ефект на перебіг відновного процесу, аніж РНРМА-гідрогель. Аналізуючи значення $V_{\text{ПФ}}$ у групах **Tunnel_■** і **HG_■** легко помітити, що такий результат пов'язаний з подовженням відновного процесу у групі **Tunnel_■** до 6-го тижня спостереження (*єдиний термін, на котрому виявлено достовірну різницю показника між обома зазначеними групами*). Величина цього періоду (*6 тиж*) практично унеможлиблює зв'язок позитивного ефекту

⁴⁴ хоча й статистично недостовірно, якщо порівнювати ПФ у групах **Tunnel_■** і **HG_■**.

тунельованого матриксу з ремієлінізацією нервових волокон і, на наш погляд, свідчить про реалізацію іншого механізму регенерації — середньо- і довготраєкторного росту аксонів, хоча б через зону імплантації. Останнє припущення знайшло підтвердження у серії імуногістохімічних досліджень, виконаних на матеріалі групи **Tunnel**. Зокрема, з'ясовано, що через 3 міс після імплантації матрикс добре інтегрований у мозкову речовину, можливо, завдяки інтенсивному росту аксонів по його зовнішній поверхні без формування значимого гліофіброзного рубця [212]. Новоутворена речовина спинного мозку у середині тунелів містить поздовжньо орієнтовані аксони, оточені складним гліальним апаратом, і поодинокі осьові судини [212].

Загалом, враховуючи значуще збільшення ПФ у тварин групи **Tunnel** протягом перших 2-х місяців після імплантації на тлі відсутності будь-якого істотного збільшення ПФ у групах **Tr** і **HG**, можна припускати, що проростання нервових волокон через зону травми по зовнішній поверхні матриксу і у порожнинах тунелів є основним фактором відновлення рухової функції паретичної кінцівки за таких експериментальних умов [212].

Нарешті, зазначимо, що значуща перевага величини ПС паретичної кінцівки у групі **Tunnel** у порівнянні з групою **Tr** через 1 тиждень після моделювання травми за відсутності аналогічної переваги у випадку групи **HG**, може бути наслідком механічного впливу ригідного тунельованого матриксу на нейронні мережі спинного мозку, котрий опосередковується завдяки механоцептивним властивостям клітин (див. п. 4.4.2).

4.4.2. Отримані у дисертаційному дослідженні дані на тлі результатів інших груп.

Як уже зазначалося, серед робіт, присвячених з'ясуванню ефективності імплантації РНРМА-гідрогелю у епіцентр **TrCM** [32–38], лише у двох у якості експериментальної моделі використано висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку дорослого щура на рівні грудного відділу [37, 38],

причому лише у одній [38] ефективність імплантації оцінено за шкалою ВВВ. Автори цього дослідження імплантували фрагмент РНРМА-гідрогелю у ділянку однобічного одноміліметрового висічення спинного мозку дорослого щура (*лінія Sprague-Dawley, самці, вік — 8 міс, маса — 300 г, n=15*) на рівні хребця T₁₀. За їхніми даними, через 14 тиж значення ПФ задньої паретичної кінцівки у тварин основної групи сягало (14.29±1.77) бала за шкалою ВВВ, а у тварин групи зрівняння (*моделювання аналогічної TrCM без імплантації РНРМА-гідрогелю*) — (8.66±1.25) бала. Натомість, згідно з нашими даними, навіть у молодих тварин після схожої травми, нанесеної, щоправда, на рівні хребців ~T₁₁–T₁₂, й імплантації РНРМА-гідрогелю значення ПФ паретичної кінцівки виявилися набагато меншими — (4.5±1.8) бала за шкалою ВВВ (*група НГ_■*) проти (0.8±0.3) бала у групі зрівняння (*група Tr_□*). Важливо, що такий результат отримано з нами без урахування даних тварин із суттєвим контрлатеральним руховим дефіцитом (у групі *Tr_□* — 2 тварини; у групі *НГ_■* — 1 тварина).

Однією з можливих причин такого дисонансу результатів може бути використання нами додаткового критерію невключення (*n. 2.5*), згідно з яким у групу *Tr_□* не залучили показники 1 тварини, у групу *НГ_■* — 2-х тварин зі значеннями ПФ через 1 тиждень після травми на рівні, вищому 9-ти балів за шкалою ВВВ⁴⁵. Такий підхід було обрано з метою отримання груп з якомога тяжчим й локалізованим виключно іпсилатерально руховим дефіцитом навіть на тлі значного аутогенного регенераційного потенціалу у молодих тварин (*див. [52, 53]*), оскільки очевидно, що ефективність будь-якого відновного втручання при TrCM слід верифікувати на найтяжчих варіантах TrCM з мінімалізацією страждання експериментальних тварин. Інші можливі причини виявленої розбіжності результатів — відмінності протоколу анестезії, використання авторами холодової вазоконстрикції у речовині спинного мозку перед моделюванням TrCM, прецизійне виконання ними розтину ТМО перед моделюванням TrCM, використання іншого матеріалу для ізолювання зони імплантації від укривних м'язів, відмінності післяопераційного супроводу й

⁴⁵ Значення ПФ цих тварин складали, відповідно, 14, 11.5 і 13 балів за шкалою ВВВ.

утримання тварин, нарешті, лінійні особливості тварин і відмінності у рівні виконання травми. Крім того, автори [38] не описують засоби інтраопераційної верифікації поперечної повноти висічення фрагменту спинного мозку, не вказують про очищення рани спинного мозку від нежиттєздатних тканин, згадуючи лише про візуальний контроль стану країв речовини спинного мозку на предмет їхнього звільнення від мозкових оболонок і згортків крові.

Стосовно властивостей хімічної основи апробованого нами тунельованого матриксу — поліетиленгліколю і його модифікацій — у трансплантаційній перспективі (*біосумісність, нетоксичність, здатність до біодеградації тощо*) на даний час накопичено значну кількість інформації [118]. Перш за все, рядом експериментальних досліджень з'ясовано, що поліетиленгліколеві імпланти позитивно впливають на перебіг відновного процесу після ТрСМ [118]. Відносно механізмів такого впливу відомо, що поліетиленгліколь, володіючи гідрофільними сурфактантними властивостями сприяє злиттю клітинних мембран, їхній плинності (*англ. — fluidity*) [118], чим, ймовірно, сприяє усуненню наслідків механічної травми живих мембранних структур (*клітин, аксонів тощо*). Крім того, у гострій фазі ТрСМ поліетиленгліколеві імпланти можуть пригнічувати дегенерацію нервових волокон і створювати сприятливе оточення для їхньої регенерації, стимулювати ангиогенез, пригнічувати утворення гліального рубця, спрямовувати регенераційний ріст аксонів і сприяти налагодженню синапсів зі структурами спинного мозку [118]. У цьому плані важливо, що поліетиленгліколь, найімовірніше, володіє проникністю для численних регуляторів тканинних реакцій [118].

Беручи до уваги доволі значну ригідність апробованого нами поліетиленгліколевого імплантату, відзначимо, що механічні властивості тканинного оточення є істотним чинником щонайменше нейроонтогенезу і нейроонкогенезу [217–222]. Приміром, на думку деяких авторів [223], нейрони та гліоцити високочутливі до механічних впливів, визначають жорсткість підкладкового субстрату через активовані розтягом трансмембранні йонні канали і залежно від цього коригують власну поведінку *in vitro* й *in vivo*. М'якість та інші

механічні властивості речовини мозку є важливим фактором диференціювання нащадків НСК [224]. Поліетиленгліколевий матрикс, використаний у цій роботі, володіє непересічними механічними властивостями — він жорсткий, до певної межі пружний і крихкий, що слід враховувати у подальших дослідженнях механізмів його позитивного впливу на регенерацію аксонів спинного мозку.

Важливо також, що отримані нами дані компліментарні результатам ряду інших робіт схожого дизайну. Приміром, алгінатний гідрогель з середнім діаметром поздовжніх тунелів 41–64 мкм (у *нашого* матриксу — 50 мкм), асоційований зі стовбуровими клітинами строми кісткового мозку⁴⁶ й імплантований у ділянку висічення половинного бічного фрагменту спинного мозку довжиною 2 мм на рівні хребця С₄–С₅ дорослої самки щура (*лінія Fischer 344, маса — 140–160 г*) уже через місяць містив новоутворені наскрізні внутрішньотунельні структури, у складі яких виявляли аксони, судини і, щонайменше, клітини шванівської глії, макрофаги чи мікрогліюцити [214] (*рис. 4.14–4.16*).

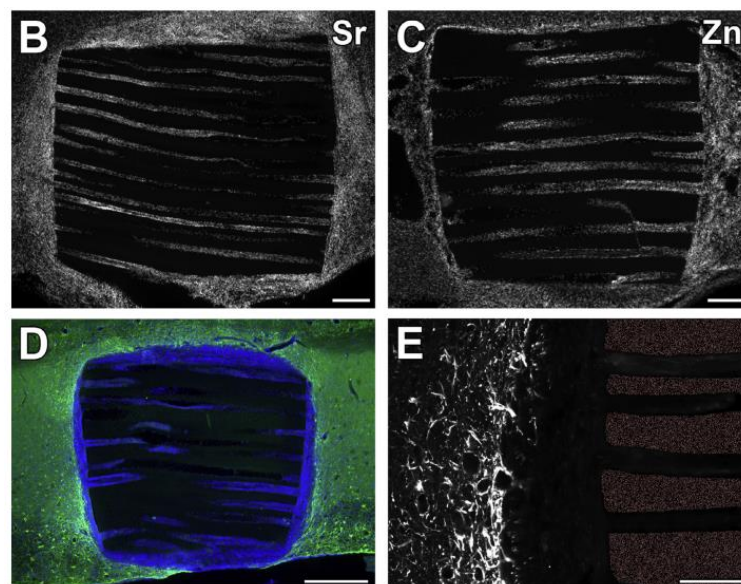


Рисунок 4.14 — Тканинні структури у каналах імплантованого алгінатного матриксу за M.I. Günther та співавторами (2015) [215]. Пояснення рисунків — у цитованій праці

⁴⁶ котрі у окремій групі були генетично модифіковані для конституційної продукції нейротрофіну BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*).

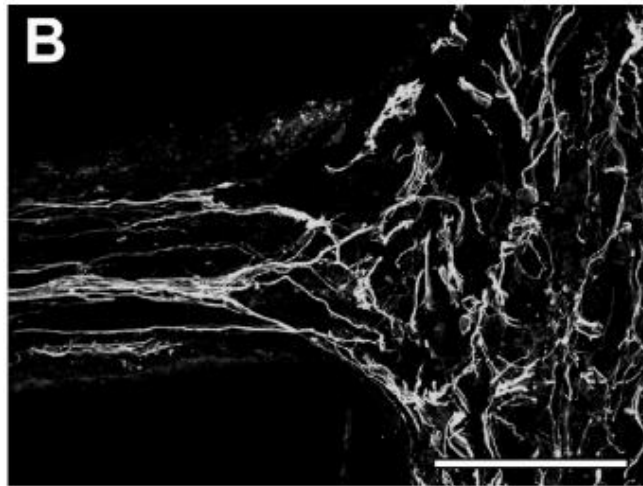


Рисунок 4.15 — β III-tubulin-позитивні аксони у ділянці входу у тунель алгінатного матриксу за М.І. Günther та співавторами (2015) [215]. Пояснення рисунку — у цитованій праці

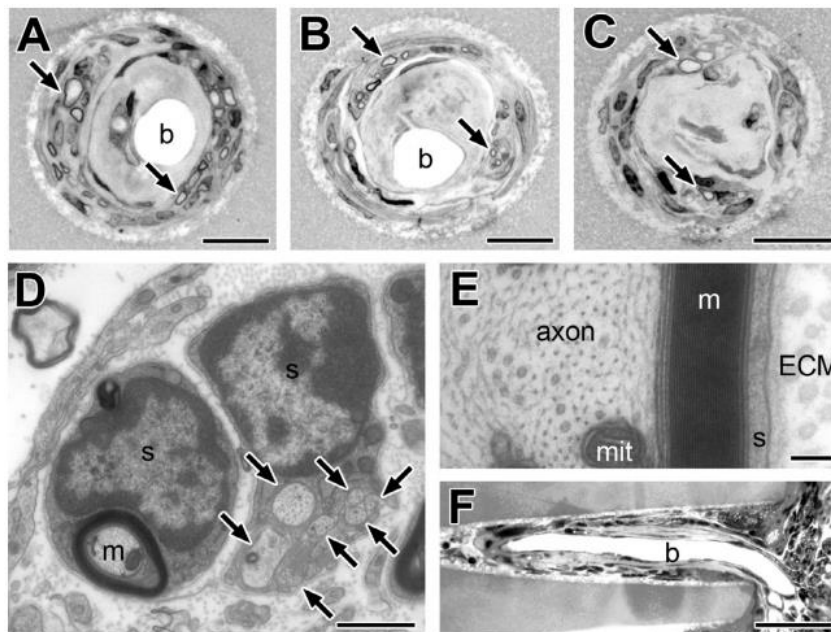


Рисунок 4.16 — Складові речовини, що виповнює тунель алгінатного матриксу за М.І. Günther та співавторами (2015) [215]. Звертають на себе увагу судини ("b"), морфологія котрих схожа з виявленою у наших спостереженнях

Оцінюючи ці результати, відмітимо, що перевагою нашого дослідження є верифікація ефективності імплантаційого втручання засобами моніторингу рухової функції паретичної кінцівки, а також отримання схожої регенераційної

активності тканини спинного мозку за використання набагато простішого у виготовленні матриксу й без залучення клітинних біоінженерних технологій.

Аналогічним чином наша робота відрізняється від праці [216] (рис. 4.17), у якій тунельований матрикс на основі агарози, заповнений BDNF-продукувальними стовбуровими клітинами строми кісткового мозку імплантували у ділянку висічення повного поперечного фрагменту спинного мозку (довжиною ~ 2 мм) на рівні сегменту T₃ дорослого щура (лінія Fischer 344, маса — 150–200 г).

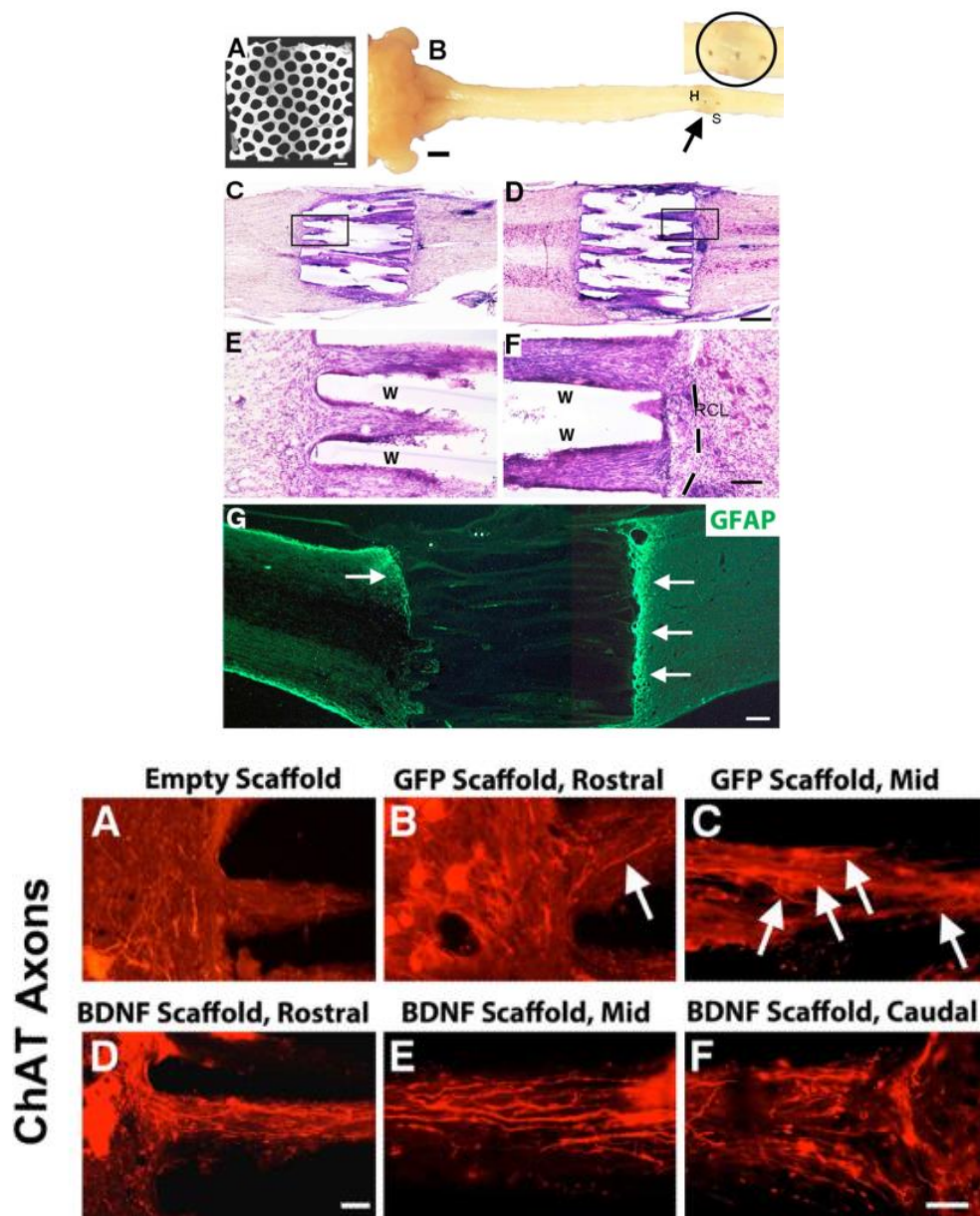


Рисунок 4.17 — Основні результати, отримані М. Гао та співавторами (2013) [216]. Пояснення рисунків — у цитованій праці

У новішому дослідженні схожого дизайну [50] (рис. 4.18) вивчали ефективність імплантації тунельованого матриксу (діаметр поздовжніх тунелів — 200 мкм) на основі поліетиленгліколю у ділянку висічення поперечного фрагменту спинного мозку (довжиною ~2 мм) щура⁴⁷ на рівні сегменту T₃. Матрикс попередньо асоціювали з нейрогенними прогеніторними клітинами, отриманими у плодів (E14) щура цієї ж лінії. Показники відновлення рухової функції задніх кінцівок на тлі імплантації у цьому дослідженні були аналогічні нашим, котрі, однак, отримано на моделі висічення **половинного бічного** фрагменту спинного мозку (відповідно, (6.6 ± 0.5) бала і (6.4 ± 1.8) бала за шкалою BBB).

Основним протиріччям між результатами цього дослідження [50] і нашими даними є те, що, за інформацією авторів, через 20 тиж після травми й імплантації **порожнього** поліетиленгліколевого матриксу ПФ задніх кінцівок був мізерним ((0.3 ± 0.2) бала за шкалою BBB). У випадку імплантації у ділянку висічення нейрогенних прогеніторних клітин у складі фібринового середовища⁴⁸ цей показник на аналогічному терміні спостереження був теж низьким — (1.6 ± 0.8) бала за шкалою BBB.

Отже, отриманий авторами [50] результат досягнуто виключно завдяки поєднанню матриксу з нейрогенними прогеніторними клітинами. У нашому ж дослідженні, виконаному, щоправда, на моделі висічення **бічного половинного** фрагменту спинного мозку молодого щура, істотний позитивний результат досягнуто при імплантації "порожнього" матриксу, тобто без жодного біоінженерного його вдосконалення чи доповнення. Шкода також, що у аналізованій роботі [50] відсутні результати дослідження рухової функції задніх кінцівок після висічення фрагменту спинного мозку без жодного імплантаційного втручання.

⁴⁷ ймовірно, біометричні показники тварин були схожими описаним у двох попередніх коментованих працях.

⁴⁸ "Rat E14 NPCs were suspended in fibrin matrix containing a four-component growth factor cocktail: BDNF 50 ng μl^{-1} (Peprotech) to support NPC survival, VEGF 10 ng μl^{-1} (Peprotech) and bFGF 10 ng μl^{-1} (Peprotech) to promote angiogenesis, and MDL28170 50 μM (Sigma), a calpain inhibitor for neuroprotection"⁴¹ [50].

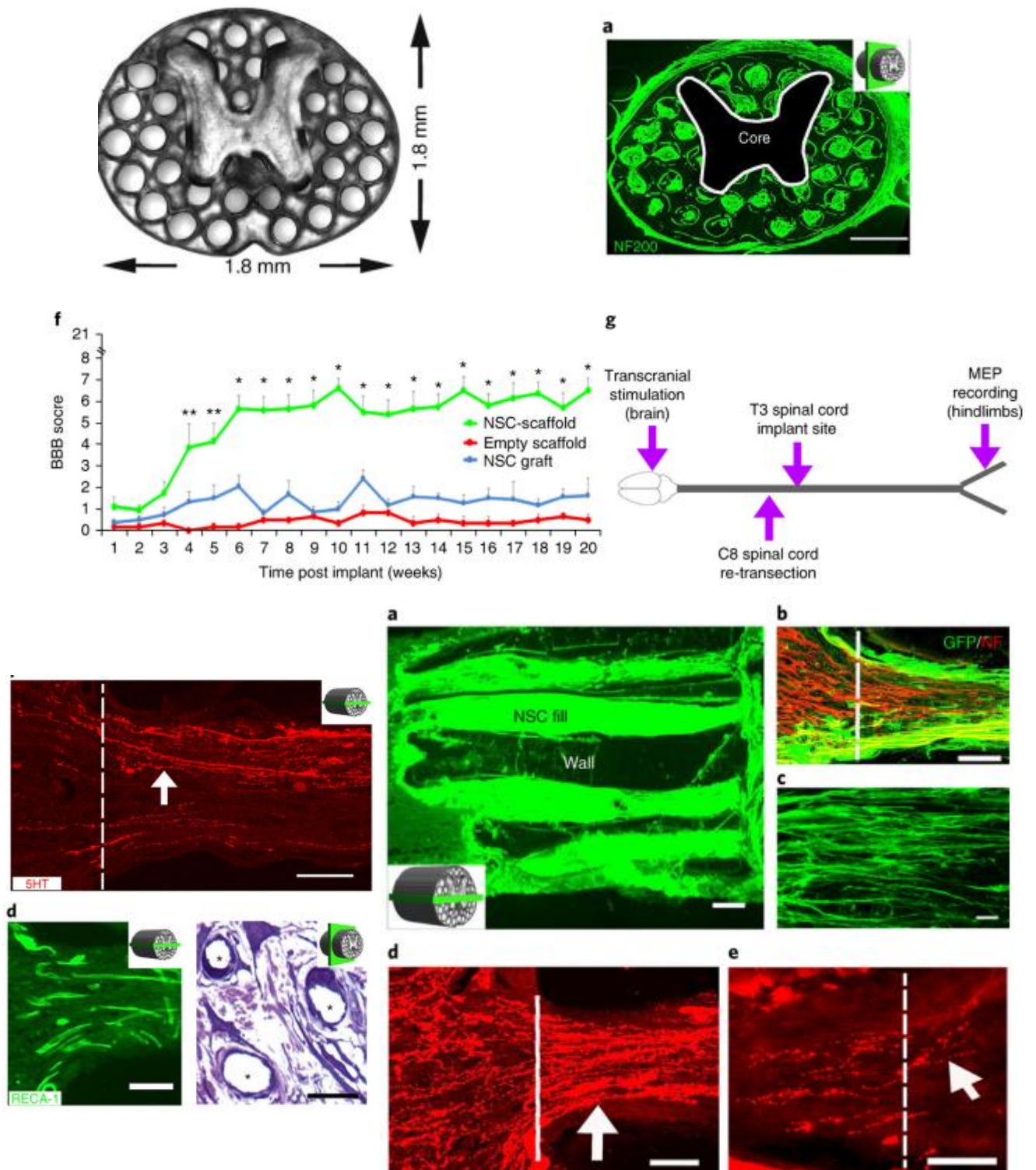


Рисунок 4.18 — Найдемонстративніші ілюстрації праці J. Koffler та співавторів (2019) [50], значною мірою близькі до отриманих нами даних. Пояснення — у цитованій публікації

У якості причин виявленого нами суттєвого позитивного впливу порожнього поліетиленгліколевого матриксу на перебіг травматичного процесу раціонально розглядати молодший вік залучених нами експериментальних тварин, легшу і каудальніше нанесену лацераційну ТрСМ, відтворену у нашому дослідженні і, головне, — більшу площу внутрішньої поверхні тунелів матриксу. Стосовно останнього зазначимо, що діаметр тунелів у апробованого нами матриксу був вчетверо меншим, ніж у коментованому дослідженні [40] і вони займали увесь об'єм матриксу, а не лише його позацентральної частину. Іншими словами, ймовірно, при збереженні волоконного і нейронного апарату спинного мозку за умови потужного пластичного потенціалу молодої тварини імплантації порожнього поліетиленгліколевого матриксу з невеликими поперечними розмірами тунелів достатньо для досягнення істотного відновного ефекту після лацераційної ТрСМ.

Підсумовуючи, вважаємо, що отримані нами дані перегукуються з результатами інших дослідницьких груп і водночас володіють значною оригінальністю.

4.4.3. Технічні обмеження дослідження.

Використану нами для обліку рухової функції паретичної кінцівки шкалу ВВВ свого часу було розроблено для дослідження наслідків двобічного, приміром, контузійного ушкодження спинного мозку [181, 167]. Попри широке використання шкали для моніторингу рухової функції задньої кінцівки при однобічних ураженнях спинного мозку [21–24, 38, 191, 178, 179, 181, 192], її верифікаційний потенціал у таких умовах, на нашу думку, обмежений.

Перш за все, точне визначення ПФ у межах 0–7-ми балів і у межах 10–14-ти балів шкали неможливе без кінематичного, а на рівні 15–18-ти балів — ще й аудіологічного аналізу відеофіксованого матеріалу [181].

По-друге, за нашими спостереженнями, тварини з однобічним ушкодженням спинного мозку завдяки задовільній функції контрлатеральної кінцівки, можуть

"укладати" паретичну кінцівку з рівнем функції у 8 балів стопою вниз, "присідаючи" на неї, що істотно утруднює диференціацію з клінічною картиною, характерною для 9-ти балів шкали ВВВ [181].

По-третє, у випадку спастичної фіксації надп'ятково-гомількового і/або колінного суглоба на тлі задовільної рухової активності контрлатеральної кінцівки тварина може використовувати паретичну кінцівку у "милічному" режимі, опираючись на неї, хоча при оцінці локомоторної рухомості у суглобах рівень ПФ такої кінцівки вірогідно поступатиметься 10-ти балам ВВВ (*можливо, частково такий вид локомоції охоплюється однією з ознак 9-ти балів*) [181].

По-четверте, не викликає сумнівів, що спосіб пересування тварини на тлі глибокого парезу однієї із задніх кінцівок компенсаторно трансформується, наприклад, у "трипедальну" локомоцію, для якої характерне перенесення задньої частини тіла "прискоком", з опорою на умовно інтактну кінцівку [181]. При цьому дефіцит підтримання маси задньої частини тіла фактично залишатиметься невиявним: часткова неспроможність цієї функції паретичної кінцівки компенсуватиметься контрлатеральною кінцівкою з відповідною деформацією ходи [181]. У такому випадку передньо-задня десинхронізація рухових патернів радше виражатиме компенсаторний механізм підтримання задньої частини тіла над поверхнею локомоції, а не дискоординацію ростральної і каудальної частини генератора локомоторних патернів спинного мозку, пов'язану із посттравматичним дефіцитом зв'язків між ними [181]. І незважаючи на це, для точного визначення ПФ паретичної кінцівки на рівні 10–14-ти балів згідно зі шкалою ВВВ пропонується диференційно оцінити здатність до підтримання відповідного заднього квадранту тіла над поверхнею пересування і узгодженість її локомоторних рухів із рухами передніх кінцівок [181].

Нарешті, компенсаторне зближення вертикалі центру мас задньої частини тіла тварини і вертикалі, проведеної через умовний центр опори "інтактної" задньої кінцівки, теоретично може змінити позиціонування стоп обох задніх кінцівок на поверхні локомоції і повноту відриву великого пальця "інтактної" кінцівки від поверхні руху під час крокової фази переносу, утруднюючи

визначення рівня функції у межах 14–18-ти балів шкали ВВВ [181]. За таких же умов правильний облік значень рухової функції умовно інтактною задньої кінцівки на рівні 19–21-го бала шкали ВВВ — утримання хвоста над поверхнею руху і забезпечення локомоторної транслатеральної стабільності тулуба — взагалі неможливий, оскільки реалізація цих ознак питомо залежить від задовільної функції обох задніх кінцівок [181].

Загалом, цілком очевидно, що верифікаційна спроможність шкали ВВВ на рівні вище 8-ми балів на тлі однобічного ураження спинного мозку обмежена [181]. Негативні наслідки цієї вади на даному етапі досліджень можна частково компенсувати лише дотриманням однакових методологічних і технічних умов оцінювання ПФ в усіх порівнюваних між собою експериментальних групах [181]. Мабуть, у зв'язку із цим, рухову функцію задньої контрлатеральної місцю травми кінцівки у більшості досліджень з використанням моделі ОПП залишають поза увагою [181].

Зазначимо також, що для розрізнення рівня ПФ між 16-ма і 17-ма балами нами ненавмисно використано інший критерій — позиціювання стопи стосовно ростро-каудальної осі при різкому піднятті задньої частини тіла тварини за хвіст і негайному швидкому поверненні її у попереднє положення без відриву передніх лап від горизонтальної опори [181]. Паралельне розташування стоп відносно осі при відриві і при контакті з опорою розцінювали як ознаку 17-ти балів, ротацію стопи при відриві від поверхні — як ознаку 16-ти балів [181]. Розрізнення ж між цими двома значеннями у межах оригінального протоколу шкали ВВВ, за словами її авторів, проблематичне [167, 181]. Невизначеність ситуації із використанням розглядуваного диференційного показника демонструється також тим, що у оригінальній праці [167] і у наступних передруках шкали, наприклад, у J. Šedý та співавторів (2008) [225], на рівні 15-ти балів позиціювання стопи описано лише для початку статичної фази крокового циклу, а у одній із важливих методологічних праць з цієї ж теми [225] маніфестація показника на проміжку від 15-ти до 19-ти балів істотно відрізняється від описаного у авторів шкали [181]. Інші дослідники [191] взагалі пропонують оцінювати позицію стопи у статичні

фазі і відрив великого пальця від поверхні крокового руху у фазі переносу окремо [181]. Також, виявляється, що оцінювальна спроможність шкали ВВВ залежить від тяжкості забиття спинного мозку щура [168].

Шкала Ashworth теж має ряд методологічних вад [181]. Першою слід вважати складність верифікації слабкого спастичного парезу, тобто розрізнення "довільного" і "мимовільного" компонентів м'язового тону. "Релаксаційна" спроможність таких прийомів, як "засліплення" тварини рукою експериментатора і попередня акліматизація [181, 188, 189], можливість істотного зменшення за їхньою допомогою "мимовільного" тону м'язів досліджуваного суглоба сумнівна. Тому ми використовували оригінальні ознаки для верифікації слабкого парезу (п. 2.4) [181, 202, 208].

Іншою складністю шкали Ashworth є суб'єктивне розрізнення рівнів ПС у межах від 1-го до 3-х балів [181]. При істотному утрудненні пасивного руху у суглобі (3 бала) ми часто відмічали ще й певне обмеження амплітуди рухів у суглобі при звичайному зуллі [181], а 4 бали реєстрували у випадку виявлення істотної контрактури при сильнішому, однак неальгогенному зусиллі.

Крім того, основну ознаку спастичності (*залежність сили спротиву м'яза від швидкості його розтягу*) [58] через дрібний розмір експериментальних тварин і їхню перманентну рухову активність ідентифікувати на рівні будь-якого суглоба задньої кінцівки практично неможливо, отже, основним верифікатором залишається лише сила спротиву м'яза розтягові з відносно низькою і менш-більш однаковою впродовж усього експерименту швидкістю [181].

Попри це, вибір для верифікації спастичності шкали Ashworth здійснено нами з огляду на обмежену інформативність технічно набагато складнішого альтернативного інструменту — електронейроміографії (ЕНМГ) [181]. Відомо, що між рівнем спастичності, оціненим за шкалою Ashworth, та співвідношенням амплітуд Н-хвилі і М-хвилі (Н/М), виміряних за допомогою ЕНМГ, існує слабка додатна кореляція ($r=0.51$; $p=0.03$) [188], а середній показник міжіндивідуальної та часової (у однієї тварини) варіабельності співвідношення Н/М в умовах експерименту сягає, відповідно, $\sim 21\%$ ($p<0.05$) та $\sim 13\%$, причому коефіцієнт

кореляції значень співвідношення Н/М між вимірюваннями складає 0.59 ($p < 0.1$) [181, 227]. Обмежена точність ЕНМГ обумовлена сумою технічних причин, наприклад, неможливістю виявлення у дрібних експериментальних тварин так званої рухової точки м'яза — ділянки входження рухових волокон нерва у м'яз [228], або місця, у котрому поріг збудливості м'яза при точковій електричній стимуляції найменший [229], чи скорочення м'яза найбільше при мінімальній інтенсивності електричної стимуляції [228], мабуть, завдяки прямій стимуляції розгалужень рухового нерва м'яза [230]. На нашу думку, така причина обмеженої точності ЕНМГ особливо важлива, з огляду на декомпозицію паретичного м'яза після ТрСМ (див. [90]).

Певною мірою зменшує достовірність даних, висвітлених у цій роботі, варіативність тривалості реальних термінів спостереження у групах і підгрупах (п. 2.6). На нашу думку, найістотніше значення цей фактор має у межах першого місяця відновного процесу, зокрема, для інтерпретації значень $V_{\text{ПФ}}$ і $V_{\text{ПС}}$. Попри це, драматична різниця ПФ і ПС у досліджуваних групах свідчить про достатню обґрунтованість сформульованих положень і висновків дисертації [181].

Одним із недоліків дизайну нашої роботи може виявитися факт утримання тварин деяких підгруп у клітках різного розміру (п. 2.2.3). Однак, слід враховувати відсутність достовірної різниці між значеннями як ПФ, так і ПС, при прямому їх порівнянні у тварин, котрі утримувались у клітках різного розміру на тлі нейроінженерних втручань після моделювання ОПП [41].

Іншим фактором, на котрий варто звернути увагу під час порівняння отриманих нами результатів з даними інших груп, є відома залежність результату аутогенного відновлення рухової функції травмованого спинного мозку від лінії залучених тварин [21, 181, 231, 232].

Нарешті, численні дані свідчать, що максимальна активність аутогенного нейропластичного процесу припадає на перші тижні після ТрСМ [25]. Однак, вибираючи часовий термін для відновного втручання слід також враховувати динаміку локальних запальних реакцій [6, 7, 80], котрі неодмінно супроводжуються збільшенням концентрації цитокінів й інших хімічних факторів

впливу на стан трансплантованих клітин [181]. У цьому сенсі важливо зазначити, що інфільтрація епіцентру травми нейтрофілами, активація клітин мікроглії і астроцитів (*тобто, клітин, котрі розгортають подальший запальний процес з продукцією його регуляторів*) відбувається протягом перших діб після ТрСМ [7]. Зважаючи на це, вибраний для верифікації ефективності біоінженерних засобів часовий дизайн дослідження видається оптимальним [181].

Висновки до розділу 4

1. Імплантація тунельованого матриксу на основі поліетиленгліколю, на відміну від РНРМА-гідрогелю, не впливає на перебіг найгострішого періоду ТрСМ, однак істотно збільшує значення ПФ протягом перших 2-х місяців і нівелює регрес ПФ на останніх 2-х місяцях спостереження.

2. Тунельований матрикс чинить відчутніший позитивний ефект на перебіг відновного процесу, аніж РНРМА-гідрогель, подовжуючи відновний процес до 6-го тижня спостереження.

3. Проростання нервових волокон через зону травми по зовнішній поверхні матриксу і у порожнинах тунелів є основним фактором відновлення рухової функції паретичної кінцівки за таких експериментальних умов.

4. Отримані нами дані перегукуються з результатами інших дослідницьких груп і водночас володіють значною оригінальністю.

5. Методологічний апарат досліджень ефективності біоінженерних засобів відновного лікування ТрСМ в умовах експерименту потребує вдосконалення.

ВИСНОВКИ

У дисертації на підставі проведеного комплексного експериментального дослідження представлено теоретичне узагальнення та новий підхід до вирішення актуальної наукової проблеми нейрохірургії — удосконалення відновного лікування травми спинного мозку.

1. Модель висічення бічного половинного фрагменту спинного мозку у нижньогрудному відділі молодих тварин відтворює глибокий однобічний руховий дефіцит, поєднаний зі стійким просторовим дефектом спинномозкової речовини, що дозволяє рекомендувати дану модель у якості інструменту вибору для апробації солідних біоінженерних засобів відновного лікування спінальної травми.

2. Імплантація РНРМА-гідрогелю у молодих тварин обумовлює істотний позитивний вплив на відновлення рухової функції паретичної кінцівки лише при тяжчій формі травми зі значним просторовим дефектом спинного мозку.

3. РНРМА-гідрогель, спричиняючи ранній суттєвий позитивний вплив на рухову функцію паретичної кінцівки, формує у зоні об'ємного травматичного дефекту спинного мозку умови для подальшого невпорядкованого росту аксонів, функціональна значимість якого неістотна.

4. Імплантація тунельованого матриксу на основі поліетиленгліколю, не впливаючи на перебіг найгострішого періоду травми, спричиняє поступове, протягом двох місяців травматичного процесу збільшення рухової функції паретичної кінцівки до рівня (6.4 ± 1.8) бала за шкалою BBB, що дев'ятикратно перевищує референтний показник.

5. У епіцентрі травми спинного мозку тунельований матрикс на основі поліетиленгліколю створює умови для односпрямованого росту нервових волокон, у тому числі у порожнинах тунелів, що є найімовірнішою причиною істотного відновлення рухової функції паретичної кінцівки за таких експериментальних умов.

6. Отримані дані дозволяють розглядати тунельований матрикс на основі поліетиленгліколю у якості базового елемента майбутніх біоінженерних засобів відновного лікування травми спинного мозку.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. DeVivo MJ. Epidemiology of traumatic spinal cord injury: trends and future implications. *Spinal Cord*. 2012 May;50(5):365-72. doi: 10.1038/sc.2011.178. Epub 2012 Jan 24. PMID: 22270188.
2. Merritt CH, Taylor MA, Yelton CJ, Ray SK. Economic impact of traumatic spinal cord injuries in the United States. *Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2019;6:9. doi: 10.20517/2347-8659.2019.15. Epub 2019 Jul 20. PMID: 33869674; PMCID: PMC8052100.
3. Oliveri RS, Bello S, Biering-Sørensen F. Mesenchymal stem cells improve locomotor recovery in traumatic spinal cord injury: systematic review with meta-analyses of rat models. *Neurobiol Dis*. 2014 Feb;62:338-53. doi: 10.1016/j.nbd.2013.10.014. Epub 2013 Oct 19. PMID: 24148857.
4. Pretz CR, Kozlowski AJ, Chen Y, Charlifue S, Heinemann AW. Trajectories of Life Satisfaction After Spinal Cord Injury. *Arch Phys Med Rehabil*. 2016 Oct;97(10):1706-1713.e1. doi: 10.1016/j.apmr.2016.04.022. Epub 2016 May 27. PMID: 27240429.
5. GBD 2016 Traumatic Brain Injury and Spinal Cord Injury Collaborators. Global, regional, and national burden of traumatic brain injury and spinal cord injury, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol*. 2019 Jan;18(1):56-87. doi: 10.1016/S1474-4422(18)30415-0. Epub 2018 Nov 26. PMID: 30497965; PMCID: PMC6291456.
6. Tran AP, Warren PM, Silver J. The Biology of Regeneration Failure and Success After Spinal Cord Injury. *Physiol Rev*. 2018 Apr 1;98(2):881-917. doi: 10.1152/physrev.00017.2017. PMID: 29513146; PMCID: PMC5966716.
7. Alizadeh A, Dyck SM, Karimi-Abdolrezaee S. Traumatic Spinal Cord Injury: An Overview of Pathophysiology, Models and Acute Injury Mechanisms. *Front Neurol*. 2019 Mar 22;10:282. doi: 10.3389/fneur.2019.00282. PMID: 30967837; PMCID: PMC6439316.

8. Swieck K, Conta-Steencken A, Middleton FA, Siebert JR, Osterhout DJ, Stelzner DJ. Effect of lesion proximity on the regenerative response of long descending propriospinal neurons after spinal transection injury. *BMC Neurosci*. 2019 Mar 18;20(1):10. doi: 10.1186/s12868-019-0491-y. PMID: 30885135; PMCID: PMC6421714.
9. Rao SN, Pearse DD. Regulating Axonal Responses to Injury: The Intersection between Signaling Pathways Involved in Axon Myelination and The Inhibition of Axon Regeneration. *Front Mol Neurosci*. 2016 Jun 8;9:33. doi: 10.3389/fnmol.2016.00033. PMID: 27375427; PMCID: PMC4896923.
10. Steeves JD. Bench to bedside: challenges of clinical translation. *Prog Brain Res*. 2015;218:227-39. doi: 10.1016/bs.pbr.2014.12.008. Epub 2015 Mar 28. PMID: 25890140.
11. Khorasanizadeh M, Yousefifard M, Eskian M, Lu Y, Chalangari M, Harrop JS, Jazayeri SB, Seyedpour S, Khodaei B, Hosseini M, Rahimi-Movaghar V. Neurological recovery following traumatic spinal cord injury: a systematic review and meta-analysis. *J Neurosurg Spine*. 2019 Feb 15:1-17. doi: 10.3171/2018.10.SPINE18802. Epub ahead of print. PMID: 30771786.
12. Manohar A, Foffani G, Ganzer PD, Bethea JR, Moxon KA. Cortex-dependent recovery of unassisted hindlimb locomotion after complete spinal cord injury in adult rats. *Elife*. 2017 Jun 29;6:e23532. doi: 10.7554/eLife.23532. PMID: 28661400; PMCID: PMC5499944.
13. Brown AR, Martinez M. From cortex to cord: motor circuit plasticity after spinal cord injury. *Neural Regen Res*. 2019 Dec;14(12):2054-2062. doi: 10.4103/1673-5374.262572. PMID: 31397332; PMCID: PMC6788232.
14. Zavvarian MM, Hong J, Fehlings MG. The Functional Role of Spinal Interneurons Following Traumatic Spinal Cord Injury. *Front Cell Neurosci*. 2020 May 18;14:127. doi: 10.3389/fncel.2020.00127. PMID: 32528250; PMCID: PMC7247430.
15. Ahuja CS, Nori S, Tetreault L, Wilson J, Kwon B, Harrop J, Choi D, Fehlings MG. Traumatic Spinal Cord Injury-Repair and Regeneration. *Neurosurgery*. 2017 Mar 1;80(3S):S9-S22. doi: 10.1093/neuros/nyw080. PMID: 28350947.

16. Liu S, Schackel T, Weidner N, Puttagunta R. Biomaterial-Supported Cell Transplantation Treatments for Spinal Cord Injury: Challenges and Perspectives. *Front Cell Neurosci*. 2018 Jan 11;11:430. doi: 10.3389/fncel.2017.00430. PMID: 29375316; PMCID: PMC5768640.
17. Wang Y, Tan H, Hui X. Biomaterial Scaffolds in Regenerative Therapy of the Central Nervous System. *Biomed Res Int*. 2018 Apr 1;2018:7848901. doi: 10.1155/2018/7848901. PMID: 29805977; PMCID: PMC5899851.
18. Liu S, Xie YY, Wang B. Role and prospects of regenerative biomaterials in the repair of spinal cord injury. *Neural Regen Res*. 2019 Aug;14(8):1352-1363. doi: 10.4103/1673-5374.253512. PMID: 30964053; PMCID: PMC6524500.
19. Zhang Q, Shi B, Ding J, Yan L, Thawani JP, Fu C, Chen X. Polymer scaffolds facilitate spinal cord injury repair. *Acta Biomater*. 2019 Apr 1;88:57-77. doi: 10.1016/j.actbio.2019.01.056. Epub 2019 Jan 31. PMID: 30710714.
20. Ung RV, Lapointe NP, Tremblay C, Larouche A, Guertin PA. Spontaneous recovery of hindlimb movement in completely spinal cord transected mice: a comparison of assessment methods and conditions. *Spinal Cord*. 2007 May;45(5):367-79. doi: 10.1038/sj.sc.3101970. Epub 2006 Sep 5. PMID: 16955071.
21. Mills CD, Hains BC, Johnson KM, Hulsebosch CE. Strain and model differences in behavioral outcomes after spinal cord injury in rat. *J Neurotrauma*. 2001 Aug;18(8):743-56. doi: 10.1089/089771501316919111. PMID: 11526981.
22. Webb AA, Muir GD. Compensatory locomotor adjustments of rats with cervical or thoracic spinal cord hemisections. *J Neurotrauma*. 2002 Feb;19(2):239-56. doi: 10.1089/08977150252806983. PMID: 11893025.
23. Arvanian VL, Schnell L, Lou L, Golshani R, Hunanyan A, Ghosh A, Pearse DD, Robinson JK, Schwab ME, Fawcett JW, Mendell LM. Chronic spinal hemisection in rats induces a progressive decline in transmission in uninjured fibers to motoneurons. *Exp Neurol*. 2009 Apr;216(2):471-80. doi: 10.1016/j.expneurol.2009.01.004. PMID: 19320005; PMCID: PMC2889190.
24. Zhao YY, Yuan Y, Chen Y, Jiang L, Liao RJ, Wang L, Zhang XN, Ohtsu H, Hu WW, Chen Z. Histamine promotes locomotion recovery after spinal cord hemisection

- via inhibiting astrocytic scar formation. *CNS Neurosci Ther.* 2015 May;21(5):454-62. doi: 10.1111/cns.12379. Epub 2015 Jan 24. PMID: 25620315; PMCID: PMC6495821.
25. Blesch A, Tuszynski MH. Spinal cord injury: plasticity, regeneration and the challenge of translational drug development. *Trends Neurosci.* 2009 Jan;32(1):41-7. doi: 10.1016/j.tins.2008.09.008. Epub 2008 Oct 30. PMID: 18977039.
26. Lemmon VP, Ferguson AR, Popovich PG, Xu XM, Snow DM, Igarashi M, Beattie CE, Bixby JL; MIASCI Consortium. Minimum information about a spinal cord injury experiment: a proposed reporting standard for spinal cord injury experiments. *J Neurotrauma.* 2014 Aug 1;31(15):1354-61. doi: 10.1089/neu.2014.3400. Epub 2014 Jul 11. PMID: 24870067; PMCID: PMC4120647.
27. Hoffman AM, Dow SW. Concise Review: Stem Cell Trials Using Companion Animal Disease Models. *Stem Cells.* 2016 Jul;34(7):1709-29. doi: 10.1002/stem.2377. Epub 2016 May 3. PMID: 27066769.
28. Assinck P, Duncan GJ, Hilton BJ, Plemel JR, Tetzlaff W. Cell transplantation therapy for spinal cord injury. *Nat Neurosci.* 2017 Apr 25;20(5):637-647. doi: 10.1038/nn.4541. PMID: 28440805.
29. Dietz V, Schwab ME. From the Rodent Spinal Cord Injury Model to Human Application: Promises and Challenges. *J Neurotrauma.* 2017 May 1;34(9):1826-1830. doi: 10.1089/neu.2016.4513. Epub 2016 Dec 21. PMID: 27286800.
30. Woerly S, Plant GW, Harvey AR. Cultured rat neuronal and glial cells entrapped within hydrogel polymer matrices: a potential tool for neural tissue replacement. *Neurosci Lett.* 1996 Mar 1;205(3):197-201. doi: 10.1016/0304-3940(96)12349-1. PMID: 8852592.
31. Woerly S, Pinet E, De Robertis L, Bousmina M, Laroche G, Roitback T, Vargová L, Syková E. Heterogeneous PHPMA hydrogels for tissue repair and axonal regeneration in the injured spinal cord. *J Biomater Sci Polym Ed.* 1998;9(7):681-711. doi: 10.1163/156856298x00091. PMID: 9686335.
32. Woerly S, Petrov P, Syková E, Roitbak T, Simonová Z, Harvey AR. Neural tissue formation within porous hydrogels implanted in brain and spinal cord lesions:

- ultrastructural, immunohistochemical, and diffusion studies. *Tissue Eng.* 1999 Oct;5(5):467-88. doi: 10.1089/ten.1999.5.467. PMID: 10586102.
33. Woerly S, Doan VD, Sosa N, de Vellis J, Espinosa A. Reconstruction of the transected cat spinal cord following NeuroGel implantation: axonal tracing, immunohistochemical and ultrastructural studies. *Int J Dev Neurosci.* 2001 *a* Feb;19(1):63-83. doi: 10.1016/s0736-5748(00)00064-2. PMID: 11226756.
34. Woerly S, Pinet E, de Robertis L, Van Diep D, Bousmina M. Spinal cord repair with PHPMA hydrogel containing RGD peptides (NeuroGel). *Biomaterials.* 2001 *b* May;22(10):1095-111. doi: 10.1016/s0142-9612(00)00354-9. PMID: 11352090.
35. Woerly S, Doan VD, Evans-Martin F, Paramore CG, Peduzzi JD. Spinal cord reconstruction using NeuroGel implants and functional recovery after chronic injury. *J Neurosci Res.* 2001 *c* Dec 15;66(6):1187-97. doi: 10.1002/jnr.1255. PMID: 11746452.
36. Woerly S, Doan VD, Sosa N, de Vellis J, Espinosa-Jeffrey A. Prevention of gliotic scar formation by NeuroGel allows partial endogenous repair of transected cat spinal cord. *J Neurosci Res.* 2004 Jan 15;75(2):262-72. doi: 10.1002/jnr.10774. PMID: 14705147.
37. Woerly S, Awosika O, Zhao P, Agbo C, Gomez-Pinilla F, de Vellis J, Espinosa-Jeffrey A. Expression of heat shock protein (HSP)-25 and HSP-32 in the rat spinal cord reconstructed with Neurogel. *Neurochem Res.* 2005 Jun-Jul;30(6-7):721-35. doi: 10.1007/s11064-005-6866-8. PMID: 16187209.
38. Pertici V, Amendola J, Laurin J, Gigmes D, Madaschi L, Carelli S, Marqueste T, Gorio A, Decherchi P. The use of poly(N-[2-hydroxypropyl]-methacrylamide) hydrogel to repair a T10 spinal cord hemisection in rat: a behavioural, electrophysiological and anatomical examination. *ASN neuro.* 2013;5(2):149-66. <https://doi.org/10.1042/AN20120082>.
39. Цимбалюк ВІ, Медведєв ВВ. Вплив трансплантації синтетичного макропористого гідрогелю та клітин нюхової цибулини на процеси регенерації спинного мозку після його травматичного пошкодження в експерименті. *Журнал АМН України.* 2008;14(1):74-93.

40. Цимбалюк ВІ, Носов АТ, Ямінський ЮЯ, Васлович ВВ, Медведєв ВВ. Ультраструктурні особливості процесу організації в зоні травматичного ушкодження спинного мозку та імплантації синтетичного макропористого гідрогелю. Український нейрохірургічний журн. 2009;4:51-5.
41. Kozyavkin VI, Tsymbaliuk VI, Medvediev VV, Rybachuk OA, Draguntsova NG. The effect of spontaneous locomotor activity restriction on the course of spasticity syndrome after spinal cord injury and NeuroGel™ associated with neural stem cells implantation. [Internet]. Bukovinian Medical Herald. 2016;20(4):83-9. [cited 2021 May 27]. Available from: <https://doi.org/10.24061/2413-0737.XX.4.80.2016.196>. Козявкін ВІ, Цимбалюк ВІ, Медведєв ВВ та ін. Вплив обмеження спонтанної локомоторної активності на перебіг синдрому спастичності за умови експериментальної травми спинного мозку та імплантації матриксу NeuroGel™, асоційованого з нейрогенними стовбуровими клітинами. Буковинський медичний вісник. 2016;20(4):83-9. [цит. за 27, Травень 2021] Доступний у: <https://doi.org/10.24061/2413-0737.XX.4.80.2016.196>
42. Tsymbaliuk VI, Medvediev VV, Rybachuk OA, Kozyavkin VI, Draguntsova NG. The effect of implantation of NeuroGel™ used with xenogenic bone marrow stem cells on motor function recovery after experimental spinal cord injury. [Internet] International Neurological Journal. 2016;(6):13-9 [cited 2021 May 27]. Available from: <http://www.mif-ua.com/archive/article/43781>. <http://dx.doi.org/10.22141/2224-0713.6.84.2016.83117>. Цимбалюк ВІ, Медведєв ВВ, Рибачук ОА, Козявкін ВІ, Драгунцова НГ. Вплив імплантації NeuroGel™ у асоціації з ксеногенними стовбуровими клітинами кісткового мозку на відновлення рухової функції задньої кінцівки щура після спінальної травми. Міжнародний неврологічний журнал. 2016;(6):13-9 [цит. за 27, Травень 2021] Доступний у: <http://www.mif-ua.com/archive/article/43781>. <http://dx.doi.org/10.22141/2224-0713.6.84.2016.83117>
43. Tsymbaliuk VI, Medvediev VV, Rybachuk OA, Kozyavkin VI, Draguntsova NG. The effect of Neurogel™ used with bone marrow stem cells implantation on the course of the spasticity syndrome after experimental spinal cord injury. [Internet] International Neurological Journal. 2016;(7):20-6 [cited 2021 May 27]. Available from:

<http://inj.zaslavsky.com.ua/article/view/86913/140867>. <https://doi.org/10.22141/2224-0713.7.85.2016.86913>. Цимбалюк ВІ, Медведєв ВВ, Рибачук ОА, Козьявкін ВІ, Драгунцова НГ. Вплив імплантації NeuroGel™ у асоціації з ксеногенними стовбуровими клітинами кісткового мозку на динаміку синдрому спастичності після спінальної травми в експерименті. Міжнародний неврологічний журнал. 2016;(7):20-6 [цит. за 27, Травень 2021] Доступний у: <http://inj.zaslavsky.com.ua/article/view/86913/140867>. <https://doi.org/10.22141/2224-0713.7.85.2016.86913>.

44. Tsymbalyuk VI, Medvedyev VV, Rybachuk OA, Kozyavkin VI, Draguntsova NG, Nesterenko DG. [Impact of xenotransplantation of neurogenic stem cells in complex with the tissue matrix NeuroGel™ on restoration of motor function of a rat spinal cord after experimental spinal trauma]. Klin Khir. 2017;(1):64-6. Ukrainian. PMID: 30272923. KH [Internet]. 2017 Jul. 5 [cited 2021 May 27];0(1):64-6. Available from: <https://hirurgiya.com.ua/index.php/journal/article/view/21>. Цимбалюк ВІ, Медведєв ВВ, Рибачук ОА, Козьявкін ВІ, Драгунцова НГ, Нестеренко ДГ. Вплив ксенотрансплантації нейрогенних стовбурових клітин у комплексі з тканинним матриксом NeuroGel™ на відновлення рухової функції спинного мозку щура після експериментальної спінальної травми. Клінічна Хірургія [інтернет]. 05, Липень 2017 [цит. за 27, Травень 2021];0(1):64-6. доступний у: <https://hirurgiya.com.ua/index.php/journal/article/view/21>.

45. Tsymbaliuk VI, Medvediev VV, Vasiliev RG, Rybachuk OA, Kozyavkin VI, Draguntsova NG. The effect of Neurogel with neural crest stem cells implantation on motor function recovery after experimental spinal cord injury. [Internet]. Ukrainian Neurological Journal. 2017;(1):65-71. Ukrainian. [cited 2021 May 27]. Available from: http://www.vitapol.com.ua/user_files/pdfs/neuro/neu42iunj-1-17-10.pdf. Цимбалюк ВІ, Медведєв ВВ, Васильєв РГ, Рибачук ОА, Козьявкін ВІ, Драгунцова НГ. Вплив імплантації NeuroGel у поєднанні з ксеногенними стовбуровими клітинами нервового гребня на відновлення рухової функції задніх кінцівок щура після травми спинного мозку. Український неврологічний журнал. 2017;(1):65-71. [цит.

за 27, Травень 2021]. Доступний у:

http://www.vitapol.com.ua/user_files/pdfs/neuro/neu42iunj-1-17-10.pdf.

46. Tsymbalyuk VI, Medvedyev VV, Rybachuk OA, Kozyavkin VI, Draguntsova NG. [The impact of xenotransplantation of neurogenic stem cells in complex with the tissue matrix NeuroGel™ on the posttraumatic spasticity syndrome course in experiment].

Klin Khir. 2017;(3):44-7. Ukrainian. PMID: 30273479. [Internet]. 2017 Jul. 6 [cited 2021 May 27];(3):44-7. Available from:

<https://hirurgiya.com.ua/index.php/journal/article/view/66>. Цимбалюк ВІ, Медведєв ВВ, Рибачук ОА, Козявкін ВІ, Драгунцова НГ. Вплив ксенотрансплантації нейрогенних стовбурових клітин у комплексі з тканинним матриксом NeuroGel™ на перебіг синдрому посттравматичної спастичності в експерименті. Клінічна Хірургія [Інтернет]. 06, Липень 2017 [цит. за 27, Травень 2021];(3):44-7. доступний у: <https://hirurgiya.com.ua/index.php/journal/article/view/66>.

47. Tsymbaliuk VI, Medvediev VV, Vasiliev RG, Rybachuk OA, Kozyavkin VI, Draguntsova NG. The effect of Neurogel™ with xenogenic neural crest stem cells implantation on the course of spasticity syndrome after experimental spinal cord injury. [Internet] International Neurological Journal. 2017;(1):12-7 [cited 2021 May 27]. Available from:

<http://inj.zaslavsky.com.ua/article/view/96533/140812>. <https://doi.org/10.22141/2224-0713.1.87.2017.96533>. Цимбалюк ВІ, Медведєв ВВ, Васильєв РГ, Рибачук ОА, Козявкін ВІ, Драгунцова НГ. Вплив імплантації NeuroGel™ у поєднанні з ксеногенними стовбуровими клітинами нервового гребня на перебіг синдрому спастичності після експериментальної травми спинного мозку. Міжнародний неврологічний журнал. 2017;(1):12-7 [цит. за 27, Травень 2021] Доступний у: <http://inj.zaslavsky.com.ua/article/view/96533/140812>. <https://doi.org/10.22141/2224-0713.1.87.2017.96533>.

48. Tsymbaliuk VI, Medvediev VV, Senchyk YuYu, Draguntsova NG. Comparative analysis of the dynamics of rat's paretic limb motor function restoration following a spinal cord trauma and restorative neuroengineering interventions involving mesenchymal and neural stem cells. [Internet]. International Neurological Journal. 2017;(7):16-22 [cited 2021 May 27]. Available from:

<http://inj.zaslavsky.com.ua/article/view/116543/140629>.

<https://doi.org/10.22141/2224-0713.7.93.2017.116543>. Цимбалюк ВІ, Медведєв ВВ, Сенчик ЮЮ, Драгунцова НГ. Порівняльний аналіз динаміки відновлення рухової функції паретичної кінцівки щура після травми спинного мозку та відновних нейроінженерних втручань із використанням стовбурових клітин мезенхімального й нейрогенного фенотипу. Міжнародний неврологічний журнал. 2017;(7):16-22. [цит. за 27, Травень 2021] Доступний у: <http://inj.zaslavsky.com.ua/article/view/116543/140629>.

<https://doi.org/10.22141/2224-0713.7.93.2017.116543>.

49. Tsymbaliuk VI, Medvediev VV, Senchyk YuYu, Draguntsova NG. Comparative analysis of the rat's paretic limb spasticity dynamics following a spinal cord trauma and restorative neuroengineering interventions involving mesenchymal and neural stem cells. [Internet]. International Neurological Journal. 2018;(3):5-12 [cited 2021 May 27]. Available from: <http://inj.zaslavsky.com.ua/article/view/133676/139628>.

<https://doi.org/10.22141/2224-0713.3.97.2018.133676>. Цимбалюк ВІ, Медведєв ВВ, Сенчик ЮЮ, Драгунцова НГ. Порівняльний аналіз динаміки спастичності паретичної кінцівки щура після травми спинного мозку та відновних нейроінженерних втручань з використанням стовбурових клітин мезенхімального і нейрогенного фенотипу. Міжнародний неврологічний журнал. 2018;(3):5-12. [цит. за 27, Травень 2021] Доступний у: <http://inj.zaslavsky.com.ua/article/view/133676/139628>.

<https://doi.org/10.22141/2224-0713.3.97.2018.133676>.

50. Koffler J, Zhu W, Qu X, Platoshyn O, Dulin JN, Brock J, Graham L, Lu P, Sakamoto J, Marsala M, Chen S, Tuszynski MH. Biomimetic 3D-printed scaffolds for spinal cord injury repair. Nat Med. 2019 Feb;25(2):263-269. doi: 10.1038/s41591-018-0296-z. Epub 2019 Jan 14. PMID: 30643285; PMCID: PMC6559945.

51. Li X, Chen Z, Zhang H, Zhuang Y, Shen H, Chen Y, Zhao Y, Chen B, Xiao Z, Dai J. Aligned Scaffolds with Biomolecular Gradients for Regenerative Medicine. Polymers (Basel). 2019 Feb 15;11(2):341. doi: 10.3390/polym11020341. PMID: 30960327; PMCID: PMC6419173.

52. Schwab ME, Bartholdi D. Degeneration and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. *Physiol Rev*. 1996 Apr;76(2):319-70. doi: 10.1152/physrev.1996.76.2.319. PMID: 8618960.
53. Sutherland TC, Geoffroy CG. The Influence of Neuron-Extrinsic Factors and Aging on Injury Progression and Axonal Repair in the Central Nervous System. *Front Cell Dev Biol*. 2020 Mar 25;8:190. doi: 10.3389/fcell.2020.00190. PMID: 32269994; PMCID: PMC7109259.
54. Тарасенко ОМ. Хребетно-спинномозкова травма (клінічна епідеміологія, довгострокові результати лікування, медико-соціальна експертиза та реабілітація) [автореферат дисертації в Інтернеті]. Київ: ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України»; 2017. [цитовано 2021 Лип 9] Доступно: https://drive.google.com/file/d/0B26W8_MMDXPvWW1WNGJQMjB3dkU/view.
55. Kumar R, Lim J, Mekary RA, Rattani A, Dewan MC, Sharif SY, Osorio-Fonseca E, Park KB. Traumatic Spinal Injury: Global Epidemiology and Worldwide Volume. *World Neurosurg*. 2018 May;113:e345-e363. doi: 10.1016/j.wneu.2018.02.033. Epub 2018 Feb 14. PMID: 29454115.
56. Singh A, Tetreault L, Kalsi-Ryan S, Nouri A, Fehlings MG. Global prevalence and incidence of traumatic spinal cord injury. *Clin Epidemiol*. 2014 Sep 23;6:309-31. doi: 10.2147/CLEP.S68889. PMID: 25278785; PMCID: PMC4179833.
57. Spinal cord injury [Internet]. World Health Organization; 2013 [19 November 2013; cited 2021 Jul 9]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs384/en/>.
58. Nielsen JB, Crone C, Hultborn H. The spinal pathophysiology of spasticity--from a basic science point of view. *Acta Physiol (Oxf)*. 2007 Feb;189(2):171-80. doi: 10.1111/j.1748-1716.2006.01652.x. PMID: 17250567.
59. Holtz KA, Lipson R, Noonan VK, Kwon BK, Mills PB. Prevalence and Effect of Problematic Spasticity After Traumatic Spinal Cord Injury. *Arch Phys Med Rehabil*. 2017 Jun;98(6):1132-1138. doi: 10.1016/j.apmr.2016.09.124. Epub 2016 Oct 22. PMID: 27780743.

60. Finnerup NB, Norrbrink C, Trok K, Piehl F, Johannesen IL, Sørensen JC, Jensen TS, Werhagen L. Phenotypes and predictors of pain following traumatic spinal cord injury: a prospective study. *J Pain*. 2014 Jan;15(1):40-8. doi: 10.1016/j.jpain.2013.09.008. Epub 2013 Oct 1. PMID: 24268112.
61. Hou S, Rabchevsky AG. Autonomic consequences of spinal cord injury. *Compr Physiol*. 2014 Oct;4(4):1419-53. doi: 10.1002/cphy.c130045. PMID: 25428850.
62. Partida E, Mironets E, Hou S, Tom VJ. Cardiovascular dysfunction following spinal cord injury. *Neural Regen Res*. 2016 Feb;11(2):189-94. doi: 10.4103/1673-5374.177707. PMID: 27073353; PMCID: PMC4810964.
63. Holmes GM, Blanke EN. Gastrointestinal dysfunction after spinal cord injury. *Exp Neurol*. 2019 Oct;320:113009. doi: 10.1016/j.expneurol.2019.113009. Epub 2019 Jul 9. PMID: 31299180; PMCID: PMC6716787.
64. Hamid R, Averbeck MA, Chiang H, Garcia A, Al Mousa RT, Oh SJ, Patel A, Plata M, Del Popolo G. Epidemiology and pathophysiology of neurogenic bladder after spinal cord injury. *World J Urol*. 2018 Oct;36(10):1517-1527. doi: 10.1007/s00345-018-2301-z. Epub 2018 May 11. PMID: 29752515.
65. Stoffel JT, Van der Aa F, Wittmann D, Yande S, Elliott S. Fertility and sexuality in the spinal cord injury patient. *World J Urol*. 2018 Oct;36(10):1577-1585. doi: 10.1007/s00345-018-2347-y. Epub 2018 Jun 14. PMID: 29948051.
66. Lim SW, Shiue YL, Ho CH, Yu SC, Kao PH, Wang JJ, Kuo JR. Anxiety and Depression in Patients with Traumatic Spinal Cord Injury: A Nationwide Population-Based Cohort Study. *PLoS One*. 2017 Jan 12;12(1):e0169623. doi: 10.1371/journal.pone.0169623. PMID: 28081205; PMCID: PMC5231351.
67. Wan FJ, Chien WC, Chung CH, Yang YJ, Tzeng NS. Association between traumatic spinal cord injury and affective and other psychiatric disorders-A nationwide cohort study and effects of rehabilitation therapies. *J Affect Disord*. 2020 Mar 15;265:381-388. doi: 10.1016/j.jad.2020.01.063. Epub 2020 Jan 15. PMID: 32090763.
68. Sachdeva R, Gao F, Chan CCH, Krassioukov AV. Cognitive function after spinal cord injury: A systematic review. *Neurology*. 2018 Sep 25;91(13):611-621. doi:

10.1212/WNL.00000000000006244. Epub 2018 Aug 29. PMID: 30158159; PMCID: PMC6161545.

69. Цимбалюк ВІ, Медведєв ВВ, Марущенко МО, Лузан БМ, Дмитерко ПІ, Троян ОІ; Цимбалюк ВІ, редактор. Нейрохірургія: Підручник. 2-ге вид. Вінниця: Нова Книга; 2020. 360 с.

70. Güzelküçük Ü, Demir Y, Kesikburun S, Aras B, Yavuz F, Yaşar E, Yılmaz B. Spinal cord injury resulting from gunshot wounds: a comparative study with non-gunshot causes. *Spinal Cord*. 2016 Sep;54(9):737-41. doi: 10.1038/sc.2016.29. Epub 2016 Mar 1. PMID: 26927292.

71. lacerate (v.) [Internet]. Online Etymology Dictionary [cited 2021 Jul 9]. Available from: https://www.etymonline.com/word/lacerate?ref=etymonline_crossreference.

72. laceration [Internet]. PubMed [cited 2021 Jul 9]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=laceration&sort=date>.

73. de Barros Filho TEP, Cristante AF, Marcon RM, Ono A, Bilhar R. Gunshot injuries in the spine. *Spinal Cord*. 2014;52(7):504–10.

74. Гурьєв СО, Кравцов ДІ, Ордатій АВ, Казачков ВС. Клініко-нозологічна та клініко-анатомічна характеристика постраждалих із мінно-вибуховою травмою на ранньому госпітальному етапі надання медичної допомоги в умовах сучасних бойових дій на прикладі проведення антитерористичної операції на сході України. *Хірургія України*. 2016;1:7-11.

75. Florman JE, Duffau H, Rughani AI. Lower motor neuron findings after upper motor neuron injury: insights from postoperative supplementary motor area syndrome. *Front Hum Neurosci*. 2013 Mar 18;7:85. doi: 10.3389/fnhum.2013.00085. PMID: 23508473; PMCID: PMC3600571.

76. Ahuja CS, Fehlings M. Concise Review: Bridging the Gap: Novel Neuroregenerative and Neuroprotective Strategies in Spinal Cord Injury. *Stem Cells Transl Med*. 2016 Jul;5(7):914-24. doi: 10.5966/sctm.2015-0381. Epub 2016 Apr 29. PMID: 27130222; PMCID: PMC4922857.

77. Fehlings MG, Tetreault LA, Wilson JR, Aarabi B, Anderson P, Arnold PM, Brodke DS, Burns AS, Chiba K, Dettori JR, Furlan JC, Hawryluk G, Holly LT, Howley S, Jeji

T, Kalsi-Ryan S, Kotter M, Kurpad S, Marino RJ, Martin AR, Massicotte E, Merli G, Middleton JW, Nakashima H, Nagoshi N, Palmieri K, Singh A, Skelly AC, Tsai EC, Vaccaro A, Yee A, Harrop JS. A Clinical Practice Guideline for the Management of Patients With Acute Spinal Cord Injury and Central Cord Syndrome: Recommendations on the Timing (≤ 24 Hours Versus >24 Hours) of Decompressive Surgery. *Global Spine J.* 2017 Sep;7(3 Suppl):195S-202S. doi: 10.1177/2192568217706367. Epub 2017 Sep 5. PMID: 29164024; PMCID: PMC5684850.

78. Falci SP, Indeck C, Lammertse DP. Posttraumatic spinal cord tethering and syringomyelia: surgical treatment and long-term outcome. *J Neurosurg Spine.* 2009 Oct;11(4):445-60. doi: 10.3171/2009.4.SPINE09333. PMID: 19929342.

79. Li X, Chen Q, Zheng W, Chen X, Wang L, Qin W, Li K, Lu J, Chen N. Inconsistency between cortical reorganization and functional connectivity alteration in the sensorimotor cortex following incomplete cervical spinal cord injury. *Brain Imaging Behav.* 2020 Dec;14(6):2367-2377. doi: 10.1007/s11682-019-00190-9. PMID: 31444779.

80. Garcia E, Aguilar-Cevallos J, Silva-Garcia R, Ibarra A. Cytokine and Growth Factor Activation In Vivo and In Vitro after Spinal Cord Injury. *Mediators Inflamm.* 2016;2016:9476020. doi: 10.1155/2016/9476020. Epub 2016 Jun 23. PMID: 27418745; PMCID: PMC4935915.

81. Ko CC, Tu TH, Wu JC, Huang WC, Cheng H. Acidic Fibroblast Growth Factor in Spinal Cord Injury. *Neurospine.* 2019 Dec;16(4):728-738. doi: 10.14245/ns.1836216.108. Epub 2019 Jan 15. PMID: 30653905; PMCID: PMC6944993.

82. Filipp ME, Travis BJ, Henry SS, Idzikowski EC, Magnuson SA, Loh MY, Hellenbrand DJ, Hanna AS. Differences in neuroplasticity after spinal cord injury in varying animal models and humans. *Neural Regen Res.* 2019 Jan;14(1):7-19. doi: 10.4103/1673-5374.243694. PMID: 30531063; PMCID: PMC6263009.

83. Li X, Liu D, Xiao Z, Zhao Y, Han S, Chen B, Dai J. Scaffold-facilitated locomotor improvement post complete spinal cord injury: Motor axon regeneration versus

- endogenous neuronal relay formation. *Biomaterials*. 2019 Mar;197:20-31. doi: 10.1016/j.biomaterials.2019.01.012. Epub 2019 Jan 7. PMID: 30639547.
84. Zareen N, Shinozaki M, Ryan D, Alexander H, Amer A, Truong DQ, Khadka N, Sarkar A, Naeem S, Bikson M, Martin JH. Motor cortex and spinal cord neuromodulation promote corticospinal tract axonal outgrowth and motor recovery after cervical contusion spinal cord injury. *Exp Neurol*. 2017 Nov;297:179-189. doi: 10.1016/j.expneurol.2017.08.004. Epub 2017 Aug 10. PMID: 28803750; PMCID: PMC5612913.
85. Fisher KM, Lilak A, Garner J, Darian-Smith C. Extensive somatosensory and motor corticospinal sprouting occurs following a central dorsal column lesion in monkeys. *J Comp Neurol*. 2018 Oct 15;526(15):2373-2387. doi: 10.1002/cne.24491. Epub 2018 Sep 25. PMID: 30014461; PMCID: PMC6366862.
86. Deng J, Xie H, Chen Y, Peng Z, Zhao J, Zhou Y, Chen C, Zhang K. Comparative study of the reorganization in bilateral motor and sensory cortices after spinal cord hemisection in mice. *Neuroreport*. 2021 Jun 22. doi: 10.1097/WNR.0000000000001694. Epub ahead of print. PMID: 34173791.
87. Zhang KX, Zhao JJ, Chai W, Chen JY. Synaptic remodeling in mouse motor cortex after spinal cord injury. *Neural Regen Res*. 2021 Apr;16(4):744-749. doi: 10.4103/1673-5374.295346. PMID: 33063737; PMCID: PMC8067930.
88. Laliberte AM, Goltash S, Lalonde NR, Bui TV. Propriospinal Neurons: Essential Elements of Locomotor Control in the Intact and Possibly the Injured Spinal Cord. *Front Cell Neurosci*. 2019 Nov 12;13:512. doi: 10.3389/fncel.2019.00512. PMID: 31798419; PMCID: PMC6874159.
89. Ditunno JF, Little JW, Tessler A, Burns AS. Spinal shock revisited: a four-phase model. *Spinal Cord*. 2004 Jul;42(7):383-95. doi: 10.1038/sj.sc.3101603. PMID: 15037862.
90. D'Amico JM, Condliffe EG, Martins KJ, Bennett DJ, Gorassini MA. Recovery of neuronal and network excitability after spinal cord injury and implications for spasticity. *Front Int Neurosci [Internet]*. 2014 May 12 [cited 2016 Nov 27];8:36. Available from:

<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnint.2014.00036/full>.

doi:

10.3389/fnint.2014.00036.

91. Platz T, Eickhof C, Nuyens G, Vuadens P. Clinical scales for the assessment of spasticity, associated phenomena, and function: a systematic review of the literature. *Disabil Rehabil.* 2005 Jan 7-21;27(1-2):7-18. doi: 10.1080/09638280400014634. PMID: 15799141.
92. Miura N, Watanabe T. Potential of M-Wave Elicited by Double Pulse for Muscle Fatigue Evaluation in Intermittent Muscle Activation by Functional Electrical Stimulation for Motor Rehabilitation. *J Med Eng.* 2016;2016:6957287. doi: 10.1155/2016/6957287. Epub 2016 Mar 27. PMID: 27110556; PMCID: PMC4826699.
93. Barakat MI, Elhady W, Gouda M, Taha M, Metwaly I. Surgical management of intractable spasticity. *Eur Spine J.* 2016 Mar;25(3):928-35. doi: 10.1007/s00586-015-4326-y. Epub 2015 Dec 14. Retraction in: Barakat MI, Elhady W, Gouda M, Taha M, Metwaly I. *Eur Spine J.* 2016 Aug;25(8):2676. PMID: 26667812.
94. Burke D, Wissel J, Donnan GA. Pathophysiology of spasticity in stroke. *Neurology.* 2013 Jan 15;80(3 Suppl 2):S20-6. doi: 10.1212/WNL.0b013e31827624a7. PMID: 23319482.
95. Chopek JW, Sheppard PC, Gardiner K, Gardiner PF. Serotonin receptor and KCC2 gene expression in lumbar flexor and extensor motoneurons posttransection with and without passive cycling. *J Neurophysiol.* 2015 Mar 1;113(5):1369-76. doi: 10.1152/jn.00550.2014. Epub 2014 Dec 10. PMID: 25505109.
96. Boulenguez P, Liabeuf S, Bos R, Bras H, Jean-Xavier C, Brocard C, Stil A, Darbon P, Cattaert D, Delpire E, Marsala M, Vinay L. Down-regulation of the potassium-chloride cotransporter KCC2 contributes to spasticity after spinal cord injury. *Nat Med.* 2010 Mar;16(3):302-7. doi: 10.1038/nm.2107. Epub 2010 Feb 28. PMID: 20190766.
97. Wienecke J, Westerdahl AC, Hultborn H, Kiehn O, Ryge J. Global gene expression analysis of rodent motor neurons following spinal cord injury associates molecular mechanisms with development of postinjury spasticity. *J Neurophysiol.* 2010 Feb;103(2):761-78. doi: 10.1152/jn.00609.2009. Epub 2009 Nov 25. PMID: 19939961.

98. Heckman CJ, Enoka RM. Motor unit. *Compr Physiol*. 2012 Oct;2(4):2629-82. doi: 10.1002/cphy.c100087. PMID: 23720261.
99. Stamm S, Gruber SB, Rabchevsky AG, Emeson RB. The activity of the serotonin receptor 2C is regulated by alternative splicing. *Hum Genet*. 2017 Sep;136(9):1079-1091. doi: 10.1007/s00439-017-1826-3. Epub 2017 Jun 29. PMID: 28664341; PMCID: PMC5873585.
100. Di Narzo AF, Kozlenkov A, Ge Y, Zhang B, Sanelli L, May Z, Li Y, Fouad K, Cardozo C, Koonin EV, Bennett DJ, Dracheva S. Decrease of mRNA Editing after Spinal Cord Injury is Caused by Down-regulation of ADAR2 that is Triggered by Inflammatory Response. *Sci Rep*. 2015 Jul 30;5:12615. doi: 10.1038/srep12615. PMID: 26223940; PMCID: PMC4519770.
101. Fukuda M, Oyama Y, Nishitarumizu A, Omura M, Nose K, Deshimaru M. Identification of an RNA element for specific coordination of A-to-I RNA editing on HTR2C pre-mRNA. *Genes Cells*. 2015 Oct;20(10):834-46. doi: 10.1111/gtc.12272. Epub 2015 Aug 11. PMID: 26259820.
102. Ren LQ, Wienecke J, Hultborn H, Zhang M. Production of Dopamine by Aromatic l-Amino Acid Decarboxylase Cells after Spinal Cord Injury. *J Neurotrauma*. 2016 Jun 15;33(12):1150-60. doi: 10.1089/neu.2015.4037. Epub 2016 Mar 30. PMID: 26830512.
103. Ren LQ, Wienecke J, Chen M, Møller M, Hultborn H, Zhang M. The time course of serotonin 2C receptor expression after spinal transection of rats: an immunohistochemical study. *Neuroscience*. 2013 Apr 16;236:31-46. doi: 10.1016/j.neuroscience.2012.12.063. Epub 2013 Jan 18. PMID: 23337537.
104. Pandyan AD, Gregoric M, Barnes MP, Wood D, Van Wijck F, Burridge J, Hermens H, Johnson GR. Spasticity: clinical perceptions, neurological realities and meaningful measurement. *Disabil Rehabil*. 2005 Jan 7-21;27(1-2):2-6. doi: 10.1080/09638280400014576. PMID: 15799140.
105. Rank MM, Murray KC, Stephens MJ, D'Amico J, Gorassini MA, Bennett DJ. Adrenergic receptors modulate motoneuron excitability, sensory synaptic transmission and muscle spasms after chronic spinal cord injury. *J Neurophysiol*. 2011

Jan;105(1):410-22. doi: 10.1152/jn.00775.2010. Epub 2010 Nov 3. PMID: 21047936; PMCID: PMC3023364.

106. Wienecke J, Ren LQ, Hultborn H, Chen M, Møller M, Zhang Y, Zhang M. Spinal cord injury enables aromatic L-amino acid decarboxylase cells to synthesize monoamines. *J Neurosci.* 2014 Sep 3;34(36):11984-2000. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3838-13.2014. PMID: 25186745; PMCID: PMC6608456.

107. Li Y, Li L, Stephens MJ, Zenner D, Murray KC, Winship IR, Vavrek R, Baker GB, Fouad K, Bennett DJ. Synthesis, transport, and metabolism of serotonin formed from exogenously applied 5-HTP after spinal cord injury in rats. *J Neurophysiol.* 2014 Jan;111(1):145-63. doi: 10.1152/jn.00508.2013. Epub 2013 Sep 25. PMID: 24068759; PMCID: PMC3921369.

108. Brown A, Weaver LC. The dark side of neuroplasticity. *Exp Neurol.* 2012 May;235(1):133-41. doi: 10.1016/j.expneurol.2011.11.004. Epub 2011 Nov 12. PMID: 22116043; PMCID: PMC4851547.

109. Dietz V. Neuronal plasticity after a human spinal cord injury: positive and negative effects. *Exp Neurol.* 2012 May;235(1):110-5. doi: 10.1016/j.expneurol.2011.04.007. Epub 2011 Apr 20. PMID: 21530507.

110. Jean-Xavier C, Sharples SA, Mayr KA, Lognon AP, Whelan PJ. Retracing your footsteps: developmental insights to spinal network plasticity following injury. *J Neurophysiol.* 2018 Feb 1;119(2):521-536. doi: 10.1152/jn.00575.2017. Epub 2017 Oct 25. PMID: 29070632; PMCID: PMC5867381.

111. Kopach O, Medvediev V, Krotov V, Borisyuk A, Tsymbaliuk V, Voitenko N. Opposite, bidirectional shifts in excitation and inhibition in specific types of dorsal horn interneurons are associated with spasticity and pain post-SCI. *Sci Rep.* 2017 Jul 19;7(1):5884. doi: 10.1038/s41598-017-06049-7. PMID: 28724992; PMCID: PMC5517549.

112. Finnerup NB. Neuropathic pain and spasticity: intricate consequences of spinal cord injury. *Spinal Cord.* 2017 Dec;55(12):1046-1050. doi: 10.1038/sc.2017.70. Epub 2017 Jul 11. PMID: 28695904.

113. Shiao R, Lee-Kubli CA. Neuropathic Pain After Spinal Cord Injury: Challenges and Research Perspectives. *Neurotherapeutics*. 2018 Jul;15(3):635-653. doi: 10.1007/s13311-018-0633-4. PMID: 29736857; PMCID: PMC6095789.
114. Hubbard JM, Böhm UL, Prendergast A, Tseng PB, Newman M, Stokes C, Wyart C. Intraspinal Sensory Neurons Provide Powerful Inhibition to Motor Circuits Ensuring Postural Control during Locomotion. *Curr Biol*. 2016 Nov 7;26(21):2841-2853. doi: 10.1016/j.cub.2016.08.026. Epub 2016 Oct 6. PMID: 27720623.
115. Jalalvand E, Robertson B, Tostivint H, Wallén P, Grillner S. The Spinal Cord Has an Intrinsic System for the Control of pH. *Curr Biol*. 2016 May 23;26(10):1346-51. doi: 10.1016/j.cub.2016.03.048. Epub 2016 Apr 28. PMID: 27133867.
116. Jalalvand E, Robertson B, Wallén P, Grillner S. Ciliated neurons lining the central canal sense both fluid movement and pH through ASIC3. *Nat Commun*. 2016 Jan 8;7:10002. doi: 10.1038/ncomms10002. PMID: 26743691; PMCID: PMC4729841.
117. Djenoune L, Wyart C. Light on a sensory interface linking the cerebrospinal fluid to motor circuits in vertebrates. *J Neurogenet*. 2017 Sep;31(3):113-127. doi: 10.1080/01677063.2017.1359833. Epub 2017 Aug 8. PMID: 28789587.
118. Lu X, Perera TH, Aria AB, Callahan LAS. Polyethylene glycol in spinal cord injury repair: a critical review. *J Exp Pharmacol*. 2018 Jul 27;10:37-49. doi: 10.2147/JEP.S148944. PMID: 30100766; PMCID: PMC6067622.
119. Cizkova D, Murgoci AN, Cubinkova V, Humenik F, Mojzisova Z, Maloveska M, Cizek M, Fournier I, Salzet M. Spinal Cord Injury: Animal Models, Imaging Tools and the Treatment Strategies. *Neurochem Res*. 2020 Jan;45(1):134-143. doi: 10.1007/s11064-019-02800-w. Epub 2019 Apr 20. PMID: 31006093.
120. Shah M, Peterson C, Yilmaz E, Halalmeh DR, Moisi M. Current advancements in the management of spinal cord injury: A comprehensive review of literature. *Surg Neurol Int*. 2020 Jan 3;11:2. doi: 10.25259/SNI_568_2019. PMID: 31966921; PMCID: PMC6969375.
121. Mekki M, Delgado AD, Fry A, Putrino D, Huang V. Robotic Rehabilitation and Spinal Cord Injury: a Narrative Review. *Neurotherapeutics*. 2018 Jul;15(3):604-617. doi: 10.1007/s13311-018-0642-3. PMID: 29987763; PMCID: PMC6095795.

122. Dijkers MP, Akers KG, Dieffenbach S, Galen SS. Systematic Reviews of Clinical Benefits of Exoskeleton Use for Gait and Mobility in Neurologic Disorders: A Tertiary Study. *Arch Phys Med Rehabil.* 2021 Feb;102(2):300-313. doi: 10.1016/j.apmr.2019.01.025. Epub 2019 Mar 5. PMID: 30849306.
123. Raineteau O, Schwab ME. Plasticity of motor systems after incomplete spinal cord injury. *Nat Rev Neurosci.* 2001 Apr;2(4):263-73. doi: 10.1038/35067570. PMID: 11283749.
124. Цимбалюк ВІ, Ямінський ЮЯ. Застосування методу трансплантації ембріональної нервової тканини для активації регенераторних процесів в спинному мозку після його травматичного пошкодження. *Укр. нейрохірург. журн.* 2002;2:3-13.
125. Цимбалюк ВІ, Чеботарьова ЛЛ, Ямінський ЮЯ. Трансплантація ембріональної нервової тканини – як метод відновлення функцій спинного мозку після травми в експерименті. *Укр. нейрохірург. журн.* 2002;1:69-76.
126. Яминский ЮЯ, Цымбалюк ВИ, Чеботарёва ЛЛ, Носов АТ. Новые аспекты использования эмбриональной нервной ткани для восстановления проводимости спинного мозга после его повреждения. Зависимость результатов трансплантации эмбриональной нервной ткани при травме спинного мозга от сроков проведения операции. *Укр. вісник психоневрології.* 2002;10(1):81-82.
127. Цимбалюк ВІ, Носов АТ, Чеботарьова ЛЛ. Порівняльна характеристика морфофункціональних показників при трансплантації ембріональної нервової тканини після важкого забою і повного розриву спинного мозку. *Трансплантологія.* 2004;6(2):18-24.
128. Tymbaliuk VI, Medvediev VV, Senchyk YuYu, Grydina NYa, Draguntsova NG, Dychko SM. Effect of olfactory bulb tissue transplantation in the course of the regeneration process in spinal cord injury in experiment [Internet]. *Ukrainian Neurological Journal.* 2016;(3):59-65. Ukrainian. [cited 2021 May 27]. Available from: http://www.vitapol.com.ua/user_files/pdfs/neuro/neu40i12unj3-16.pdf. Цимбалюк ВІ, Медведєв ВВ, Сенчик ЮЮ, Гридіна НЯ, Драгунцова НГ, Дичко СМ. Вплив трансплантації тканини нюхової цибулини на перебіг регенераційного процесу

при травмі спинного мозку в експерименті. Український неврологічний журнал. 2016;(3):59-65. [цит. за 27, Травень 2021] Доступний у: http://www.vitapol.com.ua/user_files/pdfs/neuro/neu40i12unj3-16.pdf.

129. Tsymbalyuk VI, Medvedyev VV, Senchyk YuYu, Drahuntsova NH, Dychko SM. Vplyv transplantatsiyi tkanyny fetal'noyi nyrky na perebih reheneratsiyynoho protsesu pry travmi spyynnoho mozku v eksperymenty. Nauka i praktyka. 2016;(1-2):104-15. Ukrainian. Цимбалюк ВІ, Медведєв ВВ, Сенчик ЮЮ, Драгунцова НГ, Дичко СМ. Вплив трансплантації тканини фетальної нирки на перебіг регенераційного процесу при травмі спинного мозку в експерименті. Наука і практика. 2016;(1-2):104-15.

130. Tsymbaliuk VI, Medvediev VV, Senchyk YuYu, Grydina NYa, Tatarchuk MM, Draguntsova NG, Dychko SM. Effect of olfactory bulb tissue transplantation in the course of the regeneration process in spinal cord injury in experiment. [Internet]. Ukrainian Neurological Journal. 2016;(4):59-66. Ukrainian. [cited 2021 May 27]. Available from: http://www.vitapol.com.ua/user_files/pdfs/neuro/neu41i12iunj4-16.pdf. Цимбалюк ВІ, Медведєв ВВ, Сенчик ЮЮ, Гридіна НЯ, Татарчук ММ, Драгунцова НГ, Дичко СМ. Вплив трансплантації тканини нюхової цибулини на перебіг синдрому спастичності та хронічного больового синдрому при травмі спинного мозку в експерименті. Український неврологічний журнал. 2016;(4):59-66. [цит. за 27, Травень 2021] Доступний у: http://www.vitapol.com.ua/user_files/pdfs/neuro/neu41i12iunj4-16.pdf.

131. Medvediev VV, Senchyk YuYu, Draguntsova NG, Dychko SM, Tsymbaliuk VI. Effect of fetal cerebellar tissue transplantation on the restoration of hind limb locomotor function in rats with spinal cord injury. Cell and Organ Transplantation. 2016;4(2):175-80. doi:10.22494/COT.V4I2.57. Available from: http://transplantation.org/wp-content/uploads/2016/11/COT_2016-4-2_article-2_en.pdf. Медведєв ВВ, Сенчик ЮЮ, Драгунцова НГ, Дичко СМ, Цимбалюк ВІ. Вплив трансплантації тканини фетального мозочка на відновлення локомоторної функції задньої кінцівки при травмі спинного мозку у щура. Клітинна та органна трансплантологія. 2016;4(2):168-74. [цит. за 27, Травень 2021] Доступний у:

http://transplantology.org/wp-content/uploads/2016/11/COT_2016-4-2_article-2_en.pdf.

132. Tsymbaliuk V, Medvediev V, Senchyk Y, Tatarchuk M, Draguntsova N, Dychko S. Effect of fetal kidney tissue transplantation on the course of the spasticity and chronic pain syndrome after experimental spinal cord injury. Med. Sci. of Ukr. [Internet]. 2017 Jun. 30 [cited 2021 May 27];12(3-4):21-7. Available from: <https://msu-journal.com/index.php/journal/article/view/80>. Цимбалюк ВІ, Медведєв ВВ, Сенчик ЮЮ, Татарчук ММ, Драгунцова НГ, Дичко СМ. Вплив трансплантації тканини фетального нирки на перебіг синдрому спастичності та хронічного больового синдрому при експериментальній травмі спинного мозку. Медична наука України. 2016;12(3-4):21-7. [цит. за 27, Травень 2021] Доступний у: <https://msu-journal.com/index.php/journal/article/view/80>.

133. Medvediev VV. The effect of neurotransplantation of various allogeneic tissue types to motor function restore after experimental spinal cord injury. Ukr Neurosurg J [Internet]. 2017 Mar. 17 [cited 2021 May 26];(1):11-23. Available from: <http://theunj.org/article/view/96095>. Медведєв ВВ. Вплив нейротрансплантації різних типів алогенних тканин на відновлення рухової функції після експериментальної травми спинного мозку. Ukr Neurosurg J [інтернет]. 17, Березень 2017 [цит. за 26, Травень 2021];(1):11-23. Доступний у: <http://theunj.org/article/view/96095>.

134. Medvediev VV. The influence of neurotransplantation with different allogenic tissues on the course of the spasticity and chronic pain syndrome after experimental spinal cord injury. Ukr Neurosurg J [Internet]. 2017 Jun. 17 [cited 2021 May 27];(2):11-2. Available from: <http://theunj.org/article/view/104498>. Медведєв ВВ. Вплив нейротрансплантації різних типів алогенних тканин на перебіг синдрому спастичності та хронічного больового синдрому при експериментальній травмі спинного мозку. Ukr Neurosurg J [інтернет]. 17, Червень 2017 [цит. за 26, Травень 2021];(2):11-21. Доступний у: <http://theunj.org/article/view/104498>.

135. Medvediev VV, Senchyk YuYu, Tatarchuk MM, Draguntsova NG, Dychko SM, Tsymbaliuk VI. Effect of fetal cerebellum tissue transplantation on the spasticity and

chronic pain syndrome after spinal cord injury in rats. *Cell and Organ Transplantation*. 2017; 5(1):50-55. doi:10.22494/cot.v5i1.68.

136. Цимбалюк ВІ, Медведєв ВВ, Сенчик ЮЮ, Драгунцова НГ. Порівняльний аналіз динаміки спастичності паретичної кінцівки щура на тлі травми спинного мозку, алотрансплантації тканини зрілої нюхової цибулини та фетального мозочка. *Український неврологічний журнал*. 2017;(4):37-41. Доступний у: http://nbuv.gov.ua/UJRN/UNJ_2017_4_8.

137. Muheremu A, Peng J, Ao Q. Stem cell based therapies for spinal cord injury. *Tissue Cell*. 2016 Aug;48(4):328-33. doi: 10.1016/j.tice.2016.05.008. Epub 2016 Jun 1. PMID: 27318871.

138. Lin L, Lin H, Bai S, Zheng L, Zhang X. Bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) improved functional recovery of spinal cord injury partly by promoting axonal regeneration. *Neurochem Int*. 2018 May;115:80-84. doi: 10.1016/j.neuint.2018.02.007. Epub 2018 Feb 16. PMID: 29458076.

139. Gao R, Li X, Xi S, Wang H, Zhang H, Zhu J, Shan L, Song X, Luo X, Yang L, Huang J. Exogenous Neuritin Promotes Nerve Regeneration After Acute Spinal Cord Injury in Rats. *Hum Gene Ther*. 2016 Jul;27(7):544-54. doi: 10.1089/hum.2015.159. Epub 2016 May 18. PMID: 27009445.

140. Hanna A, Thompson DL, Hellenbrand DJ, Lee JS, Madura CJ, Wesley MG, Dillon NJ, Sharma T, Enright CJ, Murphy WL. Sustained release of neurotrophin-3 via calcium phosphate-coated sutures promotes axonal regeneration after spinal cord injury. *J Neurosci Res*. 2016 Jul;94(7):645-52. doi: 10.1002/jnr.23730. Epub 2016 Mar 26. PMID: 27015737.

141. Paveliev M, Fenrich KK, Kislin M, Kuja-Panula J, Kuleskiy E, Varjosalo M, Kajander T, Mugantseva E, Ahonen-Bishopp A, Khiroug L, Kuleskaya N, Rougon G, Rauvala H. HB-GAM (pleiotrophin) reverses inhibition of neural regeneration by the CNS extracellular matrix. *Sci Rep*. 2016 Sep 27;6:33916. doi: 10.1038/srep33916. PMID: 27671118; PMCID: PMC5037378.

142. Yousefifard M, Nasser Maleki S, Askarian-Amiri S, Vaccaro AR, Chapman JR, Fehlings MG, Hosseini M, Rahimi-Movaghar V. A combination of mesenchymal stem

cells and scaffolds promotes motor functional recovery in spinal cord injury: a systematic review and meta-analysis. *J Neurosurg Spine*. 2019 Nov 1;32(2):269-284. doi: 10.3171/2019.8.SPINE19201. PMID: 31675724.

143. Bonaventura G, Incontro S, Iemmolo R, La Cognata V, Barbagallo I, Costanzo E, Barcellona ML, Pellitteri R, Cavallaro S. Dental mesenchymal stem cells and neuroregeneration: a focus on spinal cord injury. *Cell Tissue Res*. 2020 Mar;379(3):421-428. doi: 10.1007/s00441-019-03109-4. Epub 2019 Nov 27. PMID: 31776822.

144. Цымбалюк ВИ, Медведев ВВ. Нейрогенные стволовые клетки. Киев: Коваль; 2005. 596 с.

145. Dennie D, Louboutin JP, Strayer DS. Migration of bone marrow progenitor cells in the adult brain of rats and rabbits. *World J Stem Cells*. 2016 Apr 26;8(4):136-57. doi: 10.4252/wjsc.v8.i4.136. PMID: 27114746; PMCID: PMC4835673.

146. Thompson R, Casali C, Chan C. Forskolin and IBMX Induce Neural Transdifferentiation of MSCs Through Downregulation of the NRSF. *Sci Rep*. 2019 Feb 27;9(1):2969. doi: 10.1038/s41598-019-39544-0. PMID: 30814572; PMCID: PMC6393535.

147. Urrutia DN, Caviedes P, Mardones R, Minguell JJ, Vega-Letter AM, Jofre CM. Comparative study of the neural differentiation capacity of mesenchymal stromal cells from different tissue sources: An approach for their use in neural regeneration therapies. *PLoS One*. 2019 Mar 11;14(3):e0213032. doi: 10.1371/journal.pone.0213032. PMID: 30856179; PMCID: PMC6437714.

148. Venkatesh K, Kumari A, Sen D. MicroRNA signature changes during induction of neural stem cells from human mesenchymal stem cells. *Nanomedicine*. 2019 Apr;17:94-105. doi: 10.1016/j.nano.2019.01.003. Epub 2019 Jan 19. PMID: 30664947.

149. Noiseux N, Gnechi M, Lopez-Illasaca M, Zhang L, Solomon SD, Deb A, Dzau VJ, Pratt RE. Mesenchymal stem cells overexpressing Akt dramatically repair infarcted myocardium and improve cardiac function despite infrequent cellular fusion or differentiation. *Mol Ther*. 2006 Dec;14(6):840-50. doi: 10.1016/j.ymthe.2006.05.016. Epub 2006 Sep 11. PMID: 16965940.

150. Rohde E, Pachler K, Gimona M. Manufacturing and characterization of extracellular vesicles from umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells for clinical testing. *Cytotherapy*. 2019 Jun;21(6):581-592. doi: 10.1016/j.jcyt.2018.12.006. Epub 2019 Apr 9. PMID: 30979664.
151. Yin K, Wang S, Zhao RC. Exosomes from mesenchymal stem/stromal cells: a new therapeutic paradigm. *Biomark Res*. 2019 Apr 4;7:8. doi: 10.1186/s40364-019-0159-x. PMID: 30992990; PMCID: PMC6450000.
152. Karantalis V, Hare JM. Use of mesenchymal stem cells for therapy of cardiac disease. *Circ Res*. 2015 Apr 10;116(8):1413-30. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.303614. PMID: 25858066; PMCID: PMC4429294.
153. Torres-Espín A, Redondo-Castro E, Hernández J, Navarro X. Bone marrow mesenchymal stromal cells and olfactory ensheathing cells transplantation after spinal cord injury--a morphological and functional comparison in rats. *Eur J Neurosci*. 2014 May;39(10):1704-17. doi: 10.1111/ejn.12542. Epub 2014 Mar 18. PMID: 24635194.
154. Neirinckx V, Agirman G, Coste C, Marquet A, Dion V, Rogister B, Franzen R, Wislet S. Adult bone marrow mesenchymal and neural crest stem cells are chemoattractive and accelerate motor recovery in a mouse model of spinal cord injury. *Stem Cell Res Ther*. 2015 Nov 4;6:211. doi: 10.1186/s13287-015-0202-2. PMID: 26530515; PMCID: PMC4632651.
155. McMahill BG, Spriet M, Sisó S, Manzer MD, Mitchell G, McGee J, Garcia TC, Borjesson DL, Sieber-Blum M, Nolta JA, Sturges BK. Feasibility Study of Canine Epidermal Neural Crest Stem Cell Transplantation in the Spinal Cords of Dogs. *Stem Cells Transl Med*. 2015 Oct;4(10):1173-86. doi: 10.5966/sctm.2015-0018. Epub 2015 Aug 13. PMID: 26273065; PMCID: PMC4572898.
156. Czyz M, Tabakow P, Hernandez-Sanchez I, Jarmundowicz W, Raisman G. Obtaining the olfactory bulb as a source of olfactory ensheathing cells with the use of minimally invasive neuroendoscopy-assisted supraorbital keyhole approach--cadaveric feasibility study. *Br J Neurosurg*. 2015 Jun;29(3):362-70. doi: 10.3109/02688697.2015.1006170. Epub 2015 Feb 7. PMID: 25659961.

157. Myers SA, Bankston AN, Burke DA, Ohri SS, Whittemore SR. Does the preclinical evidence for functional remyelination following myelinating cell engraftment into the injured spinal cord support progression to clinical trials? *Exp Neurol*. 2016 Sep;283(Pt B):560-72. doi: 10.1016/j.expneurol.2016.04.009. Epub 2016 Apr 13. PMID: 27085393; PMCID: PMC5010929.
158. Assinck P, Duncan GJ, Hilton BJ, Plemel JR, Tetzlaff W. Cell transplantation therapy for spinal cord injury. *Nat Neurosci*. 2017 Apr 25;20(5):637-647. doi: 10.1038/nn.4541. PMID: 28440805.
159. Dietz V, Schwab ME. From the Rodent Spinal Cord Injury Model to Human Application: Promises and Challenges. *J Neurotrauma*. 2017 May 1;34(9):1826-1830. doi: 10.1089/neu.2016.4513. Epub 2016 Dec 21. PMID: 27286800.
160. Dalamagkas K, Tsintou M, Seifalian A, Seifalian AM. Translational Regenerative Therapies for Chronic Spinal Cord Injury. *Int J Mol Sci*. 2018 Jun 15;19(6):1776. doi: 10.3390/ijms19061776. PMID: 29914060; PMCID: PMC6032191.
161. Badhiwala JH, Ahuja CS, Fehlings MG. Time is spine: a review of translational advances in spinal cord injury. *J Neurosurg Spine*. 2018 Dec 20;30(1):1-18. doi: 10.3171/2018.9.SPINE18682. PMID: 30611186.
162. Jin MC, Medress ZA, Azad TD, Doulames VM, Veeravagu A. Stem cell therapies for acute spinal cord injury in humans: a review. *Neurosurg Focus*. 2019 Mar 1;46(3):E10. doi: 10.3171/2018.12.FOCUS18602. PMID: 30835679.
163. Kamelska-Sadowska AM, Wojtkiewicz J, Kowalski IM. Review of the Current Knowledge on the Role of Stem Cell Transplantation in Neurorehabilitation. *Biomed Res Int*. 2019 Feb 25;2019:3290894. doi: 10.1155/2019/3290894. PMID: 30931325; PMCID: PMC6413404.
164. Xu P, Yang X. The Efficacy and Safety of Mesenchymal Stem Cell Transplantation for Spinal Cord Injury Patients: A Meta-Analysis and Systematic Review. *Cell Transplant*. 2019 Jan;28(1):36-46. doi: 10.1177/0963689718808471. Epub 2018 Oct 26. PMID: 30362373; PMCID: PMC6322141.
165. Muthu S, Jeyaraman M, Gulati A, Arora A. Current evidence on mesenchymal stem cell therapy for traumatic spinal cord injury: systematic review and meta-analysis.

Cytherapy. 2020 Nov 9:S1465-3249(20)30860-4. doi: 10.1016/j.jcyt.2020.09.007. Epub ahead of print. PMID: 33183980.

166. Grandel H, Brand M. Comparative aspects of adult neural stem cell activity in vertebrates. *Dev Genes Evol.* 2013 Mar;223(1-2):131-47. doi: 10.1007/s00427-012-0425-5. Epub 2012 Nov 22. PMID: 23179636.

167. Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J Neurotrauma.* 1995 Feb;12(1):1-21. doi: 10.1089/neu.1995.12.1. PMID: 7783230.

168. Barros Filho TE, Molina AE. Analysis of the sensitivity and reproducibility of the Basso, Beattie, Bresnahan (BBB) scale in Wistar rats. *Clinics (Sao Paulo).* 2008 Feb;63(1):103-8. doi: 10.1590/s1807-59322008000100018. PMID: 18305873; PMCID: PMC2664187.

169. Stampacchia G, Rustici A, Bigazzi S, Gerini A, Tombini T, Mazzoleni S. Walking with a powered robotic exoskeleton: Subjective experience, spasticity and pain in spinal cord injured persons. *NeuroRehabilitation.* 2016 Jun 27;39(2):277-83. doi: 10.3233/NRE-161358. PMID: 27372363.

170. West CR, Crawford MA, Laher I, Ramer MS, Krassioukov AV. Passive Hind-Limb Cycling Reduces the Severity of Autonomic Dysreflexia After Experimental Spinal Cord Injury. *Neurorehabil Neural Repair.* 2016 May;30(4):317-27. doi: 10.1177/1545968315593807. Epub 2015 Jul 9. PMID: 26159931.

171. Khankan RR, Griffis KG, Haggerty-Skeans JR, Zhong H, Roy RR, Edgerton VR, Phelps PE. Olfactory Ensheathing Cell Transplantation after a Complete Spinal Cord Transection Mediates Neuroprotective and Immunomodulatory Mechanisms to Facilitate Regeneration. *J Neurosci.* 2016 Jun 8;36(23):6269-86. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0085-16.2016. PMID: 27277804; PMCID: PMC4899528.

172. Majczyński H, Sławińska U. Locomotor recovery after thoracic spinal cord lesions in cats, rats and humans. *Acta Neurobiol Exp (Wars).* 2007;67(3):235-57. PMID: 17957903.

173. You SW, Chen BY, Liu HL, Lang B, Xia JL, Jiao XY, Ju G. Spontaneous recovery of locomotion induced by remaining fibers after spinal cord transection in adult rats. *Restor Neurol Neurosci*. 2003;21(1-2):39-45. PMID: 12808201.
174. Цымбалюк ВИ, Медведев ВВ. Спинной мозг. Элегия надежды: Монография. Винница: Нова Книга; 2010.
175. excision [Internet]. Wiktionary. The free dictionary [cited 2021 Jul 10]. Available from: <https://en.wiktionary.org/wiki/excision>.
176. excido [Internet]. Wiktionary. The free dictionary [cited 2021 Jul 10]. Available from: <https://en.wiktionary.org/wiki/excido#Latin>.
177. Jian R, Yixu Y, Sheyu L, Jianhong S, Yaohua Y, Xing S, Qingfeng H, Xiaojian L, Lei Z, Yan Z, Fangling X, Huasong G, Yilu G. Repair of spinal cord injury by chitosan scaffold with glioma ECM and SB216763 implantation in adult rats. *J Biomed Mater Res A*. 2015 Oct;103(10):3259-72. doi: 10.1002/jbm.a.35466. Epub 2015 Apr 1. PMID: 25809817.
178. Zhang Q, Yan S, You R, Kaplan DL, Liu Y, Qu J, Li X, Li M, Wang X. Multichannel silk protein/laminin grafts for spinal cord injury repair. *J Biomed Mater Res A*. 2016 Dec;104(12):3045-3057. doi: 10.1002/jbm.a.35851. Epub 2016 Aug 9. PMID: 27474892.
179. Hsieh TH, Tsai JY, Wu YN, Hwang IS, Chen TI, Chen JJ. Time course quantification of spastic hypertonia following spinal hemisection in rats. *Neuroscience*. 2010 Apr 28;167(1):185-98. doi: 10.1016/j.neuroscience.2010.01.064. Epub 2010 Feb 8. PMID: 20149848.
180. Flynn JR, Graham BA, Galea MP, Callister RJ. The role of propriospinal interneurons in recovery from spinal cord injury. *Neuropharmacology*. 2011 Apr;60(5):809-22. doi: 10.1016/j.neuropharm.2011.01.016. Epub 2011 Jan 18. PMID: 21251920.
181. Medvediev VV, Abdallah IM, Draguntsova NG, Savosko SI, Vaslovych VV, Tsybaliuk VI, Voitenko NV. Model of spinal cord lateral hemi-excision at the lower thoracic level for the tasks of reconstructive and experimental neurosurgery. *Ukr*

Neurosurg J [Internet]. 2021 Sep 27 [cited 2021 Oct 11];27(3):33-5. Available from: <http://theunj.org/article/view/234154>.

182. Özkan ZE. Macro-anatomical investigations on the skeletons of mole-rat (*Spalax leucodon* Nordmann) III. Skeleton axiale [Internet]. *Vet. Arhiv.* 2007;77(3):281-9. [cited 2021 May 26]. Available from: <https://hrcak.srce.hr/24849>.

183. Olude MA, Mustapha OA, Ogunbunmi TK, Olopade JO. The vertebral column, ribs, and sternum of the African giant rat (*Cricetomys gambianus* waterhouse). *Scientific World Journal.* 2013 Oct 28;2013:973537. doi: 10.1155/2013/973537. PMID: 24288518; PMCID: PMC3830894.

184. Gilerovich EG, Moshonkina TR, Fedorova EA, Shishko TT, Pavlova NV, Gerasimenko YP, Otellin VA. Morphofunctional characteristics of the lumbar enlargement of the spinal cord in rats. *Neurosci Behav Physiol.* 2008 Oct;38(8):855-60. doi: 10.1007/s11055-008-9056-8. Epub 2008 Sep 18. PMID: 18802763.

185. Moonen G, Satkunendrarajah K, Wilcox JT, Badner A, Mothe A, Foltz W, Fehlings MG, Tator CH. A New Acute Impact-Compression Lumbar Spinal Cord Injury Model in the Rodent. *J Neurotrauma.* 2016 Feb 1;33(3):278-89. doi: 10.1089/neu.2015.3937. Epub 2015 Dec 1. PMID: 26414192; PMCID: PMC4744888.

186. Gelderd JB, Chopin SF. The vertebral level of origin of spinal nerves in the rat. *Anat Rec.* 1977 May;188(1):45-7. doi: 10.1002/ar.1091880106. PMID: 869231.

187. Curless RG, Nelson MB, Brimmer F, Tellez C. Brain and spinal cord lesions in the newborn rat. *Lab Anim.* 1977 Oct;11(4):251-5. doi: 10.1258/002367777780936431. PMID: 926755.

188. Dong HW, Wang LH, Zhang M, Han JS. Decreased dynorphin A (1-17) in the spinal cord of spastic rats after the compressive injury. *Brain Res Bull.* 2005 Oct 15;67(3):189-95. doi: 10.1016/j.brainresbull.2005.06.026. PMID: 16144654.

189. Hahm SC, Yoon YW, Kim J. High-frequency transcutaneous electrical nerve stimulation alleviates spasticity after spinal contusion by inhibiting activated microglia in rats. *Neurorehabil Neural Repair.* 2015 May;29(4):370-81. doi: 10.1177/1545968314545172. Epub 2014 Aug 12. PMID: 25122586.

190. Peyronnard JM, Charron LF, Lavoie J, Messier JP. Motor, sympathetic and sensory innervation of rat skeletal muscles. *Brain Res.* 1986 May 14;373(1-2):288-302. doi: 10.1016/0006-8993(86)90343-4. PMID: 3719313.
191. Metz GA, Merkler D, Dietz V, Schwab ME, Fouad K. Efficient testing of motor function in spinal cord injured rats. *Brain Res.* 2000 Nov 17;883(2):165-77. doi: 10.1016/s0006-8993(00)02778-5. PMID: 11074045.
192. Li LS, Yu H, Raynald R, Wang XD, Dai GH, Cheng HB, Liu XB, An YH. Anatomical mechanism of spontaneous recovery in regions caudal to thoracic spinal cord injury lesions in rats. *PeerJ.* 2017 Jan 10;5:e2865. doi: 10.7717/peerj.2865. PMID: 28097067; PMCID: PMC5228130.
193. Коломийцев АК, Чайковский ЮБ, Терещенко ТЛ. Быстрый метод импрегнации азотнокислым серебром элементов периферической нервной системы, пригодный для парафиновых и целлоидиновых срезов. *Арх. Анат.* 1981;81(8):93-6.
194. Morawietz G, Ruehl-Fehlert C, Kittel B, Bube A, Keane K, Halm S, Heuser A, Hellmann J; RITA Group; NACAD Group. Revised guides for organ sampling and trimming in rats and mice--Part 3. A joint publication of the RITA and NACAD groups. *Exp Toxicol Pathol.* 2004 Jul;55(6):433-49. doi: 10.1078/0940-2993-00350. PMID: 15384249.
195. Watson C, Paxinos G, Kayalioglu G, Heise C. Atlas of the rat spinal cord. In: Watson C, Paxinos G, Kayalioglu G, editors. *The spinal cord: a Christopher and Dana Reeve Foundation text and atlas.* Amsterdam, The Netherlands: Elsevier/Academic Press; 2009. 238-306. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374247-6.50019-5>.
196. Jaumard NV, Leung J, Gokhale AJ, Guarino BB, Welch WC, Winkelstein BA. Relevant Anatomic and Morphological Measurements of the Rat Spine: Considerations for Rodent Models of Human Spine Trauma. *Spine (Phila Pa 1976).* 2015 Oct 15;40(20):E1084-92. doi: 10.1097/BRS.0000000000001021. PMID: 26731709.
197. Stavrakis AI, Loftin AH, Lord EL, Hu Y, Manegold JE, Dworsky EM, Scaduto AA, Bernthal NM. Current Animal Models of Postoperative Spine Infection and

- Potential Future Advances. *Front Med (Lausanne)*. 2015 May 26;2:34. doi: 10.3389/fmed.2015.00034. PMID: 26131448; PMCID: PMC4469114.
198. Canbay S, Güreş B, Bozkurt M, Comert A, Izci Y, Başkaya MK. Anatomical relationship and positions of the lumbar and sacral segments of the spinal cord according to the vertebral bodies and the spinal roots. *Clin Anat*. 2014 Mar;27(2):227-33. doi: 10.1002/ca.22253. Epub 2013 May 7. PMID: 23649511.
199. Barson AJ. The vertebral level of termination of the spinal cord during normal and abnormal development. *J Anat*. 1970 May;106(Pt 3):489-97. PMID: 5423940; PMCID: PMC1233424.
200. Vettivel S. Vertebral level of the termination of the spinal cord in human fetuses. *J Anat*. 1991 Dec;179:149-61. PMID: 1817132; PMCID: PMC1260583.
201. Calguner E, Erdogan D, Elmas C, Bahçelioglu M, Gozil R, Ayhan MS. Innervation of the rat anterior abdominal wall as shown by modified Sihler's stain. *Med Princ Pract*. 2006;15(2):98-101. doi: 10.1159/000090911. PMID: 16484834.
202. Abdallah I, Medvediev V, Draguntsova N, Voitenko N, Tsymbaliuk V. Dependence of the restorative effect of Macroporous poly(N-[2-Hydroxypropyl]-methacrylamide hydrogel on the severity of experimental lacerative spinal cord injury. *USMYJ [Internet]*. 2021Dec.26 [cited 2022Feb.10];127(4):8-21. Available from: <https://mmj.nmuofficial.com/index.php/journal/article/view/840>.
203. Абдалла ІМ. Відновлення рухової функції паретичної кінцівки у молодих щурів на тлі латеральної гемісекції спинного мозку й імплантації макропористого гідрогелю. В: Український науково-медичний молодіжний журнал. 2021;(122 Supplement 1), Матеріали XIII Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених «Спеціальні питання та лікування захворювань ЛОР-органів, краніофасіальної ділянки та органа зору»; 2021 Бер 18-19; Київ. Київ: НМУ імені О.О. Богомольця; 2021, с. 28.
204. Медведєв ВВ, Абдалла ІМ, Драгунцова НГ. Залежність відновного ефекту імплантації аморфного макропористого гідрогелю на основі N-(2-гідроксипропіл)метакриламід у відношенні до тяжкості лацераційної травми спинного мозку молодого щура. В: Матеріали LXIV підсумкової науково-практичної конференції

Здобутки клінічної та експериментальної медицини; 2021 Черв 11; Тернопіль. ТНМУ; 2021, с. 164-166.

205. Медведєв ВВ, Абдалла ІМ. Залежність відновного ефекту аморфного макропористого гідрогелю від величини травматичного дефекту спинного мозку. В: Матеріали VII З'їзду нейрохірургів України з міжнародною участю [Інтернет]; 2021 Трав 11-18; Сіде, Туреччина. Київ: ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України" [цитовано 2021 Лип 16]; с. 74-75. Доступно: <https://drive.google.com/file/d/1rir2-utQXpyDv1a0-ByvLnCPZFWCBvjn/view>.

206. Медведєв ВВ, Абдалла ІМ. Оптимізована для потреб експериментальної нейротрансплантації модель лацераційної травми спинного мозку щура зі стійким неврологічним дефіцитом. В: Матеріали VII З'їзду нейрохірургів України з міжнародною участю [Інтернет]; 2021 Трав 11-18; Сіде, Туреччина. Київ: ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України" [цитовано 2021 Лип 16]; с. 73-74. Доступно: <https://drive.google.com/file/d/1rir2-utQXpyDv1a0-ByvLnCPZFWCBvjn/view>.

207. Медведєв ВВ, Абдалла ІМ. Оптимізована модель обмеженої лацераційної травми спинного мозку зі стійким неврологічним дефіцитом. В: Панова ТІ, та ін, редактори. 42 Наукові читання імені О.О. Богомольця: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченій 140-річчю з дня народження академіка О.О. Богомольця; 2021 Трав 24; Київ. Київ: НМУ імені О.О. Богомольця; 2021, с. 68-69.

208. Medvediev VV, Savosko SI, Abdallah IM, Draguntsova NG, Vaslovych VV, Tsymbaliuk VI, Voitenko NV. The efficacy of immediate implantation of macroporous poly(N-[2-hydroxypropyl]-methacrylamide) hydrogel after laceration spinal cord injury in young rats. Int J Morphol [Internet]. 2021;39(6):1749-57. Available from: http://www.intjmorphol.com/abstract/?art_id=8375.

209. Krotov V, Medvediev V, Abdallah I, Bozhenko A, Tatarchuk M, Ishchenko Y, Pichkur L, Savosko S, Tsymbaliuk V, Kopach O, Voitenko N. Phenotypes of motor deficit and pain after experimental spinal cord injury. Bioengineering. 2022; 9(6):262.

<https://doi.org/10.3390/bioengineering9060262>;
[5354/9/6/262](https://doi.org/10.3390/bioengineering9060262).

[https://www.mdpi.com/2306-](https://www.mdpi.com/2306-5354/9/6/262)

210. Kjell J, Olson L. Rat models of spinal cord injury: from pathology to potential therapies. *Dis Model Mech*. 2016 Oct 1;9(10):1125-1137. doi: 10.1242/dmm.025833. PMID: 27736748; PMCID: PMC5087825.

211. Гребенюк С, Медведєв В, Абдалла І, Драгунцова Н, Цимбалюк В, Войтенко Н, Білан П. Ефективність імплантації тунельованого поліетиленгліколевого матриксу у відновленні рухової функції на моделі лацераційної травми спинного мозку. У: Матеріали VII З'їзду Української асоціації нейрохірургів [Інтернет]; 2021 Верес 16-18; Одеса, Україна. Київ: Українська асоціація нейрохірургів [цитовано 2021 Груд 02]; с. 87-88. Доступно: <https://drive.google.com/file/d/141mWXqPYFctiL2cOwNBVtBglMqAeai4m/view>.

212. Гребенюк С, Медведєв В, Шеремет Є, Ranga A, Абдалла І, Драгунцова Н, Войтенко Н, Білан П. Імуногістохімічні кореляти відновного впливу тунельованого поліетиленгліколевого матриксу на моделі лацераційної травми спинного мозку. У: Матеріали VII З'їзду Української асоціації нейрохірургів [Інтернет]; 2021 Верес 16-18; Одеса, Україна. Київ: Українська асоціація нейрохірургів [цитовано 2021 Груд 02]; с. 88-89. Доступно: <https://drive.google.com/file/d/141mWXqPYFctiL2cOwNBVtBglMqAeai4m/view>.

213. Monoclonal Anti- β -Tubulin antibody produced in Mouse, clone D66, purified from hybridoma cell culture. Product information. Catalog Number T0198 [Internet]. Sigma-Aldrich Co. LLC; 2015 [cited 2021 Jul 20]. Available from: [https://www.sigmaaldrich.com > assets > documents](https://www.sigmaaldrich.com/assets/documents).

214. Nigra AD, Casale CH, Santander VS. Human erythrocytes: cytoskeleton and its origin. *Cell Mol Life Sci*. 2020 May;77(9):1681-1694. doi: 10.1007/s00018-019-03346-4. Epub 2019 Oct 25. PMID: 31654099.

215. Günther MI, Weidner N, Müller R, Blesch A. Cell-seeded alginate hydrogel scaffolds promote directed linear axonal regeneration in the injured rat spinal cord. *Acta Biomater*. 2015 Nov;27:140-150. doi: 10.1016/j.actbio.2015.09.001. Epub 2015 Sep 5. PMID: 26348141.

216. Gao M, Lu P, Bednark B, Lynam D, Conner JM, Sakamoto J, Tuszynski MH. Templated agarose scaffolds for the support of motor axon regeneration into sites of complete spinal cord transection. *Biomaterials*. 2013 Feb;34(5):1529-36. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.10.070. Epub 2012 Nov 23. PMID: 23182350; PMCID: PMC3518618.
217. Koser DE, Thompson AJ, Foster SK, Dwivedy A, Pillai EK, Sheridan GK, Svoboda H, Viana M, Costa LD, Guck J, Holt CE, Franze K. Mechanosensing is critical for axon growth in the developing brain. *Nat Neurosci*. 2016 Dec;19(12):1592-1598. doi: 10.1038/nn.4394. Epub 2016 Sep 19. PMID: 27643431; PMCID: PMC5531257.
218. Barnes JM, Przybyla L, Weaver VM. Tissue mechanics regulate brain development, homeostasis and disease. *J Cell Sci*. 2017 Jan 1;130(1):71-82. doi: 10.1242/jcs.191742. PMID: 28043968; PMCID: PMC5394781.
219. Antonovaite N, Beekmans SV, Hol EM, Wadman WJ, Iannuzzi D. Regional variations in stiffness in live mouse brain tissue determined by depth-controlled indentation mapping. *Sci Rep*. 2018 Aug 21;8(1):12517. doi: 10.1038/s41598-018-31035-y. PMID: 30131608; PMCID: PMC6104037.
220. Long KR, Huttner WB. How the extracellular matrix shapes neural development. *Open Biol*. 2019 Jan 31;9(1):180216. doi: 10.1098/rsob.180216. PMID: 30958121; PMCID: PMC6367132.
221. Seano G, Nia HT, Emblem KE, Datta M, Ren J, Krishnan S, Kloepper J, Pinho MC, Ho WW, Ghosh M, Askoxylakis V, Ferraro GB, Riedemann L, Gerstner ER, Batchelor TT, Wen PY, Lin NU, Grodzinsky AJ, Fukumura D, Huang P, Baish JW, Padera TP, Munn LL, Jain RK. Solid stress in brain tumours causes neuronal loss and neurological dysfunction and can be reversed by lithium. *Nat Biomed Eng*. 2019 Mar;3(3):230-245. doi: 10.1038/s41551-018-0334-7. Epub 2019 Jan 7. PMID: 30948807; PMCID: PMC6452896.
222. Thompson AJ, Pillai EK, Dimov IB, Foster SK, Holt CE, Franze K. Rapid changes in tissue mechanics regulate cell behaviour in the developing embryonic brain. *Elife*. 2019 Jan 15;8:e39356. doi: 10.7554/eLife.39356. PMID: 30642430; PMCID: PMC6333438.

223. Velasco-Estevez M, Mampay M, Boutin H, Chaney A, Warn P, Sharp A, Burgess E, Moeendarbary E, Dev KK, Sheridan GK. Infection Augments Expression of Mechanosensing Piezo1 Channels in Amyloid Plaque-Reactive Astrocytes. *Front Aging Neurosci.* 2018 Oct 22;10:332. doi: 10.3389/fnagi.2018.00332. PMID: 30405400; PMCID: PMC6204357.
224. Blumenthal NR, Hermanson O, Heimrich B, Shastri VP. Stochastic nanoroughness modulates neuron-astrocyte interactions and function via mechanosensing cation channels. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014 Nov 11;111(45):16124-9. doi: 10.1073/pnas.1412740111. Epub 2014 Oct 27. PMID: 25349433; PMCID: PMC4234571.
225. Sedý J, Urdzíkova L, Jendelová P, Syková E. Methods for behavioral testing of spinal cord injured rats. *Neurosci Biobehav Rev.* 2008;32(3):550-80. doi: 10.1016/j.neubiorev.2007.10.001. Epub 2007 Oct 17. PMID: 18036661.
226. Li Y, Oskouian RJ, Day YJ, Kern JA, Linden J. Optimization of a mouse locomotor rating system to evaluate compression-induced spinal cord injury: correlation of locomotor and morphological injury indices. *J Neurosurg Spine.* 2006 Feb;4(2):165-73. doi: 10.3171/spi.2006.4.2.165. PMID: 16506485.
227. Cliffer KD, Tonra JR, Carson SR, Radley HE, Cavnor C, Lindsay RM, Bodine SC, DiStefano PS. Consistent repeated M- and H-Wave recording in the hind limb of rats. *Muscle Nerve.* 1998 Nov;21(11):1405-13. doi: 10.1002/(sici)1097-4598(199811)21:11<1405::aid-mus7>3.0.co;2-d. PMID: 9771663.
228. Guzmán-Venegas RA, Araneda OF, Silvestre RA. Differences between motor point and innervation zone locations in the biceps brachii. An exploratory consideration for the treatment of spasticity with botulinum toxin. *J Electromyogr Kinesiol.* 2014 Dec;24(6):923-7. doi: 10.1016/j.jelekin.2014.07.012. Epub 2014 Aug 2. PMID: 25138645.
229. Gobbo M, Maffiuletti NA, Orizio C, Minetto MA. Muscle motor point identification is essential for optimizing neuromuscular electrical stimulation use. *J Neuroeng Rehabil.* 2014 Feb 25;11:17. doi: 10.1186/1743-0003-11-17. PMID: 24568180; PMCID: PMC3938308.

230. Nakagawa K, Bergquist AJ, Yamashita T, Yoshida T, Masani K. Motor point stimulation primarily activates motor nerve. *Neurosci Lett*. 2020 Sep 25;736:135246. doi: 10.1016/j.neulet.2020.135246. Epub 2020 Jul 13. PMID: 32673689.
231. Basso DM, Fisher LC, Anderson AJ, Jakeman LB, McTigue DM, Popovich PG. Basso Mouse Scale for locomotion detects differences in recovery after spinal cord injury in five common mouse strains. *J Neurotrauma*. 2006 May;23(5):635-59. doi: 10.1089/neu.2006.23.635. PMID: 16689667.
232. Kjell J, Sandor K, Josephson A, Svensson CI, Abrams MB. Rat substrains differ in the magnitude of spontaneous locomotor recovery and in the development of mechanical hypersensitivity after experimental spinal cord injury. *J Neurotrauma*. 2013 Nov 1;30(21):1805-11. doi: 10.1089/neu.2013.2998. Epub 2013 Sep 27. PMID: 23879467; PMCID: PMC3804226.

ДОДАТОК

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Medvediev VV, Abdallah IM, Draguntsova NG, Savosko SI, Vaslovych VV, Tsymbaliuk VI, Voitenko NV. Model of spinal cord lateral hemi-excision at the lower thoracic level for the tasks of reconstructive and experimental neurosurgery. Ukr Neurosurg J [Internet]. 2021 Sep 27;27(3):33-5. Available from: <http://theunj.org/article/view/234154>.

(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні оперативних втручань, моніторингу функції та спастичності паретичної кінцівки, у підготовці біологічного матеріалу для морфологічних досліджень і у забезпеченні подальших гістологічних досліджень витратними засобами, а також у обговоренні отриманих результатів)

2. Abdallah I, Medvediev V, Draguntsova N, Voitenko N, Tsymbaliuk V. Dependence of the restorative effect of Macroporous poly(N-[2-Hydroxypropyl]-methacrylamide hydrogel on the severity of experimental lacerative spinal cord injury. USMYJ [Internet]. 2021 Dec 26;127(4):8-21. Available from: <https://mmj.nmuofficial.com/index.php/journal/article/view/840>.

(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні оперативних втручань, моніторингу функції та спастичності паретичної кінцівки, у обговоренні отриманих результатів)

3. Medvediev VV, Savosko SI, Abdallah IM, Draguntsova NG, Vaslovych VV, Tsymbaliuk VI, Voitenko NV. The efficacy of immediate implantation of macroporous poly(N-[2-hydroxypropyl]-methacrylamide) hydrogel after laceration spinal cord injury in young rats. Int J Morphol [Internet]. 2021;39(6):1749-57. Available from: http://www.intjmorphol.com/abstract/?art_id=8375.

(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні оперативних втручань, моніторингу функції та спастичності паретичної кінцівки, підготовці матеріалу до морфологічного дослідження і у забезпеченні подальших

гістологічних досліджень витратними засобами, а також у обговоренні отриманих результатів)

4. Krotov V, Medvediev V, Abdallah I, Bozhenko A, Tatarchuk M, Ishchenko Y, Pichkur L, Savosko S, Tsymbaliuk V, Kopach O, Voitenko N. Phenotypes of motor deficit and pain after experimental spinal cord injury. Bioengineering [Internet]. 2022; 9(6):262. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9060262>; <https://www.mdpi.com/2306-5354/9/6/262>.

(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні оперативних втручань у тварин однієї з експериментальних груп, у моніторингу функції та спастичності паретичної кінцівки, у підготовці матеріалу до морфологічного дослідження і у забезпеченні подальших гістологічних досліджень витратними засобами, а також у обговоренні отриманих результатів)

АПРОБАЦІЯ МАТЕРІАЛІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Абдалла ІМ. Відновлення рухової функції паретичної кінцівки у молодих щурів на тлі латеральної гемісекції спинного мозку й імплантації макропористого гідрогелю. В: Український науково-медичний молодіжний журнал. 2021;(122 Supplement 1), Матеріали XIII Міжнародної науково-практичної конференції студентів та молодих вчених «Спеціальні питання та лікування захворювань ЛОР-органів, краніофасіальної ділянки та органа зору»; 2021 Бер 18-19; Київ. Київ: НМУ імені О.О. Богомольця; 2021, с. 28. Очна участь, виступ із доповіддю.

(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні оперативних втручань й подальшого моніторингу неврологічних розладів експериментальних тварин, у обговоренні отриманих результатів)

2. Медведєв ВВ, Абдалла ІМ, Драгунцова НГ. Залежність відновного ефекту імплантації аморфного макропористого гідрогелю на основі N-(2-гідроксипропіл)метакриламід у від тяжкості лацераційної травми спинного мозку молодого щура. В: Матеріали LXIV підсумкової науково-практичної конференції

Здобутки клінічної та експериментальної медицини; 2021 Черв 11; Тернопіль. ТНМУ; 2021, с. 164-166. Заочна участь, публікація у збірнику матеріалів.

(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні оперативних втручань, у моніторингу функції та спастичності паретичної кінцівки, у обговоренні отриманих результатів)

3. Медведєв ВВ, Абдалла ІМ. Залежність відновного ефекту аморфного макропористого гідрогелю від величини травматичного дефекту спинного мозку. В: Матеріали VII З'їзду нейрохірургів України з міжнародною участю [Інтернет]; 2021 Трав 11-18; Сіде, Туреччина. Київ: ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України" [цитовано 2021 Лип 16]; с. 74-75. Доступно: <https://drive.google.com/file/d/1rir2-utQXpyDv1a0-ByvLnCPZFWCBvjn/view>.

Заочна участь, публікація у збірнику матеріалів.

(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні оперативних втручань, моніторингу неврологічного дефіциту експериментальних тварин, у обговоренні отриманих результатів)

4. Медведєв ВВ, Абдалла ІМ. Оптимізована для потреб експериментальної нейротрансплантації модель лацераційної травми спинного мозку щура зі стійким неврологічним дефіцитом. В: Матеріали VII З'їзду нейрохірургів України з міжнародною участю [Інтернет]; 2021 Трав 11-18; Сіде, Туреччина. Київ: ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України" [цитовано 2021 Лип 16]; с. 73-74. Доступно: <https://drive.google.com/file/d/1rir2-utQXpyDv1a0-ByvLnCPZFWCBvjn/view>. Заочна участь, публікація у збірнику матеріалів.

(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні оперативних втручань, моніторингу неврологічного дефіциту експериментальних тварин, у обговоренні отриманих результатів)

5. Медведєв ВВ, Абдалла ІМ. Оптимізована модель обмеженої лацераційної травми спинного мозку зі стійким неврологічним дефіцитом. В: Панова ТІ, та ін, редактори. 42 Наукові читання імені О.О. Богомольця: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченій 140-річчю з дня

народження академіка О.О. Богомольця; 2021 Трав 24; Київ. Київ: НМУ імені О.О. Богомольця; 2021, с. 68-69. Заочна участь, публікація у збірнику матеріалів. *(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні оперативних втручань, у моніторингу функції та спастичності паретичної кінцівки, у обговоренні отриманих результатів)*

6. Гребенюк С, Медведєв В, Абдалла І, Драгунцова Н, Цимбалюк В, Войтенко Н, Білан П. Ефективність імплантації тунельованого поліетиленгліколевого матриксу у відновленні рухової функції на моделі лацераційної травми спинного мозку. У: Матеріали VII З'їзду Української асоціації нейрохірургів [Інтернет]; 2021 Верес 16-18; Одеса, Україна. Київ: Українська асоціація нейрохірургів [цитовано 2021 Груд 02]; с. 87-88. Доступно: <https://drive.google.com/file/d/141mWXqPYFctiL2cOwNBVtBglMqAeai4m/view>.

On-line доповідь, публікація у збірнику матеріалів.

(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні оперативних втручань, моніторингу функції паретичної кінцівки, у обговоренні отриманих результатів)

7. Гребенюк С, Медведєв В, Шеремет Є, Ranga А, Абдалла І, Драгунцова Н, Войтенко Н, Білан П. Імуногістохімічні кореляти відновного впливу тунельованого поліетиленгліколевого матриксу на моделі лацераційної травми спинного мозку. У: Матеріали VII З'їзду Української асоціації нейрохірургів [Інтернет]; 2021 Верес 16-18; Одеса, Україна. Київ: Українська асоціація нейрохірургів [цитовано 2021 Груд 02]; с. 88-89. Доступно: <https://drive.google.com/file/d/141mWXqPYFctiL2cOwNBVtBglMqAeai4m/view>.

On-line доповідь, публікація у збірнику матеріалів.

(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні оперативних втручань, моніторингу функції паретичної кінцівки, підготовці вилученого біологічного матеріалу і забезпеченні подальшого імуногістохімічного дослідження витратними засобами, а також у обговоренні отриманих результатів)