

## ВПЛИВ ІМПЛАНТАЦІЇ ФІБРИНОВОГО МАТРИКСУ, АСОЦІЙОВАНОГО З КЛІТИНАМИ НЕОНАТАЛЬНОГО ГОЛОВНОГО МОЗКУ, НА ПЕРЕБІГ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ СПІНАЛЬНОЇ ТРАВМИ

В.В. МЕДВЕДЄВ<sup>1</sup>, Н.П. ОЛЕКСЕНКО<sup>2</sup>, Л.Д. ПІЧКУР<sup>2</sup>, С.А. ВЕРБОВСЬКА<sup>2</sup>, С.І. САВОСЬКО<sup>1</sup>,  
Н.Г. ДРАГУНЦОВА<sup>2</sup>, Ю.А. ЛОНТКОВСЬКИЙ<sup>3</sup>, В.В. ВАСЛОВИЧ<sup>2</sup>, В.І. ЦИМБАЛЮК<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, бульвар Тараса Шевченка, 13, Київ, 01601, Україна

<sup>2</sup> ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України», 04050, вул. Платона Майбороди, 32, Київ, Україна

<sup>3</sup> КНП «Кам'янець-Подільська міська лікарня» КП МР, 32301, вул. Пушкінська, 31, Кам'янець-Подільський, Хмельницька область, Україна

<sup>4</sup> Національна академія медичних наук України, вул. Герцена, 12, Київ, 04050, Україна.

E-mail: vavo2010@gmail.com, n.oleksenko@gmail.com, l.pichkur@neuro.kiev.ua, verbovska-svetlana@ukr.net, savosko\_s@ukr.net, natalya.exlab@gmail.com, yulont@ukr.net, greycat312@gmail.com, tsymb777@gmail.com

Досліджено вплив негайної імплантації фібринового матриксу, асоційованого з алогенними клітинами неонатального головного мозку щура, на відновлення рухової функції після травми спинного мозку (ТрСМ). Тварини – дорослі білі безпородні щури (~260 г, 4–5 місяців). Модель ТрСМ – лівобічний перетин половини спинного мозку на рівні сегментів  $\sim T_{13} - L_1$ . Відновне лікування – негайна трансплантація у зону травми фібринового матриксу людини, асоційованого з клітинами неонатального головного мозку щура (neonatal brain cells, NBC,  $n = 9$ ). Референтні групи – ізолювана ТрСМ (trauma, Tr,  $n = 7$ ) та імплантація у зону травми ацелюлярного фібринового матриксу людини (fibrin, Fb,  $n = 6$ ). Оцінка рухової активності задньої паретичної кінцівки – шкала BBB, оцінка спастичності – шкала Ashworth; патогістологічне дослідження – забарвлення поздовжніх зрізів спинного мозку, отриманих у віддаленому періоді травми, методом імпрегнації сріблом. Фібриновий матрикс сприяє життєдіяльності, росту і диференціюванню інкорпорованих клітин неонатального головного мозку щура. Починаючи з 2–3-го тижня після імплантації у епіцентр травми рівень рухової функції паретичної кінцівки у групах Fb і NBC відповідав ~11-м балам BBB, у групі Tr – ~6-м балам BBB. Значущих відмінностей рівня рухової функції паретичної кінцівки між групами NBC і Fb, а також між групами Fb і Tr впродовж усього експерименту не зафіксовано. Достовірні відмінності показника між групами NBC і Tr виявлено через 2, 4 і 8 тижнів, а також через 3 і 5 місяців після травми. Істотну перевагу рівня спастичності у групі Tr над групами NBC і Fb виявляли, відповідно, через 6 і 7 тижнів після травми. Негайна імплантація фібринового матриксу у комплексі з алогенними клітинами

неонатального головного мозку та без них спричиняє достовірний позитивний вплив на відновлення рухової функції після лацераційної ТрСМ.

**Ключові слова:** нейротрансплантація, фібриновий матрикс, травма спинного мозку, клітини неонатального мозку, відновлення локомоторної функції, спастичність.

**Вступ.** Травма спинного мозку (ТрСМ) – інвалідизуюче ушкодження нервової системи, що суттєво погіршує якість життя постраждалого і зменшує його тривалість (DeVivo, 2012; Pretz et al, 2016). Станом на 2016-й рік розрахункова глобальна захворюваність для ТрСМ складала ~1 млн. випадків, поширеність – ~27 млн. осіб (GBD 2016 Traumatic Brain Injury and Spinal Cord Injury Collaborators, 2019). ТрСМ найчастіше виникає у чоловіків середнього віку (Singh et al, 2014), половина усіх випадків – тяжкі, з пожиттєвою інвалідизацією (DeVivo, 2012). Окрім втрати рухової функції і чутливості нижче рівня ушкодження, для ТрСМ характерні розлади функції тазових органів (Hamid et al, 2018), синдром спастичності (Holtz et al, 2016), хронічний біль (Finnerup et al, 2014) і навіть когнітивні (Sachdeva et al, 2018) й афективні розлади (Wan et al, 2020), що загалом драматично збільшує вартість лікування й догляду за спінальними пацієнтами (Oliveri et al, 2014). Причина переліченої симптоматики – загибель нейронів і нервових волокон в області ушкодження спинного мозку, перш за все, довгоаксонних низхідних проєкцій головного мозку, котрі забезпечують довільну інервацію рухових і вегетативних спинномозкових центрів. Відновлення цих проєк-

© В.В. МЕДВЕДЄВ, Н.П. ОЛЕКСЕНКО,  
Л.Д. ПІЧКУР, С.А. ВЕРБОВСЬКА, С.І. САВОСЬКО,  
Н.Г. ДРАГУНЦОВА, Ю.А. ЛОНТКОВСЬКИЙ,  
В.В. ВАСЛОВИЧ, В.І. ЦИМБАЛЮК, 2022

цій — одне із основних завдань тканинної нейроінженерії (Liu et al, 2018; Wang et al, 2018; Liu et al, 2019; Zhang et al, 2019; Cizkova et al, 2020; Shah et al, 2020). Альтернативний підхід — протезування втраченої рухової функції за допомогою так званих екзоскелетів — на даний час розвивається успішніше (Shah et al, 2020; Dijkers et al, 2021), однак його реалізація можлива лише при збереженні певної кількості довгоаксонних низхідних проєкцій головного мозку. Отже розробка нейроінженерних засобів відновлення таких проєкцій залишається актуальною.

Найпростішим нейроінженерним втручанням при ТрСМ є клітинна трансплантація (Muhertmu et al, 2016; Lin et al, 2018; Liu et al, 2018), а засобом збільшення її ефективності — поєднання клітин із полімерними матриксами, або тканинними риштуваннями (Liu et al, 2018; Wang et al, 2018; Liu et al, 2019; Zhang et al, 2019). Фібриновий гель — чи не найперспективніший матрикс природнього походження, для якого характерна доступність, аутологічність (Tatullo et al, 2012), нетоксичність, схильність до біодеградації, тривимірна структурність, цитоатрактивність і насиченість низкою важливих регуляторних і метаболічних факторів (Amable et al, 2013; Hotwani et al, 2014; Yao et al, 2016). Усе це сприяє виживанню й інтеграції трансплантованих клітин, уможливає проростання нервових волокон (Muller et al, 1984) і тим самим потенціює відновний процес (Litvinov et al, 2005; Cargnello et al, 2011; Robinson et al, 2017; Lu et al, 2014). Такі властивості фібринового матриксу зручно використовувати для штучного компонування факторів підтримки і диференціювання трансплантованих клітин (Carriell et al, 2013; Carriell et al, 2015; Schuh et al, 2015).

У даній роботі ми дослідили вплив трансплантації алогенних клітин неонатального головного мозку щура у комплексі з фібриновим матриксом людини на відновний процес після латеральної гемісекції спинного мозку щура у нижньогрудному — верхньопоперековому відділі з використанням стандарних засобів оцінки рухової функції паретичної кінцівки і оглядового патогістологічного дослідження.

**Матеріали і методи.** *Експериментальні тварини.* Дослідження виконано на 22-х білих без-

породних щурах-самцях віварію ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України», масою ~260 г, віком 4–5 місяців, утримуваних у стандартних умовах. Тварини були розподілені на три експериментальні групи (кількості тварин наведено без урахування тих, що відповідали критеріям виключення — див. нижче): група Tr (trauma) — травма спинного мозку (n = 7); група Fb (fibrin) — травма спинного мозку + імплантація фрагменту фібринового матриксу у епіцентр травми (n = 6); група NBC (neonatal brain cells) — травма спинного мозку + імплантація фрагменту фібринового матриксу, асоційованого із клітинами неонатального головного мозку, у епіцентр травми (n = 9).

*Отримання фібринового матриксу.* Фібриновий матрикс отримували зі збагаченої тромбоцитами плазми крові (Tatullo et al, 2012) дорослої людини без клінічних ознак гострої патології згідно. Полімеризація тривала 2–3 хв при кімнатній температурі. До моменту імплантації приготовлений фібриновий гідрогель утримували в ізотонічному розчині натрію хлориду при кімнатній температурі не більше 3–4 год.

*Виділення неонатальних клітин головного мозку щурів.* Живі клітини незрілого головного мозку щура отримували на 2-гу добу після народження. Відразу після декапітації у стерильних умовах череп широко розкривали, головний мозок разом із мозочком виймали цільним блоком, звільняли від оболонок *ad oculus*, переносили у розчин Хенкса («Biovest», Франція), гомогенізували багаторазовим піпетуванням, центрифугували при 1200 g впродовж 10 хв і ресуспендували осад у підготовленій для полімеризації збагаченій тромбоцитами плазмі людської крові аналогічного донора. Загальну кількість та вміст живих клітин підраховували в гемоцитометрі після забарвлення зразків 0,2%-вим розчином трипанового синього («Janssen Chemica», Бельгія). Кінцева концентрація клітин становила  $\sim 1 \times 10^6$  в 1 мл із часткою живих клітин не менше 70 %. Після ресуспендування ініціювали полімеризацію фібрину (див. вище) з отриманням готового для трансплантації матеріалу.

Властивості клітин, асоційованих з фібриновим матриксом, досліджували під час двотижневого культивування у середовищі Ігла

(«Biowest», Франція) із додаванням 10%-вої фетальної телячої сироватки, що не підлягала жодній модифікації («Biowest», Франція) при концентрації CO<sub>2</sub> 5 % та температурі 37 °С. Заміну поживного середовища здійснювали кожні 3–4 доби. Спостереження і фотофіксацію живої культури проводили за допомогою інвертованого світлового мікроскопа («Nicon», Японія).

*Моделювання ТрСМ.* Моделювання ТрСМ здійснювали на тлі загального знеболення внутрішньоочеревинним введенням суміші розчинів ксилазину («Biowet», Польща; ~15 мг/кг) і кетаміну («ПАТ Фармак», Україна, ~70 мг/кг), у помірних асептичних умовах. Як і у попередніх дослідженнях (Korach et al, 2017), для вибору зони травми використовували пальпаторне визначення каудального краю грудної клітки глибоко анестезованої тварини у місці її фіксації до хребта. З огляду на теоретично більшу рухомість останніх пар ребер (costae fluctuantes), наявних у гризунів (Özkan, 2007; Olude et al, 2013), без використання додаткових мікрохірургічних чи рентгенологічних засобів візуалізації, ділянку травми слід локалізувати приблизно, найімовірніше, на рівні хребців T<sub>11</sub>–T<sub>12</sub>. З урахуванням скелетотопічних даних (Gilerovich et al, 2008; Moonen et al, 2016) зазначена ділянка відповідає сегментам спинного мозку T<sub>13</sub>–L<sub>1</sub>. Після лінійного розтину грубо поголеної і обробленої антисептиком шкіри на рівні ~T<sub>9</sub>–L<sub>2</sub> хребців й скелетування задньої поверхні хребта обраний міждужковий простір перфорували притупленим списоподібним сталевим стрижнем, обмежену праворуч ламінектомію здійснювали зігнутих москітоподібним затискачем. Визначення стану твердої мозкової оболони у межах кісткового вікна і вивільнення спинного мозку від прилеглих нервових стовбурів перед моделюванням ТрСМ не здійснювали. Точність медіальної межі перетину забезпечували попереднім наскрізним парамедіанним дорсо-вентральним проколом спинного мозку голкою інсулінового шприца. У сформований таким чином канал заводили одну з бранш офтальмологічних ножиць, другою браншою охоплювали ліву половину поперечника спинного мозку разом із нервовими корінцями і перетинали її у кілька прийомів. Повноту перетину латеральних частин бічної

половини спинного мозку забезпечували скривленим по ребру офтальмологічним пінцетом. Після самовільної зупинки кровотечі у тварин груп Fb і NBC рану спинного мозку заповнювали заздалегідь приготовленим фібриновим матриксом. У тварин усіх експериментальних груп вікно доступу у канал хребта прикривали фрагментом підшкірної сполучної тканини, м'які тканини та шкіру зашивали у два ряди вузлових швів, ділянку рани обробляли розчином повідон-йоду («EGIS», Угорщина). У задню шийну ділянку підшкірно вводили розчин біциліну-5 (ВАТ «Київмедпрепарат») у дозі ~0,55 млн ОД на 1 кг живої маси. У якості протизапальної і протинабрякової терапії застосовували внутрішньоочеревинне введення розчину дексаметазону («KRKA», Словенія) у дозі ~4 мг/кг живої маси. У подальшому тварини утримували у пластикових клітках з горизонтальною накривною решіткою по кілька особин.

*Аналіз показників функції та спастичності.* Показник функції (ПФ) задньої іпсилатеральної щодо зони травми кінцівки визначали згідно зі шкалою Basso-Beattie-Bresnahan (BBB; Basso et al, 1995), у власних технічних модифікаціях. У рідкісних випадках розрізнення рівня ПФ у проблематичному проміжку шкали (поміж 16-ма і 17-ма балами; див. Basso et al, 1995) використовували власний диференційний критерій. Показник спастичності (ПС) задньої іпсилатеральної щодо зони травми кінцівки оцінювали за адаптованою шкалою Ashworth (Dong et al, 2005), у наших технічних модифікаціях, на рівні над'яtkово-гомількового суглобу. Спастичність на тлі легкого парезу виявляли за оригінальними критеріями: 1) відчутніше у паретичній кінцівці, ніж в контрлатеральній, тремтіння під час її відтягнення убік; 2) гіперметричне, надмірне розгинання паретичної кінцівки під час постральної протидії різкій тракції тварини за хвіст по горизонтальній поверхні. За наявності хоча б одного з цих критеріїв величину ПС оцінювали на рівні 0,5 балів. Усі дослідження ПФ і ПС виконувались одним і тим самим експериментатором, умовно засліпленим як стосовно індивідуальних ознак усіх прооперованих ним і залучених у цей експеримент тварин, так і, зазвичай, стосовно

попередніх індивідуальних результатів тестування рухової сфери і спастичності. В усіх випадках значення ПФ і ПС одразу після моделювання травми умовно приймали рівним нулю (стан спінального шоку), перше визначення ПФ і ПС здійснювали через 1 тиждень після операції з етичних міркувань. За відсутності впевненості у точному цілому значенні ПФ чи ПС досліджуваної тварини, зараховували половинне значення показника.

З метою деталізації динаміки відновного процесу визначали абсолютний тижневий приріст ПФ:

$$\{V_{\text{ПФ}}\}_n = \frac{\text{ПФ}_n - \text{ПФ}_{n-1}}{k}$$

де  $n$  – кратність спостереження,  $k$  – кількість тижнів у оцінюваному часовому інтервалі.

Абсолютний тижневий приріст ПС визначали аналогічним чином.

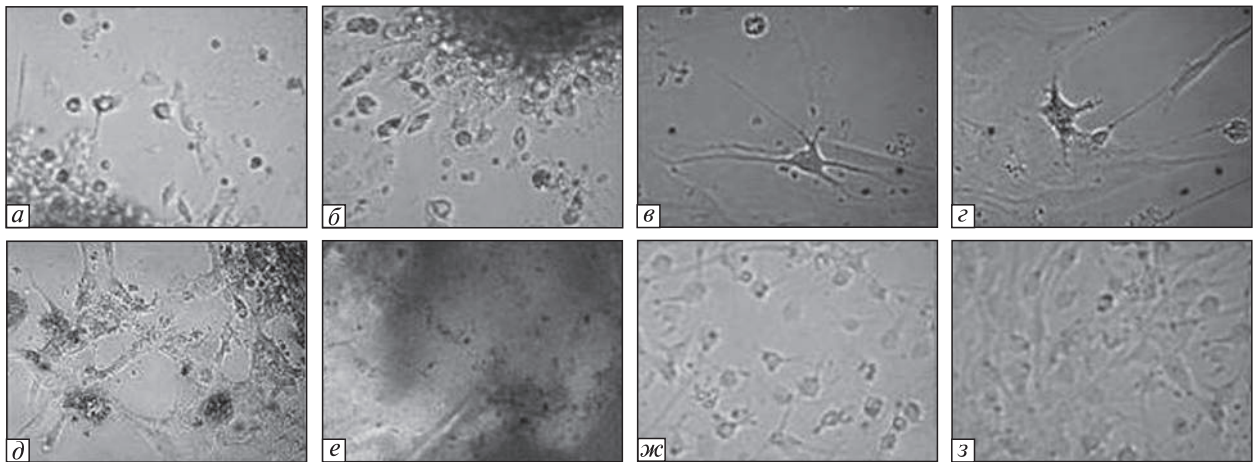
**Критерії невключення.** Заявлені вище кількості тварин кожної з експериментальної групи не враховують особин, котрі демонстрували стійкий дефіцит рухової функції задньої контрлатеральної кінцівки ( $\leq 14$ -ти балів ВВВ; група Тг – 2 тварини, група Fb – 3 тварини, ПФ задньої контрлатеральної кінцівки, відповідно, 8, 8, 8, 9 і 11 балів ВВВ), а також ознаки самоушкоджувальної поведінки (група Fb – 1 тварина) чи нехарактерні неврологічні розлади нез'ясованого генезу (група NBC – 1 тварина). Наявність іпсилатерального парезу м'язів черевної стінки або периферичного парезу м'язів задньої кінцівки, тобто надмірно роstralізованого або каудалізованого виконання ТрСМ, спеціально не досліджували.

**Особливості відображення результатів.** Відображення результатів моніторингу ПФ і ПС здійснювали за стандартизованою часовою шкалою: щотижнево впродовж перших двох місяців (1–8 тижнів), а також через 3, 4 і 5 місяців після травми. При відображенні тривалості спостереження у тижнях, мінімальною одиницею часу вважали 7 діб, при відображенні у місяцях – проміжок між однаковими денними датами двох сусідніх місяців. Серед вкрай рідкісних випадків відтворення індивідуальних значень ПФ і ПС лише один припадав на період порівняльного аналізу (до 5-го місяця спос-

тереження включно): у групах NBC і Fb індивідуальні значення ПФ і ПС через 4 тижні після травми відтворювали шляхом інтерполяції, як середнє арифметичне від значень двох суміжних часових точок спостереження. Асимптотичні відмінності термінів тестування між групами виявляли через 1 і 2 тижні, а також через 3 місяці після травми (14–29 % від величини відповідного терміну стандартизованої часової сітки представлення результатів; на інших термінах різниця не перевищувала 10 %). У зв'язку із цим, важливо зауважити, що після першого місяця спостереження відрізки істотної стабільної односпрямованої динаміки у всіх експериментальних групах відсутні.

**Патоморфологічне дослідження.** Матеріал для патоморфологічного дослідження отримували у віддаленому періоді травми (у групі Тг – через ~7 місяців після травми, у групі Fb і NBC – через ~9 місяців). Враховуючи, що віддалений, або пізній період ТрСМ триває з 6-го місяця після ушкодження й впродовж усього наступного часу життя тварини (Jeong et al, 2021), характеризується відсутністю істотних змін неврологічного дефіциту (Burns et al, 2017), проміжок у 2 місяці у цьому періоді недостатній для прояву значущої динаміки функціональних і морфологічних змін. Отже таку часову різницю у заборі матеріалу слід вважати несуттєвою щодо такої функціонально значимої морфологічної особливості ділянки післятравматичної організації, як досліджувана нами наявність (але не кількісні показники) нервових волокон у ній. Відразу після забиття тварини шляхом передозування вказаних вище наркотичних засобів, ділянку хребта, котра включала зону травми, вилучали, поміщали у 10%-вий розчин нейтрального формаліну. Через кілька тижнів шляхом мікропрепарування виокремлювали спинний мозок у межах зони травми. Поздовжні зрізи товщиною 15 мкм спинного мозку, отримані на мікротомі-криостаті (МК-25, СРСР), забарвлювали методом імпрегнації сріблом (Kolomiytsev et al, 1982). З цією метою зрізи послідовно витримували у розчині кислого формаліну, піридину, 30%-вому розчині азотнокислого срібла і у розчині аміачного срібла, досліджували на світлооптичному мікроскопі Ахіорфот («Opton», Німеччина)





**Рис. 1.** Культура нервових клітин головного мозку щурів інкорпорована у фібриновий матрикс: *а, б* – 3 доба культивування, виселення клітин з матриксу та формування зони росту навколо нього, живий незабарвлений препарат, збільшення  $\times 200$ ; *в, г* – 5 і 7 доба культивування, поліморфні нервові клітини в зоні росту навколо матриксу, встановлення міжклітинних зв'язків, живий незабарвлений препарат, збільшення  $\times 200$ ; *д* – 14 доба культивування, частковий лізис матриксу, на місці якого залишається тривимірна структура нервових клітин, живий незабарвлений препарат, збільшення  $\times 100$ ; *е* – 7 доба культивування, формування клітинної мережі у внутрішніх зонах матриксу, живий незабарвлений препарат, збільшення  $\times 100$ ; *ж, з* – суспензійна культура нервових клітин головного мозку щурів на 10 і 14 добу культивування, живий незабарвлений препарат  $\times 200$

з цифровою камерою Canon 600 (Canon Inc., Тайвань), комп'ютерним аналізатором CAI-01ABH («Selmi», Україна) з використанням програмного забезпечення «Карра opto-electronics GmbH» (Німеччина) і об'єкт-мікрометра.

**Статистичне дослідження.** Порівняльний статистичний аналіз значень ПФ, ПС,  $V_{\text{пф}}$  і  $V_{\text{пс}}$  у всіх трьох групах проводили до 5-го місяця включно, за допомогою програмного пакету STATISTICA 10.0 на персональному комп'ютері з використанням тесту Мана-Уїтні (Mann-Whitney U-Test), тесту Уїлкоксона (Wilcoxon Matched Pairs Test) й тесту рангової кореляції Спірмена (Spearman Rank Order Correlations). Усереднені величини представляли у вигляді  $M \pm SE$ , де  $M$  (mean) – середнє значення величини,  $SE$  (standard error) – стандартна похибка середнього значення величини. У всіх випадках припущення щодо статистичної значущості отриманого результату вважали вірними, якщо ймовірність протилежного припущення була меншою ніж 0,05 ( $p < 0,05$ ).

**Результати.** Дослідження комплексу фібринового матриксу з нервовими клітинами *in vitro*. Впродовж перших 3-х діб культивування клі-

тин неонатального мозку щура, асоційованих з фібрином, спостерігали активну міграцію до зовнішньої поверхні матриксу та вихід за його межі, формування мережі відростків і встановлення просторових міжклітинних контактів (рис. 1, *а, б*). На 7–10-ту добу культивування навколо часточок матриксу спостерігали конфлюентний шар клітин характерної морфології – поліморфних, з відростками різного розміру і типу галузіння (рис. 1, *в, г*). Аналогічні типи клітин спостерігалися і у суспензійній культурі, але вони не формували зони росту, а розташовувалися в довільному порядку по всьому полю зору (рис. 1, *ж, з*). У внутрішніх зонах матриксу на цьому ж терміні спостереження клітини формували мережу відростків і спрямовані назовні нейрито-гліальні волокна, встановлювали просторові контакти (рис. 1, *е*). Наприкінці 2-го тижня культивування констатували частковий лізис фібринового матриксу зі збереженням сформованої тривимірної багатоклітинної структурності (рис. 1, *д*). Це свідчить про збереження життєздатності та характерної морфології інкорпорованих клітин неонатального мозку.

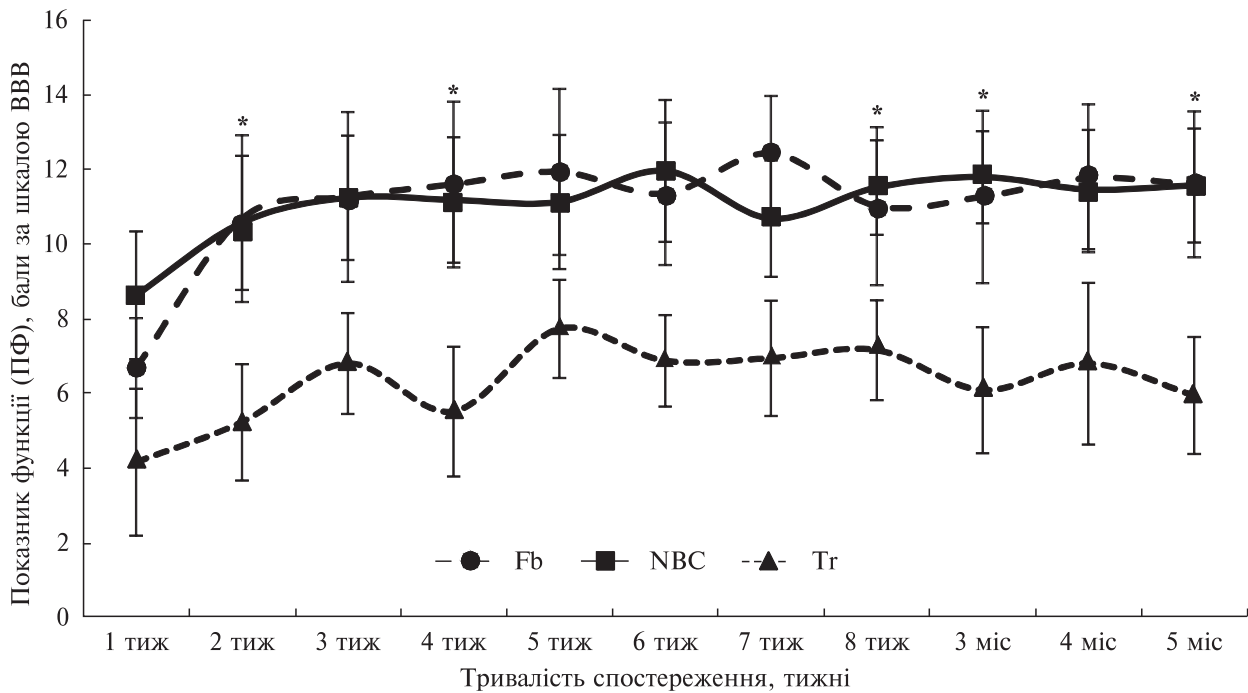
Вплив фібрину та його комплексу із неонатальними клітинами мозку щура на функціональні показники щурів. У результаті досліджень ПФ у тварин із модельованою травмою та імплантацією фібрину у комплексі з клітинами виявили, що у групі Тг (n = 7) через 1 тиждень після хірургічного втручання ПФ паретичної кінцівки складав  $4,1 \pm 2,0$  балів ВВВ, збільшувався впродовж наступних 2-х тижнів до  $6,8 \pm 1,4$  бала ВВВ (рис. 2), причому, впродовж 3-го тижня – достовірно ( $p = 0,046$  при порівнянні зі значенням кінця першого тижня спостереження; Wilcoxon Matched Pairs Test). Впродовж наступних 2-х тижнів спостереження значення ПФ коливались і станом на кінець 5-го тижня сягали фактичного максимуму –  $7,7 \pm 1,3$  бала ВВВ ( $p < 0,05$  при порівнянні зі значеннями наприкінці першого, 2-го і 4-го тижня спостереження; Wilcoxon Matched Pairs Test). Істотні відмінності зі значеннями перших двох тижнів спостереження виявляли також впродовж наступних трьох термінів спостереження ( $p < 0,05$  при порівнянні значень 6-го і першого тижня, 7-го і 2-го, 8-го і першого тижня; Wilcoxon Matched Pairs Test). Після 5-го тижня й до кінця спостереження істотних змін ПФ не виявляли ( $p > 0,05$ ; Wilcoxon Matched Pairs Test). Наприкінці 5-го місяця ПФ у групі склав  $5,9 \pm 1,6$  бала ВВВ (рис. 2), наприкінці 7-го місяця –  $6,0 \pm 1,7$  бала ВВВ.

$V_{\text{пф}}$  впродовж першого тижня спостереження у групі Тг складав  $4,1 \pm 2,0$  бала/тиж, зменшувався до мінімуму станом на кінець першого місяця спостереження ( $-1,3 \pm 0,6$  бала/тиж;  $p < 0,05$  у порівнянні з першим тижнем; Wilcoxon Matched Pairs Test). Істотні відмінності ( $p < 0,05$ ; Wilcoxon Matched Pairs Test) значення  $V_{\text{пф}}$  у порівнянні зі значенням першого тижня виявляли, окрім іншого, для 6-го тижня і 2–7-го місяця спостереження, а також при порівнянні значень 5-го і 4-го тижня, значень 6-го тижня і 3-го й 5-го тижня, значень 3–7-го місяця із значенням 5-го тижня. Отже, значення  $V_{\text{пф}}$  впродовж 5-го тижня виявилось другим достовірним екстремумом і складало  $2,2 \pm 0,6$  бала/тиж. Усереднене впродовж перших 8-ми тижнів і за увесь період спостереження значення  $V_{\text{пф}}$  у групі Тг складало, відповідно,  $0,3 \pm 0,2$  і  $0,2 \pm 0,1$  бала/тиж.

У групі Fb (n = 6) через 1 тиждень після моделювання травми ПФ складав  $6,7 \pm 1,3$  бала ВВВ, істотно не відрізняючись від ПФ групи Тг ( $p > 0,05$ , Mann-Whitney U Test; рис. 2). Протягом наступного тижня відбулося суттєве збільшення ПФ ( $p < 0,05$  при порівнянні зі значеннями попереднього терміну спостереження; Wilcoxon Matched Pairs Test). Достовірних змін рівня ПФ впродовж усього наступного періоду спостереження не виявляли: починаючи з 3-го тижня і до кінця експерименту значення ПФ істотно відрізнялися лише від рівня ПФ наприкінці першого тижня. Щоправда, для значення 9-го місяця характерна достовірна відмінність від значення наприкінці 7-го тижня ( $p < 0,05$ ; Wilcoxon Matched Pairs Test) – максимального у групі впродовж усього спостереження ( $12,4 \pm 1,5$  бала ВВВ). Це свідчить про істотний регрес ПФ до завершення експерименту: через 9 місяців після моделювання травми ПФ становив  $10,3 \pm 2,0$  бала ВВВ. На жодному з термінів спостереження достовірних відмінностей значення ПФ у групах Fb і Тг не виявлено ( $p > 0,05$ ; Mann-Whitney U Test).

Максимальні значення  $V_{\text{пф}}$  у групі Fb виявляли впродовж перших 2-х тижнів –  $6,7 \pm 1,3$  і  $4,0 \pm 1,0$  бала ВВВ, відповідно. Усереднене за період перших 8-ми тижнів і за увесь період спостереження значення  $V_{\text{пф}}$  у групі складало, відповідно,  $1,4 \pm 0,3$  і  $0,8 \pm 0,2$  бала/тиж, суттєво перевищуючи усереднений за період перших 8-ми тижнів показник групи Тг ( $p < 0,05$ ; Mann-Whitney U Test). Істотні відмінності від значення першого тижня демонстрували значення  $V_{\text{пф}}$  на усіх наступних термінах спостереження, відмінності від значень 2-го тижня виявляли для 4–6-го тижня і 2–6-го місяця, також виявлено істотну відмінність між значеннями 8-го тижня і 3-го місяця ( $p < 0,05$ ; Wilcoxon Matched Pairs Test). Достовірні відмінності між значеннями  $V_{\text{пф}}$  груп Fb і Тг на жодному з термінів спостереження не виявлено ( $p > 0,05$ ; Mann-Whitney U Test).

Значення ПФ у групі NBC (n = 9) впродовж усього періоду спостереження виявилися гранично близькими до значень у групі Fb, не демонструючи значущої різниці ( $p > 0,05$ ; Mann-Whitney U Test; рис. 2). Через 1 тиждень ПФ



**Рис. 2.** Динаміка показника функції паретичної кінцівки (ПФ) у тварин експериментальних груп впродовж 5-ти місяців спостереження. Умовні позначення: \* – різниця значень ПФ груп NBC і Tr значуща ( $p < 0,05$ ; Mann-Whitney U Test)

у групі склав  $8,6 \pm 1,7$  бала ВВВ, достовірну відмінність від цього значення виявляли через 3, 4 і 8 тижнів, а також через 3, 5 і 6 місяців після моделювання травми ( $p < 0,05$ ; Wilcoxon Matched Pairs Test). Інших відмінностей між значеннями ПФ, визначеними на різних термінах спостереження, не спостерігали. Фактичний максимум середнього значення ПФ у групі NBC реєстрували через 6 тиж після моделювання травми, наприкінці 9-го місяця спостереження ПФ склав  $10,7 \pm 1,6$  бала ВВВ.

Попри очевидну близькість значень ПФ груп NBC і Fb впродовж усього експерименту і відсутність достовірних відмінностей значень ПФ груп Fb і Tr, між значеннями ПФ груп NBC і Tr виявили суттєву різницю через 2 і 4 тижні, а також через 2, 3 і 5 місяців після травми ( $p < 0,05$ ; Mann-Whitney U Test; рис. 2). Враховуючи методологічні недоліки дослідження (див. вище), результат порівняльного аналізу через 4 тижні і 3 місяці після травми достовірний умовно.

Максимальні значення  $V_{\text{ПФ}}$  у групі NBC реєстрували впродовж перших двох тижнів спо-

стереження ( $8,6 \pm 1,7$  і  $1,9 \pm 1,1$  бала/тиж, відповідно), причому істотну відмінність від значення  $V_{\text{ПФ}}$  на першому тижні виявляли для усіх наступних термінів спостереження ( $p < 0,05$ ; Wilcoxon Matched Pairs Test). Для 7-го тижня реєстрували від’ємне значення  $V_{\text{ПФ}}$  ( $-1,3 \pm 0,9$  бала/тиж), котре достовірно відрізнялось від значення 3-го тижня ( $0,7 \pm 0,5$  бала/тиж;  $p < 0,05$ , Wilcoxon Matched Pairs Test). Суттєві відмінності величини  $V_{\text{ПФ}}$  у групах NBC і Fb виявлено лише для 8-го тижня спостереження (на користь групи NBC;  $p < 0,05$ , Mann-Whitney U Test), а при порівнянні груп NBC і Tr – на 5-му тижні спостереження (на користь групи Tr;  $p < 0,05$ , Mann-Whitney U Test). Усереднене впродовж перших 8-ми тижнів і за увесь період спостереження значення  $V_{\text{ПФ}}$  у групі NBC склали, відповідно,  $1,4 \pm 0,2$  і  $0,9 \pm 0,1$  бала/тиж, суттєво перевищуючи усереднений за період перших 8-ми тижнів показник групи Tr ( $p < 0,05$ , Mann-Whitney U Test).

Цікавою особливістю динаміки ПС в усіх трьох групах є майже повна відсутність зна-

чущих змін впродовж усього експерименту (рис. 3). Так, у групі Тг через 1 тиждень після моделювання травми ПС паретичної кінцівки складав  $0,7 \pm 0,1$  бала Ashworth; впродовж наступного тижня спостерігали дворазове, однак, недостовірне збільшення показника до максимального серед усіх груп і термінів спостереження –  $1,4 \pm 0,3$  бала Ashworth, котре виявилось характерним і для кінця 4-го тижня експерименту (рис. 3). Істотні відмінності виявляли лише при порівнянні значення 8-го тижня ( $0,7 \pm 0,2$  бала Ashworth) і значення 3-го тижня ( $1,2 \pm 0,2$  бала Ashworth;  $p = 0,03$ , Wilcoxon Matched Pairs Test). Значення ПС на останніх двох термінах спостереження (кінець 5-го і початок 8-го місяця спостереження) були ідентичними і складала  $1,2 \pm 0,3$  бала Ashworth. Отже, впродовж усього експерименту значення ПС у групі Тг недостовірно коливались у діапазоні від  $0,7 \pm 0,1$  до  $1,4 \pm 0$ , бала Ashworth (рис. 3).

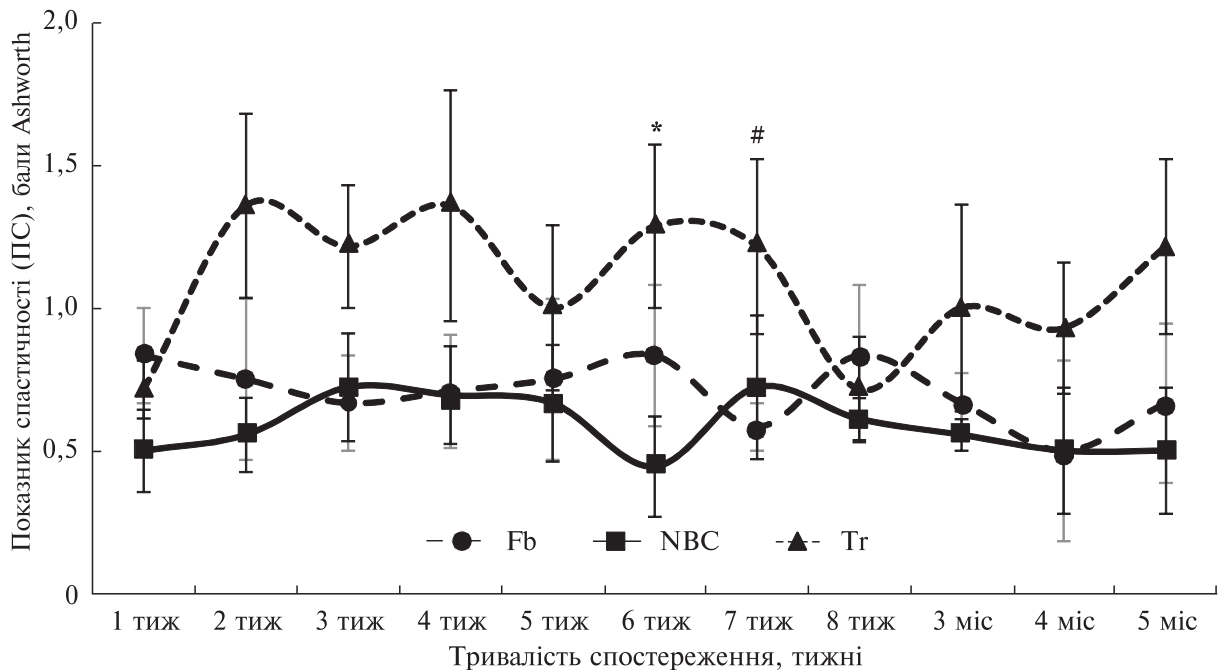
Значення  $V_{\text{ПС}}$  впродовж перших двох тижнів у групі Тг виявилися найбільшими (відповідно,  $0,7 \pm 0,1$  бала/тиж і  $0,6 \pm 0,3$  бала/тиж), у подальшому коливались з різною амплітудою навколо нульової позначки. Достовірну відмінність визначали при порівнянні значень  $V_{\text{ПС}}$  на 1-му тижні спостереження зі значеннями на 5-му й 7-му тижні, 2–7-му місяці ( $p < 0,05$ ; Wilcoxon Matched Pairs Test), а також при порівнянні значень  $V_{\text{ПС}}$  на 2-му і 8-му тиж ( $p < 0,05$ ; Wilcoxon Matched Pairs Test). Усереднене за період перших 8-ми тижнів і за увесь період спостереження значення  $V_{\text{ПС}}$  у групі Тг склало  $0,1 \pm 0,0$  бала/тиж.

У групі Fb істотних змін ПС впродовж усього періоду спостереження не виявляли ( $p > 0,05$ ; Wilcoxon Matched Pairs Test), значення показника коливались у межах від  $0,5 \pm 0,2$  бала до  $0,8 \pm 0,2$  бала Ashworth (рис. 3). Достовірну різницю зі значеннями ПС групи Тг виявляли лише через 7 тижнів після травми ( $p < 0,05$ ; Mann-Whitney U Test; рис. 3). Найбільше значення  $V_{\text{ПС}}$  реєстрували для першого тижня спостереження ( $0,8 \pm 0,2$  бала/тиж), у подальшому величина показника коливалася навколо нуля. Достовірну різницю значення  $V_{\text{ПС}}$  на першому тижні виявляли при порівнянні зі значеннями на 3–7-му тижні й 3–9-му місяці ( $p < 0,05$ ; Wilcoxon Matched Pairs Test),

а також при порівнянні значень  $V_{\text{ПС}}$  на 2-му і 4-му місяці та при порівнянні значень  $V_{\text{ПС}}$  на 9-му місяці зі значеннями на 7-му тижні й 3-му, 4-му і 6-му місяцях спостереження ( $p < 0,05$ ; Wilcoxon Matched Pairs Test). Значущих відмінностей між  $V_{\text{ПС}}$  груп Fb і Тг впродовж п'яти місяців спостереження не виявляли. Усереднене за період перших 8-ми тижнів і за увесь період спостереження значення  $V_{\text{ПС}}$  у групі Fb склало  $0,1 \pm 0,0$  бала/тиж, не відрізняючись від усередненого за період перших 8-ми тижнів значення показника групи Тг ( $p > 0,05$ , Mann-Whitney U Test).

Значення ПС у групі NBC впродовж експерименту коливались у межах від  $0,4 \pm 0,2$  бала до  $0,7 \pm 0,2$  бала Ashworth (рис. 3), причому значущу відмінність зареєстровано лише між значеннями 3-го і 6-го тижнів спостереження ( $p < 0,05$ ; Wilcoxon Matched Pairs Test). Істотних відмінностей між ПС груп NBC і Fb впродовж експерименту не виявлено ( $p > 0,05$ ; Mann-Whitney U Test), при порівнянні груп NBC і Тг – виявлено лише на 6-му тижні спостереження ( $p < 0,05$ ; Mann-Whitney U Test). Максимальне значення  $V_{\text{ПС}}$  у групі NBC ( $0,5 \pm 0,1$  бала/тиж) реєстрували на першому тижні експерименту. Значення цього показника на усіх наступних термінах спостереження у групі NBC (за винятком значень на 3-му і 7-му тижнях) виявились істотно меншими ( $p < 0,05$ ; Wilcoxon Matched Pairs Test). Крім того, значення  $V_{\text{ПС}}$  на 6-му тижні суттєво поступались значенню на 3-му тижні, значення  $V_{\text{ПС}}$  на 7-му тижні істотно переважали значення 4-го і 5-го тижнів й 4-го місяця, а значення 8-го місяця достовірно переважали значення 3-го і 5-го місяців ( $p < 0,05$  для усіх перелічених випадків; Wilcoxon Matched Pairs Test). Достовірну різницю значення  $V_{\text{ПС}}$  групи NBC виявлено лише на 7-му тижні при порівнянні зі значенням групи Fb (на користь групи NBC;  $p < 0,05$ , Wilcoxon Matched Pairs Test). Усереднене значення  $V_{\text{ПС}}$  у групі NBC за період перших 8-ми тижнів і за увесь період спостереження склало, відповідно,  $0,1 \pm 0,0$  і  $0,0 \pm 0,0$  бала/тиж, не відрізняючись ( $p > 0,05$ ; Mann-Whitney U Test) від усередненого за період перших 8-ми тижнів показника групи Тг (порівнювали лише з відповідним показником групи NBC) і групи Fb (порівнюва-





**Рис. 3.** Динаміка показника спастичності паретичної кінцівки (ПС) у тварин експериментальних груп протягом 5-ти місяців спостереження. Умовні позначення: \* – різниця значень ПС груп NBC і Tr значуща ( $p < 0,05$ ; Mann-Whitney U Test); # – різниця значень ПС груп Fb і Tr значуща ( $p < 0,05$ ; Mann-Whitney U Test)

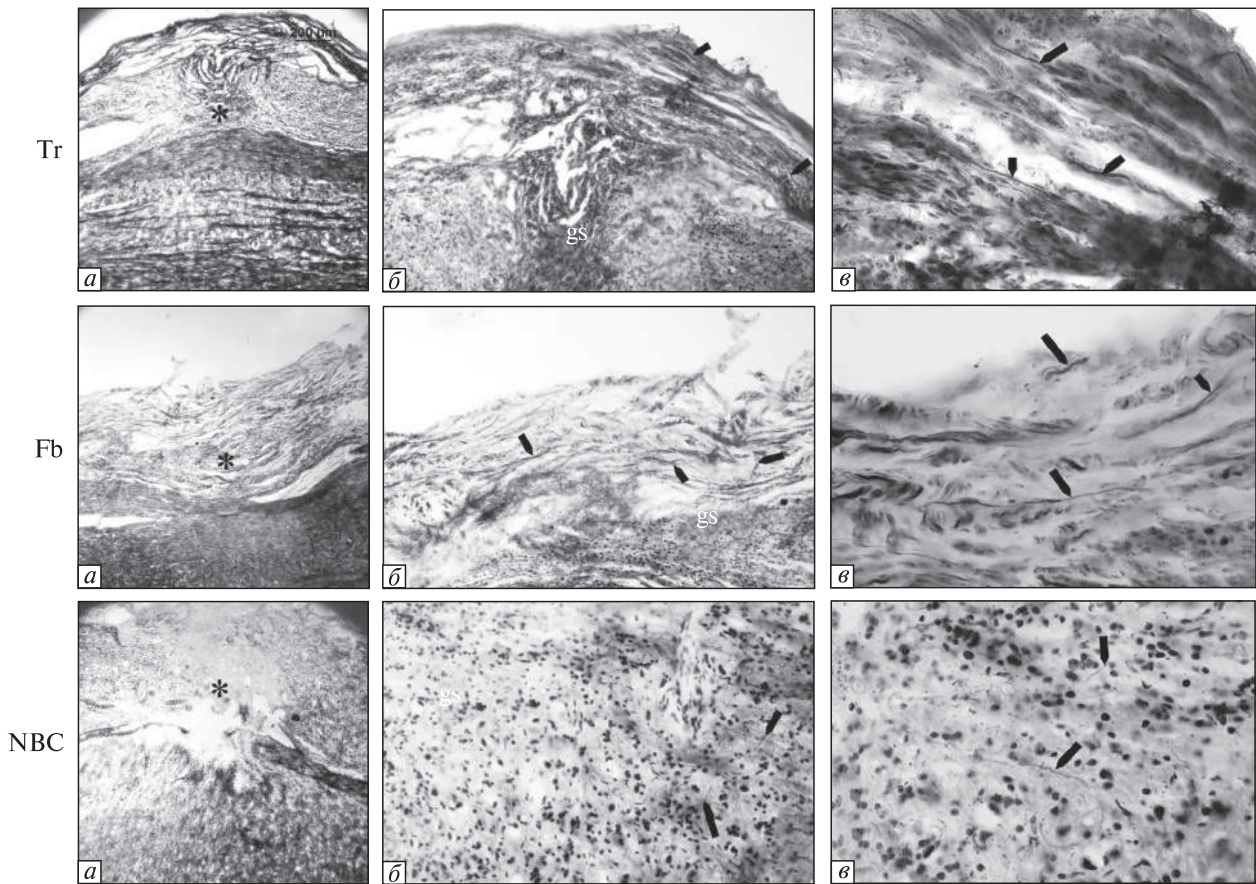
ли з обома відповідними показниками групи NBC).

При аналізі середніх значень ПФ, ПС,  $V_{\text{пф}}$  і  $V_{\text{пс}}$  значущу від’ємну кореляцію з показником тривалості спостереження виявлено для  $V_{\text{пф}}$  групи Fb ( $r = -0,72$ ) і групи NBC ( $r = -0,63$ ) ( $p < 0,05$ ; Spearman Rank Order Correlations). При аналізі індивідуальних значень ПФ і ПС істотну негативну кореляцію у групі Tr виявлено через 1 і 2 тижня і через 4, 5 і 7 місяців після травми ( $r \leq -0,80$ ;  $p < 0,05$ , Spearman Rank Order Correlations), у групі Fb – через 4, 5 і 6 тижня і через 2 і 5 місяців після травми ( $r \leq -0,85$ ;  $p < 0,05$ , Spearman Rank Order Correlations), у групі NBC – через 1 і 3–8 тижнів і через 4–9 місяців після травми ( $r \leq -0,68$ ;  $p < 0,05$ , Spearman Rank Order Correlations). При аналізі індивідуальних значень  $V_{\text{пф}}$  і  $V_{\text{пс}}$  істотну негативну кореляцію у групі Tr виявлено через 1, 6 і 7 тижнів і через 3 місяці після травми ( $r \leq -0,77$ ;  $p < 0,05$ ; Spearman Rank Order Correlations), у групі Fb – через 6 тижнів і через 5 місяців після травми ( $r \leq -0,88$ ;  $p < 0,05$ , Spearman Rank Order

Correlations), у групі NBC – лише через 1 тиждень після травми ( $r = -0,72$ ;  $p < 0,05$ , Spearman Rank Order Correlations). Щоправда, для середніх значень ПФ і ПС чи  $V_{\text{пф}}$  і  $V_{\text{пс}}$  у кожній з груп впродовж експерименту достовірної від’ємної кореляції виявлено не було ( $r > -0,48$ ;  $p > 0,05$ , Spearman Rank Order Correlations).

Отримані дані свідчать, що імплантація у епіцентр TrСМ фібринового матриксу з інкорпорованими клітинами неонатального мозку і без них чинить суттєвий вплив на перебіг TrСМ, покращуючи відновлення рухової функції паретичної кінцівки. Для з’ясування ваги позитивної ролі використаних у даному дослідженні клітин необхідні подальші дослідження на більших експериментальних вибірках.

*Патогістологічна картина зони ураження у тварин експериментальних груп у віддаленому періоді травми.* Гістологічна картина у фокусі травми і у перифокальній зоні у віддаленому періоді спостереження за результатами дослідження зрізів, імпрегнованих сріблом (рис. 4), виявила заміщення зони дефекту елементами глії і сполучної тканини, що формують кон-



**Рис. 4.** Гістологічна картина у фокусі травми і у перифокальній зоні у віддаленому періоді травми за результатами дослідження поздовжніх зрізів спинного мозку, імпрегнованих азотнокислим сріблом. Новоутворені дрібні нервові волокна (позначено стрілками) посеред потовщеного сполучнотканинного покриву спинного мозку поблизу організованої зони травми (Tr), а також у товщі рубцевої тканини, що, найімовірніше, замістила фібриновий імплантат (Fb) і у речовині спинного мозку, поблизу ділянки імплантації фібринового матриксу (NBC). Умовні позначення: \* – епіцентр травми (Tr, Fb, NBC) та імплантації фібринового матриксу (Fb, NBC); → – нервові волокна; gs – гліофіброзний рубець (glial scar). Масштаб: a – 200 мкм, б – 20 мкм, в – 10 мкм

гломерат гліофіброзного рубця (групи Tr Fb і NBC – рис. 4, а, б). У поверхневих, приоболонкових відділах рубця (групи Tr і Fb), а також у навколорубцевій зоні спинного мозку (група NBC) візуалізовано поодинокі, найімовірніше, новоутворені нервові волокна (групи Tr, Fb і NBC – рис. 4, в). Патоморфологічні дані свідчать, що одним із можливих механізмів відновлення рухової функції паретичної кінцівки після ТрСМ, у тому числі й на тлі імплантації фібринового матриксу, є проростання нервових волокон через ділянку організації травмованої речовини спинного мозку. З'ясування ва-

ги цього механізму у формуванні позитивного впливу імплантації фібринового матриксу можливе з використанням розширеного морфометричного аналізу.

**Обговорення.** Попри низьку захворюваність, ТрСМ є кумулятивною патологією зі значною поширеністю, котра призводить до суттєвого погіршення якості життя постраждалих і обумовлює значні економічні втрати (DeVivo, 2012; Oliveri et al, 2014; Pretz et al, 2016; GBD 2016 Traumatic Brain Injury and Spinal Cord Injury Collaborators, 2019). Ключовою причиною неврологічного дефіциту при ТрСМ є ушкоджен-

ня довгих нервових волокон, котрі забезпечують впливи головного мозку на еферентні нейрони спинного мозку. Патогенез типової ТрСМ включає ряд здебільшого послідовних процесів (Tran et al, 2018; Alizadeh et al, 2019), котрі регулюються широким спектром факторів міжклітинної взаємодії, зокрема, цитокінами (Garcia et al, 2016) і факторами росту (Ko et al, 2019). Попри активно досліджуване обмеження регенерації ушкоджених при ТрСМ аксонів (Rao, Pearse, 2016; Tran et al, 2018; Swieck et al, 2019), описана слабка аутогенна регенерація рухової системи мозку (Steeves, 2015; Khorasanizadeh et al, 2019), котра, найімовірніше, забезпечується перелаштуванням топології нейронних мереж, приміром, пропріоспінальних (Blesch, Tuszynski, 2009; Flynn et al, 2011; Brown, Martinez, 2019). У цьому сенсі розробка засобів реконструкції нейронних мереж є аргументованою (Liu et al, 2018; Wang et al, 2018; Liu et al, 2019; Zhang et al, 2019; Cizkova et al, 2020; Shah et al, 2020).

Наші дані стосовно ефективності трансплантації NBC, асоційованих з фібриновим матриксом, у зону ТрСМ щура певною мірою узгоджуються з результатами іншої групи (Lu et al, 2012), отриманими, щоправда, на моделі повного перетину спинного мозку дорослого щура на верхньогрудному рівні ( $T_3$ ). Згідно із ними, алотрансплантація нейральних стовбурових клітин спинного мозку плоду щура (E14) у комплексі з фібриновим матриксом, штучно насиченим численними факторами росту й інгібітором протеази кальпаїну, здійснена у ділянку травми через 2 тиж після її моделювання, обумовлює збільшення функції задніх кінцівок на 5 балів ВВВ у порівнянні з референтною групою (ізолювана травма), тобто з ~2-х до ~7-ми балів ВВВ. Ми виявили аналогічну, істотну п'ятибальну різницю між значеннями ПФ групи NBC ( $10,7 \pm 1,6$  бала ВВВ) і групи Тг ( $6,0 \pm 1,7$  бала ВВВ), котра, однак, найімовірніше, забезпечується саме присутністю у зоні травми фібринового матриксу, адже істотна ефективність трансплантації NBC, асоційованих з матриксом, у порівнянні з імплантацією вільного від NBC матриксу, вочевидь, має лише статистичне підґрунтя.

Водночас, у іншому дослідженні (Johnson et al, 2010) не виявлено достовірного позитив-

ного впливу імплантації фібринового матриксу у ділянку дорзальної гемісекції спинного мозку дорослого щура на рівні  $T_9$ , здійсненої через 2 або 4 тижні після моделювання травми. Щоправда, автори не наводять жодних цифрових ілюстрацій цього твердження, чим ускладнюють його інтерпретацію, оскільки відновлення рухової функції задніх кінцівок після такого виду травми спинного мозку щура за відсутності будь-яких відновних втручань уже впродовж місяця сягає 11 балів ВВВ (Majczynski, Slawinska, 2007).

Так чи інакше, припускаємо, що виявлені нами дані слід передусім розглядати через призму можливих механізмів впливу фібринового матриксу на перебіг ТрСМ. Отримані результати свідчать, що імплантація фібринового матриксу чинить позитивний ефект саме у ранньому періоді ТрСМ, оскільки перевага ПФ груп Fb і NBC над показником групи Тг виявлялась уже з першого терміну спостереження (у групі Fb на цьому терміні – менш виразно) і зберігалась рівновеликою упродовж усього періоду спостереження. Одним з ймовірних механізмів такого ефекту є, на нашу думку, антигеморагічний вплив фібрину у рані спинного мозку й у зв'язку із цим обмеження прямого контакту речовини мозку з кров'ю і ліквором, а тому – з імунною системою, елементами її регіонарного нагляду і тригерами вторинного запального ушкодження. Іншим можливим механізмом є дія регуляторних факторів, асоційованих з матриксом, у тому числі, продукованих наявними у ньому клітинами (NBC). Приміром, відомо, що сув'язь полімеризованого фібрину, отриманого при згортанні плазми, містить тромбоцити (Tatullo et al, 2012) – джерело таких факторів росту, як PDGF (platelet-derived growth factor), TGF $\beta$  (transforming growth factor  $\beta$ ), IGF (insulin-like growth factor), VEGF (vascular endothelial growth factor) та EGF (epidermal growth factor) (Amable et al, 2013; Hotwani et al, 2014; Yao et al, 2016), котрі вповні можуть впливати на перебіг локальних тканинних реакцій у найгострішому періоді ТрСМ. Ймовірні й віддаленіше ефекти перелічених факторів росту, приміром, для PDGF і TGF $\beta$  описана стимуляція проліферації попередників олігодендроцитів (Hill et al, 2013; Abbaszadeh



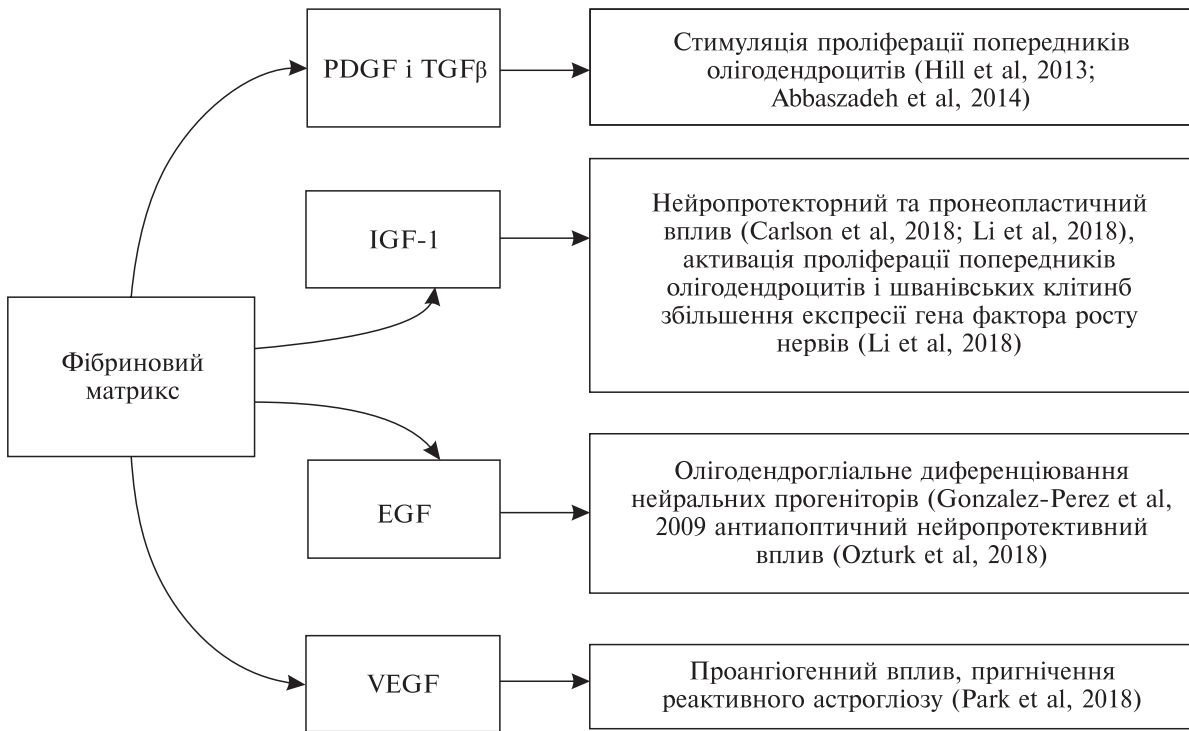


Рис. 5. Вплив основних нейротрофічних факторів фібринового матриксу за даними літератури

et al, 2014), для IGF-1 – нейропротекторний та пронеопластичний вплив (Carlson et al, 2018; Li et al, 2018), активація проліферації попередників олігодендроцитів і шванівських клітин, збільшення експресії гена фактору росту нервів (Li et al, 2018), для EGF – олігодендрогліальне диференціювання нейральних прогеніторів (Gonzalez-Perez et al, 2009) і антиапоптичний нейропротективний вплив (Ozturk et al, 2018), для VEGF – окрім загальновідомого проангіогенного впливу, пригнічення реактивного астрогліозу (Park et al, 2018). Крім того, відомо, що інкорпоровані в фібриновий матрикс нервові клітини зберігають властиві ним нейрональні маркери, зокрема  $\beta$ -III тубулін, NF-200 тощо (Bento et al, 2017) і певним чином можуть брати участь у регенераційному процесі. З’ясування реалістичності цих припущень потребує окремого детального дослідження.

Істотною проблемою регенеративної медицини є незадовільна клінічна трансляція експериментальних даних (Blesch, Tuszynski, 2009; Lemmon et al, 2014). Її причини, перш за все, у слабкій ефективності досліджуваних регене-

ративних втручань і у відсутності стандартизованих експериментальних протоколів для досліджень такого виду (Lemmon et al, 2014; Assinck et al, 2017; Dietz, Schwab, 2017). Типова для клінічних умов форма ТрСМ – забиття (Assinck et al, 2017; Dietz, Schwab, 2017; Alizadeh et al, 2019) не дозволяє з’ясувати відносну ефективність солідних трансплантатів, а моделювання повного перетину спинного мозку стикається з труднощами післяопераційного супроводу експериментальних тварин. Це обумовило обрання нами у якості моделі ТрСМ однобічного половинного перетину спинного мозку щура. При цьому, вибір часу імплантації матриксу у нашому дослідженні обумовлений фактом максимальної активності аутогенного нейропластичного процесу впродовж перших тижнів після ТрСМ (Blesch, Tuszynski, 2009), а також динамікою локальної запальної реакції й вторинної альтерації (Tran et al, 2018; Alizadeh et al, 2019), котрі неодмінно супроводжуються збільшенням концентрації цитокінів й інших хімічних факторів впливу на стан трансплантованих клітин.



*Технічні перестороги дослідження.* Використану нами для обліку рухової функції паретичної кінцівки шкалу BBB розроблено для дослідження наслідків двобічного ушкодження спинного мозку (Basso et al, 1995). Попри тривалий досвід її використання при однобічних ушкодженнях (Metz et al, 2000; Mills et al, 2001; Webb, Muir, 2002; Arvanian et al, 2009; Hsieh et al, 2010; Pertici et al, 2013; Zhao et al, 2015; Zhang et al, 2016; Li et al, 2017), на наш погляд, верифікаційний потенціал шкали у таких умовах обмежений. Окрім доцільності залучення кінематичного і аудіологічного аналізу відеофіксованого матеріалу, визначення точного значення ПФ ускладнено компенсацією тих проявів рухового дефіциту паретичної кінцівки, котрі використовуються у якості диференційних критеріїв шкали BBB на рівні вище 7-ми балів. Зокрема, йдеться про позиціювання стопи підшовою вниз (plantar placement) у стаціонарній позиції, підтримання кінцівкою маси відповідного квадранту тіла (weight support), координація локомоторних рухів передніх і задніх кінцівок (forelimb-hindlimb coordination), повноту відриву великого пальця (toe clearance) і позиціювання стопи на поверхні локомоції (paw position) під час різних частин опорної фази крокового циклу, а також про транслатеральну локомоторну стабільність тулуба (trunk instability) і утримання хвоста над поверхнею локомоції. Негативні наслідки цієї методологічної вади, на наш погляд, частково компенсуються дотриманням однакових методологічних і технічних умов оцінювання ПФ в усіх порівнюваних експериментальних групах.

Методологічними проблемами шкали Ashworth є складність верифікації слабкого спастичного парезу (ми використовували оригінальні критерії) і суб'єктивне диференціювання між рівнями ПС у межах від 1-го до 3-х балів у дрібних експериментальних тварин. Зокрема, ефективність усунення тону м'язів, пов'язаного зі звичною поведінковою активністю тестованої тварини, такими прийомами, як її «засліплення» рукою експериментатора і попередня акліматизація (Dong et al, 2005), на нашу думку, сумнівна. Вибір для оцінки спастичності шкали Ashworth здійснено нами з огляду на обмежену інформативність технічно

складнішого альтернативного інструменту — електронейроміографії (ЕНМГ). Тим більше, відомо, що між рівнями спастичності, оціненими за шкалою Ashworth та за допомогою ЕНМГ, існує достовірна слабка додатна кореляція (Dong et al, 2005), а основні ЕНМГ-показники володіють доволі значною міжіндивідуальною і часовою варіабельністю (Cliffer et al, 1998), котра, найімовірніше, обумовлена труднощами виявлення у дрібних експериментальних тварин так званої рухової точки м'яза (muscle motor point), особливо, з огляду на декомпозицію і зміну волоконного складу паретичного м'яза після ТрСМ (див. D'Amico et al, 2014).

Загалом, не зважаючи на наведені перестороги і беручи до уваги величину різниці ПФ у групах NBC і Тг, можна вважати отримані у цій роботі дані вповні достовірними.

**Висновок.** Фібриновий матрикс сприяє життєдіяльності, росту і диференціюванню інкорпорованих клітин неонатального головного мозку щура. На тлі імплантації порожнього чи наповненого клітинами неонатального головного мозку фібринового матриксу рівень рухової функції сягає ~11-х балів BBB, перевищуючи значення референтної групи майже на 5 балів BBB, причому, за наявності алогенних клітин неонатального головного мозку — достовірно. Імплантація порожнього чи наповненого клітинами неонатального головного мозку фібринового матриксу істотно зменшує спастичність у паретичній кінцівці у проміжному періоді травми. Таким чином, негайна імплантація фібринового матриксу у комплексі з клітинами неонатального головного мозку та без них чинить істотний позитивний вплив на відновлення рухової функції після травми спинного мозку.

*Дотримання етичних стандартів.* Під час виконання роботи дотримувались правил біоетики, гуманного поводження з тваринами, регламентованими Директивою Ради ЄС 86/609/ЕЕС «Про наближення законів, підзаконних та адміністративних положень держав-членів про захист тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (1986), Європейською Конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для

експериментальних та наукових цілей (1986) та Законом України №3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006). Дослідження санкціоновано Комісією з біоетики при ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України» (протокол № 30 від 11.04.2019).

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

**Фінансування.** Це дослідження не фінансувалося будь-яким грантом від фінансових установ уряду, комерційного або некомерційного сектору.

THE EFFECT OF IMPLANTING FIBRIN MATRIX, ASSOCIATED WITH NEONATAL BRAIN CELLS, ON THE COURSE OF EXPERIMENTAL SPINAL CORD INJURY

V.V. Medvediev, N.P. Oleksenko, L.D. Pichkur, S.A. Verbovska, S.I. Savosko, N.G. Draguntsova, Yu.A. Lontkovskiy, V.V. Vaslovyeh, V.I. Tsymbalyuk

Bogomolets National Medical University, 13, Tarasa Shevchenka Blv, Kyiv, 01601, Ukraine  
 SI «Romodanov Neurosurgery Institute, National Academy of Medical Sciences of Ukraine», 32, Platona Mayborody Str., Kyiv, 04050, Ukraine  
 Kamyanets-Podilsky city state hospital, 31, Pushkins'ka St., Kamianets-Podilskiy, Khmelnytskyi Oblast, 32301, Ukraine  
 National Academy of Medical Sciences of Ukraine, 12, Gercena St., Kyiv, 04050, Ukraine

E-mail: vavo2010@gmail.com, n.oleksenko@gmail.com, l.pichkur@neuro.kiev.ua, verbovska-svetlana@ukr.net, savosko\_s@ukr.net, natalya.exlab@gmail.com, yulont@ukr.net, greycat312@gmail.com, tsymb777@gmail.com

The efficacy of immediate implantation of fibrin matrix, associated with allogeneic neonatal brain neural cells of rats was investigated in a spinal cord injury (SCI) model. The animals used were white adult outbred rats (~260 g, 4–5 months old). The SCI model was a left-sided hemisection at the level of  $\sim T_{13}$ – $L_1$  segments. The rehabilitation treatment consisted in the immediate transplantation of the human fibrin matrix, associated with rat neonatal brain cells (NBC,  $n = 9$ ), into the injury area. The reference groups had isolated SCI (trauma, Tr,  $n = 7$ ) and implantation of the human fibrin matrix only (Fb,  $n = 6$ ) into the injury area. The assessment of motor activity of the paretic limb was conducted using the BBB scale, the assessment of spasticity – the Ashworth scale; the histological examination – silver impregnation staining of the spinal cord longitudinal sections obtained in the remote period of injury. The fibrin

matrix promotes the activity, growth, and differentiation of the incorporated NBC. Starting from the 2<sup>nd</sup> to the 3<sup>rd</sup> week after implantation, the level of the motor function in groups Fb and NBC corresponded to ~11 points of BBB, in Tr group – ~6 points of BBB. No significant differences in this indicator between the NBC and Fb groups and between the Fb and Tr groups were recorded throughout the experiment; significant differences between the NBC and Tr groups were detected at 2 weeks, 1, 2, 3, and 5 months after injury modeling. A significant advantage of the spasticity level in the Tr group over the NBC and Fb groups was found at 6 and 7 weeks after the injury, respectively. Immediate implantation of the fibrin matrix in complex with NBC has a significant positive effect on the restoration of the motor function after laceration SCI.

**Key words:** neurotransplantation, fibrin matrix, spinal cord injury, neonatal brain cells, locomotor function restoration, spasticity.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Abbaszadeh HA, Tiraihi T, Delshad A et al. (2014) Differentiation of neurosphere-derived rat neural stem cells into oligodendrocyte-like cells by repressing PDGF- $\alpha$  and Olig2 with triiodothyronine Tissue Cell 46(6):462–469. doi: 10.1016/j.tice.2014.08.003
- Amable PR, Carias RBV, Teixeira MVT et al. (2013) Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors Stem Cell Res Ther 4(3):67. doi: 10.1186/srct218
- Arvanian VL, Schnell L, Lou L et al. (2009) Chronic spinal hemisection in rats induces a progressive decline in transmission in uninjured fibers to motoneurons Exp Neurol 216(2):471–480. doi: 10.1016/j.expneurol.2009.01.004
- Assinck P, Duncan GJ, Hilton BJ et al. (2017) Cell transplantation therapy for spinal cord injury Nat Neurosci 20(5):637–647. doi: 10.1016/j.stemcr.2020.05.017
- Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. (1995) A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats J Neurotrauma 12(1):1–21. doi: 10.1089/neu.1995.12.1
- Bento AR, Quelhas P, Oliveira MJ et al. (2017) Three-dimensional culture of single embryonic stem-derived neural/stem progenitor cells in fibrin hydrogels: neuronal network formation and matrix remodeling J Tissue Eng Regen Med 11(12):3494–3507. doi: 10.1002/term.2262
- Blesch A, Tuszynski MH. (2009) Spinal cord injury: plasticity, regeneration and the challenge of translational drug development Trends Neurosci 32(1): 41–47. doi: 10.1016/j.tins.2008.09.008

- Brown A, Martinez M. (2019) From cortex to cord: motor circuit plasticity after spinal cord injury *Neural Regen Res* 14(12):2054–2062. doi: 10.4103/1673-5374.262572
- Burns AS, Marino RJ, Kalsi-Ryan S, Middleton JW, Tetreault LA, Dettori JR, Mihalovich KE, Fehlings MG. (2017) Type and Timing of Rehabilitation Following Acute and Subacute Spinal Cord Injury: A Systematic Review *Global spine journal* 7(3 Suppl):175S–194S. doi: 10.1177/2192568217703084
- Cargnello M, Roux PP. (2011) Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases *Mol Biol Rev* 75(1):50–83. doi: 10.1128/MMBR.00031-10
- Carlson SW, Saatman KE. (2018) Central infusion of IGF-1 increases hippocampal neurogenesis and improves neurobehavioral function following traumatic brain injury *J Neurotrauma* 35(13):1467–1480. doi: 10.1089/neu.2017.5374
- Carriel V, Garrido-Gomez J, Hernandez-Cortes P et al. (2013) Combination of fibrin-agarose hydrogels and adipose-derived mesenchymal stem cells for peripheral nerve regeneration *J Neural Eng* 10(2):026022. doi: 10.1088/1741-2560/10/2/026022
- Carriel V, Scionti G, Campos F et al. (2015) In vitro characterization of a nanostructured fibrin agarose bio-artificial nerve substitute *J Tissue Eng Regen Med* 11(5):1412–1426. doi: 10.1002/term.2039
- Cizkova D, Murgoci AN, Cubinkova V. (2020) Spinal cord injury: animal models, imaging tools and the treatment strategies *Neurochem Res* 45(1):134–143. doi: 10.1007/s11064-019-02800-w
- Cliffer KD, Tonra JR, Carson SR et al. (1998) Consistent repeated M- and H-Wave recording in the hind limb of rats *Muscle Nerve* 21(11):1405–1413. doi: 10.1002/(sici)1097-4598(199811)21:11<1405::aid-mus7>3.0.co;2-d
- D'Amico JM, Condliffe EG, Martins KJ et al. (2014) Recovery of neuronal and network excitability after spinal cord injury and implications for spasticity *Front Integr Neurosci* 8:36. doi: 10.3389/fnint.2014.00036
- DeVivo MJ. (2012) Epidemiology of traumatic spinal cord injury: trends and future implications *Spinal Cord* 50(5):365–372. doi: 10.1038/sc.2011.178
- Dietz V, Schwab ME. (2017) From the rodent spinal cord injury model to human application: promises and challenges *J Neurotrauma* 34(9):1826–1830. doi: 10.1089/neu.2016.4513
- Dijkers MP, Akers KG, Dieffenbach S. (2021) Systematic reviews of clinical benefits of exoskeleton use for gait and mobility in neurologic disorders: a tertiary study *Arch Phys Med Rehabil* 102(2):300–313. doi: 10.1016/j.apmr.2019.01.025
- Dong HW, Wang LH, Zhang M et al. (2005) Decreased dynorphin A (1-17) in the spinal cord of spastic rats after the compressive injury *Brain Res Bull* 67(3):189–195. doi: 10.1016/j.brainresbull.2005.06.026
- Finnerup NB, Norrbrink C, Trok K et al. (2014) Phenotypes and predictors of pain following traumatic spinal cord injury: a prospective study *J Pain* 15(1):40–48. doi: 10.1016/j.jpain.2013.09.008
- Flynn JR, Graham BA, Galea MP et al. (2011) The role of propriospinal interneurons in recovery from spinal cord injury *Neuropharmacology* 60(5):809–822. doi: 10.1016/j.neuropharm.2011.01.016
- Garcia E, Aguilar-Cevallos J, Silva-Garcia R et al. (2016) Cytokine and growth factor activation in vivo and in vitro after spinal cord injury *Mediators Inflamm* 2016:9476020. doi: 10.1155/2016/9476020
- GBD 2016 Traumatic Brain Injury and Spinal Cord Injury Collaborators (2019). 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 *Lancet Neurol* 18(1):56–87. doi: 10.1016/S1474-4422(18)30415-0
- Gilerovich EG, Moshonkina TR, Fedorova EA et al. (2008) Morphofunctional characteristics of the lumbar enlargement of the spinal cord in rats. *Neurosci Behav Physiol* 38(8):855–860. doi: 10.1007/s11055-008-9056-8
- Gonzalez-Perez O, Romero-Rodriguez R, Soriano-Navarro M et al. (2009) Epidermal growth factor induces the progeny of subventricular zone type B cells to migrate and differentiate into oligodendrocytes *Stem Cells* 27(8):2032–2043. doi: 10.1002/stem.119
- Hamid R, Averbeck MA, Chiang H et al. (2018) Epidemiology and pathophysiology of neurogenic bladder after spinal cord injury *World J Urol* 36(10):1517–1527. doi: 10.1007/s00345-018-2301-z
- Hill RA, Patel KD, Medved J et al. (2013) NG2 cells in white matter but not gray matter proliferate in response to PDGF *J Neurosci* 33(36):14558–14566. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2001-12.2013
- Holtz KA, Lipson R, Noonan VK et al. (2017) Prevalence and effect of problematic spasticity after traumatic spinal cord injury *Arch Phys Med Rehabil* 98(6):1132–1138. doi: 10.1016/j.apmr.2016.09.124
- Hotwani K, Sharma K. (2014) Platelet rich fibrin – a novel acumen into regenerative endodontic therapy *Restor Dent Endod* 39(1):1–6. doi: 10.5395/rde.2014.39.1.1
- Hsieh TH, Tsai JY, Wu YN et al. (2010) Time course quantification of spastic hypertonia following spinal hemisection in rats *Neuroscience* 167(1):185–198. doi: 10.1016/j.neuroscience.2010.01.064
- Jeong HJ, Yun Y, Lee SJ et al. (2021) Biomaterials and strategies for repairing spinal cord lesions *Neurochemistry International* 144:104973. doi: 10.1016/j.neuint.2021.104973

- Johnson PJ, Parker SR, Sakiyama-Elbert SE. (2010) Fibrin-based tissue engineering scaffolds enhance neural fiber sprouting and delay the accumulation of reactive astrocytes at the lesion in a subacute model of spinal cord injury *J Biomed Mater Res A* 92(1):152–163. doi: 10.1002/jbm.a.32343
- Khan S, Mafi P, Mafi R et al. (2018) A systematic review of mesenchymal stem cells in spinal cord injury, intervertebral disc repair and spinal fusion *Curr Stem Cell Res Ther* 13(4):316–323. doi: 10.2174/1574888x11666170907120030
- Khorasanizadeh M, Yousefifard M, Eskian M et al. (2019) Neurological recovery following traumatic spinal cord injury: a systematic review and meta-analysis *J Neurosurg Spine* 15:1–17. doi: 10.3171/2018.10.SPINE.18802
- Ko CC, Tu TH, Wu JC et al. (2019) Acidic fibroblast growth factor in spinal cord injury *Neurospine* 16(4):728–738. doi: 10.14245/ns.1836216.108
- Kolomiytsev AK, Chaykovskiy YuB, Tereshchenko TL. (1981) Bystriy metod impregnatsii azotnokislym serebrom elementov perifericheskoy nervnoy sistemy, prigodnyy dlya perafinovykh i tselloidinovykh srezov *Arkh Anat* 81(8):93–96. (Russian)
- Kopach O, Medvediev V, Krotov V et al. (2017) Opposite, bidirectional shifts in excitation and inhibition in specific types of dorsal horn interneurons are associated with spasticity and pain post-SCI *Sci Rep* 7(1):5884. doi: 10.1038/s41598-017-06049-7
- Lemmon VP, Ferguson AR, Popovich PG et al. (2014) MIASCI Consortium. Minimum information about a spinal cord injury experiment: a proposed reporting standard for spinal cord injury experiments *J Neurotrauma* 31(15):1354–1361. doi: 10.1089/neu.2014.3400
- Li JA, Zhao CF, Li SJ et al. (2018) Modified insulin-like growth factor 1 containing collagen-binding domain for nerve regeneration *Neural Regen Res* 13(2):298–303. doi: 10.4103/1673-5374.226400
- Li LS, Yu H, Raynald R et al. (2017) Anatomical mechanism of spontaneous recovery in regions caudal to thoracic spinal cord injury lesions in rats *Peer J* 5:e2865. doi: 10.7717/peerj.2865
- Lin L, Lin H, Bai S et al. (2018) Bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) improved functional recovery of spinal cord injury partly by promoting axonal regeneration *Neurochem* 115:80–84. doi: 10.1016/j.neuint.2018.02.007
- Litvinov RI, Gorkun OV, Owen SF et al. (2005) Polymerization of fibrin: specificity, strength, and stability of knob-hole interactions studied at the single-molecule level *Blood* 106(9):2944–2951. doi: 10.1182/blood-2005-05-2039
- Liu S, Schackel T, Weidner N, Puttagunta R. (2018) Biomaterial-supported cell transplantation treatments for spinal cord injury: challenges and perspectives *Front Cell Neurosci* 11:430. doi: 10.3389/fncel.2017.00430
- Liu S, Xie YY, Wang B. (2019) Role and prospects of regenerative biomaterials in the repair of spinal cord injury *Neural Regen Res* 14(8):1352–1363. doi: 10.4103/1673-5374.253512
- Lu P, Grahman L, Wang Y et al. (2014) Promotion of survival and differentiation of neural stem cells with fibrin and growth factor cocktails after severe spinal cord injury *J Vis Exp* 89:e50641. doi: 10.3791/50641
- Lu P, Wang Y, Grahman L et al. (2012) Long-distance growth and connectivity of neural stem cells after severe spinal cord injury *Cell* 150(6):1264–1273. doi: 10.1016/j.cell.2012.08.020
- Majczynski H, Slawinska U. (2007) Locomotor recovery after thoracic spinal cord lesions in cats, rats and humans *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 67(3):235–257
- Metz GA, Merkler D, Dietz V et al. (2000) Efficient testing of motor function in spinal cord injured rats *Brain Res* 883(2):165–177. doi: 10.1016/s0006-8993(00)02778-5
- Mills CD, Hains BC, Johnson KM et al. (2001) Strain and model differences in behavioral outcomes after spinal cord injury in rat *J Neurotrauma* 18(8):743–756. doi: 10.1089/089771501316919111
- Moonen G, Satkunendrarajah K, Wilcox JT et al. (2016) A New acute impact-compression lumbar spinal cord injury model in the rodent *J Neurotrauma* 33(3):278–289. doi: 10.1089/neu.2015.3937
- Muheremu A, Peng J, Ao Q. (2016) Stem cell based therapies for spinal cord injury *Tissue Cell* 48(4):328–333. doi: 10.1016/j.tice.2016.05.008
- Muller MF, Ris I, Ferry JD. (1984) Electron microscopy of fine fibrin clots and fine and coarse fibrin films. Observations of fibers in cross-section and in deformed states *J Mol Biol* 174(2):369–384. doi: 10.1016/0022-2836(84)90343-7
- Oliveri RS, Bello S, Biering-Suurensen F. (2014) Mesenchymal stem cells improve locomotor recovery in traumatic spinal cord injury: systematic review with meta-analyses of rat models *Neurobiol Dis* 62:338–353. doi: 10.1016/j.nbd.2013.10.014
- Olude MA, Mustapha OA, Ogunbunmi TK et al. (2013) The vertebral column, ribs, and sternum of the African giant rat (*Cricetomys gambianus* waterhouse) *Scientific World J* 2013:973537. doi: 10.1155/2013/973537
- Ozturk AM, Sozbilen MC, Sevgili E et al. (2018) Epidermal growth factor regulate apoptosis and oxidative stress in a rat model of spinal cord injury *Injury* 49(6):1038–1045. doi: 10.1016/j.injury.2018.03.021
- Özkan ZE. (2007) Macro-anatomical investigations on



- the skeletons of mole-rat (*Spalax leucodon* Nordmann) III. Skeleton axiale. *Vet. Arhiv* 77:281–289
- Park MN, Lee JY, Jeong MS et al. (2018) The roll of Purkinje cell-derived VEGF in cerebellar astrogliosis in Niemann-Pick type C mice. *BMB Rep* 51(2):79–84. doi: 10.5483/bmbrep.2018.51.2.168
- Pertici V, Amendola J, Laurin J et al. (2013) 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* 5(2):149–166. doi: 10.1042/AN20120082
- Pretz CR, Kozlowski AJ, Chen Y et al. (2016) Trajectories of life satisfaction after spinal cord injury *Arch Phys Med Rehabil* 97(10):1706–1713. doi: 10.1016/j.apmr.2016.04.022
- Robinson J, Lu P. (2017) Optimization of trophic support for stem cell graft in sites of spinal cord injury *Exp Neurol* 291:87–97. doi: 10.1016/j.expneurol.2017.02.007
- Rao SN, Pearse DD. (2016) Regulating axonal responses to injury: the intersection between signaling pathways involved in axon myelination and the inhibition of axon regeneration *Front Mol Neurosci* 9:33. doi: 10.3389/fnmol.2016.00033
- Sachdeva R, Gao F, Chan CCH, Krassioukov AV. (2018) Cognitive function after spinal cord injury: a systematic review. *Neurology* 91(13):611–621. doi: 10.1212/WNL.00000000000006244
- Schuh CM, Morton TJ, Banerjee A et al. (2015) Activation of schwann cell-like cells on aligned fibrin-poly (lactic-co-glycolic acid) structures: a novel construct for application in peripheral nerve regeneration *Cells Tissues Organs* 200(5):287–299. doi: 10.1159/000437091
- Shah M, Peterson C, Yilmaz E. (2020) Current advancements in the management of spinal cord injury: a comprehensive review of literature *Surg Neurol Int* 11:2. doi: 10.25259/SNI\_568\_2019
- Singh A, Tetreault L, Kalsi-Ryan S et al. (2014) Global prevalence and incidence of traumatic spinal cord injury *Clin Epidemiol* 23(6):309–331. doi: 10.2147/CLEP.S68889
- Steeves JD (2015) Bench to bedside: challenges of clinical translation *Prog Brain Res* 218:227–239. doi: 10.1016/bs.pbr.2014.12.008
- Swieck K, Conta-Steencken A, Middleton FA et al. (2019) Effect of lesion proximity on the regenerative response of long descending propriospinal neurons after spinal transection injury *BMC Neurosci* 20(1): 10. doi: 10.1186/s12868-019-0491-y
- Tatullo M, Marrelli M, Cassetta M et al. (2012) Platelet rich fibrin (P.R.F.) in reconstructive surgery of atrophied maxillary bones: Clinical and histological evaluations *Int J Med Sci* 9:872–880. doi: 10.7150/ijms.5119
- Tran AP, Warren PM, Silver J et al. (2018) The biology of regeneration failure and success after spinal cord injury *Physiol Rev* 98(2):881–917 doi: 10.1152/physrev.00017.2017
- Wan FJ, Chien WC, Chung CH et al. (2020) Association between traumatic spinal cord injury and affective and other psychiatric disorders – A nationwide cohort study and effects of rehabilitation therapies *J Affect Disord* 265:381–388. doi: 10.1016/j.jad.2020.01.063
- Wang Y, Tan H, Hui X. (2018) Biomaterial scaffolds in regenerative therapy of the central nervous system *Biomed Res Int* 2018:784890.1 doi: 10.1155/2018/7848901
- Webb AA, Muir GD. (2002) Compensatory locomotor adjustments of rats with cervical or thoracic spinal cord hemisections *J Neurotrauma* 19(2):239–256. doi: 10.1089/08977150252806983
- Yao S, Liu X, Yu S et al. (2016) Co-effects of matrix low elasticity and aligned topography on stem cell neurogenic differentiation and rapid neurite outgrowth *Nanoscale* 8(19):10252–10265. doi: 10.1039/c6nr01169a
- Zhang Q, Shi B, Ding J. (2019) Polymer scaffolds facilitate spinal cord injury repair *Acta Biomater* 88:57–77. doi: 10.1016/j.actbio.2019.01.056
- Zhang Q, Yan S, You R et al. (2016) Multichannel silk protein/laminin grafts for spinal cord injury repair *J Biomed Mater Res A* 104(12):3045–3057. doi: 10.1002/jbm.a.35851
- Zhao YY, Yuan Y, Chen Y et al. (2015) Histamine promotes locomotion recovery after spinal cord hemisection via inhibiting astrocytic scar formation *CNS Neurosci Ther* 21(5):454–462. doi: 10.1111/cns.12379

Надійшла в редакцію 25.06.21  
Після доопрацювання 21.09.21  
Прийнята до друку 18.03.22