

# ВПЛИВ ІНТРАТЕКАЛЬНОЇ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ СТРОМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН НА ПЕРЕБІГ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТРАВМИ ПЕРИФЕРИЧНОГО НЕРВА

З.К. МЕЛІКОВ<sup>1,2</sup>, О.А. РИБАЧУК<sup>3</sup>, В.В. МЕДВЕДЄВ<sup>1,2\*</sup>

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

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

<sup>3</sup> Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, вул. Академіка Богомольця, 4, Київ, 01601, Україна

E-mail: melikov\_ziya@ukr.net, rbk@biph.kiev.ua, vavo2010@gmail.com

\* Автор для кореспонденції — Медведєв В.В., e-mail: vavo2010@gmail.com

*Травма периферичного нерва (ТПН) є актуальною біомедичною проблемою, особливо у військовий час, зважаючи на високу частоту цього виду уражень. Найперспективнішими вважаються біоінженерні засоби відновного лікування ТПН, серед яких найменш вивченим є вплив трансплантації стовбурових клітин у підпаутинний простір на процес пластичної перебудови нервової системи на тлі ТПН. У цьому дослідженні ми прослідкували вплив відтермінованої трансплантації двох видів стромальних мультипотентних стовбурових клітин людини у велику потиличну цистерну на відновлення функціонального індексу сідничого нерва (sciatic functional index, SFI) після його перетину і негайного епіневрального шовного з'єднання у дорослого щура. Отримані дані свідчать, що відтермінована на 2 тиж від моменту травми інтрастекальна ксенотрансплантація мультипотентних стромальних стовбурових клітин шкіри або мультипотентних мезенхімальних стовбурових клітин пуповинної артерії призводить до суттєвого збільшення SFI через 2.5 місяці спостереження, що у випадку стовбурових клітин пуповинної артерії достовірно переважає результат шовного з'єднання перетнутого сідничого нерва без процедури клітинної трансплантації.*

**Ключові слова:** периферичний нерв, травма, стромальні мультипотентні стовбурові клітини, інтрастекальна трансплантація клітин, відновна нейрохірургія, функціональний індекс.

**Вступ.** Травма периферичного нерва (ТПН) — один із типових видів ушкодження нервової системи, з виразними розладами рухової функції, чутливості і хронічним болем (Houdek, Shin, 2015; Bateman et al, 2024). Невелика частота ТПН у мирний час (Melikov, Medvediev, 2024; Zaidman et al, 2024) зростає під час бойових дій (Tsymbaliuk et al, 2015, 2021), де цей вид травми поєднується з ураженням судин

і кісток кінцівок (Muss et al, 2024), що істотно погіршує результати лікування (Tsymbaliuk et al, 2015, 2021; Strafun et al, 2018). Зважаючи на вікову, статеву і топографо-анатомічну специфіку ТПН (Bergmeister et al, 2020; Zaidman et al, 2024), хірургічний характер її лікування і потребу у тривалій реабілітації (Bateman et al, 2024; Zaidman et al, 2024), цей вид патології є фінансово затратним (Bergmeister et al, 2020; Raizman et al, 2023).

Не дивлячись на значний регенераційний потенціал нервової системи і прогрес у лікуванні ТПН, його ефективність залишається обмеженою (Tsymbaliuk et al, 2020; Melikov, Medvediev, 2023), що пов'язано з відсутністю задовільних умов для росту нервових волокон через зону травми (Harley-Troxell et al, 2023), вторинною загибеллю нейронів (Liu, Wang, 2020; Pottorf et al, 2022), обмеженістю пластичності нейронних мереж (Li et al, 2021; Shen, 2022) і атрофією денервованих м'язів (Goncharuk et al, 2021, 2023; Lysak et al, 2024). Найбільш досліджувані біоінженерні методи лікування ТПН фокусовані лише на першому із цих факторів (Lopes et al, 2022; Harley-Troxell et al, 2023). Тим не менш, виживанню ушкоджених під час ТПН нейронів і пластичності нейронних мереж мозку можуть сприяти трансплантовані у ліквор мезенхімальні стовбурові клітини (МСК) — один із видів стромальних стовбурових клітин, здатних продукувати широку палітру підтримувальних і про-нейропластичних факторів (Han et al, 2022; Kou et al, 2022; Lopes et al, 2022). Такий вид відновного лікування ТПН, попри ґрунтовне дослідження ефектів МСК у комплексі з біоінженерними матриксами (Tsymbaliuk et al, 2018; Lopes et al, 2022; Harley-Troxell et al, 2023), залишається маловивченим.

© ІНСТИТУТ КЛІТИННОЇ БІОЛОГІЇ ТА ГЕНЕТИЧНОЇ ІНЖЕНЕРІЇ НАН УКРАЇНИ, 2025

Найбільш відповідною сучасним викликам моделлю ТПН є перетин сідничого нерва щура (Vela et al, 2020; Li et al, 2022), реперним терміном для з'ясування ефектів будь-якого методу лікування на такій моделі є 3 міс (Vela et al, 2020), а основним інструментом клінічної оцінки — функціональний індекс сідничого нерва (sciatic functional index, SFI) (DeLeonibus et al, 2021). У цій роботі, зважаючи на значну актуальність, нами досліджено вплив відтермінованої інтратекальної трансплантації МСК після перетину сідничого нерва щура на динаміку SFI протягом перших 3 міс спостереження.

**Матеріали і методи.** *Експериментальні тварини і експериментальні групи.* Дослідження разом з аналізом отриманих даних виконано на 59 білих безпородних щурах-самцях віком 4–6 міс, масою 280–380 г, виводку віварію ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України», утримуваних у звичних умовах.

Сформовано 4 експериментальні групи:

- 1) група моделювання перетину і негайного шовного з'єднання сідничого нерва у його середній третині (neurorrhaphia — Raph; n = 14);
- 2) група моделювання перетину і негайного шовного з'єднання сідничого нерва з відтермінованим інтратекальним введенням фізіологічного розчину (physiological solution — Phys; n = 12);
- 3) група моделювання перетину і негайного шовного з'єднання сідничого нерва з відтермінованим інтратекальним введенням суспензії мультипотентних стромальних стовбурових клітин шкіри дорослої людини (dermal multipotent stromal stem cells — DrSC; n = 17);
- 4) група моделювання перетину і негайного шовного з'єднання сідничого нерва з відтермінованим інтратекальним введенням суспензії МСК пуповинної артерії людини (umbilical artery-derived multipotent mesenchymal stem cells — MSC-UA; n = 16).

У представлений у цій роботі аналіз залучено результати дослідження тварин, які спостерігали протягом 3 міс експерименту. До аналізу не залучали результати тварин, яких виводили щомісячно для здійснення патоморфологічних досліджень. Дані з урахуванням функціональних

результатів цих тварин буде проаналізовано іншими статистичними інструментами і висвітлено в окремій публікації.

*Виділення, культивування і фенотип трансплантованих клітин.* Джерелом клітин, використаних для трансплантації, були артерії пуповини (n = 2) людини та зразки шкіри дорослої людини обох статей, отримані шляхом punch-біопсії (n = 2). Клітини виділяли ферментативним методом, утримуючи у розчині 0,2% колагенази («Sigma», США) впродовж 40–60 хв за температури 35–37 °C у стерильних умовах. Після первинного підрахунку кількості клітини переносили у флакони для культивування, отримуючи поверхневу щільність  $4\text{--}5 \times 10^4$  клітин/см<sup>2</sup>. Перший та подальші пасажі клітин проводили при 80–85 % конфлуентності моношару, знімаючи клітини за допомогою 0,05% розчину трипсину/версену («Capricorn», Німеччина), та пересаджували їх у нові флакони з поверхневою щільністю  $2 \times 10^3$  клітин/см<sup>2</sup>. Клітини культивували у базовому середовищі  $\alpha$ -MEM («Sigma», США) з додаванням 5% фетальної бичачої сироватки («Sigma», США) і 1% стократного розчину пеніциліну/стрептоміцину («Capricorn», Німеччина) до 3-го пасажу.

Відсоток загиблених та життєздатних клітин визначали на 3-му пасажі за допомогою лазерного цитофлюориметра-сортера BD FACSAria («Becton, Dickinson and Company», США), оцінюючи рівень проникнення у клітини з пошкодженою мембраною флюорофора 7-аміноактиноміцину D («Becton, Dickinson and Company», США). Оцінку експресії поверхневих маркерів CD73, CD90, CD105, CD34, CD45, CD166, CD271, CD117 та HLA-DR здійснювали на лазерному цитофлюориметрі-сортері BD FACSAria антитілами («Becton, Dickinson and Company», США). Прогеніторний потенціал оцінювали за здатністю до остеогенного та адипогенного диференціювання, яке стимулювали стандартною методикою, описаною нами у попередній публікації (Rybachuk et al, 2023).

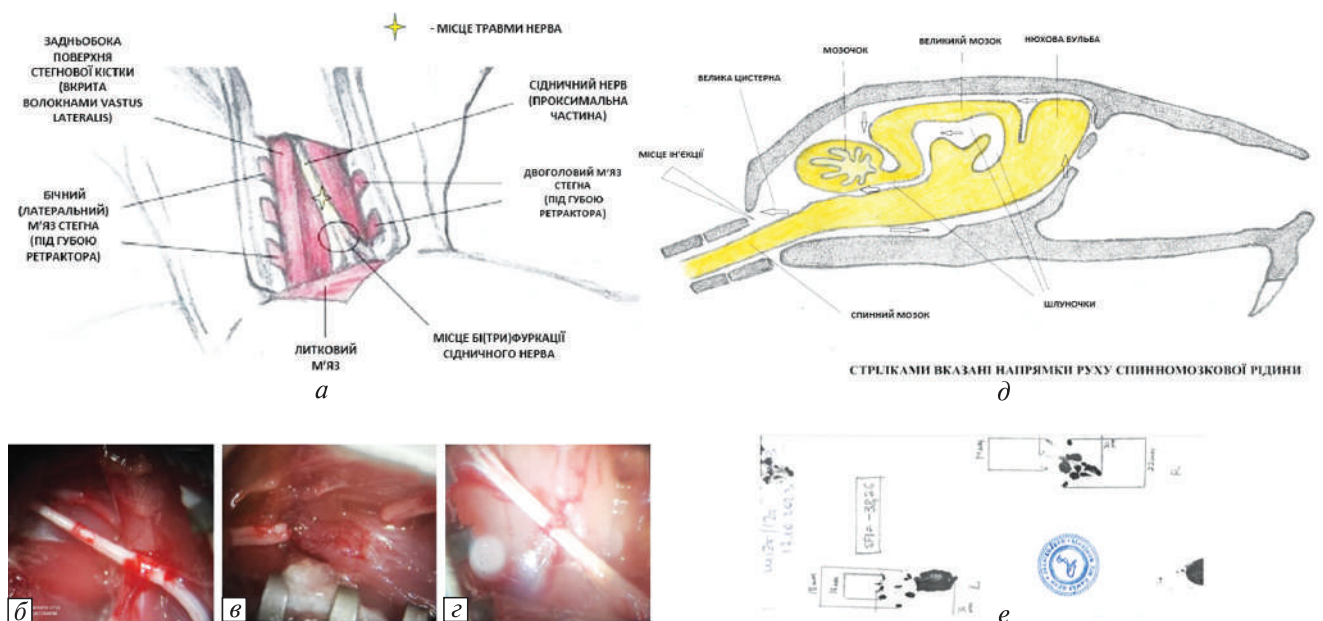
У подальшому клітини відмивали, додавали кріопротектор FreezeMe Two («Capricorn», Німеччина) і заморожували, поступово зменшуючи температуру до –80 °C впродовж доби, а

на наступний день кріопробірки з клітинами поміщали у пари рідкого азоту ( $-186^{\circ}\text{C}$ ).

Розморожування кріоконсервованої суспензії клітин здійснювали на водяній бані при температурі  $37^{\circ}\text{C}$  впродовж 1–2 хв, відтак клітини відмивали від кріопректору шляхом додавання чистого базового середовища  $\alpha$ -MEM («Sigma», США), центрифугували при відцентровому прискоренні 300 g впродовж 5 хв за температури  $20^{\circ}\text{C}$ . Процедуру відмивання повторювали у стерильному розчині DPBS («Cargilorn», Німеччина). Суспензію клітин переносили у фізіологічний розчин і формували необхідну для трансплантації концентрацію (250 тис. клітин у 100 мкл).

**Моделювання ТПН.** Хірургічні втручання здійснювали за загального знечулення і глибокої міорелаксації тварини, що досягали внутрішньочеревинним введенням суміші розчинів ксилазину гідрохлориду (15 мг/кг; «Biowet», Польща) і кетаміну гідрохлориду (75 мг/кг; «Фармак», Україна). Після укладення і фіксації тварини черевцем донизу, за помірних

асептичних умов через розтин шкіри вздовж зовнішньої поверхні стегнової кістки і наступний розтин сухожилка короткої головки двоголового м'яза стегна розкривали стовбур сідничного нерва (рис. 1, а, б). Нерв перетинали (рис. 1, в) і після зупинки кровотечі кукси з'єднували торець-у-торець 3–6 епіневральними вузловими швами монофіламентними нитками 8.0–10.0 («ETICON», США) під 10–14-кратним збільшенням операційного мікроскопа (рис. 1, г). Хірургічну рану зашивали у два шари вузлових швів (ум. № 3–0, «ETICON», США), рану шкіри обробляли розчином повідон-йоду (Бетадин, «EGIS», Угорщина). З метою профілактики інфекційних ускладнень у задню шийну ділянку підшкірно вводили розчин біциліну-5 (Корпорація «Артеріум», Україна) у дозі 1 млн. ОД на 1 кг живої маси. Як протизапальну і протибольову терапію використовували внутрішньочеревинне введення розчину дексаметазону («KRKA», Словенія) у дозі 6 мг/кг живої маси. Після зазначених маніпуляцій тварин протягом 2–4 год утри-



**Рис. 1.** Моделювання травми сідничного нерва і обрахунків SFI експериментальних тварин. а – схематичне зображення хірургічного доступу до лівого сідничного нерва щура. б–г – інтраопераційні мікрофото здійснені у різних тварин (збільшення –  $\times 14$ ): б – розкритий стовбур сідничного нерва; в – сідничний нерв після виконання перетину з ділянкою ретракційного діастазу між проксимальним і дистальним куксами; г – сідничний нерв після з'єднання кукс 5 вузловими швами «кінець-у-кінець». д – схематичне зображення сагітального розрізу черепа дорослого щура з візуалізацією місця ін'єкції суспензії стовбурових клітин. е – приклад підрахунку SFI за відбитками лап щура групи Rph через 12 тиж після втручання; SFI складає –38,3 бала



мували при підвищеній температурі повітря до відновлення поведінкової активності, у подальшому — у клітках по 3–6 особин.

**Трансплантація клітин.** Тварини груп Phys, DrSC і MSC-UA на 13-15-ту добу після моделювання ТПН наркотизували описаним вище чином, у стані глибокої міорелаксації після обережного згинання шийного відділу хребта спеціальним алгоритмом голку інсулінового шприца через шкіру перпендикулярно наближали впритул до поверхні потиличної кістки на ~5 мм вище орієнтовної проекції атлanto-потиличного суглоба. Далі вістря голки обережно зміщували по поверхні кістки каудально до відчуття першого «провалу» (перфорації задньої атлanto-потиличної перетинки), занурювали на 1–2 мм до відчуття другого «провалу» (перфорації твердої мозкової оболони). З метою верифікації положення голки обережно аспірували певний об'єм спинно-мозкової рідини. Тіло шприца замінювали таким, що було заповнено фізіологічним розчином хлориду натрію (група Phys) або суспензією клітин (групи DrSC і MSC-UA), і обережно вводили 0,1 мл вмісту. У такий спосіб тваринам групи Phys вводили 0,1 мл фізіологічного розчину, а тваринам груп DrSC і MSC-UA — 0,1 мл суспензії з  $\sim 250 \times 10^3$  клітин на одну тварину. Шприц разом з голкою обережно виймали, у подальшому тварину утримували в умовах підвищеної температури повітря до відновлення поведінкової активності. Ускладнення у вигляді зупинки дихання і серцебиття, генералізованих клоніко-тонічних судом, погіршення поведінкової активності тварини після виходу зі стану загального знечулення спостерігали нечасто (див. далі).

**Визначення функціонального індексу сідничного нерва (SFI).** SFI визначали відомою методикою (Varejro et al, 2001) із власними технічними модифікаціями у тварин усіх експериментальних груп через умовні 4, 8 і 12 тиж після моделювання ТПН. Відмінності реальних термінів тестування експериментальних тварин не перевищували 6 % від величини відповідних термінів спостереження. Відбитки стоп отримували на паперовій стрічці, що вкривала дно тунельованої горизонтальної доріжки (рис. 1, e), SFI розраховували за формулою Bain-Mackinnon-Hunter (Varejro et al, 2001):

$$SFI = -38,3 \times \frac{EPL - NPL}{NPL} + 109,5 \times \frac{ETS - NTS}{NTS} + 13,3 \times \frac{EIT - NIT}{NIT} - 8,8$$

де SFI — функціональний індекс сідничного нерва, E — травмована кінцівка, N — інтактна кінцівка, PL — відстань між відбитком від п'ятки та найдовшого пальця стопи, TS — відстань між відбитками 1-го та 5-го пальців, IT — відстань між відбитками 2-го та 4-го пальців стопи.

**Критерії виключення і причини неочікуваної загибелі тварин.** Летальність у зв'язку із наркотизуванням, моделюванням травми і до завершення другої доби після втручання була мінімальною і спеціально не обраховувалася. Летальність у зв'язку з інтратекальним введенням фізіологічного розчину чи клітинної суспензії складала 27 % (1 тварина групи Phys; 6 тварин групи DrSC, 2 тварини групи MSC-UA). Нез'ясована летальність у період починаючи з 3-ї доби спостереження складала 3 тварини (1 тварина групи Raph і 2 тварин групи Phys). Тварини з ознаками гнійно-запальних ускладнень і трофічних виразок паретичної кінцівки чи прилеглих ділянок (1 тварина групи Phys), а також тварини з ознаками аутофагії (1 тварина групи Phys, 1 тварина групи MSC-UA) виводили з експерименту шляхом передозування тіопенталу натрію.

Усі перелічені тварини, вилучені з експерименту і передчасно загиблі, до аналізованої у цій статті когорти ( $n = 59$ ) не включали.

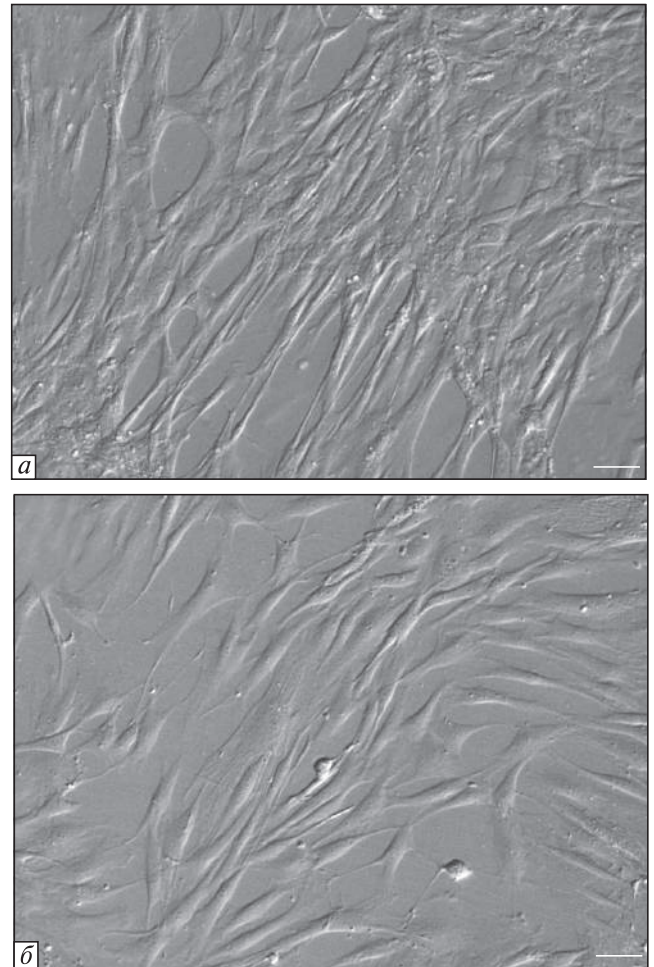
**Статистична обробка даних.** Статистичну обробку цифрових даних здійснювали у програмному пакеті EZR (R-STATISTICS; <https://www.softpedia.com/get/Science-CAD/EZR.shtml>) на персональному комп'ютері. Усереднені значення SFI у порівнюваних вибірках представляли у вигляді  $M \pm SD$ , де M — середнє значення величини (*mean*), SD — стандартне відхилення (*standard deviation*). Характер розподілу значень SFI з'ясовували критерієм Шапіро-Уїлка. За нормального розподілу значень відмінності між ними на різних термінах спостереження виявляли гANOVA-тестом з поправкою Бонфероні для множинних порівнянь. Для виявлення кореляції між значеннями SFI і величиною тривалості спостереження вико-

ристовували критерій Пірсона, з урахуванням поправки Бонфероні для множинних порівнянь. Для з'ясування достовірності відмінностей значень SFI експериментальних груп на кожному з термінів спостереження з'ясовували характер розподілу індивідуальних значень SFI критерієм Шапіро-Уїлка, за нормального розподілу порівнювали гомогенність дисперсій вибірок за допомогою тесту Бартлета, після чого верифікували міжгрупові відмінності ANOVA-тестом, поєднаним з критерієм Тьюкі для апостеріорних порівнянь. У всіх випадках припущення щодо статистичної значущості отриманого результату вважали вірними, якщо ймовірність протилежного припущення була меншою ніж 0,05 ( $p < 0,05$ ).

**Результати та їх обговорення.** *Фенотипові ознаки клітин, використаних для трансплантації.* Починаючи з першого пасажу і у подальшому клітини обох видів демонстрували характерну фібробластоподібну морфологію, високу адгезивність до пластика, проліферативні властивості (рис. 2, а, б) і високу виживаність: частка життєздатних клітин становила  $93,55 \pm 3,3$  % (MSC-UA;  $n = 2$ ) та  $96,30 \pm 2,60$  % (DrSC;  $n = 2$ ).

Для MSC-UA відмічали високий рівень експресії маркерів мультипотентних клітин — CD73 ( $99,40 \pm 0,50$  %), CD90 ( $98,80 \pm 1,20$  %) та CD105 ( $98,00 \pm 0,70$  %). Для DrSC теж виявляли інтенсивну експресію CD73 ( $99,90 \pm 0$  %), CD90 ( $99,50 \pm 0,10$  %) та CD105 ( $99,15 \pm 0,65$  %). Натомість, експресію маркерів гемопоетичних стовбурових клітин CD34 та CD45, а також антигенів комплексу гістосумісності HLA-DR у обох культурах не спостерігали. Серед DrSC виявляли клітини з експресією маркерів стовбурових клітин, похідних нервового гребня (СКНГ) — CD166 ( $39,25 \pm 2,65$  %) і CD271 ( $1,10 \pm 0,30$  %). Також, значна кількість ( $54,75 \pm 3,25$  %) серед усіх культивованих DrSC експресувала CD117.

Забарвлення обох культур Oil Red після стимулювання направленої розвитку виявило численні внутрішньоклітинні ліпідні включення, що підтверджує адипогенне диференціювання обох видів клітин. Додавання субстрату BCIP/NBT (Liquid Substrate System, Sigma, USA) до культур обох видів та взаємодія з цим субстратом лужної фосфатази культивованих

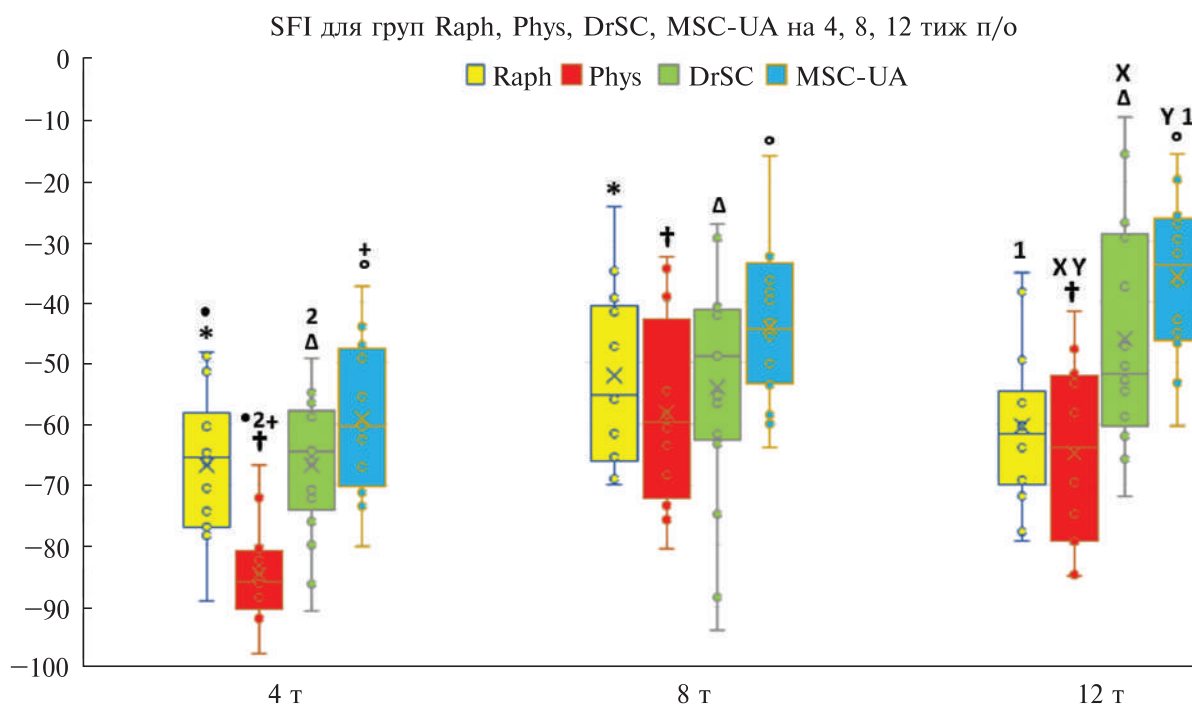


**Рис. 2.** Культури MSC-UA (а) і DrSC (б) на 3-му пасажі. Мікрофотографії отримано за допомогою фазово-рельєфного мікроскопу. Масштабна смужка — 50 мкм

клітин, засвідчило успішне їх диференціювання за остеогенним типом. Цей висновок підтверджувався також аналізом культур, у яких за допомогою забарвлення алізариновим червоним виявляли кальцифікати.

Загалом, можна стверджувати, що обидва використані для трансплантації види стромальних клітин мали мінімальний набір ознак мультипотентності: морфологічні й імунофенотипові властивості, а також здатність до спрямованого диференціювання по остеогенному та адипогенному шляху.

*Динаміка значень функціонального індексу сидничого нерва у тварин експериментальних груп.* У групі Rph значення SFI через 4 тиж після моделювання ТПН складало  $-66,8 \pm 12,0$  ба-



**Рис. 3.** Значення SFI (точки), їх медіан (горизонтальні риси у середині вертикальних прямокутників), меж I і III кватилей (частини зафарбованого стовбчика, розташовані, відповідно, нижче та вище за горизонтальну риску медіани на кожному терміні), середніх значень (х), стандартних відхилень (відстань між позначкою середнього значення і нижнім або верхнім краєм кожного стовбчика) і ступенів розкиду (дисперсії) за межами верхнього та нижнього кватилів (горизонтальні планки вертикальних вусиків на кожному з термінів спостереження) чотирьох експериментальних груп через 4, 8 і 12 тиж після моделювання ТПН

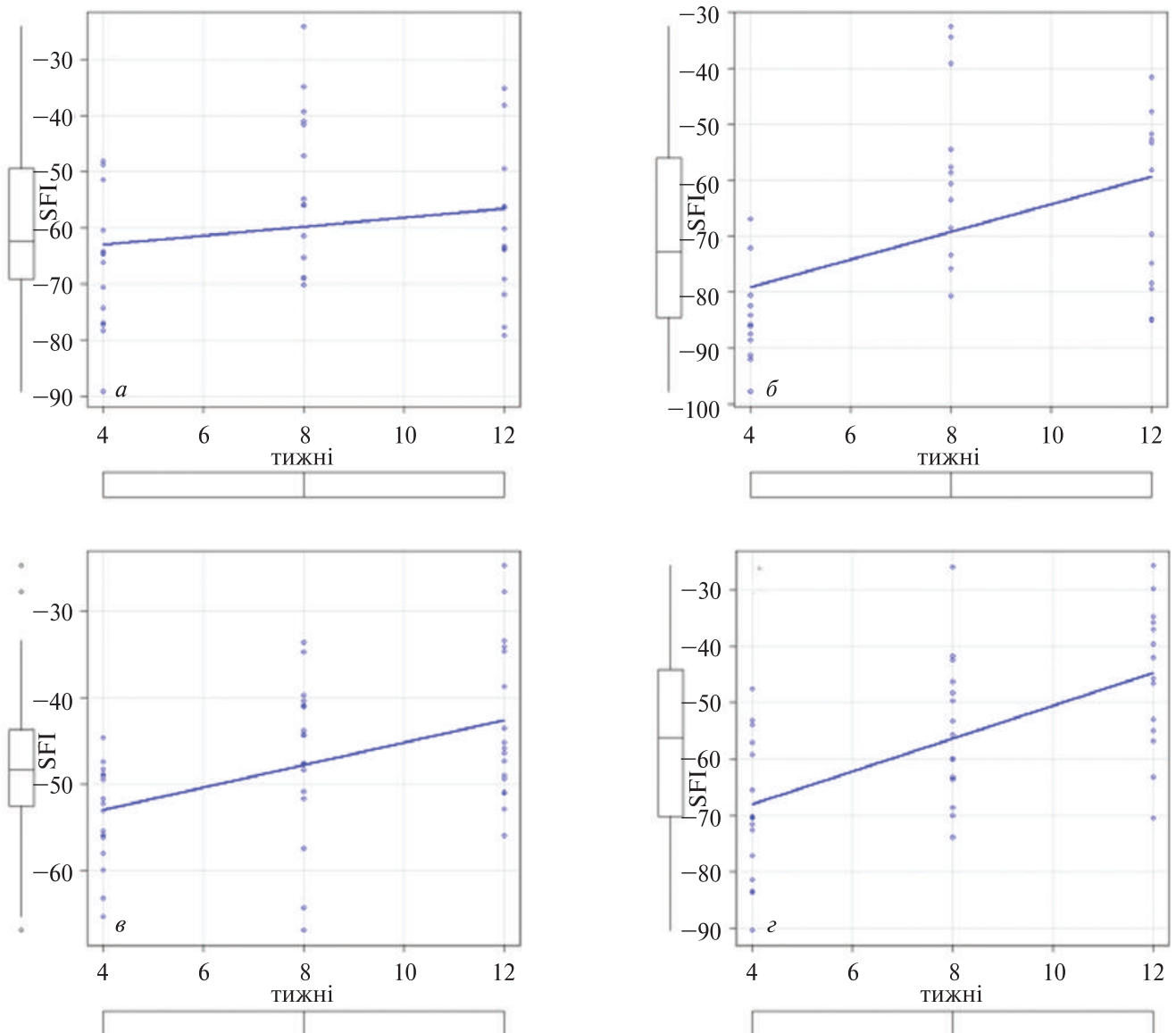
**Таблиця 1.** Значення SFI у експериментальних групах на різних термінах спостереження і їх відмінності у межах кожної з груп

| Терміни спостереження, тижні | Значення SFI (M ± SD) у зазначених експериментальних групах |                |                |                |
|------------------------------|-------------------------------------------------------------|----------------|----------------|----------------|
|                              | Raph                                                        | Phys           | DrSC           | MSC-UA         |
| 4                            | -66,8 ± 12,0 *                                              | -84,6 ± 8,5 †  | -66,8 ± 11,6 Δ | -59,2 ± 12,4 ° |
| 8                            | -52,2 ± 14,4 *                                              | -58,3 ± 15,9 † | -53,9 ± 18,5 Δ | -44,0 ± 12,8 ° |
| 12                           | -60,4 ± 13,0                                                | -64,8 ± 15,5 † | -46,1 ± 18,3 Δ | -35,9 ± 12,4 ° |

**Примітка.** \* у групі Raph значення SFI через 4 тиж після моделювання ТПН істотно відрізняються від значень через 8 тиж після ТПН ( $p = 0,001$ ; поправка Бонфероні до  $\alpha$ ANOVA-тесту); † у групі Phys значення SFI через 4 тиж після моделювання ТПН істотно відрізняються від значень через 8 та 12 тиж після ТПН ( $p < 0,001$  та  $p < 0,01$  відповідно; поправка Бонфероні до  $\alpha$ ANOVA-тесту); Δ у групі DrSC значення SFI через 4 тиж після моделювання ТПН істотно відрізняються від значень через 8 та 12 тиж після ТПН ( $p < 0,05$  та  $p < 0,001$  відповідно; поправка Бонфероні до  $\alpha$ ANOVA-тесту); ° у групі MSC-UA значення SFI через 4 тиж після моделювання ТПН істотно відрізняються від значень через 8 та 12 тиж після ТПН ( $p < 0,01$  та  $p < 0,001$  відповідно; поправка Бонфероні до  $\alpha$ ANOVA-тесту)

ла. У подальшому воно достовірно ( $p = 0,001$ ; поправка Бонфероні до  $\alpha$ ANOVA-тесту) збільшувалось до  $-52,2 \pm 14,4$  бала через 8 тиж після моделювання ТПН. Однак наприкінці третьо-

го місяця спостереження воно відрізнялось від обох попередніх несуттєво ( $-60,4 \pm 13,0$ ;  $p > 0,05$ , поправка Бонфероні до  $\alpha$ ANOVA-тесту; табл. 1, рис. 3). Така динаміка підтверджує-



**Рис. 4.** Кореляція значень SFI та тривалості терміну спостереження у експериментальних групах. Верхній ряд зліва на право: група Raph (A) — критерій Пірсона,  $r = 0,19$ ; 95 % BI  $-0,124$  та  $0,465$  ( $p = 0,24$ ); група Phys (B) — критерій Пірсона,  $r = 0,47$ ; 95 % BI  $0,17$  та  $0,69$  ( $p < 0,01$ ). Нижній ряд зліва на право: група DrSC (C) — критерій Пірсона,  $r = 0,47$ ; 95 % BI  $0,22$  і  $0,66$  ( $p < 0,001$ ); група MSC-UA (D) — критерій Пірсона,  $r = 0,61$ ; 95 % BI  $0,40$  та  $0,77$  ( $p < 0,001$ )

ся відсутністю кореляції між значеннями SFI у групі та значеннями показника тривалості спостереження (критерій Пірсона,  $r = 0,19$ ; 95 % BI  $-0,12$  і  $0,47$ ;  $p = 0,24$ ; рис. 4).

Середнє значення SFI у групі Phys через 4 тиж після моделювання ТПН складало  $-84,6 \pm 8,5$  бала. У подальшому воно достовірно ( $p < 0,001$ ; поправка Бонфероні до  $\alpha$ ANOVA-тесту) збільшувалось до  $-58,3 \pm 15,9$  бала до кінця

другого місяця спостереження і наприкінці третього місяця складало  $-64,8 \pm 15,5$  бала, несуттєво відрізняючись від значення на попередньому терміні і достовірно переважаючи значення наприкінці першого місяця ( $p = 0,39$  та  $p < 0,001$ ; поправка Бонфероні до  $\alpha$ ANOVA-тесту; табл. 1, рис. 3). Між значеннями SFI та значеннями показника тривалості спостереження для цієї групи виявлено додат-



ну кореляцію середньої сили (критерій Пірсона,  $r = 0,47$ , 95 % ВІ 0,17 та 0,69;  $p < 0,01$ ; рис. 4).

У групі DrSC середнє значення SFI через 4 тиж після моделювання ТПН складало  $-66,8 \pm 11,6$  бала, до кінця експерименту збільшувалося до  $-46,1 \pm 18,3$  бала ( $p < 0,001$ , критерій  $\gamma$ ANOVA з поправкою Бонфероні; табл. 1, рис. 3), а між значеннями SFI та тривалістю спостереження виявляли додатну кореляцію середньої сили (критерій Пірсона,  $r = 0,468$ ; 95 % ВІ 0,221 та 0,658;  $p < 0,001$ ; рис. 4).

У групі MSC-UA середнє значення SFI через 4 тиж після моделювання ТПН складало  $-59,2 \pm 12,4$  бала, до кінця експерименту збільшувалося до  $-35,9 \pm 12,4$  бала ( $p < 0,001$ , критерій  $\gamma$ ANOVA з поправкою Бонфероні; табл. 1, рис. 3) і між значеннями SFI та тривалістю спостереження теж виявляли до-

датну кореляцію середньої сили (критерій Пірсона,  $r = 0,61$ ; 95 % ВІ 0,40 та 0,77;  $p < 0,001$ ; рис. 4).

При попарному порівнянні значень SFI експериментальних груп через 4 тиж після моделювання ТПН виявлено значущі відмінності для пар Phys і Raph, Phys і DrSC та Phys і MSC-UA ( $p < 0,001$ ; критерій ANOVA і критерій Тьюкі для апостеріорних порівнянь; табл. 2, рис. 3). Через 8 тиж після моделювання ТПН відмінності у межах перерахованих пар були незначущими ( $p > 0,05$ ; критерій ANOVA і критерій Тьюкі для апостеріорних порівнянь; табл. 2, рис. 2), а через 12 тиж істотні відмінності значень SFI виявлено при порівнянні груп Phys і DrSC, Phys і MSC-UA та Raph і MSC-UA ( $p < 0,001$ ; критерій ANOVA і критерій Тьюкі для апостеріорних порівнянь; табл. 2, рис. 3).

Таблиця 2. Значення SFI у експериментальних групах і їх відмінності на кожному з термінів спостереження

| Терміни спостереження, тижні | Значення SFI (M $\pm$ SD) у зазначених експериментальних групах |                       |                    |                       |
|------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-----------------------|--------------------|-----------------------|
|                              | Raph                                                            | Phys                  | DrSC               | MSC-UA                |
| 4                            | $-66,8 \pm 12,0^*$                                              | $-84,6 \pm 8,5^{*2+}$ | $-66,8 \pm 11,6^2$ | $-59,2 \pm 12,4^+$    |
| 8                            | $-52,2 \pm 14,4$                                                | $-58,3 \pm 15,9$      | $-53,9 \pm 18,5$   | $-44,1 \pm 12,8$      |
| 12                           | $-60,4 \pm 13,0^1$                                              | $-65,1 \pm 15,0^{xy}$ | $-46,3 \pm 18,8^x$ | $-35,9 \pm 12,4^{y1}$ |

Примітка. 4 тижні:  $*$  відмінність значень SFI у групах Phys та Raph значуща ( $p < 0,01$ ; критерій Тьюкі для апостеріорних порівнянь до ANOVA-тесту);  $^2$  відмінність значень SFI у групі Phys та DrSC значуща ( $p < 0,001$ ; критерій Тьюкі для апостеріорних порівнянь до ANOVA-тесту);  $^+$  відмінність значень SFI у групі Phys та MSC-UA значуща ( $p < 0,001$ ; критерій Тьюкі для апостеріорних порівнянь до ANOVA-тесту). 12 тижнів:  $^x$  відмінність значень SFI у групі Phys та DrSC значуща ( $p < 0,01$ ; критерій Тьюкі для апостеріорних порівнянь до ANOVA-тесту);  $^y$  відмінність значень SFI у групі Phys та MSC-UA значуща ( $p < 0,001$ ; критерій Тьюкі для апостеріорних порівнянь до ANOVA-тесту);  $^1$  відмінність значень SFI у групі Raph та MSC-UA значуща ( $p < 0,001$ ; критерій Тьюкі для апостеріорних порівнянь до ANOVA-тесту). Внутрішньогрупові відмінності, нижній ряд позначок (значущість відмінностей для усіх згаданих тут пар порівнянь встановлена  $\gamma$ ANOVA-тестом з поправкою Бонфероні):  $^*$  у групі Raph значення SFI через 4 тиж після моделювання ТПН істотно відрізняється від значення через 8 тиж після ТПН ( $p = 0,001$ );  $^+$  у групі Phys значення SFI через 4 тиж після моделювання ТПН істотно відрізняється від значення через 8 тиж та 12 тиж після ТПН ( $p < 0,001$  та  $p < 0,01$  відповідно);  $^2$  у групі DrSC значення SFI через 4 тиж після моделювання ТПН істотно відрізняється від значення через 8 тиж та 12 тиж після ТПН ( $p < 0,05$  та  $p < 0,001$  відповідно);  $^x$  у групі MSC-UA значення SFI через 4 тиж після моделювання ТПН істотно відрізняється від значення через 8 тиж та 12 тиж після ТПН ( $p < 0,01$  та  $p < 0,001$  відповідно). Міжгрупові відмінності, верхній ряд позначок (група Raph на останньому терміні спостереження має один ряд позначень щодо міжгрупових відмінностей; значущість для усіх згаданих тут пар порівнянь встановлено критерієм Тьюкі для апостеріорних порівнянь до ANOVA-тесту,  $p < 0,01$ ):  $^*$  відмінність значень SFI у групі Phys та Raph значуща;  $^2$  відмінність значень SFI у групі Phys та DrSC значуща;  $^+$  відмінність значень SFI у групі Phys та MSC-UA значуща;  $^x$  відмінність значень SFI у групі Phys та DrSC значуща;  $^y$  відмінність значень SFI у групі Phys та MSC-UA значуща;  $^1$  відмінність значень SFI у групі Raph та MSC-UA значуща.



**Обговорення отриманих результатів.** ТПН — частий вид травми військового часу (Tsymba-liuk et al, 2015, 2021), для якої характерний комплекс тривалих, нерідко позитивних неврологічних розладів (Houdek, Shin, 2015; Bate-man et al, 2024). Перетин довгих відростків нейронів, які формують нерв, провокує загибель цих клітин (Pottorf et al, 2022), а пластичність нейронних мереж, що забезпечується гаммою різноманітних молекулярних регуляторів (Scott, Frank, 2023), у випадку ТПН має важливе значення для відновлення втрачених функцій (Li et al, 2021; Shen, 2022; Melikov, Medvediev, 2023). Гіпотетично МСК, які продукують численні фактори пластичності (Han et al, 2022; Kou et al, 2022; Lopes et al, 2022), можуть підтримувати ушкоджені нейрони і стимулювати пластичність нейронних мереж. У цій роботі отримано дані, котрі опосередковано підтверджують цю гіпотезу.

Згідно з отриманими результатами, інтратекальна ін'єкція фізіологічного розчину через 2 тиж після моделювання ТПН погіршує відновний процес впродовж наступних 2 тиж, так що станом на кінець першого місяця від моменту ТПН показник SFI у групі Phys був суттєво нижчим за показники трьох інших експериментальних груп. Природа такого ефекту залишається незрозумілою. У подальшому, динаміка і результати відновного процесу на тлі звичайної нейрорафії (група Raph) та на тлі нейрорафії й інтратекальної ін'єкції фізіологічного розчину (група Phys) виявилася аналогічною, і через 8 й 12 тиж після моделювання травми значення SFI у цих групах відрізнялися недостовірно, причому протягом другого місяця у обох групах спостерігали збільшення SFI, а до кінця третього місяця — зменшення. Для групи Phys виявляли слабку позитивну кореляцію значень SFI і тривалості спостереження, отже SFI впродовж усього періоду спостереження збільшувався від  $-84,6 \pm 8,4$  бала наприкінці першого місяця до  $-64,8 \pm 15,5$  бала наприкінці третього місяця експерименту. Значення і динаміка SFI на тлі трансплантації двох видів мультипотентних стромальних клітин (групи MSC-UA і DrSC) теж виявилися схожими, збільшуючись у масштабі усього періоду спостереження до  $-46,3 \pm 18,8$  (група DrSC) і  $-35,9 \pm 12,4$  (група MSC-

UA). Лише результат групи MSC-UA наприкінці експерименту достовірно переважав результат групи Raph, тобто інтратекальна трансплантація мезенхімальних стовбурових клітин пуповинної артерії людини істотно покращує стандартне хірургічне лікування відтвореного у цьому дослідженні виду ТПН.

Слід зауважити, що серед DrSC ми виявляли клітини з експресією маркерів СКНГ. Вплив трансплантації стовбурових клітин цього виду на перебіг ТПН вивчається не менш активно, ніж вплив МСК (Lopes et al, 2022), причому, відомо, що вони можуть бути отримані зі шкіри разом із МСК (Moghadas Boroujeni et al, 2019) і питання розрізнення цих двох клітинних фенотипів часто залишається складним (Solis-Castro et al, 2022).

Літературні дані щодо ефекту інтратекального введення МСК на перебіг ТПН на даний час є поодинокими і, за виключенням результатів Schdfer et al (2014), демонструють позитивний вплив цієї процедури, виконаної на поперековому рівні, на перебіг больового синдрому при компресійній ТПН (оглянуто Wang et al, 2020). Такі ефекти МСК пов'язують з різноманітними механізмами, зокрема, зі зменшенням продукції активних форм кисню (reactive oxygen species) у речовині заднього рогу спинного мозку (Zhang et al, 2014), зі зменшенням експресії клітинами мікроглії спинного мозку пуринергічних рецепторів P2X4 (Teng et al, 2019), з опосередкованим TGF- $\beta$ 1 (transforming growth factor  $\beta$ 1) впливом на ноцицептивні нейрони чутливих вузлів спинномозкових нервів (Chen et al, 2015), з продукуванням інших факторів росту, хемокінів та цитокінів, з впливами на різні ланки імунної системи тощо (Zhang et al, 2014; Chen et al, 2015; Chen et al, 2016; Fischer et al, 2017; Li et al, 2017; Teng et al, 2019; Wang et al, 2020). Серед цих механізмів, одні з найважливіших — впливи МСК на резидентні мікрогліальні клітини спинного мозку (Teng et al, 2019), оскільки ці клітини є ключовими учасниками ушкоджувальних і прорегенераційних реакцій у відповідних сегментах спинного мозку на тлі ТПН (Pottorf et al, 2022).

Ймовірно, перелік можливих механізмів позитивного впливу МСК на перебіг ТПН ширший, оскільки на тлі інших захворювань нер-

вової системи ефекти цих клітин пов'язують із їхнім патотропним хомінгом, нейрогенним трансдиференціюванням і спонтанним злиттям з клітинами реципієнта, а також і з мікровезикулярним чи контактним впливом на клітини реципієнта (Melikov, Medvediev, 2023; Wang et al, 2020; Han et al, 2022; Kou et al, 2022). Схоже, що аналогічним спектром механізмів позитивного впливу володіють і СКНГ (Neirinckx et al, 2014; Neirinckx et al, 2015; Shi et al, 2019).

У цьому сенсі важливо, що ряд авторів описують міграцію МСК, трансплантованих інтратекально на поперековому рівні на тлі нейропатичного больового синдрому, до поверхні або й у саму речовину спинного мозку (оглянуто Wang et al, 2020). Зокрема, Chen et al (2015) спостерігали міграцію і позбавлене нейральної диференціації тривале переживання МСК чи їх нащадків у речовині гомонічних чутливих вузлів спинномозкових нервів, Liu et al (2017) описують приповерхнєве розташування трансплантованих МСК на рівні їх введення, а Chen et al (2016), Fischer et al (2017) та Li et al (2017) відмічають проникнення МСК чи їх нащадків у речовину спинного мозку на рівні, гомонічному рівню ТПН. Тим не менш, Teng et al (2019) за схожих експериментальних умов й за схожої ефективності поперекової інтратекальної трансплантації МСК не спостерігали проникнення МСК у речовину спинного мозку.

Зважаючи на все це, а також беручи до уваги тривалий характер регенераційного процесу при ТПН (DeLeonibus et al, 2021) і ряд обмежень методу оцінки функції сідничого нерва щура за допомогою SFI (Melikov, Medvediev, 2024), можна констатувати, що з'ясування механізмів виявленого нами позитивного впливу інтратекальної трансплантації МСК на перебіг ТПН потребує використання комплексу нейрогістологічних, імуногістохімічних і електрофізіологічних методів на триваліших термінах спостереження, що складатиме предмет майбутнього дослідження.

**Висновок.** Отримані у цій роботі дані свідчать, що відтермінована на 2 тиж від моменту травми сідничого нерва інтратекальна ксено-трансплантація стромальних стовбурових клітин шкіри і стромальних стовбурових клітин

пуповинної артерії призводить до суттєвого збільшення SFI через 2,5 місяці спостереження, що у випадку стовбурових клітин пуповинної артерії достовірно переважає результат шовного з'єднання перетнутого сідничого нерва без процедури клітинної трансплантації.

**Дотримання етичних стандартів.** Під час виконання роботи дотримувалися принципів етики наукових досліджень і біоетики. Проведення усіх досліджень, результати яких відображені у цій статті, погоджено висновком Комісії з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень при Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця (протокол № 155 від 31.01.2022 р.) і висновком Комітету з біоетики ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України» (протокол № 39 від 18.05.2022 р.).

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів у будь-якій формі; стаття не була і не буде предметом комерційного інтересу чи винагороди.

**Фінансування.** Роботу виконано у межах науково-дослідних тем «Дослідити ефективність новітніх біоінженерних засобів відновлення цілісності периферичного нерва і спинного мозку при їхньому лацераційному ушкодженні» (0121U108052; Національний медичний університет імені О.О. Богомольця) та «Дослідити ефективність регенеративних клітинних технологій у лікуванні травми периферичного нерва в експерименті» (0123U100604; ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України»).

#### EFFECT OF THE STROMAL STEM CELLS INTRATHECAL TRANSPLANTATION ON THE COURSE OF EXPERIMENTAL PERIPHERAL NERVE INJURY

Z.K. Melikov,  
O.A. Rybachuk, V.V. Medvediev

Bogomolets National Medical University, 13,  
Tarasa Shevchenko Blv, Kyiv, 01601, Ukraine  
State Institution «Romodanov Neurosurgery Institute  
of National Academy of Medical Sciences of Ukraine»,  
32, Platona Mayborody Str., Kyiv, 04050, Ukraine  
Bogomoletz Institute of Physiology of the National  
Academy of Sciences of Ukraine, 4,  
Akademika Bohomoltsia Str, Kyiv, Ukraine, 01601

E-mail: melikov\_ziya@ukr.net, rbk@biph.kiev.ua, vavo2010@gmail.com

Peripheral nerve injury (PNI) is a relevant biomedical problem, especially in wartime, given the high frequency of such injuries. Bioengineering means for rehabilitative treatment of PNI are considered the most promising, among which the effect of stem cell transplantation into the subarachnoid space on the process of plastic reconstruction of the nervous system in the context of PNI is the least studied. In this study, we investigated the effect of delayed transplantation of two types of human stromal multipotent stem cells into the cisterna magna on the recovery of the functional index of the sciatic nerve (sciatic functional index, SFI) after its transection and immediate epineural suturing in adult rats. The obtained data indicate that delayed intrathecal xenotransplantation of multipotent dermal stromal stem cells or multipotent mesenchymal stem cells, derived from the wall of umbilical artery, performed 2 weeks post-injury, leads to a significant increase in SFI after 2.5 months of observation. In the case of umbilical artery stem cells injection this result is significantly higher, than the result of sciatic nerve suturing without the procedure of cell transplantation.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Bateman EA, Pripotnev S, Larocerie-Salgado J, Ross DC, Miller TA (2024) Assessment, management, and rehabilitation of traumatic peripheral nerve injuries for non-surgeons. *Muscle Nerve* 10.1002/mus.28185. Advance online publication. <https://doi.org/10.1002/mus.28185>
- Bergmeister KD, Große-Hartlage L, Daeschler SC, Rhodius P, Böcker A, Beyersdorff M, Kern AO, Kneser U, Harhaus L (2020) Acute and long-term costs of 268 peripheral nerve injuries in the upper extremity. *PloS One* 15(4):e0229530. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229530>
- Chen C, Chen F, Yao C, Shu S, Feng J, Hu X, Hai Q, Yao S, Chen X (2016) Intrathecal Injection of Human Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stem Cells Ameliorates Neuropathic Pain in Rats. *Neurochem Res* 41(12):3250–3260. <https://doi.org/10.1007/s11064-016-2051-5>
- Chen G, Park CK, Xie RG, Ji RR (2015) Intrathecal bone marrow stromal cells inhibit neuropathic pain via TGF- $\beta$  secretion. *J Clin Invest* 125(8):3226–3240. <https://doi.org/10.1172/JCI80883>
- DeLeonibus A, Rezaei M, Fahradyan V, Silver J, Rampazzo A, Bassiri Gharb B (2021) A meta-analysis of functional outcomes in rat sciatic nerve injury models. *Microsurgery* 41(3):286–295. <https://doi.org/10.1002/micr.30713>
- Fischer G, Wang F, Xiang H, Bai X, Yu H, Hogan QH (2017) Inhibition of neuropathic hyperalgesia by intrathecal bone marrow stromal cells is associated with alteration of multiple soluble factors in cerebrospinal fluid. *Exp Brain Res* 235(9):2627–2638. <https://doi.org/10.1007/s00221-017-5000-x>
- Goncharuk O, Savosko S, Petriv T, Medvediev V, Tsymbaliuk V (2021) Quantitative histological assessment of skeletal muscle hypotrophy after neurotomy and sciatic nerve repair in rats. *Georgian Med News* (313):69–172. <https://www.geomednews.com/v313i4.html>
- Goncharuk O, Savosko S, Tykhomyrov A, Guzyk M, Medvediev V, Tsymbaliuk V, Chaikovskiy Y (2023) Matrix Metalloproteinase-9 is Involved in the Fibrotic Process in Denervated Muscles after Sciatic Nerve Trauma and Recovery. *J Neurol Surg A Cent Eur Neurosurg* 84(2):116–122. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1731750>
- Han Y, Yang J, Fang J, Zhou Y, Candi E, Wang J, Hua D, Shao C, Shi Y (2022) The secretion profile of mesenchymal stem cells and potential applications in treating human diseases. *Signal Transduct Target Ther* 7(1):92. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00932-0>
- Harley-Troxell ME, Steiner R, Advincula RC, Anderson DE, Dhar M (2023) Interactions of Cells and Biomaterials for Nerve Tissue Engineering: Polymers and Fabrication. *Polymers (Basel)* 15(18):3685. <https://doi.org/10.3390/polym15183685>
- Houdek MT, Shin AY (2015) Management and complications of traumatic peripheral nerve injuries. *Hand Clin* 31(2):151–163. <https://doi.org/10.1016/j.hcl.2015.01.007>
- Kou M, Huang L, Yang J, Chiang Z, Chen S, Liu J, Guo L, Zhang X, Zhou X, Xu X, Yan X, Wang Y, Zhang J, Xu A, Tse HF, Lian Q (2022) Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles for immunomodulation and regeneration: a next generation therapeutic tool? *Cell Death Dis* 13(7):580. <https://doi.org/10.1038/s41419-022-05034-x>
- Li A, Pereira C, Hill EE, Vukcevic O, Wang A (2022) *In Vitro*, *In Vivo* and *Ex Vivo* Models for Peripheral Nerve Injury and Regeneration. *Curr Neuroparmacol* 20(2):344–361. <https://doi.org/10.2174/1570159X19666210407155543>
- Li C, Liu SY, Pi W, Zhang PX (2021) Cortical plasticity and nerve regeneration after peripheral nerve injury. *Neural Regen Res* 16(8):1518–1523. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.303008>
- Li J, Deng G, Wang H, Yang M, Yang R, Li X, Zhang X, Yuan H (2017) Interleukin-1 $\beta$  pre-treated bone marrow stromal cells alleviate neuropathic pain through CCL7-mediated inhibition of microglial activation in the spinal cord. *Sci Rep* 7, 42260. <https://doi.org/10.1038/srep42260>



- Liu L, Hua Z, Shen J, Yin Y, Yang J, Cheng K, Liu A, Wang L, Cheng J (2017) Comparative Efficacy of Multiple Variables of Mesenchymal Stem Cell Transplantation for the Treatment of Neuropathic Pain in Rats. *Mil Med* 182(S1):175–184. <https://doi.org/10.7205/MILMED-D-16-00096>
- Liu Y, Wang H (2020) Peripheral nerve injury induced changes in the spinal cord and strategies to counteract/enhance the changes to promote nerve regeneration. *Neural Regen Res* 15(2):189–198. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.265540>
- Lopes B, Sousa P, Alvites R, Branquinho M, Sousa AC, Mendonza C, Atayde LM, Luhs AL, Varejro ASP, Maurício AC (2022) Peripheral Nerve Injury Treatments and Advances: One Health Perspective. *Int J Mol Sci* 23(2):918. <https://doi.org/10.3390/ijms23020918>
- Lysak A, Farnebo S, Geuna S, Dahlin LB (2024) Muscle preservation in proximal nerve injuries: a current update. *J Hand Surg Eur* 49(6):773–782. <https://doi.org/10.1177/17531934231216646>
- Melikov ZK, Medvediev VV (2023) Peripheral nerve injury: molecular pathophysiology and prospects for restorative treatment by means of cell transplantation: a literature review. *Ukr Neurosurg J* 29(4):3–12. <https://doi.org/10.25305/unj.288785>
- Melikov ZK, Medvediev VV (2024) The rat's sciatic nerve functional index dynamics after its transection and recovery by means of epineural neurorrhaphy. *Ukr Neurosurg J* 30(4), **In press**.
- Moghadasi Boroujeni S, Koontz A, Tseropoulos G, Kerosuo L, Mehrotra P, Bajpai VK, Selvam SR, Lei P, Bronner ME, Andreadis ST (2019) Neural crest stem cells from human epidermis of aged donors maintain their multipotency in vitro and in vivo. *Sci Rep* 9(1):9750. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46140-9>
- Muss TE, Hu S, Bauder AR, Lin IC (2024) The Epidemiology, Management, and Outcomes of Civilian Gunshot Wounds to the Upper Extremity at an Urban Trauma Center. *Plast Reconstr Surg Glob Open* 12(4):e5753. <https://doi.org/10.1097/GOX.0000000000005753>
- Nagappan PG, Chen H, Wang DY (2020) Neuroregeneration and plasticity: a review of the physiological mechanisms for achieving functional recovery postinjury. *Mil Med Res* 7(1):30. <https://doi.org/10.1186/s40779-020-00259-3>
- Neirinckx V, Agirman G, Coste C, Marquet A, Dion V, Rogister B, Franzen R, Wislet S (2015) 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* 6:211. <https://doi.org/10.1186/s13287-015-0202-2>
- Neirinckx V, Cantinieaux D, Coste C, Rogister B, Franzen R, Wislet-Gendebien S (2014) Concise review: Spinal cord injuries: how could adult mesenchymal and neural crest stem cells take up the challenge? *Stem Cells* 32(4):829–843. <https://doi.org/10.1002/stem.1579>
- Pottorf TS, Rotterman TM, McCallum WM, Haley-Johnson ZA, Alvarez FJ (2022) The Role of Microglia in Neuroinflammation of the Spinal Cord after Peripheral Nerve Injury Cells 11(13):2083. <https://doi.org/10.3390/cells11132083>
- Raizman NM, Endress RD, Styron JF, Emont SL, Cao Z, Park LI, Greenberg JA (2023) Procedure Costs of Peripheral Nerve Graft Reconstruction. *Plast Reconstr Surg Glob Open* 11(4):e4908. <https://doi.org/10.1097/GOX.0000000000004908>
- Rybachuk O, Savytska N, Pinet É, Yaminsky Y, Medvediev V (2023) Heterogeneous pHMPA hydrogel promotes neuronal differentiation of bone marrow derived stromal cells *in vitro* and *in vivo*. *Biomed Mater* 18(1). <https://doi.org/10.1088/1748-605X/acadc3>
- Schäfer S, Berger JV, Deumens R, Goursaud S, Hanisch UK, Hermans E (2014) Influence of intrathecal delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on spinal inflammation and pain hypersensitivity in a rat model of peripheral nerve injury. *J Neuroinflammation* 11:157. <https://doi.org/10.1186/s12974-014-0157-8>
- Scott DN, Frank MJ (2023) Adaptive control of synaptic plasticity integrates micro- and macroscopic network function. *Neuropsychopharmacology* 48(1):121–144. <https://doi.org/10.1038/s41386-022-01374-6>
- Shen J (2022) Plasticity of the Central Nervous System Involving Peripheral Nerve Transfer. *Neural Plast* 18:2022:5345269. <https://doi.org/10.1155/2022/5345269>
- Shi H, Li X, Yang J, Zhao Y, Xue C, Wang Y, He Q, Shen M, Zhang Q, Yang Y, Ding F (2019) Bone marrow-derived neural crest precursors improve nerve defect repair partially through secreted trophic factors. *Stem Cell Res Ther* 10(1):397. <https://doi.org/10.1186/s13287-019-1517-1>
- Solis-Castro OO, Rivolta MN, Boissonade FM (2022) Neural Crest-Derived Stem Cells (NCSCs) Obtained from Dental-Related Stem Cells (DRSCs): A Literature Review on Current Knowledge and Directions toward Translational Applications. *Int J Mol Sci* 23(5):2714. <https://doi.org/10.3390/ijms23052714>
- Strafun S, Borzykh N, Haiko O, Borzykh O, Gayovich V, Tsymbaliuk Y (2018) Priority directions of surgical treatment of patients with damage to the peripheral nerves of the upper limb in polystructural injuries. *TRAUMA* 19(3):75–80. <https://doi.org/10.22141/1608-1706.3.19.2018.136410>

- Teng, Y, Zhang Y, Yue S, Chen H, Qu Y, Wei H, Jia X (2019) Intrathecal injection of bone marrow stromal cells attenuates neuropathic pain via inhibition of P2X<sub>4</sub>R in spinal cord microglia. *J Neuroinflammation* 16(1):271. <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1631-0>
- Tsymbaliuk VI, Medvediev VV, Ivanchov PV, Molotkovets VY, Chaikovsky YB, Korsak AV (2020) Electrical welding technology in restoring the integrity of the injured peripheral nerve: review of literature and own experimental research. *Ukr Neurosurg J* 26(2):24–33. <https://doi.org/10.25305/unj.199507>
- Tsymbaliuk VI, Strafun SS, Tretyak IB, Tsymbaliuk IV, Gatskiy AA, Tsymbaliuk YV, Tatarchuk MM (2021) Surgical treatment of peripheral nerves combat wounds of the extremities. *Wiad Lek* 74(3 cz 2):619–624. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33843623/>
- Tsymbaliuk V, Luzan B, Tsymbaliuk I (2015) Diagnostics and Treatment of Traumatic Injuries of Peripheral Nerves in Combat Conditions. *TRAUMA* 16(3):13–18. <https://doi.org/10.22141/1608-1706.3.16.2015.80206>
- Tsymbaliuk V, Petriv T, Medvedev V, Tsymbaliuk Y, Klymenko P, Vasiliev R, Tatarchuk M (2018) Early results of sciatic nerve morphologic structure recovery using tissue engineering methods after its complete transection in experiment. *TRAUMA* 19(2):5–12. <https://doi.org/10.22141/1608-1706.2.19.2018.130645>
- Varejão AS, Meek MF, Ferreira AJ, Patrício JA, Cabrita AM (2001) Functional evaluation of peripheral nerve regeneration in the rat: walking track analysis. *J Neurosci Methods* 108(1):1–9. [https://doi.org/10.1016/s0165-0270\(01\)00378-8](https://doi.org/10.1016/s0165-0270(01)00378-8)
- Vasanthan J, Gurusamy N, Rajasingh S, Sigamani V, Kirankumar S, Thomas EL, Rajasingh J (2020). Role of Human Mesenchymal Stem Cells in Regenerative Therapy. *Cells* 10(1):54. <https://doi.org/10.3390/cells10010054>
- Vela FJ, Martínez-Chacyn G, Ballestín A, Campos JL, Sánchez-Margallo FM, Abellán E (2020) Animal models used to study direct peripheral nerve repair: a systematic review. *Neural Regen Res* 15(3):491–502. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.266068>
- Wang Q, He H, Xie S, Wei Q, He C (2020) Mesenchymal Stem Cells Transplantation for Neuropathic Pain Induced By Peripheral Nerve Injury in Animal Models: A Systematic Review. *Stem Cells Dev* 29(22):1420–1428. <https://doi.org/10.1089/scd.2020.0131>
- Zaidman M, Novak CB, Midha R, Dengler J (2024) Epidemiology of peripheral nerve and brachial plexus injuries in a trauma population. *Can J Surg* 67(3):E261–E268. <https://doi.org/10.1503/cjs.002424>
- Zhang EJ, Song CH, Ko YK, Lee WH (2014) Intrathecal administration of mesenchymal stem cells reduces the reactive oxygen species and pain behavior in neuropathic rats. *Korean J Pain* 27(3):239–245. <https://doi.org/10.3344/kjp.2014.27.3.239>

Надійшла в редакцію 15.10.2024  
Після доопрацювання 28.10.2024  
Прийнята до друку 18.01.2025