

**Оригінальна стаття = Original article = Оригинальная статья**

УДК 616.832-001-089.843 : 591.88 : 612.827 : 612.646 : 612.46 : 616-003.93-092.9

**Вплив нейротрансплантації різних типів алогенних тканин на відновлення рухової функції після експериментальної травми спинного мозку**

Медведєв В.В.

Кафедра нейрохірургії,  
Національний медичний  
університет імені О.О. Богомольця,  
Київ, УкраїнаНадійшла до редакції 15.08.16.  
Прийнята до публікації 19.09.16.**Адреса для листування:**Медведєв Володимир Вікторович,  
Кафедра нейрохірургії,  
Національний медичний  
університет імені О.О. Богомольця,  
вул. Платона Майбороди, 32, Київ,  
Україна, 04050, e-mail: vavo2010@  
gmail.com**Мета роботи.** Вивчити в експерименті вплив нейротрансплантації різних типів алогенних тканин на відновлення рухової функції після експериментальної травми спинного мозку (СМ).**Матеріали і методи.** Експериментальні тварини — білі безпородні щури-самці (віком 5,5 міс, маса тіла 300 г); групи: 1 — травма СМ + негайна гомотопічна алотрансплантація тканини нюхової цибулини (ТТНЦ, n=34); 2 — травма СМ + аналогічна трансплантація тканини фетального (E18) мозочка (ТТФМ, n=15); 3 — травма СМ + аналогічна трансплантація тканини фетальної (E18) нирки (ТТФН, n=8); 4 — травма СМ в аналогічній (контроль-1, n=16) та різні (контроль-2, n=40) експериментальні сезони. Модель травми — пересічення лівої половини СМ на рівні T<sub>XI</sub>; моніторинг показника функції (ПФ) задньої іпсилатеральної кінцівки (ЗІК) за шкалою Basso-Beattie-Bresnahan (BBB).**Результати.** Перевагу (p>0,05) ПФ ЗІК при використанні апробованих варіантів нейротрансплантації у порівнянні з таким в групі контроль-1 відзначали у строки 1-5 тиж (ТТНЦ), 1-2 та 6-7 тиж (ТТФМ) і через 8 тиж (ТТФН); в групі контроль-2 — у строки 1-3 тиж (ТТНЦ) і 1 тиж (ТТФМ) експерименту. Максимальний ПФ ЗІК реєстрували через 2 тиж (ТТНЦ, 3,7 бала ± 0,5 бала за шкалою BBB), через 1 і 6-7 тиж (ТТФМ, 3,6 бала ± 0,8 бала) та 12 і 20 тиж (ТТФН, 3,6 бала ± 1,2 бала); мінімальний — через 24 тиж (ТТНЦ, 2,4 бала ± 0,6 бала), 3 тиж (ТТФМ, 3,0 бала ± 0,9 бала) та 1 тиж (ТТФН, 1,9 бала ± 1,1 бала) експерименту. У середньому ПФ ЗІК у трьох експериментальних групах через 24 тиж експерименту становив 2,4-3,3 бала за шкалою BBB, тобто, відповідав такому в інтервалі кінцевих середніх значень у контрольних групах (1,6-3,4 бала). Достовірна різниця ПФ ЗІК між групами ТТНЦ, ТТФМ та ТТФН в період експерименту не виявлена. При ТТНЦ достовірні зміни ПФ ЗІК виявлені протягом 2-го тижня (збільшення), 6-7-го та 16-24-го тижня (зменшення до рівня, нижчого ніж на 1-му тижні); при ТТФМ — зміни відсутні; при ТТФН — протягом 1-3-го тижня (збільшення). Спільними ознаками динаміки у досліджених групах було переважання ПФ ЗІК протягом перших тижнів у порівнянні з такими у контрольних групах та відсутність прогредієнтності у подальшому періоді спостереження, що можна інтерпретувати, беручи до уваги ангіогенні, нейротропні, прозапальні та медіаторні ефекти трансплантатів.**Висновок.** Застосування апробованих видів нейротрансплантації зумовлює тимчасовий, обмежений одним місяцем травматичного процесу, ефект, вивчення патофізіологічних механізмів якого суттєво поглиблює уявлення про специфіку реакцій тканин при застосуванні багатокомпонентних нейроінженерних втручань.**Ключові слова:** травма спинного мозку; тканинна нейротрансплантація; відновлення рухової функції; патофізіологія; тканинна нейроінженерія.

Український нейрохірургічний журнал. — 2017. — №1. — С.11-23.

**The effect of neurotransplantation of various allogeneic tissue types to motor function restore after experimental spinal cord injury**

Volodymyr V. Medvediev

Department of Neurosurgery,  
Bogomolets National Medical  
University, Kyiv, UkraineReceived, August 15, 2016.  
Accepted, September 19, 2016.**Address for correspondence:**Volodymyr Medvediev, Department of  
Neurosurgery, Bogomolets National  
Medical University, 32 Platona  
Mayborody St, Kiev, Ukraine, 04050,  
e-mail: vavo2010@gmail.com**Objective.** To examine the effect of different tissue type of neurotransplantation on the locomotor function restoration after experimental spinal cord injury.**Materials and methods.** Animals: inbred albino male rats (5.5 months, 300 g); experimental groups: 1 — spinal cord injury + immediate homotopical transplantation of olfactory bulb tissue (TOBT, n=34), 2 — spinal cord injury + analogous transplantation of fetal (E18) cerebellum tissue (TFCT, n=15), 3 — spinal cord injury + analogous transplantation of fetal (E18) kidney tissue (TFKT, n=8), 4 — spinal cord injury only in similar (control-1, n=16) and different (control-2, n=40) experimental seasons. Model of injury — left-side spinal cord hemisection at T<sub>XI</sub> level; monitoring the ipsilateral hindlimb function indicator (IHL FI) — the Basso-Beattie-Bresnahan scale (BBB).

**Results.** The predominance ( $p > 0.05$ ) of the IHL FI after approved types of neurotransplantation has been noted when comparing with the control group-1 — at the 1<sup>st</sup>–5<sup>th</sup> week (TOBT), 1<sup>st</sup>–2<sup>nd</sup> and 6<sup>th</sup>–7<sup>th</sup> week (TFCT), and at the end of the 8<sup>th</sup> week (TFKT); when comparing with the control group-2 — at the 1<sup>st</sup>–3<sup>rd</sup> (TOBT) and 1<sup>st</sup> (TFCT) week of the experiment. The maximum value of the IHL FI has been observed at the 2<sup>nd</sup> (TOBT,  $3,7 \pm 0,5$  points BBB), 1<sup>st</sup>, 6<sup>th</sup>–7<sup>th</sup> (TFCT,  $3,6 \pm 0,8$  points BBB), 12<sup>th</sup> and 20<sup>th</sup> (TFKT,  $3,6 \pm 1,2$  points BBB) weeks, minimum value of the IHL FI — at the 24<sup>th</sup> (TOBT,  $2,4 \pm 0,6$  points BBB), 3<sup>rd</sup> (TFCT,  $3,0 \pm 0,9$  points BBB) and 1<sup>st</sup> (TFKT,  $1,9 \pm 1,1$  points BBB) week of the experiment. Average IHL FI values of the three experimental groups at the 24<sup>th</sup> week of the experiment have been amounted to 2,4–3,3 points BBB and comprised in a range of control groups final mean values (1,6–3,4 балла BBB). Significant differences between the IHL FI values of the groups TOBT, TFCT and TFKT have not been observed during the experiment. In the case of TOBT significant changes of IHL FI have been noted during the 2<sup>nd</sup> (increase), 6<sup>th</sup>–7<sup>th</sup> and 16<sup>th</sup>–24<sup>th</sup> week (reduced to a level below the 1<sup>st</sup> week); in the case of TFKT — at the 1<sup>st</sup>–3<sup>rd</sup> week (increase); in the case of TFCT no significant changes have been identified. A common feature of the dynamics of the three experimental groups is prevalence of IHL FI values over the control during the first few weeks and lack of progression during further period of observation, that can be interpreted in a view of angiogenic, neurotropic, proinflammatory and mediator effects of the grafts.

**Conclusion.** Approved types of neurotransplantation provide a temporary effect, continuing during the first month of the traumatic process; the study of the pathophysiological mechanisms of this effect can significantly improve understanding of tissue processes after multicomponent neuroengineering interventions.

**Key words:** *spinal cord injury, tissue neurotransplantation, motor function recovery, pathophysiology, tissue neuroengineering.*

**Ukrainian Neurosurgical Journal. 2017;(1):11-23.**

## Влияние нейротрансплантации различных типов аллогенных тканей на восстановление двигательной функции после экспериментальной травмы спинного мозга

Медведев В.В.

Кафедра нейрохирургии,  
Национальный медицинский  
университет имени А.А.  
Богомольца МЗ Украины, Киев,  
Украина

Поступила в редакцию 15.08.16.  
Принята к публикации 19.09.16.

### Адрес для переписки:

Медведев Владимир Викторович,  
Кафедра нейрохирургии,  
Национальный медицинский  
университет имени А.А.  
Богомольца, ул. Платона  
Майборода, 32, Киев, Украина,  
04050, e-mail: vavo2010@gmail.com

**Цель работы.** Изучить в эксперименте влияние нейротрансплантации различных типов аллогенных тканей на восстановление двигательной функции при травме спинного мозга (СМ) в эксперименте.

**Материалы и методы.** Экспериментальные животные — белые беспородные крысы-самцы (возраст 5,5 мес, масса тела 300 г); группы: 1 — травма СМ + немедленная гомотопическая аллотрансплантация ткани обонятельной луковицы (ТТОЛ;  $n=34$ ); 2 — травма СМ + аналогичная трансплантация ткани фетального (Е18) мозжечка (ТТФМ;  $n=15$ ); 3 — травма СМ + аналогичная трансплантация ткани фетальной (Е18) почки (ТТФП;  $n=8$ ); 4 — травма СМ в аналогичный (контроль-1,  $n=16$ ) и различные (контроль-2,  $n=40$ ) экспериментальные сезоны. Модель травмы — пересечение левой половины СМ на уровне  $T_{XI}$ ; мониторинг показателя функции (ПФ) задней ипсилатеральной конечности (ЗИК) — по шкале Basso-Beattie-Bresnahan (BBB).

**Результаты.** Преобладание ( $p > 0,05$ ) ПФ ЗИК при использовании апробированных вариантов нейротрансплантации по сравнению с таковым в группе контроль-1 отмечено в сроки 1–5 нед (ТТОЛ), 1–2 и 6–7 нед (ТТФМ), в конце 8-й недели (ТТФП); в группе контроль-2 — в сроки 1–3 нед (ТТОЛ) и 1 нед (ТТФМ) эксперимента. Максимальный ПФ ЗИК отмечали через 2 нед (ТТОЛ, 3,7 бала  $\pm$  0,5 балла по шкале BBB), 1 и 6–7 нед (ТТФМ, 3,6 балла  $\pm$  0,8 балла), 12 и 20 нед (ТТФП, 3,6 балла  $\pm$  1,2 балла); минимальный — через 24 нед (ТТОЛ, 2,4 балла  $\pm$  0,6 балла), 3 нед (ТТФМ, 3,0 балла  $\pm$  0,9 балла) и 1 нед (ТТФП, 1,9 балла  $\pm$  1,1 балла) экспериментальных. В среднем ПФ ЗИК в трех экспериментальных группах через 24 нед эксперимента составил 2,4–3,3 балла по шкале BBB, что соответствовало таковому в интервале конечных средних значений в контрольных группах (1,6–3,4 балла). Достоверные различия ПФ ЗИК между группами ТТОЛ, ТТФМ и ТТФП в период эксперимента не наблюдали. При ТТОЛ достоверные изменения ПФ ЗИК выявлены на 2-й неделе (увеличение), 6–7-й и 16–24-й неделях (уменьшение до уровня, ниже такового на 1 неделе); при ТТФМ — изменения отсутствовали; при ТТФП — на 1–3-й неделе (увеличение). Общими признаками динамики в трех экспериментальных группах было преобладание ПФ ЗИК в первые недели по сравнению с таковым в контрольных группах

и отсутствие прогредиентности в дальнейший период наблюдения, что можно интерпретировать с учетом ангиогенных, нейротропных, провоспалительных и медиаторных эффектов трансплантатов.

**Вывод.** Использование апробированных видов нейротрансплантации обуславливало временный, ограниченный одним месяцем травматического процесса, эффект, изучение патофизиологических механизмов которого существенно углубляет представления о специфике тканевых реакций при выполнении многокомпонентных нейроинженерных вмешательств.

**Ключевые слова:** травма спинного мозга; тканевая нейротрансплантация; восстановление двигательной функции; патофизиология; тканевая нейроинженерия.

Украинский нейрохирургический журнал. — 2017. — №1. — С.11-23.

**Вступ.** Хребетно-спинномозкова травма, попри досить низьку частоту, є одним з найбільш драматичних видів нейрохірургічної патології, що зумовлює її центральне місце у медичних синопсисах протягом усього існування людства. У теперішній час, незважаючи на прогрес біотехнологій, неприступність проблеми відновлення функцій травмованого СМ надає спінальній травмі майже містичне звучання. Такий висновок — аж ніяк не фігура мови. Приміром, просякнуті сучасним професійним контекстом, деякі автори вбачають спінальні алюзії в одному з найвідоміших міфів Древнього Єгипту — міфі про Озиріса та Ізиду (бл. 3 тис. р. до н.е.) [1]. В інтерпретації А. Filler [1], розповідається про вбивство Озиріса його братом Сетом, страждання Ізиди (сестри і дружини Озиріса — богині родючості й материнства), яка за допомогою Тота (староєгипетського бога місяця, часу, мудрості й культури) «воскресила» Озиріса, який, однак, став царем у світі мертвих\*. Реляції опису медико-маніпуляційних аспектів ревіталізації Озиріса з клінікою травми СМ та інші текстологічні нюанси, відсутні, щоправда, у традиційному викладі сюжету міфу, наводять автора на думку про певну ексклюзивність хребетно-спинномозкової травми серед відомих варіантів нейрохірургічної патології. Не вдаючись у полеміку щодо обґрунтованості та доцільності таких інтерпретацій, відзначимо ангажованість автора спінальною проблематикою, що відображає ставлення нейрохірургічної спільноти до проблеми відновного лікування ураження СМ.

Хребетно-спинномозкова травма має реалістичне і драматичне відображення у біблійній історії первосвященника Ілія, смерть якого, через безвідповідальну м'якість у вихованні власних дітей та Ізраїльського

народу [2], була провіщена устами пророка Самуїла: «І почув Ілій звуки крику і сказав: від чого такий шум? ... що відбулося, сину мій? І відповів вісник ... поразка велика відбулася в народі, і обидва сини твої, Офні і Финеєс, померли, і ковчег Божий взято. Коли згадав він про ковчег Божий, Ілій упав із сидалища горілиць біля воріт, **зламав собі хребет і помер**; бо він був старий і важкий» (1 Царств, 4:16–18; ~1 тис. р. до н.е.) [3].

У папірусі Едвіна Сміта (Edwin Smith papyrus; ~1700 р. до н.е.) з 48 скрупульозно описаних спостережень травми (у т.ч. черепно-мозкової) хребетно-спинномозкової було 6 [4]. Короткий, проте, цілком прозорий опис неврологічних ускладнень спінальної травми наведений у Гомеровій Іліаді (~8-е ст. до н.е.) [5].

Не оминула спінальна тема і нашого етноісторичного контексту: одним з ключових моментів епічного циклу оповідей про Іллю (Муромця [Муровця?], прп., ~1148–1203 рр.) є його тривала хвороба, під час якої він «сиднем сидел цело тридцать лет», чудесне зцілення від «калік перехожих» та пов'язана з цим поява надзвичайної фізичної міці [6].

Клініка та лікування хребетно-спинномозкової травми відображені у трактатах більшості відомих древніх лікарів — Гіппократа (460–370 рр. до н.е.), Цельсія (Aulus Cornelius Celsus, 1-ше ст. н.е.), Галена (131–201 рр. н.е.), Павла Егінського (625–690 рр. н.е.), Ар-Рази (Muhammad ibn Zakariya al-Razi 865–925 рр. н.е.), Халі Абаса ('Aliibn al-'Abbas al-Majusi; 982–994), нарешті — у Авіцені (980–1037 рр. н.е.) [5].

Все це підтверджує тезу щодо непересічної зацікавленості темою спінальної травми протягом усій історії медичної науки.

\* За А. Filler [1], «повернення Озиріса до життя» виглядає так: "Only the "generative organ" cannot be found, because it was eaten by a crocodile after being cast into the Nile by Seth. Isis then receives assistance from the medical power of Thoth, the god of wisdom and medicine. Together, Isis and Thoth resurrect Osiris by reassembling his spine". Загальновізнана версія сюжету інша: «Царствую над Єгиптом, Осирис научил людей земледелию, садоводству и виноделию, но был убит своим братом, богом Сетом, желавшим править вместо него. Жена Осириса, его сестра Исида, нашла его труп и стала оплакивать его вместе со своей сестрой Нефтидой. Ра, сжалившись, посылает шакалового бога Анубиса, который собрал рассыпавшиеся (а по другому варианту — разрубленные Сетом) части Осириса, забальзамировал тело и запеленал его. Поскольку единственной частью тела Осириса, которую Исида так и не смогла найти, был пенис (его съели рыбы), Исида вылепила фаллос из глины, освятила его и прирастила к собранному телу Осириса. Превратившись в самку коршуна — птицу Хат, Исида распластала крылья по мумии Осириса, произнесла волшебные слова и забеременела. Так был зачат Гор. После длительной тяжбы Гор признается правомочным наследником Осириса и получает царство. Он воскрешает Осириса, дав ему проглотить своё око. Однако Осирис не возвращается на землю и остается царем мёртвых, представляя Гору править царством живых (ru.wikipedia.org/wiki/Осирис, з посиланням на: Рак И.В. Мифы Древнего Египта. СПб.: Петро-РИФ, 1993; аналогічний хід подій відображений у Frazer J.G. The Golden Bough. London, 1923, М.: Политиздат, 1980).

У другій половині минулого століття активно-го розвитку набула нова галузь біомедицинської науки — регенеративна медицина, зокрема, відновна нейрохірургія. Одним з найважливіших її об'єктів є спінальна травма. Протягом останніх 50 років апробовані численні трансплантаційні втручання, спрямовані на вирішення питання регенерації низхідних провідних шляхів травмованого СМ, серед них — трансплантація різноманітних тканин фетального походження [7, 8]. Результативність більшості сучасних відновних нейроінженерних втручань, основаних на штучному конструюванні квалітативних трансплантатів, обмежена [9–14], потребує зіставлення з результатами тканинної нейротрансплантації, а також вивчення різних феноменів під час проспективного планування клінічних досліджень, наприклад, доведеного факту аутогенного відновлення рухової функції майже у 20% спінальних хворих категорії ASIA\* протягом першого року після травми [15]. Сучасні дані ембріології дозволяють обрати з різних джерел для експериментальної нейротрансплантації оптимальні; такими, на нашу думку, є:

– тканина мозочка на пренатальній стадії розвитку — містить значну кількість прекурсорів та прогеніторів, комітованих на трансформацію в глутаматергічні нейрони — клітини-зерна кори мозочка [16–19], а також дозріваючі ГАМК-ергічні клітини Пуркінє [20] і фактори росту, що регулюють онтогенетичну перебудову на цьому етапі розвитку (ефрини, семафорини, нетрини, кадгерини, представники сімейств FGF, Wnt та BMP, білки Shh, PDGF та VEGF) [21–25];

– тканина зрілої нюхової цибулини — містить нейрогенні прогенітори та прекурсори субвентрикулярної зони бічних шлуночків, комітовані на трансформацію, в основному у ГАМК†-ергічні нейрони, а також зрілі глутаматергічні мітральні та пучкові (tufted) клітини [26–29];

– тканина фетальної нирки у пренатальному періоді розвитку — як можливий фактор проангіогенного впливу, що підтверджують результати наших досліджень [30], а також численні дані щодо наявності у ній стовбурових клітин мезенхімальної генеалогії [31], у тому числі ендотеліальних [32], деяких ангіогенних факторів росту [33], наприклад, VEGF [34, 35] та ангіопоетинів [36].

Зважаючи на це, ми вирішили вивчити вплив кожного з зазначених видів тканинної нейротрансплантації на перебіг експериментальної травми СМ.

#### **Матеріали і методи дослідження.**

**Експериментальні тварини та експериментальні групи.** Дослідження проведено з дотриманням існуючих норм біоетики, регламентів роботи з експериментальними тваринами, оптимальних протоколів знеболення та післяхірургічного догляду на білих безпородних щурах-самцях (віварій ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України»), віком 5,5 міс, масою тіла ~300 г, яких утримували у стандартних умовах, за звичного харчування. Сформовані такі експериментальні групи:

– група «**ТТНЦ**» (трансплантація тканини нюхової цибулини), тваринам якої моделювали травму СМ і

одразу в зону ураження трансплантували фрагмент алогенної тканини нюхової цибулини (n=34; максимальні строки спостереження 24 тиж);

– група «**ТТФМ**» (трансплантація тканини фетального мозочка), тваринам якої моделювали аналогічну травму СМ і одразу в зону ураження трансплантували фрагмент алогенної тканини фетального мозочка (n=15; максимальна тривалість спостереження 24 тиж);

– група «**ТТФН**» (трансплантація тканини фетальної нирки), тваринам якої одразу після моделювання травми СМ в зону ураження трансплантували фрагмент алогенної тканини фетальної нирки (n=8; тривалість спостереження 24 тиж);

– група «**контроль-1**», тваринам якої у той самий експериментальний сезон моделювали аналогічну травму СМ (n=16; максимальні строки спостереження 24 тиж);

– група «**контроль-2**» — інтегральна група порівняння, сформована протягом 2006–2015 рр. (включає усіх тварин групи «**контроль-1**»); модель травми СМ, біологічні характеристики та умови утримання аналогічні (n=40; максимальна тривалість спостереження 16 тиж). Групу введено з міркувань наукової етики, з метою критичного висвітлення результативності апробованих нейротрансплантаційних втручань.

#### **Матеріал, використаний для трансплантації.**

Тканину нюхової цибулини отримували у щурів-самців (умови утримання та біометричні показники — аналогічні), одразу після забиття шляхом передозування суміші наркотичних засобів. Після вилучення нюхову цибулину звільняли від судинної оболонки, подрібнювали на фрагменти об'ємом 1,5–2 мм<sup>3</sup>.

Фетальну нирку та фетальний мозочок вилучали у плода щура 18 діб гестації (E18). Протокол відбору матеріалу включав наркотизацію вагітної самки шляхом внутрішньоочеревинного введення суміші розчинів ксилазину (Sedazin, "Biowet", Польща) 15 мг/кг та кетаміну (Calypsol, "Гедеон Ріхтер А.О.", Угорщина) 70 мг/кг; розтин передньої черевної стінки, видалення матки з плодами; виведення тварини з експерименту; вилучення плодів, вивільнення їх з амніотичної оболонки у стерильному ізотонічному розчині натрію хлориду; розсічення черевної стінки по середній лінії, видалення органоккомплексу, вилучення обох нирок, розділення їх на 2 приблизно рівні фрагменти об'ємом 1,5–2 мм<sup>3</sup>. Для відбору тканини фетального мозочка голову плода поперечно розсікали у місці переходу у тіло, видаляли головний мозок, мозочок відокремлювали, кожну півкулю розділяли на 2 приблизно рівні половини об'ємом 1,5–2 мм<sup>3</sup>.

Один фрагмент тканинного матеріалу використовували для підрахунку кількості живих клітин, інші — утримували в ізотонічному розчині натрію хлориду при температурі 37 °С до моменту трансплантації.

#### **Моделювання травми спинного мозку.**

Оперативне втручання здійснювали під загальним знеболенням шляхом внутрішньоочеревинного введення суміші розчинів ксилазину (Sedazin, "Biowet",

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

† ГАМК — γ-аміномасляна кислота; ключовий гальмівний нейромедіатор

Польща) 15 мг/кг та кетаміну (Calypsol, "Гедеон Ріхтер А.О.", Угорщина). Технічні та оперативно-хірургічні особливості використаної моделі травми СМ (пересічення лівої половини поперечника СМ — ЛПП) наведені нами раніше [37]. В умовах асептики шкіру фіксованої черевцем до низу тварини розсікали по лінії, що з'єднує остисті відростки  $T_{VIII}$ – $L_{II}$  хребців, скелетували остисті відростки  $T_{IX}$ – $L_I$ , перфорували міждуговий простір, здійснювали ламінектомію на рівні  $T_{XI}$ , максимально відкриваючи ліву половину задньобічної поверхні СМ; списоподібним офтальмологічним скальпелем тканину СМ наскрізь проколювали у дорзо-вентральному напрямку біля лівого краю задньої серединної судини, у рану заводили браншу офтальмологічних ножиць, другою — охоплювали ліву половину СМ і пересікали у кілька прийомів; після самовільного припинення кровотечі у тварин групи «ТТНЦ» у рану СМ укладали фрагмент нухової цибулини, у тварин групи «ТТФМ» — фрагмент фетального мозочка, у тварин групи «ТТФН» — фрагмент фетальної нирки. Вікно доступу в хребтовий канал прикривали фрагментом підшкірної фасції, м'які тканини та шкіру в зоні доступу наглухо зашивали крученими поліамідними хірургічними нитками (ум. №1, ПАТ «Київхімволокно»), накладали два ряди вузлових швів, ділянки рани обробляли 5% спиртовим розчином йоду. У задню шийну ділянку підшкірно вводили розчин біциліну-5 (ПАТ «Київмедпрепарат»; 150–200 тис ОД на 1 тварину), внутрішньоочеревинно — розчин дексаметазону (KRKA, Словенія) 6 мг/кг. Після цих маніпуляцій тварин протягом 2–4 год утримували в приміщенні з підвищеною температурою повітря (30 °C), у подальшому — у клітках по 3–6 особин при середній температурі 21–24 °C.

**Оцінка рухової функції.** Функціональну активність ЗІК (щодо зони травми) оцінювали за шкалою BBB (D.M. Basso, M.S. Beattie, J.C. Bresnahan), особливості використання якої описані нами раніше [37]. ПФ ЗІК визначали, починаючи з 7-ї доби після оперативного втручання, з огляду на етичний регламент роботи з експериментальними тваринами. ПФ ЗІК інтактних тварин та тварин експериментальних груп до моделювання травми становив 21 бал (за шкалою BBB).

З метою деталізації даних щодо динаміки перебігу відновного процесу досліджували зміни ПФ за мінімальних строків спостереження (7 діб) —  $\Delta ПФ$ :

$\Delta ПФ = ПФ_2 - ПФ_1$ , де  $ПФ_1$  та  $ПФ_2$  — значення ПФ ЗІК у два сусідні строки спостереження.

$\Delta ПФ$  обчислювали для кожного строку спостереження.

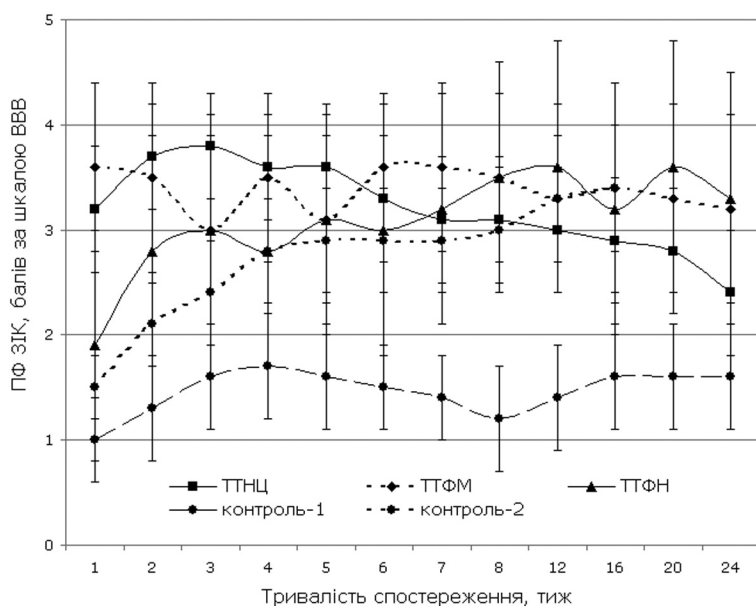
**Статистична обробка отриманих даних** проведена з використанням програмного пакету Statistica 10.0 на персональному комп'ютері з використанням непараметричного U-тесту Манна-Уїтні (Mann-Whitney U-test). Результати оцінки достовірності представляли у вигляді  $p$  з звичним трактуванням. Достовірність різниці ПФ ЗІК у різні строки спостереження у межах групи оцінювали за Уїлкоксоном (Wilcoxon). Для виявлення виду і ступеня кореляції між тривалістю посттравматичного періоду (періоду спостереження) та значенням ПФ ЗІК використовували ранговий коефіцієнт Спірмена (Spearman).

**Результати та їх обговорення.** Динаміка ПФ ЗІК у групі «контроль-1» характеризувалася двофазністю (рис. 1). Протягом першого місяця виявлене достовірне збільшення ПФ ЗІК з (1,0±0,4) бала за шкалою BBB (7-ма доба) до (1,7±0,5) бала (наприкінці 4-го тижня). У подальшому спостерігали недостовірне зменшення ПФ ЗІК, мінімальне значення — наприкінці 8-го тижня — (1,2±0,5) бала і збільшення до (1,6±0,5) бала через 16 тиж (р=0,018 у порівнянні з таким через 8 тиж). У подальшому суттєвих змін ПФ ЗІК не було, через 24 тиж він становив (1,6±0,5) бала.

Динаміка ПФ ЗІК у групі «контроль-2» відрізнялася від такої в групі «контроль-1», відзначені дві фази процесу регенерації — у строки 1–8 та 8–16 тиж. На відміну від групи «контроль-1», перша фаза завершувалася стабілізацією ПФ ЗІК (у строки 5–7 тиж — 2,8 бала); у строки 16 тиж ПФ ЗІК становив (3,4±0,6) бала. Протягом усього періоду експерименту різниця ПФ ЗІК в групах «контроль-1» та «контроль-2» була недостовірною, з мінімальним значенням  $p=0,089$  на 8-му тижні. Достовірна різниця  $\Delta ПФ$  на користь групи «контроль-2» відзначена лише на 8-му тижні (р=0,033).

На 7-му добу експерименту у групі «ТТНЦ» виявляли достовірне збільшення ПФ ЗІК — (3,2±0,6) бала у порівнянні з таким в групі «контроль-1» — (1,0±0,35) бала (р=0,007) та «контроль-2» — (1,5±0,3) бала (р=0,006), що зберігалось до кінця 5-го («контроль-1») та 3-го («контроль-2») тижня. Протягом 2-го тижня спостерігали достовірне збільшення ПФ ЗІК до максимуму — (3,7±0,5) бала; з 4-го тижня — повільне (протягом 6–7-го тижня — достовірне) зменшення ПФ ЗІК, стабілізацію на 7–12-му тижні — (3,1±0,6) бала, подальше достовірне зменшення до кінця експерименту; на 24-му тижні — (2,4±0,6) бала. Починаючи з 20-го тижня, ПФ ЗІК був достовірно менше такого на 1-му тижні. Перехрест ПФ ЗІК груп «ТТНЦ» та «контроль-2» відзначали на 8-му тижні спостереження.

Динаміка ПФ ЗІК у групі «ТТФМ» характеризувалася відсутністю прогредієнтності: впродовж усього періоду експерименту ПФ ЗІК становив 3–3,6 бала. На 7-му добу ПФ ЗІК становив (3,6±0,8) бала, що переважало його значення в групах «контроль-1» (р=0,007) та «контроль-2» (р=0,01). Різниця (р<0,05) з показником в групі «контроль-1» зберігалася до кінця 2-го тижня, у період 3–5-го тижня вона зникла на тлі недостовірного зменшення (р>0,05) ПФ ЗІК в групі «ТТФМ» та достовірного зменшення (р<0,05) — в групі «контроль-1». Протягом 6–8-го тижня відзначали перевагу (р<0,05) ПФ ЗІК в групі «ТТФМ» над групою «контроль-1» на тлі одночасного зменшення (р>0,05) та збільшення (р>0,05) ПФ ЗІК відповідно у групах «контроль-1» та «ТТФМ». На 12-му та 16-му тижні реєстрували рівновеликі значення ПФ ЗІК у групах «ТТФМ» та «контроль-2» — відповідно (3,3±0,9) та (3,4±1,0) бала. На 24-му тижні ПФ ЗІК у групі «ТТФМ» становив (3,2±0,9) бала, поступаючись (р=0,144) його значенню на 1-му тижні. Достовірна різниця ПФ ЗІК у порівнянні з таким у контрольних групах у ці строки спостереження не виявлена. Протягом періоду експерименту достовірної різниці з ПФ ЗІК в групі «ТТНЦ» не було, мінімальне значення (р=0,228) виявлене на 8-му тижні спостереження.



**Рис. 1.** Динаміка зміни ПФ ЗІК в експериментальних групах в період спостереження (пояснення в тексті).

Відновний процес у групі «ТТФН» розпочинався з ПФ ЗІК ( $1,9 \pm 1,1$ ) бала, що переважало його значення в групах «контроль-1» та «контроль-2» ( $p > 0,05$ ) та було менше, ніж у групах «ТТНЦ» та «ТТФМ» ( $p > 0,05$ ). Фактично перевага у порівнянні з групою «контроль-2» утримувалась до 4-го тижня, проте, різниця недостовірна. Збільшення ПФ ЗІК протягом перших трьох тижнів у групі «ТТФН» достовірне ( $p = 0,043$ ) у порівнянні з таким на 3-му та 1-му тижні; подальші зміни показника недостовірні. Мінімальну достовірність виявляли при порівнянні ПФ ЗІК на 8-му тижні — ( $3,5 \pm 1,1$ ) бала, 1-му ( $p = 0,091$ ) і 4-му ( $p = 0,068$ ) тижні, а також на 12-му тижні ( $3,6 \pm 1,2$ ) бала (фактичний максимум в групі) та 1-му тижні ( $p = 0,075$ ). На 8-му тижні реєстрували достовірну ( $p = 0,033$ ) різницю ПФ ЗІК в групах «ТТФН» та «контроль-1». На 24-му тижні ПФ ЗІК у групі «ТТФН» становив ( $3,3 \pm 1,2$ ) бала, максимально наближався до показника в групі «ТТФМ» — ( $3,2 \pm 0,9$ ) бала ( $p = 0,67$ ), меншою мірою — до ПФ ЗІК в групах «ТТНЦ» — ( $2,4 \pm 0,6$ ) бала ( $p = 0,27$ ) та «контроль-1» — ( $1,6 \pm 0,5$ ) бала ( $p = 0,17$ ). Загалом, динаміка ПФ ЗІК у групі «ТТФН» була двофазною, перша фаза тривала протягом 1–4 тиж, друга — 6–24 тиж. Динаміка збільшення ПФ ЗІК щотижня у групі «ТТФН» була достовірною ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з показником в групі «контроль-1» — на 8-му тижні (на користь групи «ТТФН») та «контроль-2» — на 16-му тижні (на користь групи «контроль-2»).

Загалом, при порівнянні з групою «контроль-1» достовірний позитивний ефект відзначали протягом перших 5 тиж після ТТНЦ, 2-го та 6–7-го тижнів — після ТТФМ, а також на 8-му тижні — після ТТФН. При порівнянні з групою «контроль-2» достовірний позитивний ефект виявлений протягом 3 тиж — після ТТНЦ, 1 тиж — після ТТФМ. Достовірної різниці ПФ ЗІК у групах «ТТНЦ», «ТТФМ» та «ТТФН» в період спостереження не було. Попри це, характер різниці ПФ ЗІК в експериментальних групах при порівнянні з контрольними, а також оцінка достовірності змін

ПФ ЗІК у кожній групі протягом періоду експерименту дозволяє стверджувати про наявність суттєвих відмінностей перебігу регенеративного процесу у кожній групі.

Спробуємо інтерпретувати дві найважливіші особливості динаміки ПФ ЗІК, характерні для всіх апробованих варіантів нейротрансплантації — переважання ПФ ЗІК у перші тижні у порівнянні з контрольними та відсутність прогресивної динаміки у подальшому періоді спостереження.

Важливо, що у попередніх роботах при імплантації в зону аналогічної травми СМ прорегенеративного матриксу NeuroGel™ на 7-му добу виявляли рівновеликий з таким в групах «ТТНЦ» та «ТТФМ» позитивний функціональний ефект; зумовлений, ймовірно, антигеморагічними, імунно- та фібросупресивними властивостями NeuroGel™; зменшення ПФ ЗІК у віддаленому періоді спостереження (6–8 міс після травми та імплантації NeuroGel™) корелювало з фібротичними змінами та ущільненням тканинного конгломерату в зоні розташування залишків імплантата [38].

На нашу думку, тимчасовий ефект ТТНЦ, ТТФМ та ТТФН свідчить, передусім, про вплив на ті структурні елементи СМ, можливість існування яких в умовах травми визначається наявністю факторної чи метаболічної підтримки; утворення нових елементів (наприклад, нових магістральних нервових волокон) мало ймовірно, оскільки є тривалішим (не менше 2–4 тиж) та супроводжується суттєвим функціональним приростом (2–8 тиж [38 с. 735–737]). Найбільш ймовірним об'єктом короточасного позитивного впливу є нейрональні мережі та транзитні волокна перифокальної зони — ділянки, в яких у гострому та ранньому періоді після травми (передусім, протягом 1-го тижня) виникає васкулярна та метаболічна катастрофа, вторинний альтераційний вплив, демієлінізація, тому вона критично залежить від метаболічного, перфузійного, антиапоптозного та ремієлінізуючого супроводу. Оскільки дефіцит

функції ЗІК при травмі СМ на рівні  $T_{\text{х}}$  залежить в основному від пересічення супраспінальних або довгих пропріоспінальних низхідних волокон, визначальним чинником впливу на регенераційний процес є гліогенна (олігодендрогліальна, передусім) спроможність трансплантата, а також захисний антиапоптотичний вплив на мотонейрони верхніх поперекових сегментів і пропріоспінальні нейрони, за участю яких можливе відновлення альтернативних, полісинаптичних шляхів передачі збудження. Розглянемо можливі варіанти такого впливу на перифокальну зону, виходячи з аналізу таких ключових ефектів трансплантатів:

- ангіогенного
- прямого нейротропного
- імуногенного та прозапального
- медіаторного.

**Ангіогенні ефекти.** Ангіогенез у перифокальній зоні — складний стадійний процес, кожна фаза якого залежить від специфічного факторного та клітинного супроводу. Активний спраутинг збережених мікросудин перифокальної зони реєструють, починаючи з 3–4-ї доби і до кінця 1-го тижня після спінальної травми; на 7-му добу відзначають, за деякими даними, збільшення просторової щільності мікросудин у 5 разів [39]. Нові судини ростуть крізь зону травми в основному вздовж СМ [40], у більшості спостережень не виявляють морфологічних ознак звичної функціональної асоціації з навколишніми нейронами, астроцитами та перичитами, їх трансмуральні та перфузійні властивості неповноцінні, очевидно, вони надмірно проникні, що зумовлює їх участь у реакціях вторинної альтерації з клітинами периферійної крові, і є однією з причин їх значної ранньої деконструкції [39]. Збережені новоутворені судини перифокальної зони дозрівають протягом 2-го місяця після травми, при цьому формується базальна мембрана, відновлюється бар'єрна функція [39], проте, у значній їх кількості виявляють аномальну проникність щодо антитіл і, очевидно, інших елементів імунної системи. Часткова деконструкція цих судин протягом 2–3-го місяця (модель фокальної церебральної ішемії) супроводжується аутоімунним та вторинним ішемічним ураженням перифокальної зони [41]. Такі реакції ідентифіковані нами при ТТФН та ТТНЦ на моделі травми мозочка [30].

Зважаючи на ці особливості, стимуляція ангіогенезу у найгострішому та ранньому періоді травми може мати не лише позитивний ефект у вигляді швидкого відновлення перфузії у перифокальній зоні та метаболічної підтримки її елементів, а й спричинити, крім реперфузійного ураження [42, 43], вторинну альтерацію у гострому, ранньому та проміжному періодах після травми, що нівелює позитивні наслідки відновного процесу і є фактором стабілізації ПФ ЗІК. Останній момент має також стосовно спінальної травми і позитивний бік — утилізацію репілентів аксонального росту\* з зони ураження.

Слід також мати на увазі, що, біла речовина характеризується меншим споживанням кисню, гліюкози та перфузії крові [44], тобто, менш вразлива

до змін локального кровотоку, менш залежна від позитивних (метаботропних) та негативних наслідків реперфузії.

Найбільш вагомим ангіогенним фактором є VEGF (vascular endothelial growth factor), особливо VEGF-A [45]. У зрілому віці в організмі миші VEGF максимально експресується тканиною легень, жировою клітковиною, менш інтенсивно — тканиною нирки, ще менш інтенсивно — м'язами та міокардом, найменш інтенсивно — тканиною мозку, ока, тонкого кишечника [46, 47]. На останніх стадіях нефрогенезу VEGF регулює формування клубочків; у миші цей період охоплює останні дні внутрішньоутробного і перші два тижні постнатального життя [34, 35]. У зрілому мозку найвищий рівень експресії VEGF характерний для субвенікулярної зони, рострального міграторного потоку та тканини нюхової цибулини [45, 48]. У мозку плода людини максимальна продукція VEGF відбувається у пришлуночкової зоні, корі, прикірковому (проміжному) шарі переднього мозкового мішура, стріатумі, меншою мірою у III триместрі вагітності — у тканині мозочка [21, 22]. Після народження експресія VEGF у мозочку значно зменшується, що пояснює частий постнатальний апоптоз резидентних нейронів [21]. Отже, з високою вірогідністю з матеріалів, що використовували у дослідженні, максимальною була концентрація VEGF у тканині фетальної нирки, меншою — у тканині зрілої нюхової цибулини, мінімальною — у тканині фетального мозочка. Це означає найбільш виражену амбівалентну щодо елементів перифокальної зони роль проангіогенного механізму при ТТФН, менш виражену — при ТТНЦ, найменш значущу — при ТТФМ.

Таким чином, проангіогенний вплив трансплантата може сприяти формуванню двофазної динаміки ПФ ЗІК в групах «ТТНЦ», «ТТФМ» та «ТТФН».

**Факторний та клітинний нейротропний вплив.** На нашу думку, з огляду на кількісні показники нейроногенної активності у фетальному мозочку та зрілій нюховій цибуліні [16–19, 26–29], слід визнати, що найбільш потужний потенціал для факторного (нейротропні фактори росту) та клітинного (нейрогенні прогенітори, а також гліальні прекурсори) впливу на елементи перифокальної зони має тканина фетального мозочка, дещо менший — нюхової цибулини, найменший — фетальної нирки.

Тканина фетального мозочка на пренатальній стадії містить нейропротекторні фактори росту, зокрема, VEGF [21–25], а також ефрини, семафорини та нетрини, які у більш віддаленому періоді після спінальної травми могли б справляти амбівалентний вплив на ріст аксональних волокон поблизу зони ТТФМ як атрактори, або репіленти аксональних конусів росту [38]. Персистенцію незрілих нейроектодермальних елементів трансплантата при ТТФМ відзначали протягом щонайменше 2 міс з повільним зменшенням популяції [30]. Це визначає період значущого нейротропного впливу ТТФМ. Важливо, що за цей період аутогенна регенерація СМ досягає аналогічного функціонального результату.

\* Фактори мієліну центрального походження Nogo (reticulon-4), MAG (myelin-associated glycoprotein) та OMgp (oligodendrocyte-myelin glycoprotein) є потужними факторами репілентії аксональних конусів росту.

Тканина нюхової цибулини експресує VEGF [45, 48], а також деякі інші нейротропні фактори, що визначають міграцію і дозрівання нейрональних прекурсорів. При ТТНЦ в очищене вогнище забиття мозочка персистенцію нейронального компоненту трансплантата виявляють протягом перших 4 тиж, у подальшому — значне зменшення його об'єму, що супроводжується активною реакцією сполучної тканини, нівелюванням набуті протягом перших 12 діб переваги у порівнянні з контрольною групою [30].

Тканина фетальної нирки активно експресує VEGF [49, 50], а також ендотеліальні прогенітори, нейротропний ефект яких може опосередковуватися через астроцити, що в активованому стані продукують NGF (nerve growth factor), BDNF (brain-derived neurotrophic factor), CNTF (ciliary neurotrophic factor), HGF (hepatocyte growth factor), VEGF, FGF-2 (fibroblast growth factor) [50, 51]. Проте, участь популяції астроцитів у формуванні щільного гліофіброзного рубця — фактора, що унеможливує проростання регенеруючих нервових волокон крізь зону травми, перетворює короткотерміновий проастроцитарний вплив ендотеліальних прогеніторів у негативний фактор регенераційного процесу на більш віддаленому етапі. Швидкість резорбції трансплантата при ТТФН максимальна [30], що обмежує проастроцитарний та інші нейротропні впливи ендотеліальних прогеніторів.

Всі використані види трансплантатів протягом першого місяця активно, з різною швидкістю утилізуються [30], що є найбільш простим поясненням обмеження у часі їх нейротропного ефекту. Пов'язані з резорбцією запальні процеси мають амбівалентний вплив на нейрональні елементи перифокальної зони: крім типового нейротоксичного, відзначають ще і нейропротекторний вплив запальних цитокінів, щоправда, лише за нетривалої їх експозиції у тканині — протягом 7–10 діб [52]. При цьому джерелом прозапальних цитокінів (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-6, MIP-1 $\alpha$ ) можуть бути і нейроектодермальні прогенітори [52] чи нейральні нащадки трансплантованих у СМ індукованих плюрипотентних стовбурових клітин (IL-10, MIP-1 $\alpha$ , а також нейротропні фактори росту GDNF і NT-4) [53].

Отже, прямі нейротропні ефекти трансплантатів можуть сприяти формуванню виявленої нами двофазної динаміки ПФ ЗІК у трьох апробованих варіантах нейротрансплантації.

**Імуногенний та прозапальний вплив.** Нейротрансплантат є тригером імуногенного процесу, що має більшість ознак тканинного запалення і включає загибель трансплантованих клітин, інфільтрацію нейтрофільними гранулоцитами, залучення макрофагів та мікрогліоцитів, активацію астроцитарної глії, неоангіогенез [54, 55]. Нейротоксичний та демієлінізуючий вплив деяких цитокінів (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-6, MIP-1 $\alpha$ ) реалізується за тривалого (понад 10 діб) перебігу цього процесу [52]. У наших спостереженнях продукція таких прозапальних цитокінів триває, вірогідно, протягом усього періоду резорбції трансплантата, тобто, не менше 1 міс від початку експерименту. Важливо також, що при ТТФН та ТТНЦ наявне відтерміноване двокомпонентне ураження перифокальної

зони, зумовлене високоюмовірною надмірною проникністю новоутворених судин, їх деконструкцією та ішемічним ураженням тканини [30, 41]. При ТТФМ на моделі травми мозочка реєстрували особливо високі показники аутоімунного ураження тканини мозку, що має, скоріш за все, не пов'язані з ангіогенними впливами механізми [30]. Отже, реалізація амбівалентного, різного на ранніх та відтермінованих етапах травматичного процесу, впливу факторів запалення, у тому числі цитокінів та нейротропних антитіл, що можуть ініціювати знищення звичним чином або шляхом активування глутаматних рецепторів, збудження нейронів та ініціацією екзайтотоксичності [56–59], є ще одним фактором формування двофазності динаміки ПФ ЗІК у трьох досліджуваних групах.

**Медіаторні впливи.** Медіаторні позасинаптичні впливи, незважаючи на гіпотетичний характер такого механізму, не слід виключати з аналізу патофізіологічної моделі впливу нейротрансплантації. Вони стосуються, передусім, розташованих поблизу мотонейронів травмованого СМ (сегменти L<sub>I</sub>–L<sub>III</sub>) — приведення стегна, згинання у кульшовому суглобі).

Початкова стадія спінального шоку пов'язана з втратою серотонін- та норадренергічних супраспінальних деполяризуючих підпорогових впливів на мотонейрони, які у нормі створюють «деполяризаційне тло» — плато-потенціали, необхідні для реалізації точних дискретних глутаматергічних проєкцій, підсилюючи та помножуючи їх результативність до рівня забезпечення пачкового розрядження мотонейрона, без якого вольове скорочення м'язових волокон в межах рухової одиниці неможливе [60, 61]. Тому при спінальному шоку, навіть за наявності поодиноких збережених супраспінальних проєкцій на денервовані мотонейрони, активація відповідних рухових одиниць неможлива. Проте, вже протягом гострого періоду травми (у людини — 2–4-та доба) [62] спостерігають компенсаторну денерваційну гіперчутливість мотонейронів до збуджувальних медіаторних впливів, в основі якої, крім іншого, лежить підвищення експресії субодиноць NMDA\*-рецепторів глутамату [63]. Тканина фетального мозочка містить значну кількість прекурсорів глутаматергічних нейронів, отже, гіпотетичний ТТФМ-залежний глутаматергічний вплив на розташовані поблизу мотонейрони у гострому та ранньому періоді після спінальної травми, за умови збереження функції провідності деяких збережених волокон перифокальної зони, уможливує результативну передачу окремих дискретних супраспінальних впливів, що проявлятиметься раннім (раніше, ніж в інших групах) відновленням рухової активності на рівні одного-двох суглобів ЗІК, у даному випадку — кульшового та колінного. У зв'язку з цим важливо нагадати, що ПФ ЗІК 3 бали за шкалою BBV (у групі «ТТФМ» на 7-му добу він становив 3,6 бала  $\pm$  0,8 бала) відповідає наявності поширених рухів у 2 суглобах ЗІК, за нашими спостереженнями — кульшовому та колінному.

Тканина нюхової цибулини містить зрілі глутаматергічні мітральні та пучкові нейрони [26], що можуть брати участь в реалізації подібного гіпотетичного механізму, проте, на нашу думку, їх роль більш обме-

\*N-methyl-D-aspartate — агоніст однойменного підтипу рецепторів глутамату.



жена через вразливість зрілих нейронів у порівнянні з прогеніторами чи прекурсорами, фіксованість цих нейронів у просторі, на відміну від мобільності незрілих клітин нейроектодермального фенотипу.

При ТТФН (меншою мірою — ТТНЦ та ТТФМ) може реалізуватися механізм ексайтотропного впливу факторів запалення та деяких рецепторотропних антитіл на нейрони перифокальної зони. Так, за фокальної церебральної ішемії виявляють пригнічення експресії переносника глутамату GLT-1 астроцитами зони напівтіні, що зумовлює надмірне накопичення позаклітинного глутамату і ексайтотоксичного ураження нейронів [64, 65]. При гострій ішемії зменшується експресія глутамінсинтази — основного ферменту АТФ-залежної утилізації глутамату астроцитами з утворенням глутаміну та амонію, що виділяються у міжклітинний простір [66]. Проте, при реперфузії час функціонального обороту (turnover) глутамінсинтази менший, ніж у нормі, на тлі, ймовірно, підвищення її активності [66]. На моделі бічного аміотрофічного склерозу підвищена продукція глутаміну астроцитарною глутамінсинтазою, завдяки його утилізації нейронами, зумовлює продукцію надмірної кількості глутамату; більш того, інгібітор глутамінсинтази має нейропротекторний ефект, що доведено на моделях гіперамоніємії та бічного аміотрофічного склерозу [66]. Отже, збільшення продукції глутаміну і, очевидно, експресії глутамінсинтази під час реперфузійного ураження, мають, крім гіперамонійного, ще й глутаматний, тобто, збуджуючий і згодом — ексайтотоксичний вплив на нейрони.

З причин загибелі мотонейронів внаслідок аксонотомії на моделі авульсії переднього корінця розглядають ексайтотоксичність внаслідок надмірної NO-залежної продукції глутамату сегментарними аферентами і подальшої мікрогліопатії [52].

Про можливий ексайтотропний вплив медіаторів запалення свідчать дані щодо механізмів сенситизації нейронів заднього рогу при спінальній травмі: більшість прозапальних факторів (TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , IL-1, IL-6, IL-10, IL-12, IL-18, LIF, CXCL1, CXCL12, CCL3, CCL5, простагландин E<sub>2</sub>, ендотелін-1 тощо) є класичними тригерами сенситизації\* нейронів поверхневих пластин заднього рогу, що отримують, обробляють і передають у супраспінальні структури інформацію від ноцицепторів [38, с. 492–497, 511, 514–519]. Джерелом цих речовин є активовані мікрогліоцити, астроцити, макрофаги та інші учасники запального процесу у тканині СМ [38, с. 492–497, 511, 514–519]. З великою ймовірністю, ці реакції торкаються пропріоспінальних нейронів; частина нейронів заднього рогу синапсує з мотонейронами, отже, зазначений тип впливу опосередковано може стосуватися і цієї популяції клітин. Прямий вплив прозапальних факторів, у тому числі TNF- $\alpha$ , на мотонейрони за бічного аміотрофічного склерозу вважають одним з провідних чинників глутамат-опосередкованого збільшення спінальної дизрефлексії та спастичності [67]. У нашому дослідженні цей гіпотетичний механізм набуває особливого значення з огляду на активність запальних реакцій при ТТФН та ТТНЦ [30].

Зрозуміло, що такі ексайтотропні впливи мають фазний (амбівалентний) характер: сприяючи на ранніх етапах травматичного процесу відновленню рухової активності, вони створюють передумови або спричиняють ексайтотоксичну загибель нейронів у перифокальній зоні, тобто, обмежують подальше збільшення ПФ ЗІК.

Відновлення мимовільних пропріоспінальних (2–4 тиж після травми) і прямих ІА-аферентних (3–4 міс) глутаматергічних входів на мотонейрони [62], реалізація механізму конституційної активності  $\alpha_1$ -рецепторів серотоніну 5-HT<sub>2C</sub> та норадреналіну (до 8-го тижня) — все це спричиняє втрату чутливості денервованих мотонейронів до поодиноких моно- чи полісинаптичних супраспінальних глутаматергічних впливів на мотонейрони, тобто, незалежної від волюв'ї сфери надмірної активності мотонейронів, що є патофізіологічним субстратом спастичності. Отже, на цій стадії посттравматичної еволюції електричної активності мотонейрона втрачається додатна кореляція між його глутаматергічною підтримкою та функціональною активністю іннервованих ним м'язових волокон, виникає від'ємна кореляція між рівнем мимовільної активності мотонейрона (спастичністю) та його чутливістю до супраспінальних входів (довільна рухова активність).

У тканині фетального мозочка присутні дозріваючі ГАМК-ергічні нейрони Пуркін'є, у тканині нюхової цибулини — прекурсори, комітовані на диференціювання у ГАМК-ергічні нейрони, що можуть мігрувати за межі трансплантації [68]. Наявність ГАМК-ергічного компоненту при нейротрансплантації, на наш погляд, видозмінює, проте, не нівелює глутаматергічний вплив, можливо відтермінує формування синдрому спастичності (в групі «ТТНЦ»). На нашу думку, зменшення ГАМК-ергічного впливу нейрональних нащадків незрілих клітин нюхової цибулини чи нейронів Пуркін'є фетального мозочка через їх поступову загибель спричиняє прогресування спастичності і, як наслідок, обмеження довільної рухової активності, тобто, зменшення ПФ ЗІК (в групі «ТТНЦ»).

Отже, можливі впливи апробованих видів нейротрансплантації на збудливість мотонейронів травмованого СМ теж є фазними, що сприяє формуванню специфічної динаміки ПФ ЗІК у трьох основних експериментальних групах.

#### Висновки.

1. Апробовані види нейротрансплантації мають тимчасовий, обмежений першим місяцем травматичного процесу ефект: при порівнянні з групою «**контроль-1**» — протягом 1–5 тиж (ТТНЦ), 1–2 та 6–7 тиж (ТТФМ), 8 тиж (ТТФН); при порівнянні з групою «**контроль-2**» — протягом 1–3 тиж (ТТНЦ) і 1 тиж (ТТФМ).

2. Максимальні ПФ ЗІК реєстрували на 2-му тижні (ТТНЦ, (3,7 $\pm$ 0,5) бала за шкалою BBB), 1-му, 6–7-му тижнях (ТТФМ, 3,6 бала  $\pm$  0,8 бала), 12-му і 20-му тижнях (ТТФН, 3,6 бала  $\pm$  1,2 бала); мінімальні — на 24-му тижня (ТТНЦ, 2,4 бала  $\pm$  0,6 бала), 3-му тижні (ТТФМ, 3,0 бала  $\pm$  0,9 бала), 1-му тижні (ТТФН, 1,9 бала  $\pm$  1,1 бала) експерименту.

\* збільшення чутливості нейронів до збуджувальних впливів.

3. У середньому ПФ ЗІК у трьох експериментальних групах через 24 тиж експерименту становив 2,4–3,3 бала за шкалою BBB, тобто, в інтервалі кінцевих середніх значень у контрольних групах (1,6–3,4 бала за шкалою BBB).

4. При прямому попарному порівнянні достовірної різниці ПФ ЗІК в групах «ТТНЦ», «ТТФМ» та «ТТФН» в період спостереження не виявлена.

5. При ТТНЦ достовірні зміни ПФ ЗІК виявлені протягом 2-го тижня (збільшення), 6–7-го та 16–24-го тижня (зменшення до рівня, нижчого ніж на 1-му тижні); при ТТФМ — зміни відсутні; у випадку ТТФН — протягом 1–3-го тижня (збільшення).

6. Попри суттєві достовірні відмінності динаміки травматичного процесу у трьох експериментальних групах, виявлені дві спільні особливості — переважання ПФ ЗІК протягом перших тижнів у порівнянні з таким у контрольних групах та відсутність прогресивної динаміки у подальшому періоді спостереження.

7. Двофазність динаміки травматичного процесу може бути пояснена у межах патофізіологічної моделі, з огляду на ангіогенні, нейротропні, прозапальні та медіаторні ефекти трансплантатів.

### Список літератури

- Filler A. A historical hypothesis of the first recorded neurosurgical operation: Isis, Osiris, Thoth, and the origin of the djed cross / A. Filler // *Neurosurg. Focus.* — 2007. — V.23, N1. — Е.6.
- Илий [Електронний ресурс] / Православная энциклопедия : в 40 т.; под ред. Кирилла, патр. Московского и всея Руси. — М.: изд-во Моск. Патриархии, 1998–2014. — Т.22. — Електрон. аналог друк. вид.: режим доступу: <http://www.pravenc.ru/text/389273.html>
- Біблія: Книги Священного Писання Старого та Нового Завіту. — К.: Видання Київської Патріархії Української Православної Церкви Київського Патріархату, 2004. — 1079 с.
- van Middendorp J.J. The Edwin Smith papyrus: a clinical reappraisal of the oldest known document on spinal injuries / J.J. van Middendorp, G.M. Sanchez, A.L. Burridge // *Eur. Spine J.* — 2010. — V.19, N11. — P.1815–1823.
- Spinal traumas and their treatments according to Avicenna's Canon of Medicine / F. Ghaffari, M. Naseri, M. Movahhed, A. Zargaran // *World Neurosurg.* — 2015. — V.84, N1. — P.173–177.
- Хведченя С.Б. Илья Муромец — святой богатырь / С.Б. Хведченя. — К.: Географика, 2005. — 242 с.
- Цымбалюк В.И. Нейрогенные стволовые клетки / В.И. Цымбалюк, В.В. Медведев. — К.: Коваль, 2005. — 596 с.
- Neurorehabilitation with neural transplantation / M. Döbrössy, M. Busse, T. Piroth, A. Rosser, S. Dunnett, G. Nikkhah // *Neurorehabil. Neural Repair.* — 2010. — V.24, N8. — P.692–701.
- Does the preclinical evidence for functional remyelination following engraftment into the injured spinal cord support progression to clinical trials? / S.A. Myers, A.N. Bankston, D.A. Burke, S.S. Ohri, S.R. Whittemore // *Exp. Neurol.* — 2016. — V.283 (pt.B). — P.560–572.
- Dobkin B.H. Recommendations for publishing case studies of cell transplantation for spinal cord injury / B.H. Dobkin // *Neurorehabil. Neural Repair.* — 2010. — V.24, N8. — P.687–691.
- Hydrogels and cell based therapies in spinal cord injury regeneration / R.C. Assunção-Silva et al. // *Stem Cells International.* — 2015. — V.2015. — P.1–24.
- Siebert J.R. Biomaterial approaches to enhancing neurorestoration after spinal cord injury: strategies for overcoming inherent biological obstacles / J.R. Siebert, A.M. Eade, D.J. Osterhout // *BioMed Res. Int.* — 2015. — V.2015. — P.1–20.
- Tsintou M. Advances in regenerative therapies for spinal cord injury: a biomaterials approach / M. Tsintou, K. Dalamagkas, A.M. Seifalian // *Neural Regen. Res.* — 2015. — V.10, N5. — P.726–742.
- Using extracellular matrix for regenerative medicine in the spinal cord / F.Z. Volpato, T. Führmann, C. Migliaresi, D.W. Huttmacher, P.D. Daltonet // *Biomaterials.* — 2013. — V.34, N21. — P.4945–4955.
- Steeves J.D. Bench to bedside: challenges of clinical translation / J.D. Steeves // *Prog. Brain Res.* — 2015. — V.218. — P.227–239.
- Mitotic events in cerebellar granule progenitor cells that expand cerebellar surface area are critical for normal cerebellar cortical lamination in mice / J.C. Chang, M. Leung, H.N. Gokozan, P.E. Gygli, F.P. Catacutan, C. Czeisler, J.J. Otero // *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* — 2015. — V.74, N3. — P.261–272.
- Cellular commitment in the developing cerebellum / H. Marzban, M.R. Del Bigio, J. Alizadeh, S. Ghavami, R.M. Zachariah, M. Rastegar // *Front. Cell. Neurosci.* — 2015. — V.8. — P.1–26.
- N-myc is a key switch regulating the proliferation cycle of postnatal cerebellar granule cell progenitors / M. Ma, W. Wu, Q. Li, J. Li, Z. Sheng, J. Shi, M. Zhang, H. Yang, Z. Wang, R. Sun, J. Fei // *Sci. Rep.* — 2015. — V.5. — P.1–13.
- A mathematical model of granule cell generation during mouse cerebellum development / S.R. Leffler, E. Legué, O. Aristizábal, A.L. Joyner, C.S. Peskin, D.H. Turnbull // *Bull. Math. Biol.* — 2016. — V.78, N5. — P.859–878.
- Hoshino M. Neuronal subtype specification in the cerebellum and dorsal hindbrain / M. Hoshino // *Dev. Growth Differ.* — 2012. — V.54, N3. — P.317–326.
- Vascular endothelial growth factor and its high-affinity receptor (VEGFR-2) are highly expressed in the human forebrain and cerebellum during development / L. Sentilhes, C. Michel, M. Lecourtois, J. Catteau, P. Bourgeois, V. Laudenbach, S. Marret, A. Laquerriere // *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* — 2010. — V.69, N2. — P.111–128.
- Vascular endothelial growth factor (VEGF) isoform regulation of early forebrain development / D.C. Darland, J.T. Cain, M.A. Berosik, J.T. Cain, M.A. Berosik, M. Saint-Geniez, P.W. Odens, G.J. Schaubhut, S. Frisch, A. Stemmer-Rachamimov, T. Darland, P.A. D'Amore // *Dev. Biol.* — 2011. — V.358, N1. — P.9–22.
- Cell death as a regulator of cerebellar histogenesis and compartmentation / J. Jankowski, A. Miething, K. Schilling, J. Oberdick, S. Baader // *Cerebellum.* — 2011. — V.10, N3. — P.373–392.
- Nuclear factor I and cerebellar granule neuron development: an intrinsic-extrinsic interplay / D.L. Kilpatrick, W. Wang, R. Gronostajski, E.D. Litwack // *Cerebellum.* — 2012. — V.11, N1. — P.41–49.
- Sonic hedgehog patterning during cerebellar development / A. De Luca, V. Cerrato, E. Fuca, E. Parmigiani, A. Buffo, K. Leto // *Cell. Mol. Life Sci.* — 2016. — V.73, N2. — P.291–303.
- Nagayama S. Neuronal organization of olfactory bulb circuits / S. Nagayama, R. Homma, F. Imamura // *Front. Neural Circuits.* — 2014. — V.8. — P.1–19.
- Imai T. Construction of functional neuronal circuitry in the olfactory bulb / T. Imai // *Semin. Cell Develop. Biol.* — 2014. — V.35. — P.180–188.
- Kosaka T. Neuronal organization of the main olfactory bulb revisited / T. Kosaka, K. Kosaka // *Anat. Sci. Int.* — 2016. — V.91, N2. — P.115–127.
- Adult neurogenesis restores dopaminergic neuronal loss in the olfactory bulb / F. Lazarini, M.-M. Gabellec, C. Moigneu, F. de Chaumont, J.C. Olivo-Marin, P.M. Lledo // *J. Neurosci.* — 2014. — V.34, N43. — P.14430–14442.
- Цымбалюк В.И. *Cerebellum*, або мозочок: монографія / В.И. Цымбалюк, В.В. Медведев, Ю.Ю. Сенчик. — Вінниця: Нова Книга, 2013. — 272 с.
- Each niche has an actor: multiple stem cell niches in the preterm kidney / D. Fanni, A. Sanna, C. Gerosa, M. Puddu, G. Faa, V. Fanos // *Ital. J. Pediatr.* — 2015. — V.41. — P.1–8.
- CD146+ cells are essential for kidney vasculature development / K.J. Halt, H.E. Parssinen, S.M. Junttila, U. Saarela, S. Sims-Lucas, P. Koivunen, J. Myllyharju, S. Quaggin, I.N. Skovorodkin, S.J. Vainio // *Kidney Int.* — 2016. — V.90, N2. — P.311–324.
- Vascular growth factors play critical roles in kidney glomeruli / L. Gnudi, S. Benedetti, A.S. Woolf, D.A. Long // *Clin. Sci. (Lond.)* — 2015. — V.129, N12. — P.1225–1236.
- Eremina V. The role of VEGF-A in glomerular development

- and function / V. Eremina, S.E. Quaggina // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* — 2004. — V.13, N1. — P.9–15.
35. Reidy K.J. Cell and molecular biology of kidney development / K.J. Reidy, N.D. Rosenblum // *Semin. Nephrol.* — 2009. — V.29, N4. — P.321–337.
  36. Woolf A.S. Roles of angiopoietins in kidney development and disease / A.S. Woolf, L. Gnudi, D.A. Long // *J. Am. Soc. Nephrol.* — 2009. — V.20, N2. — P.239–244.
  37. Модель пересічення половини поперечника спинного мозку. І. Технічні, патоморфологічні та клініко-експериментальні особливості / В.І. Цимбалюк, В.В. Медведєв, В.М. Семенова, Н.Я. Грідіна, Ю.Ю. Сенчик, О.М. Величко, С. Дичко, В.В. Васлович // *Укр. нейрохірург. журн.* — 2016. — №2. — С.18–27.
  38. Цымбалюк В.І. Спинной мозг. Элегия надежды: монография / В.І. Цымбалюк, В.В. Медведєв. — Винница: Нова Книга, 2010. — 944 с.
  39. Ng M.T.L. Vascular disruption and the role of angiogenic proteins after spinal cord injury / M.T.L. Ng, A.T. Stammers, B.K. Kwon // *Transl. Stroke Res.* — 2011. — V.2, N4. — P.474–491.
  40. New vascular tissue rapidly replaces neural parenchyma and vessels destroyed by a contusion injury to the rat spinal cord / G.T.B. Casella, A. Marcillo, M.B. Bunge, P.M. Wood // *Exp. Neurol.* — 2002. — V.173, N1. — P.63–76.
  41. Stroke-evoked angiogenesis results in a transient population of microvessels / S.W. Yu, B. Friedman, Q. Cheng, P.D. Lyden // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* — 2007. — V.27, N4. — P.755–763.
  42. Effects of anti-VEGF antibody on blood-brain barrier disruption in focal cerebral ischemia / O.Z. Chi, C. Hunter, X. Liu, H.R. Weiss // *Exp. Neurol.* — 2007. — V.204, N1. — P.283–287.
  43. VEGF antagonism reduces edema formation and tissue damage after ischemia/reperfusion injury in the mouse brain / N. Van Bruggen, H. Thibodeaux, J.T. Palmer, W.P. Lee, L. Fu, B. Cairns, D. Tumas, R. Gerlai, S-P. Williams, M. van Lookeren Campagne, N. Ferrara // *J. Clin. Invest.* — 1999. — V.104, N11. — P.1613–1620.
  44. Нейрохірургія: підручник / В.І. Цимбалюк, Б.М. Лузан, І.П. Дмитерко, М.О. Марущенко, В.В. Медведєв, О.І. Троян; за ред. акад. В.І. Цимбалюка. — Вінниця: Нова Книга, 2011. — 304 с.
  45. Role and therapeutic potential of VEGF in the nervous system / C.R. De Almodovar, D. Lambrechts, M. Mazzone, P. Carmeliet // *Physiol. Rev.* — 2009. — V.89, N2. — P.607–648.
  46. Differential expression of VEGF isoforms in mouse during development and in the adult / Y-S Ng, R. Rohan, M.E. Sunday, D.E. Demello, P.A. D'Amore // *Dev. Dyn.* — 2001. — V.220, N2. — P.112–121.
  47. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF)-B and its receptor (VEGFR1) in murine heart, lung and kidney / L. Muhl, C. Moessinger, M.Z. Adzemovic, M.H. Dijkstra, I. Nilsson, M. Zeitelhofer, C.E. Hagberg, J. Huusko, A. Falkevall, S. Ylä-Herttua, U. Eriksson // *Cell. Tissue Res.* — 2016. — V.365, N1. — P.51–63.
  48. Distribution of vascular endothelial growth factor receptor-3/Flt4 mRNA in adult rat central nervous system / Y. Hou, Y-J. Shin, E.J. Han, J-S. Choi, J-M. Park, J-H. Cha, J-Y. Choi, M-Y. Lee // *J. Chem. Neuroanat.* — 2011. — V.42, N1. — P.56–64.
  49. Low-energy extracorporeal shock wave therapy promotes vascular endothelial growth factor expression and improves locomotor recovery after spinal cord injury / S. Yamaya, H. Ozawa, H. Kanno, K.N. Kishimoto, A. Sekiguchi, S. Tateda, K. Yahata, K. Ito, H. Shimokawa, E. Itoi // *J. Neurosurg.* — 2014. — V.121, N6. — P.1514–1525.
  50. Endothelial progenitor cells promote astrogliosis following spinal cord injury through Jagged1-dependent Notch signaling / N. Kamei, S-M. Kwon, M. Ishikawa, M. Ii, K. Nakanishi, K. Yamada, K. Hozumi, A. Kawamoto, M. Ochi, T. Asahara // *J. Neurotrauma.* — 2012. — V.29, N9. — P.1758–1769.
  51. Contribution of bone marrow-derived endothelial progenitor cells to neovascularization and astrogliosis following spinal cord injury / N. Kamei, S-M. Kwon, A. Kawamoto, M. Ii, M. Ishikawa, M. Ochi, T. Asahara // *J. Neurosci. Res.* — 2012. — V.90, N12. — P.2281–2292.
  52. Cytokine signaling by grafted neuroectodermal stem cells rescues motoneurons destined to die / K. Pajzer, G. Feichtinger, G. Márton, S. Sabitzer, D. Klein, H. Redl, A. Nógrádi // *Exp. Neurol.* — 2014. — V.261. — P.180–189.
  53. Grafted murine induced pluripotent stem cells prevent death of injured rat motoneurons otherwise destined to die / K. Pajzer, C. Nemes, S. Berzsenyi, K.A. Kovács, M.K. Pírity, G. Pajenda, A. Nógrádi, A. Dinnyés // *Exp. Neurol.* — 2015. — V.269. — P.188–201.
  54. Early inflammatory responses following cell grafting in the CNS trigger activation of the subventricular zone: a proposed model of sequential cellular events / J. Praet, E. Santermans, J. Daans, D. Le Blon, C. Hoornaert, H. Goossens, N. Hens, A. Van der Linden, Z. Berneman, P. Ponsaerts // *Cell Transplant.* — 2015. — V.24, N8. — P.1481–1492.
  55. Immune remodelling of stromal cell grafts in the central nervous system: therapeutic inflammation or (harmless) side-effect? / D. Le Blon, C. Hoornaert, J.R. Detrez, S. Bevers, J. Daans, H. Goossens, W.H. De Vos, Z. Berneman, P. Ponsaerts // *J. Tissue Eng. Regen. Med.* — 2016. [Epub ahead of print].
  56. Losing your nerves? Maybe it's the antibodies / B. Diamond, P.T. Huerta, P. Mina-Osorio, C. Kowal, B.T. Volpe // *Nat. Rev.* — 2009. — V.9, N6. — P.449–456.
  57. Kapadia M. Autoimmune and inflammatory mechanisms of CNS damage / M. Kapadia, B. Sakic // *Prog. Neurobiol.* — 2011. — V.95, N3. — P.301–333.
  58. Levite M. Glutamate receptor antibodies in neurological diseases: Anti-AMPA-GluR3 antibodies, Anti-NMDA-NR1 antibodies, Anti-NMDA-NR2A/B antibodies, Anti-mGluR1 antibodies or Anti-mGluR5 antibodies are present in subpopulations of patients with either: Epilepsy, Encephalitis, Cerebellar Ataxia, Systemic Lupus Erythematosus (SLE) and Neuropsychiatric SLE, Sjogren's syndrome, Schizophrenia, Mania or Stroke. These autoimmune anti-glutamate receptor antibodies can bind neurons in few brain regions, activate glutamate receptors, decrease glutamate receptor's expression, impair glutamate-induced signaling and function, activate Blood Brain Barrier endothelial cells, kill neurons, damage the brain, induce behavioral/psychiatric/cognitive abnormalities and Ataxia in animal models, and can be removed or silenced in some patients by immunotherapy / M. Levite // *J. Neural. Transm.* — 2014. — V.121, N8. — P.1029–1075.
  59. Bakpa O.D. Antibody associated epilepsies: clinical features, evidence for immunotherapies and future research questions / O.D. Bakpa, M. Reuber, S.R. Irani // *Seizure.* — 2016. — V.41. — P.26–41.
  60. Heckman C.J. Motor unit / C.J. Heckman, R.M. Enoka // *Compr. Physiol.* — 2012. — V.2, N4. — P.2629–2682.
  61. Recovery of neuronal and network excitability after spinal cord injury and implications for spasticity / J.M. D'Amico, E.G. Condliffe, K.J.B. Martins, D.J. Bennett, M.A. Gorassini // *Front. Int. Neurosci.* — 2014. — V.8, Article 36. — P.1–24.
  62. Spinal shock revisited : a four-phase model / J.F. Ditunno, J.W. Little, A. Tessler, A.S. Burns // *Spinal Cord.* — 2004. — V.42, N7. — P.383–395.
  63. Global gene expression analysis of rodent motor neurons following spinal cord injury associate molecular mechanisms with development of postinjury spasticity / J. Wienecke, A-C. Westerdahl, H. Hultborn, O. Kiehn, J. Ryge // *J. Neurophysiol.* — 2010. — V.103, N2. — P.761–778.
  64. Wang Y.-F. Central role of maladapted astrocytic plasticity in ischemic brain edema formation / Y.-F. Wang, V. Pappas // *Front. Cell. Neurosci.* — 2016. — V.10, Article 129. — P.1–8.
  65. The neuroprotective mechanism of ampicillin in a mouse model of transient forebrain ischemia / K.-E. Lee, K.-O. Cho, Y.-S. Choi, S.Y. Kim // *Korean J. Physiol. Pharmacol.* — 2016. — V.20, N2. — P.185–192.
  66. Jeitner T.M. Critical evaluation of the changes in glutamine synthetase activity in models of cerebral stroke / T.M. Jeitner, K. Battaile, A.J.L. Cooper // *Neurochem. Res.* — 2015. — V.40, N12. — P.2544–2556.
  67. Centonze D. Advances in the management of multiple sclerosis spasticity: multiple sclerosis spasticity nervous pathways / D. Centonze // *Eur. Neurol.* — 2014. — V.72, suppl.1. — P.6–8.
  68. Safety of human neural stem cell transplantation in chronic spinal cord injury / K. Piltti, D.L. Salazar, N. Uchida, B.J. Cummings, A.J. Anderson // *Stem Cell. Transl. Med.* — 2013. — V.2, N12. — P.961–974.

## References

- Filler A. A historical hypothesis of the first recorded neurosurgical operation: Isis, Osiris, Thoth, and the origin of the djed cross. *Neurosurg. Focus*. 2007;23(1):E6. doi:10.3171/FOC-07/07/E6. PMID:17961051.
- Eli [Electron resource]. Orthodox Encyclopedia [Kirill, Patriarch. Moscow and All Russia, ed.]. Moscow: Publishing house of the Moscow Patriarchate; 1998–2014. Russian, http://www.pravenc.ru/text/389273.html.
- Biblia: Knygy Svyaschennogo Pysannya Starogo ta Novogo Zavitu [Bible: Book of the Scriptures of the Old and New Testament]. Kyiv: Publishing house of the Kiev Patriarchate Ukrainian Orthodox Church; 2004. Ukrainian.
- van Middendorp JJ, Sanchez GM, BurrIDGE AL. The Edwin Smith papyrus: a clinical reappraisal of the oldest known document on spinal injuries. *Eur Spine J*. 2010;19(11):1815–23. doi:10.1007/s00586-010-1523-6.
- Ghaffari F, Naseri M, Movahhed M, Zargaran A. Spinal traumas and their treatments according to Avicenna's Canon of Medicine. *World Neurosurg*. 2015;84(1):173–7. doi:10.1016/j.wneu.2015.03.011. PMID:25772611.
- Khvedchenya SB. *Ilya Muromets — sviatoj bogatyr [Ilya Muromets — a holy warrior]*. Kiev: Geografika; 2005. Russian.
- Tsybaliuk VI, Medvediev VV. *Nejrogennye stvolovye kletky [Neural stem cells]*. Kiev: Koval'; 2005. Russian.
- Döbrössy M, Busse M, Piroth T, Rosser A, Dunnett S, Nikkhah G. Neurorehabilitation with neural transplantation. *Neurorehabil. Neural Repair*. 2010;24(8):692–701. doi:10.1177/1545968310363586. PMID:20647502.
- Myers SA, Bankston AN, Burke DA, Ohri SS, Whittemore SR. Does the preclinical evidence for functional remyelination following engraftment into the injured spinal cord support progression to clinical trials? *Exp Neurol*. 2016;283(pt.B):560–72. doi:10.1016/j.expneurol.2016.04.009. PMID:27085393.
- Dobkin BH. Recommendations for publishing case studies of cell transplantation for spinal cord injury. *Neurorehabil. Neural Repair*. 2010;24(8):687–91. doi:10.1177/1545968310377508. PMID:20921329.
- Assunção-Silva RC, Gomes ED, Sousa N, Silva NA, Salgado AJ. Hydrogels and cell based therapies in spinal cord injury regeneration. *Stem Cells International*. 2015;2015:1–24. doi:10.1155/2015/948040. PMID:26124844.
- Siebert JR, Eade AM, Osterhout DJ. Biomaterial approaches to enhancing neurorestoration after spinal cord injury: strategies for overcoming inherent biological obstacles. *BioMed Res. Int*. 2015;2015:1–20. doi:10.1155/2015/752572. PMID:26491685.
- Tsintou M, Dalamagkas K, Seifalian AM. Advances in regenerative therapies for spinal cord injury: a biomaterials approach. *Neural Regen. Res*. 2015;10(5):726–42. doi:10.4103/1673-5374.156966. PMID:26109946.
- Volpato FZ, Führmann T, Migliaresi C, Hutmacher DW, Dalton PD. Using extracellular matrix for regenerative medicine in the spinal cord. *Biomaterials*. 2013;34(21):4945–55. doi:10.1016/j.biomaterials.2013.03.057. PMID:3597407.
- Steeves JD. Bench to bedside: challenges of clinical translation. *Prog. Brain Res*. 2015;218:227–39. doi:10.1016/bs.pbr.2014.12.008. PMID:25890140.
- Chang JC, Leung M, Gokozan HN, Gygli PE, Catacutan FP, Czeisler C, Otero JJ. Mitotic events in cerebellar granule progenitor cells that expand cerebellar surface area are critical for normal cerebellar cortical lamination in mice. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2015;74(3):261–72. doi:10.1097/NEN.000000000000171. PMID:25668568.
- Marzban H., Del Bigio MR, Alizadeh J, Ghavami S, Zachariah RM, Rastegar M. Cellular commitment in the developing cerebellum. *Fron. Cel. Neurosci*. 2015;8:1–26. doi:10.3389/fncel.2014.00450. PMID:25628535.
- Ma M, Wu W, Li Q, Li J, Sheng Z, Shi J, Zhang M, Yang H, Wang Z, Sun R, Fei J. N-myc is a key switch regulating the proliferation cycle of postnatal cerebellar granule cell progenitors. *Sci Rep* 2015;5:1–13. doi:10.1038/srep12740. PMID:2638256.
- Leffler SR, Legué E, Aristizábal O, Joyner AL, Peskin CS, Turnbull DH. A mathematical model of granule cell generation during mouse cerebellum development. *Bull Math Biol*. 2016;78(5):859–78. doi:10.1007/s11538-016-0163-3. PMID:27125657.
- Hoshino M. Neuronal subtype specification in the cerebellum and dorsal hindbrain. *Dev Growth Differ*. 2012;54(3):317–26. doi:10.1111/j.1440-169X.2012.01330.x. PMID:22404503.
- Sentilhes L, Michel C, Lecourtois M, Catteau J, Bourgeois P, Laudenbach V, Marret S, Laquerriere A. Vascular endothelial growth factor and its high-affinity receptor (VEGFR-2) are highly expressed in the human forebrain and cerebellum during development. *J Neuropathol. Exp Neurol*. 2010;69(2):111–28. doi:10.1097/NEN.0b013e3181ccc9a9. PMID:20084021.
- Darland DC, Cain JT, Berosik MA, Cain JT, Berosik MA, Saint-Geniez M, Odens PW, Schaubhut GJ, Frisch S, Stemmer-Rachamimov A, Darland T, D'Amore PA. Vascular endothelial growth factor (VEGF) isoform regulation of early forebrain development. *Dev Biol*. 2011;358(1):9–22. doi:10.1016/j.ydbio.2011.06.045. PMID:21803034.
- Jankowski J, Miething A, Schilling K, Oberdick J, Baader S. Cell death as a regulator of cerebellar histogenesis and compartmentation. *Cerebellum*. 2011;10(3): 373–92. doi:10.1007/s12311-010-0222-5. PMID:20941559.
- Kilpatrick DL, Wang W, Gronostajski R, Litwack ED. Nuclear factor I and cerebellar granule neuron development: an intrinsic-extrinsic interplay. *Cerebellum*. 2012;11(1):41–9. doi:10.1007/s12311-010-0227-0. PMID:22548229.
- De Luca A, Cerrato V, Fuca E, Parmigiani E, Buffo A, Leto K. Sonic hedgehog patterning during cerebellar development. *Cel. Mol Life Sci*. 2016;73(2):291–303. doi:10.1007/s00018-015-2065-1. PMID:26499980.
- Nagayama S, Homma R, Imamura F. Neuronal organization of olfactory bulb circuits. *Front Neural Circuits*. 2014;8:1–19. doi:10.3389/fncir.2014.00098. PMID:25232305.
- Imai T. Construction of functional neuronal circuitry in the olfactory bulb. *Semin Cell Develop Biol*. 2014;35:180–8. doi:10.1016/j.semcdb.2014.07.012. PMID:25084319.
- Kosaka T, Kosaka K. Neuronal organization of the main olfactory bulb revisited. *Anat Ssi Int*. 2016;91(2):115–27. doi:10.1007/s12565-015-0309-7. PMID:26514846.
- Lazarini F, Gabellec M-M, Moigneu C, de Chaumont F, Olivo-Marin JC, Lledo PM. Adult neurogenesis restores dopaminergic neuronal loss in the olfactory bulb. *J Neurosci*. 2014;34(43):14430–42. doi:10.1523/JNEUROSCI.5366-13.2014. PMID:25339754.
- Tsybaliuk VI, Medvediev VV. *Ce.re.bellum, abo mozochok [Cerebellum]*. Vinnitsa: Nova Knyga; 2010. Ukrainian.
- Fanni D, Sanna A, Gerosa C, Puddu M, Faa G, Fanos V. Each niche has an actor: multiple stem cell niches in the preterm kidney. *Ital J Pediatr*. 2015;41:1–8. doi:10.1186/s13052-015-0187-6. PMID:26472160.
- Halt KJ, Parssinen HE, Junttila SM, Saarela U, Sims-Lucas S, Koivunen P, Myllyharju J, Quaggin S, Skovorodkin IN, Vainio SJ. CD146+ cells are essential for kidney vasculature development. *Kidney Int*. 2016;90(2):311–24. doi:10.1016/j.kint.2016.02.021. PMID:27165833.
- Gnudi L, Benedetti S, Woolf AS, Long DA. Vascular growth factors play critical roles in kidney glomeruli. *Clin Sc. (Lond)*. 2015;129(12):1225–36. doi:10.1042/CS20150403. PMID:26561594.
- Eremina V, Quaggina SE. The role of VEGF-A in glomerular development and function. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2004;13(1):9–15. PMID:15090854.
- Reidy KJ, Rosenblum ND. Cell and molecular biology of kidney development. *Semin Nephrol*. 2009;29(4):321–37. doi:10.1016/j.semnephrol.2009.03.009. PMID:19615554.
- Woolf AS, Gnudi L, Long DA. Roles of angiopoietins in kidney development and disease. *J Am Soc Nephrol*. 2009;20(2):239–44. doi:10.1681/ASN.2008020243. PMID:18799719.
- Tsybaliuk V, Medvediev V, Semenova V, Grydina N, Senchuk Yu, Velychko O, Dychko S, Vaslovych V. [The model of lateral spinal cord hemisection. Part I. The technical, pathomorphological, clinical and experimental peculiarities]. *Ukrainian Neurosurgical Journal*. 2016; (2):18–27.
- Tsybaliuk VI, Medvediev VV. *Spinnoj mozg. Elegia nadezhdy [Spinal cord. Elegy of hope]*. Vinnitsa: Nova Knyga; 2010. Russian.
- Ng MTL, Stammers AT, Kwon BK. Vascular disruption and the role of angiogenic proteins after spinal cord injury. *Trans. Stroke Res*. 2011;2(4):474–91. doi:10.1007/s12975-011-0109-x. PMID:2448202.
- Casella GTB, Marcillo A, Bunge MB, Wood PM. New vascular tissue rapidly replaces neural parenchyma and vessels

- destroyed by a contusion injury to the rat spinal cord. *Exp Neurol.* 2002;173(1):63-76. doi:10.1006/exnr.2001.7827. PMID:11771939.
41. Yu SW, Friedman B, Cheng Q, Lyden PD. Stroke-evoked angiogenesis results in a transient population of microvessels. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2007;27(4):755-63. doi:10.1038/sj.jcbfm.9600378. PMID:16883352.
  42. Chi OZ, Hunter C, Liu X, Weiss HR. Effects of anti-VEGF antibody on blood-brain barrier disruption in focal cerebral ischemia. *Exp Neurol.* 2007;204(1):283-87. doi:10.1016/j.expneurol.2006.11.001. PMID:17188266.
  43. Van Bruggen N, Thibodeaux H, Palmer JT, Lee WP, Fu L, Cairns B, Tumas D, Gerlai R, Williams S-P, van Lookeren Campagne M, Ferrara N. VEGF antagonism reduces edema formation and tissue damage after ischemia/reperfusion injury in the mouse brain. *J Clin Invest.* 1999;104(11):1613-20. doi:10.1172/JCI8218. PMID:10587525.
  44. Tsybaliuk VI, Luzan BM, Dmyterko IP, Marushchenko MO, Medvediev VV, Troyan OI. *Neirokhirurgia: Pidruchnyk / Tsybaliuk ed. [Neurosurgery: Handbook].* Vinnitsa: Nova Knyga; 2010. Ukrainian.
  45. De Almodovar CR, Lambrechts D, Mazzone M, Carmeliet P. Role and therapeutic potential of VEGF in the nervous system. *Physiol Rev.* 2009; 89(2):607-48. doi:10.1152/physrev.00031.2008. PMID:19342615.
  46. Ng Y-S, Rohan R, Sunday ME, Demello DE, D'Amore PA. Differential expression of VEGF isoforms in mouse during development and in the adult. *Dev. Dyn.* 2001;220(2):112-21. doi:10.1002/1097-0177(2000)9999:9999<::AID-DVDY1093>3.0.CO;2-D. PMID:11169844.
  47. Muhl L, Moessinger C, Adzemovic MZ, Dijkstra MH, Nilsson I, Zeitelhofer M, Hagberg CE, Huusko J, Falkevall A, Ylä-Herttuala S, Eriksson U. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF)-B and its receptor (VEGFR1) in murine heart, lung and kidney. *Cel. Tissue Res.* 2016;365(1):51-63. doi:10.1007/s00441-016-2377-y. PMID:26928042.
  48. Hou Y, Shin Y-J, Han EJ, Choi J-S, Park J-M, Cha J-H, Choi J-Y, Lee M-Y. Distribution of vascular endothelial growth factor receptor-3/Flt4 mRNA in adult rat central nervous system. *J Chem Neuroanat.* 2011;42(1):56-64. doi:10.1016/j.jchemneu.2011.06.001. PMID:21703344.
  49. Yamaya S, Ozawa H, Kanno H, Kishimoto KN, Sekiguchi A, Tateda S, Yahata K, Ito K, Shimokawa H, Itoi E. Low-energy extracorporeal shock wave therapy promotes vascular endothelial growth factor expression and improves locomotor recovery after spinal cord injury. *Neurosurg.* 2014;121(6):1514-25. doi:10.3171/2014.8.JNS132562. PMID:25280090.
  50. Kamei N, Kwon S-M, Ishikawa M, Ii M, Nakanishi K, Yamada K, Hozumi K, Kawamoto A, Ochi M, Asahara T. Endothelial progenitor cells promote astrogliosis following spinal cord injury through Jagged1-dependent Notch signaling. *J Neurotrauma.* 2012;29(9):1758-69. doi:10.1089/neu.2011.2139. PMID:22452482.
  51. Kamei N, Kwon S-M, Kawamoto A, Ii M, Ishikawa M, Ochi M, Asahara T. Contribution of bone marrow-derived endothelial progenitor cells to neovascularization and astrogliosis following spinal cord injury. *J Neurosci. Res.* 2012;90(12):2281-92. doi:10.1002/jnr.23113. PMID:22996658.
  52. Pajér K, Feichtinger G, Márton G, Sabitzer S, Klein D, Redl H, Nográdi A. Cytokine signaling by grafted neuroectodermal stem cells rescues motoneurons destined to die. *Exp Neurol.* 2014;261:180-9. doi:10.1016/j.expneurol.2014.05.026. PMID:24907401.
  53. Pajér K, Nemes C, Berzsényi S, Kovács KA, Pírity MK, Pajenda G, Nográdi A, Dinnyés A. Grafted murine induced pluripotent stem cells prevent death of injured rat motoneurons otherwise destined to die. *Exp. Neurol.* 2015;269:188-201. doi:10.1016/j.expneurol.2015.03.031. PMID:25889458.
  54. Praet J, Santermans E, Daans J, Le Blon D, Hoornaert C, Goossens H, Hens N, Van der Linden A, Berneman Z, Ponsaerts P. Early inflammatory responses following cell grafting in the CNS trigger activation of the subventricular zone: a proposed model of sequential cellular events. *Cell Transplant.* 2015;24(8):1481-92. doi:10.3727/096368914X68280. PMID:25197881.
  55. Le Blon D, Hoornaert C, Detrez JR, Bevers S, Daans J, Goossens H, De Vos WH, Berneman Z, Ponsaerts P. Immune remodelling of stromal cell grafts in the central nervous system: therapeutic inflammation or (harmless) side-effect? *J Tissue Eng Regen Med.* 2016 [Epub ahead of print]. doi:10.1002/term.2188. PMID:27320821.
  56. Diamond B, Huerta PT, Mina-Osorio P, Kowal C, Volpe BT. Losing your nerves? Maybe it's the antibodies. *Nature Reviews.* 2009;9(6):449-56. doi:10.1038/nri2529. PMID:19424277.
  57. Kapadia M, Sakic B. Autoimmune and inflammatory mechanisms of CNS damage. *Prog Neurobiol.* 2011;95(3):301-33. doi:10.1016/j.pneurobio.2011.08.008. PMID:21889967.
  58. Levite M. Glutamate receptor antibodies in neurological diseases: Anti-AMPA-GluR3 antibodies, Anti-NMDA-NR1 antibodies, Anti-NMDA-NR2A/B antibodies, Anti-mGluR1 antibodies or Anti-mGluR5 antibodies are present in subpopulations of patients with either: Epilepsy, Encephalitis, Cerebellar Ataxia, Systemic Lupus Erythematosus (SLE) and Neuropsychiatric SLE, Sjogren's syndrome, Schizophrenia, Mania or Stroke. These autoimmune anti-glutamate receptor antibodies can bind neurons in few brain regions, activate glutamate receptors, decrease glutamate receptor's expression, impair glutamate-induced signaling and function, activate Blood Brain Barrier endothelial cells, kill neurons, damage the brain, induce behavioral/psychiatric/cognitive abnormalities and Ataxia in animal models, and can be removed or silenced in some patients by immunotherapy. *J Neural Transm.* 2014;121(8):1029-75. doi:10.1007/s00702-014-1193-3. PMID:25081016.
  59. Bakpa OD, Reuber M, Irani SR. Antibody-associated epilepsies: clinical features, evidence for immunotherapies and future research questions. *Seizure.* 2016;41:26-41. doi:10.1016/j.seizure.2016.07.002. PMID:27450643.
  60. Heckman CJ, Enoka RM. Motor unit. *Compr Physiol.* 2012;2(4):2629-82. doi:10.1002/cphy.c100087. PMID:23720261.
  61. D'Amico JM, Condliffe EG, Martins KJB, Bennett DJ, Gorassini MA. Recovery of neuronal and network excitability after spinal cord injury and implications for spasticity. *Front Int Neurosci.* 2014;8(Art.36):1-24. doi:10.3389/fnint.2014.00036. PMID:24860447.
  62. Ditunno JF, Little JW, Tessler A, Burns AS. Spinal shock revisited : a four-phase model. *Spinal Cord.* 2004;42(7):383-95. doi:10.1038/sj.sc.3101603. PMID:15037862.
  63. Wienecke J, Westerdahl A-C, Hultborn H, Kiehn O, Ryge J. Global gene expression analysis of rodent motor neurons following spinal cord injury associate molecular mechanisms with development of postinjury spasticity. *J Neurophysiol.* 2010;103(2):761-78. doi:10.1152/jn.00609.2009. PMID:19939961.
  64. Wang Y-F, Parpura V. Central role of maladapted astrocytic plasticity in ischemic brain edema formation. *Front Cell Neurosci.* 2016;10(Art.129):1-8. doi:10.3389/fncel.2016.00129. PMID:27242440.
  65. Lee K-E, Cho K-O, Choi Y-S, Kim SY. The neuroprotective mechanism of ampicillin in a mouse model of transient forebrain ischemia. *Korean J. Physiol Pharmacol.* 2016;20(2):185-92. doi:10.4196/kjpp.2016.20.2.185. PMID:26937215.
  66. Jeitner TM, Battaile K, Cooper AJL. Critical evaluation of the changes in glutamine synthetase activity in models of cerebral stroke. *Neurochem Res.* 2015;40(12):2544-56. doi:10.1007/s11064-015-1667-1. PMID:26233464.
  67. Centonze D. Advances in the management of multiple sclerosis spasticity: multiple sclerosis spasticity nervous pathways. *Eur Neurol.* 2014;72(suppl.1):6-8. doi:10.1159/000367615. PMID:25278116.
  68. Piiltti K, Salazar DL, Uchida N, Cummings BJ, Anderson AJ. Safety of human neural stem cell transplantation in chronic spinal cord injury. *Stem Cell Transl Med.* 2013;2(12):961-74. doi:10.5966/sctm.2013-0064. PMID:24191264.