

In vivo та in vitro моделі травматичних пошкоджень спинного мозку



Рибачук О. А.^{1,2}, Архипчук І. В.^{1,3}, Лазаренко Ю. А.^{1,4}

¹Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця Національної академії наук України, Київ, Україна

²ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини Національної академії медичних наук України», Київ, Україна

³Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

⁴Національний університет «Києво-Могилянська академія», Київ, Україна

e-mail: rbk@biph.kiev.ua

РЕЗЮМЕ

В останні роки активно зростає інтерес до дослідження механізмів регенерації пошкоджень нервової тканини, зокрема й спинного мозку, оскільки його травми є досить поширеними внаслідок дорожньо-транспортних пригод, виробничого травматизму та бойових дій. Пошкодження спинного мозку призводять до втрати функціональної активності тіла нижче місця ураження, що впливає на здатність людини до самообслуговування та суттєво знижує її працездатність. Наслідки спинномозкової травми щорічно наносять значні соціальні та економічні збитки в усіх країнах світу.

Розробка нових методів лікування патології центральної нервової системи потребує обов'язкової попередньої апробації їх ефективності в експериментах *in vitro* та *in vivo*. Саме тому пошук та створення оптимальної комплексної моделі травми спинного мозку на тваринах, яка б максимально відповідала цілісній картині пошкодження, характерного реальним умовам у людей, є актуальним завданням сучасної нейрофізіології. Такі моделі можуть бути використані, в першу чергу, для більш детального з'ясування усіх ланок патогенезу пошкодження нервової тканини та дослідження її власного відновного потенціалу за рахунок ендогенних репараційних механізмів. Крім того, експериментальні моделі дозволяють оцінити безпеку та спрогнозувати ефективність різноманітних терапевтичних підходів при травмах спинного мозку.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: травма спинного мозку; моделювання пошкодження нервової тканини; гліальний рубець; регенерація

Наслідки спинномозкової травми щорічно спричиняють суттєві як соціальні, так і економічні збитки в усіх країнах, в тому числі і в Україні. Спінальна травма у більшості випадків супроводжується значною інвалідизацією хворого, що створює додаткове навантаження на бюджет держави. Серед таких пацієнтів 80 % становлять чоловіки працездатного віку. Крім виробничого та побутового травматизму кількість таких випадків неухильно зростає і в умовах військових дій.

Велика увага серед наукової спільноти, що працює в галузі нейробіології та нейрофізіології, зосереджена на пошуку максимально адекватної і комплексної моделі пошкодження спинного мозку (СМ), подібної до відповідної хребтково-спинномозкової травми у людей. Проте моделі комплексних пошкоджень хребта та спинного мозку супроводжуються високою смертністю серед тварин. В зв'язку з цим розробляють моделі, які відтворюють окремі ланки патогенезу травми СМ, хоча її патогенетичні стадії все одно залишаються складними і багатфакторними процесами. Правильний підбір модельної системи для встановлення молекулярних та клітинних механізмів пошкодження спинного мозку буде запорукою кращого розуміння даної проблеми в клініці.

Досить часто наслідки спинномозкової травми не можуть бути повністю подолані за рахунок ендогенного регенеративного потенціалу нервової тканини і, розвиваючись у часі, вони проявляються важкими ускладненнями через роки після травмування [1, 2]. Тому вибір адекватної моделі травми спинного мозку в експерименті на тваринах дасть можливість більш детально проаналізувати наслідки травмування та підібрати оптимальні варіанти покращення стану пошкодженої нервової тканини.

Першочерговим завданням при лікуванні даного патологічного процесу є створення умов для регенераційного росту травмованих нервових волокон через зону пошкодження спинного мозку чи спинномозкового нерву. Вирішення цього завдання можливе засобами тканинної нейроінженерії із залученням технології заміщення природного тканинного середовища синтетичними матриксами, стимуляції і підтримки регенераційного росту аксонів та їх мієлінізації.

В даному огляді ми системно розглядаємо різні варіанти травмування спинного мозку у гризунів, які є найбільш доступними моделями для дослідження та найчастіше застосовуються в експериментах. Паралельно аналізуємо недоліки і переваги таких моделей.

Ми зосередили свою увагу на травмах саме грудного відділу спинного мозку, оскільки вони найбільш розповсюджені у дослідженнях і є менш смертельними для лабораторних тварин [3]. Грудний відділ є більш доступним для моделювання пошкодження, ніж поперековий, в зв'язку з тим, що має більший об'єм епідурального простору. Це, в свою чергу, робить травму легшою для виконання, а також стає можливим дослідження процесів функціонального відновлення нервової тканини.

З патогенетичної точки зору при травмі спинного мозку виділяють первинні пошкодуючі фактори, вторинні патологічні реакції, а також хронічні процеси. Найбільш вагомим первинним фактором пошкодження СМ при механічній травмі є його компресія зміщеними частинами хребців. Некроз центральної сірої речовини виникає вже через чотири години після травми. Дегенерація нервових клітин та їх відростків виявляється біля 8-ї години після пошкодження, а некротичні зміни в білій речовині виникають на 14-16-ту годину [4, 5].

Важливим моментом в патогенезі змін в СМ після механічної травми є демієлінізація пошкоджених волокон білої речовини. Існує декілька поглядів на даний патологічний процес. Так, первинне механічне ураження мієлінової оболонки обумовлює аутоімунні реакції з формуванням антитіл до білків мієліну, а також індуцію вторинного пошкодження з демієлінізацією неушкоджених нейронів [6]. З іншого боку, в перші 2-3 доби після травми виникає некроз, обумовлений первинним пошкодженням, набряком та ішемією СМ. Через 8-10 діб після травми в зоні пошкодження відмічають не лише некроз, а й зникнення тигроїдної субстанції, фрагментацію нейрофібрил, хроматоліз та периферичну дисплазію ядер в збережених нейронах [7-10]. Вже на 2-3-тю добу після травми в зоні ураження спостерігають ознаки неангіогенезу, гіпертрофію і гіперплазію всіх типів глії, що співпадає з формуванням гліального рубця, який під кінець 1-2-го місяця заміщується сполучнотканним рубцем [11].

Порушення електричної провідності нервових волокон і зміна концентрації іонів в нервових клітинах і міжклітинному просторі відмічають вже через декілька хвилин після травми, що є однією із причин спінального шоку. При цьому зростає внутрішньоклітинна концентрація іонів Na^+ і Ca^{2+} , а також і концентрація K^+ в позаклітинному просторі [12].

Локальний крововилив, зміна тонуусу стінок судин в зоні травми є основними причинами ішемії і набряку спинного мозку. Ішемія пошкодженої ділянки СМ може бути первинною і вторинною. Первинна ішемія виникає внаслідок порушення кровообігу при пошкодженні магістральних артерій, вторинна – внаслідок вазоконстрикції під дією ейкозаноїдів і продуктів цитолізу, а також збільшення набряку тканини. Морфологічним проявом даного пошкодження є формування ішемічної тіні та пенумбри. Ішемічна тінь – це тіла нейронів, що померли внаслідок ішемії та формують центральну зону (ядро) ішемії. Ішемічна напівтінь (пенумбра) – це нейрони навколо осередку пошкодження, в яких наявні лише функціональні, але не структурні зміни. Такі нейрони гинуть шляхом апоптозу на межі ішемічного ядра внаслідок того, що не відновлюється нормальне кровопостачання зони травми. Через 24 год після травми в тканині СМ спостерігають появу нейтрофільних гранулоцитів, в подальшому їх кількість значно зменшується. Кількість макрофагів і лімфоцитів в зоні забиття збільшується на 2-3-тю добу після травмування. Макрофаги, клітини мікроглії, пошкоджені олігодендроцити, нейрони і астроцити є джерелом вільних радикалів, які утворюються в процесі перекисного окислення ліпідів, тромбосана $A2$ і простагландинів, а також прозапальних цитокінів [12, 13]. Вчасне та комплексне блокування патологічних молекулярних механізмів, що лежать в основі цих процесів, може зменшити пошкодження спинного мозку, тяжкість ранніх проявів і віддалених наслідків травми.

На відміну від інших хребетних, регенераторний потенціал ЦНС ссавців є досить обмеженим, проте їм притаманне так зване спонтанне відновлення після травмування спинного мозку – запуск ендогенних регенеративних процесів, що включає в себе активацію астро-

цитів, диференціацію епендимальних клітин у клітини-прекурсори, мезенхімальні-епітеліальні взаємодії, підвищення експресії компонентів міжклітинного простору та мієлогенез реактивних олігодендроцитів і Шваннівських клітин. Також відразу після травмування, а саме під час ранніх стадій запального процесу, розпочинається відновлення судинного русла. Окрім цього, втрата аксонів нейронами (аксотомія) запускає активацію регенеративної програми виживання нейронів, що призводить до посилення експресії генів білків, асоційованих із ростом невритів, цитоскелетних білків, таких як β -тубулін III, периферин та білки нейрофіламентів – NF-L, NF-M, NF-H. Для росту у правильному напрямку аксонів реактивні клітини з оточення нейрона (здебільшого астроцити) виділяють цитокіни (IL-1), фактори росту (NGF, BDNF, NT-3, NT-4, NT-5), фактори, що покращують виживання клітин (CNTF, FGFs), фактори направлення конусу росту (netrin-1, netrin-2, netrin-4, netrin-G1) тощо. Відбувається інтернейральне проростання, реорганізація мережі нервових контактів, реактивний синаптогенез, модифікується характер розгалуження дендритів, що забезпечує часткове відновлення та компенсацію втрачених фізіологічних функцій ураженої ділянки спинного мозку [14].

Проте усі ці ендогенні регенеративні процеси інгібуються у разі відсутності достатньої кількості компонентів та порушення складу міжклітинної речовини. У такому випадку клітинам бракує сигналів направленої міграції та організації локальних регенеративних процесів. Ця особливість притаманна не тільки нервовій тканині, успіх відновлення усіх пошкоджених тканин та органів залежить від присутності факторів міжклітинного оточення. У разі збереження компонентів інтерстицію відбувається відновлення анатомічно і гістологічно нормальної тканинної структури. Якщо ж було втрачено значну частину міжклітинної речовини, на місці ушкодження формується рубець [15, 16].

Міжклітинна речовина складається із мережі зчеплених макромолекул, які формують високо гідратовану гелеподібну структуру, що дає не лише фізичну опору клітинам нервової тканини, але і забезпечує функціональну цілісність органу. Завдяки міжклітинній речовині контролюється характер розповсюдження цілого ряду сигнальних молекул та факторів, необхідних як для нормального функціонування тканини, так і для регенерації у разі пошкодження. Розуміння цих процесів сприяло розробці двох методів відновної нейрохірургії – замісної клітинної трансплантації та імплантації штучних субстратів-носіїв для активації розмноження і міграції власних клітин [17].

МОДЕЛІ ТРАВМАТИЧНИХ ПОШКОДЖЕНЬ СПИННОГО МОЗКУ *IN VIVO*

У більшості досліджень на тваринах з оцінки відновлення рухової функції після різних типів пошкодження спинного мозку використовують щурів, котів та мишей. Загалом, в експериментах з моделюванням травми СМ *in vivo* переважно використовують гризунів.

Змодельовані травми спинного мозку можна поділити на кілька типів:

- повне пересічення, або видалення сегменту СМ;
- неповне пересічення, або гемісекція сегменту СМ;
- ішемія СМ;
- фотохімічно індуковані травми СМ;
- різні варіанти компресії і контузії СМ.

Повне пересічення, або видалення сегменту спинного мозку.

Дану модель найчастіше виконують на дорослих щурах [18-20]. З метою встановлення відмінностей процесів регенерації між новонародженими і дорослими тваринами використовують також щуренят 5-денного віку [21]. Таку ж саму операцію можна проводити і на мишах: найчастіше використовують статевозрілих самок, в зв'язку з тим, що після травмування СМ значною мірою порушуються функції сечовидільної системи, а у самок простіше катетеризувати сечовий міхур, ніж у самців [22, 23].

Повне пересічення СМ моделюється на рівні грудного відділу хребта після попередньої білатеральної ламінектомії хребців. При простому пересіченні роблять один надріз відповідного сегмента спинного мозку, а при видаленні сегмента повністю – два надрізи вище та нижче відповідного сегмента. Після нанесення травми виконують гемостаз в рані та пошарово її зашивають [18-24]. Перевагами цього методу є легка відтворюваність пошкодження; виключення спонтанної нейральної пластичності, що суттєво впливає на регенерацію; для виконання втручання потрібен невеликий набір інструментів. Серед недоліків слід відмітити те, що дана модель травми є важкою для тварин, призводить до високої смертності, викликає дисфункцію сечовидільного тракту, що сприяє подальшому ретроградному його інфікуванню. Після операції тварини потребують регідратації та введення знеболювальних засобів, а також виведення сечі через катетер. Незважаючи на належний догляд, часто можуть виникати ускладнення, в першу чергу, в роботі сечовидільної системи, через які тварину потрібно піддати евтаназії. Іноді спостерігається раптова смерть, навіть після тривалого післяопераційного періоду. Вважають, що це може бути пов'язано з дисрефлексією на рівні вегетативної нервової системи, яка відповідає за роботу серця.

Неповне пересічення, або гемісекція спинного мозку. Методика моделювання даної травми, загалом, схожа з виконанням моделі повного пересічення, проте є деякі відмінності. Після ламінектомії (зазвичай, вона одностороння) необхідно знайти медіальну дорсальну артерію і відшарувати половину СМ, не пошкоджуючи її, за допомогою, наприклад, тонкої злипки, або скальпеля. Потім роблять один або два надрізи (зверху і знизу одного сегмента), в залежності від виду травми, яку моделюють – одиничний розрив, чи множинні розриви [25-32].

Перевагами цього методу є те, що можна порівняти функціонуючу і нефункціонуючу кінцівки, а також встановити, коли при регенерації з'являється взаємна координація між задніми кінцівками, або між пошкодженими задньою і передньою кінцівками на іпсилатеральній та контралатеральній стороні. Дана модель травми не є настільки тяжкою, як повне пересічення, оскільки не відбувається пошкодження спінальних артерій, і, як наслідок, немає небажаних крововиливів в спинномозковий канал. Також у тварин відсутня паралегія обох задніх кінцівок та не порушується робота сечовидільної системи. Дана модель більш точно відтворює реальні пошкодження СМ у людини, ніж повне пересічення, або видалення сегменту. Недоліками моделі травми спинного мозку шляхом неповного пересічення є те, що частина моторних трактів знаходяться медіально і під час нанесення травми може залишитися невелика група неушкоджених волокон, які спотворюють результати відновлення в динаміці.

Ішемічне пошкодження спинного мозку. Не менш поширеною моделлю пошкодження спинного мозку є його ішемія. Більшість досліджень із застосуванням моделі ішемії проводились на мишах віком 8-12 тижнів [33-35]. Через верхню медіастіномію в ділянці між лівою загальною сонною артерією і підключичною артерією отримують доступ до дуги аорти та проводять її оклюзію за допомогою судинних затискачів. Перевагами цього методу є те, що така травма відповідає наявним у людей ішемічним пошкодженням СМ, наприклад, після операцій з пластики торакоабдомінальної аневризми аорти, або деяких патологічних станів, таких як системна гіпотензія, гострі анемії, порушення кровообігу в СМ тощо. До недоліків такої травми відносять складну відтворюваність, особливо, якщо враховувати розміри самих мишей та відповідних артерій [33].

Фотохімічно-індуковані пошкодження спинного мозку. Опромінення дорсальної поверхні стовбура СМ з довжиною хвилі 560 нм викликає збудження введеного перед цим в судинне русло барвника бенгальського рожевого (Rose Bengal). Фотохімічна реакція призводить до сповільнення кровотоку в судинах, і, як наслідок, утворення тромбів, що супроводжується локальною ішемією із загибеллю

нейронів в зоні пошкодження та реактивним астрогліозом з подальшим порушенням моторної функції СМ. Дана модель також може бути використана для дослідження процесів розвитку посттравматичної сирингомієлії – хронічного захворювання, що характеризується утворенням порожнин у спинному мозку [36]. Перевагами цього методу, на нашу думку, є те, що фотохімічноіндуковане пошкодження набагато простіше відтворити, ніж, наприклад, ішемію шляхом оклюзії аорти. Джерелом опромінення може виступати лампа з флуоресцентного мікроскопа з відповідним фільтром, металогаалогенна лампа із заданою довжиною хвилі або лазер з визначеною інтенсивністю випромінювання. Ще однією перевагою цієї моделі є можливість виставляти апертуру опромінення, регулюючи величину місця ураження, на протипагу перетисканню магістральних судин, коли повністю уражується дистальна частина СМ нижче місця оклюзії. Також така травма не призводить до високої смертності тварин і при цьому зберігається можливість тривало спостерігати за розвитком процесів запалення та регенерації в нервовій тканині [37, 38]. Недоліками методу є те, що дана модель не відображає повноти пошкодження тканин, характерної реальним умовам, зокрема, відсутня чітка анатомічна ішемічна тінь та напівтінь.

Різні варіанти компресії та контузії спинного мозку. Існує багато методів компресії СМ, які відрізняються за складністю моделювання. В найпростішому варіанті у ролі травмуючого агента виступає вантаж, покладений на поверхню відкритого органу, який своєю вагою спричинює тиск на нервову тканину [39]. Такі пошкодження легко відтворювати, проте дана модель не досить надійна. Ступінь важкості травми може залежати від різних чинників: від місця розташування вантажу, оскільки тварини мають певну форму тіла, яка не відповідає параметрам плоскої поверхні; від частоти дихальних рухів, які можуть зміщувати його розташування тощо. Про значну варіабельність даного варіанту пошкодження між тваринами свідчить те, що не завжди можна досягти повного паралічу кінцівок.

Серед описаних в літературі моделей компресії застосовують також стиснення СМ протягом певного часу пінцетом або судинними кліпсами. Зокрема, утримання такої кліпси протягом однієї хвилини є достатнім для щурів, щоб викликати у них паралегію [41-43]. Основними перевагами цього методу, перш за все, є простота і надійність виконання травми. Серед головних недоліків є те, що деякі провідні шляхи СМ можуть залишитись інтактними, наприклад, якщо не будуть захоплені дорсальні спінальні артерії. Також може зберегтись частина моторних волокон, які знаходяться ближче до серединної лінії СМ [40]. Також при використанні пінцету або судинних кліпс може коливатись час стиснення тканин, що впливає на ступінь важкості травми. Тому для більшої точності та стандартизації моделі використовують спеціальний механічний пристрій, який дозволяє виконувати дозоване за силою та лімітоване за тривалістю стиснення тканини.

Наступна модель компресії виконується за допомогою катетера з еластичним балоном, введеного в спинномозковий канал вздовж спинного мозку. При наповненні рідиною балон розширюється та притискає спинний мозок до хребців, спричинюючи його компресійне пошкодження. Особливістю цього методу є те, що дана модель дозволяє дозувати ступінь пошкодження за рахунок регулювання об'єму рідини, яка подається у балон за певний час, та швидкості її видалення [44-47].

Вперше описаною найпростішою моделлю контузії спинного мозку була модель, розроблена Алланом у 1911 році на собаках, яка передбачала удар вантажем певної маси по дорсальній поверхні СМ [48]. Згодом ця техніка була визнана стандартною моделлю експериментальної контузії СМ, за допомогою якої можна досягти різного ступеня важкості пошкодження нервової тканини, залежно від розмірів експериментальних тварин та використаного обладнання. Основними перевагами даного методу є його відносна простота та дешевизна. До недоліків слід віднести можливі помилки в розрахунках при нанесенні травми, які можуть призвести до надмірного

супутнього пошкодження оточуючих тканин та органів аж до смерті піддослідної тварини. Також слід зазначити, що серед опрацьованих літературних джерел в жодному не зазначено, яким чином був закріплений СМ під час нанесення пошкодження, а отже, вплив дихання і спонтанних рухів тварини можуть вносити певну похибку у відтворюваність моделі.

На сьогодні для моделювання контузії спинного мозку використовують різні пристрої від простих і дешевих до сучасних високотехнологічних з спеціалізованим програмним забезпеченням для вимірювання та розрахунку широкого спектру параметрів. Серед спеціального обладнання, яке використовують для такого стандартизованого моделювання, найпоширенішим є New York University (NYU) impactor [49-52], Infinite Horizon Impactor [53-56], Louisville Injury System Apparatus (LISA) [57, 58] та Electromagnetic Spinal Cord Injury Device (ESCID) [59, 60]. Основною перевагою усіх цих пристроїв є те, що вони дозволяють надійно і точно змодельовати травму з можливістю розрахунку і детекції багатьох параметрів, залежно від завдань дослідження: сила та швидкість удару, час контакту вантажу із СМ, дистанція зміщення тканини тощо. При використанні даних пристроїв дуже легко регулювати ступінь важкості експериментальної травми одночасно з високою її відтворюваністю [59-61]. До недоліків слід віднести досить високу вартість таких приладів та необхідність спеціалізованого технічного обслуговування.

Слід зауважити, що моделі пошкодження шляхом компресії чи контузії у мишей в деякій мірі не відповідають таким у людей; оскільки в уражених ділянках СМ утворюються місця щільної сполучної тканини. На противагу, при моделюванні такого пошкодження у щурів, як і у людей, формуються лише цисти, заповнені рідиною [62, 63].

Важливим етапом після моделювання пошкодження спинного мозку *in vivo* є визначення функціональної активності тварин за допомогою різноманітних поведінкових тестів. Це необхідно як для підтвердження ефективності моделювання відразу після нанесення травми, так і для оцінки в динаміці процесів відновлення порушених функцій спинного мозку під впливом застосованого лікування. Загалом, різні варіанти змодельованих травм *in vivo* можна об'єднати за схожими механізмами пошкодження СМ і для них краще підходять певні групи поведінкових тестів. Наприклад, для оцінки функціональної активності тварин після даних пошкоджень краще підходять тести, які з різною чутливістю визначають відновлення моторних функцій спинного мозку: rotarod-тест [44]; шкала Tarlov [46], вимірювання кутів суглобів гоніометром [49, 50], Луїзвільська шкала плавання [50, 58], тест з горизонтальною драбиною [51, 59], мишача шкала Basso [53, 56, 60], тест BBB (Basso-Beattie-Bresnahan) [42, 44, 45, 47, 49-52, 55, 57-60]. Щодо травм з повним, частковим пересіченням або видаленням сегментів СМ, то для оцінки функціонального відновлення тварин при даних видах пошкоджень найчастіше використовують тест BBB [25-32]. Враховуючи, що пошкодженням внаслідок травми аксонам необхідно заново встановити зв'язки з інтернейронами, мотонейронами та ефекторними органами, часто виникає необхідність використання додаткових методик, в основі яких лежить акцент на точність рухів, зокрема, тестування локомоції на сітці [28] та аналіз відбитків слідів [29].

IN VITRO МОДЕЛІ ПОШКОДЖЕНЬ СПИННОГО МОЗКУ

У 1991 році L. Stoppini запропонував проводити культивування зрізів нервової тканини на напівпроникних мембранах на межі газового та рідкого середовища. Такий метод органотипових зрізів дозволяє культивувати їх досить тривалий час, оскільки заміна рідкого середовища відбувається без механічного пошкодження експлантів, залишаючи при цьому вільний доступ до самої тканини для її дослідження в динаміці [64]. В останні роки спектр наукових питань в об-

ласті нормальної та патологічної нейрофізіології, які вирішуються за допомогою культури органотипових зрізів нервової тканини, постійно розширюється, а сам метод увійшов в перелік доступних засобів вибору, які застосовують і для дослідження патології спинного мозку в області регенеративної медицини.

Культуру органотипових зрізів спинного мозку активно використовують для моделювання різних варіантів його пошкодження *in vitro*, що має ряд переваг у порівнянні з відповідними моделями *in vivo*. В першу чергу, експерименти з використанням органотипових культур потребують невеликої кількості тварин для отримання нервової тканини і з позицій біоетики саме системи *in vitro* часто є необхідними для попередньої оцінки можливості та доцільності подальших досліджень на великих групах лабораторних тварин. Культура органотипових зрізів дозволяє досліджувати тканину спинного мозку протягом тривалого часу, оскільки зрізи знаходяться в стабілізованому стані і відповідають належним морфофункціональним характеристикам, зберігаючи цитоархітектоніку, міжклітинні зв'язки та інші особливості, які є типовими для нативної нервової тканини [65]. Загалом, така система є набагато зручнішою для точних і зручних експериментальних маніпуляцій. У порівнянні з моделями *in vivo*, вона дає можливість досліджувати не лише клітинні, а й молекулярні механізми, а також дозволяє змодельовати більш ширший спектр пошкоджень СМ [66]. Крім того, модель органотипових зрізів *in vitro* дає змогу детально вивчати первинне ураження нейронів для кращого розуміння його віддалених наслідків та підбору оптимальних терапевтичних засобів з метою попередження повторного пошкодження тканин.

Моделі пошкодження тканини спинного мозку *in vitro* включають:

- модель стиснення органотипових культур тканини СМ;
- модель пересічення органотипових культур СМ;
- модель утворення гліального рубця *in vitro*.

Модель стиснення тканини спинного мозку *in vitro*. При пошкодженні аксонів білої речовини спостерігаються яскраво виражені деструктивні зміни в тканині спинного мозку. Такі пошкодження, в свою чергу, призводять до часткової або повної втрати СМ чутливих та моторних функцій нижче місця ураження. З метою кращого розуміння перебігу деструктивних процесів в аксонах внаслідок механічного пошкодження, з'ясування клітинних механізмів функціонального відновлення нервової тканини та розробки відповідних терапевтичних підходів була розроблена модель стиснення тканини СМ *in vitro* [67]. Основним об'єктом для даної моделі є органотипові культури поперекових зрізів СМ гризунів, які зазнають пошкодження під впливом вантажу, що падає. Також культури виділених з СМ клітин можуть вирощуватись на м'яких матриксах, які підлягають механічному стисканню, як модель нативної тканини, що опосередковано впливає на усі клітинні елементи в ній [68].

Модель пересічення тканини спинного мозку *in vitro*. Більшість травм СМ супроводжуються локальним розривом одного або кількох його сегментів, який важко дослідити в динаміці *in vivo*. Моделювання розриву сегментів шляхом їх пересічення *in vitro* проводять на органотипових зрізах як грудного, так і попереково-крижового відділу СМ щурів. Проте особливу увагу сьогодні приділяють *in vitro* моделям травм саме поперекового відділу СМ, оскільки в даній ділянці знаходиться потужна нервова мережа – центральний генератор упорядкованої активності, що відповідає за локомоторні функції нижніх кінцівок [70]. Під час культивування органотипові зрізи ростуть та щільно контактують бічними краями один з одним. При моделюванні аксонального розриву СМ *in vitro* власне сам розріз нервової тканини здійснюють скальпелем в місцях новоутворених щільних контактів між органотиповими зрізами [71]. З метою імітації дегенеративних змін, що відбуваються у розсіченій нервовій тканині за природних умов, одним із етапів моделювання даного виду травм є додавання у розчин-замінник спинномозкової рідини ACSF (Artificial cerebrospinal fluid) кайнату [70, 71]. Кайнат, як і глутамат, викликає

дегенерацію тканини та може індукувати реактивний астрогліоз. Проте кайнат не є субстратом для глутаматних транспортерів і вважається в 30 разів більш токсичним для нервової тканини [73].

Інша аналогічна модель аксонального поперечного перерізу СМ передбачає використання органотипових культур нервової тканини вже новонароджених тварин. Перевага такої моделі полягає в тому, що при однаковій товщині у зрізах представлені кілька сегментів СМ зі збереженням їх нейрональної цитоархітеконики [69].

Модель гліального рубця спинного мозку *in vitro*. Гліальний рубець – патологічна структура, що утворюється в місцях розриву СМ та складається переважно з «реактивних» астроцитів. Першою описаною моделлю утворення гліального рубця, як наслідку пост-травматичних змін нервової тканини, стала модель з використанням нітроцелюлозних вставок. Імплантація нітроцелюлозної мембрани Millipore в спинний мозок новонароджених щурів викликає накопичення в нервовій тканині ріст-активуючих молекул (ламініну, колагену IV типу та фібронектину), які індукують реактивний астрогліоз. Таким чином моделюють формування гліального рубця, яке у дорослих тварин пов'язане з накопичення у місці розриву спинного мозку молекул позаклітинного матриксу (хондроїтин-6 сульфат протеоглікан та цитотактин/тенасцин) [72].

Також з метою формування гліального рубця *in vitro* індукують морфофункціональні зміни в нервовій тканині шляхом безпосереднього впливу токсичних речовин разом з механічним пошкодженням. Вважають, що саме комбінація хімічного та фізичного впливу на тканину СМ є більш адекватною для моделювання процесів гліального рубцювання.

Крім того, для індукції гліального рубця використовують техніку іммобілізації протеїнів на 3D гелевій матриці для приєднання до неї ріст-інгібуючих молекул, що перешкоджають регенерації аксонів. Модель, вперше розроблена на культурі астроцитів кори головного мозку, передбачає додавання трансформуючого фактору росту- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), що пригнічує проліферацію фібробластів та викликає утворення кластерів клітин, у складі яких фібробласти оточені астроцитами. Такі кластери накопичують молекули позаклітинного матриксу та молекули пригнічення росту аксонів, що характерно для природнього утворення гліального рубця *in vivo* [74, 75]. Також існують дані стосовно присутності, як в клітинах, так і в позаклітинному матриксі, фактору TGF- $\beta 1$ в місці розриву спинного мозку [76]. Тому в найближчій перспективі актуальною є розробка і застосування аналогічної моделі гліального рубця *in vitro* для уточнення ролі фактору TGF- $\beta 1$ при пошкодженні саме спинного мозку. Перевага таких моделей полягає у можливості прослідкувати зміни у культурі астроцитів та проаналізувати їх у просторі і часі.

УЗАГАЛЬНЕННЯ

*Таким чином, на сьогодні відомі різноманітні моделі пошкодження спинного мозку *in vivo* та *in vitro*, які мають свої переваги та недоліки, що пов'язані з видом піддослідних тварин, складністю травми, тривалістю експерименту, доступними поведінковими тестами для оцінки відновлення порушених функцій та багатьма іншими факторами. Актуальним завданням сучасної нейрофізіології залишається не лише вдосконалення вже існуючих, а й пошук та розробка нових оптимальних комплексних моделей травми спинного мозку, які б максимально відповідали цілісній картині пошкодження, характерного реальним умовам у людини. При цьому вони мають бути стійкими та відтворюваними з можливістю адаптації під завдання конкретного експерименту. Такі моделі можуть бути використані, в першу чергу, для більш детального з'ясування можливих механізмів пошкодження нервової тканини та дослідження її власного відновного потенціалу за рахунок ендогенних репараційних факторів.*

*Крім того, нові експериментальні моделі дозволять оцінити безпеку та спрогнозувати ефективність різноманітних терапевтичних підходів в лікуванні патології нервової системи, зокрема, й трансплантації стовбурових клітин з різних джерел. При цьому саме моделювання окремих ланок патогенезу травматичного пошкодження нервової тканини дасть змогу встановити ключові точки реалізації регенеративних ефектів клітинних трансплантатів: підсилення ендогенної репарації, запобігання розвитку запальних процесів або можливе заміщення трансплантованими клітинами втрачених в тканинах реципієнта. Загалом, результати, отримані в експериментах на тваринах із змодельованим пошкодженням спинного мозку *in vivo* та *in vitro*, стануть основою для впровадження нових терапевтичних підходів в клініку.*

СПИСОК ЦИТОВАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Анатомія людини у трьох томах / А. С. Головацький, В. Г. Черкасов, М. Р. Сапін, та ін. – В.: Нова Книга, 2007. – 456 с.
2. Маруненко І. М. Анатомія, фізіологія, еволюція нервової системи / Маруненко І. М., Неведомська Є. О., Волковська Г. І. – К.: «Центр учбової літератури», 2013. – 184 с.
3. Characterization of a graded cervical hemicontusion spinal cord injury model in adult male rats / K. Dunham, A. Siriphorn, S. Chompoopong, et al. // J Neurotrauma. – 2010. – Vol. 27, № 11. – P. 2091-2106.
4. Griffiths I. R. Vasogenic edema following acute and chronic spinal cord compression in the dog / I. R. Griffiths // J Neurosurg. – 1975. – Vol. 42, № 2. – P. 155-165.
5. Koyanagi I. Silicone rubber microangiography of acute spinal cord injury in the rat / I. Koyanagi, C. H. Tator, E. Theriault // Neurosurgery. – 1993. – Vol. 32, № 2. – P. 260-268.
6. Tatagiba M. Regeneration of injured axons in the adult mammalian central nervous system / M. Tatagiba, C. Brösamle, M. E. Schwab // Neurosurgery. – 1997. – Vol. 40, № 3. – P. 546-547.
7. Полищук Н. Е. Патогенез травм спинного мозга, периодизация травматической болезни спинного мозга. Спинальный шок / Н. Е. Полищук, Н. А. Корж, В. Я. Фищенко // Книга плюс, 2001. – С. 42-56.
8. Reversible spinal cord trauma in cats. Additive effects of direct pressure and ischemia / J. S. Brodkey, D. E. Richards, J. P. Blasingame, et al. // J Neurosurg. – 1972. – Vol. 37, № 5. – P. 591-593.
9. Methylprednisolone administration improves axonal regeneration into Schwann cell grafts in transected adult rat thoracic spinal cord / A. Chen, X. M. Xu, N. Kleitman, et al. // Exp Neurol – 1996. – Vol. 138, № 2. – P. 261-276.
10. Fawcett J. W. Spinal cord repair: from experimental models to human application / J. W. Fawcett // Spinal Cord. – 1998. – Vol. 36, № 12. – P. 811-817.
11. Цымбалюк В. И. Спинной мозг. Элегия надежды: монография / В. И. Цымбалюк, В. В. Медведев. – Винница: Нова Книга, 2010. — 944 с.

12. *Hulsebosch C. E.* Recent advances in pathophysiology and treatment of spinal cord injury / *C. E. Hulsebosch* // *Adv Physiol Educ.* – 2002. – **Vol. 26, № 1-4.** – P. 238-255.
13. Gene expression profiling of acute spinal cord injury reveals spreading inflammatory signals and neuron loss / *J. B. Carmel, A. Galante, P. Soteropoulos, et al.* // *Physiol Genomics.* – 2001. – **Vol. 7, № 2.** – P. 201-213.
14. *Bloom O.* Non-mammalian model systems for studying neuro-immune interactions after spinal cord injury / *O. Bloom* // *Exp Neurol.* – 2014. – **№ 0.** – P. 113-130.
15. Glutamate-induced neuronal death: a succession of necrosis or apoptosis depending on mitochondrial function / *M. Ankarcona, J. Dypbukt, E. Bonfoco, et al.* // *Neuron.* – 1995. – **Vol. 15.** – P. 961-973.
16. Apoptosis dominant in the periinfarct area of human ischemic stroke – a possible target of antiapoptotic treatments / *T. Sairanen, M. L. Karjalainen-Lindsberg, A. Paetau, et al.* // *Brain.* – 2006. – **Vol. 129, № 1.** – P. 189-199.
17. *Yuan J.* Neuroprotective strategies targeting apoptotic and necrotic cell death for stroke / *J. Yuan* // *Apoptosis.* – 2009. – **Vol. 14, № 4.** – P. 469-477.
18. Combined use of spinal cord-mimicking partition type scaffold architecture and neurotrophin-3 for surgical repair of completely transected spinal cord in rats / *X. Wang, Y. Li, Y. Gao, et al.* // *J Biomater Sci Polym Ed.* – 2013. – **Vol. 24, № 8.** – P. 927-939.
19. Autocrine fibronectin from differentiating mesenchymal stem cells induces the neurite elongation *in vitro* and promotes nerve fiber regeneration in transected spinal cord injury / *X. Zeng, Y. Ma, Y. Chen, et al.* // *J Biomed Mater Res A.* – 2016. – **Vol. 104, № 8.** – P. 1902-1911.
20. Olfactory Ensheathing Cell Transplantation after a Complete Spinal Cord Transection Mediates Neuroprotective and Immunomodulatory Mechanisms to Facilitate Regeneration / *R. Khankan, K. Griffiths, J. Haggerty-Skeans, et al.* // *J Neurosci.* – 2016. – **Vol. 36, № 23.** – P. 6269-6286.
21. Compensatory projections of primary sensory fibers in lumbar spinal cord after neonatal thoracic spinal transection in rats / *M. Takiguchi, Y. Atobe, T. Kadota, et al.* // *Neuroscience.* – 2015. – **Vol. 304.** – P. 349-354.
22. Peripheral Nerve Transplantation Combined with Acidic Fibroblast Growth Factor and Chondroitinase Induces Regeneration and Improves Urinary Function in Complete Spinal Cord Transected Adult Mice / *M. DePaul, C. Lin, J. Silver, et al.* // *PLoS One.* – 2015. – **Vol. 10, № 10.** – P. 1-16.
23. Post-injury bladder management strategy in fl uences lower urinary tract dysfunction in the mouse model of spinal cord injury / *N. Wada, T. Shimizu, S. Takai, et al.* // *NeuroUrol Urodynam.* – 2016. – Available: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0361923016304944>
24. Canine Bone Marrow Stromal Cells Promote Functional Recovery in Mice with Spinal Cord Injury / *Y. Oda, K. Tani, Y. Asari, et al.* // *J Vet Med Sci.* – 2014. – **Vol. 76, № 6.** – P. 905-908.
25. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells in three-dimensional culture promote neuronal regeneration by neurotrophic protection and immunomodulation / *S. Han, B. Wang, X. Li, et al.* // *J Biomed Mater Res A.* – 2016. – **Vol. 104, № 7.** – P. 1759-1769.
26. Repair of spinal cord injury by chitosan scaffold with glioma ECM and SB216763 implantation in adult rats / *J. Rao, Y. Yang, S. Lin, et al.* // *J Biomed Mater Res A.* – 2015. – **Vol. 103, № 10.** – P. 3259-3272.
27. Upregulation of the receptor-interacting protein 3 expression and involvement in neural tissue damage after spinal cord injury in mice / *H. Kanno, H. Ozawa, S. Tateda, et al.* // *BMC Neurosci.* – 2015. – **Vol. 16, № 62.** – P. 1-10.
28. Combination of grafted Schwann cells and lentiviral-mediated prevention of glial scar formation improve recovery of spinal cord injured rats / *A. Do-Thi, F. Perrin, M. Desclaux, et al.* // *J Chem Neuroanat.* – 2016. – **Vol. 76, № Pt A.** – P. 48-60.
29. Ligustilide treatment promotes functional recovery in a rat model of spinal cord injury via preventing ROS production / *W. Xiao, A. Yu, D. Liu, et al.* // *Int J Clin Exp Pathol.* – 2015. – **Vol. 8, № 10.** – P. 12005-12013.
30. The Effect of Implantation of Neurogeltm Used with Xenogenic Bone Marrow Stem Cells on Motor Function Recovery after Experimental Spinal Cord Injury / *V. Tsybaliuk, V. Medvediev, O. Rybachuk, et al.* // *Int Neurol J.* – 2016. – **Vol. 84, № 6.** – P. 13-19.
31. Clinical and pathomorphological features of penetrating spinal cord injury model with prolonged persistence of a foreign body in the vertebral canal / *V. Tsybaliuk, V. Medvediev, V. Semenova, et al.* // *Ukr Neurosurg Journa.* – 2016. – **№ 4.** – P. 16-25.
32. The model of lateral spinal cord hemisection. Part I. The technical, pathomorphological, clinical and experimental peculiarities / *V. Tsybaliuk, V. Medvediev, V. Semenova, et al.* // *Ukr Neurosurg J.* – 2016. – **№ 7.** – P. 18-27.
33. Spinal Cord Inflammation: Molecular Imaging after Thoracic Aortic Ischemia Reperfusion Injury / *H. Albadawi, J. Chen, R. Oklu, et al.* // *Radiology.* – 2017. – **Vol. 282, № 1.** – P. 202-211.
34. Ethyl pyruvate modulates delayed paralysis following thoracic aortic ischemia reperfusion in mice / *B. Nguyen, H. Albadawi, R. Oklu, et al.* // *J Vasc Surg.* – 2016. – **Vol. 64, № 5.** – P. 1433-1443.
35. Clinical indicators of paraplegia underplay universal spinal cord neuronal injury from transient aortic occlusion / *M. Bell, F. Puskas, D. Bennett, et al.* // *Brain Res.* – 2015. – Available: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006899315003674>
36. Photothrombosis-induced focal ischemia as a model of spinal cord injury in mice / *H. Li, G. Choudhury, N. Zhang, et al.* // *J Vis Exp.* – 2015. – Available: <http://www.jove.com/video/53161/photothrombosis-induced-focal-ischemia-as-model-spinal-cord-injury>
37. Behavioral improvement and regulation of molecules related to neuroplasticity in ischemic rat spinal cord treated with PEDF / *C. Batista, L. Bianqui, B. Zanon, et al.* // *Neural Plast.* – 2014. – Available: <https://www.hindawi.com/journals/np/2014/451639/>
38. Melatonin improves functional outcome via inhibition of matrix metalloproteinases-9 after photothrombotic spinal cord injury in rats / *M. Piao, J. Lee, J. Jang, et al.* // *Acta Neurochir. (Wien).* – 2014. – **Vol. 156, № 11.** – P. 2173-2182.
39. Effect of Progesterone Therapy on TNF- α and iNOS Gene Expression in Spinal Cord Injury Model / *A. Farahbadi, M. Akbari, A. Pishva, et al.* // *Acta Med Iran.* – 2016. – **Vol. 54, № 6.** – P. 345-351.
40. Beneficial effects of early hemostasis on spinal cord injury in the rat / *H. Fan, K. Chen, L. Duan, et al.* // *Spinal Cord.* – 2016. – **Vol. 54, № 11.** – P. 924-932.
41. Histopathological evaluation of the effects of CAPE in experimental spinal cord injury / *H. Aydin, E. Ozkara, Z. Ozbek, et al.* // *Turk Neurosurg.* – 2016. – **Vol. 26, № 3.** – P. 437-444.
42. Rutin attenuates neuroinflammation in spinal cord injury rats / *J. Wu, L. Maoqiang, H. Fan, et al.* // *J Surg Res.* – 2016. – **Vol. 203, № 2.** – P. 331-337.
43. Postinjury treatment with magnesium sulfate attenuates neuropathic pains following spinal cord injury in male rats / *L. Farsi, K. Afshari, M. Keshavarz, et al.* // *Behav Pharmacol.* – 2015. – **Vol. 26, № 3.** – P. 315-320.
44. A comparative study of three different types of stem cells for treatment of rat spinal cord injury / *J. Ruzicka, L. Machova-Urdzikova, J. Gillick, et al.* // *Cell Transplant.* – 2016. – **Vol. 1, № 914.** – P. 1-51.
45. A simple and reproducible model of spinal cord injury induced by epidural balloon inflation in the rat / *I. Vanický, L. Urdziková, K. Saganová, et al.* // *J Neurotrauma.* – 2001. – **Vol. 18, № 12.** – P. 1399-1407.
46. Validity of Transcranial Motor Evoked Potentials as Early Indicators of Neural Compromise in Rat Model of Spinal Cord Compression / *S. Morris, J. Howard, D. Rasmussen, et al.* // *Spine.* – 2015. – **Vol. 40, № 8.** – P. E492-497.

47. Transplantation of Human Skin-Derived Mesenchymal Stromal Cells Improves Locomotor Recovery After Spinal Cord Injury in Rats / F. Rosene, M. Raul, B. Bressan, et al. // *Cell Mol Neurobiol.* – 2016. – Available: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10571-016-0414-8>
48. Allen A. R. Surgery of experimental lesion of spinal cord an equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column Preliminary Report / A. R. Allen // *JAMA.* – 1911 – № 57. – P. 878-880.
49. Disruption of locomotion in response to hindlimb muscle stretch at acute and chronic time points after a spinal cord injury in rats / A. V. Keller, G. Wainwright, A. Shum-Siu, et al. // *J Neurotrauma.* – 2017. – Vol. 34, № 3. – P. 661-670.
50. Hindlimb Stretching Alters Locomotor Function After Spinal Cord Injury in the Adult Rat / K. L. Caudle, D. A. Atkinson, E. H. Brown, et al. // *Neurorehabil Neural Repair.* – 2015. – Vol. 29, № 3. – P. 268-277.
51. Early application of tail nerve electrical stimulation-induced walking training promotes locomotor recovery in rats with spinal cord injury / S. Zhang, F. Huang, M. Gates, et al. // *Spinal Cord.* – 2016. – Vol. 54, № 11. – P. 942-946.
52. Comparing deficits following excitotoxic and contusion injuries in the thoracic and lumbar spinal cord of the adult rat / D. S. Magnuson, T. C. Trinder, Y. P. Zhang, et al. // *Exp Neurol.* – 1999. – Vol. 156, № 1. – P. 191-204.
53. Neural Stem Cell Transplantation in Experimental Contusive Model of Spinal Cord Injury / S. Carelli, T. Giallongo, C. Gerace, et al. // *J Vis Exp.* – 2014. – Available: <http://www.jove.com/video/52141/neural-stem-cell-transplantation-experimental-contusive-model-spinal>
54. Impact of chemokines on the properties of spinal cord-derived neural progenitor cells in a rat spinal cord lesion model / F. Knerlich-Lukoschus, S. Krossa, J. Krause, et al. // *J Neurosci Res.* – 2015. – Vol. 93, № 4. – P. 562-571.
55. Force-dependent development of neuropathic central pain and time-related CCL2/CCR2 expression after graded spinal cord contusion injuries of the rat / F. Knerlich-Lukoschus, M. Juraschek, U. Blömer, et al. // *J Neurotrauma.* – 2008. – Vol. 25, № 5. – P. 427-448.
56. Anti-interleukin-6 receptor antibody reduces neuropathic pain following spinal cord injury in mice / T. Murakami, T. Kanchiku, H. Suzuki, et al. // *Exp Ther Med.* – 2013. – Vol. 6, № 5. – P. 1194-1198.
57. Deletion of the pro-apoptotic endoplasmic reticulum stress response effector CHOP does not result in improved locomotor function after severe contusive spinal cord injury / S. S. Ohri, M. A. Maddie, Y. Zhang, et al. // *J Neurotrauma.* – 2012. – Vol. 29, № 3. – P. 579-588.
58. Spinal Cord Contusion Based on Precise Vertebral Stabilization and Tissue Displacement Measured by Combined Assessment to Discriminate Small Functional Differences / Y. P. Zhang, D. A. Burke, L. B. Shields, et al. // *J Neurotrauma.* – 2008. – Vol. 25, № 10. – P. 1227-1240.
59. McEwen M. L. Quantification of locomotor recovery following spinal cord contusion in adult rats / M. L. McEwen, J. E. Springer // *J Neurotrauma.* – 2006. – Vol. 23, № 11. – P. 1632-1653.
60. Inhibition of astroglial nuclear factor kappaB reduces inflammation and improves functional recovery after spinal cord injury / R. Brambilla, V. Bracchi-Ricard, WH. Hu, et al. // *J Exp Med.* – 2005. – Vol. 202, № 1. – P. 145-156.
61. Animal models of acute neurological injuries / J. Chen, X. M. Xu, Z. Xu, et al. // Humana Press, 2009. – P. 425-439.
62. Rats and mice exhibit distinct inflammatory reactions after spinal cord injury / J. M. Sroga, T. B. Jones, K. A. Kigerl, et al. // *J Comp Neurol.* – 2003. – Vol. 462, № 2. – P. 223-240.
63. Norenberg M. D. The pathology of human spinal cord injury: defining the problems / M. D. Norenberg, J. Smith, A. Marcillo // *J Neurotrauma.* – 2004. – Vol. 21, № 4. – P. 429-440.
64. Stoppini L. A simple method for organotypic cultures of nervous tissue / L. Stoppini, P. A. Buchs, D. Muller // *Journal of Neuroscience Methods.* – 1991. – Vol. 37, № 2. – P. 173-182.
65. Spinal cord injury *in vitro*: Modelling axon growth inhibition / M. Abu-Rub, S. McMahon, D. Zeugolis, et al. // *Drug Discov Today.* – 2010. – Vol. 15, № 11-12. – P. 436-443.
66. Ischemic Injury-Specific Gene Expression in the Rat Spinal Cord Injury Model Using Hypoxia-Inducible System / M. Lee, E. S. Lee, Y. S. Kim, et al. // *Spine.* – 2005. – Vol. 30, № 24. – P. 2729-2734.
67. Shi R. Conduction Deficits and Membrane Disruption of Spinal Cord Axons as a Function of Magnitude and Rate of Strain / R. Shi, J. Whitebone // *J Neurophysiol.* – 2006. – Vol. 95, № 6. – P. 3384-3390.
68. The astrocyte/meningeal cell interface is a barrier to neurite outgrowth which can be overcome by manipulation of inhibitory molecules or axonal signaling pathways / M. C. Shearer, S. P. Niclou, D. Brown, et al. // *Mol Cell Neurosci.* – 2003. – Vol. 24, № 4. – P. 913-925.
69. Neurotrophic Factors Increase Axonal Growth after Spinal Cord Injury and Transplantation in the Adult Rat / B. S. Bregman, M. Mccatee, Hai Ning Dai, et al. // *Experimental Neurology.* – 1997. – Vol. 148, № 2. – P. 475-94.
70. Taccola G. Dynamics of early locomotor network dysfunction following a focal lesion in an *in vitro* model of spinal injury / G. Taccola, M. Mladinic, A. Nistri // *Eur J Neurosci.* – 2010. – Vol. 31, № 1. – P. 60-78.
71. Locomotor Networks are Targets of Modulation by Sensory Transient Receptor Potential Vanilloid 1 and Transient Receptor Potential Melastatin 8 Channels / S. Mandadi, S. Nakanishi, Y. Takashima, et al. // *Neuroscience.* – 2009. – Vol. 162, № 4. – P. 1377-1397.
72. A new *in vitro* model of the glial scar inhibits axon growth / I. B. Wanner, A. Deik, M. Torres, et al. // *Glia.* – 2008. – Vol. 56, № 15. – P. 1691-1709.
73. Yoo J. Y. A Model of Glial Scarring Analogous to the Environment of a Traumatically Injured Spinal Cord Using Kainate / J. Y. Yoo, C Hwang, H. N. Hong // *Department of Rehabilitation Medicine.* – 2016. – Vol. 40, № 5. – P. 757-768.
74. East E. A versatile 3D culture model facilitates monitoring of astrocytes undergoing reactive gliosis / E. East, J. Golding, J. Phillips // *J Tissue Eng Regen Med.* – 2009. – Vol. 3, № 8. – P. 634-646.
75. An *in vitro* model of adult mammalian nerve repair / A. Vyas, Z. Li, M. Aspalter, et al. // *Exp Neurol.* – 2010. – Vol. 223, № 1. – P. 112-118.
76. TGF- β 1 and TGF- β 2 expression after traumatic human spinal cord injury / A. Buss, K. Pech, B. A. Kakulas, et al. // *J Spinal Cord.* – 2007. – Vol. 46, № 5. – P. 364-71.



СТАТТЯ НА САЙТІ
TRANSPLANTOLOGY.ORG

Автори підтверджують відсутність можливих конфліктів інтересів.

Надійшла до редакції 04.03.2017 р.

Прийнята до друку 25.05.2017 р.