

АНОТАЦІЯ

Нестеренко Ю. А. Морфофункціональні особливості спонтанного відновлення після травмування спинного мозку у мишей різної статі – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 – Біологія за спеціальністю 091 – Біологія та біохімія. – Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ, 2025.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню морфофункціональних відмінностей та особливостей відновлення нервової тканини після моделювання травми спинного мозку (ТСМ) у мишей різної статі, а також впливу ТСМ на органи видільної (нирки та сечовий міхур) та репродуктивної систем (сім'яники, придатки сім'яників та сім'яні міхурці – у самців; яєчники та матка – у самиць) мишей.

У роботі оптимізовано модель ТСМ – лівобічний половинний перетин та вперше проведено її на мишах лінії *FVB* різної статі. З використанням поведінкових тестів були встановлені показники локомоторної активності ((за шкалою (Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) та шкалою Basso (B)) та рівень спастичності (за шкалою Ashworth) за задньої іпсилатеральної кінцівки (ЗІК) у тварин обох статей після ТСМ протягом тривалого періоду (до 12-ти місяців). Виявлено достовірні відмінності показників локомоторної функції та рівня спастичності ЗІК самців і самиць мишей з ТСМ у порівнянні з контролем та між групами. Показано кореляцію показників функції та показників спастичності на різних термінах посттравматичного періоду, що свідчить про посттравматичне відновлення у тварин після ТСМ.

Після та імуногістохімічного забарвлення та додаткового забарвлення гематоксилін-еозином нервової тканини встановлено особливості нейродегенеративних процесів у спинному мозку (СМ) тварин після травми. Так, у СМ експериментальних самців на всіх термінах дослідження (до 12-ти

місяців) виявлено ознаки запалення тканини СМ, довготривалий процес формування рубця із проявами запалення суміжних із рубцем тканин. У порівнянні із самцями, у самиць з ТСМ ознаки запалення тканини СМ були недовготривалими, формування рубця відбувалось швидше, а суміжна інтактна із зоною рубцювання тканина відзначалась короткотривалими незначними ознаками запалення.

У дисертаційній роботі також виявлено морфофункціональні зміни в органах видільної та репродуктивної систем у самців та самиць мишей після ТСМ. Зокрема, при морфологічному дослідженні показано ознаки активного запального процесу і набряку в нирках та сечовому міхурі експериментальних самців і самиць мишей на різних термінах посттравматичного періоду. Органи репродуктивної системи самців з ТСМ, а саме, сім'яники, сім'яні міхурці та придатки яєчок, також зазнавали змін у вигляді застійних та дегенеративних процесів на довготривалих термінах дослідження. Тоді як у самиць лише на пізніх термінах посттравматичного періоду відзначали незначні дегенеративні зміни в матці та появу кістозних утворень в яєчниках.

Ключові слова: спинний мозок, травма, гемісекція, нейродегенерація, моторна функція, спастичність, нейрони, астрогліоз, мікрогліоз, імуногістохімія, конфокальна мікроскопія, сечовий міхур, репродуктивні органи, сім'яники, яєчники, запалення, набряк, гіперплазія, рубець.

SUMMARY

Nesterenko Yu.A. Morphofunctional features of spontaneous recovery after spinal cord injury in mice of different sexes – Qualifying scientific work on manuscript rights.

The dissertation submitted to acquire the degree of Doctor of Philosophy in Biology, specialty – 091– Biology and biochemistry – Bogomoletz Institute of Physiology NASU, Kyiv, 2025.

The manuscript is devoted to the investigation of morphofunctional features of nervous tissue recovery after spinal cord injury (SCI) modelling, and the effect of nervous tissue damage on the organs of mice's genitourinary system (kidneys and urinary bladder; testes, epididymal appendages and seminal vesicles – in males; ovaries and uterus – in females). Using behavioral tests, the features of motor activity recovery ((Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) scale and Basso (B) scale)) and the spasticity level (Ashworth scale) of the ipsilateral hindlimb (IH) spasticity in animals of both sexes after SCI were determined. By means of immunohistochemical analysis and hematoxylin-eosin staining, the features of neurodegenerative processes in the spinal cord (SC), as well as morphological changes in the organs of the genitourinary system, were investigated.

In the work, the model of SCI – left-sided hemisection (LSH) was optimized, and it was performed for the first time on *FVB* mice of different sexes. Using behavioral tests, the indicators of locomotor activity and the level of spasticity of the IH were determined in animals of both sexes after SCI for a long period (up to 12-th month). Significant differences in indicators of locomotor functions and spasticity level of male and female mice's IH with SCI compared to control and between groups were revealed. The correlation of function and spasticity indicators at different long-term terms of the post-traumatic period is shown, which indicates the post-traumatic recovery of the IH functional activity.

After immunohistochemical evaluation and additional hematoxylin-eosin staining of nervous tissue, the features of neurodegenerative processes in the SC of animals after trauma were demonstrated. Thus, signs of SC tissue's inflammation, a long-term process of scar formation with manifestations of inflammation of tissues adjacent to the scar were found in the SC of experimental males during all the time of the study (up to 12-th month). Compared to males, in females with SCI, the signs of SC tissue's inflammation were short-lived, a scar formation occurred faster, and the tissue adjacent to the intact scar zone showed short-term minor signs of inflammation.

The manuscript also shows morphofunctional changes in organs of genitourinary system in male and female mice after SCI. In particular, hematoxylin-eosin staining revealed signs of an active inflammatory process and swelling of kidneys and bladder in experimental male and female mice at various long-term post-traumatic periods. The reproductive system of males with SCI, namely, the testes and their appendages, also underwent changes in the form of stagnant and degenerative processes during the long-term study period. At the same time, in females only in the late stages of the post-traumatic period, slight degenerative changes in the uterus and the appearance of cystic formations in the ovaries were noted.

Key words: spinal cord, injury, hemisection, neurodegeneration, motor activity, spasticity, neuron, astrogliosis, microgliosis, immunohistochemistry, confocal microscopy, urinary bladder, reproductive organs, testes, ovaries, inflammation, edema, hyperplasia, scar.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

У яких опубліковано основні результати роботи:

1. Rybachuk O. A., **Lazarenko (Nesterenko) Yu. A.**, Krotov V. V., Voitenko N. V. Structural/functional characteristics of organotypic spinal cord slices under conditions of long-lasting culturing. *Neurophysiology*. 2017 Apr; 49(2):162–164. doi:10.1007/s11062-017-9647-5.
2. Rybachuk O., Arkhynchuk I., **Lazarenko (Nesterenko) Yu.** *In vivo* and *in vitro* models of traumatic injuries of the spinal cord. *Cell and Organ Transplantology*. 2017 May; 5(1):87–93. doi:10.22494/cot.v5i1.71.
3. **Nesterenko Yu.**, Rybachuk O. Locomotor activity and spasticity level of the limb in female mice with a spinal cord injury model. *Cell and Organ Transplantology*. 2022 May; 10(1):38-44. doi:10.22494/cot.v10i1.136.
4. **Нестеренко Ю. А.**, Рибачук О. А. Спонтанне посттравматичне відновлення рухової функції задньої кінцівки самців мишей. *Фізіологічний журнал*. 2022; 68(3):15–23. doi:[10.15407/fz68.03.015](https://doi.org/10.15407/fz68.03.015).
5. Rybachuk O., **Nesterenko Yu.**, Pinet É., Medvediev V., Yaminsky Y., Tsymbaliuk V. Neuronal differentiation and inhibition of glial differentiation of murine neural stem cells by pHPMA hydrogel for the repair of injured spinal cord. *Experimental Neurology*. 2023; 368:114497. doi:10.1016/j.expneurol.2023.114497.
6. Rybachuk O, **Nesterenko Yu**, Zhovannyk V. Modern advances in spinal cord regeneration: Hydrogel combined with Neural Stem Cells. *Frontiers in Pharmacology*. 2024 Jun 27; 15. doi:10.3389/fphar.2024.1419797.

Які засвідчують апробацію матеріалів дисертаційного дослідження:

1. Rybachuk O.A., Lazarenko (Nesterenko) Yu.A., Kyryk V. M., Medvedev V.V., Metelova M.O., Proshkina I.O., Arkhynchuk I.V., Yaminsky Yu. Ya., Tsymbaliuk V.I. Cultivation of bone marrow stromal cells with pHPMA hydrogel and their further immunocytochemical assessment. XVI international conference of students and young scientists “shevchenkivska vesna: bioscience advances”, Kyiv, 24-27 April 2018, p. 248.

2. Rybachuk O. A., Metelyova M.O., Lazarenko Yu. A., Medvedev V.V., Kyryk V. M., Voitenko N. V., Tsymbaliuk V. I. (2018): Effects at culturing of BMSCs with heterogeneous PHPMA hydrogel. Proceedings of the Scientific-practical conference with international participation “Achievements and perspectives of modern histology” at Kyiv, Ukraine, October 2018, 48-49.

3. Nesterenko Yu. A. Differentiation of murine hippocampal neural stem cells after cultivation with neurogelTM. XVI Міжнародна наукова конференція студентів, молодих вчених та спеціалістів «Актуальні питання сучасної медицини», Харків, Україна, Березень 28-29, 2019, с. 360.

4. Рибачук О. А., Лазаренко Ю. А. (Нестеренко Ю. А.), Кирик В. М., Войтенко Н. В., Бутенко Г. М. Оптимізація моделі травми спинного мозку у мишей лінії FVB. 20-й Конгрес Українського фізіологічного товариства, з міжнародною участю, присвячений 95-й річниці народження академіка П. Г. Костюка. Київ, Україна, Травень 27-30, 2019, Том 65, №3 (Додаток), с. 63.

5. Нестеренко Ю. А., Кочергіна Д. С., Кушніренко А. А., Рибачук О. А. Посттравматичне відновлення функцій у самок мишей лінії FVB після моделювання травми спинного мозку. Науково-практична конференція «Інноваційний розвиток сучасної науки: нові підходи та актуальні дослідження», Запоріжжя, 26-27 березня 2021, с.64.

6. Нестеренко Ю. А., Рибачук О. А. Відмінності спонтанного відновлення моторної активності та зміна рівня спастичності задньої іпсилатеральної

кінцівки у мишей різної статі на пізніх термінах після моделювання травми спинного мозку. The XXVII International Scientific and Practical Conference «Trends of young scientists regarding the development of science», at Edmonton, Canada, 11 – 14 July, 2023, p.21.

7. Нестеренко Ю. А., Рибачук О. А. Кореляція показників функції та покаників спастичності задньої іпсилатеральної кінцівки у мишей різної статі на пізніх термінах після моделювання травми спинного мозку. The VI International scientific and practical conference «Innovations and prospects in modern science», at Stockholm, Sweden, 29-31 July, 2023, p.16.

8. Нестеренко Ю. А., Рибачук О. А. Посттравматичні морфологічні зміни тканини спинного мозку мишей різної статі. The XI International scientific and practical conference «Science and technology: problems, prospects and innovations», Osaka, Japan, 3-5 August, 2023, p.23.

9. Нестеренко Ю. А., Москаленко Р. А., Рибачук О. А. Морфологічні зміни в органах сечостатевої системи мишей різної статі після моделювання травми спинного мозку. VII International Scientific and Practical Conference, at Madrid, Spain, 7-9 August 2023, p.18.

10. O. A. Rybachuk, Yu. A. Nesterenko, V. O. Zhovannyk. Locomotor activity of the ipsilateral hindlimb of male and female mice after spinal cord injury and stem cell injection. XVIII All-Ukrainian Conference of Young Scientists, Kyiv, May 21-22 2024, p. 48.

11. O. A. Rybachuk, Yu. A. Nesterenko, V. O. Zhovannyk. Effects of exogenous stem cells in locomotor activity and spasticity male and female mice following spinal cord injury. XXI Міжнародна наукова конференція студентів та молодих вчених «Шевченківська весна: досягнення в науках про життя / Advancements in life sciences», Київ, 24-26 квітня 2024, с. 196 – 197.

12. Nesterenko Yu. A., Rybachuk O. A. Morphological changes in spinal cord nervous tissue of male and female mice after spinal cord injury modelling.

Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Тканинні реакції в нормі, експерименті, клініці», Київ, 13-14 червня 2024; Український науково-медичний молодіжний журнал, Suppl. №2 (147) 2024, с. 91 – 92.

13. Rybachuk O. A., Nesterenko Yu. A. Spasticity of the ipsilateral hindlimb of male and female mice after spinal cord injury and stem cell injection. XXV Національний конгрес кардіологів України, Київ, 24 – 27 вересня 2024 р.//Ukrainian Journal of Cardiology, 2024, Vol. 3, Supplement 1, p. 25-6.

14. Yu. A. Nesterenko, R. A. Moskalenko, O. A. Rybachuk, Morphofunctional changes in reproductive organs of female mice after spinal cord injury. Міжнародна конференція з нейронаук та Наукові читання, присвячені вісцеральній фізіології та патофізіології, Київ, 19-21 листопада 2024 р.// Фізіол. журн., 2024, Т. 70, № 5, додаток, С. 72-73.

15. Nesterenko Yu.A., Rybachuk O.A. Spontaneous post-traumatic recovery of motor functions of ipsilateral hindlimb in mice of different sexes during long-term observation. Перша студентська науково-практична конференція “MEDsynergy”, Івано-Франківськ, 22-24 листопада 2024 р., Збірник тез с. 23.