

*На правах рукописи*

**Шевченко Роман Васильевич**

**ТРАНСТРАВМАТИЧЕСКАЯ ЭПИДУРАЛЬНАЯ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИЯ  
СПИННОГО МОЗГА В СОЧЕТАНИИ С ДВИГАТЕЛЬНОЙ ТРЕНИРОВКОЙ  
В МОДЕЛИ НА МИНИ-СВИНЬЯХ**

**3.3.3. Патологическая физиология**

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:** **Исламов Рустем Робертович**, доктор медицинских наук, профессор

**Официальные оппоненты:** **Баклаушев Владимир Павлович**, доктор медицинских наук, доцент, профессор РАН, заведующий лабораторией нейрорегенерации, заведующий отделом разработки клеточных препаратов Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» Федерального медико-биологического агентства.

**Акулинин Виктор Александрович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «23» сентября 2026 г. в «\_\_\_» часов на заседании диссертационного совета 21.2.012.02, созданного на базе ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России по адресу: 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, д. 49.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке (420012, г. Казань, ул. Бутлерова, д. 49) и на сайте (<https://kazangmu.ru>) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2026 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор медицинских наук, доцент

Радченко Ольга Рафаиловна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Травма спинного мозга (ТСМ) у человека является тяжелым и прогностически неблагоприятным травматическим повреждением. По данным Всемирной Организации Здравоохранения, в мире ежегодно регистрируют до полумиллиона случаев ТСМ. В Российской Федерации ежегодно ТСМ получают более 18 тысяч человек (K. Yuan et al., 2026). При этом более 80% пострадавших составляют лица в возрасте от 17 до 45 лет, что делает проблему их реабилитации чрезвычайно важной и актуальной (И. Н. Морозов, 2011). Посттравматические последствия, включающие гибель нейронов, разрывы нервных волокон, ишемические и воспалительные повреждения спинного мозга вызывают тяжелый двигательный, сенсорный и вегетативный дефицит, сопровождающийся хронической невропатической болью и патологическим гипертонусом скелетной мускулатуры (С. Н. Tator et al., 2012). Эти болезненные состояния значительно снижают качество жизни пациентов, а последующие потеря трудоспособности и инвалидность увеличивают их зависимость от лиц, осуществляющих за ними уход (K. D. Anderson, 2004). Негативный прогноз усугубляют вторичные осложнения, такие как пролежни, респираторные инфекции, сердечно-сосудистые нарушения, способные приводить к летальным исходам. Кроме того, затраты на лечение и социальное обеспечение подобных пациентов составляют серьезную статью расходов для их семей и для бюджета государства (S. E. P. Munce et al., 2016; A. P. M. Backx et al., 2018). На сегодняшний день не существует эффективного метода лечения ТСМ, позволяющего восстановить утраченные функции в полном объеме, и пациенты получают преимущественно симптоматическую терапию.

В качестве дополнительного подхода к нейрореабилитации пациентов с ТСМ широко применяют электрическую стимуляцию спинного мозга (S. Chandrasekaran et al., 2020; M. L. Gill et al., 2018; F. B. Wagner et al., 2018). Эпидуральная электростимуляция (ЭЭС) зарекомендовала себя в качестве эффективного метода, позволяющего стимулировать активность локальных

нейронных спинномозговых сетей и связанные с ними функции (С. А. Cuellar, 2017). В клинических исследованиях пациенты с ТСМ на фоне ЭЭС поясничного отдела спинного мозга приобретали способность контролировать волевые движения и самостоятельную ходьбу (А. Rowald et al., 2022; М. L. Gill et al., 2018).

Однако, несмотря на многочисленные свидетельства, что в восстановлении функций спинного мозга после травмы могут участвовать нейронные сети, расположенные как выше, так и ниже эпикентра повреждения (J. S. Hakim et al., 2019; D. M. Inman, O. Steward, 2003), возможное влияние комбинированной ЭЭС в этих областях спинного мозга остаётся практически неизученным.

**Степень разработанности темы исследования.** Анализ известных способов нейромодуляции спинного мозга при ТСМ показывает, что существующие подходы преимущественно ориентированы на стимуляцию сегментов, расположенных ниже уровня повреждения. Для обеспечения возможности движений нижних конечностей электростимуляцию проводят с помощью эпидуральных электродов, устанавливаемых на уровне поясничного утолщения, что активирует центральный генератор паттерна шагания (ЦГП) (N. Wenger et al., 2014). Однако и в вышележащих отделах происходят ключевые процессы проявления нейропластичности: формирование новых синаптических связей и перестройка сохранившихся нейронных сетей, а это процессы обязательные для восстановления функциональных связей между супраспинальными двигательными центрами и отделами, расположенными ниже эпикентра травмы (Inman D. M., Steward O., 2003). Таким образом, отсутствие электростимуляции выше уровня повреждения существенно ограничивает нейрореабилитационный потенциал и не позволяет в полной мере реализовать возможности нейромодуляции при ТСМ. Указанные недостатки обуславливают необходимость разработки новых подходов комбинированной эпидуральной электростимуляции как ростральных (РС), так и каудальных (КС) относительно эпикентра нейротравмы сегментов.

Большинство экспериментов в области нейромодуляции при ТСМ выполнено на мелких лабораторных животных, что лимитирует трансляцию

полученных результатов в клиническую практику (G. Courtine, M. V. Sofroniew, 2019; I. Lavrov et al., 2008). Использование крупных животных, таких как свиньи, позволяет значительно адекватнее моделировать патофизиологию ТСМ у человека и испытывать новые способы лечения спинальной травмы с последующим их внедрением в практическую медицину (J. H. T. Lee et al., 2013; G. S. Miranpuri et al., 2018; Y. P. Gerasimenko et al., 2003; C. A. Cuellar et al., 2017; D. T. Schomberg et al., 2017).

Ранее был разработан метод для лечения контузионной травмы грудного отдела спинного мозга у свиней, основанный на применении двухуровневой эпидуральной электростимуляции с расположением стимулирующих электродов в шейном и поясничном сегментах спинного мозга (F. Fadeev et al., 2020). Было показано, что сочетанная стимуляция на уровнях C5 и L2 оказывает положительный эффект на посттравматическую нейрорегенерацию спинного мозга свиней. Однако недостатком данного метода явилась избыточность электростимуляции на уровне шейного утолщения (C5) для активации ЦПП, поскольку у свиней с грудной травмой сохраняется супраспинальный контроль над передними конечностями. Кроме того, дистальное расположение верхней точки стимуляции от эпицентра травмы вероятно может снижать эффективность формирования транстравматической нейронной сети.

**Цель исследования.** Изучить механизмы нейромодуляции спинного мозга мини-свиньи с неполной контузионной травмой в нижнегрудном отделе методом двухуровневой эпидуральной электростимуляции выше и ниже эпицентра нейротравмы в сочетании с двигательной тренировкой.

#### **Задачи исследования:**

1. Разработать протокол двухуровневой эпидуральной электростимуляции в модели на мини-свиньях с неполной контузионной травмой спинного мозга на уровне Th8-Th9, включающий в себя транстравматическую стимуляцию в области непосредственно прилегающей к эпицентру травмы (Th5) и на уровне центрального генератора паттерна шагания (L2) в сочетании с двигательной тренировкой на беговой дорожке.

2. Оценить влияние шестинедельной двухуровневой эпидуральной электростимуляции, сочетающейся с двигательной тренировкой, на поведенческий тест PTIBS и кинематику суставов задних конечностей свиней с неполной контузионной травмой спинного мозга.

3. Исследовать действие двухуровневой эпидуральной электростимуляции в течение 6 недель, сочетающейся с двигательной тренировкой, на электрофизиологические и морфологические характеристики скелетной мышцы задней конечности свиней с неполной контузионной травмой спинного мозга.

4. Изучить морфологические, клеточные и молекулярные изменения в спинном мозге свиней выше и ниже эпицентра нейротравмы через 6 недель двухуровневой эпидуральной электростимуляции в сочетании с двигательной тренировкой.

**Научная новизна.** С помощью поведенческих тестов, электрофизиологических и гистологических методов исследования установлена эффективность двухуровневой эпидуральной электростимуляции спинного мозга выше (Th5) и ниже (L2) уровня его неполной контузионной травмы в нижнегрудном отделе (Th8-Th9) у свиней в сочетании с двигательными тренировками на беговой дорожке, в сравнении с контрольными животными без ЭЭС. У опытных свиней с ТСМ двухуровневая ЭЭС в течение 6 недель приводила к лучшей сохранности серого вещества в прилегающем к эпицентру нейротравмы ростральном сегменте спинного мозга за счет снижения количества вступивших в апоптоз (Caspase3-положительных) клеток и уменьшения Hsp27-иммунопозитивной площади, соответствующей локализации белка теплового шока, что свидетельствует о нейропротекторном действии двухуровневой ЭЭС. Кроме того, у опытных животных в ростральном сегменте также выявлено большее, по сравнению с контрольными животными, количество миелинообразующих олигодендроглиальных клеток, что обеспечивает благоприятные условия для транстравматической регенерации аксонов. В каудальном сегменте у опытных животных обнаружено уменьшение Hsp27-иммунопозитивной площади и

снижение количества негативно влияющих на процессы регенерации клеток микроглии, участвующих в развитии астроглиоза и нейровоспаления. Важно отметить, что в условиях двухуровневой ЭЭС при стимуляции седалищного нерва показано восстановление характеристик М-ответа и Н-рефлекса камбаловидной мышцы, что сочеталось с сохранением массы и фенотипа этой мышцы, а также средней площади поперечного сечения мышечных волокон. Эти изменения хорошо согласуются с частичным восстановлением произвольной моторной активности в задних конечностях, что соответствует двум баллам по шкале поведенческого теста PTIBS.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Теоретическое значение работы подтверждается фундаментальными исследованиями механизмов действия двухуровневой ЭЭС в модели на свиньях с неполной контузионной ТСМ в нижнегрудном отделе на коррекцию негативных последствий нейротравмы. Двухуровневая ЭЭС в сочетании с двигательной тренировкой в течение 6 недель способствовала восстановлению произвольных движений в задних конечностях, что коррелирует с позитивными молекулярными и клеточными изменениями в спинном мозге свиней выше и ниже эпицентра нейротравмы и восстановлением морфологических, электрофизиологических и фенотипических характеристик скелетных мышц задних конечностей. Анализ результатов дает основание полагать, что двухуровневая ЭЭС способна модулировать ключевые механизмы, лежащие в основе нейропластичности спинного мозга, выражающиеся в его морфо-функциональном посттравматическом восстановлении.

Практическая значимость выполненного исследования заключается в разработке протокола двухуровневой ЭЭС и его практического применения в сочетании с двигательными тренировками на беговой дорожке в модели на свиньях с неполной контузионной травмой спинного мозга. Экспериментальное подтверждение позитивного действия двухуровневой ЭЭС на посттравматическое восстановление спинного мозга свидетельствует, что этот способ нейромодуляции способствует регенерации нервной ткани выше и ниже

эпицентра повреждения с определенными механизмами действия. Результаты исследования, полученные на свиньях, могут явиться обоснованием для разработки протокола способа нейрореабилитации пациентов с травмой спинного мозга с помощью двухуровневой ЭЭС и сформируют основу для его внедрения в практическую медицину.

**Методология и методы исследования.** Эксперимент выполнен на девяти самках вьетнамских вислобрюхих свиней весом 20-25 кг. Протокол экспериментальных исследований, включая анестезию, операционные вмешательства, послеоперационный уход и эвтаназию был одобрен на заседании Локального этического комитета Казанского государственного медицинского университета (протокол №10 от 20 декабря 2022 года). Работы диссертационного исследования были частично поддержаны грантом РНФ № 16-15-00010 по теме: «Клеточно-опосредованная генная терапия в сочетании с электростимуляцией при травме спинного мозга». За 2 недели до оперативных вмешательств животных обучали ходьбе на беговой дорожке. На первом этапе оперативных вмешательств свиньям подшивали стимулирующие электроды к твёрдой мозговой оболочке на уровне сегментов Th5 и L2. Через 1 неделю после имплантации электродов у всех животных между позвонками Th8 и Th9 моделировали неполную контузионную спинальную травму. Через 2 недели после ТСМ у опытных животных сочетали тренировку на беговой дорожке с ЭЭС по запатентованному протоколу (Патент РФ №2831229 «Способ нейромодуляции для лечения последствий травмы спинного мозга»). В течение 6 недель (через день по 30 мин) животным проводили утренний сеанс транстравматической электростимуляции выше места травмы на уровне Th5 и вечерний сеанс – ниже места травмы на уровне L2 для активации ЦПП шагания. Эффективность нейромодуляции спинного мозга после ТСМ в условиях двухуровневой ЭЭС изучали с помощью поведенческих тестов, электрофизиологических и гистологических методов исследования. Обработку первичных данных проводили в среде R версии 4.4.0.



**Положение, выносимое на защиту.** Двухуровневая эпидуральная электростимуляция спинного мозга свиней с неполной контузионной травмой в нижнегрудном отделе, включающая в себя транстравматическую стимуляцию в области, непосредственно прилегающей к эпицентру травмы, в комбинации со стимуляцией центрального генератора паттерна шагания в поясничной области и двигательной тренировкой приводит к коррекции негативных последствий спинальной травмы, что выражается в сохранности серого вещества спинного мозга в области повреждения, улучшении морфо-функциональных характеристик скелетных мышц и частичном восстановлении произвольной активности задних конечностей.

**Степень достоверности и апробация работы.** Поставленные в исследовании задачи решались с помощью современных поведенческих, электрофизиологических, гистологических и статистических методов. Все перечисленные методы исследования соответствуют общепринятым мировым критериям, что подтверждает достоверность и обоснованность полученных результатов.

Результаты исследования были доложены на 77-й международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов (Волгоград, 2019); IV национальном конгрессе по регенеративной медицине (Москва, 2019); IX международном молодежном научном медицинском форуме «Белые цветы» (Казань, 2022); X Международном молодежном научном медицинском форуме «Белые цветы» посвященном 150-летию С.С. Зимницкого (Казань, 2023); XI Международном молодежном научном медицинском форуме «Белые цветы» посвященном 150-летию Н.А. Семашко (Казань, 2024); XII международном молодежном научном медицинском форуме «Белые цветы» посвященном 250-летию К.Ф. Фукса (Казань, 2026); Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Москва, 2026).

Диссертационная работа апробирована на заседании научно-проблемной комиссии «Фундаментальные медицинские и биологические науки» ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России (Казань, 2026).

**Внедрение результатов исследования.** Результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс кафедры общей патологии и кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 13 печатных работ, из них 2 статьи в рецензируемых научных изданиях из перечня ВАК, 2 статьи в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в международных библиографических базах Scopus и WoS, 1 патент на изобретение.

**Личный вклад автора.** Диссертант лично принимал участие в планировании дизайна эксперимента, формулировании цели и задач исследования. Соискатель самостоятельно выполнил экспериментальную часть работы, проводил процедуры электростимуляции, электрофизиологические исследования, поведенческие тесты, забирал биологический материал, готовил гистологические препараты, анализировал и проводил статистическую обработку полученных данных, готовил к печати статьи и тезисы по результатам выполненных работ. Текст диссертации, положение, выносимое на защиту, и выводы исследования подготовлены лично диссертантом.

**Структура и объем диссертационной работы.** Диссертационная работа оформлена в соответствии с требованиями ГОСТ Р 7.0.11-2011.

Диссертационная работа содержит 131 страницу печатного текста, состоит из 4 глав, а именно введение, обзор литературы, материал и методы исследования, результаты собственного исследования, обсуждение результатов, заключение, выводы, список сокращений, список литературы и список иллюстративного материала. Диссертация включает в себя 4 таблицы, 22 рисунка. Список литературы содержит 189 источников.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Нейромодуляцию для патогенетической коррекции последствий травмы спинного мозга осуществляли посредством транстравматической двухуровневой эпидуральной электростимуляции ниже и выше места нейротравмы во время тренировки на беговой дорожке. У свиней до моделирования ТСМ в нижнегрудном отделе (Th8-Th9) имплантировали эпидуральные электроды выше нейротравмы на уровне Th5 и ниже – на уровне L2. Через 7-10 дней после моделирования нейротравмы ЭЭС спинного мозга проводили с помощью электростимулятора Digitimer DS7A через сутки в утренний сеанс на уровне Th5 для стимулирования формирования транстравматической нейронной сети и в вечерний сеанс – на уровне L2 для стимулирования ЦГП шагательных движений и восстановления проприоспинальной нейронной сети спинного мозга. Подопытные животные были разделены на следующие экспериментальные группы: контрольная – свиньи после контузионной ТСМ, проходившие двигательную реабилитацию на беговой дорожке ( $n = 3$ ); опытная группа – животные с ТСМ, проходившие двигательную реабилитацию на беговой дорожке в условиях двухуровневой ЭЭС ( $n = 3$ ); и интактная группа – здоровые животные ( $n = 3$ ) для сбора исходных результатов поведенческих, электрофизиологических и морфологических исследований. Животных выводили из эксперимента через 8 недель после ТСМ. Эвтаназию осуществляли под глубоким наркозом путем передозировки ингаляционного наркотического вещества. Эффективность двухуровневой ЭЭС у опытных животных с ТСМ оценивали в течение 6 недель с помощью поведенческих тестов двигательной активности, анализа кинематики суставов задних конечностей и электрофизиологических методов. Через 8 недель после ТСМ состояние спинного мозга выше и ниже эпицентра повреждения и камбаловидной мышцы изучали гистологическими методами исследования (Рисунок 1).

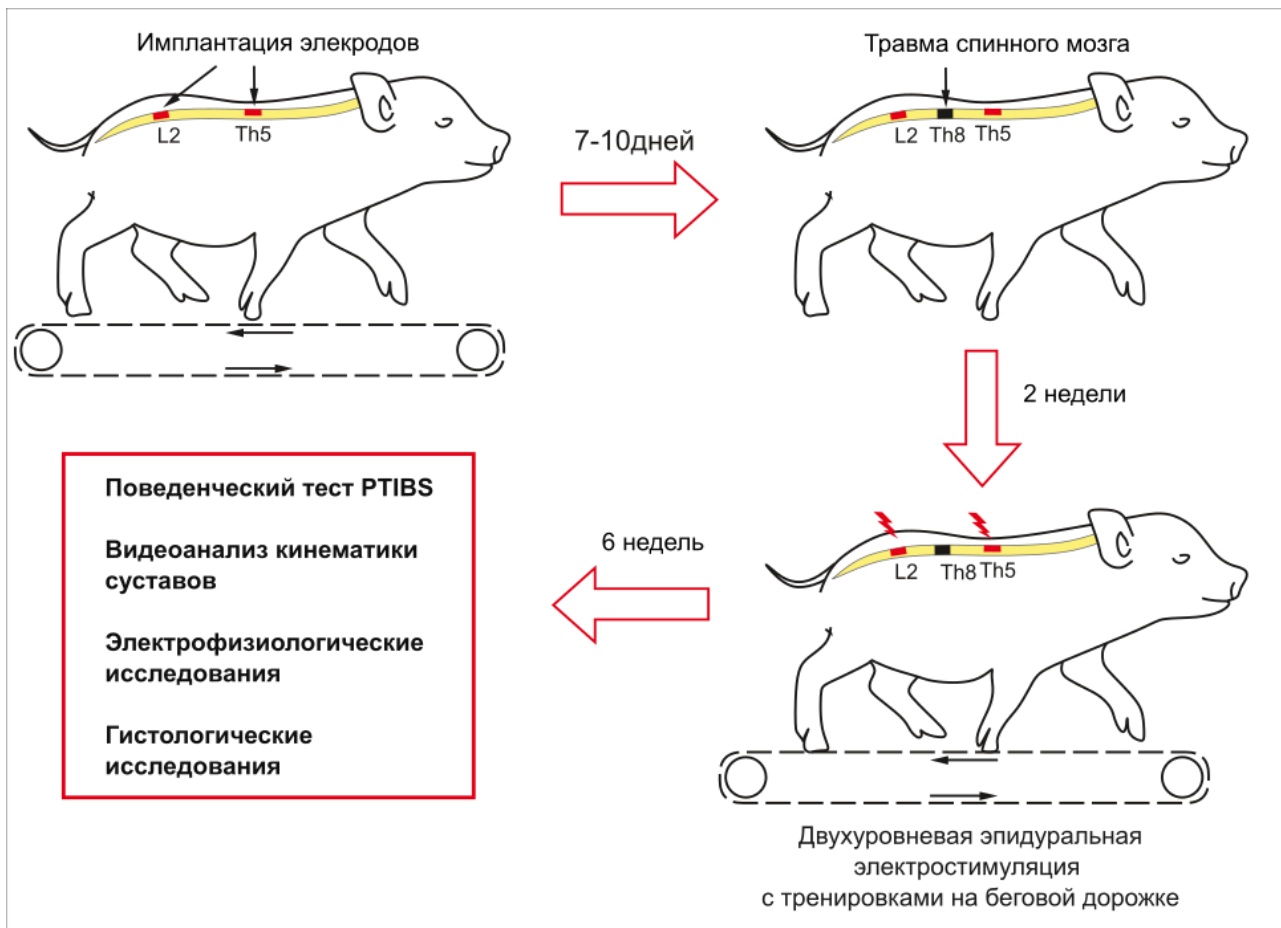


Рисунок 1– Дизайн эксперимента: на первом этапе исследования свиньям устанавливали электроды на грудном (Th5) и поясничном (L2) уровнях и обучали ходьбе на беговой дорожке; на втором этапе моделировали контузионную травму спинного мозга в нижнегрудном отделе (Th8-Th9); третий этап исследования начинали через 2 недели после разрешения спинального шока. В течение 6 недель животным проводили через сутки транстравматическую эпидуральную электростимуляцию на уровне Th5 в утренний сеанс и в вечерний сеанс ЭЭС на уровне L2. Эффективность восстановления локомоторного аппарата оценивали с помощью поведенческих тестов, электрофизиологических и гистологических методов исследования

Моторные вызванные потенциалы (МВП) регистрировали в левых камбаловидных мышцах подопытных животных во время ЭЭС на уровне Th5 и L2 сегментов спинного мозга до моделирования ТСМ и через 14 суток после операции (Рисунок 2). При стимуляции на уровне L2 до ТСМ зарегистрированы

ранний (РО), средний (СО) и поздний (ПО) ответы. Через 14 дней после ТСМ ранний ответ при стимуляции L2 отсутствовал, амплитуда среднего и позднего ответов была снижена. При стимуляции на уровне Th5 через 14 дней после ТСМ амплитуда МВП также снизилась по сравнению со значениями до моделирования нейротравмы, а форма ответа стала многокомпонентной. Сохранение регистрируемых ответов при стимуляции выше уровня травмы свидетельствует о том, что определённый уровень супраспинального влияния, прошедшего через зону повреждения, сохраняется, что создаёт основу для формирования транстравматической нейронной сети.

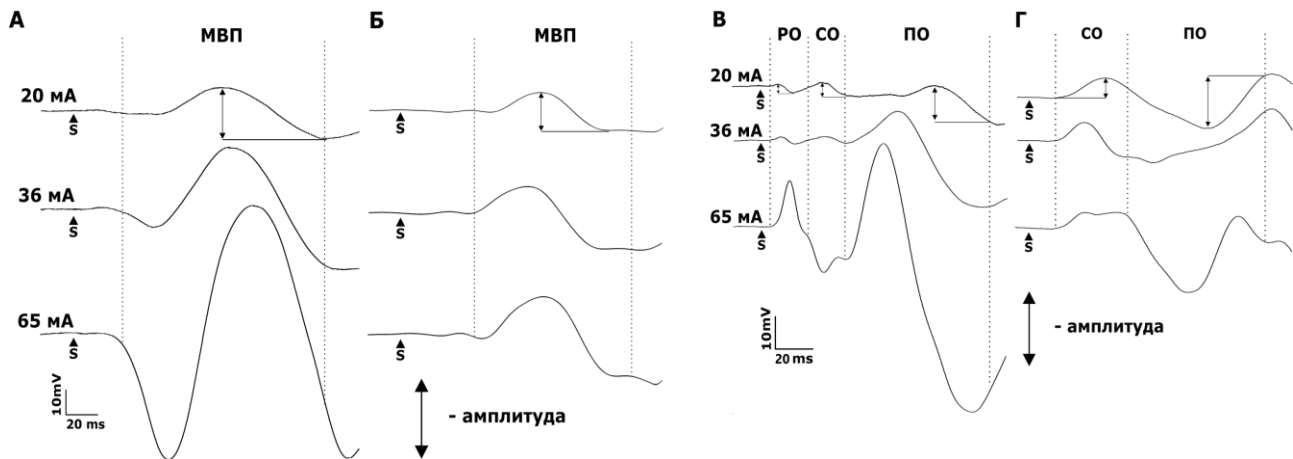


Рисунок 2 – Кривые моторных вызванных потенциалов камбаловидной мышцы, вызванные ЭЭС при различных силах тока: А) на уровне Th5 до ТСМ, Б) на уровне Th5 через 2 недели после ТСМ, В) на уровне L2 до ТСМ, Г) на уровне L2 через 2 недели после ТСМ. S-стимул

Через 8 недель после ТСМ у контрольных животных М-ответ камбаловидной мышцы имел многофазную форму, отражающую посттравматическую реорганизацию двигательных единиц на фоне атрофических изменений и их асинхронное вовлечение. Отсутствие Н-ответа, вероятно, связано с увеличением длительности М-ответа, вследствие чего его поздняя часть может накладываться на Н-ответ. В опытной группе кривая М-ответа была схожа с таковой до ТСМ, амплитуда превышала контрольные значения, что отражает синхронное вовлечение двигательных единиц. Численное

снижение амплитуды Н-ответа может указывать на снижение возбудимости соответствующих мотонейронов.

Кинематику тазобедренного, коленного и голеностопного суставов левой задней конечности анализировали во время ходьбы экспериментальных животных на беговой дорожке до моделирования ТСМ и на 4, 6 и 8-й неделях после операции. Видеоанализ объёма движений в исследуемых суставах через 4 недели после ТСМ у контрольных и опытных свиней обнаружил снижение амплитуды движений. Увеличение объёма движения в суставах происходило в обеих группах на 6 и 8-й неделях эксперимента, не достигая уровня значений, полученных до ТСМ. При этом более выраженное восстановление зарегистрировано в голеностопном суставе свиней опытной группы во время ЭЭС.

Оценка по 10-бальной шкале поведения свиньи при травме грудного отдела спинного мозга PTIBS у подопытных животных до моделирования ТСМ показала результат, соответствующий 10 баллам. Через 2 недели после нанесения нейротравмы у животных из обеих контрольной и опытной групп двигательная функция соответствовала 1 баллу (отсутствие активных движений задних конечностей, крестец и колени лежат на полу). У животных из опытной группы в условиях двухуровневой ЭЭС через 8 недель после спинальной травмы были зарегистрированы активные произвольные движения задних конечностей, а двигательная функция была оценена в  $2,33 \pm 0,58$  балла, что показывает тенденцию к улучшению в сравнении с контрольной группой ( $p = 0,099$ ).

Морфометрический анализ сохранности серого вещества не выявил статистически значимых различий между группами ( $p > 0,05$ ), однако отмечена тенденция к большей сохранности ткани в роstralных сегментах у опытных животных (75,47% против 71,91% в контроле). Отсутствие статистически значимых различий, вероятно, обусловлено индивидуальной вариабельностью и ограниченным объёмом выборки, однако данная тенденция позволяет предположить, что ЭЭС может замедлять процессы вторичной дегенерации.

Иммунофлуоресцентное исследование подтвердило положительное действие ЭЭС на сохранность серого вещества спинного мозга после TCM. В роstralных сегментах задних рогов спинного мозга количество Caspase3-положительных клеток в опытной группе было ниже ( $p = 0,008$ ) по сравнению контрольной. Анализ экспрессии Hsp27 также выявил нейропротекторный эффект: в передних рогах роstralных сегментов и задних рогах каудальных сегментов спинного мозга Hsp27-иммунопозитивная площадь была меньше, чем в контроле ( $p = 0,022$ ) (Таблица 1). Эти результаты свидетельствуют, что ЭЭС модулирует уровень клеточного стресса и подавляет апоптотические каскады в области нейротравмы.

Таблица 1 – Результаты иммунофлуоресцентного анализа экспрессии молекул клеточного стресса и апоптоза в спинном мозге

| Показатель                                                     | Сегмент | Группа   | Передние рога СМ     | Задние рога СМ       |
|----------------------------------------------------------------|---------|----------|----------------------|----------------------|
| Относительная Hsp27-позитивная площадь, %                      | Интакт  |          | 34,47 [34,07; 34,97] | 35,28 [34,35; 35,56] |
|                                                                | РС      | Контроль | 37,41 [36,80; 38,04] | 38,19 [38,01; 39,95] |
|                                                                |         | Опыт     | 31,62 [30,73; 31,84] | 36,68 [36,38; 37,24] |
|                                                                | КС      | Контроль | 40,65 [39,96; 41,78] | 42,12 [41,55; 42,75] |
|                                                                |         | Опыт     | 36,61 [35,47; 36,76] | 36,55 [35,58; 37,04] |
| Количество Caspase3-положительных клеток, 0,05 мм <sup>2</sup> | РС      | Контроль | 15,67 [14,83; 16,08] | 25,50 [24,25; 25,75] |
|                                                                |         | Опыт     | 12,50 [12,25; 13,00] | 13,50 [12,50; 13,50] |
|                                                                | КС      | Контроль | 17,00 [17,00; 17,50] | 23,50 [20,75; 24,75] |
|                                                                |         | Опыт     | 15,00 [14,50; 17,00] | 15,00 [14,50; 17,75] |

Двухуровневая ЭЭС также положительно влияла на ремоделирование нейроглии. В каудальных сегментах задних рогов обнаружена тенденция к снижению GFAP-позитивной площади у опытных животных по сравнению с контрольными ( $p = 0,144$ ), а количество Iba1-положительных клеток не отличалось от интактных, что указывает на противовоспалительный эффект ЭЭС и снижение нейротоксического компонента воспалительной реакции. Количество Olig2-положительных клеток в передних рогах роstralных

сегментов спинного мозга было выше в опытной группе ( $p = 0,049$ ), свидетельствуя о сохранении пула миелинообразующих клеток (Таблица 2). Таким образом, двухуровневая ЭЭС способствует благоприятному ремоделированию нейроглии, создавая условия для регенерации аксонов и восстановления утраченных нейронных связей.

Таблица 2 – Результаты иммунофлуоресцентного анализа реакции клеток нейроглии спинного мозга

| Показатель                                               | Сегмент | Группа   | Передние рога СМ     | Задние рога СМ       |
|----------------------------------------------------------|---------|----------|----------------------|----------------------|
| Относительная GFAP-позитивная площадь, %                 | Интакт  |          | 22,87 [22,71; 23,31] | 15,36 [14,51; 15,79] |
|                                                          | РС      | Контроль | 26,10 [25,65; 27,90] | 27,08 [26,63; 27,83] |
|                                                          |         | Опыт     | 27,60 [26,59; 29,75] | 25,98 [25,78; 27,11] |
|                                                          | КС      | Контроль | 25,83 [24,57; 25,84] | 26,81 [25,50; 27,47] |
|                                                          |         | Опыт     | 24,72 [24,31; 26,53] | 19,46 [19,20; 20,71] |
| Количество Olig2-позитивных клеток, 0,05 мм <sup>2</sup> | Интакт  |          | 34,00 [33,50; 36,12] | 43,25 [42,38; 44,62] |
|                                                          | РС      | Контроль | 21,50 [21,00; 22,25] | 24,00 [23,88; 25,50] |
|                                                          |         | Опыт     | 29,75 [27,88; 33,88] | 35,25 [32,88; 35,38] |
|                                                          | КС      | Контроль | 20,50 [20,00; 21,25] | 22,50 [22,25; 23,50] |
|                                                          |         | Опыт     | 25,67 [25,33; 26,83] | 28,00 [27,00; 28,62] |
| Количество Iba1-позитивных клеток, 0,05 мм <sup>2</sup>  | Интакт  |          | 21,00 [18,12; 21,50] | 22,50 [22,25; 25,25] |
|                                                          | РС      | Контроль | 29,75 [27,04; 30,12] | 31,00 [29,75; 33,00] |
|                                                          |         | Опыт     | 25,75 [23,88; 26,88] | 24,00 [23,25; 26,25] |
|                                                          | КС      | Контроль | 33,00 [32,50; 33,88] | 41,50 [38,50; 42,00] |
|                                                          |         | Опыт     | 26,75 [26,38; 28,12] | 29,60 [29,05; 30,80] |

Нейропротекторные эффекты двухуровневой ЭЭС на уровне спинного мозга также подтверждаются данными о лучшей сохранности скелетных мышц задних конечностей. Через 8 недель масса камбаловидной мышцы у контрольных животных была меньше, чем у интактных ( $p = 0,025$ ), тогда как у опытных – не отличалась от интактных значений ( $p = 0,655$ ). Площадь поперечного сечения мышечных волокон в опытной группе была больше, чем в контроле ( $p = 0,017$ ). Анализ фенотипа мышцы показал, что у интактных животных доля медленных



волокон (тип I) составляла 91,74%; в контроле она снизилась до 44,35% ( $p = 0,007$ ); в опытной группе сохранилась на уровне 70,37% ( $p = 0,180$  по сравнению с интактными). Полученные данные указывают на то, что двухуровневая ЭЭС не только предотвращает денервационную атрофию камбаловидной мышцы, но и способствует сохранению её фенотипического профиля.

Проблема терапии пациентов с негативными последствиями спинальной травмы остаётся одной из наиболее актуальных в практической медицине. Современные методы лечения ТСМ, ввиду сложности и недостаточной изученности процессов регенерации в ЦНС, относительно ограничены и направлены главным образом на более раннее хирургическое вмешательство и противовоспалительную терапию. Поэтому после выписки из стационара качество жизни пациентов с ТСМ напрямую зависит от своевременной, квалифицированной и комплексной нейрореабилитации. Одним из эффективных способов нейрореабилитации таких пациентов считается электрическая стимуляция спинного мозга. В настоящее время существует множество протоколов электростимуляции в зависимости от локализации и тяжести ТСМ с различной эффективностью на посттравматическое восстановление спинного мозга. Проведённое исследование на экспериментальной модели контузионной травмы спинного мозга в нижнегрудном отделе (Th8-Th9) у свиней продемонстрировало эффективность двухуровневой ЭЭС на уровне грудного Th5 и поясничного L2 сегментов в сочетании с двигательной тренировкой на беговой дорожке.

Применение разработанного протокола двухуровневой ЭЭС у животных с ТСМ в течение 6 недель привело к частичному восстановлению произвольных движений задних конечностей, что соответствовало двум баллам по шкале PTIBS. Электрофизиологический анализ подтвердил частичное восстановление характеристик М-ответа и появление Н-рефлекса камбаловидной мышцы при стимуляции седалищного нерва, что свидетельствует о реактивации мотонейронного пула и восстановлении рефлекторных дуг. На уровне скелетной мускулатуры двухуровневая ЭЭС спинного мозга предотвратила

денервационную атрофию камбаловидной мышцы, сохранив её массу и площадь поперечного сечения мышечных волокон, а также поддержала изначально медленный фенотип мышцы, критически важный для устойчивости к утомлению и постурального контроля.

Иммунофлуоресцентный анализ спинного мозга животных после ТСМ выявил нейропротекторный эффект двухуровневой ЭЭС. В ростральных сегментах, прилегающих к эпицентру травмы, установлено подавление апоптотического каскада (снижение количества Caspase3-положительных клеток) и уменьшение клеточного стресса (снижение экспрессии Hsp27). Электростимуляция способствовала благоприятному remodelированию нейроглии, о чем свидетельствовала тенденция к сдерживанию астроглиоза в каудальном сегменте (снижение количества клеток микроглии), а также сохранение популяции олигодендроглиальных клеток в ростральном сегменте, что создаёт хорошие предпосылки для регенерации аксонов через эпицентр повреждения и формирования транстравматической нейронной сети.

Таким образом, двухуровневая ЭЭС спинного мозга животных после ТСМ, направленная на анатомо-функциональное интегрирование сегментов выше и ниже уровня повреждения, препятствует развитию ключевых патогенетических звеньев вторичного повреждения спинного мозга. Сочетанное действие ЭЭС поясничного утолщения для активации центрального генератора паттерна шагания и транстравматической ЭЭС непосредственно выше уровня нейротравмы для стимулирования регенерации аксонов через область повреждения и формирования транстравматической нейронной сети обеспечивает нейромодулирующий эффект, выражающийся в положительных молекулярных и клеточных изменениях в сером веществе спинного мозга, сохранности морфо-функциональных характеристик скелетных мышц и, как следствие, частичное восстановление двигательной активности задних конечностей (Рисунок 3). Разработанный подход демонстрирует высокий трансляционный потенциал и может служить основой для внедрения новых протоколов нейрореабилитации пациентов с ТСМ.

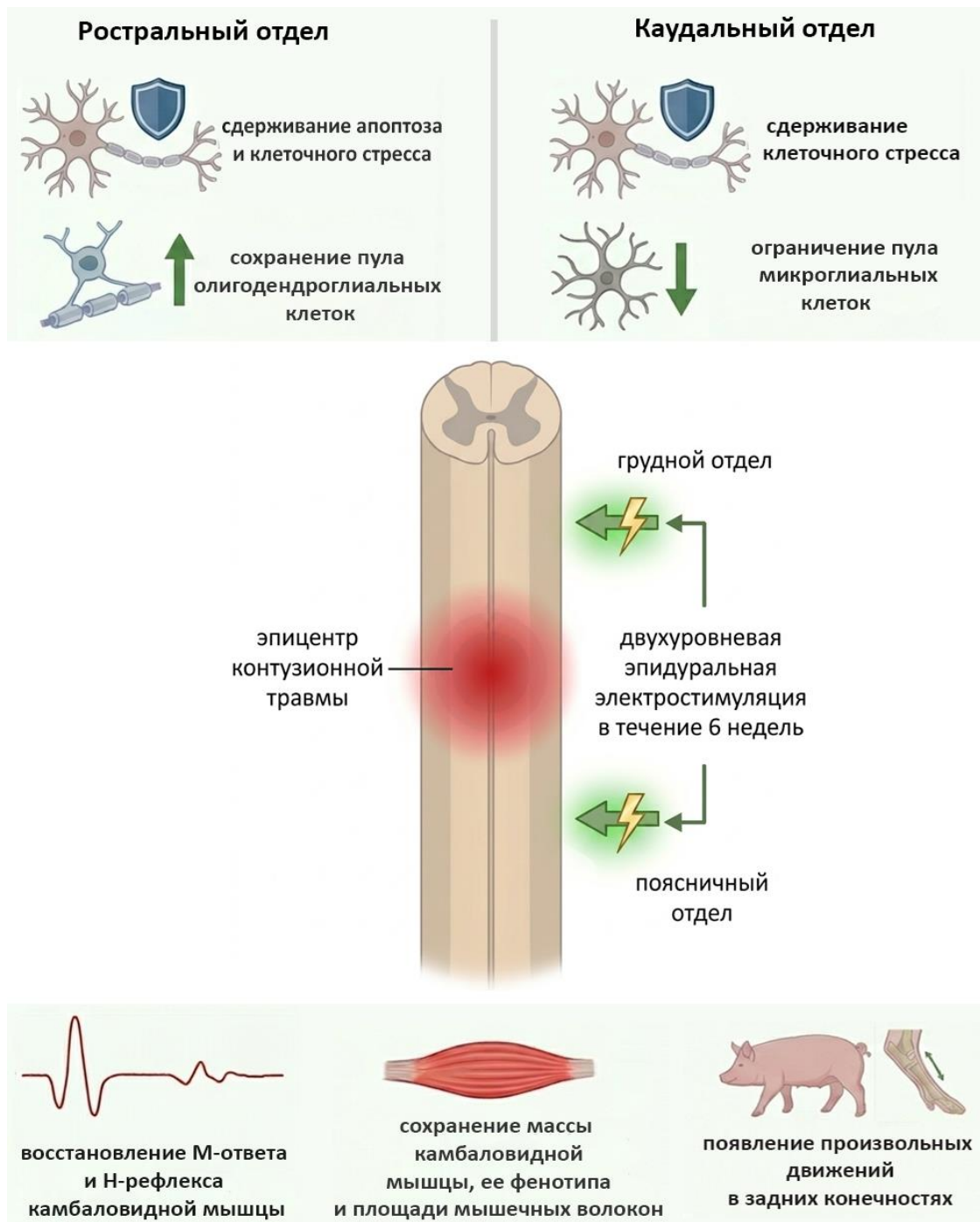


Рисунок 3 – Транстректальная эпидуральная электростимуляция в области, непосредственно прилегающей к эпицентру травмы, в комбинации со стимуляцией центрального генератора паттерна шагания в поясничной области и двигательными тренировками на беговой дорожке оказывает положительное действие на патофизиологические аспекты контузионной травмы спинного мозга. Сдерживание вторичных повреждений в спинном мозге выше и ниже эпицентра повреждения позитивно влияет на восстановление локомоторного аппарата

## ВЫВОДЫ

1. В модели на свиньях с неполной контузионной травмой спинного мозга на уровне Th8-Th9 разработан новый протокол двухуровневой эпидуральной электростимуляции. Двухуровневую эпидуральную электростимуляцию спинного мозга начинают через 2 недели после нейротравмы и проводят в течение 6 недель в сочетании с двигательной тренировкой на беговой дорожке. Двухуровневая эпидуральная электростимуляция проводится отдельно: утренний сеанс включает в себя транстравматическую эпидуральную электростимуляцию на уровне Th5, в области, непосредственно прилегающей к эпицентру нейротравмы с целью формирования транстравматической нейронной сети, и в вечерний сеанс – на уровне центрального генератора паттерна шагания (L2) для активации движений задних конечностей.

2. У свиней с неполной контузионной травмой спинного мозга двухуровневая эпидуральная электростимуляция, сочетающаяся с двигательной тренировкой, в течение 6 недель способствует частичному восстановлению произвольных движений задних конечностей, что соответствует двум баллам по шкале поведенческого теста PTIBS.

3. У свиней с неполной контузионной травмой спинного мозга через шесть недель двухуровневой эпидуральной электростимуляции, сочетающаяся с двигательной тренировкой, в камбаловидной мышце происходит восстановление характеристик М-ответа и Н-рефлекса при сохранности массы мышцы, ее фенотипа и средней площади поперечного сечения мышечных волокон.

4. У свиней с неполной контузионной травмой спинного мозга двухуровневая эпидуральная электростимуляция в сочетании с двигательной тренировкой в течение 6 недель сдерживала развитие негативных последствий спинальной травмы в прилегающих к эпицентру повреждения областях. В ростральном сегменте спинного мозга лучшая сохранность серого вещества обусловлена снижением количества вступивших в апоптоз (Caspase3-положительных) клеток, уменьшением Hsp27-иммунопозитивной площади, соответствующей локализации белка теплового шока, и бóльшим количеством

миелинообразующих олигодендроглиальных клеток, что обеспечивает благоприятные условия для формирования транстравматической нейронной сети. В каудальном сегменте у опытных животных обнаружено уменьшение Hsp27-иммунопозитивной площади и сдерживание роста количества негативно влияющих на процессы регенерации клеток микроглии, участвующих в развитии астроглиоза и нейровоспаления.

### **Перспективы дальнейшей разработки темы**

Полученные результаты открывают несколько направлений для углубления исследований в области транстравматической нейромодуляции. Приоритетным представляется оптимизация параметров электростимуляции, в частности внедрение систем, способных корректировать частоту и амплитуду импульсов в реальном времени. Параллельно целесообразно проведение долгосрочных наблюдений для оценки устойчивости терапевтического эффекта на хронических стадиях травмы (6–12 месяцев), что позволит определить оптимальную продолжительность курса ЭЭС. Повышение статистической мощности исследования за счёт увеличения выборки и стандартизации протокола станет важным шагом для обеспечения воспроизводимости данных в многоцентровых доклинических исследованиях. Перспективным также является изучение комбинированных подходов, сочетающих ЭЭС с фармакологической, генной или клеточной терапией, направленными на модуляцию нейровоспаления, усиление регенерации аксонов и формирования утраченных нейронных связей.

Накопленный экспериментальный опыт создаёт предпосылки для разработки рекомендаций по трансляции метода в клиническую практику: инициирование пилотных исследований у пациентов с грудной локализацией травмы спинного мозга позволит оценить безопасность, переносимость и функциональную эффективность двухуровневой эпидуральной стимуляции в период нейрореабилитации.

### Публикации по теме диссертации

1. Combined Supra- and Sub-Lesional Epidural Electrical Stimulation for Restoration of the Motor Functions after Spinal Cord Injury in Mini Pigs / F. Fadeev, A. Ereemeev, F. Bashirov, **R. Shevchenko** [et al.] // Brain Sciences. – 2020. – Vol. 10, № 10. – P. 744.
2. Epidural Stimulation Combined with Triple Gene Therapy for Spinal Cord Injury Treatment / R. Islamov, F. Bashirov, F. Fadeev, **R. Shevchenko** [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – Vol. 21, № 22. – P. 8896.
3. **Способ нейромодуляции для лечения последствий травмы спинного мозга** : патент 2831229 Российская Федерация : МПК А61N1/18 / Р. Р. Исламов, А. А. Измайлов, И. А. Лавров, В. А. Маркосян, Ф. О. Фадеев, **Р. В. Шевченко** ; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО Казанский государственный медицинский университет Минздрава России. – № 2023113144 ; заявл. 19.05.2023 ; опубл. 02.12.2024.
4. **Транстравматическая эпидуральная электростимуляция спинного мозга в модели на свиньях** / **Р. В. Шевченко**, Ф. О. Фадеев, А. А. Измайлов [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2023. – Т. 175, № 1. – С. 10–15.
5. **Транстравматическая эпидуральная электростимуляция способствует сохранности спинного мозга и скелетных мышц у свиней** / **Р. В. Шевченко**, Р. Р. Гарифулин, В. В. Валиуллин [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2024. – Т. 178, № 10. – С. 516–520.
6. Изучение эффективности клеточно-опосредованной генной терапии в сочетании с эпидуральной электростимуляцией на морфо-функциональное восстановление спинного мозга мини-свиньи с контузионной травмой / Р. Р. Исламов, Ф. О. Фадеев, **Р. В. Шевченко** [и др.] // Гены и клетки. – 2019. – Т. 14, № 1. – С. 103.
7. Functional recovery of mini-pigs with spinal cord injury due to epidural spinal cord electrical stimulation combined with ex vivo triple gene therapy / I. Salafutdinov, F. Fadeev, A. Izmailov, A. Ereemeev, F. Bashirov, M. Sokolov, **R. Shevchenko** [et al.] // European Journal of Clinical Investigation. – 2019. – Vol. 49. – P. 167.
8. Влияние клеточно-опосредованной генной терапии в сочетании с эпидуральной электростимуляцией на ремоделирование спинного мозга после контузионной травмы у мини-свиней / М. И. Осипов, Р. Р. Латфуллина, **Р. В. Шевченко** [и др.] // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины: материалы конференции. – Волгоград, 2019. – С.507.
9. **Шевченко, Р. В.** Влияние двухуровневой эпидуральной электростимуляции в сочетании с генной терапией на электрофизиологические характеристики скелетной мышцы задней конечности мини-свиньи с травмой грудного отдела спинного мозга / **Р. В. Шевченко**, А. Р. Алукаев, Ю. А. Калистратова // VIII Международный молодёжный научный медицинский форум «Белые цветы»: сборник тезисов. – Казань, 2021. – С. 900-901.

10. **Шевченко, Р. В.** Эпидуральная электростимуляция выше контузионной травмы спинного мозга как метод оценки электрофизиологических показателей проводящей системы спинного мозга у мини-свиней / **Р. В. Шевченко**, Ю. А. Калистратова // IX Международный молодёжный научный медицинский форум «Белые цветы»: сборник тезисов. – Казань, 2022. – С. 263.
11. **Шевченко, Р. В.** Электромиографические показатели камбаловидной мышцы после гемисекции спинного мозга у мини-свиней / **Р. В. Шевченко** // X Международный молодёжный научный медицинский форум «Белые цветы»: сборник тезисов. – Казань, 2023. – С. 1179.
12. **Шевченко, Р. В.** Кинематика суставов задних конечностей у свиней после моделирования травмы спинного мозга по типу гемисекции / **Р. В. Шевченко**, Ф. О. Фадеев, И. С. Минязева // XI Международный молодёжный научный медицинский форум «Белые цветы»: сборник тезисов. – Казань, 2024. – С. 550.
13. **Шевченко, Р. В.** Влияние транстравматической эпидуральной электростимуляции спинного мозга на нейрофизиологические показатели и восстановление двигательной функции у мини-свиней / **Р. В. Шевченко**, М. А. Давлеева, С. Р. Мустахимов // XIII Международный молодёжный научный медицинский форум «Белые цветы»: сборник тезисов. – Казань, 2026. – С. 1724.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

|         |                                                                  |
|---------|------------------------------------------------------------------|
| КС      | каудальный сегмент                                               |
| М-ответ | моторный ответ                                                   |
| МВП     | моторный вызванный потенциал                                     |
| РС      | ростральный сегмент                                              |
| СМ      | спинной мозг                                                     |
| ТСМ     | травма спинного мозга                                            |
| ЦГП     | центральный генератор паттерна шагания                           |
| ЭЭС     | эпидуральная электростимуляция                                   |
| GFAP    | глиальный фибриллярный кислый белок                              |
| Hsp27   | белок теплового шока 27 кДа                                      |
| Iba1    | ионизированная кальций-связывающая адаптерная молекула 1         |
| L       | поясничные позвонки                                              |
| Olig2   | фактор транскрипции олигодендроцитов 2                           |
| PTBS    | шкала поведения свиньи при травме грудного отдела спинного мозга |
| Th      | грудной позвонок                                                 |