

# ВОЗМОЖНОСТИ КОЛЛАГЕНСОДЕРЖАЩЕГО ГИДРОГЕЛЯ В ВОССТАНОВЛЕНИИ НЕРВНОЙ ТКАНИ ПРИ ТРАВМАХ ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ



А.Г. Соколов<sup>1</sup>



Н.В. Перова<sup>2</sup>



М.А. Страхов<sup>3</sup>



В.И. Севастьянов<sup>4</sup>

<sup>1</sup> д. м. н., врач-хирург высшей категории, медицинский директор АО «БИОМИР сервис», Москва, Россия

<sup>2</sup> д. б. н., генеральный директор АО «БИОМИР сервис», Москва, Россия

<sup>3</sup> к. м. н., доцент кафедры травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии педфака ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России; доцент кафедры травматологии и ортопедии АПО ФНКЦ ФМБА России, Москва, Россия

<sup>4</sup> д. б. н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, директор АНО «ИМБИИТ», Москва, Россия

За последние десятилетия научный и технологический прогресс привёл к широкому внедрению биотехнологий в клиническую медицину. Изучены основные механизмы развития травматической болезни спинного мозга и предложено множество методов восстановления его функции, обсуждению которых и посвящён данный обзор

**Т**равма спинного мозга (ТСМ) — одно из наиболее тяжёлых травматических заболеваний. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ежегодно во всём мире ТСМ получают около 40 млн человек, большинство из них — молодые мужчины в возрасте от 20 до 35 лет. Повреждения позвоночника и спинного мозга являются основной причиной инвалидности, поражающей преимущественно молодых здоровых людей, с важными социально-экономическими последствиями, а затраты на пожизненный уход и реабилитацию превышают один миллион долларов США на одного пациента, не считая финансовых потерь, связанных с заработной платой и производительностью [1]. Пациентам с ТСМ требуется специализированная медицинская по-

мощь и длительная реабилитация. Текущие стратегии лечения ТСМ включают раннюю хирургическую декомпрессию и фиксацию, использование вазопрессорных препаратов для повышения среднего артериального давления и улучшения перфузии спинного мозга, и применение кортикостероидов [2]. Кортикостероиды, такие как метилпреднизолон, вводятся в высоких дозах перорально или внутривенно для усиления высвобождения противовоспалительных цитокинов и снижения окислительного стресса. Кроме того, для лечения отёка позвоночника часто используются дегидратирующие средства, такие как внутривенное введение маннита или фуросемида. Однако терапевтический эффект вышеупомянутых хирургических и фармакологических методов лечения не удовлетворяет ни врачей, ни пациентов, поскольку они не могут

принципиально решить проблему регенерации нервов и устранения неврологического дефицита.

## НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА ТРАВМЫ СПИННОГО МОЗГА

Механическая ТСМ приводит к разрыву нервных аксонов, вызывая серьёзное повреждение нервов, при этом эффективное клиническое лечение пока не предложено [3]. Ранние анатомические изменения — основная характеристика первичной травмы, тогда как вторичная травма является важным фактором, влияющим на степень и эффективность восстановления ТСМ. Первичное повреждение может вызвать немедленную гибель нейронов и повреждение тканей, а вторичное повреждение, связанное с развитием ишемии, эксайтотоксичности и неконтролируемой нейровоспалительной реакции [4, 5],

обычно приводит к необратимой дисфункции, некрозу и апоптозу нервных клеток [6].

Начальная острая фаза нейровоспаления характеризуется быстрой инфильтрацией нейтрофилов, моноцитов и лимфоцитов в месте повреждения ткани, сопровождающейся непрерывной генерацией цитотоксических молекул, в том числе активных форм кислорода (АФК), активного азота (RNS), протеиназы 3, катепсина G и эластазы 5, которые вносят значительный вклад во вторичную дегенерацию тканей [7]. Таким образом, периферические иммунные клетки вносят значительный и постоянный вклад в микроокружение нейровоспаления после ТСМ.

После повреждения спинного мозга циркулирующие хемокины CCL2 и CXCL10 способствуют миграции и активации макрофагов для восстановления в подострой стадии [8]. Белок-хемоаттрактант макрофагов (MCP-1) и другие цитокины, присутствующие в повреждённой ткани, способствуют восстановлению после ТСМ путём изменения полярности макрофагов [9]. После травмы спинного мозга большая часть микроглии поляризуется по фенотипу M1, высвобождая в больших количествах провоспалительные медиаторы, такие как фактор некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), индуцибельная синтаза оксида азота (iNOS), циклооксигеназа-2 (ЦОГ-2) и интерлейкин 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ). Эти факторы продлевают и усугубляют нейровоспалительный процесс, приводя к гибели или дисфункции соседних нейронов и препятствуя таким образом восстановлению ТСМ [1]. Клетки микроглии M1, такие как астроциты, нейроны и олигодендроциты, активируют IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  в течение нескольких часов [10]. Напротив, усиление поляризации микроглии по фенотипу M2 может уменьшить воспалительную реакцию в месте повреждения и

способствовать восстановлению травмы спинного мозга [1, 2]. После начальной воспалительной фазы индукция противовоспалительной и репаративной фаз регулируется воспалительными белками и хемокиновыми рецепторами в макрофагах и регуляторных T-лимфоцитах [11, 12].

Обломки миелина, поглощённые микрососудистыми эндотелиальными клетками, могут способствовать рекрутированию макрофагов и изменять фенотипические и функциональные свойства макрофагов после повреждения нейронов [13]. Во вторичной фазе нейровоспаления лимфоциты вызывают прекращающуюся дегенерацию тканей спинного мозга, которая происходит в течение нескольких месяцев. Инфильтрирующие периферические миелиодные клетки играют важную роль во вторичной фазе ТСМ. Уменьшение количества нейтрофилов, присутствующих в месте ушиба, способствует выздоровлению, а истощение макрофагов уменьшает повреждение тканей. Эти миелиодные клетки могут склоняться к более воспалительному фенотипу M1 из-за присутствия цитокинов, таких как TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$ , а также свободных радикалов. Кроме того, спонтанная демиелинизация может быть вызвана увеличением экспрессии TNF- $\alpha$  за счёт активации макрофагов и микроглии [14].

После ТСМ не существует спонтанной эффективно регулируемой индукции противовоспалительной и репаративной фазы, что приводит к хроническому цитотоксическому воспалительному состоянию, которое способствует вторичной дегенерации, тем самым ограничивая репарацию и функциональное восстановление [15, 16].

В спинном мозге инфильтрация моноцитов и поляризация дифференцировки резидентной микроглии в сторону M2 или другого фе-

нотипа репаративных макрофагов могут способствовать восстановлению ТСМ, одновременно ограничивая вторичное воспалительное повреждение [17]. Исследование ликвора показало увеличение содержания воспалительных биомаркеров спинномозговой жидкости и постоянное присутствие воспалительных клеток [18].

Таким образом, торможение регенерации нервов при заболевании обусловлено воспалительной реакцией в микроокружении (внеклеточном матриксе), образованием глиальных рубцов, потерей питательных факторов и белков миелина, нарушением кровотока, гибелью ткани спинного мозга, образованием каверн и другими неблагоприятными факторами [19–21].

#### ОРТОБИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В ЛЕЧЕНИИ ТРАВМЫ СПИННОГО МОЗГА

В последнее время новые методы лечения, такие как трансплантация клеток или нервов, стали горячими точками исследований [22]. Утраченные глиальные клетки и нейроны могут быть заменены трансплантированными клетками в производстве доступного для роста внеклеточного матрикса, влияющего на дифференцировку и выживаемость клеток, а также выделения ключевых нейротрофических факторов, которые регулируют локальное микроокружение [23]. Однако клеточная терапия не лишена ограничений. Например, низкая выживаемость трансплантированных клеток, нехватка доноров, отторжение трансплантата и этические проблемы ограничивают применение аутологичной или аллогенной трансплантации нервов для лечения ТСМ [24, 25].

В последние десятилетия широко изучается применение технологии биоинженерии нервной ткани для лечения ТСМ с использованием клеточно-инженерных (КИК) и тка-

неинженерных конструкций (ТИК) [26–28]. Цель биоинженерии нервной ткани на основе биоматериалов — создание функциональных структур для поддержки и управления регенерацией нервной ткани при повреждениях спинного мозга. Основными компонентами КИК/ТИК (далее — биоинженерных конструкций) нервной ткани являются: / матрицы (3D-носители, скаффолды) из резорбируемых биоматериалов синтетического и природного происхождения, выполняющих роль временного искусственного внеклеточного матрикса (ВКМ); / стволовые и/или специализированные клетки (например, клетки обонятельной оболочки); / биоактивные молекулы, способствующие пролиферации и дифференцировке клеток.

Проведённые исследования по имплантации обеспечивающих жизнеспособность трансплантированных клеток биоинженерных конструкций нервной ткани в повреждённую область нервной ткани показали возможность стимулировать репаративную регенерацию аксонов, что сопровождалось как снижением воспалительных процессов, так и тенденцией к образованию глиальных рубцов [29–31].

В соответствии с бионическим принципом и терапевтическими требованиями идеальный материал скаффолда для формирования КИК/ТИК должен обладать следующими свойствами:

- / высокая биосовместимость;
- / требуемые биомеханические параметры;
- / скорость деградации резорбируемых скаффолдов должна соответствовать скорости процессов регенерации и ремоделирования;
- / трёхмерная макро- и микроструктура (конфигурация, размер пор и величина пористости) должны имитировать роль нейронально-

го внеклеточного матрикса; / большое соотношение площади поверхности к объёму, способствующее адгезии и пролиферации клеток, а также клеточно-специфической экспрессии генов [32–35].

За последние 5-6 лет был написан ряд книг и обзоров, в которых представлена подробная информация о состоянии исследований в области разработки и применения однокомпонентных и многокомпонентных биоактивных гидрогелей на основе синтетических и/или биологических (природных) полимеров (биополимеров) в тканевой инженерии и регенеративной медицине [36–38]. Биополимеры, в дополнение к высокой степени биосовместимости, — это эффективные биостимуляторы для регенерации повреждённых тканей, создающие клеткам микроокружение, аналогичное ВКМ.

В зависимости от используемого сырья гидрогели делятся на три группы: природные, синтетические и гибридные, в состав которых входят биологические (природные) и синтетические полимеры [36–41]. В состав биополимерных гидрогелей в качестве основы внеклеточного матрикса могут входить компоненты животного (коллаген, желатин, фибриноген, гиалурионовая кислота, хитозан) и растительного (крахмал, целлюлоза, альгинат и др.) происхождения.

На данный момент проведено множество экспериментальных исследований по применению биоактивных гидрогелей для лечения ТСМ [42–49]. Сравнительно недавно появились исследования о перспективности применения многокомпонентных биологических гидрогелей, полученных из децеллюляризованных тканей, в том числе тканеспецифичного гидрогеля, полученного из децеллюляризованной ткани спинного мозга [50].

Биологические гидрогели могут способствовать регенерации аксонов, соединяя пучки аксонов, отделённые от повреждённой области, посредством аналогичного действия эндоневрия периферических нервов и мембраны нервных пучков, выживанию, пролиферации и миграции клеток, дифференциации нейрональных стволовых клеток в нейроны, уменьшая образование астроцитов [46]. В таблице 1 приведены примеры экспериментального применения природных гидрогелей при ТСМ.

Из-за сложного патологического механизма ТСМ более перспективно для лечения травм спинного мозга применение биоактивных гидрогелей в составе биоинженерных конструкций КИК/ТИК [62, 63], в том числе содержащих нейротрофические факторы [64]. Нейротрофические факторы в основном включают фактор роста нервов (NGF), нейротрофический фактор головного мозга (BDNF), нейротрофический фактор-3 (NT-3) и нейротрофический фактор-4 (NT-4). Исследования показали, что нейротрофические факторы могут улучшить выживаемость нейронов в области ТСМ, индуцировать дифференцировку стволовых клеток в нейрональные клетки, способствовать регенерации аксонов, тормозить апоптоз и способствовать дифференцировке клеток.

Z. Не с соавт. был разработан BDNF-модифицированный гидрогель из гиалурионовой кислоты и метилцеллюлозы (НАМС), влияние которого на стимуляцию регенерации нервов у крыс с ТСМ была существенно выше по сравнению с исходным гидрогелем [65, 66]. Использование гидрогеля с введённым в его состав BDNF у крыс с ТСМ позволило значительно улучшить неврологические функции, уменьшить экспрессию воспалительных цитокинов и кавитацию, а также

повысить выживаемость нейронов. Локальная концентрация, пространственное распределение и биологическая активность малых молекул играют важную роль в регуляции различного клеточного поведения. Было показано, что VEGF способствует пролиферации предшественников нейронов, а инъекции гидрогелей, нагруженных VEGF, в участки ТСМ значительно способствуют ангиогенезу и росту аксонов, способствуя восстановительному эффекту гидрогелей [67]. Кроме того, добавление трансформирующего фактора роста- $\beta$ 1 к гидрогелям стимулирует дифференцировку фибробластов в миофибробласты, что способствует

заживлению ран и развитию фиброза [64]. Таким образом, многочисленные исследования на моделях ТСМ животных показали, что биоактивные гидрогели способствуют улучшению локального микроокружения и дифференцировке нейрональных стволовых клеток, восстановлению аксонов, а также могут выступать в качестве носителя клеток и биомолекул [68–70]. К сожалению, на настоящий момент проведено мало клинических исследований по лечению пациентов с ТСМ с применением биоинженерных конструкций. Примером природного гидрогеля, разработанного российской компанией на основе экстрактов тканей

животных, является композиция гетерогенного имплантируемого геля СФЕРО®гель (АО «БИОМИР сервис», Россия), предназначенная как для замещения дефектов мягких тканей, так и для стимуляции регенерации в повреждённых тканях и органах [71–79]. Свойства этого многокомпонентного биологического гидрогеля — биомиметика ВКМ — достаточно хорошо изучены на доклиническом этапе [80], что позволило применить его на практике, в том числе при лечении пациентов с ТСМ при проведении ограниченных клинических исследований [80–81]. СФЕРО®гель имеет вид зернистого желеобразного вещества, пред-

ставляющего собой уникальный комплекс белков, в основном коллагена I и II типов, и гликозаминогликанов с преобладанием гиалуронатов [71, 72]. Многокомпонентный коллагенсодержащий экстракт (МКЭ) — основная составляющая гидрогеля СФЕРО®гель — в среднем содержит суммарное количество несвязанных аминокислот в 1,5 раза больше, чем в коллагене, в котором полностью отсутствуют несвязанные незаменимые аминокислоты треонин, лизин, а из заменимых аминокислот — серин и глицин. По сравнению с коллагеном в состав МКЭ входят такие незаменимые аминокислоты, как аргинин, валин и гистидин, а среди заменимых — глутаминовая кислота, пролин с оксипролином и цистеин. Многокомпонентные биомиметики ВКМ, в том числе СФЕРО®гель, относятся к вязкоупругим гидрогелям, у которых упругие свойства всегда преобладают над вязкостными. Благодаря этому при имплантации СФЕРО®гель сохраняет свою трёхмерную структуру, а его локализация в тканях и механические характеристики подстраиваются (механическая податливость) под механические параметры окружающих тканей [71]. Анализ микрочастиц коллагена в гидрогеле СФЕРО®гель методом атомно-силовой микроскопии (АСМ) выявил пористую структуру микрочастиц с размером пор 2–4 мкм, что является положительным свойством в процессах васкуляризации и иннервации тканевых инженерных структур [72, 79]. Исследование *in vivo* подтвердило, что гетерогенная природа гидрогеля СФЕРО®гель, а также преобладание упругих свойств над вязкостными свойствами увеличивает время его абсорбции. Через месяц после имплантации гидрогеля в подкожную жировую клетчатку крыс резорбции образца материала не выявлено. Через 3 месяца резорбируется не

более одной трети массы материала. Отметим, что время резорбции однородного коллагена составляет не более 2-3 недель [71, 79]. *In vitro* была показана способность гидрогеля СФЕРО®гель поддерживать процессы адгезии и пролиферации клеточных культур. Результаты культивирования стромальных фибробластоподобных клеток человека в присутствии гидрогеля СФЕРО®гель с визуализацией процессов с использованием витального красителя с помощью флуоресцентного микроскопа в онлайн-режиме показали, что через 3 суток культивирования на поверхности микрочастиц наблюдались скопления прилипших жизнеспособных фибробластоподобных клеток человека (длина ~20 мкм и ширина ~2-3 мкм). Через 7 суток культивирования клетки образовали монослой, полностью покрывающий поверхность микрочастиц [73, 79]. Доклинические исследования *in vivo* подтвердили высокую биосовместимость многокомпонентных гомогенных и гетерогенных многокомпонентных гидрогелей СФЕРО®гель [74, 79]. Показанная способность многокомпонентного микрогетерогенного гидрогеля СФЕРО®гель поддерживать адгезию, пролиферацию и дифференцировку клеток *in vitro* [73, 79] и *in vivo* [75, 79] дала основание использовать его в качестве биоактивного матрикса для создания клеточных и тканевых инженерных конструкций хряща [76, 79], поджелудочной железы [77, 79] и печени [78, 79]. Варьируя концентрацию коллагенсодержащего экстракта и количество микрочастиц коллагена, можно получить семейство биосовместимых многокомпонентных гидрогелевых биомиметиков ВКМ для различных областей применения, отличающихся концентрацией белка, соотношением гомогенных/

микрогетерогенных фаз и временем резорбции в тканях. На основании результатов проведённых доклинических исследований и успешного опыта клинического применения гидрогеля СФЕРО®гель [79], был разработан метод лечения пациентов с последствиями травм спинного мозга [80, 81], эффективность которого установлена в клиническом исследовании у пациентов с тяжёлой ТСМ. В исследование были включены 20 пациентов контрольной группы, получавшие традиционное хирургическое лечение (декомпрессионная ламинэктомия, микрохирургический радикуломиелолиз, дренирование интрадуральных кист, пластика ТМО). 30 пациентам основной группы в сроки от 1 до 16 лет после ТСМ в зону повреждения были имплантированы КИК, состоящие из микрогетерогенного гидрогеля СФЕРО®гель, нагруженного аутологичными клетками различного типа. Сравнение отдалённых результатов лечения пациентов двух групп в сроки до 2-х лет показало, что положительная динамика неврологического статуса выявлена у 45% пациентов основной группы, тогда как у пациентов контрольной группы неврологический статус не изменился. При неврологическом обследовании выявлено достоверное улучшение моторных функций конечностей у 45% пациентов, что подтверждено по данным электронейромиографии (ЭНМГ). Улучшение функции тазовых органов по данным комплексного уродинамического исследования отмечено у 29% пациентов [81]. Таким образом, применение клеточно-инженерной конструкции на основе композиции гетерогенного имплантируемого геля СФЕРО®гель позволило получить достоверный положительный клинический эффект у 45% пациентов с тяжёлой

Таблица 1

### Примеры экспериментального применения биополимерных и тканеспецифичных гидрогелей при ТСМ

Основа гидрогеля	Компоненты	Полученные результаты	Ссылка
<b>Пептиды</b>			
<b>Коллаген</b>	Низкомолекулярные препараты LDN193189, SB431542, SHIR99021 и P7C3-A20	Способствует дифференцировке эндогенных нейральных стволовых клеток (NSC) в нейроны и ингибирует их дифференцировку в астроциты	[51, 52]
<b>Желатин-метакрилат (GelMA)</b>	Носитель костно-мезенхимальных стволовых клеток (BMSC) и нервных стволовых клеток (NSC)	Способствует выживанию, пролиферации и миграции клеток, дифференциации NSC в нейроны, уменьшает образование астроцитов, способствует регенерации нейронов и аксонов, что приводило к значительному функциональному восстановлению в ранний период мышинной модели ТСМ	[53, 54]
<b>Фибрин</b>	Состоит из раствора фибриногена, смешанного с тромбином, наполненный нейрональными клетками-предшественниками (NSPC)	Индуктирует дифференцировку нервных стволовых клеток / клеток-предшественников (NSPC) в дофаминергические / норадренергические нейроны и синаптические белковые сети	[55]
<b>Полисахариды</b>			
<b>Гиалуроновая кислота</b>	Гидрогель HA, + антитело antiNgR, + микросферы (PLGA), содержащие BDNF и VEGF	Оказывает нейропротекторное действие на спинной мозг, уменьшая величину повреждения, уменьшает дезорганизованную рубцовую ткань и сохраняет нейроны вблизи и над очагом поражения, подавляет воспаление и глиальную гиперплазию	[56, 57]
<b>Хитозан</b>	Хитозан, альгинат и берберин	Способствует регенерации и миелинизации аксонов, которые покрываются эндогенными шванновскими клетками, которые мигрируют в место повреждения, регулирует воспалительную реакцию в месте повреждения и улучшает местную микросреду	[58, 59]
<b>Гепарин</b>	<b>Гидрогель гепарина</b> , наполненный bFGF и стволовыми клетками пульпы зуба (DPSC)	Регулирует воспалительную реакцию, ускоряет регенерацию нервов и ингибирует пролиферацию и активацию микроглии/макрофагов	[60]
<b>Альгинат</b>	Альгинатный гидрогель, засеянный шванновскими клетками + BDNF	Значительно увеличивает количество регенерирующих аксонов	[61]
<b>Гидрогель из децеллюляризованной ткани</b>			
Гидрогель, полученный из децеллюляризованной ткани спинного мозга (DSCM-гель)	Содержит факторы роста, FGF2, трансформирующий фактор роста $\beta$ (TGF- $\beta$ ) и VEGF	Обеспечивает регенеративную трёхмерную микросреду, которая улучшает выживаемость, пролиферацию и миграцию NSC/NSPC, а также способствует дифференцировке нейронов и образованию синапсов в NSPC	[50]

травматической болезнью спинного мозга даже в тех случаях, когда все традиционные методы и подходы лечения практически неэффективны.

Положительный эффект композиции гетерогенного имплантируемого геля *СФЕРО*<sup>®</sup>гель отмечен при применении у пациентов с повреждением периферических нервов [82]. В эксперименте на животных было убедительно показано, что *СФЕРО*<sup>®</sup>гель стимулирует макрофагальную реакцию в области сшивания нерва, в связи с чем создаются предпосылки для формирования более рыхлой рубцовой ткани, более эффективной регенерации и улучшения прорастания аксонов через область анатомического повреждения нерва. При лечении 20 пациентов с травматическими повреждениями периферических нервов на основании клинико-неврологических данных, нейроэлектрофизиологических исследований и методов нейровизуализации (УЗИ, МРТ) показана высокая эффективность применяемого метода хирургического лечения в восстановлении функции повреждённых нервов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Повреждения спинного мозга относятся к одним из наиболее тяжёлых травматических заболеваний, общепринятые в настоящее время методы терапии которых не удовлетворяют ни врачей, ни пациентов. За последние годы получены фундаментальные знания о механизмах развития травматической болезни спинного мозга, с учётом которых наблюдается определённый прогресс в разработке инновационных ортобиологических методов лечения ТСМ. Наиболее обнадеживающие результаты *in vitro*, в экспериментальных моделях ТСМ *in vivo* и при проведении немногочисленных клинических исследований были получены для клеточно-инженерных

конструкций, в которых имплантируемым носителем трансплантированных клеток служат многокомпонентные биополимерные или тканеспецифические гидрогелевые миметики ВКМ.

Полученные результаты экспериментальных и клинических исследований дают основания надеяться на потенциальную эффективность клинического применения как самих многокомпонентных биополимерных и тканеспецифических гидрогелей, так и в составе биоинженерных конструкций для стимуляции регенеративных процессов в нервных тканях пациентов с ТСМ.

## Литература

- Van Den Hauwe L, Sundgren PC, Flanders AE. Spinal Trauma and Spinal Cord Injury (SCI). 2020 Feb 15. In: Hodler J, Kubik-Huch RA, von Schulthess GK, editors. Diseases of the Brain, Head and Neck, Spine 2020–2023: Diagnostic Imaging [Internet]. Cham (CH): Springer; 2020. Chapter 19. PMID: 32119240
- Karsy M, Hawryluk G. Modern medical management of spinal cord injury. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2019; 19:65. <https://doi.org/10.1007/s11910-019-0984-1>
- Arac D, Erdi MF, Keskin F, et al. Neuroprotective Effects of Milrinone on Experimental Acute Spinal Cord Injury: Rat Model. *World Neurosurg*. 2021; 147:e225–e233. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2020.12.021>
- David S, Greenhalgh AD, Lopez-Vales R. Role of phospholipase A2s and lipid mediators in secondary damage after spinal cord injury. *Cell Tissue Res*. 2012; 349:249–267. <https://doi.org/10.1007/s00441-012-1430-8>
- Ahuja CS, Fehlings M. Concise Review: Bridging the Gap: Novel Neuroregenerative and Neuroprotective Strategies in Spinal Cord Injury. *Stem Cells Transl Med*. 2016; 5(7):914–924. <https://doi.org/10.5966/sctm.2015-0381>
- Hachem LD, Ahuja CS, Fehlings MG. Assessment and Management of Acute Spinal Cord Injury: From Point of Injury to Rehabilitation. *J Spinal Cord Med*. 2017; 40(6):665–675. <https://doi.org/10.1080/10790268.2017.1329076>
- Pineau I, Sun L, Bastien D, Lacroix S. Astrocytes initiate inflammation in the injured mouse spinal cord by promoting the entry of neutrophils and inflammatory monocytes in an IL-1 receptor/MyD88-dependent fashion. *Brain Behav Immun*. 2010; 24:540–553. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2009.11.007>
- Mordillo-Mateos L, Sanchez-Ramos A, Coperchini F, et al. Development of chronic pain in males with traumatic spinal cord injury: role of circulating levels of the

chemokines CCL2 and CXCL10 in subacute stage. *Spinal Cord*. 2019; 57:953–959. <https://doi.org/10.1038/s41393-019-0311-3>

- Matsubara K, Matsushita Y, Sakai K, et al. Secreted ectodomain of sialic acid-binding Ig-like lectin-9 and monocyte chemoattractant protein-1 promote recovery after rat spinal cord injury by altering macrophage polarity. *J Neurosci*. 2015; 35:2452–2464. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4088-14.2015>
- Bastien D, Bellver Landete V, Lessard M, et al. IL-1alpha gene deletion protects oligodendrocytes after spinal cord injury through upregulation of the survival factor Tox3. *J Neurosci*. 2015; 35:10715–10730. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0498-15.2015>
- Ying S, Meng Q, Barata LT, Kay AB. Macrophage inflammatory protein-1alpha and C-C chemokine receptor-1 in allergen-induced skin late-phase reactions: relationship to macrophages, neutrophils, basophils, eosinophils and T lymphocytes. *Clin Exp Allergy*. 2001; 31:1724–1731. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2222.2001.01232.x>
- Denney L, Kok WL, Cole SL, et al. Activation of invariant NKT cells in early phase of experimental autoimmune encephalomyelitis results in differentiation of Ly6Chi inflammatory monocyte to M2 macrophages and improved outcome. *J Immunol*. 2012; 189:551–557. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1103608>
- Zhou T, Zheng Y, Sun L, et al. Microvascular endothelial cells engulf myelin debris and promote macrophage recruitment and fibrosis after neural injury. *Nat Neurosci*. 2019; 22:421–435. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0324-9>
- Bsibsi M, Peferoen LA, Holtman IR, et al. Demyelination during multiple sclerosis is associated with combined activation of microglia/macrophages by IFN-gamma and alpha B-crystallin. *Acta Neuropathol*. 2014; 128:215–229. <https://doi.org/10.1007/s00401-014-1317-8>
- David S, Kroner A. Repertoire of microglial and macrophage responses after spinal cord injury. *Nat Rev Neurosci*. 2011; 12:388–399. <https://doi.org/10.1038/nrn3053>
- Popovich PG, Guan Z, McGaughey V, et al. The neuropathological and behavioral consequences of intraspinal microglial/macrophage activation. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2002; 61:623–633. <https://doi.org/10.1093/jnen/61.7.623>
- Kigerl KA, Gensel JC, Ankeny DP, et al. Identification of two distinct macrophage subsets with divergent effects causing either neurotoxicity or regeneration in the injured mouse spinal cord. *J Neurosci*. 2009; 29:13435–13444. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3257-09.2009>
- Dalkilic T, Fallah N, Noonan VK, et al. Predicting injury severity and neurological recovery after acute cervical spinal cord injury: a comparison of cerebrospinal fluid and magnetic resonance imaging biomarkers. *J Neurotrauma*. 2018; 35:435–445. <https://doi.org/10.1089/neu.2017.5357>
- Hellenbrand DJ, Reichl KA, Travis BJ, et al. Sustained Interleukin-10 Delivery Reduces Inflammation and Improves Motor Function after Spinal Cord Injury. *J Neuroinflammation*. 2019; 16(1):93. <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1479-3>
- Li X, Li M, Tian L, et al. Reactive Astroglia: Implications in Spinal Cord Injury Progression and Therapy. *Oxid Med Cell Longev*. 2020; 9494352. <https://doi.org/10.1155/2020/9494352>
- Perrouin-Verbe B, Lefevre C, Kieny P, et al. Spinal Cord Injury: A Multisystem Physiological Impairment/dysfunction. *Rev Neurol*. 2021; 177(5):594–605. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2021.02.385>
- Gao L, Peng Y, Xu W, et al. Progress in Stem Cell Therapy for Spinal Cord Injury. *Stem Cells Int*. 2020; 1–16. <https://doi.org/10.1155/2020/2853650>
- Zavvarian MM, Toossi A, Khazaei M, et al. Novel Innovations in Cell and Gene Therapies for Spinal Cord Injury. 2020; 9(F1000):279. <https://doi.org/10.12688/f1000research.21989.1>
- Gazdic M, Volarevic V, Harrell CR, et al. Stem Cells Therapy for Spinal Cord Injury. *Int J Mol Sci*. 2018; 19(4):1. <https://doi.org/10.3390/ijms19041039>
- Cofano F, Boido M, Monticelli M, et al. Mesenchymal Stem Cells for Spinal Cord Injury: Current Options, Limitations, and Future of Cell Therapy. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(11):2698. <https://doi.org/10.3390/ijms20112698>
- Abbas WA, Ibrahim M. E, El-Taggar M, et al. Recent Advances in the Regenerative Approaches for Traumatic Spinal Cord Injury: Materials Perspective. *ACS Biomater Sci Eng*. 2020; 6(12):6490–6509. <https://doi.org/10.1021/acsbomaterials.0c01074>
- Bedir T, Ulag S, Ustundag CB, Gunduz O. 3D Bioprinting Applications in Neural Tissue Engineering for Spinal Cord Injury Repair. *Mater Sci Eng C Mater Bio Appl*. 2020; 110:110741. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.110741>
- Xi K, Gu Y, Tang J, et al. Microenvironment-responsive Immunoregulatory Electrospun Fibers for Promoting Nerve Function Recovery. *Nat Commun*. 2020; 11(1):4504. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18265-3>
- Courtine G, Sofroniew MV. Spinal Cord Repair: Advances in Biology and Technology. *Nat Med*. 2019; 25(6):898–908. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0475-6>
- Sousa J, Stratakis E, Mano J, Marques P. Anisotropic 3d scaffolds for spinal cord guided repair: current concepts. *Biomater Adv*. 2023; 148:213353. <https://doi.org/10.1016/j.bioadv.2023.213353>
- Szymoniuk M, Mazurek M, Dryla A, Kamieniak P. The application of 3D-bioprinted scaffolds for neuronal regeneration after traumatic spinal cord injury – a systematic review of preclinical in vivo studies. *Exp Neurol*. 2023; 363:114366. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2023.114366>
- Ashammakhi N, Kim HJ, Ehsanipour A, et al. Regenerative therapies for spinal cord injury. *Tissue Eng Part B-Rev*. 2019; 25:471–491. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2019.0182>
- Bartlett RD, Eleftheriadou D, Evans R, et al. Mechanical properties of the spinal cord and brain: comparison with clinical-grade biomaterials for tissue engineering and regenerative medicine. *Biomaterials*. 2020; 258:120303. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.120303>
- Kaplan B, Levenberg S. The role of biomaterials in peripheral nerve and spinal cord injury: a review. *Int J Mol Sci*. 2022; 23:1244. <https://doi.org/10.3390/ijms23031244>
- Zimmermann R, Vieira Alves Y, Sperling LE, Pranke P. Nanotechnology for the Treatment of Spinal Cord Injury. *Tissue Eng Part B Rev*. 2021; 5(1):99–108. <https://doi.org/10.2217/nnm.09.93>
- Alosaimi AM, Alorabi RO, Katowah DF, et al. Review on biomedical advances of hybrid nanocomposite biopolymeric materials. *Bioengineering (Basel)*. 2023; 10(3):279.
- Almawash S, Osman SK, Mustafa G, El Hamd MA. Current and future prospective of injectable hydrogels – design challenges and limitations. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2022; 15(3):371.
- Mai P, Hampf J, Baca M, et al. MatriGrid® based biological morphologies: tools for 3D cell culturing. *Bioengineering (Basel)*. 2022; 9(5):220.
- Xie Y, Guan Q, Guo J, et al. Hydrogels for Exosome Delivery in Biomedical Applications. *Gels*. 2022 May 24; 8(6):328. <https://doi.org/10.3390/gels8060328>. PMID: 35735672; PMCID: PMC9223116
- Catoira MC, Fusaro L, Di Francesco D, et al. Overview of natural hydrogels for regenerative medicine applications. *J Mater Sci Mater Med*. 2019 Oct 10; 30(10):115. <https://doi.org/10.1007/s10856-019-6318-7>; PMID: 31599365; PMCID: PMC6787111
- Wu L, He Y, Mao H, Gu Z. Bioactive hydrogels based on polysaccharides and peptides for soft tissue wound management. *J Mater Chem B*. 2022 Sep 28; 10(37):7148–7160. <https://doi.org/10.1039/d2tb00591c>; PMID: 35475512
- Silva D, Sousa RA, Salgado AJ. Hydrogels as delivery systems for spinal cord injury regeneration. *Mater Today Bio*. 2021; 9:100093. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2021.100093>
- Liu Y, Zhang Z, Zhang Y, et al. Construction of adhesive and bioactive silk fibroin hydrogel for treatment of spinal cord injury. *Acta Biomater*. 2023; 158:178–189. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2022.12.048>
- Chedly J, Soares S, Montebault A, et al. Physical chitosan microhydrogels as scaffolds for spinal cord injury restoration and axon regeneration. *Biomaterials*. 2017; 138:91–107. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2017.05.024>
- Silva D, Schirmer L, Pinho TS, et al. Sustained release of human adipose tissue stem cell secretome from star-shaped poly (ethylene glycol) glycosaminoglycan hydrogels promotes motor improvements after complete transection in spinal cord injury rat model. *Adv Healthc Mater*. 2023; e2202803. <https://doi.org/10.1002/adhm.202202803>
- Peng H, Liu Y, Xiao F, et al. Research progress of hydrogels as delivery systems and scaffolds in the treatment of secondary spinal cord injury. *Front Bioeng Biotechnol*. 2023; 11:1111882. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1111882>
- Luo J, Shi X, Li L, et al. An injectable and self-healing hydrogel with controlled release of curcumin to repair spinal cord injury. *Bioact Mater*. 2021; 6:4816–4829. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.05.022>
- Liu T, Zhu W, Zhang X, et al. Recent advances in cell and functional biomaterial treatment for spinal cord injury. *Biomed Res Int*. 2022; 5079153. <https://doi.org/10.1155/2022/5079153>
- Park HH, Kim YM, Anh Hong LT, et al. Dual-functional hydrogel system for spinal cord regeneration with sustained release of arylsulfatase b alleviates fibrotic microenvironment and promotes axonal regeneration. *Biomaterials*. 2022; 284:121526. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2022.121526>
- Xu Y, Zhou J, Liu C, et al. Understanding the role of tissue-specific decellularized spinal cord matrix hydrogel for neural stem/progenitor cell microenvironment reconstruction and spinal cord injury. *Biomaterials*. 2021 Jan; 268:120596. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.120596>; Epub 2020 Dec 10; PMID: 33341040
- Gao Y, Li B, Kong W, et al. Injectable and self-crosslinkable hydrogels based on collagen type II and activated chondroitin sulfate for cell delivery. *Int J Biol Macromol*. 2018 Oct 15; 118(Pt B):2014–2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.07.079>; Epub 2018 Jul 20; PMID: 30009919
- Yang Y, Fan Y, Zhang H, et al. Small molecules combined with collagen hydrogel direct neurogenesis and migration of neural stem cells after spinal cord injury. *Biomaterials*. 2021 Feb; 269:120479. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.120479>; Epub 2020 Nov 15; PMID: 33223332
- Zhou P, Xu P, Guan J, et al. Promoting 3D neuronal differentiation in hydrogel for spinal cord regeneration. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2020 Oct; 194:111214. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111214>; Epub 2020 Jun 24; PMID: 32599502
- Fan L, Liu C, Chen X, et al. Exosomes-Loaded Electroconductive Hydrogel Synergistically Promotes Tissue Repair after Spinal Cord Injury via Immunoregulation and Enhancement of Myelinated Axon Growth. *Adv Sci (Weinh)*. 2022 May; 9(13):e2105586. <https://doi.org/10.1002/adv.202105586>

- Epub 2022 Mar 6; PMID: 35253394; PMCID: PMC9069372
55. Sudhadevi T, Vijayakumar HS, Hariharan EV, et al. Optimizing fibrin hydrogel toward effective neural progenitor cell delivery in spinal cord injury. *Biomed Mater*. 2021 Nov 19; 17(1). <https://doi.org/10.1088/1748-605X/ac3680>. PMID: 34736245
  56. Kushchayev SV, Giers MB, Hom Eng D, et al. Hyaluronic acid scaffold has a neuroprotective effect in hemisection spinal cord injury. *J Neurosurg Spine*. 2016 Jul; 25(1):114–24. <https://doi.org/10.3171/2015.9.SPINE15628>; Epub 2016 Mar 4; PMID: 26943251
  57. Wen Y, Yu S, Wu Y, et al. Spinal cord injury repair by implantation of structured hyaluronic acid scaffold with PLGA microspheres in the rat. *Cell Tissue Res*. 2016 Apr; 364(1):17–28. <https://doi.org/10.1007/s00441-015-2298-1>; Epub 2015 Oct 13; PMID: 26463048
  58. Liu Z, Wang K, Peng X, Zhang L. Chitosan-based drug delivery systems: Current strategic design and potential application in human hard tissue repair. *Eur. Polym. J.* 2022; 166:110979. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2021.110979>
  59. Mahya S, Ai J, Shojae S, et al. Berberine loaded chitosan nanoparticles encapsulated in polysaccharide-based hydrogel for the repair of spinal cord. *Int J Biol Macromol*. 2021 Jul 1; 182:82–90. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.03.106>; Epub 2021 Mar 22; PMID: 33766598
  60. Albashari A, He Y, Zhang Y, et al. Thermosensitive bFGF-Modified Hydrogel with Dental Pulp Stem Cells on Neuroinflammation of Spinal Cord Injury. *ACS Omega*. 2020 Jun 25; 5(26):16064–16075. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01379>; PMID: 32656428; PMCID: PMC7346236
  61. Neves MI, Moroni L, Barrias CC. Modulating Alginate Hydrogels for Improved Biological Performance as Cellular 3D Microenvironments. *Front Bioeng Biotechnol*. 2020 Jun 30; 8:665. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00665>; PMID: 32695759; PMCID: PMC7338591
  62. Li JJ, Liu H, Zhu Y, et al. Animal models for treating spinal cord injury using biomaterials-based tissue engineering strategies. *Tissue Eng. Part B-Rev*. 2022; 28:79–100. <https://doi.org/10.1089/ten.TEB.2020.0267>
  63. Khaing ZZ, Chen JY, Safarians G, et al. Clinical trials targeting secondary damage after traumatic spinal cord injury. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24:3824. <https://doi.org/10.3390/ijms24043824>
  64. Park HH, Kim YM, Anh Hong LT, et al. Dual-functional hydrogel system for spinal cord regeneration with sustained release of arylsulfatase b alleviates fibrotic microenvironment and promotes axonal regeneration. *Biomaterials*. 2022; 284:121526. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2022.121526>
  65. He Z, Zang H, Zhu L, et al. An anti-inflammatory peptide and brain-derived neurotrophic factor-modified hyaluronan-methylcellulose hydrogel promotes nerve regeneration in rats with spinal cord injury. *Int. J. Nanomedicine*. 2019; 14:721–732. <https://doi.org/10.2147/IJN.S187854>
  66. Huang F, Chen T, Chang J, et al. A conductive dual-network hydrogel composed of oxidized dextran and hyaluronic-hydrazide as BDNF delivery systems for potential spinal cord injury repair. *Int. J. Biol. Macromol*. 2021; 167:434–445. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.11.206>
  67. Des Rieux A, De Berdt P, Ansorena E, et al. Vascular endothelial growth factor-loaded injectable hydrogel enhances plasticity in the injured spinal cord. *J. Biomed. Mater. Res*. 2014; 102:2345–2355. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.34915>
  68. Feng Y, Peng Y, Jie J, et al. The immune microenvironment and tissue engineering strategies for spinal cord regeneration. *Front. Cell. Neurosci.* 2022; 16:969002. <https://doi.org/10.3389/fncel.2022.969002>
  69. Saremi J, Mahmoodi N, Rasouli M, et al. Advanced approaches to regenerate spinal cord injury: the development of cell and tissue engineering therapy and combinational treatments. *Biomed. Pharmacother*. 2022; 146:112529. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112529>
  70. Li Z, Zhao T, Ding J, et al. A reactive oxygen species-responsive hydrogel encapsulated with bone marrow derived stem cells promotes repair and regeneration of spinal cord injury. *Bioact. Mater*. 2023; 19:550–568. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2022.04.029>
  71. Севастьянов В.И., Перова Н.В. Биополимерный гетерогенный гидрогель СФЕРО®гель — инъекционный биодеградируемый имплантат для заместительной и регенеративной медицины. *Практическая медицина*. 2014; 8(84):110–116.
  72. Севастьянов В.И. Клеточно-инженерные конструкции в тканевой инженерии и регенеративной медицине. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2015; 17(2):127–130.
  73. Surguchenko VA, Ponomareva AS, Kirsanova LA, et al. The cell-engineered construct of cartilage on the basis of biopolymer hydrogel matrix and human adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells (*in vitro* study). *J Biomed Mater Res A*. 2015; 103(2):463–470. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.35197>
  74. Севастьянов В.И., Духина Г.А., Пономарева А.С. и др. Биомедицинский клеточный материал для регенерации суставного хряща: биосовместимые и гистоморфологические свойства (экспериментальная модель подкожной имплантации). *Перспективные материалы*. 2014; 10:28–39.
  75. Севастьянов В.И., Духина Г.А., Григорьев А.М. и др. Функциональная эффективность биомедицинского клеточного продукта для регенерации суставного хряща (экспериментальная модель остеоартроза). *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2015; 17(2):86–96.
  76. Sevastianov VI, Basok YB, Kirsanova LA, et al. A Comparison of the Capacity of Mesenchymal Stromal Cells for Cartilage Regeneration Depending on Collagen-Based Injectable Biomimetic Scaffold Type. *Life*. 2021; 11:756. <https://doi.org/10.3390/life11080756>
  77. Sevastianov VI, Ponomareva AS, Baranova NV, et al. Decellularization of human pancreatic fragments with pronounced signs of structural changes. *Int J Mol Sci*. 2023; 24(1):119. <https://doi.org/10.3390/ijms24010119>
  78. Григорьев А.М., Басок Ю.Б., Кириллова А.Д. и др. Экспериментальные подходы к созданию тканеспецифичной матрицы для биоискусственной печени. *Российский журнал трансплантологии и искусственных органов*. 2020; 22(3):123–133. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2020-3-123-133>
  79. Sevastianov VI, Basok YB. Biomimetics of Extracellular Matrices for Cell and Tissue Engineered Medical Products. In: Newcastle upon Tyne, UK: *Cambridge Scholars Publishing*, 2023, p. 339.
  80. Севастьянов В.И., Перова Н.В., Смирнова З.С. и др. Глава 4: Теоретические и экспериментальные аспекты тканевой инженерии мозга на модели тяжёлой вертеброспинальной травмы. В книге: Трансплантация нервных клеток и тканевая инженерия мозга при нервных заболеваниях / Под ред. Брюховецкого А.С. — М.: НейроВита, 2003, 122–194.
  81. Предварительный отчёт о проведении ограниченных клинических испытаний «Биодеградируемый полимер (универсальный гетерогенный коллагеновый матрикс) СФЕРО®гель в терапии больных с травмой спинного мозга». — Клиника «НейроВита» Москва; РГМУ, Москва; ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, 2006, 20 с.
  82. Федяков А.Г., Древалль О.Н., Кузнецов А.В. и др. Экспериментальное обоснование применения гелиевого имплантата СФЕРО®гель и пленочного имплантата ЭластоПОБ® при травме периферической нервной системы в эксперименте. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2009; 11(4):75–80. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2009-4-75-80>

□