



УДК: 616-092.9 : 616.833-089.843 : 616.711-001.5

С.К. Акишулаков (д.м.н.)¹, Т.Т. Керимбаев (д.м.н.)¹, В.Г. Алейников¹, Ж. Смагул¹, В. Огай²

АО "Национальный центр нейрохирургии", г. Астана, Республика Казахстан¹

РГП "Национальный центр биотехнологии" КН МОН РК, г. Астана, Республика Казахстан²

АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАЗМОЗЖЕНИЯ СПИННОГО МОЗГА КРЫСЫ КАК ИДЕАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ТРАВМЫ СПИННОГО МОЗГА ДЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АУТОЛОГИЧНЫХ НЕРВОВ

Цель работы. Создать модель травмы спинного мозга у животного с полным пересечением спинного мозга.

Задачи. Разработка стандартной и простой в исполнении методики полного пересечения спинного мозга с определением способов контроля эффективности проведенного пересечения.

Методы. Полное пересечение спинного мозга проведено 20 самкам крыс, весом 200 грамм. Процедура проводится под ингаляционным наркозом, после ламинэктомии, пересечения и размозжения спинного мозга производится аспирация детрита спинного мозга. Эффективность произведенного полного пересечения определяется с помощью локомоторного теста, шкалы неврологического дефицита ASIA/Frenkel и микроскопического исследования.

Результаты. Полное пересечение спинного мозга производилось ножницами поперечно, размозжение достигается максимальной компрессией зажимами типа "москит". Сформировавшийся детрит аспирируется, визуально оценивается полнота пересечения, выявленные оставшиеся волокна пересекаются. Визуальным показателем эффективности процедуры служит наличие полости и диастаза между проксимальным и дистальным отрезками спинного мозга без остаточных волокон. В послеоперационном периоде показателями эффективности являются локомоторный тест со значением не выше единицы, дефицит по шкале ASIA/Frenkel тип E, микроскопическая картина перерыва аксонов.

Заключение. Представленная модель полного пересечения спинного мозга вызывает тяжелый неврологический дефицит у животного, характеризуется гистологической картиной полного перерыва аксонов, и зарекомендовала себя эффективной и надежной моделью для тестирования различных методов реконструкции поврежденного участка спинного мозга.

Ключевые слова: модель спинальной травмы, сплошной поперечный разрез, тесты на животных, опорно-двигательный тест

Введение

Успешные клинические исследования в лечении спинномозговой травмы у людей невозможны без предшествующих исследований на животных с использованием моделей травмы, максимально приближенных к процессам протекающим при травме спинного мозга у людей. Исследования *in vitro* и *in vivo* проводимые последние годы определили основные проблемы которые должны быть решены для улучшения аксональной регенерации центральной нервной системы у взрослых млекопитающих [3, 4, 7, 14, 17, 20]. Существует достаточно доказательств того, что ингибиторы аксонального роста имеют большое значение в создании неблагоприятной среды для регенерации [1, 2, 3, 5, 10, 11, 15, 18, 19]. Реактивное воспаление и реакция глияльной ткани на травму приводит к созданию неблагоприятной среды для аксональной регенерации [4, 5, 8, 9]. Нейроны и клетки глии погибшие во время травмы не могут быть полностью замещены из собственного пула стволовых клеток обуславливая дегенерацию спинного мозга с образованием ликворных кист, что требует создание субстрата для роста аксонов через очаг повреждения [21, 22].

Ни одно экспериментальное исследование не может учесть все эти факторы и будет иметь ограниченный эффект на улучшение аксонального роста. Во время регенерации и роста аксонов в поврежденной периферической нервной системе множество механизмов взаимодействуют для эффективного и контролируемого аксонального роста. Физиологические механизмы обуславливающие направление роста аксонов и способствующий росту внеклеточный матрикс взаимодействуют в придании направленности роста аксонов [6, 12, 13]. К тому же сами нейроны имеют высокую способность к аксональному росту исходя из морфологического статуса [23]. Исходя из этого, стандартизация модели травмы спинного мозга поможет более подробно изучить биологические и молекулярные процессы происходящие при травме спинного мозга, и помогут создать платформу для оценки эффективности методов лечения.

Наиболее тяжёлым вариантом травмы спинного мозга является полное нарушение проводимости с утратой чувствительности и движений в сегментах каудально от уровня повреждения. На данный момент в мире нет доказанного эффективного метода лечения травмы спинного мозга у людей. Множест-



во моделей имитирующих травму спинного мозга разработано на лабораторных животных [3, 5, 8, 11, 13, 17, 19, 22]. На данный момент широко используются модели как с частичным так и с полным перерывом спинного мозга. Повреждение проводится путем компрессии, размозжения, пересечения, ушиба спинного мозга и приводит к нарушению проводящих функций у подопытных животных сопоставимых с теми процессами что происходят при травме спинного мозга у человека. Хотя крысы не являются идеальным вариантом для создания модели травмы спинного мозга человека, в силу различий в анатомическом строении последнего, они являются наиболее подходящим вариантом в силу низкой стоимости, возможности длительного наблюдения и высокой способности к регенерации тканей.

В литературе описано множество экспериментальных данных по возможности восстановления двигательных и чувствительных функций поврежденного спинного мозга [1, 2, 6, 8, 9, 12, 15, 18, 19]. У крыс аксоны центральной нервной системы обладают способностью к регенерации, у человека эта способность подавляется множеством физиологических механизмов, а также, вследствие большого расстояния до рецепторов мишеней, необходимого для прорастания аксонов. Большое количество аксонов в спинном мозге позволяет восстановить ряд утраченных функций даже при повреждении более 90% аксонов [7, 17]. В экспериментах у кошек после повреждения аксонов спинного мозга происходило восстановление утраченных движений, даже при условии сохранности 5-10% от нормального числа аксонов. Подтверждения частичного восстановления движений при повреждениях, оставляющих интактной узкую полосу белого вещества спинного мозга у человека также имеются в литературе [12]. Таким образом, для восстановления утраченных функций требуется регенерация лишь небольшой части аксонов.

Важность среды для успешной регенерации спинного мозга впервые была обозначена в работе Агуаю и коллег, показавших что нейроны головного и спинного мозга дают аксональный рост в имплантированный трансплантат периферического нерва. Как известно аксоны успешно регенерируют в периферических нервах, из чего следует что анастомоз поврежденного аксона ЦНС и периферического нерва является основным направлением для регенерации. Для успешной регенерации необходимо в этом случае решить ряд проблем, которые заключается в тормозящей роли ферментов глиальных клеток на рост аксонов. В неповрежденной ЦНС аксоны находятся в контакте с астроцитами и олигодендроцитами. После повреждения происходит выделение многочисленных ферментов клеточных мембран и стимулируется избыточное деление астроцитов и образование глиального рубца, разрушение миелина, деление и миграция ми-

кроглии и предшественников олигодендроцитов. Поэтому очаг повреждения содержит четыре главных клеточных типа: астроциты, олигодендроциты, предшественники олигодендроцитов и микроглию. К сожалению, все эти клетки могут ингибировать аксональный рост. Модель полного повреждения спинного мозга широко используется для исследования вышеперечисленных процессов, тем не менее, протокол хирургической части создания модели травмы с трансплантацией нерва в поврежденный участок спинного мозга не был до сих пор достаточно детализирован, хотя это необходимо для создания работающей, легко воспроизводимой и, что не менее важно, стандартизированной модели травмы.

Методы

Все исследования проводились на 20-ти аутобредных крысах-самцах линии Вистар весом 180-200 гр., возрастом не менее 5-6 месяцев, которые приобретены из питомника лабораторных животных "Пушино" (Россия). Животные содержатся в условиях вивария включающего 12 часовой цикл день/ночь, при температуре 22-25°C. Все хирургические процедуры проводились с животными в соответствии с этическими требованиями при работе с животными. Используемый в работе протокол эксперимента одобрен этическим комитетом Национального Центра Нейрохирургии г. Астана. У животных после проведения ламинэктомии проводилось размозжение спинного мозга мягким зажимом, после чего проводилась аспирация детрита, что дает возможность создать диастаз между проксимальным и дистальным участком спинного мозга. Оценка эффективности травмы спинного мозга проводилась на 1, 15, 30 и 60 сутки после оперативного вмешательства, путем определения неврологического дефицита по шкале ASIA/Frankel и нарушения локомоторной дисфункции в тесте "открытое поле" с помощью шкалы Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) Locomotor Rating Scale (14). Шкала разделена от 0 до 9 баллов, где 0 полный паралич конечностей, 9 баллов полная координация, позиция и положение конечности по отношению к туловищу, стабильное положение тела и хвоста. Через два месяца производился забор участка спинного мозга в зоне произведенной травмы. Микроскопическое исследование гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином осуществлялось при помощи микроскопа Axioskop 40, Carl Zeiss, Germany, при общем увеличении X 100, X 200.

Результаты

Предоперационная подготовка

Хирургические инструменты были автоклавированны за 1 день до предполагаемой операции и хранились в стерильном контейнере. Операционный стол был подвергнут санитарной обработке раствором хлоргексидина 20% в разведе-

денном виде 1:200. Далее операционный стол покрывался стерильной хирургической салфеткой. Крыса помещается в индукционную камеру, куда подается ингаляционная анестезия изофлураном (5% изофлуран со скоростью потока 2,0 л/мин). После этого крыса помещается на операционный стол, производится фиксация лап и хвоста липкой лентой. Предполагаемое операционное поле выбривается на 2 сантиметра вокруг остистых отростков. Антибиотикопрофилактика проводится подкожным введением гентамицина (12 мг/кг). На нос и рот крысы надевается ингаляционный конус, концентрация изофлурана уменьшается до 3%, скорость потока увеличивается до 3,0 л/мин. Заключительный этап подготовки к операции – хирургическая обработка рук, одевание стерильного халата, колпака, маски и стерильных перчаток. Инструменты помещаются на стерильный столик.

Хирургическая процедура

Животное помещается в плексигласовую камеру, куда подается 3% изофлюран с 0,5% кислородом в течении 1 минуты, после усыпления животного одевается маска с подачей 2% изофлюрана, этот объем поддерживается до конца операции. Крысу укладывают в положении лежа на животе, фиксируют к операционному полю (рис. 1).



Рисунок 1 – Операционное поле перед разрезом кожи, видна разметка на коже в проекции предполагаемого разреза

Операционное поле обрабатывается 3-хкратно 70% спиртом, после 3-хкратно раствором "Бетадин" от центра к периферии. Продольный разрез кожи производится вдоль остистых отростков, длиной 3 сантиметра. Производится рассечение жировой клетчатки и диссекция мышц, оголяются Т7-Т9 позвонки, устанавливается расширитель раны. Спинотрапецевидная мышца отсекается от дужек позвонков с помощью скальпеля. После тщательной диссекции приподнимается остистый отросток Т9 и проводится кусачками ламинэктомия, после чего окно расширяется выше и ниже путем частичной резекции дужек Т8, Т10 позвонков (рис. 2).



Рисунок 2 – Десекция паравертебральных мышц, начало ламинэктомии Т8-Т9 позвонков

Твердая мозговая оболочка рассекается поперечно с помощью микроножниц, поперечный срез дает возможность производить имплантацию и фиксацию к твердой мозговой оболочке аутологичного участка нерва (рис. 3).

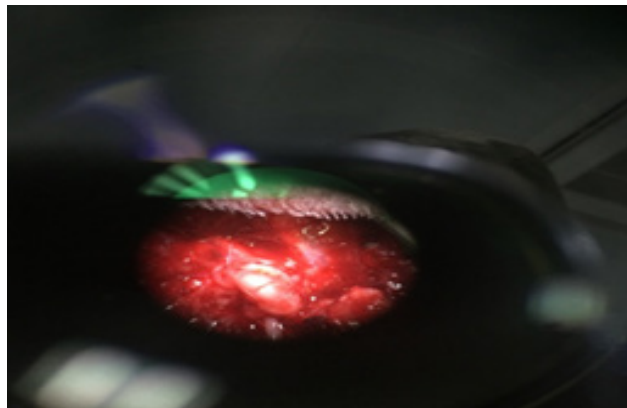


Рисунок 3 – Продольное рассечение твердой мозговой оболочки, видны края дистального и проксимального отрезков

Спинальный мозг приподнимается мозговым крючком и производится пережатие во всех плоскостях мягким зажимом, после чего производится аспирация мозгового детрита (рис. 4).

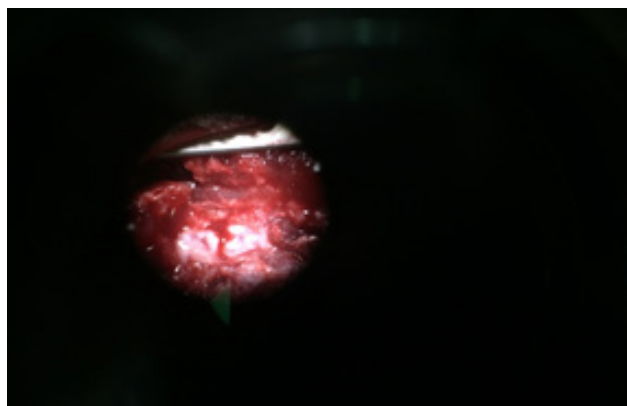


Рисунок 5 – Микроскопическая картина поврежденного участка спинного мозга

Показателем эффективности процедуры является визуализация передних отделов твердой моз-



говой оболочки, особое внимание нужно уделить пересечению возможно сохранившихся перемычек между дистальным и проксимальным участками спинного мозга, так как даже 15% сохранившихся латеральных отделов спинного мозга обеспечивает сохранность функции конечностей [14, 15]. Кровотечение из питающих сосудов останавливается компрессией мягкими влажными ватниками. Место ламинэктомии укрывается участком латекса. Глубокие, поверхностные мышцы и кожа аккуратно ушиваются викрилом 4/0. Снимается ингаляционная маска, животное пробуждается, производится компрессия мочевого пузыря до полного его опорожнения.

Оценка эффективности процедуры

Эффективность методики воспроизведения модели полного поперечного повреждения спинного мозга оценивалась по результатам шкалы неврологического дефицита ASIA/Frenkel. Предоперационное тестирование показало, что все крысы были в группе А без неврологических выпадений. Послеоперационное тестирование на 1, 15, 30, 60 сутки, у всех животных оперированных по данной методике отмечался неврологический дефицит тип Е, с полным выпадением двигательной функции.

Локомоторный тест выполнялся в те же сроки, животное помещалось в пластиковый циркулярный кейс с нескользким полом. Проводилась оценка движений бедер, положение лап, возможность удерживать свой вес в течении 4 минут свободного движения животного. Максимальный балл 21 при полной сохранности функции спинного мозга и 0 баллов при отсутствии каких-либо движений. У всех крыс данной группы предоперационный балл равнялся 21, послеоперационный 0 баллов. Микроскопическая картина подтвердила полный перерыв белого вещества спинного мозга (рис.5).

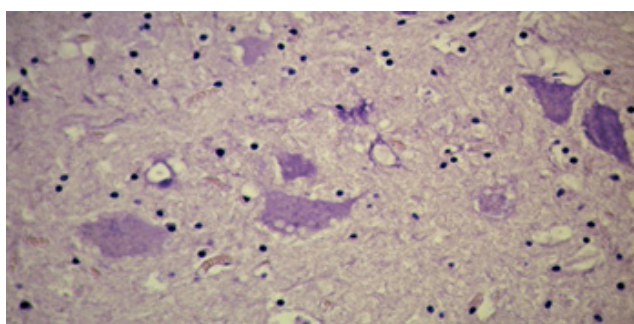


Рисунок 5 – Микронекрозы ткани серого вещества спинного мозга с некробиозом нейронов. X 200. Окраска гематоксилином и эозином

Обсуждение

Наши результаты достоверно показали, что модель полного повреждения спинного мозга у крысы проста в исполнении и легко воспроизводима, и полностью имитирует наиболее тяжелые варианты повреждения спинного мозга у людей. Наиболее важным преимуществом этой модели является полнота повреждения спинного мозга в заданной локализации. Учитывая что, в зоне повреждения не остается функционирующих аксонов, модель идеальна для тестирования различных способов стимуляции регенерации аксонов. Наша модель является законченной и не требует каких-либо доработок, так как микроскопически подтверждено полное повреждение спинного мозга и отсутствие регенерации аксонов. Хотя модели травмы путем сбрасывания предметов различного веса, контузионные модели позволяют производить модели с различными видами тяжести повреждения спинного мозга, их слабыми сторонами являются случаи спонтанной регенерации аксонов, что приводит к недостоверности результатов, что может смазать эффект проводимой терапии и не выделить активный агент. Сильной стороной модели полного перерыва спинного мозга является, максимальная степень тяжести повреждения аксонов, возможность визуально контролировать полноту пересечения и не оставлять даже тонких перемычек, что дает возможность оценить эффект различных видов регенеративной терапии без ложноположительных результатов. Она является идеальным вариантом для апробации стратегий по имплантации различных трансплантатов, содержащих факторы роста.

Заключение

Представленная модель спинномозговой травмы у животного с полным перерывом мозга вызывает серьезные неврологические нарушения (локомоторная функция, ASIA/Frenkel), гистологические изменения в травмированном участке спинного мозга, и доказывает эффективность и выполнимость данной задачи в заданное время на необходимом для исследования участке спинного мозга и помогает исключить спонтанную регенерацию нейронов, что особенно важно в экспериментах по созданию регенеративной терапии травмы спинного мозга.



СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Erceg S. et al. Transplanted oligodendrocytes and motoneuron progenitors generated from human embryonic stem cells promote locomotor recovery after spinal cord transection. *Stem Cells* 28, 1541–1549 (2010).
2. Keirstead H. S. et al. Human embryonic stem cell-derived oligodendrocyte progenitor cell transplants remyelinate and restore locomotion after spinal cord injury. *J Neurosci* 25, 4694–4705 (2005).
3. Liang P., Jin L.H., Liang T., Liu E.Z., Zhao S.G. Human neural stem cells promote cortico spinal axons regeneration and synapse reformation in injured spinal cord of rats. *Chinese medical journal* 119, 1331–1338 (2006).
4. Nori S. et al. Grafted human-induced pluripotent stem-cell-derived neurospheres promote motor functional recovery after spinal cord injury in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108, 16825–16830 (2011).
5. Tsuji O. et al. Cell therapy for spinal cord injury by neural stem/progenitor cells derived from iPS/ES cells. *Neurotherapeutics* 8, 668–676 (2011).
6. Tsuji O. et al. Therapeutic potential of appropriately evaluated safe-induced pluripotent stem cells for spinal cord injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107, 12704–12709 (2010).
7. Waters R. L., Adkins R. H., Yakura J. S. Definition of complete spinal cord injury. *Paraplegia* 29, 573–581 (1991).
8. Yang C.C. et al. Transplantation of human umbilical mesenchymal stem cells from Wharton's jelly after complete transection of the rat spinal cord. *PLoS One* 3, e3336 (2008).
9. Sakai K. et al. Humandentalpulp-derived stemcells promote locomotor recovery after complete transection of the rat spinal cord by multiple neuro-regenerative mechanisms. *The Journal of clinical investigation* 122, 80–90 (2012).
10. Basso D.M., Beattie M.S., Bresnahan J. C. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J Neurotrauma* 12, 1–21 (1995).
11. Schucht P., Raineteau O., Schwab M. E., Fouad K. Anatomical correlates of locomotor recovery following dorsal and ventral lesions of the rat spinal cord. *Exp Neurol* 176, 143–153 (2002).
12. Basso D.M., Beattie M.S., Bresnahan J.C. Graded histological and locomotor outcomes after spinal cord contusion using the NYU weight-drop device versus transection. *Exp Neurol* 139, 244–256 (1996).
13. Diehl P., Kliesch, U., Dietz V., Curt A. Impaired facilitation of motor evoked potentials in incomplete spinal cord injury. *Journal of neurology* 253, 51–57 (2006).
14. Blight A.R. Spinal cord injury models: neurophysiology. *J Neurotrauma* 9, 147–149; discussion 149–150 (1992).
15. Guth, L., Brewer, C.R., Collins, W. F., Goldberger, M. E. & Perl, E.R. Criteria for evaluating spinal cord regeneration experiments. *Surgical neurology* 14, 392 (1980).
16. Jendelova, P. et al. Magnetic resonance tracking of transplanted bone marrow and embryonic stem cells labeled by iron oxide nanoparticles in rat brain and spinal cord. *J Neurosci Res* 76, 232–243 (2004).
17. Moreno-Manzano V. et al. Activated spinal cord ependymal stem cells rescue neurological function. *Stem Cells* 27, 733–743 (2009).
18. Chen J. et al. Acellular spinal cord scaffold seeded with bone marrow stromal cells protects tissue and promotes functional recovery in spinal cord-injured rats. *J Neurosci Res* 92, 307–317 (2014).
19. Hejcl A. et al. Acute and delayed implantation of positively charged 2 hydroxyethyl methacrylate scaffolds in spinal cord injury in the rat. *Journal of neurosurgery. Spine* 8, 67–73 (2008).
20. Kubinova S., Sykova, E. Biomaterials combined with cell therapy for treatment of spinal cord injury. *Regenerative medicine* 7, 207–224 (2012).
21. Iannotti C. et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor-enriched bridging transplants promote proprio spinal axonal regeneration and enhance myelination after spinal cord injury. *Exp Neurol* 183, 379–393 (2003).
22. Lai B.Q., Wang J.M., Ling E.A., Wu J.L., Zeng Y.S. Graft of a tissue engineered neural scaffold serves as a promising strategy to restore myelination after rat spinal cord transection. *Stem Cells Dev* 23, 910–921 (2014).
23. Talac R. et al. Animal models of spinal cord injury for evaluation of tissue engineering treatment strategies. *Biomaterials* 25, 1505–1510 (2004).



ТҮЙІНДЕМЕ

С.К. Акшулаков (м.ф.д.)¹, Т.Т. Керимбаев (м.ф.д.)¹, В.Г. Алейников¹, Ж. Смагул¹, В. Огай²

"Ұлттық нейрохирургия орталығы" АҚ, Астана қ., Қазақстан Республикасы¹
 ҚР БҒМ ҒК "Ұлттық биотехнология орталығы" РМК, Астана қ., Қазақстан Республикасы²

АУТОЛОГИЯЛЫҚ НЕРВТЕРДІҢ ТРАНСПЛАНТАЦИЯСЫНА АРНАЛҒАН ЖҰЛЫН ЖАРАҚАТЫНЫҢ ТАМАША ҮЛГІСІ РЕТІНДЕ ЕГЕУҚҰЙРЫҚ ЖҰЛЫНЫНЫҢ МЫЛЖАЛАНУЫ ТИІМДІЛІГІНІҢ ТАЛДАУЫ

Мақсаты. Жұлыны толығымен кесіп тасталған жануардағы жұлын жарақатының үлгісін жасау.

Міндеті. Кесіп алып тастаудың тиімділігін бақылау әдістерін анықтаумен жұлынды толығымен кесіп алып тастаудың стандарт және орындалуы қарапайым әдістемесін әзірлеу.

Әдістер. Салмағы 200 грамм болатын 20 ұрғашы егеуқұйрыққа жұлынды толығымен кесіп алып тастау жүргізілді. Процедура ингаляциялық наркозбен жасалды, жұлын ламинэтомиясы, кесіп алып тастау және мылжалаудан соң жұлын детритінің аспирациясы жүргізіледі. Толығымен кесіп алып тастаудың тиімділігі локомоторлық тесттің, ASIA/Frenkel неврологиялық тапшылық шкаласының және микроскопиялық зерттеулердің көмегімен анықталады.

Нәтижесі. Жұлын қайшылармен көлденең толығымен кесіп алып тасталды, мылжалану "мос-кит" сияқты қысқаштармен барынша компрессиялау арқылы жүргізілді. Қалыптасқан детрит аспирацияланады, кесіп алып тастаудың толықтай жүргізілгені көзбен шолу арқылы бағаланады,

анықталған қалған талшықтар кесіп алынып тасталады. Процедура тиімділігінің сыртқы көрсеткіштері болып қалдық талшықтарсыз жұлынның проксимальді және дистальді кесінділері арасындағы диастаз бен қуыстың бар болуы саналады. Операциядан кейінгі кезеңде тиімділік көрсеткіштері болып бірліктен жоғары емес мағынадағы локомоторлық тест, ASIA/Frenkel E типті шкаласы бойынша тапшылық, аксондар үзілісіндегі микроскопиялық картина саналады.

Ұйғарымы. Жұлынды толығымен кесіп алып тастаудың ұсынылған үлгісі жануардағы ауыр неврологиялық тапшылықты туындатады, аксондардың толығымен үзілуінің гистологиялық картинасымен сипатталады және жұлынның зақымдалған бөлігін қалпына келтірудің түрлі әдістеріне тест жүргізуге арналған тиімді әрі сенімді үлгісі ретінде танылды.

Негізгі сөздер: Жұлын жарақатының үлгісі, көлденең тұтас кесу, жануарларға жүргізілген тест, тірек-қозғалыс тесті.

SUMMARY

S.K. Akshulakov (D.Med.Sci.)¹, T.T. Kerimbayev (D.Med.Sci.)¹, V.G. Aleinikov¹, Zh. Smagul¹, V. Ogay²

JSC "National Centre for Neurosurgery", Astana, Republic of Kazakhstan¹
 RSE "National Center for Biotechnology" of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan, Astana, Republic of Kazakhstan²

ANALYSIS OF EFFECTIVENESS OF RAT'S SPINAL MEDULLA CRUSHING AS IDEAL MODEL OF SPINAL MEDULLA TRAUMA FOR TRANSPLANTATION OF AUTOLOGOUS NERVES

Aim. To create the complete transection model of a spinal cord injury with all residual fibers are cut.

Purpose. To create a faithful animal model of complete spinal cord transection to investigate neural and functional repair of the damaged tissue.

Methods. Complete spinal cord transection was performed in 20 adult female rats, 2 months old, 200 g of body weight. The procedure performed under general anesthesia, after laminectomy and transection of a spinal cord, the detritus was aspirated. Locomotor tests, ASIA/Frankel scale and microscopy used to determine the effectiveness of a injury model.

Results. The complete transection model of a spinal cord injury was performed by transection with

scissors, compression with the rongers and detritus aspiration. The complete transection of spinal cord is the fact that during the surgery procedure all residual fibers are cut. The result was assessed postoperatively by locomotor tests (score 0), ASIA/Frenkel scale(score E), microscopy (axonal damage).

Conclusion. Our complete transection animal model of spinal cord injury causes severe behavioural (locomotor) and histological (axonal damage) changes, and has proved both useful and reliable for the testing of a different therapeutic strategies.

Key words: Spinal trauma model, complete transection, animal tests, locomotor test.