

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**Фармацевтичний факультет
кафедра фармакології та клінічної фармації**

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

**на тему: «ОЦІНКА ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ
ЦЕНТРАЛЬНОЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ ЩУРІВ
З АМПУТАЦІЄЮ НИЖНЬОЇ КІНЦІВКИ»**

Виконав: здобувач вищої освіти

групи Фм21(4,10д)-01

спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація»

освітньо-професійної програми «Фармація»

Микита ГУТОРКА

Керівник: завідувач кафедри фармакології та клінічної
фармації, д.мед.н., професор

Сергій ШТРИГОЛЬ

Рецензент: професор ЗВО кафедри клінічної фармакології
ІПКСФ НФаУ, д.фарм.н., професор

Оксана МІЩЕНКО

АНОТАЦІЯ

Кваліфікаційну роботу присвячено дослідженню функціонального стану центральної нервової системи щурів із транстібіальною ампутацією задньої кінцівки. Оцінено зміни рухової активності, координації рухів, тривожності та депресивноподібної поведінки у гострому та віддаленому постампутаційних періодах. Встановлено, що ампутація кінцівки призводить до зниження локомоторної та дослідницької активності, порушення координації рухів і змін емоційно-поведінкових реакцій тварин (зменшення тривожності в тесті «Світло-темна камера» та посилення депресивноподібної поведінки у тесті Порсолта). Робота містить вступ, 4 розділи, 8 таблиць, 2 рисунки, 61 джерело літератури, загальний обсяг — 44 сторінки.

Ключові слова: ампутація кінцівки, центральна нервова система, щури, поведінкові тести, координація рухів, тривожність, депресивноподібна поведінка.

ANNOTATION

This thesis investigates the functional state of the central nervous system in rats with trans-tibial hind limb amputation. Changes in motor activity, coordination, anxiety and depression-like behaviour were assessed during the acute and long-term post-amputation periods. It was established that limb amputation leads to a reduction in locomotor and exploratory activity, impaired coordination of movements, and changes in the emotional and behavioural responses of the animals (a decrease in anxiety the Light-dark box test and an increase in depression-like behaviour in the Porsolt test). The thesis comprises an introduction, 4 chapters, 8 tables, 2 figures, 61 references, and has a total length of 44 pages.

Keywords: limb amputation, central nervous system, rats, behavioural tests, motor coordination, anxiety, depression-like behaviour.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	4
ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО ЗМІНИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ЦЕНТРАЛЬНОЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ ПІСЛЯ АМПУТАЦІЇ КІНЦІВКИ.....	8
1.1. Сучасні експериментальні моделі ампутації у щурів та їх фізіологічні наслідки.....	8
1.2. Методи оцінки поведінкових змін і функціонального стану ЦНС у щурів.....	11
1.3. Вплив ампутації на поведінку, емоційний стан та адаптаційні реакції щурів.....	14
1.4. Нейрофізіологічні механізми змін у ЦНС та перспективи реабілітації після ампутації	18
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	23
2.1. Експериментальні тварини	23
2.2. Біоетична експертиза	23
2.3. Модель ампутації нижньої кінцівки у щурів	24
2.4. Методи оцінки функціонального стану центральної нервової системи	25
2.5. Статистичний аналіз	26
2.6. Фінансування дослідження	26
РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	28
3.1. Вплив ампутації задньої кінцівки на поведінку щурів у тесті «Відкрите поле»	28
3.2. Зміни рівня тривожності після ампутації задньої кінцівки у тесті «Світло-темна камера»	31
3.3. Вплив ампутації задньої кінцівки на координацію рухів у ротарод-тесті	34
3.4. Оцінка депресивноподібної поведінки щурів після ампутації задньої кінцівки у тесті плавному тесті Порсолта	36
РОЗДІЛ 4 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	40
ВИСНОВКИ.....	43
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	45
ДОДАТКИ	53

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

BDNF — нейротрофічний фактор мозку (brain-derived neurotrophic factor)

CCL2-CCR2 — сигнальний шлях хемокіну CCL2 та його рецептора CCR2

IL-1 β — інтерлейкін-1 β

IL-6 — інтерлейкін-6

NGF — фактор росту нервів (nerve growth factor)

NMDA-рецептори — N-метил-D-аспартат рецептори

NT-3 — нейротрофін-3 (neurotrophin-3)

p38 MAPK — p38 мітоген-активована протеїнкіназа

PAG — періакведуктальна сіра речовина

RNS — реактивні форми азоту (reactive nitrogen species)

ROS — реактивні форми кисню (reactive oxygen species)

TNF- α — фактор некрозу пухлин- α

VEGF — судинний ендотеліальний фактор росту (vascular endothelial growth factor)

ГАМК-рецептори — рецептори гамма-аміномасляної кислоти

ЦНС — центральна нервова система

ВСТУП

Актуальність теми. Втрата кінцівок є важливою медико-соціальною проблемою сучасної медицини, що супроводжується значним погіршенням якості життя пацієнтів та розвитком численних функціональних порушень організму. Окрім суттєвих змін опорно-рухового апарату, ампутація кінцівки призводить до суттєвої перебудови функціонального стану ЦНС, що пов'язано з порушенням аферентної імпульсації, змінами сенсомоторної інтеграції та активацією процесів нейропластичності. У постампутаційному періоді нерідко формуються різноманітні поведінкові та психоемоційні порушення, зокрема тривожні та депресивні стани, зниження рухової активності, порушення координації рухів та зменшення фізичної витривалості.

Значну роль у розвитку цих змін відіграють больовий синдром, стресова реакція організму та перебудова нейромедіаторних систем головного мозку. Незважаючи на значну кількість клінічних спостережень, механізми формування функціональних змін ЦНС після ампутації кінцівки залишаються недостатньо вивченими.

У зв'язку з цим важливе значення мають експериментальні дослідження на лабораторних тваринах, які дозволяють детально вивчити поведінкові, моторні та емоційні прояви постампутаційних змін. Модель транстібіальної ампутації задньої кінцівки у щурів є інформативною для дослідження особливостей функціонального стану ЦНС, а також для оцінки можливостей фармакологічної корекції постампутаційних порушень.

Отже, дослідження функціонального стану ЦНС щурів за умов ампутації нижньої кінцівки є актуальним науковим завданням, результати якого можуть сприяти поглибленню уявлень про механізми формування постампутаційних змін та створити передумови для подальшої розробки ефективних підходів до їх фармакологічної корекції.

Мета роботи. Дослідити щурів після ампутації задньої кінцівки у порівнянні з щурами групи інтактного контролю, які не зазнавали хірургічних втручань, їх стан орієнтовно-дослідницької активності, емоційних реакцій та загальний стан ЦНС.

Для досягнення поставленої мети необхідно вирішити такі **завдання**:

1. Розробити та стандартизувати модель транстібіальної ампутації задньої кінцівки у щурів.
2. Визначити рухову, дослідницьку та емоційну активність щурів після ампутації порівняно з інтактним контролем у тесті «Відкрите поле».
3. Проаналізувати координацію рухів та м'язовий тонус щурів після ампутації порівняно з інтактним контролем у ротарод-тесті.
4. Оцінити рівень тривожності щурів після ампутації порівняно з інтактним контролем у тесті «Світло-темна камера».
5. Визначити депресивноподібну поведінку щурів після ампутації порівняно з інтактним контролем у плавальному тесті Порсолта.

Об'єкт дослідження. ЦНС щурів після ампутації кінцівки.

Предмет дослідження. Оцінка функціонального стану ЦНС після ампутації кінцівки у щурів в гострій та хронічній стадії.

Методи дослідження. Хірургічні (моделювання транстібіальної ампутації в щурів), фармакологічні (тест «Відкрите поле», тест «Світло-темна камера», тест Порсолта, ротарод-тест), статистичні.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані результати свідчать про зменшення локомоторної активності та депресивноподібної поведінки з транстібіальною ампутацією задньої кінцівки, що відкриває перспективи для подальшого вивчення та дозволяє використовувати їх для оцінки ефективності методів фізичної та фармакологічної реабілітації. Також запропоновано та стандартизовано методику ампутації задньої кінцівки у щурів, що може бути використана у подальших експериментальних дослідженнях у зазначеному напрямі дослідження.

Наукова новизна. Вперше експериментально встановлено зменшення депресивноподібної поведінки щурів після транстібіальної ампутації задньої кінцівки.

Апробація результатів роботи. Основні результати дослідження доповідалися на Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Youth Pharmacy Science» (10–11 грудня 2024 р., м. Харків, Україна). Матеріали дослідження було представлено у двох доповідях: на пленарному засіданні та на секційному засіданні кафедри фармакології та клінічної фармації.

Публікації. За темою кваліфікаційної роботи опубліковано статтю в наукометричному виданні:

Rat transtibial hindlimb amputation model: characteristic of the central nervous system functional state, physical endurance and body mass in dynamic / M. Hutorka та ін. ScienceRise: pharmaceutical science. 2024. Т. 6, № 52. С. 27–36. URL: <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2024.318008>.

Структура та обсяг роботи. Кваліфікаційна робота містить такі структурні елементи: вступ, огляд наукової літератури, характеристику матеріалів та методів дослідження, експериментальний розділ, аналіз та узагальнення результатів, загальні висновки, список використаних джерел, додатки. Загальний обсяг кваліфікаційної роботи складає 57 сторінок друкованого тексту. Робота містить: 8 таблиць, 2 рисунка, 61 посилання на літературне джерело.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО ЗМІНИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ЦЕНТРАЛЬНОЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ ПІСЛЯ АМПУТАЦІЇ КІНЦІВКИ

1.1. Сучасні експериментальні моделі ампутації у щурів та їх фізіологічні наслідки

Завдяки зручності в утриманні та розмноженні щури є одними з основних лабораторних тварин, а їх відносно великий розмір також робить можливим та зручним проводити хірургічні втручання, на відміну від мишей. Для щурів створено безліч усталених експериментальних моделей, які широко використовуються в різних галузях медицини, біології та фармації і відповідають сучасним біоетичним вимогам [58]. Щури мають багато анатомо-фізіологічних та біохімічних особливостей, близьких до таких у людини, що робить їх корисними для моделювання багатьох патологічних станів, зокрема ампутації кінцівок [10].

У сучасних експериментальних дослідженнях на щурах застосовуються кілька основних типів ампутацій, кожен з яких підходить для моделювання специфічних фізіологічних, морфологічних та поведінкових змін після втрати кінцівки. Часткова та повна ампутація хвоста часто використовується для оцінки больових реакцій, відновлення чутливості та нейропластичних змін у спинному мозку. Ця модель полегшує аналіз впливу травми на місцеві та системні запальні процеси, циркуляторні та мікроциркуляторні системи в артеріях та венах хвоста [23]. Ампутація пальців виконується для дослідження можливостей регенерації тканин за допомогою електростимуляції або трансплантаційних моделей [14].

Хоча ампутації передніх кінцівок виконуються рідше, вона корисна для визначення нейропластичних змін у головному мозку після цього втручання, розуміння інтеграції сенсорних і моторних функцій передніх кінцівок, зокрема поведінкових реакцій, пов'язаних з пошуком їжі та дослідженням

навколишнього середовища [4]. Транстибіальні ампутації задніх кінцівок дозволяють порівнювати функціональну компенсацію моторного контролю, адаптацію м'язів і кісток, поведінкові та зміни маси тіла [44]. Трансфеморальні ампутації дозволяють оцінити складні випадки втрати та визначити модифікації в локомоторній, балансній, координаційній та нейропластичній реорганізації кортикальних областей [53].

Сучасні моделі ампутації у щурів відзначаються високою стандартизацією хірургічних технік. Забезпечується відтворюваність результатів та їх порівняність між лабораторіями, зокрема щодо точного обсягу резекції кістки, обробки нервових структур, формування міофасциокутанних клаптів та закриття ран [44]. Водночас, у деяких моделях формування кукси досягається за допомогою міодезу або міопластики. Міодез означає прив'язування м'язів до кістки, а міопластика – зшивання м'язів разом і забезпечення стабільності в залишковій кінцівці, що важливо для обґрунтування оптимальних клінічних варіантів за різних функціональних форм ампутації [2].

Фізіологічні ефекти ампутації у щурів є багатограними та складними. Фізіологія м'язової тканини змінюється через швидку атрофію м'язових волокон, втрату м'язової маси, зміну структури саркомерів та зниження окиснювального метаболізму, а також окиснювальну деградацію. Метаболічні зміни в куксі, експресія анаеробних ферментів, таких як лактатдегідрогеназа, збільшується, що свідчить про ймовірну компенсаторну стимуляцію анаеробного енергетичного шляху. Сполучна тканина перебудовується, стінки капілярів товщають, а матриця забезпечує механічну підтримку залишкових тканин [30].

Ампутація призводить до глибоких нейропластичних перебудов ЦНС. Формуються нові синапси, перемальовуються кортикальні соматосенсорні карти, а транскрипція нейротрофічних факторів (BDNF, NGF, NT-3) посилюється, що стимулює регенерацію аксонів, синаптичну пластичність та збереження функціонального стану нервової системи. Однак

неконтрольоване розростання аксонів може призвести до травматичних невром або фантомного болю [39].

Ампутація індукує активний запальний каскад: відбувається місцева інфільтрація макрофагів, нейтрофілів та лімфоцитів, а також збільшується синтез прозапальних цитокінів (IL-1 β , TNF- α , IL-6), що одночасно сприяє деградації тканин у зоні ампутації. Активуються окиснювальні шляхи, збільшується утворення вільних радикалів, відбуваються зміни в антиоксидантній системі організму [42].

Фазність загоєння кукси відповідає класичним 4 стадіям: гемостаз, запальна фаза, проліферація та ремоделювання. Гемостаз забезпечує швидке запобігання втраті крові шляхом вазоконстрикції та активації тромбоцитів, що активуються для генерації VEGF та стимуляції ангіогенезу й росту ендотеліальних клітин. Запальна фаза може тривати години або дні за участі нейтрофілів та макрофагів як регуляторів регенерації тканин. Проліферативна фаза складається з активної міграції фібробластів до зони пошкодження та подальшого синтезу колагену, а також грануляційної тканини, в якій деякі фібробласти диференціюються в міофібробласти, що скорочують тканину. Фаза ремоделювання триває поступово протягом тижнів і місяців, коли неорганізований колаген типу III замінюється на щільний та більш організований колаген типу I, а волокна реорганізуються відповідно до механічного навантаження [60].

Системні зміни включають ангіогенез, мітотичну регуляцію мікроциркуляції, формування колатеральних судин, зміни артеріального тону та збільшення місцевого кровотоку. Метаболічні адаптації включають збільшення мобілізації глікогену, змінену утилізацію жирних кислот та глюкози, а також активацію анаеробних шляхів, які забезпечують енергію за умов обмеженого кровопостачання та зменшеної м'язової маси [31].

1.2. Методи оцінки поведінкових змін і функціонального стану ЦНС у щурів

Поведінкові дослідження є важливим методом оцінки функціонального стану ЦНС після ампутації. [10]. Зміни сенсомоторних та емоційних реакцій тварин відображають функціональні порушення нейронних систем, тому для їх аналізу використовують валідовані поведінкові тести [44].

Тест "Відкрите поле" широко застосовується для оцінки поведінки лабораторних щурів як індикатор фізичного та емоційного стану. Цей тест широко використовується у нейрофізіологічних та поведінкових дослідженнях [47]. Вхід тварини в нове освітлене середовище відкритого поля активує складну поведінкову та нейроендокринну реакцію, пов'язану з фізіологічною активацією систем реагування на стрес [47]. У формуванні цієї відповіді важливу роль відіграють структури лімбічної системи, зокрема мигдалина, гіпокамп і префронтальна кора, що беруть участь у регуляції емоційних та дослідницьких реакцій. Перебування у новому середовищі супроводжується змінами активності нейромедіаторних систем мозку, що впливають на рівень локомоторної активності, мотивацію до дослідження та прояви тривожності у тварин [38].

Через численні взаємопов'язані причини поведінкові параметри в тесті «відкрите поле» у щурів з ампутуваними кінцівками можуть змінюватися [44]. Втрата кінцівки викликає незручності пересування за наявності трьох кінців замість чотирьох та внаслідок порушення сенсомоторної інтеграції та втрати аферентної інформації від ампутованої ділянки. Це призводить до змін локомоторної активності, координації рухів і характеру дослідницької поведінки. У тесті це виявляється зменшенням рухової активності, зниженням кількості дослідницьких реакцій та більшою схильністю тварин рухатися вздовж стінок арени [39].

Тест "Світло-темна камера" зазвичай використовується для оцінки реакції тривожності у гризунів. Цей тест базується на природному поведінковому конфлікті між дослідницькою активністю та униканням

освітленого простору. Менший час перебування тварини у світлій частині камери зазвичай свідчить про підвищений рівень тривожності, тоді як більша активність у світлій зоні відповідає зменшенню проявів тривожності [5]. Поведінка тварин у тесті «Світло-темна камера» віддзеркалює нейронні механізми тривожності та реакції на стрес. У регуляції цих процесів беруть участь структури лімбічної системи та різні нейромедіаторні системи мозку, зокрема ГАМК-ергічна і моноамінергічні. Активація цих систем під впливом нових або загрозливих стимулів може змінювати поведінку тварин, що проявляється уникненням освітленої частини камери та переважним перебуванням у темній зоні. [45].

Нейрофізіологічні зміни, пов'язані з травмою, можуть впливати на поведінку щурів з ампутацією кінцівок у тесті «світло-темна камера». Втрата кінцівки супроводжується порушенням сенсомоторної інтеграції та активацією ноцицептивних процесів, що може змінювати емоційні реакції та рівень тривожності тварин [32].

Тест Порсолта (примусового плавання) широко використовується для оцінки депресивноподібної поведінки у лабораторних гризунів. Метод базується на спостереженні за поведінкою тварин у водному середовищі та вимірюванні тривалості активних рухів і періодів іммобілізації [60]. Поведінкові реакції у тесті Порсолта пов'язані з функціонуванням різних нейрохімічних систем мозку, насамперед моноамінергічних. Зміни активності цих систем можуть впливати на співвідношення активних рухів та іммобілізації тварин у водному середовищі [17].

У щурів з ампутуваними кінцівками поведінка у тесті примусового плавання може змінюватися внаслідок травматичного впливу та порушення функціонального стану ЦНС. Такі зміни можуть проявлятися збільшенням тривалості іммобілізації та зменшенням активних рухів у водному середовищі [59].

Ротарод-тест є одним з основних методів оцінки сенсомоторної координації, балансу та моторної функції у лабораторних гризунів. У ході

тесту тварину розміщують на горизонтальному стрижні, що обертається, а основним показником є час утримання на ньому до падіння. Зменшення цього показника свідчить про порушення координації рухів і моторного контролю [49]. Фіксована швидкість обертання обрана як традиційний формат ротарод-тесту, через який можна виміряти як моторно-координовані рухи тварини, так і її адаптивність та навчання у виконанні завдання [27]. Ротарод-тест є чутливим методом для виявлення порушень координації, рівноваги та моторного контролю. Його результати залежать від функціонального стану мозочка, пропріоцептивної системи, вестибулярного апарату та інших структур, що забезпечують узгодженість рухів [13]. Ротарод-тест також дає змогу оцінити моторне навчання та адаптацію. Під час повторних спроб тварини зазвичай довше утримуються на стрижні, що відображає формування ефективніших рухових навичок і пристосування до умов тестування [34].

У щурів з ампутацією кінцівок результати ротарод-тесту можуть погіршуватися внаслідок порушення сенсомоторної інтеграції, зменшення пропріоцептивного потоку та змін моторного контролю. Це проявляється зниженням здатності утримувати рівновагу на обертовому стрижні та повільнішою адаптацією до повторного тестування [49].

Ці чотири методи в комбінації можуть сприяти достатньо повній оцінці функції ЦНС після ампутації з урахуванням як моторних, так і емоційно-мотиваційних адаптацій. Ширший підхід до поведінкових тестів є основою для інтерпретації механізмів постампутаційної адаптації, нейропластичного переформування, запальних реакцій, а також порушень балансу нейромедіаторів. Інформація з цих питань є ключовою для формулювання успішних планів реабілітації, фармакологічних втручань та технологій протезування, призначених для відновлення сенсорних та моторних здібностей.

1.3. Вплив ампутації на поведінку, емоційний стан та адаптаційні реакції щурів

Після ампутації кінцівки у щурів відбуваються значні зміни не лише у тканинах, але й на рівні ЦНС. Втрата кінцівки супроводжується раптовим припиненням сенсорної аферентації та змінами пропріоцептивної інформації, що призводить до перебудови моторних програм. Такі зміни впливають на функціонування нейронних мереж мозку та можуть віддзеркалюватися на поведінкових реакціях тварин. Унаслідок цього можуть змінюватися поведінкові реакції тварин, а також формуватися ноцицептивна сенситизація у структурах спинного мозку та зміни рівня нейротрофічних факторів, що беруть участь у процесах кортикальної пластичності та адаптації нейронних мереж [15, 39].

У ЦНС ці процеси супроводжуються тривалими нейропластичними змінами у соматосенсорній корі, що виникають у відповідь на зменшення аферентного потоку з периферії. Унаслідок цього у щурів після ампутації спостерігається зниження локомоторної активності та порушення рівноваги під час виконання поведінкових тестів. Такі зміни пояснюються не лише механічною втратою опори, але й центральними нейрофізіологічними перебудовами, зокрема змінами функції моторної кори, порушенням пропріоцептивної аферентації та сенсомоторної інтеграції. Експериментальні дослідження на гризунах демонструють тривалу перебудову сенсорних і моторних шляхів у відповідь на ампутацію [29].

Після ампутації тварини демонструють тривалі зміни експресії нейротрофічних факторів, зокрема BDNF, які беруть участь у процесах нейропластичності та відновлення функціональної активності після втрати кінцівки [8]. Поряд із патологічними змінами у нейронних мережах зберігається і адаптивний потенціал ЦНС. У відповідь на втрату аферентних сигналів відбувається ремапінг соматосенсорної та моторної кори, підвищення активності контралатеральних моторних зон і активація компенсаторних нейронних схем, що частково відновлює функціональний

баланс [29]. Однак формування таких адаптивних механізмів потребує часу та відповідної стимуляції.

Ампутація кінцівки у щурів ініціює комплекс змін у функціонуванні ЦНС, зокрема в моторній активності, емоціях та когнітивних процесах [15, 36]. Системна активація стрес-підсилюючих шляхів, зокрема гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової осі, залучена до патофізіології ампутації. На тваринних моделях тривала активація цієї осі призводить до змін у нейроендокринній регуляції, балансі глюкокортикоїдів, пам'яті та емоційних реакціях, що може призвести до тривожних та депресивних проявів після травми або ампутації [36].

Дисрегуляція гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової осі впливає не лише на гормональне середовище, але й на функціонування структур лімбічної системи, зокрема гіпокампа та префронтальної кори, які беруть участь у регуляції емоцій і когнітивних процесів [15]. Підвищений рівень глюкокортикоїдів може порушувати механізми нейропластичності, погіршувати когнітивну функцію та посилювати тривожні реакції, що проявляється зниженням дослідницької поведінки у поведінкових тестах [36].

Моделі хронічного стресу у гризунів, що показали тривалу стимуляцію гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової осі, продемонстрували не лише тимчасові зміни у її функціонуванні, але й стійкі нейромолекулярні адаптації, що виявляються у вигляді дисбалансу нейромедіаторів, загальної запальної відповіді та неадаптивного негативного зворотного зв'язку кортикостероїдів. Саме ця взаємодія закладає фізіологічну основу для тривожних та депресивних реакцій та когнітивних аномалій, зменшеної здатності реагувати та запам'ятовувати нову інформацію [15, 36].

Емоційний стан щурів після ампутації також може змінюватися внаслідок нейроендокринних реакцій, що впливають на функціонування лімбічної системи та поведінкові реакції тварин [15].

Ампутація призводить до порушення передачі аферентної сенсорної інформації та перебудови сенсомоторних структур у центральній нервовій

системі, зокрема у соматосенсорній корі та таламічних ядрах [39]. Такі зміни можуть сприяти розвитку центральної сенситизації — підвищеної чутливості нейронів до ноцицептивних і неноцицептивних сигналів [29, 39].

Сенситизація також може бути пов'язана з посиленням синаптичної передачі та змінами балансу збуджувальних і гальмівних впливів у центральній нервовій системі. Одним із важливих механізмів є активація NMDA-рецепторів і посилення глутаматергічної передачі, що сприяє підвищенню збудливості нейронів больових шляхів [14]. Центральна сенситизація, яка виникає внаслідок втрати периферичної аферентації, є одним із ключових механізмів формування фантомного болю після ампутації. Навіть за відсутності периферичних рецепторів нейрони спинного мозку, таламуса та кори можуть залишатися гіперактивними через патологічні зміни синаптичних зв'язків [29, 39].

Серед ключових механізмів нейрозапалення після травми та ампутації є активація мікрогліальних клітин (імунних елементів ЦНС). Мікроглія реагує на механічні пошкодження або на хронічні ноцицептивні стимули шляхом фенотипічної зміни, проліферації та посиленого синтезу прозапальних цитокінів IL-1 β , TNF- α , IL-6 [48]. Ці цитокіни, що впливають на різні нейрони, змінюють їхню активність і підвищують передачу сигналів, що походять від болю, є показником одного з молекулярних підґрунть цього процесу центральної сенситизації та нейропластичних змін у больових шляхах [50].

Паралельно з нейропластичними та нейрозапальними ефектами ампутації активуються окиснювальні процеси, що додатково навантажують нейрони та гліальні клітини. Реактивні форми кисню (ROS) і азоту (RNS), які утворюються під час запалення, можуть порушувати окиснювальний баланс у ЦНС та пошкоджувати клітинні структури, зокрема мембрани нейронів і мітохондрії, що призводить до нейронної дисфункції [61].

На тлі сенситизаційних, нейроендокринних і запальних змін після ампутації формуються виражені нейропластичні перебудови, що охоплюють

різні рівні нервової системи. Такі зміни супроводжуються реконфігурацією сенсомоторних кортикальних і підкіркових мереж у відповідь на втрату аферентних імпульсів з ампутованої кінцівки [29]. Унаслідок цього відбувається структурна та функціональна перебудова зв'язків у первинній соматосенсорній і моторній корі, що може бути пов'язано як з адаптивними процесами компенсації, так і з формуванням фантомного болю [29, 40].

Адаптація після ампутації не обмежується лише локальними змінами в кортикальних зонах, пов'язаних із втраченою кінцівкою [40]. Вона включає більш глобальну перебудову сенсомоторних мереж мозку, яка може відображати компенсаторну реорганізацію існуючих нейронних зв'язків і формування альтернативних шляхів обробки сенсорної та моторної інформації [20, 28].

Крім змінених карт тіла в кортикальних областях, мікроклітинна та молекулярна адаптація також відбувається у відповідних сенсомоторних мережах, що відповідають їм. Нові дані з моделі ампутації демонструють активацію каскаду мікрогліальної активності в прилеглих сенсорних шляхах, зокрема через шлях CCL2-CCR2 через втрату аферентного входу [35]. Такі локалізовані запальні та імунологічні події в кортикальних шарах можуть полягати в основі нейропластичності та сприяти процесу ремоделювання мереж як у гострій, так і в підгострій фазі втрати кінцівки [20, 35].

Нейровізуалізаційні дослідження показують, що після ампутації відбувається реорганізація соматосенсорних карт у корі головного мозку. У цьому процесі можуть залучатися сусідні сенсорні зони, зокрема ділянки, що відповідають за обличчя або проксимальні частини тіла, які частково заміщують втрачений аферентний вхід [17]. Унаслідок цього стимуляція інших частин тіла може активувати кортикальні області, що раніше були пов'язані з ампутованою кінцівкою. Водночас сучасні дослідження свідчать, що кортикальні карти можуть зберігати певну стабільність навіть після тривалої втрати аферентації, а їхня перебудова часто базується на активації латентних нейронних зв'язків. Таким чином, нейропластична реорганізація

може відігравати як адаптивну роль у компенсації функціональних порушень, так і брати участь у формуванні патологічних феноменів, зокрема фантомних відчуттів [20, 28].

1.4. Нейрофізіологічні механізми змін у ЦНС та перспективи реабілітації після ампутації

Активація центральних нейронів є одним з ключових нейробіологічних механізмів розвитку патологічного болю після пошкодження периферичних нервів або втрати аферентної іннервації. Вони супроводжуються підвищеною збудливістю нейронів задніх рогів спинного мозку та збільшеною передачею ноцицептивних імпульсів до висхідних сенсорних трактів. Центральна сенситизація є видом синаптичної пластичності, що виникає у відповідь на стійку або тривалу стимуляцію ноцицепторів. Внаслідок цього поріг активації нейронів знижується, їхні рецептивні поля розширюються, і виникає гіпералгезія або алодинія [12, 18, 24].

Таламус відіграє ключову роль в обробці ноцицептивної інформації та виступає центральним вузлом інтеграції сенсорних сигналів у системі болю. Сучасні дослідження показують, що таламус не лише передає сигнали від спинного мозку до кори, а й бере участь у їх інтеграції, фільтрації та модуляції у взаємодії з кортикальними і підкірковими структурами мозку. Таким чином, він служить центральним вузлом для координації динаміки нейронних мереж, пов'язаних зі сприйняттям болю [3, 26, 46].

Таламічні ядра, особливо вентральні сенсорні, обробляють ноцицептивну інформацію через спиноталамічний тракт. Порушення балансу між глутаматергічними збуджувальними та ГАМК-ергічними інгібувальними механізмами може призводити до патологічної активації таламічних нейронів. У таких умовах виникає центральна дезінгібіція, що сприяє надмірній передачі ноцицептивних сигналів до кортикальних структур. Ці зміни є одними з ключових чинників хронічного нейропатичного болю та таламічного больового синдрому [6, 33].

Іншою причиною патологічної реорганізації таламічних мереж є порушення патерну активності у вогнищах таламокортикальних нейронів. У пацієнтів з хронічним нейропатичним болем спостерігається порушення активності таламокортикальних нейронів, що проявляється розвитком таламокортикальної дисритмії. Ці аномальні ритми підтримують постійний прояв болю за відсутності периферичного ноцицептивного стимулу, тим самим пояснюючи процес генерації фантомного болю після ампутації кінцівки [7, 43].

Таламус також має сильний взаємозв'язок з іншими ділянками мозку, що керують модуляцією больових сигналів. Зокрема, є критичною роль таламічних ядер у взаємодії з PAG, також важливою особливістю низхідної системи модуляції болю. Мережа структур, що включає таламічні ядра, мигдалину та PAG, розвивається складно і здатна модулювати потужність больового сигналу і, таким чином, емоційно-мотиваційні аспекти больового сигналу [22, 52, 55].

Нейропластичні трансформації на кортикальному рівні після переривання сенсорної аферентації пов'язані зі зміною соматосенсорної та моторної кори мозку. Первинна соматосенсорна кора інтегрує сенсорну інформацію від периферичних рецепторів. Коли аферентний вхід втрачається в певній області тіла, кортикальні проєкції переплановуються: нейрони, що раніше реагували на стимуляцію з втраченого або пошкодженого району, починають реагувати на стимуляцію сусідніх областей тіла. Ця реорганізація ілюструє здатність кори до нейропластичності та переносу сенсорних мереж у нове функціональне середовище [1, 35].

Структурні основи кортикального перепланування є реорганізацією синаптичних зв'язків та морфологічними відмінностями в дендритах нейронів. Коли нейрони зазнають нейропластичності, довжина дендритних гілок, їх розгалуження та щільність дендритних шипиків змінюється. Дендритні шипики є динамічними структурами, форма, розмір і кількість яких змінюються залежно від нейронної активності. Сила синаптичних

зв'язків, а також здатність генерувати нові нейронні мережі тісно регулюються цими морфологічними змінами. Зміни в морфології або щільності дендритних шипиків можуть суттєво вплинути на нейронну комунікацію і є фундаментальними для багатьох неврологічних та психічних розладів [21, 37].

ЦНС відіграє значну роль у нейропластичності нейронів, передачі сигналів від одного нейрона до іншого та здатності мозку реагувати на стрес. Моноамінергічні системи, особливо серотонінергічна, дофамінергічна та норадренергічна, мають специфічні ролі в цих механізмах, керуючи синаптичною передачею, збудливістю нейронів та пластичністю в нейронах [12, 18, 19].

Серотонін (5-гідрокситриптамін) є одним з ключових регуляторів нейропластичності. Він впливає на активність рецепторів, внутрішньоклітинні сигнальні шляхи та експресію генів, що беруть участь у рості нейронів і формуванні нових синапсів [11, 56].

Норадренергічна система також бере участь у модуляції нейронної активності та в керуванні адаптивними процесами в ЦНС. Норадреналін модулює збудливість нейронів і через неї також ефективність синаптичної передачі за допомогою як адренорецепторів, так і внутрішньоклітинних сигнальних механізмів. Норадренергічна система також інтегрована з іншими моноамінергічними системами мозку для сприяння включенню нейрохімічної сигналізації в регуляцію функціонування ЦНС в умовах стресу [57].

Так само дофамінергічна система має важливу функцію в контролі механізмів мотивації, навчання та когнітивної гнучкості. Через рецептори, які значно варіюються, дофамін впливає на активність нейронів, модулюючи внутрішньоклітинні сигнальні шляхи та контролюючи синтез білків, необхідних для індукції нових синапсів [24, 46].

Фізична реабілітація є одним з цих перспективних напрямків для вирішення проблеми невропатичного та фантомного болю. Регулярні фізичні вправи підвищують нейропластичність, а також змінюють молекулярні

процеси, відповідальні за больові синдроми. Зокрема, фізичні вправи можуть модулювати активність спинальних мікрогліальних клітин, що є важливими для невропатичного болю [9, 51].

Фізична активність показала, що вона зменшує активацію запальних сигнальних шляхів, включаючи p38 MAPK, тим самим зменшуючи вивільнення прозапальних медіаторів і зменшуючи гіперчутливість до болю. Крім того, фізичні вправи сприяють поверненню функціональної природи нейронних мереж, а також підтримці гомеостазу мікроглії і, як вважається, зменшують центральну сенситизацію та виникнення невропатичного болю. Тренування, однак, також можуть підвищувати рівні нейротрофічних факторів для виживання нейронів і сприяти нейропластичності в мозку [25].

Фармакотерапія є важливим компонентом лікування невропатичного болю. Проте її ефективність часто обмежена. Одна з груп препаратів, що можна використовувати для корекції цього виду болю, включає антагоністи NMDA-рецепторів. Вони інгібують глутаматергічну передачу, і центральна сенситизація може пригнічувати симптоми болю. До цього класу належать кетамін, мемантин і декстрометорфан, ефективність яких доведено в клінічних випробуваннях [26, 33].

Крім того, агенти для регуляції ГАМК-ергічної передачі, зокрема антидепресанти та протизапальні засоби, використовуються в лікуванні невропатичного болю. Вони можуть модулювати нейромедіаторні системи та запальні шляхи в ЦНС, що залучені до полегшення больового синдрому. Фармакотерапія не завжди забезпечує повне зняття болю, і зазвичай супроводжується побічними ефектами, тому часто вимагає комбінованого лікування з іншими методами [7, 54].

Таким чином, нейрофізіологічні зміни після ампутації включають центральну сенситизацію, таламокортикальні порушення, нейропластичну перебудову кортикальних мереж та зміни нейромедіаторних систем. Розуміння цих механізмів є важливим для розробки ефективних стратегій фармакологічної та фізичної реабілітації після втрати кінцівки.

Висновки до розділу 1

1. Проаналізовано сучасні експериментальні моделі ампутації у щурів та встановлено, що вони дозволяють досліджувати морфологічні, метаболічні та нейрофізіологічні зміни, що виникають після втрати кінцівки.

2. Охарактеризовано основні поведінкові методи оцінки функціонального стану центральної нервової системи у щурів (тест «відкрите поле», тест «світло–темна камера», тест Порсолта, ротарод-тест), що дозволяють визначати зміни локомоторної активності, координації рухів та емоційного стану тварин.

3. Встановлено, що ампутація кінцівки викликає зміни поведінкових реакцій, емоційного стану та адаптаційних механізмів організму, пов'язані з перебудовою сенсомоторних і нейронних мереж центральної нервової системи.

4. Узагальнено нейрофізіологічні механізми постампутаційних змін у ЦНС, зокрема центральну сенситизацію, нейропластичну перебудову та порушення нейромедіаторного балансу, що обґрунтовує необхідність пошуку ефективних підходів до фармакологічної корекції.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Експериментальні тварини

Дослідження виконано в навчально-науковому інституті прикладної фармації Національного фармацевтичного університету (НФаУ). Використано 17 дорослих білих рандомбредних щурах-самцях віком 7-8 місяців, масою 230-310 г (визначали з використанням електронних ваг з точністю до 1 г). Тварин утримували на стандартному харчовому раціоні віварію за вільного доступу до води, постійної вологості та температурного режиму +22–23°C.

Щурів випадковим чином розділено на дві групи. До першої групи (інтактного контролю) увійшло 11 тварин. У гострому постампутаційному періоді (3-4 день після операції) досліджено 9 щурів, у хронічному періоді (через 2 місяці) — 11 контрольних щурів; тварин утримували по 3 особини у стандартних клітках. Другу групу (контрольної патології) становили 6 тварин, яким виконано транстібіальну ампутацію задньої правої кінцівки; їх утримували по 1 особині в стандартних клітках.

2.2. Біоетична експертиза

Обмежену кількість тварин з ампутацією ($n = 6$) обґрунтовано міркуваннями біоетики. Протокол експериментів схвалений комісією з біоетики НФаУ (протокол № 13 від 13.03.2024 р.) та відповідає вимогам Гельсінської декларації щодо гуманного поводження з тваринами (2000 р.) та Директиви Ради Європейського Союзу щодо захисту тварин, що використовуються для наукових цілей (2010 р.) [16].

2.3. Модель ампутації нижньої кінцівки у щурів

Транстібіальну ампутацію задньої кінцівки на рівні нижньої третини гомілки виконували в асептичних умовах 6 тваринам під тіопентал-натрієвим наркозом (40 мг/кг внутрішньоочеревинно). Використовували мініатюрні хірургічні інструменти; для гемостазу — електрокоагулятор. З метою мінімізації ризику розвитку невропатичного болю нерви перетинали одним рухом під помірним натягом. Край кістки після перетину ретельно згладжували та надавали йому анатомічної форми. Формували куксу конічної форми. Для закриття рани формували міофасціокутанний клапоть (myofasciocutaneous flap). М'язи ушивали (техніка міопластики), шкіру — окремо. Для профілактики інфекційних ускладнень наприкінці операції щурам вводили внутрішньоочеревинно цефтриаксон у дозі 250 мг/кг [44].

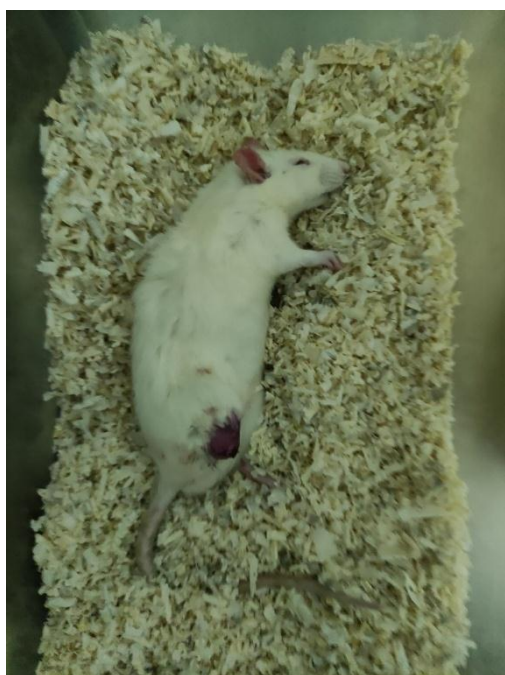


Рис 2.1 Щур після виконання транстібіальної ампутації задньої кінцівки у ранньому післяопераційному періоді (вихід із наркозу).



Рис 2.2 Загальний вигляд щура через 2 місяці після транстібіальної ампутації задньої кінцівки.

2.4. Методи оцінки функціонального стану центральної нервової системи

Дослідження щодо оцінки функціонального стану ЦНС після ампутації проводили на 3-й день після операції (гостра стадія) та через 2 місяці (хронічна стадія) у такій послідовності, яка мінімізує виснаження тварин та не впливає на результати наступних тестів.

У тесті «Відкрите поле» використовували яскраво освітлений майданчик на ніжках розміром 75×75 см з бортами 30 см, розділений на 25 квадратів 15×15 см з отворами діаметром 2 см на їх кутах. Визначали рухову (кількість перетнутих квадратів) та дослідницьку активність (кількість вертикальних стійок і обстежених отворів, та їх сумарне значення), емоційні реакції (кількість актів грумінгу) та їх вегетативний супровід (кількість фекальних болюсів, уринацій) окремо та сумарно, розраховували сумарний показник усіх видів активностей за 3 хвилини дослідження [47].

Далі проводили тест «Світло-темна камера», у якому досліджували рівень тривожності. Пристрій являє собою прямокутну камеру розмірами $60 \times 30 \times 30$ см, яка розділена перегородкою на два рівних відсіки 30×30 см. Один з них закривається зйомною кришкою. Інший відкритий, над ним розташовано джерело яскравого світла з метою створення для тварин умов помірного стресу. У перетинці між світлою та темною камерами наявний отвір. Щурів розміщували в яскраво освітленій частині пристрою головою від отвору та визначали латентний час входу в затемнену камеру. Додатково оцінювали такі поведінкові патерни, як вертикальні стійки, грумінг, дефекації та уринації під час перебування на освітленому майданчику. Час спостереження становив 3 хвилини [5].

Далі визначали координацію рухів тварин у ротарод-тесті (швидкість обертання стрижня 10 об/хв.). У цьому тесті щури мали 3 спроби, що дозволяло адаптуватися до складних умов тестування, особливо за відсутності кінцівки; враховували кращий результат [49].

Наприкінці визначали рівень депресивноподібної поведінки тварин у плавальному тесті Порсолта. Тварин вміщували до басейну діаметром 50 см, глибиною 60 см та висотою бортів 10 см, що унеможливило вихід тварини з басейну. Басейн заповнювали водою кімнатної температури (21-22°C). Ознаками депресивноподібної поведінки вважали скорочення латентного часу першого епізоду знерухомлення (припинення активних плавальних рухів), збільшення кількості епізодів та часу іммобільності тварин у воді [59].

2.5. Статистичний аналіз

Для статистичної обробки кількісних даних використовували програми STATISTICA 12.0 (StatSoft, США) та Microsoft Excel. Міжгрупові відмінності оцінювали за непараметричним критерієм Манна-Вітні, оскільки розподіл даних відрізнявся від нормального (за критерієм Шапіро-Вілکا). Відмінності вважали статистично значущими при $p < 0,05$. Результати наведено у вигляді $M \pm m$ та $Me [Q25; Q75]$. При обліку результатів в альтернативній формі (наявність/відсутність) їх подавали у відсотках, а статистичну значущість оцінювали за кутовим перетворенням Фішера (ф-критерій).

2.6. Фінансування дослідження

Дослідження виконано в рамках теми «Розроблення м'яких лікарських засобів для поліпшення функціонального стану кукси при протезуванні» Переліку наукових досліджень МОЗ України, що виконуються за кошти державного бюджету України № 0124U001991 (Наказ МОЗ України від 16.01.2024 р. № 82).

Висновки до розділу 2

1. У рамках експериментального дослідження визначено об'єкти та умови його проведення.
2. Відповідно до поставленої мети обрано адекватні моделі та методи, що дозволяють оцінити функціональний стан центральної нервової

системи у щурів після транстибіальної ампутації задньої кінцівки в гострому та хронічному періодах.

3. Використано комплекс поведінкових тестів («відкрите поле», «світло-темна камера», ротарод-тест, тест Порсолта), які дають змогу оцінити рухову активність, тривожність, координацію рухів та депресивноподібну поведінку.

4. Для обробки результатів застосовано сучасні методи статистичного аналізу, що забезпечують об'єктивну оцінку отриманих даних.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

3.1. Вплив ампутації задньої кінцівки на поведінку щурів у тесті «Відкрите поле»

Результати досліджень на щурах у тесті «Відкрите поле» у ранньому постампутаційному періоді наведено в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

Вплив транстібіальної ампутації задньої кінцівки на поведінкові реакції щурів у тесті “Відкрите поле” у ранньому періоді ($M \pm m$, Me [Q25; Q75])

Показник		Група, кількість тварин	
		Контроль, n=9	Ампутація, n=6
1		2	3
Кількість перетнутих квадратів		24,36 $\pm$ 7,88 19 [7,75; 31,75]	16,33 $\pm$ 7,38 8 [4; 30]
Орієнтовно-дослідницька активність	Стійки	6,88 $\pm$ 2,10 6.5 [3,25; 8,5]	2,17 $\pm$ 0,98 1,5 [0,25; 3,5]
	Обстежені отвори	2,00 $\pm$ 0,53 2 [1; 2,25]	0,50 $\pm$ 0,5 0 [0; 0]*
	Сума	8,88 $\pm$ 2,29 9 [4,25; 10,5]	2,67 $\pm$ 1,26 1,5 [0,25; 5,0]*
Емоційні реакції та їх вегетативний супровід	Грумінг	2,25 $\pm$ 0,75 2 [1; 2,25]	0,33 $\pm$ 0,21 0 [0; 0,75] **
	Болюси	1,50 $\pm$ 0,50 1 [0,75; 2,25]	2,33 $\pm$ 0,56 2 [1,25; 3,5]
	Уринації	0,50 $\pm$ 0,19 0,5 [0; 1]	0,50 $\pm$ 0,19 0,5 [0; 1]
	Сума	4,25 $\pm$ 0,90 4.5 [2,5; 5,5]	3,17 $\pm$ 0,54 3 [2,0; 4,0]

продовження табл. 3.1

1	2	3
Сума всіх активностей	37,49±9,35 31,5 [20,25; 43,75]	22,17±8,81 12 [8,5; 38,75]

Примітка. Статистично значущі відмінності щодо контролю:

* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ (критерій Манна-Вітні).

На 3 день після транстібіальної ампутації задньої кінцівки у тесті «Відкрите поле» у щурів спостерігали зниження загальної поведінкової активності порівняно з інтактним контролем. Рухова активність (кількість перетнутих квадратів) тенденційно зменшилася в середньому на 33%. Найбільш виразні зміни відзначалися з боку орієнтовно-дослідницької поведінки: кількість обстежених отворів достовірно зменшилася у 4 рази ($p < 0,05$), кількість вертикальних стійок — у 3,2 рази (тенденційно), а сумарна орієнтовно-дослідницька активність — у 3,3 рази ($p < 0,05$). Кількість актів грумінгу, що є поведінковим маркером емоційних реакцій, також статистично значуще зменшилася у 6,8 рази ($p < 0,01$). Водночас вегетативні прояви емоційності (кількість болюсів та уринацій) достовірно не змінювалися. Загальна сума показників усіх субтестів «Відкритого поля» у ранньому постампутаційному періоді тенденційно зменшилася в середньому на 40,9% порівняно з контролем, що свідчить про пригнічення локомоторної та орієнтовно-дослідницької активності тварин після ампутації.

Результати досліджень на щурах у тесті «Відкрите поле» у віддаленому періоді наведено в таблиці 3.2. Через 2 місяці у щурів з ампутацією зберігалось зниження поведінкової активності порівняно з інтактним контролем. Локомоторна активність (кількість перетнутих квадратів) залишалася тенденційно меншою в середньому на 21%. Зберігалось також зменшення орієнтовно-дослідницької активності: кількість вертикальних стійок, обстежених отворів та їх сумарний показник були нижчими, ніж у контрольній групі, однак ці зміни мали лише тенденційний характер.

Таблиця 3.2

**Вплив транстібіальної ампутації задньої кінцівки на поведінкові реакції
щурів у тесті “Відкрите поле” у віддаленому періоді
($M \pm m$, Me [Q25; Q75])**

Показник		Група, кількість тварин	
		Контроль, n=11	Ампутація, n=6
Кількість перетнутих квадратів		27,36±6,78 15 [10; 42,5]	21,63±7,58 20 [6,25; 30]
Орієнтаційно-дослідницька активність	Стійки	4,36±1,06 4 [2; 6]	2,00±0,73 1,5 [1; 2,75]
	Обстежені отвори	2,27±0,67 2 [1; 3]	1,67±1,09 1 [0,25; 1]
	Сума	6,64±1,5 6 [2,5; 8]	3,67±1,52 2,5 [1,25; 5,25]
Емоційні реакції та їх вегетативний супровід	Грумінг	1,54±0,20 1 [1; 2]	0,17±0,17 0 [0; 0]**
	Болюси	1,18±0,63 1 [0; 1]	1,00±0,63 0,5 [0; 1]
	Уринації	0,73±0,21 1 [0,5; 1]	0,67±0,21 0,5 [0; 1]
	Сума	3,45±0,45 3 [2,5; 4,5]	1,84±0,87 1 [1; 1,75]*
Сума всіх активностей		37,45±7,97 28 [16,5; 55]	27,17±8,99 22 [9,25; 43]

Примітка. Статистично значущі відмінності щодо контролю:

* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ (критерій Манна-Вітні).

Разом із тим тривало пригнічення емоційних реакцій: кількість актів грумінгу, що є поведінковим маркером емоційності, достовірно зменшилась у

9 разів ($p<0,01$). Сума показників емоційних реакцій та їх вегетативного супроводу також зменшилася у 1,9 раза ($p<0,05$). Загальна сума всіх активностей у тесті «Відкрите поле» залишалася тенденційно нижчою порівняно з контролем і в середньому була меншою на 27,4%, що свідчить про збереження зниження загальної поведінкової активності тварин у віддаленому постампутаційному періоді.

3.2. Зміни рівня тривожності після ампутації задньої кінцівки у тесті «Світло-темна камера»

Результати досліджень на щурах у тесті «Світло-темна камера» у гострому періоді наведено в таблиці 3.3.

Усі тварини контрольної групи швидко (протягом приблизно 30 с) переходили до темного відсіку камери. Це зумовлено притаманною гризунам природною реакцією уникнення яскраво освітлених просторів, які діють на тварин анксиогенно. При цьому під час перебування у світлій камері щури майже не виявляли орієнтовно-дослідницької активності (стійки були майже відсутні) та практично не демонстрували емоційних реакцій (грумінг, дефекації, уринації).

Натомість у щурів із транстібіальною ампутацією в ранньому постампутаційному періоді спостерігалось значне збільшення латентного періоду входу до темної камери — у середньому в 7,1 раза порівняно з контролем ($p<0,05$). Така зміна може свідчити про зниження рівня тривожності у тварин після ампутації. Протягом цього часу щури пересувалися освітленим майданчиком, обстежували його, здійснювали стійки, іноді демонстрували поодинокі емоційні реакції та навіть зазирали в отвір до темного відсіку, проте не поспішали переходити до нього.

У результаті лише 33,3% щурів із ампутацією, порівняно зі 100% у контрольній групі ($p<0,01$), увійшли до затемненої камери протягом 3 хвилин спостереження. Водночас кількість стійок та емоційних реакцій під час

перебування у світлій камері достовірно не відрізнялася від показників контрольної групи.

Таблиця 3.3

Вплив транстібіальної ампутації задньої кінцівки на поведінкові реакції щурів у тесті “Світло-темна камера” у гострому періоді (M±m, Me [Q25; Q75])

Показник		Група, кількість тварин	
		Контроль, n=8	Ампутація, n=6
Латентний період входу до темної камери, с		17,50±6,21 10 [5; 22,5]	124,00±35,46 180 [59,25; 180]*
Орієнтовно - дослідницька діяльність	Стійки	0,13±0,13 0 [0; 0]	0,33±0,21 0 [0; 0,75]
	Грумінг	0±0 0 [0; 0]	0,17±0,17 0 [0; 0]
Емоційні реакції та їх вегетативний супровід	Болюси	0±0 0 [0; 0]	0,50±0,34 0 [0; 0,75]
	Уринації	0±0 0 [0; 0]	0,33±0,21 0 [0; 0,75]
Кількість щурів, що увійшли за 3 хв, %		100	33.3 ^^

Примітка. Статистично значущі відмінності щодо контролю:

* – $p < 0,05$ (критерій Манна-Вітні); ^^ – $p < 0,01$ (критерій Фішера).

Результати досліджень на щурах у тесті «Світло-темна камера» у віддаленому періоді наведено в таблиці 3.4.

У віддаленому постампутаційному періоді (через 2 місяці після транстібіальної ампутації) у щурів з ампутацією зберігалися певні зміни поведінкових реакцій у тесті «Світло-темна камера». У тварин контрольної

групи перехід до темної камери відбувався швидко, що відповідає природній реакції гризунів уникати яскраво освітлених просторів.

Таблиця 3.4

Вплив транстібіальної ампутації задньої кінцівки на поведінкові реакції щурів у тесті “Світло-темна камера” у віддаленому періоді ($M \pm m$, M_e [Q25; Q75])

Показник		Група, кількість тварин	
		Контроль, n=11	Ампутація, n=6
Латентний період входу до темної камери, с		11,00±4,65 5 [3,5; 11,0]	46,00±27,12 24 [11,5; 31,25] *
Орієнтовно - дослідницька діяльність	Стійки	0,09±0,09 0 [0; 0]	0,33±0,21 0 [0; 0,75]
	Грумінг	0,09±0,09 0 [0; 0]	0,17±0,17 0 [0; 0]
Емоційні реакції та їх вегетативний супровід	Болюси	0±0 0 [0; 0]	0,17±0,17 0 [0; 0]
	Уринації	0,09±0,09 0 [0; 0]	0,17±0,17 0 [0; 0]
Кількість щурів, що увійшли за 3 хв, %		100	83,3 ^

Примітка. Статистично значущі відмінності щодо контролю:

* – $p < 0,05$ (критерій Манна-Вітні); ^ – $p < 0,05$ (критерій Фішера).

У щурів із ампутацією латентний період входу до темної камери залишався достовірно більшим, ніж у контролі, і перевищував його в середньому у 4,2 раза ($p < 0,05$). Це може свідчити про збереження тенденції до зниження рівня тривожності у віддаленому постампутаційному періоді. При цьому тварини з ампутацією пересувалися освітленою частиною камери,

іноді здійснювали стійки та оглядали простір, проте виражених змін орієнтовно-дослідницької активності порівняно з контролем не відзначалося.

Кількість емоційних реакцій та їх вегетативного супроводу (грумінг, болюси, уринації) також достовірно не відрізнялася від показників контрольної групи. Водночас 83,3% щурів із ампутацією, порівняно зі 100% у контрольній групі ($p < 0,05$), увійшли до затемненого відсіку протягом 3 хвилин спостереження.

3.3. Вплив ампутації задньої кінцівки на координацію рухів у ротарод-тесті

Результати досліджень на щурах у ротарод-тесті у гострому періоді наведено в таблиці 3.5.

Таблиця 3.5

Вплив транстібіальної ампутації задньої кінцівки на час до падіння щурів у ротарод-тесті в гострому періоді ($M \pm m$, $Me [Q25; Q75]$)

Показник		Група, кількість тварин	
		Контроль, n=8	Ампутація, n=6
Час до падіння, с		69,88±24,26 37,5 [29;82,5]	5,00±0,86 4,5 [3,25; 6,5] **
Кількість щурів, що впали зі стрижня, %	до 5 с	0	50 ^^
	до 30 с	25	50 ^
	до 1 хв	50	0 ^^
	до 5 хв	25	0 ^

Примітка. Статистично значущі відмінності щодо контролю: ** – $p < 0,01$ (за критерієм Манна-Вітні); ^ – $p < 0,05$, ^^ – $p < 0,01$ (за кутовим перетворенням Фішера).

У гострому постампутаційному періоді у щурів із транстібіальною ампутацією задньої кінцівки спостерігалось виражене погіршення координації рухів та здатності утримуватися на обертовому стрижні у

ротарод-тесті. Середній час до падіння у тварин з ампутацією був достовірно меншим порівняно з контролем — у 14 разів ($p<0,01$).

Аналіз розподілу тварин за часом утримання на стрижні також свідчить про значне порушення моторної координації. Зокрема, 50% щурів з ампутацією падали зі стрижня вже протягом перших 5 с ($p<0,01$), тоді як у контрольній групі таких тварин не було. Ще 50% щурів з ампутацією падали протягом 30 с ($p<0,05$). Водночас жодна тварина з ампутацією не змогла утриматися на стрижні понад 1 хвилину, тоді як у контрольній групі 50% щурів утримувалися до 1 хвилини, а 25% — до 5 хвилин.

Результати досліджень на щурах у ротарод-тесті у віддаленому періоді наведено в таблиці 3.6.

Таблиця 3.6

Вплив транстібіальної ампутації задньої кінцівки на час до падіння щурів у ротарод-тесті в віддаленому періоді ($M\pm m$, $Me [Q25; Q75]$)

Показник		Група, кількість тварин	
		Контроль, n=11	Ампутація, n=6
Час до падіння, с		97,27 $\pm$ 18,70 67 [50; 160]	6,17 $\pm$ 1,14 6,5 [3,75; 7,75]**
Кількість щурів, що впали зі стрижня, %	до 5 с	0	33,3 ^^
	до 30 с	9,1	66,7 ^^
	до 1 хв	18,2	0 ^
	до 5 хв	72,7	0 ^^

Примітка. Статистично значущі відмінності щодо контролю: ** – $p<0.01$ (за критерієм Манна-Вітні); ^ – $p<0.05$, ^^ – $p<0.01$ (за кутовим перетворенням Фішера).

У віддаленому постампутаційному періоді у щурів із транстібіальною ампутацією задньої кінцівки спостерігалось виражене погіршення координації рухів та здатності утримуватися на обертовому стрижні у ротарод-тесті.

Середній час до падіння у тварин з ампутацією був достовірно меншим порівняно з контролем — у 15,8 раза ($p < 0,01$).

Аналіз розподілу тварин за часом утримання на стрижні також свідчить про значне порушення моторної координації. Зокрема, 33,3% щурів з ампутацією падали зі стрижня вже протягом перших 5 с ($p < 0,01$), тоді як у контрольній групі таких тварин не було. Ще 66,7% щурів з ампутацією падали протягом 30 с ($p < 0,01$), тоді як у контрольній групі цей показник становив лише 9,1%.

Водночас жодна тварина з ампутацією не змогла утриматися на стрижні понад 1 хвилину або до 5 хвилин, тоді як у контрольній групі 18,2% щурів утримувалися до 1 хвилини, а 72,7% — до 5 хвилин. Отримані результати свідчать про збережене виражене порушення моторної координації у щурів після транстібіальної ампутації задньої кінцівки у віддаленому періоді спостереження.

3.4. Оцінка депресивноподібної поведінки щурів після ампутації задньої кінцівки у тесті плавальному тесті Порсолта

Результати досліджень на щурах у тесті Порсолта у гострому періоді наведено в таблиці 3.7.

Таблиця 3.7

Вплив транстібіальної ампутації задньої кінцівки на поведінкові реакції щурів у плавальному тесті Порсолта в гострому періоді ($M \pm m$, Me [Q25; Q75])

Показник	Група, кількість тварин	
	Контроль, n=8	Ампутація, n=6
1	2	3
Латентний період іммобільності, с	86,13 $\pm$ 17,49 85.5 [67,25; 93]	52,00 $\pm$ 9,11 53,5 [49,75; 63,25] *

продовження табл. 3.7

1	2	3
Сумарна тривалість нерухомого стану, с	17,63±6,90 10 [5,75;19,5]	26,00±15,79 8 [2,5; 30,75]
Кількість епізодів імобільності	11,38±3,88 8,5 [5,75; 11]	13,50±6,94 6,5 [2,25; 17,5]
Середня тривалість одного епізоду імобільності, с	1,41±0,14 1,40 [1,08; 1,61]	1,43±0,20 1,27 [1,05; 1,72]

Примітка. Статистично значущі відмінності щодо контролю:
* – $p < 0,05$ (за критерієм Манна-Вітні).

У гострому постампутаційному періоді у щурів із транстібіальною ампутацією задньої кінцівки спостерігалися зміни поведінкових реакцій у плавальному тесті Порсолта. Латентний період настання імобільності у тварин з ампутацією був достовірно меншим порівняно з контролем — у середньому в 1,7 раза ($p < 0,05$), що свідчить про швидший перехід до пасивної стратегії поведінки у водному середовищі.

Водночас сумарна тривалість нерухомого стану та кількість епізодів імобільності у щурів з ампутацією мали тенденцію до збільшення порівняно з контрольною групою, однак ці зміни не сягали статистичної значущості. Середня тривалість одного епізоду імобільності істотно не відрізнялася між групами. При цьому у тварин з ампутацією спостерігалася тенденція до збільшення сумарної тривалості нерухомого стану та кількості епізодів імобільності. Отримані дані відображають особливості поведінкових реакцій щурів у водному середовищі у ранньому постампутаційному періоді.

Результати досліджень на щурах у тесті Порсолта у віддаленому періоді наведено в таблиці 3.8.

Таблиця 3.8

**Вплив транстібіальної ампутації задньої кінцівки на поведінкові реакції
щурів у плавальному тесті Порсолта в віддаленому періоді
($M \pm m$, Me [Q25; Q75])**

Показник	Група, кількість тварин	
	Контроль, n=11	Ампутація, n=6
Латентний період імобільності, с	186,73 $\pm$ 32,22 160 [112,5; 246]	31,33 $\pm$ 8,99 22 [20; 30] **
Сумарна тривалість нерухомого стану, с	13,18 $\pm$ 4,41 5 [2,5; 22,5]	55,83 $\pm$ 19,57 44 [28; 64,5] *
Кількість епізодів імобільності	4,18 $\pm$ 1,19 3 [1; 7]	28,00 $\pm$ 7,25 27,5 [15,25; 34,5] **
Середня тривалість одного епізоду імобільності, с	2,30 $\pm$ 0,40 2,5 [1,83; 3,22]	1,80 $\pm$ 0,19 1,79 [1,57; 1,99]

Примітка. Статистично значущі відмінності щодо контролю:
* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ (за критерієм Манна-Вітні).

У віддаленому постампутаційному періоді у щурів із транстібіальною ампутацією задньої кінцівки спостерігалися виразні зміни поведінкових реакцій у плавальному тесті Порсолта. Латентний період настання імобільності у тварин з ампутацією був достовірно меншим порівняно з контролем — у середньому в 6 разів ($p < 0,01$), що свідчить про значно швидший перехід до пасивної поведінкової стратегії.

Крім того, у щурів з ампутацією спостерігалось достовірне збільшення сумарної тривалості нерухомого стану — у 4,2 раза ($p < 0,05$), а також кількості епізодів імобільності — у 6,7 раза ($p < 0,01$) порівняно з контрольною групою. Водночас середня тривалість одного епізоду імобільності істотно не відрізнялася між групами.

Висновки до розділу 3

1. У тесті «Відкрите поле» встановлено, що транстібіальна ампутація задньої кінцівки у щурів у ранньому постампутаційному періоді призводить до зниження локомоторної, орієнтовно-дослідницької та емоційної активності, що проявляється зменшенням кількості перетнутих квадратів, дослідницьких реакцій та актів грумінгу. У віддаленому постампутаційному періоді зазначені зміни частково згладжуються, однак зберігається тенденція до зниження загальної поведінкової активності.

2. У тесті «Світло–темна камера» показано, що у щурів після транстібіальної ампутації відбувається достовірне збільшення латентного періоду переходу до темної камери, що свідчить про зниження рівня тривожності у ранньому постампутаційному періоді. У віддаленому періоді ця особливість поведінкових реакцій частково зберігається.

3. У ротарод-тесті встановлено, що транстібіальна ампутація задньої кінцівки спричиняє виразне порушення координації рухів та зниження моторної витривалості щурів, що виявляється значним скороченням часу утримання на обертовому стрижні у гострому постампутаційному періоді. У віддаленому постампутаційному періоді ці порушення залишаються виразними.

4. У плавальному тесті Порсолта встановлено формування депресивноподібних поведінкових реакцій у щурів після транстібіальної ампутації задньої кінцівки, що проявляється скороченням латентного періоду іммобільності та збільшенням тривалості й кількості епізодів нерухомого стану, особливо у віддаленому постампутаційному періоді.

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Проведені експериментальні дослідження дозволили комплексно оцінити функціональний стан ЦНС щурів за умов транстібіальної ампутації задньої кінцівки у різні терміни постампутаційного періоду [44].

Отримані результати свідчать, що ампутація кінцівки супроводжується комплексними змінами поведінкових реакцій, які віддзеркалюють порушення функціональної активності ЦНС. Подібні зміни можуть бути зумовлені поєднаним впливом хірургічної травми, больового синдрому, стресової реакції організму, а також порушенням нормальної аферентної імпульсації від ампутованої кінцівки.

Результати тесту «Відкрите поле» показали, що у ранньому постампутаційному періоді у щурів спостерігалось зниження локомоторної, орієнтовно-дослідницької та емоційної активності. Зменшення кількості перетнутих квадратів, вертикальних стійок та обстежених отворів свідчить про пригнічення загальної поведінкової активності тварин. Такі зміни можуть бути пов'язані як з больовими відчуттями у післяопераційному періоді, так і з обмеженням рухливості внаслідок втрати кінцівки.

Крім того, важливу роль може відігравати стресова реакція організму, що супроводжується активацією гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи та змінами нейромедіаторного балансу у структурах головного мозку. Відомо, що подібні стани можуть супроводжуватися змінами активності серотонінергічної, дофамінергічної та норадренергічної систем, які беруть участь у регуляції поведінкових та емоційних реакцій [38].

У віддаленому постампутаційному періоді спостерігалось часткове відновлення поведінкових реакцій, що може свідчити про формування компенсаторно-адаптаційних механізмів ЦНС. Важливу роль у цьому процесі відіграють явища нейропластичності — здатності нервової системи

змінювати функціональну організацію нейронних мереж у відповідь на ушкодження.

Одним із ключових факторів нейропластичності є BDNF, який бере участь у регуляції виживання нейронів, синаптичної передачі та процесів навчання і пам'яті. Після ушкоджень периферичних тканин або втрати кінцівки відбувається перебудова сенсомоторних зон кори головного мозку, що пов'язано зі зміною сенсорної інформації, яка надходить до ЦНС [8].

Результати тесту «Світло–темна камера» показали зміну емоційно-поведінкових реакцій у щурів після ампутації кінцівки. Зокрема, спостерігалось збільшення латентного періоду переходу до темної камери та зменшення частки тварин, які переходили до затемненого відсіку протягом часу спостереження. Такі зміни можуть свідчити про перебудову емоційної поведінки у відповідь на травматичний вплив та зміну сенсорного сприйняття навколишнього середовища.

У ротарод-тесті виявлено значне порушення координації рухів та зниження моторної витривалості у щурів після транстібіальної ампутації задньої кінцівки. Достовірне скорочення часу утримання тварин на обертовому стрижні є закономірним наслідком втрати кінцівки та порушення нормальної біомеханіки руху. Водночас навіть у віддаленому постампутаційному періоді ці порушення залишалися вираженими, що може свідчити про тривале збереження функціональних змін у сенсомоторних системах ЦНС.

Дослідження поведінки у плавальному тесті Порсолта дозволило виявити формування депресивноподібних поведінкових реакцій у щурів після ампутації кінцівки. Скорочення латентного періоду іммобільності та збільшення тривалості нерухомого стану можуть свідчити про зміну емоційного стану тварин, що формується у відповідь на тривалий стресовий вплив та обмеження моторної активності.

Таким чином, результати проведених досліджень свідчать, що транстібіальна ампутація задньої кінцівки у щурів супроводжується

комплексними змінами поведінкових реакцій, які включають зниження загальної рухової активності, порушення координації рухів, зміну емоційних реакцій та формування депресивноподібної поведінки [44].

Отримані результати підтверджують доцільність використання моделі транстібіальної ампутації задньої кінцівки у щурів для подальших експериментальних досліджень функціональних змін ЦНС, а також для оцінки ефективності фармакологічних засобів, спрямованих на корекцію постампутаційних порушень.

Висновки до розділу 4

1. Проведено аналіз та узагальнення результатів експериментальних досліджень функціонального стану центральної нервової системи щурів за умов транстібіальної ампутації задньої кінцівки.

2. Встановлено, що ампутація кінцівки супроводжується комплексними змінами поведінкових реакцій, які проявляються зниженням локомоторної та орієнтовно-дослідницької активності, порушенням координації рухів та моторної витривалості, а також формуванням депресивноподібної поведінки.

3. Показано, що зазначені зміни найбільш виразні у ранньому постампутаційному періоді та частково зберігаються у віддаленому періоді, що може бути пов'язано з впливом хірургічної травми, больового синдрому, стресової реакції організму та процесами нейропластичної перебудови сенсомоторних систем центральної нервової системи.

4. Отримані результати підтверджують доцільність використання моделі транстібіальної ампутації задньої кінцівки у щурів для подальших експериментальних досліджень функціональних змін центральної нервової системи та пошуку ефективних підходів до фармакологічної корекції постампутаційних порушень.

ВИСНОВКИ

У кваліфікаційній роботі наведено результати експериментального дослідження функціонального стану центральної нервової системи щурів за умов транстібіальної ампутації задньої кінцівки.

1. На основі аналізу сучасних літературних джерел встановлено, що травматичні ушкодження, зокрема ампутації кінцівок, супроводжуються виразними функціональними порушеннями центральної нервової системи, які виявляються змінами поведінкових, емоційних та моторних реакцій. Показано актуальність експериментального дослідження цих змін для поглиблення уявлень про патогенез посттравматичних порушень центральної нервової системи та пошуку підходів до їх фармакологічної корекції.

2. Запропоновано та апробовано експериментальну модель транстібіальної ампутації задньої кінцівки у щурів, що дозволяє оцінювати поведінкові та функціональні зміни центральної нервової системи у гострому та віддаленому постампутаційному періодах.

3. У тесті «Відкрите поле» встановлено, що транстібіальна ампутація задньої кінцівки у щурів у ранньому постампутаційному періоді призводить до зниження локомоторної та орієнтовно-дослідницької активності, а також до пригнічення емоційних реакцій, що виявляється зменшенням кількості перетнутих квадратів, дослідницьких реакцій та актів грумінгу. У віддаленому постампутаційному періоді зазначені зміни частково компенсуються, проте зберігається тенденція до зниження загальної поведінкової активності.

4. У тесті «Світло-темна камера» встановлено, що в щурів після транстібіальної ампутації спостерігається достовірно збільшення латентного періоду переходу до темної камери та зменшення частки тварин, які переходять у затемнений відсік протягом часу спостереження, що свідчить про зміну емоційно-поведінкових реакцій у ранньому постампутаційному періоді. У віддаленому періоді зазначені зміни частково зберігаються.

5. У ротарод-тесті встановлено, що транстібіальна ампутація задньої кінцівки спричиняє виразне порушення координації рухів та значне зниження моторної витривалості щурів, що виявляється достовірним скороченням часу утримання тварин на обертовому стрижні як у гострому, так і у віддаленому постампутаційному періодах.

6. У плавному тесті Порсолта встановлено формування депресивноподібних поведінкових реакцій у щурів після транстібіальної ампутації задньої кінцівки, що виявляється скороченням латентного періоду іммобільності, збільшенням сумарної тривалості нерухомого стану та кількості епізодів іммобільності, особливо у віддаленому постампутаційному періоді.

7. Отримані результати свідчать, що транстібіальна ампутація задньої кінцівки у щурів супроводжується комплексними змінами поведінкових реакцій, які віддзеркалюють порушення функціонального стану центральної нервової системи, зниження моторної витривалості та формування депресивноподібної поведінки.

8. Встановлені зміни поведінкових реакцій можуть бути використані як експериментальна основа для подальших досліджень механізмів постампутаційних порушень та оцінки ефективності фармакологічних засобів, вплив яких скеровано на корекцію функціональних розладів центральної нервової системи після ампутації кінцівки.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. A component of lobular carcinoma in clinically lymph node-negative patients predicts for an increased likelihood of upstaging to pathologic stage III breast cancer / R. D. Van Wyhe et al. *Advances in Radiation Oncology*. 2018. Vol. 3, № 3. P. 252–257. DOI: [10.1016/j.adro.2018.02.007](https://doi.org/10.1016/j.adro.2018.02.007).
2. Agonist-antagonist myoneural interface surgery on the proprioceptive reconstruction of rat hind limb / P. Wang et al. *Heliyon*. 2024. Vol. 10, № 18. P. e38041. DOI: [10.1016/j.heliyon.2024.e38041](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e38041).
3. Altered neural pathways and related brain remodeling: a rat study using different nerve reconstructions / Y.-T. Xiang et al. *Neurosurgery*. 2023. Vol. 93, № 1. P. 233–243. DOI: [10.1227/neu.0000000000002370](https://doi.org/10.1227/neu.0000000000002370).
4. A microglial activation cascade across cortical regions underlies secondary mechanical hypersensitivity to amputation / H.-R. Wei et al. *Cell Reports*. 2024. Vol. 43, № 2. P. 113804. DOI: [10.1016/j.celrep.2024.113804](https://doi.org/10.1016/j.celrep.2024.113804).
5. Arrant A. E., Schramm-Sapyta N. L., Kuhn C. M. Use of the light/dark test for anxiety in adult and adolescent male rats. *Behavioural Brain Research*. 2013. Vol. 256. P. 119–127. DOI: [10.1016/j.bbr.2013.05.035](https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.05.035).
6. Baik J.-H. Stress and the dopaminergic reward system. *Experimental Molecular Medicine*. 2020. Vol. 52, № 12. P. 1879–1890. DOI: [10.1038/s12276-020-00532-4](https://doi.org/10.1038/s12276-020-00532-4).
7. Breitinger U., Breitinger H.-G. Excitatory and inhibitory neuronal signaling in inflammatory and diabetic neuropathic pain. *Molecular Medicine*. 2023. Vol. 29, № 1. DOI: [10.1186/s10020-023-00647-0](https://doi.org/10.1186/s10020-023-00647-0).
8. Chronic stress-associated depressive disorders: the impact of HPA axis dysregulation and neuroinflammation on the hippocampus – a mini review / A. A. Lei et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2025. Vol. 26, № 7. P. 2940. DOI: [10.3390/ijms26072940](https://doi.org/10.3390/ijms26072940).
9. Conditional deletion of *atoh1* reveals distinct critical periods for survival and function of hair cells in the organ of corti / T. Cai et al. *Journal of*

- Neuroscience*. 2013. Vol. 33, № 24. P. 10110–10122. DOI: [10.1523/jneurosci.5606-12.2013](https://doi.org/10.1523/jneurosci.5606-12.2013).
10. Cortical reorganization after limb loss: bridging the gap between basic science and clinical recovery / T. Sparling et al. *The Journal of Neuroscience*. 2024. Vol. 44, № 1. P. e1051232024. DOI: [10.1523/jneurosci.1051-23.2023](https://doi.org/10.1523/jneurosci.1051-23.2023).
 11. De Preter C. C., Heinricher M. M. The ‘in’s and out’s’ of descending pain modulation from the rostral ventromedial medulla. *Trends in Neurosciences*. 2024. Vol. 47, № 6. P. 447–460. DOI: [10.1016/j.tins.2024.04.006](https://doi.org/10.1016/j.tins.2024.04.006).
 12. Development of a phantom limb pain model in rats: behavioral and histochemical evaluation / S. Jergova et al. *Frontiers in Pain Research*. 2021. Vol. 2. P. 675232. DOI: [10.3389/fpain.2021.675232](https://doi.org/10.3389/fpain.2021.675232).
 13. Early motor balance and coordination training increased synaptophysin in subcortical regions of the ischemic rat brain / H. G. Seo et al. *Journal of Korean Medical Science*. 2010. Vol. 25, № 11. P. 1638. DOI: [10.3346/jkms.2010.25.11.1638](https://doi.org/10.3346/jkms.2010.25.11.1638).
 14. Electrical stimulation shifts healing/scarring towards regeneration in a rat limb amputation model / K. M. C. Oliveira et al. *Scientific Reports*. 2019. Vol. 9, № 1. DOI: [10.1038/s41598-019-47389-w](https://doi.org/10.1038/s41598-019-47389-w).
 15. Electroacupuncture alleviates perioperative hypothalamus-pituitary-adrenal axis dysfunction via circRNA-miRNA-mRNA networks / Y. Wang et al. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2023. Vol. 16. DOI: [10.3389/fnmol.2023.1115569](https://doi.org/10.3389/fnmol.2023.1115569).
 16. European Parliament and Council Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes. URL: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32010L0063> (Date of access: 25.02.2026).
 17. Forced swimming-induced depressive-like behavior and anxiety are reduced by chlorpheniramine via suppression of oxidative and inflammatory mediators and activating the nrf2-bdnf signaling pathway / H. S. Alamri et

- al. *Current Issues in Molecular Biology*. 2023. Vol. 45, № 8. P. 6449–6465. DOI: [10.3390/cimb45080407](https://doi.org/10.3390/cimb45080407).
18. From amputation to persistent pain: a review of molecular and cellular processes in phantom limb pain / C.-B. Satala et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2026. Vol. 27, № 5. P. 2107. DOI: [10.3390/ijms27052107](https://doi.org/10.3390/ijms27052107).
 19. Gebhart G. F. Descending modulation of pain. *Neuroscience Biobehavioral Reviews*. 2004. Vol. 27, № 8. P. 729–737. DOI: [10.1016/j.neubiorev.2003.11.008](https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2003.11.008).
 20. Griffin S. C., Tsao J. W. A mechanism-based classification of phantom limb pain. *Pain*. 2014. Vol. 155, № 11. P. 2236–2242. DOI: [10.1016/j.pain.2014.05.016](https://doi.org/10.1016/j.pain.2014.05.016).
 21. Hüttenrauch M., Salinas G., Wirths O. Effects of long-term environmental enrichment on anxiety, memory, hippocampal plasticity and overall brain gene expression in C57BL6 mice. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2016. Vol. 9. DOI: [10.3389/fnmol.2016.00062](https://doi.org/10.3389/fnmol.2016.00062).
 22. Impact of aging on the auditory system and related cognitive functions: a narrative review / D. M. P. Jayakody et al. *Frontiers in Neuroscience*. 2018. Vol. 12. DOI: [10.3389/fnins.2018.00125](https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00125).
 23. In vivo and in vitro investigation of a novel gelatin/sodium polyacrylate composite hemostatic sponge for topical bleeding / N. Jahan et al. *Journal of Functional Biomaterials*. 2023. Vol. 14, № 5. P. 265. DOI: [10.3390/jfb14050265](https://doi.org/10.3390/jfb14050265).
 24. Joint analysis of expression levels and histological images identifies genes associated with tissue morphology / J. T. Ash et al. *Nature Communications*. 2021. Vol. 12, № 1. DOI: [10.1038/s41467-021-21727-x](https://doi.org/10.1038/s41467-021-21727-x).
 25. Locations in the neocortex: a theory of sensorimotor object recognition using cortical grid cells / M. Lewis et al. *Frontiers in Neural Circuits*. 2019. Vol. 13. DOI: [10.3389/fncir.2019.00022](https://doi.org/10.3389/fncir.2019.00022).

26. Loyd D. R., Murphy A. Z. The role of the periaqueductal gray in the modulation of pain in males and females: are the anatomy and physiology really that different? *Neural Plasticity*. 2009. Vol. 2009. P. 1–12. DOI: [10.1155/2009/462879](https://doi.org/10.1155/2009/462879).
27. Lubrich C., Giesler P., Kipp M. Motor behavioral deficits in the cuprizone model: validity of the rotarod test paradigm. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. Vol. 23, № 19. P. 11342. DOI: [10.3390/ijms231911342](https://doi.org/10.3390/ijms231911342).
28. Making sense of phantom limb pain / H. R. Schone et al. *Journal of Neurology, Neurosurgery Psychiatry*. 2022. P. 1–11. DOI: [10.1136/jnnp-2021-328428](https://doi.org/10.1136/jnnp-2021-328428).
29. Makin T. R., Flor H. Brain (re)organisation following amputation: implications for phantom limb pain. *NeuroImage*. 2020. Vol. 218. P. 116943. DOI: [10.1016/j.neuroimage.2020.116943](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2020.116943).
30. Marsh D. R., Campbell C. B., Spriet L. L. Effect of hindlimb unweighting on anaerobic metabolism in rat skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*. 1992. Vol. 72, № 4. P. 1304–1310. DOI: [10.1152/jappl.1992.72.4.1304](https://doi.org/10.1152/jappl.1992.72.4.1304).
31. Metabolic reprogramming and interventions in angiogenesis / Y. Liu et al. *Journal of Advanced Research*. 2024. Vol. 70. P. 323–338. DOI: [10.1016/j.jare.2024.05.001](https://doi.org/10.1016/j.jare.2024.05.001).
32. Methods for evaluating sensory, affective and cognitive disorders in neuropathic rodents / E. Palazzo et al. *Current Neuropharmacology*. 2020. Vol. 18. DOI: [10.2174/1570159x18666200831153117](https://doi.org/10.2174/1570159x18666200831153117).
33. Moderate exercise combined with enriched environment enhances learning and memory through bdnf/trkb signaling pathway in rats / L. Xu et al. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2021. Vol. 18, № 16. P. 8283. DOI: [10.3390/ijerph18168283](https://doi.org/10.3390/ijerph18168283).

34. Motoneuron excitability: the importance of neuromodulatory inputs / C. J. Heckman et al. *Clinical Neurophysiology*. 2009. Vol. 120, № 12. P. 2040–2054. DOI: [10.1016/j.clinph.2009.08.009](https://doi.org/10.1016/j.clinph.2009.08.009).
35. Neuroinflammation and central sensitization in chronic and widespread pain / R.-R. Ji et al. *Anesthesiology*. 2018. Vol. 129, № 2. P. 343–366. DOI: [10.1097/aln.0000000000002130](https://doi.org/10.1097/aln.0000000000002130).
36. Neuroplasticity caused by peripheral proprioceptive deficits / H. Shitara et al. *Medicine Science in Sports Exercise*. 2022. Vol. 54, № 1. P. 28–37. DOI: [10.1249/mss.0000000000002775](https://doi.org/10.1249/mss.0000000000002775).
37. Ota K., Shinya M., Kudo K. Transcranial direct current stimulation over dorsolateral prefrontal cortex modulates risk-attitude in motor decision-making. *Frontiers in Human Neuroscience*. 2019. Vol. 13. P. 297. DOI: [10.3389/fnhum.2019.00297](https://doi.org/10.3389/fnhum.2019.00297).
38. Packard A. E. B., Egan A. E., Ulrich-Lai Y. M. HPA axis interactions with behavioral systems. *Comprehensive Physiology*. 2016. Vol. 6, № 4. P. 1897–1934. DOI: [10.1002/j.2040-4603.2016.tb00722.x](https://doi.org/10.1002/j.2040-4603.2016.tb00722.x).
39. Pathophysiological and neuroplastic changes in postamputation and neuropathic pain: review of the literature / C. J. Issa et al. *Plastic and Reconstructive Surgery – Global Open*. 2022. Vol. 10, № 9. P. e4549. DOI: [10.1097/gox.0000000000004549](https://doi.org/10.1097/gox.0000000000004549).
40. Peripersonal encoding of forelimb proprioception in the mouse somatosensory cortex / I. Alonso et al. *Nature Communications*. 2023. Vol. 14, № 1. DOI: [10.1038/s41467-023-37575-w](https://doi.org/10.1038/s41467-023-37575-w).
41. Plaut S. Disrupted biotensegrity in the fiber cellular fascial network and neuroma microenvironment: a conceptual framework for “phantom limb pain”. *International Journal of Molecular Sciences*. 2025. Vol. 26, № 17. P. 8161. DOI: [10.3390/ijms26178161](https://doi.org/10.3390/ijms26178161).
42. Pro and anti-inflammatory cytokine levels (TNF- α , IL-1 β , IL-6 and IL-10) in rat model of neuroma / J. Khan et al. *Pathophysiology*. 2017. Vol. 24, № 3. P. 155–159. DOI: [10.1016/j.pathophys.2017.04.001](https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2017.04.001).

43. Prolonged use of NMDAR antagonist develops analgesic tolerance in neuropathic pain via nitric oxide reduction-induced gabaergic disinhibition / J. Li et al. *Neurotherapeutics*. 2020. Vol. 17, № 3. P. 1016–1030. DOI: [10.1007/s13311-020-00883-w](https://doi.org/10.1007/s13311-020-00883-w).
44. Rat transtibial hindlimb amputation model: characteristic of the central nervous system functional state, physical endurance and body mass in dynamic / M. Hutorka et al. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2024. № 6(52). P. 27–36. DOI: [10.15587/2519-4852.2024.318008](https://doi.org/10.15587/2519-4852.2024.318008).
45. Recent advances in anxiety disorders: focus on animal models and pathological mechanisms / H. Zhao et al. *Animal Models and Experimental Medicine*. 2023. Vol. 6, № 6. P. 559–572. DOI: [10.1002/ame2.12360](https://doi.org/10.1002/ame2.12360).
46. Schubert V., Lebrecht D., Holtmaat A. Peripheral deafferentation-driven functional somatosensory map shifts are associated with local, not large-scale dendritic structural plasticity. *Journal of Neuroscience*. 2013. Vol. 33, № 22. P. 9474–9487. DOI: [10.1523/jneurosci.1032-13.2013](https://doi.org/10.1523/jneurosci.1032-13.2013).
47. Seibenhener M. L., Wooten M. C. Use of the open field maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice. *Journal of Visualized Experiments*. 2015. Vol. 96. P. e52434. DOI: [10.3791/52434](https://doi.org/10.3791/52434).
48. Serotonin and dopamine show different response profiles to acute stress in the nucleus accumbens and medial prefrontal cortex of rats with neuropathic pain / J. W. M. Kang et al. *Neurochemical Research*. 2023. Vol. 48(7). P. 2265–2280. DOI: [10.1007/s11064-023-03906-y](https://doi.org/10.1007/s11064-023-03906-y).
49. Shan H.-M., Maurer M. A., Schwab M. E. Four-parameter analysis in modified Rotarod test for detecting minor motor deficits in mice. *BMC Biology*. 2023. Vol. 21, № 1. DOI: [10.1186/s12915-023-01679-y](https://doi.org/10.1186/s12915-023-01679-y).
50. Shen J. Plasticity of the central nervous system involving peripheral nerve transfer. *Neural Plasticity*. 2022. Vol. 2022. P. 1–10. DOI: [10.1155/2022/5345269](https://doi.org/10.1155/2022/5345269).
51. Subjective but not objective sleep is associated with subsyndromal anxiety and depression in community-dwelling older adults / C. E. Gould et al. *The*

- American Journal of Geriatric Psychiatry*. 2018. Vol. 26, № 7. P. 806–811. DOI: [10.1016/j.jagp.2018.03.010](https://doi.org/10.1016/j.jagp.2018.03.010).
52. Surfactant application during extracorporeal membrane oxygenation improves lung volume and pulmonary mechanics in children with respiratory failure / M. Hermon et al. *Critical Care*. 2005. Vol. 9, № 6. P. R718. DOI: [10.1186/cc3880](https://doi.org/10.1186/cc3880).
53. The development of a rat model to investigate the formation of blast-related post-traumatic heterotopic ossification / E. M. Polfer et al. *The Bone Joint Journal*. 2015. Vol. 97-B, № 4. P. 572–576. DOI: [10.1302/0301-620x.97b4.34866](https://doi.org/10.1302/0301-620x.97b4.34866).
54. The etiological contribution of GABAergic plasticity to the pathogenesis of neuropathic pain / C. Li et al. *Molecular Pain*. 2019. Vol. 15. P. 174480691984736. DOI: [10.1177/1744806919847366](https://doi.org/10.1177/1744806919847366).
55. The influence of long-term housing in enriched environment on behavior of normal rats and subjected to neonatal pro-inflammatory challenge / I. V. Pavlova et al. *Brain, Behavior, Immunity Health*. 2023. Vol. 30. P. 100639. DOI: [10.1016/j.bbih.2023.100639](https://doi.org/10.1016/j.bbih.2023.100639).
56. The role of descending pain modulation in chronic primary pain: potential application of drugs targeting serotonergic system / Z.-Y. Tao et al. *Neural Plasticity*. 2019. Vol. 2019. P. 1–16. DOI: [10.1155/2019/1389296](https://doi.org/10.1155/2019/1389296).
57. Trumble T. E., Heaton D. J. Outcomes of surface replacement proximal interphalangeal joint arthroplasty through a volar approach: a prospective study. *Hand*. 2016. Vol. 12, № 3. P. 290–296. DOI: [10.1177/1558944716662020](https://doi.org/10.1177/1558944716662020).
58. Guide for the care and use of laboratory animals / The National Academy of Sciences. 8th ed. Washington : National Academies Press, 2011. 220 p.
59. Variability in behavioral phenotypes after forced swimming-induced stress in rats is associated with expression of the glucocorticoid receptor, *nurr1*, and *il-1β* in the hippocampus / E. Ruiz-Sánchez et al. *International Journal*

- of Molecular Sciences*. 2021. Vol. 22, № 23. P. 12700. DOI: [10.3390/ijms222312700](https://doi.org/10.3390/ijms222312700).
60. Wound healing: a comprehensive review / Y. H. Almadani et al. *Seminars in Plastic Surgery*. 2021. Vol. 35, № 3. P. 141–144. DOI: [10.1055/s-0041-1731791](https://doi.org/10.1055/s-0041-1731791).
61. Zink P. J., Philip B. A. Cortical plasticity in rehabilitation for upper extremity peripheral nerve injury: a scoping review. *American Journal of Occupational Therapy*. 2019. Vol. 74, № 1. P. 7401205030p1–7401205030p15. DOI: [10.5014/ajot.2020.036665](https://doi.org/10.5014/ajot.2020.036665).

ДОДАТКИ



Міністерство
охорони здоров'я
України

Національний
фармацевтичний
університет

ДИПЛОМ I СТУПЕНЯ

нагороджується

**Микита
Гуторка**

секційне засідання
Кафедра фармакології
та клінічної фармації

V Всеукраїнська науково-практична
конференція з міжнародною участю

YOUTH PHARMACY SCIENCE

10-11 грудня 2024 р.,
м. Харків, Україна



В.о. ректора НФаУ,
д. фарм. наук

Алла КОТВИЦЬКА



Міністерство
охорони здоров'я
України

Національний
фармацевтичний
університет

ДИПЛОМ II СТУПЕНЯ

нагороджується

**Микита
ГУТОРКА**

пленарне засідання

V Всеукраїнська науково-практична
конференція з міжнародною участю

YOUTH PHARMACY SCIENCE

10-11 грудня 2024 р.,
м. Харків, Україна



В.о. ректора НФаУ,
д. фарм. наук

Алла КОТВИЦЬКА

ScienceRise: Pharmaceutical Science

UDC 616-089.873.591.471.36:37:599.323.4:591.481
DOI: 10.15587/2519-4852.2024.318008

№ 6(52)/2024

RAT TRANSIBIAL HINDLIMB AMPUTATION MODEL: CHARACTERISTIC OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM FUNCTIONAL STATE, PHYSICAL ENDURANCE AND BODY MASS IN DYNAMIC

Mykyta Hutorka, Dmytro Kyrylov, Oleksandr Melchenbursev, Sergii Shtrygol', Andrii Taran, Olena Ruban

Limb loss is a relevant medical and social problem. In a full-scale war environment, amputation becomes a frequent occasion, which requires adequate rehabilitation measures in preparation for prosthetic procedures. The post-traumatic period's peculiarities, specifically the central nervous system (CNS) functional characteristics and physical endurance, must be known. Experimental studies on animal models play an important role, however, there is no information available about such studies.

The aim. To determine the influence of hindlimb loss on the state of the central nervous system in terms of behavioural responses, physical endurance, and body mass dynamics of rats in the early and late post-amputation period. To characterise the indicated amputation model for further use in experimental studies.

Materials and methods. The experiment was conducted on white male rats. Transibial amputation at the level of the lower third of the hind limb was performed in aseptic conditions in 6 animals under thiopental-sodium anaesthesia (40 mg/kg intraperitoneally). The state of CNS and physical endurance was determined during the early (3-4 days after amputation) and long-term (2 months after surgery) periods. Locomotor and exploratory activity, emotional responses and vegetative support were determined in the Open field test, and anxiety was determined in the Light-dark box test. The coordination of animal movement was measured in the rotarod test, and the depression level was measured in the Porsolt swim test. The physical endurance of the rats was studied using the forced swimming test with a load (5% of the body mass at the base of the tail) as a control were used rats with comparable body mass. STATISTICA 12.0 was used to process the results.

Results. In the early post-amputation period, exploratory behaviour and emotional results of rats in the Open field test were significantly suppressed, while in the long-term period of significance, only the reduction of emotional responses. In the Light-dark box test, the latency to enter the darkened compartment of the chamber increases reliably in both periods of observation (especially in the early period). Collectively, these results indicate changes in the reaction of animals with amputation of the hindlimb to stressful experimental conditions, in particular, an anxiety reduction, which requires further research. In the rotarod test, a significant deterioration of movement coordination of rats with amputation was found in both observation periods. After amputation, the manifestations of depressive behaviour in the Porsolt swimming test progressed, and the physical endurance in the forced swimming test with a load was significantly reduced. The body mass of rats with hindlimb amputation was significantly increased after 2 months (22% average increase vs 4% average increase in control, $p < 0.01$). Results are important for experimental-based optimal rehabilitation programs after lower limb amputation.

Conclusion. An easy-to-perform model of transibial amputation at the level of the lower third of the hindlimb in rats is proposed. It is concluded that after amputation, exploratory behaviour and emotional responses were suppressed, which indicates changes in the responses of animals with amputation of the hindlimb to stressful experimental conditions, in particular, an anxiety reduction, which differentiates this animal amputation model from human amputation. After amputation, the depressive behaviour of rats progresses, movement coordination steadily worsens, and physical endurance is significantly reduced. The body mass of rats with hindlimb amputation increases considerably.

Keywords: transibial hindlimb amputation, behavioural responses, physical endurance, body mass, rats, experiment

How to cite:

Hutorka M, Kyrylov D, Melchenbursev O, Shtrygol' S, Taran A, Ruban O (2024) Rat transibial hindlimb amputation model: characteristic of the central nervous system functional state, physical endurance and body mass in dynamic. ScienceRise: Pharmaceutical Science. 6(52): 27-36. <http://doi.org/10.15587/2519-4852.2024.318008>

© The Author(s) 2024

This is an open access article under the Creative Commons CC BY license

1. Introduction

Limb amputation leaves a lasting impact on the quality of life, physical endurance and psychological state of humans. Lower limb amputation is the most common type (up to 85% of all amputation cases). It is estimated that quantity of humans with amputated limbs will in-

crease more than two-fold before 2050 [1]. The main reasons for amputation may vary depending on social, economic, political and regional conditions and the level of medical care. Most reasons for amputation are vascular diseases, diabetes mellitus and limb injuries [2], among which, due to war, particularly due to Russian aggression

ScienceRise: Pharmaceutical Science

№ 6(52)/2024

against Ukraine, gunshot wounds and mine-explosive trauma have gained special significance. There is no accurate statistic related to the number of soldiers who suffered lower limb wounds. According to the Health Care Department of Kyiv data, there were 15,000 people with amputated limbs in the first half of 2023 [3].

To properly plan the rehabilitation process and prosthetics, it is necessary to know the peculiarities of the post-traumatic period, specifically the functional characteristics of the central nervous system (CNS) and physical endurance. It is known that patients with traumatic amputation quite regularly have depression and post-traumatic stress disorder, characterised by fear and anxiety. To correct this condition, psychotherapy is offered in combination with antidepressants of various groups: tricyclic, serotonin and noradrenaline reuptake inhibitors, selective serotonin or noradrenaline reuptake inhibitors, and MAO inhibitors [4]. There is no information about physical endurance. To substantiate the choice of certain rehabilitation methods and schemes of optimal pharmacological correction of the specified function in the post-amputation period, it is appropriate to use not only clinical but also experimental studies. However, no information about such studies was found in the special literature.

In clinical studies of recent years, the most discussed topic is the prevention of post-amputation thromboembolism using fractionated heparin (enoxaparin) [4, 5]. Much attention is paid to the pharmacotherapy of post-amputation pain. For short-term use for this purpose, an opioid agonist, morphine, is offered, as well as antagonists of NMDA receptors – ketamine, memantine, and dextromethorphan. The effectiveness of calcium channel blocker nifedipine, beta blocker propranolol, α_2 -receptor agonist clonidine, TNF- α inhibitor etanercept is less grounded; the possibility of reducing the central activation of neurons with the help of salivary calcitonin is considered. Antitryptine and gabapentin are recommended for the treatment of phantom pain [6]. Recently, the use of regeneration stimulators – ReGeneraTing Agents (RGTA) – in the post-amputation state has been discussed [4]. These agents are polysaccharides designed to replace degraded heparan sulfate in damaged tissues. They are resistant to degradation, able to bind to the structural and signalling proteins of the extracellular matrix and protect them, and able to stimulate regeneration [7].

Also, an important consequence of losing a limb is a change in body mass. Mostly, people with a lost limb are overweight, but it is believed that this does not affect the results of functional tests after rehabilitation and generally does not interfere with the rehabilitation process in a hospital [8]. However, body mass loss has been reported in the period from 4 weeks to 6 months after amputation. However, within a year, the weight is usually restored to the preoperative level or increases [9].

To prepare for prosthetics, it is necessary to substantiate the effectiveness of certain rehabilitation measures in the field of both the physical and psychological state of the victims. Unfortunately, modern methodological approaches, in particular ex vivo studies on cell cultures of neurons, osteoblasts, chondrocytes, myocytes,

do not allow determining the impact at the level of the whole organism, in which neuroendocrine regulatory and counterregulatory mechanisms simultaneously function, and the central nervous system interacts with the musculoskeletal system, which has undergone significant biomechanical and energy changes after amputation. It is important to understand how the victim's organism will function in the conditions of the above-mentioned changes in body weight, which are not always easy to correct. Even for simple movement at the stage of preparation for amputation and after prosthetics, patients spend a lot of energy, which requires optimisation of physical endurance, and neuropsychological diagnostics and treatment remain an important direction of their rehabilitation [10]. Therefore, research at the whole-body level is needed.

To successfully solve the problem of rehabilitation after the loss of a limb, it is advisable to use an optimal experimental animal model of amputation. This allows to standardise the studied parameters and assess psychophysiological and biomechanical capacity, which requires determining the state of the central nervous system, physical endurance, etc.

In experimental medicine, amputation models are used in various animal species (dogs, sheep, etc.). Without dwelling on these models, it should be noted that for a long time, models of amputation of the fore or hind limbs in rats (as the most accessible species of laboratory animals) have also been used for this purpose. In particular, there is currently a renaissance of research on the electrical stimulation effect on regeneration after limb amputation in rats [11] which was initiated over 50 years ago by R.O. Becker. Recently, the state of ischemic-reperfusion injury of the limbs [12], loss of bone tissue, changes in the microstructure of trabecular bone and muscle atrophy using computed tomography and transmission electron microscopy [13], the efficiency of muscle reinnervation [14], etc. have been studied in models of amputation of the hind limbs of these animals. No studies have been found on the functional state of the CNS, physical endurance, and changes in body weight in rats with amputation models. However, given the uniqueness of humans as the only biological species that moves on two limbs and the interspecific biomechanical, biochemical, and psychophysiological differences, it is important to find out to what extent the limb amputation model in rats corresponds to or differs from the condition of humans with a lost limb. Animal models of amputation are also important to use to assess the condition of the skin, muscles, and bone of the stump, the course of regeneration processes, adaptation of the stump to the prosthesis receiving socket or to osteointegration, protection of the stump skin and bone from ascending infections, etc., and the condition of the spine, which is significantly affected by amputation due to impaired biomechanics of movement and load redistribution [10].

Thus, the idea of limb amputation models in experimental animals, particularly rats, has existed for a long time and has recently gained new development. However, in important terms of neuropsychological studies and assessment of physical endurance and body

weight in dynamics, animal models of limb amputation have not been used.

The aim. To determine the influence of limb loss on the state of the central nervous system in terms of behavioural responses, physical endurance, and body mass dynamics of rats in the early and late post-amputation period. To characterise the indicated amputation model for further use in experimental studies.

2. Research design (methodology)

At the first stage, it was necessary to choose a model of limb amputation in rats that would preserve the mobility of animals and make it possible to determine behavioural responses in standard psychopharmacological tests and endurance to physical exertion. Amputation of the distal segment of the hindlimb, in particular, is leg, better meets this requirement. Therefore, amputation of the lower third of the hindlimb was chosen. In the second stage, to determine the functional state of the animals' central nervous system in dynamics, the early (3–4 days after amputation) and chronic (2 months after surgery) periods were chosen. This would make it possible to choose the optimal targets of the rehabilitation influence at different times after the loss of a limb.

To characterise the state of the central nervous system, a complex of standard research methods was chosen: the Open field test (motor and oriented research activity, emotionality), the Light-dark box test (anxiety), the Porsolt swim test (depressive behaviour), the rotarod test (coordination of movements, muscle tone), swimming with load (physical endurance). To track gradual changes in body mass, was reasonable to weigh rats the day before and at different times after amputation.

Stages of research:

1. Analysis of publications on limb amputation, including animal models.
2. Selection of the optimal model of rat amputation.
3. Surgical intervention – transabdominal amputation of the lower third of the hindlimb.
4. Detection of behavioural responses and physical endurance in the early (3–4 days) and late (2 months) post-amputation periods.
5. Processing and analysis of the obtained results.
6. Identification of promising directions for further research.

3. Material and methods

The study was conducted at the Educational and Scientific Institute of Applied Pharmacy of the National Pharmaceutical University (NUPh). The protocol of the experiments was approved by the bioethics commission of the NUPh (protocol No 13 dated 13.03.2024) and meets the requirements of the Helsinki Declaration on the humane treatment of animals (2000) and the Directive of the Council of the European Union on the protection of animals used for scientific purposes (2000) [15]. Experiments were performed on adult white random-bred male rats aged 7–8 months, weighing 230–310 g (determined using electronic scales with an accuracy of 1 g). The animals were kept on a standard vivarium diet with

free access to water, constant humidity, and a temperature regime of +22–23 °C.

Transabdominal amputation at the level of the lower third of the hindlimb was performed in aseptic conditions in 6 animals under thiopental-sodium anaesthesia (40 mg/kg intraperitoneally). Miniature (ophthalmological) surgical instruments were used, and an electrocoagulator was used for hemostasis. The nerves were cut under slight tension to minimise the risks of neuropathic pain. After cutting, the edge of the bone was carefully smoothed. A conical stump was formed. A myofasciocutaneous flap was formed to close the wound, muscles (myoplasty technique was used), and skin was sutured. Ceftriaxone (250 mg/kg) was administered intraperitoneally to the rats at the end of the operation to prevent infectious contamination. After surgery, rats were placed in individual standard plastic boxes with free access to pelleted feed and drinking water. A limited number of amputated rats (6) was taken for bioethical reasons.

The number of control animals was larger to reduce the dispersion of the results. In the early post-amputation period (3–4 days after surgery), 9 rats of similar age and initial body mass were used. They were injected with an anaesthetic agent and ceftriaxone in the same doses without surgical intervention to ensure the same pharmacological effects. In the chronic period (2 months), 11 control rats were studied. They were kept in similar conditions and fed in the same way as animals with amputations.

Research on the state of the central nervous system and physical endurance in each period was conducted over two days in a sequence that the animals were not exhausted, and the previous test did not interfere with the application of the next one. In the Open field test, a brightly lit platform measuring 75×75 cm with 30 cm sides was used, divided into 25 squares of 15×15 cm with 2 cm diameter holes at their corners. Locomotor (the number of crossed squares) and exploratory activity (the number of rearings and inspected holes – exploratory nose-pokes, and their sum), emotional responses (the number of acts of grooming), and their vegetative support were determined separately and together (the number of faecal boli, urinations), the sum of all activities in 3 minutes was counted [16, 17]. Later, the level of anxiety was investigated in the Light-dark box test [18]. The device is a rectangular box measuring 60×30×30 cm divided by a wall into two equal compartments of 30×30 cm. One of the compartments is closed with a removable lid. The other one is open; above it is a source of bright light used to create conditions of moderate stress for the animals. There is a hole in the wall between the light and dark boxes. Rats were placed in the brightly lit part of the device with their head away from the opening, and the time to enter the dark box was measured. Additionally, behavioural patterns such as rearings, grooming, defecation, and urination while on the illuminated platform, were assessed [19]. The observation time was 3 minutes. Next, the coordination of animal movements was measured in the rotarod test (rod rotation speed set at 10 rpm) [19]. In this test, rats had 3 tries, which allowed them to adapt to the difficult testing

conditions, especially in the absence of a limb; the best result was accounted for. At the end of the first experimental day, the level of depression of the animals was determined in the Porsolt swim test [20]. The animals were placed in a pool with a diameter of 50 cm, a depth of 60 cm and a height of borders above water of 10 cm (escape is impossible) with water at room temperature (21–22 °C). A decrease in the latent time of the first episode of immobilisation (absence of any swimming movements), an increase in the number of episodes and the time of immobility of animals in water were considered markers of depressive behaviour [20].

On the second day, the physical endurance of the rats was studied by the forced swimming test with a load (5 % of the body weight at the base of the tail). In this test, a load of 10 % of the body weight is used, but given the specifics of this experiment – the reduced capabilities of animals with limb amputation – the weight of the load was reduced to 5 %. The pool described above was used. Swimming time was measured until the moment of exhaustion when the rats dried underwater and could not float back to the surface for at least 10 seconds [21]. A stopwatch was used. The experiments were recorded.

STATISTICA v12.0 and Excel programs were used for statistical processing of quantitative data. The statistical significance of intergroup differences was determined by the non-parametric Mann-Whitney test since the distribution test by the Shapiro-Wilk test showed that it was not normal. The paired Wilcoxon test was used to evaluate the body mass dynamic within the group. Changes with $p < 0.05$ were considered statistically significant. The results are presented as Me and Me (Q25; Q75). For accounting results in an alternative form (presence/absence of a feature), the results were presented in %, and Fisher's angular transformation was used.

4. Results

All animals tolerated the surgical intervention well and quickly recovered from anaesthesia (Fig. 1). Early and late complications were not observed. Right after coming out of anaesthesia, the animals began to move, and on the second day after the amputation of the hindlimb, all rats freely moved in their cages. The stump in all rats in the early post-amputation period was in satisfactory condition while primary healing of the surgical wound was taking place. The wool cover of the stump was restored (Fig. 2, a). At the same time, muscle hypotrophy and flexural contracture of the hip joint gradually developed, and already a few days after the operation, the stump in some animals appeared to be shortened and significantly pulled up to the pelvis. Over time, these changes intensified (Fig. 2, b).

Behavioural patterns in the Open field test. On the 3rd day, in the Open field test, a declining trend in motor activity was observed (number of crossed squares), averaging a 33 % decrease (Table 1). Orientation and exploratory responses have changed: the number of examined holes has decreased by 4 times ($p < 0.05$), the number of rearings has decreased by 3.2 times, and the sum of orientation and exploratory responses has decreased by 3.3

times ($p < 0.05$). The number of acts of grooming (a behavioural marker of emotional responses) also decreased statistically significantly by 6.8 times ($p < 0.01$), and vegetative manifestations of emotions (number of boli, urinations) did not undergo significant changes. The sum of indicators of all subsets of the Open field test tends to decrease in the early post-amputation period by an average of 40.9 %.



Fig. 1. Rat after transabdominal amputation of the hindlimb. Getting out of anaesthesia



Fig. 2. Appearance of rats 2 months after amputation at the level of the lower third of the right hindlimb: a – stump with minor; b – with significant muscle atrophy

29

30

Table 1
Effect of transabdominal amputation of the hindlimb on the behavioural responses of rats in the Open field test in the early and long-term periods

Period of research, indicator	Group, number of animals			
	Control		Amputation	
	Me	Me (Q25; Q75)	Me	Me (Q25; Q75)
Early period (3–4 days after amputation)	n=9		n=6	
Locomotor activity (squares crossed)	24.36±7.88	19 [7.75; 31.75]	16.33±7.38	8 [4; 30]
Exploratory activity				
Rearings	6.88±2.10	6.5 [2.25; 8.5]	1.5 [0.25; 3.5]	
Exploratory nose-pokes	2.00±0.53	2 [1; 2.25]	0.50±0.50	0 [0; 0]*
The sum	8.88±2.29	9 [4.25; 10.5]	2.07±1.26	1.5 [0.25; 5.0]*
Emotional responses and their autonomic support				
Groomings	2.25±0.75	2 [1; 2.25]	0.33±0.21	0 [0; 0.75]**
Faecal boli	1.50±0.50	1 [0.75; 2.25]	2.33±0.56	2 [1.25; 3.5]
Urinations	0.50±0.19	0.5 [0; 1]	0.50±0.19	0.5 [0; 1]
The sum	4.25±0.90	4.5 [2.5; 5.5]	3.17±0.54	3 [2.0; 4.0]
The sum of all activities	37.49±9.35	31.5 [20.25; 43.75]	22.17±8.81	12 [8.5; 38.75]
Long-term period (2 months after amputation)	n=11		n=6	
Locomotor activity (squares crossed)	27.36±6.78	15 [10; 42.5]	21.63±7.58	20 [6.25; 30]
Exploratory activity				
Rearings	4.36±1.06	4 [2; 6]	2.00±0.73	1.5 [1; 2.75]
Exploratory nose-pokes	2.27±0.67	2 [1; 3]	1.67±1.09	1 [0.25; 1]
The sum	6.64±1.5	6 [2.5; 9]	3.67±1.52	2.5 [1.25; 5.25]
Emotional responses and their autonomic support				
Groomings	1.54±0.20	1 [1; 2]	0.17±0.17	0 [0; 0]**
Faecal boli	1.18±0.63	1 [0; 1]	1.00±0.63	0.5 [0; 1]
Urinations	0.73±0.21	1 [0.5; 1]	0.67±0.21	0.5 [0; 1]
The sum	3.45±0.45	3 [2.5; 4.5]	1.84±0.87	1 [1; 1.75]*
The sum of all activities	37.45±7.97	28 [16.5; 55]	27.17±8.99	22 [9.25; 43]

Note: statistically significant differences compared to the control: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$ (Mann-Whitney criterion).

In the long-term post-amputation period (2 months), the locomotor activity of animals with amputation also tended to be lower (by 21 %) compared to control. The decrease in the number of orientation and exploratory responses was also preserved, but now it was expressed weaker and had a tendentious character in all subsets.

Suppression of emotional responses also continued: the number of acts of grooming decreased by 9 times ($p < 0.01$) compared to the control, and the decrease in the sum of markers of emotionality by 1.9 times became reliable ($p < 0.05$). The sum of all activities of the Open field test remained tendentially reduced compared to the control by an average of 27.4 %.

The level of anxiety in the Light-dark box test. As can be seen from the Table 2, all animals of the control group quickly (within half a minute) entered the dark compartment of the box. This is due to the inherent rodents' instinctive fear of brightly lit spaces, which has an anxiogenic effect on rats. On the way to the dark box, they mostly did not examine the lightbox (there were no stances) and, for the most part, did not show emotional responses (grooming, defecation, urination). On the contrary, in rats with amputation in the early period, a significant (on average 7.1 times) increase in the latent period of entering the dark box was observed ($p < 0.05$), which may mean a decrease in anxiety level. During this time, they all moved around the lighted platform, examined it, made stances, managed to reveal a small number of emotional responses (no more than intact rats revealed in seven times shorter time), and even

looked into the opening to the dark compartment, but did not hurry to hide there. Only 33.3 % of rats with amputation versus 100 % in control ($p < 0.01$) entered the dark box within 3 minutes of observation. At the same time, there were no changes in the number of stances and emotional responses during the stay in the lightbox compared to the control.

Similar, though less pronounced, differences took place in the long-term period. In animals with amputation, the latent period of entering the dark box remained increased compared to the control (by 4.2 times, $p < 0.05$), while only 83.3 % of them entered within 3 minutes against 100 % in the control ($p < 0.05$). The number of stances and displays of emotionality during the stay in the light box, as in the early post-amputation period, remained unchanged.

Coordination of movements in the rotarod test. Rats with amputation both in the early and in the remote period were kept on the rotating rod much worse than the control animals (Table 3). In both terms of the study, they all fell from the rod within 30 seconds, while in the control, at this time, the least coordinated animals were just starting to fall. A significant number of rats with amputation did not last even 5 seconds on the rod, while most control rats lasted 1 minute. The average time it took rats with amputation to fall was statistically significantly ($p < 0.01$) inferior to the control value by 14 times on the 3rd day and by 16 times after 2 months. Therefore, the coordination of movements after the amputation of the hindlimb was persistently disturbed.

31

Table 2
Effect of transabdominal amputation of the hindlimb on the behavioural responses of rats in the Light-dark box test in the early and long-term periods

Period of research, indicator	Group, number of animals			
	Control		Amputation	
	Me	Me (Q25; Q75)	Me	Me (Q25; Q75)
Early period (3–4 days after amputation)	n=8		n=6	
Latent period before entering, seconds	17.50±6.21	10 [5; 22.5]	124.00±35.46	180 [59.25; 180]*
Exploratory activity				
Groomings	0.13±0.13	0 [0; 0]	0.33±0.21	0 [0; 0.75]
Emotional responses and their autonomic support				
Faecal boli	0±0	0 [0; 0]	0.17±0.17	0 [0; 0]
Urinations	0±0	0 [0; 0]	0.50±0.34	0 [0; 0.75]
The sum	0±0	0 [0; 0]	0.33±0.21	0 [0; 0.75]
Number of rats that entered in 3 minutes, %	100		33.3 % [^]	
Long-term period (2 months after amputation)	n=11		n=6	
Latent period before entering, seconds	11.00±4.65	5 [3.5; 11.0]	46.00±27.12	24 [11.5; 31.25]*
Exploratory activity				
Rearings	0.09±0.09	0 [0; 0]	0.33±0.21	0 [0; 0.75]
Emotional responses and their autonomic support				
Groomings	0.09±0.09	0 [0; 0]	0.17±0.17	0 [0; 0]
Faecal boli	0±0	0 [0; 0]	0.17±0.17	0 [0; 0]
Urinations	0.09±0.09	0 [0; 0]	0.17±0.17	0 [0; 0]
Number of rats that entered in 3 minutes, %	100		83.3 % [^]	

Note: statistically significant differences compared to the control: * – $p < 0.05$ (Mann-Whitney test); [^] – $p < 0.05$, ^{^^} – $p < 0.01$ (Fisher's test).

Table 3
Effects of transabdominal amputation on the time it took rats to fall in the rotarod test in the early and long-term periods

Period of research, indicator	Group, number of animals			
	Control		Amputation	
	Me	Me (Q25; Q75)	Me	Me (Q25; Q75)
Early period (3–4 days after amputation)	n=8		n=6	
Time to fall, seconds	69.88±24.26	37.5 [29; 82.5]	5.00±0.86	4.5 [3.25; 6.5]**
The number of rats that fell from the rod, %				
<5 sec	0	0	50 % ^{^^}	
<30 sec	25	25	50 %	
<1 min	50	50	0 %	
<5 min	25	25	0 %	
Long-term period (2 months after amputation)	n=11		n=6	
Time to fall, seconds	97.27±18.70	67 [50; 160]	6.17±1.14	6.5 [3.75; 7.75]**
The number of rats that fell from the rod, %				
<5 sec	0	0	33.3 % ^{^^}	
<30 sec	9.1	9.1	66.7 % ^{^^}	
<1 min	18.2	18.2	0 %	
<5 min	72.7	72.7	0 % ^{^^}	

Note: statistically significant differences compared to the control: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$ (according to the Mann-Whitney criterion); [^] – $p < 0.05$, ^{^^} – $p < 0.01$ (according to Fisher's angular transformation).

Depression behaviour in Porsolt swimming test. During swimming, rats used a stump as much as possible.

In the early post-amputation period, the latent period of immobility decreased significantly (on average, 1.7 times compared to the control, $p < 0.05$) in rats with amputation (Table 4). The number and total duration of episodes of immobility tended to increase, and the average duration of such an episode was almost the same. In the remote period, an even more pronounced decrease in the latent period of immobility was observed (an average of 6 times compared to the control, $p < 0.01$), and there was a statistically significant increase in the number ($p < 0.01$) and duration of immobility episodes ($p < 0.05$). These results indicate an increase in depressive behaviour in rats with hindlimb amputation over time.

Physical endurance in the weighted swimming test. During the test, the rats tried to use the stump to swim. A

statistically significant ($p < 0.05$) decrease in swimming time until exhaustion was observed in rats with amputation of the hindlimb in both terms of the study (Table 5). In the early period, this time was reduced by an average of 1.6 times, and in the late period – by 1.8 times. These results indicate that after transabdominal hindlimb amputation in rats, there is a progressive decline in physical endurance.

Dynamics of body mass. As can be seen from Table 6, the initial body mass of animals with amputation was 11 % greater than that of controls, but the difference did not reach a statistically significant level. After 2 months, the average weight of control animals tended to increase by 10 g (4 %), and the weight of rats with amputation increased by 62.3 g (22.1 %), which is significantly higher compared to their initial weight ($p < 0.05$) and to the control indicator for synchronous weighing by 31 % ($p < 0.01$). Therefore, after amputation, there is a significant increase in body mass.

32

Table 4
Effect of transtibial amputation of the hindlimb on the behavioural responses of rats in the Porsolt swimming test in the early and long-term periods

Period of research, indicator	Group, number of animals			
	Control		Amputation	
	M±m	Me [Q25; Q75]	M±m	Me [Q25; Q75]
Early period (3–4 days after amputation)	n=8		n=6	
Latent period of immobility, sec	86.13±17.49	85.5 [67.25; 93]	52.00±9.11	53.5 [49.75; 63.25]*
Total time of immobility, sec	17.63±6.90	10 [5.75; 19.5]	26.00±15.79	8 [2.5; 30.75]
Number of immobility episodes	11.38±3.88	8.5 [5.75; 11]	15.50±6.94	6.5 [2.25; 15]
The average duration of immobility episode, sec	1.41±0.14	1.40 [1.08; 1.61]	1.43±0.20	1.27 [1.05; 1.72]
Long-term period (2 months after amputation)	n=11		n=6	
Latent period of immobility, sec	186.73±32.22	160 [117.5; 246]	31.33±8.99	22 [20; 30]**
Total time of immobility, sec	13.18±4.41	5 [2.5; 22.5]	55.83±19.57	44 [28; 64.5]*
Number of immobility episodes	4.18±1.19	3 [1; 7]	28.00±7.25	27.5 [15.25; 34.5]**
The average duration of immobility episode, sec	2.30±0.40	2.5 [1.83; 3.22]	1.80±0.19	1.79 [1.57; 1.99]

Note: statistically significant differences compared to the control: * – $p<0.05$, ** – $p<0.01$ (according to the Mann-Whitney test).

Table 5
The effect of transtibial amputation of the hindlimb on the duration of swimming with a load until exhaustion in the early and remote periods

Period of research, indicator	Group, number of animals			
	Control		Amputation	
	M±m	Me [Q25; Q75]	M±m	Me [Q25; Q75]
Early period (3–4 days after amputation)	n=9		n=6	
Swimming time, sec	377.4±32.3	382 [290; 402]	240.2±34.4	273 [212.25; 291.75]*
Long-term period (2 months after amputation)	n=11		n=6	
Swimming time, sec	365.1±66.6	298 [201; 470]	204.7±64.8	123.5 [96.25; 319.5]*

Note: statistically significant differences compared to the control: * – $p<0.05$, ** – $p<0.01$ (according to the Mann-Whitney test).

Table 6
Dynamics of body mass in rats with transtibial amputation of the hindlimb

Period of research, indicator	Group, number of animals			
	Control (n=9)		Amputation (n=6)	
	M±m	Me [Q25; Q75]	M±m	Me [Q25; Q75]
Initial body mass, g	255.0±4.07	257.0 [242.0; 260.0]	281.7±15.83	260.0 [275.5; 307.5]
Body mass after 2 months, g	263.0±7.91	260.0 [247.5; 268.5]	344.0±5.89*	345.5 [335.5; 351.0]**
Increase in body mass, g, %	10.0±4.0		62.3±22.1	

Note: statistically significant differences with the initial state within the group: # – $p<0.05$ (even Wilcoxon criterion); with a synchronous control indicator: ** – $p<0.01$ (Mann-Whitney criterion).

5. Discussion

As already mentioned, there is no information in the literature about changes in the state of the central nervous system and physical endurance of animals with limb amputation. The importance of such research is explained by the need to improve the complexity of rehabilitation measures and their experimental justification. Therefore, this study can be considered one of the first scientific explorations in this direction. On the other hand, a standardized animal model of amputation is important for studies of the condition of the stump, particularly for the development of means that improve the regeneration of skin and other structures and reduce muscle atrophy.

When discussing the results of behavioural tests, it should be noted that for an adequate assessment, it is important to analyse them comprehensively. The number of crossed squares in the Open field test is considered a marker of the level of motor activity and animal anxiety [22]. Contrary to expectations, the results show that amputated

rats retain the ability to move quite intensively. In the absence of a prosthesis of the lost limb, locomotor activity only tended to decrease by an average of a quarter in the first days and by 21 % after 2 months. Considering these features, the absence of significant changes compared to the control allows us to state that the locomotor component of the stress reaction of rats does not change significantly after amputation. This is explained by the ability of animals to compensate for the absence of one limb by active use of three intact ones for movement, and this distinguishes the animal model of amputation from the course of the post-amputation period in humans, in which locomotor activity in the absence of a prosthesis and the use of crutches sharply decreases. The Open field test allows us to identify the features of various behavioural patterns under stress conditions, particularly the ability to orient and explore. It is believed that an increase in the number of rearing when exposed to intense lighting is a manifestation of anxiety in rodents [23]. Despite the absence of part of one supporting limb, the rats per-

formed vertical rearings (mostly around the sides of the box), although their number tended to be less than in controls. This may indicate some anxiety reduction, although it is problematic to state this unequivocally given the certain biomechanical difficulties of standing on the hindlimbs in the partial absence of one of them.

It is more difficult to unequivocally interpret the changes in another component of the exploratory activity – the examination of the holes in the arena's floor (nose-pokes). This behaviour is based on the unconditional reflex of rodents to look into burrows and explore terrain [24]. This indicator also decreased in rats with amputation, although, unlike vertical rearings, this type of activity does not require the participation of the hindlimbs. In the early post-amputation period, the reduction in the inspection of the holes is statistically significant; in the long term, it is a trend. Although there is an opinion that anxiety can suppress the desire of rodents to explore a new environment, and less anxious animals, on the contrary, can explore it more intensively [25], in comparison with changes in other subsets of the Open field test (grooming) and indicators of the Light-dark box test, a significant reduction in the number of examined holes is logical to consider in the context of reducing anxiety. Also, these results prove that the absence of a limb causes changes in the functioning of the central nervous system at the level of unconditioned reflexes that are not directly related to the locomotor system. This phenomenon may be of fundamental importance and requires further study.

Grooming (washing, scratching) in rodents is considered an adaptive behaviour under stress, a protective reaction to distraction [26], and intensive grooming (frequent washing) is considered a sign of concern and anxiety. A steady decrease in the number of acts of grooming, which we observed in both periods after amputation, especially in the later period, can be interpreted as a marker of a decrease in emotional responses, particularly anxiety. At the same time, the autonomic support of emotional responses (the number of defecation and urination) did not change compared to the control.

Relatively low anxiety in rats after amputation is also indicated by the results of the Light-dark box test, which is specific for this type of emotional disturbance. It is known that the time spent in the light part of the box depends on the level of anxiety of the animals: the higher the anxiety, the more animals tend to hide in the dark, closed space [18]. After amputation, rats spent significantly more time in the brightly lit compartment of the device than control rats, and a significant proportion of these animals did not enter the dark box during the entire 3 minutes of observation. This behaviour cannot be explained by the difficulty of movement, which prevents the rats from demonstrating a typical reaction – to quickly hide in the dark from the aversive effect of bright light: their locomotor activity, as evidenced by the previous Open field test, is little different from that of control animals. An increase in the time spent in the illuminated compartment of the box indicates a change in the response to stressful conditions in rats with amputation. They can be interpreted as a reduction of anxiety, which confirms the findings of the Open field test.

So, concerning changes in the emotional state of the central nervous system after amputation of the hindlimb in rats, in two adjacent tests, Open field and Light-dark box, changes in response to stressful conditions, namely a decrease in anxiety, were first discovered. This distinguishes the emotional state of rats and humans after losing a limb. An increase in anxiety is more typical for humans [5, 26]. Anxiety in a person with a lower limb amputation is largely associated with impaired corticocalcic functioning, self-care ability, significant increase in energy expenditure for movement, which causes constant fatigue, stigmatisation, etc [1]. After losing one of them, animals that use 4 limbs for locomotion obviously have much fewer physiological limitations than humans and better compensate for impaired locomotor function. However, these differences do not allow us to fully explain the change in response to stressful conditions revealed in our study, which can be considered as a decrease in anxiety. The nature of this phenomenon needs further clarification.

The observed increase in body mass, which was found in rats, is also observed in a significant number of people after amputation of the lower limb. According to data [27], it occurs in 68.5 % of patients for the first year after amputation of lower limbs at hip level. In the increase in body mass, 4 trajectories of changes can be distinguished: 47.3 % of patients had a stable weight in the first year, and in 2.4 years, changes in body mass amounted to 4.2±1.5 kg [28]. The increase in the body weight of animals after amputation can be explained by a surplus of energy against the background of a decrease in the mobility of animals that were in conditions of normal spontaneous physical activity without physical training. These rats, as demonstrated by the results of the Open field test, retained the ability to move freely, but their locomotor activity decreased.

Although animals and humans move differently biomechanically, the proposed model of amputation in rats can be used to assess the state of metabolism and regeneration processes, create an experimental foundation for the optimal regime of physical rehabilitation and its pharmacological support, improve the functional state of the stump, and develop drugs for the preparation of prostheses.

Practical relevance. The results of this study experimentally substantiate the directions of targeted correction of disorders of the functional state of the CNS, body weight, and physical endurance after lower limb amputation. This may contribute to the successful solution of the problem of rehabilitation after limb loss.

Study limitation: The study was performed on a limited number of animals (6) with amputation. A limited range of indicators of the functional state of the central nervous system was clarified. The increase in body mass is characterised phenomenologically without elucidating the peculiarities of animal metabolism.

Further research prospects. Increased number of markers of the functional state of the central nervous system, in particular, the study of the effect of amputation on the cognitive functions of animals. Study of possible seasonal dimorphism of the central nervous system and body weight dynamics after amputation. Identification of metabolic features of the post-amputation period,

as well as the functional state of the stump and its skin. Evaluation of the effect of rehabilitation measures.

6. Conclusion

1. An easy-to-perform model of transtibial amputation at the level of the lower third of the hindlimb in rats is proposed.

2. It was found that in the early post-amputation period (3–4 days after surgery) in rats, exploratory behaviour (primarily examination of hole, or exploratory nose-pokes) and emotional responses (grooming) in the Open field test are statistically significantly suppressed in the remote period (2 months) of significance only the reduction of emotional responses. In the Light-dark box test, the tendency to enter the dark compartment increases reliably in both periods of observation (especially in the early period). Collectively, these results indicate changes in the reaction of animals with amputation of the hindlimb to stressful experimental conditions, in particular, an anxiety reduction, which requires further research.

3. In the rotarod test, a significant deterioration of movement coordination was found in rats with amputation both in the early and in the long term.

4. After amputation of the hindlimb in rats, the manifestations of depressive behaviour in the Porsolt swimming test progressed, and the physical endurance in the forced swimming test with a load was significantly reduced.

5. The body mass of rats after amputation of the hindlimb under conditions of usual physical activity significantly increases.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest in relation to this research, whether financial, personal, authorship or otherwise, that could affect the research and its results presented in this article.

Funding

The research was carried out within the framework of the topic "Development of soft drugs to improve the functional state of the stump during prosthetics" of the list of scientific studies of the Ministry of Health of Ukraine, carried out at the expense of the state budget of Ukraine No. 0124U001991 (Order of the Ministry of Health of Ukraine No. 82 of 16.01.2024).

Data availability

Data will be made available at a reasonable request.

Use of artificial intelligence

The authors confirm that they did not use artificial intelligence technologies when creating the current work.

Acknowledgements

The authors express their gratitude to all defenders of Ukraine who share this research possible.

References

1. Rudenko, Y., Asanov, D. (2023). Psychological Consequences of Limb Amputation: Literature Review. *Psychosomatic Medicine and General Practice*, 8 (3). <https://doi.org/10.26706/psmg.v8i3.443>
2. McDonald, C. L., Weston-McCoy, S., Weaver, M. R., Hagana, J., Kartin, D. (2020). Global prevalence of traumatic non-fatal limb amputation. *Prosthetics & Orthotics International*, 45 (2), 105–114. <https://doi.org/10.1177/030964620972258>
3. Bocklova, N., Petelenko, N., Satsunovska, C. (2024). Peculiarities of physical rehabilitation of military personnel with lower limb amputation. *Scientific Journal of National Pedagogical Dragomir Voznytskyi University. Series 15. Scientific and Pedagogical Problems of Physical Culture (Physical Culture and Sports)*, 36 (176), 127–131. <https://doi.org/10.31905/issn.scie.15.2024.176.27>
4. Prylutska, M., Hunejko, J., Kwiatkowska, K., Wycech, A., Kulaczinski, M., Rymarska, O. et al. (2019). Care for an elderly person after lower limb amputation. *Journal of Education, Health and Sport*, 9 (8), 886–894. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3370924>
5. Kostka, A., Dziel Kot, S., Chabowski, M., Janczak, D. (2017). Opieka pielęgniarska nad pacjentem po amputacji kończyny dolnej na podstawie międzynarodowej klasyfikacji praktyki pielęgniarskiej (ICNPR). *Surgical & Vascular Nursing/Pielęgniarstwo Chirurgiczne i Angiologiczne*, 11 (3), 84–93. Available at <https://www.termedia.pl/Opieka-pielęgniarska-nad-pacjentem-po-amputacji-kończyny-dolnej-na-podstawie-Międzynarodowej-Klasyfikacji-Praktyki-Pielęgniarskiej-ICNPR,50,31234,0,0.html>
6. Mofet, J. M., Radchul, J. E., Testa, E. J., Ebersen, C. P. (2020). Management of post-amputation pain. *Rhode Island medical journal*, 103 (4), 19–22.
7. Barntault, D., Gilbert-Sireix, M., Rice, K. L., Silleriz, F., Popy-Garcia, D., Boudoin, C. et al. (2016). RGTAB or ReCom-Ting Agente mianic heparan sulfate in regenerative medicine: from concept to creation. *Glycoconjugate Journal*, 34 (3), 325–338. <https://doi.org/10.1007/s10719-016-9744-5>
8. Vivas, L. L. Y., Pauley, T., Dilks, S., Devlin, M. (2016). Does size matter? Examining the effect of obesity on inpatient amputation rehabilitation outcomes. *Disability and Rehabilitation*, 39 (1), 36–42. <https://doi.org/10.3109/0963828.2016.1140831>
9. Rosenberg, D. E., Turner, A. P., Littman, A. J., Williams, R. M., Norvill, D. C., Hakimi, K. M., Czemiel, J. M. (2012). Body mass index patterns following dysvascular lower extremity amputation. *Disability and Rehabilitation*, 35 (15), 1269–1275. <https://doi.org/10.3109/0963828.2012.726690>
10. Sitelko, O. (2023). Development of the rehabilitation system in Ukraine. organizational aspects. *Orthopaedics Traumatology and Prosthetics*, 2, 77–83. <https://doi.org/10.15674/0000-59870202377.83>
11. Leppik, L. P., Froment, D., Slivici, A., Oviada, Z. N., Hsialek, D. et al. (2015). Effects of electrical stimulation on rat limb regeneration: a new look at an old model. *Scientific Reports*, 5 (1). <https://doi.org/10.1038/srep18353>
12. Jie, H., Kato, T., Ito, K., Tsuchida, T., Oniki, Y., Takagi, K. (2004). Antioxidant effect of MCE-186, a new Free-Radical scavenger, on ischemia-reperfusion injury in a rat hindlimb amputation model. *Journal of Surgical Research*, 120 (2), 312–319. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2003.12.004>
13. Luan, H., Huiyu, Mo, Z., Ren, W., Ono, H., Chen, Z., Fan, Y. (2020). The bone alterations in hind limb amputation rats in vivo. *Medicine in Novel Technology and Devices*, 8, 100046. <https://doi.org/10.1016/j.mednt.2020.100046>

14. Zepeda, J., Mraz, G., Roth, E., Hoben, G. (2023). Rat Hindlimb Amputation Model to Assess Nerve Transfers for Pain Relief. *Plastic and Reconstructive Surgery – Global Open*, 11 (10S), 108–108. <https://doi.org/10.1097/GOX.000000000000175.5>
15. Directive of 22.09.2010 No. 2010/63/EU (2010). The protection of animals used for scientific purposes Text with EEA relevance. Available at: <http://data.europa.eu/eli/dir/2010/63/oj>
16. Heck, F. J. (Ed.). (2016). Drug discovery and evaluation: Pharmacological assays. Cham: Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-05392-9>
17. Koval, A., Shnyrgol, S. (2023). 1-(4-Acetyl-3-methyl-6-phenyl-5h-[1, 2, 4] triazole [3, 4-b][5, 4-d] thiazine-7-yl)-ethanone: dose-dependence of analgesic effect, lack of opioidergic mechanism of action, effect on behavioral reactions and acute toxicity. *Acta Medica Leopoldina*, 29 (3–4), 192–203. <https://doi.org/10.25904/acta.med.2023.3-4.192>
18. Boudin, M., Hueston, M. (2003). The mouse light-dark box test. *European Journal of Pharmacology*, 463 (1–3), 55–65. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(03\)00127-3](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(03)00127-3)
19. Bonn, A. V., Elezgarai, I., Gremel, C. M., Viray, K., Bamford, N. S., Palmiter, R. D. et al. (2021). Control of exploration, motor coordination and amphetamine sensitization by cannabinoid CB1 receptors expressed in medium spiny neurons. *European Journal of Neuroscience*, 54 (3), 4934–4952. <https://doi.org/10.1111/ejn.15388>
20. Slattery, D. A., Cryan, J. F. (2012). Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents. *Nature Protocols*, 7 (6), 1009–1014. <https://doi.org/10.1038/nprot.2012.044>
21. Armatio, A. (2021). The forced swim test: Historical, conceptual and methodological considerations and its relationship with individual behavioral traits. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 128, 74–86. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.06.014>
22. Haro, J. (2018). Anxiety, anxiety, and anxiety disorders: How to measure anxiety in rodents and why. *Behavioural Brain Research*, 352, 81–93. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.10.016>
23. Kaniishi, H., Kishida, S., Yumazawa, M., Ito, N., Matsuda, S., Futon, E. et al. (2017). Early deprivation increases high-leasing behavior, a novel anxiety-like behavior, in the open field test in rats. *Neuroscience Research*, 123, 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2017.04.012>
24. Maloych, V. V., Lashenko, V. P., Lukashov, S. M. (2017). Age-related changes of open field behavioral reactions of male and female rats. *Bulletin of Zaporizhzhia National University. Biological Sciences*, 12, 75–84. Available at: http://ubov.gov.ua/URN/Vznu_Bio_2017_2_12
25. Rosso, M., Wier, R., Loewen, A. V., Sutter, N. A., Pereira da Cunha, C. T., Jovic, L. et al. (2022). Reliability of common mouse behavioural tests of anxiety: A systematic review and meta-analysis on the effects of anxiolytics. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 143, 104928. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2022.104928>
26. Bergho, M. F. D. C., Preblich, H. B. (2018). Emotional aspects present in the lives of amputees: a literature review. *Psicologia: teoria e prática*, 20 (1), 47–60. <https://doi.org/10.5935/1980-6906/psicologia.v20n1p47-60>
27. Litman, A. J., Thompson, M. L., Arterburn, D. E., Boudin, E., Hasselmann, J. K., Sangerson, B. J., Boyko, E. J. et al. (2015). Lower limb amputation and body weight changes in men. *Journal of Rehabilitation Research and Development*, 52 (2), 159–170. <https://doi.org/10.1682/jrr.2014.07.0166>
28. Boudin, E. D., Thompson, M. L., Boyko, E. J., Morgendorff, D. C., Littman, A. J. (2016). Weight Change Trajectories After Incident Lower-Limb Amputation. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, 97 (1), 1–7.e1. <https://doi.org/10.1016/j.apmr.2015.09.017>

Received 29.10.2024

Received in revised form 28.11.2024

Accepted 12.12.2024

Published 18.12.2024

Mykyta Hutorka, Department of Pharmacology and Clinical Pharmacy, National University of Pharmacy, Hryhoriih Skorodnyy str., 53, Kharkiv, Ukraine, 61002

Dmytro Kyrylov, Department of Pharmacology and Clinical Pharmacy, National University of Pharmacy, Hryhoriih Skorodnyy str., 53, Kharkiv, Ukraine, 61002

Oleksandr Meklenburys, Department of Pharmacology and Clinical Pharmacy, National University of Pharmacy, Hryhoriih Skorodnyy str., 53, Kharkiv, Ukraine, 61002

Sergii Shnyrgol*, Doctor of Medical Sciences, Professor, Department of Pharmacology and Clinical Pharmacy, National University of Pharmacy, Hryhoriih Skorodnyy str., 53, Kharkiv, Ukraine, 61002

Andrii Taran, PhD, Associate Professor, Department of Pharmacology and Clinical Pharmacy, National University of Pharmacy, Hryhoriih Skorodnyy str., 53, Kharkiv, Ukraine, 61002

Olena Ruban, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of Department, Department of Industrial Technology of Medicines and Cosmetics, National University of Pharmacy, Hryhoriih Skorodnyy str., 53, Kharkiv, Ukraine, 61002

*Corresponding author: Sergii Shnyrgol, e-mail: shnyrgol@ukr.net

Національний фармацевтичний університетФакультет фармацевтичнийКафедра фармакології та клінічної фармаціїСтупінь вищої освіти магістрСпеціальність 226 Фармація, промислова фармаціяОсвітньо-професійна програма «Фармація»**ЗАТВЕРДЖУЮ****Завідувач кафедри
фармакології та клінічної
фармації Сергій ШТРИГОЛЬ**«01» вересня 2026 року**ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ****Микити ГУТОРКИ**

1. Тема кваліфікаційної роботи: «Оцінка функціонального стану центральної нервової системи щурів з ампутацією нижньої кінцівки»,
керівник кваліфікаційної роботи: Сергій ШТРИГОЛЬ, завідувач кафедри фармакології та клінічної фармації, д.мед.н., професор,
затверджений наказом НФаУ від «06» жовтня 2025 року № 266
2. Строк подання здобувачем вищої освіти кваліфікаційної роботи травень 2026 р.
3. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: сучасні дані щодо змін функціонального стану центральної нервової системи після ампутації кінцівки; наукові публікації з нейропластичності, центральної сенситизації та поведінкових порушень; літературні джерела щодо експериментальних моделей ампутації у щурів і методів оцінки функціонального стану ЦНС; дані щодо механізмів болю та підходів до його корекції.
4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): проаналізувати літературні дані щодо постампутаційних змін ЦНС; вивчити їх нейрофізіологічні механізми; охарактеризувати експериментальну модель ампутації; опанувати та застосувати поведінкові методи оцінки; провести експеримент, виконати статистичний аналіз результатів; узагальнити дані та сформулювати висновки.
5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень): таблиць – 8, рисунків – 1

6. Консультанти розділів кваліфікаційної роботи

Розділ	Ім'я, ПРИЗВИЩЕ, посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
1	Сергій ШТРИГОЛЬ, завідувач кафедри фармакології та клінічної фармації, д.мед.н., професор	06.10.2025 р.	06.10.2025 р.
2	Сергій ШТРИГОЛЬ, завідувач кафедри фармакології та клінічної фармації, д.мед.н., професор	24.11.2025 р.	24.11.2025 р.
3	Сергій ШТРИГОЛЬ, завідувач кафедри фармакології та клінічної фармації, д.мед.н., професор	15.12.2025 р.	15.12.2025 р.
4	Сергій ШТРИГОЛЬ, завідувач кафедри фармакології та клінічної фармації, д.мед.н., професор	23.02.2025 р.	23.02.2025 р.

7. Дата видачі завдання «01» вересня 2026 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів кваліфікаційної роботи	Примітка
1	Проведення огляду та вивчення літератури за темою кваліфікаційної роботи	Вересень 2025 р.– лютий 2026 р.	Виконано
2	Опанування методів дослідження функціонального стану ЦНС	Жовтень 2025 р.	Виконано
3	Виконання експериментів	Жовтень-листопад 2025 р.	Виконано
4	Статистична обробка отриманих результатів	Жовтень-листопад 2025 р.	Виконано
5	Написання аналізу та узагальнення кваліфікаційної роботи	Грудень 2025 р. – лютий 2026 р.	Виконано
6	Заключне редагування кваліфікаційної роботи	Березень-квітень 2026 р.	Виконано

Здобувач вищої освіти

_____ Микита ГУТОРКА

Керівник кваліфікаційної роботи

_____ Сергій ШТРИГОЛЬ

ВИТЯГ З НАКАЗУ № 266
По Національному фармацевтичному університету

Затвердити теми кваліфікаційних робіт 5 курсу (10 семестр) 2025-2026 н. р., група Фм21(4,10д), освітньо-професійна програма «Фармація», спеціальність «226 Фармація, промислова фармація», галузь знань «22 Охорона здоров'я», рівень вищої освіти другий (магістерський), денна форма здобуття освіти, термін навчання 4 роки 10 місяців

№ з/п	Прізвище, ім'я по батькові здобувача вищої освіти	Тема кваліфікаційної роботи (українською мовою)	Тема кваліфікаційної роботи (англійською мовою)	Керівник кваліфікаційної роботи	Рецензент кваліфікаційної роботи
Кафедра фармакології та клінічної фармації					
1.	Гуторка Микита Олександрович	Оцінка функціонального стану центральної нервової системи щурів з ампутацією нижньої кінцівки.	Assessment of the functional state of the central nervous system of rats with lower limb amputation.	проф. Штриголь С.Ю.	проф. Міщенко О.Я.



ПІДСТАВА: подання декана фармацевтичного факультету доцента Олександра ГОНЧАРОВА
 Вірно: пров. фахівець деканату  Алла СЕРДЮК

від 06 жовтня 2025 року

ФА2.8-03-317

ВИСНОВОК
експертної комісії про проведену експертизу
щодо академічного плагіату у кваліфікаційній роботі
здобувача вищої освіти
«30» квітня 2026 р. № 333722355

Проаналізувавши кваліфікаційну роботу здобувача вищої освіти ГУТОРКИ Микити, групи Фм21(4,10д)-01, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація, освітньої програми «Фармація» очної (денної) форми здобуття освіти на тему: «Оцінка функціонального стану центральної нервової системи щурів з ампутацією нижньої кінцівки / Assessment of the functional state of the central nervous system of rats with lower limb amputation», експертна комісія дійшла висновку, що робота, представлена до Екзаменаційної комісії для захисту, виконана самостійно і не містить елементів академічного плагіату (копії).

Заступник голови Комісії,
заступник директора інституту
в складі ЗВО ННІПФ,
доцент



Олена НОВОСЕЛ

ВІДГУК

**наукового керівника на кваліфікаційну роботу ступеня вищої освіти
магістр спеціальності 226 Фармація, промислова фармація**

Микити ГУТОРКИ

**на тему: «Оцінка функціонального стану центральної нервової системи
щурів з ампутацією нижньої кінцівки»**

Актуальність теми. Роботу присвячено актуальній темі, що зумовлено значною поширеністю ампутацій кінцівок та необхідністю вдосконалення підходів до реабілітації. Відомості щодо особливостей функціонального стану центральної нервової системи за клінічної та модельної ампутації кінцівки суперечливі. З'ясування цього стану є важливим завданням, що Микита ГУТОРКА розв'язує у кваліфікаційній роботі.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість. Цінність висновків полягає в поглибленні уявлень про патогенез посттравматичних порушень центральної нервової системи, що необхідно для пошуку підходів до їх фармакологічної корекції.

Оцінка роботи. Робота Микити ГУТОРКИ є закінченим дослідженням на актуальну тему, в якому використано адекватні методи експериментальної хірургії та фізіології центральної нервової системи, наведено огляд сучасного стану знань у напрямі дослідження. Магістрант самостійно виконав роботу, виявив дуже високий рівень загальної та спеціальної підготовки, цілеспрямованість, відповідальність. Має публікацію в наукометричному виданні Q3 за темою дослідження. Робота заслуговує на позитивну оцінку.

Загальний висновок та рекомендації про допуск до захисту. Кваліфікаційна робота Микити ГУТОРКИ відповідає чинним вимогам до робіт ступеня вищої освіти «магістр» і рекомендується до захисту.

Науковий керівник _____ проф. Сергій ШТРИГОЛЬ
«14» травня 2025 р.

РЕЦЕНЗІЯ

на кваліфікаційну роботу ступеня вищої освіти магістр спеціальності
226 Фармація, промислова фармація

Микити ГУТОРКИ

на тему: «Оцінка функціонального стану
центральної нервової системи щурів з ампутацією нижньої кінцівки»

Актуальність теми. Тема кваліфікаційної роботи є актуальною та своєчасною. Дослідження функціонального стану центральної нервової системи після ампутації кінцівки має важливе значення у зв'язку з необхідністю поглиблення уявлень про механізми постампутаційних змін та пошуку ефективних підходів до їх корекції.

Теоретичний рівень роботи. У роботі проаналізовано достатній обсяг сучасної наукової літератури. Теоретична частина викладена послідовно, логічно структурована та відображає сучасні уявлення щодо змін функціонального стану ЦНС після ампутації. Матеріал подано на належному науковому рівні, результати узгоджується з метою та завданнями дослідження.

Пропозиції автора за темою дослідження. Автором запропоновано використання експериментальної моделі транстібіальної ампутації задньої кінцівки у щурів для оцінки змін функціонального стану центральної нервової системи. Отримані результати можуть бути використані у подальших дослідженнях з вивчення постампутаційних порушень та їх корекції.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість. Практична цінність роботи полягає у комплексній оцінці поведінкових, моторних та емоційних змін у щурів після ампутації кінцівки із застосуванням валідованих методів дослідження. Висновки є обґрунтованими, відповідають поставленій меті та отриманим результатам.

Недоліки роботи. У роботі трапляються поодинокі стилістичні та мовні неточності, що не впливають на загальне позитивне враження від виконаної роботи.

Загальний висновок і оцінка роботи. Робота здобувача Микита ГУТОРКИ виконана на належному науковому та методичному рівні, відповідає вимогам до робіт за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація», заслуговує на позитивну оцінку та може бути рекомендована до захисту з присвоєнням автору кваліфікації «Магістр фармації».

Рецензент _____ проф. Оксана МІЩЕНКО
«15» травня 2026 р.

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ВИТЯГ З ПРОТОКОЛУ № 19
засідання кафедри фармакології та клінічної фармації

18 травня 2026 р.

м. Харків

Голова: завідувач кафедри, доктор мед. наук, професор Штриголь С. Ю.

Секретар: кандидат фарм. наук, доцент Ветрова К. В.

ПРИСУТНІ: зав. каф., проф. Штриголь С.Ю., проф. Деримедвідь Л.В., доц. Белік Г.В., доц. Ветрова К.В., доц. Жаботинська Н.В., доц. Матвійчук А.В., доц. Отрішко І.А., доц. Очкур О.В., доц. Савохіна М.В., доц. Степанова С. І., доц. Таран А.В., ас. Верховодова Ю.В., ас. Підгайна В.В. та здобувачі вищої освіти.

ПОРЯДОК ДЕННИЙ:

1. Розгляд кваліфікаційних робіт здобувачів вищої освіти для подання робіт до Екзаменаційної комісії.

СЛУХАЛИ:

1. Здобувача вищої освіти Гуторку Микиту Олександровича зі звітом про проведену наукову діяльність за темою кваліфікаційної роботи: «Оцінка функціонального стану центральної нервової системи щурів з ампутацією нижньої кінцівки».

УХВАЛИЛИ:

1. Кваліфікаційну роботу розглянуто. Здобувач вищої освіти Гуторка Микита Олександрович допускається до захисту даної кваліфікаційної роботи в Екзаменаційній комісії.

Голова

Завідувач кафедри, проф.

Сергій ШТРИГОЛЬ

Секретар, доц.

Катерина ВЕТРОВА

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**ПОДАННЯ
ГОЛОВІ ЕКЗАМЕНАЦІЙНОЇ КОМІСІЇ
ЩОДО ЗАХИСТУ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ**

Направляється здобувач вищої освіти Микита ГУТОРКА до захисту кваліфікаційної роботи за галуззю знань 22 Охорона здоров'я спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація Освітньо-професійною програмою Фармація на тему: «Оцінка функціонального стану центральної нервової системи щурів з ампутацією нижньої кінцівки»

Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.

Декан факультету _____ / Олександр ГОНЧАРОВ /

Висновок керівника кваліфікаційної роботи

Здобувач вищої освіти Микита ГУТОРКА в повному обсязі виконав кваліфікаційну роботу. За актуальністю, методичним рівнем, теоретичним та практичним значенням, об'ємом виконаних досліджень кваліфікаційна робота відповідає вимогам і допускається до захисту в Екзаменаційній комісії.

Керівник кваліфікаційної роботи _____ Сергій ШТРИГОЛЬ

«14» травня 2026 року

Висновок кафедри про кваліфікаційну роботу

Кваліфікаційну роботу розглянуто. Здобувач вищої освіти Микита ГУТОРКА допускається до захисту даної кваліфікаційної роботи в Екзаменаційній комісії.

Завідувач кафедри фармакології та клінічної фармації _____ Сергій ШТРИГОЛЬ

«18» травня 2026 року

Кваліфікаційну роботу захищено
в Екзаменаційній комісії

«10» червня 2026 р.

З оцінкою _____

Голова Екзаменаційної комісії,
доктор фармацевтичних наук, професор

_____ / Володимир ЯКОВЕНКО /