

Федеральное государственное образовательное учреждение
высшего образования
«Омский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Шоронова Анастасия Юрьевна

**СТРУКТУРНАЯ РЕОРГАНИЗАЦИЯ НЕОКОРТЕКСА И ГИППОКАМПА
БЕЛЫХ КРЫС ПОСЛЕ ТЯЖЕЛОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ**

1.5.22. Клеточная биология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор В.А. Акулинин

Омск – 2024

СОДЕРЖАНИЕ

<i>СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ</i>	4
<i>ВВЕДЕНИЕ</i>	6
<i>ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</i>	13
1.1. Организация неокортекса и формации гиппокампа у крыс	13
1.2. Нейропластичность и методы стимуляции нейрогенеза в посттравматическом периоде	24
1.3. Особенности моделирования черепно-мозговой травмы у лабораторных животных	35
1.4. Современные аспекты патоморфогенеза травматических повреждений	40
<i>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</i>	47
2.1. Характеристика экспериментальных групп	47
2.2. Модель тяжелой черепно-мозговой травмы	48
2.3. Методы исследования	51
2.3.1. Морфологические методы исследования	51
2.3.2. Иммуногистохимические методы исследования	55
2.3.3. Наливка микросудистого русла головного мозга тушью	57
2.3.4. Анализ изображений	58
2.3.5. Методы статистического анализа	60
<i>ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ</i>	61
3.1. Определение психоневрологического статуса	61
3.2. Морфологическое исследование цитоархитектоники неокортекса и гиппокампа в контроле и посттравматическом периоде	66
3.3. Морфометрическая характеристика структурных изменений неокортекса после моделирования тяжелой ЧМТ	76
3.4. Морфометрическая характеристика структурных изменений гиппокампа после моделирования тяжелой ЧМТ	86

3.5. Морфометрическая характеристика и оценка проходимости микрососудистой сети головного мозга	93
3.6. Иммуногистохимическая характеристика нейроглиального состава СМК и гиппокампа	96
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	120
ВЫВОДЫ	143
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК	145

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АТФ - аденоzinтрифосфорная кислота

АДФ - аденоzinдифосфат

АМФ - аденоzinмонофосфат

ЧМТ - черепно-мозговая травма

ТГМ – травма головного мозга

ТЧМТ - черепно-мозговая травма

СА₁, СА₂, СА₃, СА₄ - поля гиппокампа

ЗИ - зубчатая извилина

ЦНС - центральная нервная система

ГАМК - гамма-аминомасляная кислота

ГЭБ - гематоэнцефалический барьер

МГЦ - микроглиоциты

Ас - астроциты

ПЭ - посттравматическая энцефалопатия

ОГМ - отек головного мозга

ОДЦ - олигодендроциты

NSE - нейрон специфическая енолаза

GFAP - кислый фибриллярный белок астроцитов

p38 - синаптофизин

ROI - зона интереса, только нейропиль

ЗМЯ - зона максимальной яркости

FD (ФР) - фрактальная размерность

НГИ - нейроглиальный индекс

ЯЦО - ядерно-цитоплазматические отношения

ОЧПН - общая численная плотность нейронов

ЧПНН – численная плотность нормохромных нейроно

ЧПГН- численная плотность гипохромных нерийонов

ЧПА – численная плотность астроцитов

ЧПМ – численная плотность микроглиоцитов

ЧПОлд – численная плотность олигодендроцитов

ОГМ – отек головного мозга

NSC - стволовые нейроглиальные клетки

ПОС – показатель общего состояния

ЦНС – центральная нервная система

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Изучение последствий тяжелой черепно-мозговой травмы (ТЧМТ) является актуальной задачей современной медицины [Dixon K. et al., 2017, Pavlovic D., 2019]. Согласно статистическим данным более 50 миллионов человек ежегодно страдают от травм различного этиологического и повреждающего фактора [Maas E. et al., 2017]. Высокие показатели смертности и инвалидности, а также молодой возраст пострадавших определяют общий экономический, медицинский и социальный ущерб от черепно-мозговых травм, которые в этом отношении опережает сердечно-сосудистые и опухолевые заболевания [Laskowitz D. et al., 2016, Иванова Н.Е., 2020]. Ранее считалось, что основной ущерб наносится в момент травмы, однако сейчас стало очевидно, что последствия могут проявиться через несколько лет после происшествия [Hadanny A. et al., 2016, Ahmadpour S. et al., 2019, Pavlovic D., 2019].

Реорганизация нейроглиального комплекса головного мозга представляет актуальное направление исследований, при этом специфичность реакции мозга на травму зависит от множества факторов, включая характер и тяжесть травмы, общее состояние организма и его индивидуальные особенности, возможное наличие предыдущих повреждений мозга и степени токсичности деструктивных клеток головного мозга, проявляющейся через признаки апоптоза и оксидативного стресса [Cole J. et al., 2018]. В данной ситуации патоморфологические изменения, связанные с посттравматическим некрозом, охватывают весь мозг, нарушая его структурно-функциональную организацию на последовательных этапах повреждения [Salmond C. et al., 2005, Van den Bedem H. et al., 2017, Cole J. et al., 2018, Harris T. et al., 2019].

Для посттравматического периода также характерна усиленная активация астроцитов, олигодендроглиоцитов и микроглиоцитов, представляющих собой интегрированную систему очистки головного мозга с выраженной региональной специфичностью [Burda J., 2014., Pavlovic D., 2019]. При этом внимание разных специалистов привлечено использованием биохимических маркеров, включая

нейроспецифические белки, из-за их широкого клинического применения, возможности проведения ранней диагностики, контроля эффективности терапии и прогнозирования результата лечения с учетом степени деструктивных процессов в нервной ткани [Murray H., 2022].

Особенно важно исследование влияния закрытого повреждения на сенсомоторную кору, как основной очаг травматизации, и на гиппокамп, как область без прямого контакта с травмирующим объектом, повреждение которого оказывает влияние на когнитивные функции, ориентацию в пространстве и консолидацию памяти [Salmond C. et al., 2005, Spitz G. et al., 2013]. В ответ на травматизацию тяжелой степени и вторичные нарушения микроциркуляторной сети, цитоскелет нейронов и синапсов претерпевает неоднократные модификации, что приводит к нарушению процесса передачи импульса и торможению физиологической реорганизации межклеточных связей в различных отделах головного мозга [Яшкевич В.И., 2015, Stein T. et al., 2015]. Исследования в этой области позволяют понять механизмы, лежащие в основе пластичности нейронных сетей и позволяющие нейронам адаптироваться к новым условиям путем их качественного и количественного ремоделирования [Jacquens A., 2022].

Несмотря на интенсификацию исследований актуальность данной патологии не снижается, поскольку изучение реакции компонентного состава нервной ткани на травматическое повреждение является неотъемлемой частью для поиска новых направлений в механизмах дегенерации и компенсации высших отделов мозга в посттравматическом периоде, поэтому предметом исследования было изучение цитоархитектоники неокортекса и гиппокампа после тяжелого травматического повреждения с помощью световых, иммуногистохимических и морфометрических способов изучения структурных компонентов нервной ткани (нейроны, нейроглия, микрососудистая сеть и синапсы).

Цель исследования выявление структурной реорганизации нейро-глио-сосудистого комплекса сенсомоторной коры и гиппокампа белых крыс после тяжелой черепно-мозговой травмы.

Задачи исследования:

- 1) Изучить цито- и синаптоархитектонику сенсомоторной коры и гиппокампа нейронов, особенности изменения глиальных клеток и синапсов крыс в норме и через 1, 3, 7, 14 и 30 сут после черепно-мозговой травмы, используя классические и иммуногистохимические методы исследования.
- 2) Оценить нейроглиальное взаимоотношение сенсомоторной коры и гиппокампа крыс в норме и через 1, 3, 7, 14 и 30 сут после моделирования тяжелой черепно-мозговой травмы.
- 3) Дать количественную оценку пространственной реорганизации астроцитов сенсомоторной коры крыс в норме и через 1, 3, 7, 14 и 30 сут после моделирования тяжелой черепно-мозговой травмы с помощью фрактального анализа.
- 4) Провести сравнительную характеристику структурно-функциональным изменениям микроциркуляторной сети сенсомоторной коры крыс после тяжелой черепно-мозговой травмы.

Научная новизна

В настоящем исследовании впервые был разработан и апробирован способ моделирования черепно-мозговой травмы у крыс с использованием установки с ударным механизмом, позволяющий создать условия для воспроизведения клинической картины травматизации мозга различной степени тяжести без выявления в серии экспериментов сателлитных поражений с максимально схожими характеристиками повреждения головного мозга.

Получены новые данные о динамике структурной реорганизации сенсомоторной коры и гиппокампа белых крыс после ТЧМТ. Установлен гетерохронный и гетероморфный характер реорганизации нейроглиальных взаимоотношений СМК в слоях III и V, а также зон CA₁, CA₃ гиппокампа мозга крыс в течение 30 сут после моделирования ТЧМТ.

Впервые проведена количественная оценка пространственной реорганизации астроцитов в сенсомоторной коре крыс с помощью фрактального анализа в норме и через 1, 3, 7, 14 и 30 дней после моделирования тяжелой черепно-мозговой травмы.

Произведена оценка структурных изменений сосудов микроциркуляторного русла СМК крыс после травматического повреждения тяжелой степени.

Установлены корреляционные связи между нейроглиальным индексом и площадью сосудистой сети СМК мозга крыс после ТЧМТ.

Теоретическая и практическая значимость

Результаты работы дополняют информацию о морфологии головного мозга экспериментальных животных в норме и после ТЧМТ. Количественные данные позволили оценить особенности взаимоотношений нейронов и глиоцитов в межнейронной коммуникации двух отделов головного мозга в ответ на тяжелое травматическое повреждение. Результаты диссертационного исследования будут полезны в области клеточной биологии, гистологии, цитологии, нейрохирургии и неврологии и могут быть использованы в учебном процессе на кафедрах гистологии, цитологии и эмбриологии при изучении разделов «нервная ткань, сосудистая и нервная система».

Методология и методы диссертационного исследования

Исследование основано на сравнительном анализе структурной организации сенсомоторной коры и гиппокампа на различных уровнях детализации до и после получения тяжелой черепно-мозговой травмы. В ходе работы были использованы классические и современные гистологические методы: окраска гематоксилин-эозином и тионином по методу Ниссля, наливка микрососудистой сети черной гистологической тушью, иммуногистохимия с применением различных индикаторов компонентов нервной ткани, морфометрия и статистическая обработка полученных данных эксперимента.

Степень достоверности

Достоверность полученных результатов объясняется достаточным объемом групп животных и корректным формированием изучаемых выборок, обработанных с использованием современных гистологических, иммуногистохимических и морфометрических методов исследования. Сформулированные выводы хорошо обоснованы и логически вытекают из результатов исследования.

Основные положения, выносимые на защиту

1. *В острый период (1-7 сут)* после тяжелого травматического повреждения головного мозга в двух изученных отделах (сенсомоторная кора и гиппокамп) преобладают деструктивные изменения нейро-глио-сосудистого комплекса: увеличивается количество гипер- и гипохромных нейронов, а также микроглиоцитов, клеток-теней, нейронов с признаками отека-набухания и деструкцией цитоскелета перикариона, отмечается редукция и набухание дендритного дерева астроцитарных клеток, полиморфность синаптических терминалей, происходит неоднородное изменение плотности микрососудистой сети мозга. Данные структурные изменения неокортекса (1-3 сут) и гиппокампа (3-7 сут) носят различный характер по степени тяжести поражения и отличаются во временном интервале.

2. *В промежуточный период (14-30 сут)* после тяжелой черепно-мозговой травмы репаративные изменения в сенсомоторной коре и гиппокампе мозга носят приблизительно равномерный характер. Уменьшается соотношение гипер- и гипохромных нейронов в пользу нормохромных нейронов, снижаются признаки отека-набухания, частично восстанавливается опорно-двигательная структурированность нейронов, усложняется пространственная организация астроцитов, увеличивая площадь синаптических терминалей и нормализуя численную плотность клеток микроглии.

Внедрение и апробация работы

Основные положения работы доложены на научно-практических конференциях международного и всероссийского уровня (Курск, 2020; Тверь 2022; Ленинск-Кузнецкий, 2023; Москва, 2023). Результаты работы были зарегистрированы в виде патента (Патент РФ 2788904С1, 25.10.2021), двух баз данных (свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2022621556, 01.07.2022 и свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2022621746, 15.07.2022) и интегрированы в учебный процесс для образовательной программы «Гистология, эмбриология, цитология» кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России и одобрены на межкафедральном заседании сотрудников кафедр гистологии, цитологии и эмбриологии, анатомии человека, топографической анатомии и оперативной хирургии, биологии и судебной медицины, правоведения ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России (Омск, 2024).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 14 научных работ, в том числе 4 статьи в рецензируемых центральных научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобразования РФ для публикации основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата и доктора биологических наук по специальности 1.5.22. «Клеточная биология». При этом автором получены: 1 патент на изобретение, отражающий внедрение результатов исследования в практику и подтверждающий их инновационность и регистрация 2 баз данных, позволяющих обеспечивать сохранность и доступность научной информации, что способствует развитию исследовательской деятельности в данной области.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 169 страницах машинописного текста. Состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, главы

собственных данных, обсуждения результатов, выводов, списка сокращений, списка литературы. Список литературы содержит 229 источников, в том числе 53 отечественных и 176 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована с помощью 2 схем, 11 таблиц и 48 рисунков.

Личный вклад автора

Эксперимент, забор материала, приготовление гистологических образцов головного мозга крыс, микрофотографирование, морфометрический анализ изображений и статистическая обработка полученных данных, оформление диссертации и автореферата выполнены исследователем самостоятельно.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Организация неокортика и формации гиппокампа у крыс

Архитектоника коры головного мозга — раздел нейронауки, изучающий структурную организацию коры головного мозга, включая расположение и взаимосвязи нейронов (цитоархитектонику), нервных волокон (миелоархитектонику), кровеносных сосудов (ангиоархитектонику) и нейроглии (глиоархитектонику) [Боголепова И.Н. и др., 2010].

Головной мозг крысы представлен следующими отделами: кора головного мозга (неокортик), отвечающая за высшие психические функции, такие как мышление, память, внимание и речь; лимбическая система (стриatum, таламус, гиппокамп и др.), регулирующая эмоциональные реакции и регуляцию поведения: гипоталамус регулирует гормональный баланс, аппетит, терморегуляцию и другие жизненно важные функции, таламус является центром обработки сенсорной информации и регулирует сознание и внимание, гиппокамп играет ключевую роль в формировании памяти и навигации в пространстве; мозжечок контролирует координацию движений, равновесие и планирование движений; мозговой ствол регулирует дыхание, сердечную деятельность, пищеварение и другие жизненно важные функции. Каждый из этих отделов головного мозга крыс выполняет свою уникальную функцию и взаимодействует с другими для обеспечения нормального функционирования организма [Зиматкин С.М. и др., 2019].

При этом кора головного мозга разделена на две симметричные половины — полушария, которые соединены между собой мозолистым телом, но они работают вместе, чтобы мозг функционировал правильно. Для полушарий характерна дольчатость, при этом выделяют в особые зоны: лобную, височную, затылочную и теменную доли. Лобная доля отвечает за планирование действий, принятие решений и социальное взаимодействие [Обухов Д.К. и др., 2019]. Теменная доля обрабатывает сенсорную информацию, участвуя в пространственной ориентации и внимании. Височная доля отвечает за слух, речь, память и эмоции. Затылочная доля обрабатывает зрительную информацию. Наличие борозд и извилин характерно для

каждой доли, способствуя увеличению площади соприкосновения поверхностных участков коры и укрепляя эффективную связь между различными частями за счет изменения количественного содержания нейронов и синапсов [Ноздрачев А.Д. и др., 2001, Paxinos G., 2015, Обухов Д.К. и др., 2019].

Неокортекс составляет около 2/3 объема коры головного мозга, являясь областью с наиболее высоким уровнем организации, интеграции информации и отличаясь по структурно-функциональным особенностям организации от других частей головного мозга [Тишевская И.А., 2000]. Изучение распределения, организации и свойств нейронов неокортекса позволяет понять организацию и функционирование этой области мозга, что в свою очередь может помочь в понимании различных аспектов нервной системы и ее роли в когнитивных и поведенческих процессах [Wolburg H. et al., 2009, Germain N. et al., 2010].

Цитоархитектоника неокортекса не только помогает понять устройство и функции мозга, но и может быть полезна при диагностике и лечении различных неврологических и психиатрических расстройств. При этом послойная организация неокортекса достаточно изучена рядом исследователей в нейробиологии (К. Бродман, А. Воробьев, И. Филимонов, С. Саркисов, Д. Хьюбель, Л. Стивенс, К. Хаберман, Г. Мартинс и др.) и имеет ряд особенностей, касающихся его организации [Обухов Д.К., 2009, Narayanan R. et al., 2017].

В 30-50-е годы XX века под руководством выдающихся российских нейроморфологов И. Филимонова и С. Саркисова в Институте мозга Академии медицинских наук были созданы сложные цитоархитектонические карты мозга человека и многих млекопитающих [Адрианов О.С., 1999]. Благодаря работам этих авторов было принято выделить шестислойную структурную организацию данной области головного мозга, каждая из которых отличается своим уникальным набором клеточных компонентов (пирамидальных нейронов, интернейронов, астроцитов, микроглиоцитов и эндотелиоцитов) [Gupta A. et al., 2000, Обухов Д.К. и др., 2019].

Слой I (*stratum moleculare*) — самый верхний слой неокортекса, состоящий из густой сети параллельных волокон и апикальных дендритов пирамидальных нейронов. При этом каждая аксональная ветвь создает тысячи аксо-дендритных и

аксо-шипиковых тангенциальных сплетений, связывающих популяции клеток пирамидальной формы, что обеспечивает этому слою высокую синаптическую плотность. В аксонных терминалях слоя I выделяют комплексы комедиаторов и нейропептидов, в дополнении к классическим медиаторам [Douglas R. et al., 2004]. Функционально молекулярный слой играет ключевую роль в обработке входящей информации и интеграция сигналов сенсорной информации от органов чувств, а также в управлении двигательной активностью организма [Обухов Д.К. и др., 2019].

Слой II (*stratum granulare externum*) состоит преимущественно из нейронов звездчатой и пирамидальной формы разного калибра (от малого до среднего размера). Синаптические связи образованы неравномерно в виде кластеров и представлены аксодендритными и аксосоматическими тормозными ГАМК-ergicическими контактами, расположенными в перикарионе клеток пирамидной формы или проксимальнее дендритов [Kelsom C. et al., 2013]. Функциональное значение этого слоя велико, так как многочисленные комиссулярные и ассоциативные внутрикорковые волокна приходят в этот слой и включаются за счет нейронов данного слоя коры, обеспечивая передачу сигналов между нейронами различных слоев [Коренюк И.И. и др., 2008].

Слой III (*stratum neurorum pyramidalium externum*) включает в себя мелкие и средние клетки, которые имеют характерную пирамидальную форму и содержит корковые интернейроны с аксо-шипиковыми контактами. При этом длинные аксоны пирамидальный нейронов участвуют в передаче электрических сигналов другим клеткам и образуют обширные связи с другими областями мозга, являясь частью системы ассоциативных и афферентных связей головного мозга [Douglas R. et al., 2004]. Развитие и функционирование слоя III пирамидальных клеток сильно зависит от внешних стимулов, что делает его ключевым компонентом для понимания процессов пластичности мозга и адаптации к окружающей среде [Обухов Д.К. и др., 2019].

Слой IV (*stratum granule internum*) состоит из двух подслоев: IVa и IVb, которые не всегда присутствуют у других видов животных. Подслой IVa обычно содержит пирамидальные нейроны, тогда как подслой IVb – небольшие интернейроны. В

некоторых участках коры этот слой имеет большое количество гранулярных клеток. Функционально считается основным сенсорным входом в неокортекс, отвечая за прием и обработку сенсорной информации [Обухов Д.К., 2009, Narayanan R. et al., 2017].

Слой V (*stratum neurorum internum*) представлен крупными и гигантскими пирамидальными нейронами, которые отправляют свои аксоны в другие области мозга, такие как таламус и мозжечок. При этом апикальные отростки пирамидальных клеток протягиваются на большом расстоянии вплоть до слоя I, образуя сеть корковых эфферентных волокон в виде внутренней полоски Белларже, осуществляя передачу нервных сигналов между различными частями головного мозга. Этот слой играет важную роль в двигательных функциях коры головного мозга, контролируя силу и координацию мышечных движений [Douglas R. et al., 2004].

Слой VI (*stratum neurorum fusiformium*) содержит различные формы нейронов, включая мелкие пирамидальные и веретеновидные клетки, которые в основном проецируют аксоны в таламус. Мелкие пирамидальные клетки обычно отвечают за интеграцию различных сигналов от нейронов более верхних слоев, обработку и передачу информации к нейронам нижних слоев или другим областям мозга, в то время как веретеновидные клетки могут быть вовлечены в процессы визуального восприятия и распознавания лиц [Обухов Д.К. и др., 2019]. Отличие этого слоя заключается в сложной синаптической архитектурной организации, характеризующейся наличием плотной сети синапсов между нейронами данного слоя и другими слоями коры головного мозга, функционально обеспечивая регуляцию выходов из неокортекса [Андреева Н.Г., 2003, Краснощекова Е.И., 2007].

При этом организация слоев неокортекса не является статичной структурой. Внутри каждого слоя и между ними существуют сложные системы межклеточных связей посредством дендритов, аксонов и синапсов: латеральные, вертикальные, возбуждающие и тормозные связи [Gaglani S. et al., 2009]. На основании сравнительных литературных обзоров авторов: Обухова Д.К. и Зиматкина С.В

., структурная организация неокортекса у крыс и человека имеет ряд отличительных и сходных признаков [Обухов Д.К., 2009, Бонь Е.И., Зиматкин С.В., 2018]:

1. Цито и синаптоархитектоника неокортекса крыс более простая и менее сложная по сравнению с неокортексом людей, проявляющаяся меньшим количеством нейронов и связей, но таким же количеством слоев клеток, соответствующих слоям I-VI коры головного мозга человека. Однако определенные области неокортекса крыс узкоспециализированы для выполнения определенных функций, таких как обработка зрительной, слуховой и обонятельной информации.

2. Отличительная особенность ангиоархитектоники неокортекса крыс в отличии от человека, проявляется более простой структурной организацией, в меньшей разветвленности и плотности капиллярной сети, обуславливающей более высокий уровень пластичности и регенерации капиллярной сети, что обеспечивает быстрое восстановление кровоснабжения после повреждений или ишемии. В неокортексе у обоих видов гемокапилляры различного калибра имеют очень тонкие стенки, что позволяет им эффективно обеспечивать кровоснабжение и питание нейронов, участвуя в гомеостазе и регуляции мозговой активности. Хотя основные принципы организации ангиоархитектоники неокортекса крыс и человека имеют много общих морфологических черт, имеются определенные отличия в структуре и функционировании капиллярной сети, влияющие на обмен веществ и функционирование мозга в целом.

Немаловажную роль в обеспечении пространственной ориентации играет гиппокамп (аммонов рог) [Воронова Н.В., 2005, Hamilton G.F., 2016, Бонь Е.И., 2018]. Гиппокамп находится в медиальной части отдела головного мозга, в лимбической системе. Структура гиппокампа обусловлена слоями нейронов и их функциональными связями (пространственная и долговременная память, ответ на стресс, обучение и навигация), которые играют ключевую роль в обработке информации о наградах и мотивации, что позволяет крысам принимать решения и выбирать оптимальные стратегии поведения [Бонь Е.И., 2018].

К гиппокампальной формации относят (схема 1) [Baimbridge K., 1982]:

- гиппокамп;
- зубчатую извилину (dentata gyrus);
- сибикулум.

А) поля гиппокампа:

- 1) CA₁ – зона дистальной мелкоклеточной области;
- 2) CA₂ и CA₃ – зоны крупноклеточной области.

Б) слои гиппокампа:

И) молекулярный (подслои):

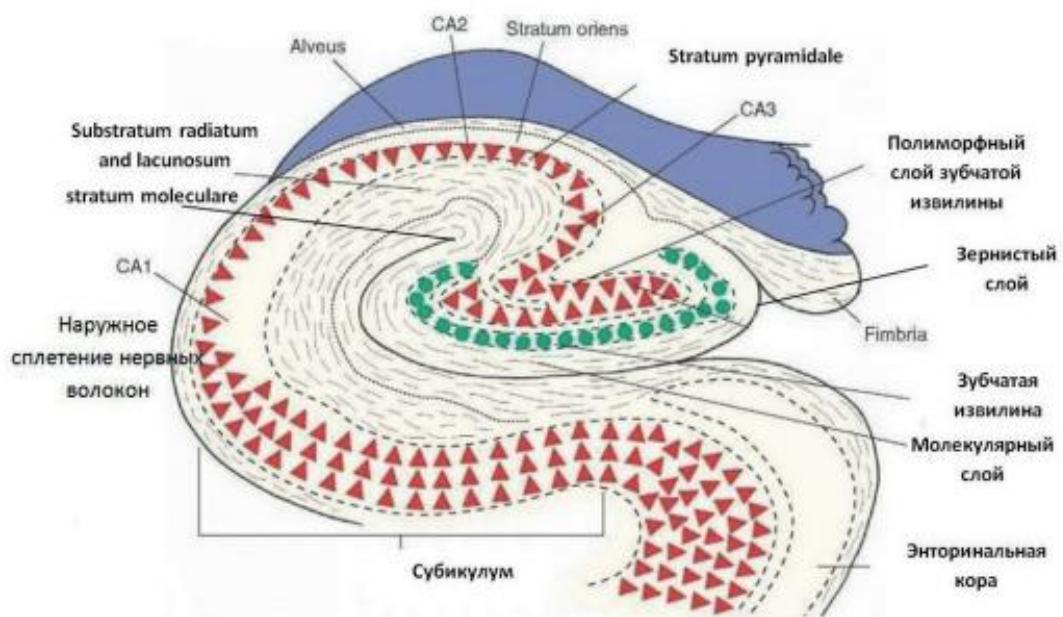
И.I. эумолекулярный, лакунарный и радиальный;

И.II. пирамидный;

И.III. краевой.

Схема 1. Нейронная организация гиппокампа крысы

(по данным K. Baimbridge и G. Miller, US National Library of Medicine, 1983)



Специфика нейронного состава гиппокампа у крыс включает в себя главным образом пирамидные холинергические нейроны, которые преобладают в CA₁ и CA₃ подразделах, а также гранулярные нейроны, которые преобладают в DG, а также и

другие, относящиеся к классу ГАМК-ergicических (табл. 1) [Bayer S.A., 1982, Тишевская И.А., 2000, Бонь Е.И., 2018].

Таблица 1. Общая характеристика слоев гиппокампа

№	Гиппокамп	Основные компоненты
1	Молекулярный слой	Зернистые клетки (основная часть слоя), нервные клетки с корзиноподобными синапсами (ингибиторные нейроны), горизонтальные клетки, астроглиоциты, микроглия и кровеносные сосуды
1.1	Эумолекулярный подслой	Пирамидные нейроны (основная часть слоя), интернейроны и глиальные клетки
1.2	Лакунарный подслой	Пирамидные нейроны, амакринные клетки и интернейроны (кортикальные и местные)
1.3	Пирамидный подслой	Пирамидные нейроны, амакринные клетки и интернейроны (кортикальные и местные)
1.4	Краевой подслой	Нейроны гранулярного и коркового слоя, интернейроны

Пирамидальные нейроны являются основными нервными клетками в пирамидном слое гиппокампа [Hamilton G.F., 2016, Бонь Е.И., 2018]. При этом они значительно отличаются друг от друга размерностью и ветвлением дендритных отростков по расположению относительно зоны CA₃, например, проксимальные нейроны характеризуются не многочисленным содержанием дендритов, в отличии от дистальных, имеющих многочисленное содержание дендритных отростков [Morrison J., 1983]. Что касается размерности нейронов в зоне CA₂, обычно они имеют длинные и сложно разветвленные дендриты, обеспечивающие им возможность обработки и передачи большего объема информации [Seress L., 1983].

Помимо пирамидальных нейронов, пирамидный слой содержит гетерогенную популяцию корзинчатых клеток, варьирующихся по размеру, форме и характеризующихся наличием ветвлений [Воронова Н.В., 2005]. При этом синаптические связи клеток образуются за счет апикальных ветвлений, опоясывающих тела пирамидных нейронов в форме корзин [Тищевская И.А., 2000]. Помимо этого, корзинчатые клетки могут участвовать в синхронизации активности пирамидальных нейронов, играя ключевую роль в формировании ритмических паттернов в мозге [Hamilton G.F., 2016].

В гиппокампе также присутствуют не пирамидные интернейроны, локализованные в молекулярном и краевом слоях. К ним относят нейроны локальных цепей, образующие синаптические связи с дендритами пирамидных нейронов и оказывающие на них тормозное действие [Desmond N., 1994]. Это торможение играет важную роль в регуляции возбудимости пирамидных нейронов и формировании нейронных сетей в гиппокампе [Witter M., 1992]. В целом, пирамидальные нейроны и корзинчатые клетки вместе с не пирамидными интернейронами формируют сложную сеть, обеспечивающую обработку и интеграцию информации в гиппокампе. Понимание их функций имеет решающее значение для раскрытия нейрональных механизмов памяти и других когнитивных функций, контролируемых гиппокампом [Gupta A., 2000, Воронова Н.В., 2005].

Поле СА₁ гиппокампа образовано интернейронами, образующими обратную ингибирующую связь с пирамидными нейронами [Desmond N., 1994]. Несмотря на рост знаний об их структуре за последнее десятилетие, функциональная активность интернейронов гиппокампа остается в значительной степени не полностью изученной [Dolleman-Van der Weel M., 2000, Hamilton G.F., 2016, Бонь Е.И., Зиматкин С.В., 2018]. При этом они характеризуются густыми ветвлениями, обеспечивающими синаптические взаимосвязи клеток с другими нейронами за счет увеличения коллатералей [Witter M., 1992].

В интернейронах гиппокампа нейромедиатор гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) выполняет функцию торможения нейронной активности, что помогает поддерживать баланс между возбуждением и ингибицией в гиппокампе [Baimel C.

et al., 2022]. Таким образом, эти клетки играют ключевую роль в регуляции нейронной активности и могут быть потенциальной мишенью для лечения нейродегенеративных заболеваний с расстройствами памяти. Нейродегенеративные заболевания и аномалии оказывают влияние на структуру и функции астроглиальных клеток, являющихся одной из клеточных составляющих глиальной системы в центральной нервной системе, что проявляется, например, увеличением размеров клеток, утолщением ветвлений отростков, образованием фибриллярных астроцитов, способствуя выработке воспалительных медиаторов и цитокинов, что приводит к усилению воспалительного процесса в мозге. Поэтому контроль клеточных и молекулярных взаимодействий рассматривается, как эффективная терапевтическая стратегия, а основной мишенью являются молекулы, экспрессируемые астроглиальными клетками [Verkhratsky A. et al., 2013].

Особым типом среди данной популяции нервных клеток гиппокампа принято считать триламинарные нейроны, характеризующиеся многочисленным сплетением длинных, изогнутых и ветвящихся отростков в области пирамидного слоя, позволяя получать им информацию из разных частей мозга [Bayer S.A., 1982]. Их точную роль еще предстоит выяснить, но исследования предполагают, что изучение триламинарных нейронов и их влияния на работу гиппокампа поможет в понимании механизмов памяти, особенностей когнитивных процессов и патологий, связанных с этой областью мозга [Бонь Е.И., Зиматкин С.В., 2018, Baimel C. et al., 2022].

Другой разновидностью интернейронов гиппокампа являются нейроны-канделябры, представляющие собой клетки, напоминающие форму канделябра и имеющие распространяющиеся на значительном расстоянии длинные аксональные ветвления, и многочисленные дендриты [Hamilton G., 2016]. Эта форма позволяет им эффективно интегрировать информацию из различных источников и передавать сигналы между различными частями гиппокампа, также обладая высокой пластичностью, что позволяет им быстро изменять свою активность и участвовать в формировании новых связей в головном мозге [Бонь Е.И., Зиматкин С.В., 2018]. Таким образом, интернейроны гиппокампа имеют ряд общих преимущественных

признаков, во-первых обладают высокой плотностью дендритов, что позволяет им принимать большое количество сигналов от других нейронов, во-вторых имеют способность к довольно быстрой генерации новых нейронов взрослых особей в процессе нейрогенеза, в-третьих обладают большим разнообразием морфологических и функциональных свойств в виде регуляции пластичности нейронных синаптических контактов, что позволяет им выполнять важную роль формирования новых воспоминаний и процесса обучения в консолидации и хранения информации в рамках гиппокампальной сети.

Dentata gyrus или зубчатая извилина, являясь частью гиппокампальной формации, расположенной в височной доли головного мозга, представлена 3 основными слоями: stratum moleculare, stratum granulare, stratum multiforme. По данным Е.И. Боня и С.В. Зиматкина принято выделять 9 различных типов клеток нейронов, представленных в табл. 2 [Бонь Е.И., Зиматкин С.В., 2018].

Таблица 2. Нейронная организация зубчатой фасции
(по данным Боня Е. И. и Зиматкина С. М., 2018)

Слои	Название нейронов	Медиатор
1.Молекулярный	а) Корзинчатые б) Клетки-канделябры	ГАМК/парваальбумин ГАМК/парваальбумин
2.Зернистый	а) Зернистые б) Корзинчатые	Глутамат/динарфин ГАМК/парваальбумин
3. Полиморфный	а) Моховидные б) Веретеновидные в) Мелкие полиморфные г) Звездчатые д) Клетки-канделябры	ГАМК ГАМК ГАМК ГАМК ГАМК

Аксоны корзинчатых нейронов молекулярного слоя оканчиваются на корзинчатых клетках зернистого слоя, а дендриты остаются в молекулярном слое

[Baimel C. et al., 2022]. Клетки-канделябры молекулярного слоя имеют аксоны, направленные в зернистый слой, но их дендриты ветвятся в пределах молекулярного слоя, получая возбуждающие импульсы по перфорантному пути, оказывают тормозное влияние на зернистые нейроны [Sik A., 1997].

Зернистый слой гиппокампа содержит зернистые нейроны с перикартионами эллиптической формы и дендритами, направленными в молекулярный слой. Другой тип нейронов — корзинчатые клетки, аксоны которых обвивают перикартионы зернистых нейронов, а их дендриты направлены в молекулярный слой. При этом отличительной особенностью всех этих нейронов является их способность продолжать свою дифференцировку даже в возрастную инволюцию [Dubek J. et al., 2014].

В полиморфном слое существует пять типов клеток. Большая часть популяции нейронов иннервируется мицелльными волокнами и содержит ГАМК, аксоны которых имеют синапсы в полиморфном слое или распространяются на пирамидные нейроны в области гиппокампа.

Наиболее распространенными из них являются глутаматергические нейроны, имеющие пирамидальную или полигональную форму [Seress L., 1983]. У них аксоны содержат в себе везикулы с глутаматом, так называемым основным нейромедиатором, обеспечивающим быструю и точную передачу сигналов между нейронами, что необходимо для формирования новых связей и укрепления уже существующих, когда электрический импульс достигает конца аксона, везикулы высвобождают глутамат в синаптическую щель, где он связывается с рецепторами на дендритах другого нейрона, и таким образом передается сигнал дальше по цепочке [Hamilton G.F., 2016].

Для изучения глутаматергических систем гиппокампа у крыс используют различные методы, такие как иммуногистохимия, электрофизиология и молекулярно-генетические подходы, с целью детального исследования эффектов блокирования или активации глутаматергических рецепторов на функциональную активность гиппокампа, а также на анализ изменений выражения глутаматергических генов в данной области мозга [Schumacher A. et al., 2018]. При

этом лечение некоторых неврологических и психических заболеваний может включать медикаментозную терапию, направленную на модуляцию глутаматергических систем. Например, некоторые препараты, такие как антагонисты NMDA-рецепторов, могут использоваться для лечения шизофрении и депрессии [Nordenankar K. et al., 2015]. Последние данные исследований по изучению глутаматергической системы гиппокампа у крыс подчеркивают важность этой системы для памяти и когнитивных процессов, а также открывают новые перспективы для разработки новых методов лечения неврологических заболеваний, имея важное значение как для фундаментальной науки, так и для практического применения [Amigo J. et al., 2016].

При этом некоторые лекарственные препараты могут оказывать влияние на функцию гиппокампа у крыс, например, такие как сертрапин и флуоксетин, могут улучшить память и укрепить связи между нейронами в гиппокампе, однако длительное применение некоторых антидепрессантов может привести к ухудшению памяти и к другим побочным эффектам, но вальпроевая кислота влияет на функцию гиппокампа у крыс, уменьшая возбудимость нервных клеток и помогает контролировать судороги, вызывая побочные эффекты, связанные с памятью и когнитивными функциями [Segi-Nishida E., 2017]. В целом, важно проводить дальнейшие исследования, чтобы лучше понять влияние лекарственных препаратов на структурную организацию гиппокампа у крыс, так как он играет ключевую роль в когнитивных и эмоциональных функциях у крыс, помогая им адаптироваться к окружающей среде и выживать.

1.2. Нейропластичность и методы стимуляции нейрогенеза в посттравматическом периоде

Существует множество различных терминов, но наиболее оптимальным является определение нейропластичности, как способности адаптироваться посредством структурной и функциональной перестройки на всех уровнях нейроглиального комплекса (реорганизация корковых полей, рекрутинг, синаптогенез, спрутинг, нейрогенез) в ответ на изменения в информационной среде

или повреждения, регулируя внутриклеточный ионный гомеостаз и сигнальные системы головного мозга [Duffau H., 2006, Семченко В.В., 2008, Цинзерлинг В.А., 2013].

Профили нейропластичности нейронов представляют собой способность нервных клеток изменять свою структуру и функции в ответ на различные воздействия и опыт [Markin S., 2017]. Принято выделять два уровня профиля в развитии данного феномена [Живолупов С.А. и др., 2020]:

1. Адаптивный профиль, обеспечивающий проявление межнейрональных синапсов при обучении (филогенез, онтогенез) и поддержание функций существующих нейронных сетей (естественная нейропластичность), а также их восстановление после повреждения различных отделов нервной системы (посттравматическая и гомеостатическая нейропластичность). При этом также характерно наличие гибкости синаптических связей, пластичность нейронных сетей и баланс между эйксайтотоксинами и ингибиторными сигналами [Noguchi J. et al., 2011].

2. Малоадаптивный профиль, характеризующийся негативными изменениями в структуре и функционировании нейронов и межнейронных контактов в результате неблагоприятного воздействия внешних факторов или нарушений внутренних процессов, проявляющихся при различных нейродегенеративных состояниях головного мозга, таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, болезнь Гентингтона. При этом патоморфологическая картина сопровождается снижением численной плотности нормохромных нейронов, утратой их морфологической и функциональной целостности, а также нарушением межклеточных взаимодействий и увеличением объема глиального компонента нейропиля [Живолупов С.А. и др., 2020].

В развитии феномена нейропластичности выделяют ряд различных механизмов [Dayan E. et al., 2011, Wu K. et al., 2015, Markin S. et al., 2017, Jamjoom A. et al., 2021, Li S. et al., 2022]. Одним из наиболее изученных является, синаптическая пластичность, зависимая на прямую от трансформации силы и эффективности межсинаптических связей между компонентами нервной ткани,

включая содержание нейротрансмиттеров, высвобождаемых пресинаптической мембраной, и реакцией, возникающей в местах контакта между рядом расположеными нейронами [Jamjoom A. et al., 2021]. Различают также и дендритную пластичность: изменения в структуре и функционировании дендритных ветвлений — отростков нейронов, получающих входящие сигналы от других нейронов. Этот механизм связан с ростом или уменьшением количества дендритов, изменением их формы и размера, что может привести к улучшению синаптической связи [Markin S. et al., 2017].

Пластичность аксонов: изменения в структуре и функционировании аксонов — длинных волокон, передающих нервные импульсы. Этот механизм может привести к улучшению передачи сигналов между нейронами и формированию новых связей [Dayan E. et al., 2011]. Нейрогенез, характеризуется как процесс образования новых нейронов в определенных областях развивающегося и зрелого мозга, например, гиппокамп. Кроме того, нейрогенез связан с процессами пластичности мозга, что помогает организму адаптироваться к новым условиям, обучению и восстановлению после травм [Li S. et al., 2022]. Хотя нейрогенез в гиппокампе и других областях мозга не является единственным фактором, влияющим на когнитивные функции, его значение для здоровья мозга и психического состояния человека продолжает вызывать широкий интерес среди нейробиологов и психиатров [Wu K. et al., 2015].

Согласно данным литературных источников, проявление процесса нейропластичности зависит от ряда следующих факторов, которые могут повлиять, как в положительном, так и в отрицательном отношении: нейромедиаторы, такие как глутамат, гамма-аминомаслянная кислота (ГАМК), дофамин и серотонин, способствующие усилению или ослаблению сигналов между нейронами, влияя на силу синаптических связей [Sun X. et al., 2014, Rukavishnikov V. et al., 2017, Da Y. et al., 2023]. Факторы роста, такие как нейротрофический фактор (NTF), способствующий росту и выживанию нейронов, а также укреплению синаптических связей [Nakahashi Y. et al., 2014, Khan N. et al., 2015].

Повторяющиеся истории активности укрепляют связи между нейронами и формируют новые синаптические пути [Qi C. et al., 2022].

Гены, предрасполагая к более сильным или слабым синаптическим связям, что может влиять на процессы обучения и памяти [Voineskos A.N., 2011, Todarello G. et al., 2014]. В ходе серии исследований нейрексина-1 (ген NRXN₁) было установлено, что миссенс-мутации в данном гене связаны с риском развития нейрокогнитивных расстройств, таких как аутизм, болезнь Альцгеймера и другие [Еникеева Р.Ф. и др., 2017, Todarello G. et al., 2014].

Внешние факторы, такие как стресс, травма или воздействие на окружающую среду, могут изменять синаптические связи и влиять на функционирование мозга [Анашкина А.А. и др., 2021, Citri A. et al., 2008]. По мнению Куриной А.Ю. и соавторов, при изучении компенсаторного механизма нейронов головного мозга, установлен последовательный синтез дофамина нейронами, каждый из которых содержит только один фермент последовательного многоступенчатого процесса синтеза дофамина, что доказывает взаимодействие между функционально различными нейронами, но кооперативно выполняющими одну задачу [Курина А.Ю. и др., 2017].

При этом общие закономерности нейрогенеза могут сопровождаться изменением внутренней возбудимости в аксоне, дендритных отростках и телах нейронов за пределами синапса, т.е. несинаптическая пластичность [Duffau H., 2006]. Согласно теории нейронных клеточных ассоциаций Хебба, «нейроны, которые активируются синхронно, устанавливают между собой соединения» [Brown R., 2020]. Это означает, что, когда две нервных клетки активируются одновременно, связь между ними укрепляется, передавая возбуждающий импульс на одну из соседних клеток. Этот принцип объясняет, как формируются связи между нейронами в мозге и как происходит обучение и запоминание информации [Chao M., 2003]. При этом данное правило Хебба имеет большое значение не только в психологии и нейронауках, но и в искусственном интеллекте и машинном обучении, где используются подобные принципы для создания и обучения нейронных сетей [Caporale N. и др., 2008, Wu K. et al., 2015].

Изучение нейропластичности в различных областях головного мозга имеет определенные характеристики, связанные с функциональной деятельностью каждого отдела, например, сенсомоторная кора характеризуется избирательным восприятием и контролем двигательной активности, перераспределением функций и сохранением способности к пластичности на протяжении всего жизненного цикла, что позволяет понять, как изменения в ее структуре и функции влияют на когнитивные процессы [Jamjoom A. et al., 2021].

В отделах гиппокампа у крыс проявляются особенности изучения феномена нейропластичности [Комольцев И.Г. и др., 2020, Arulsamy A. et al., 2018]. Например, в зубчатой извилине (DG) наблюдается высокая степень нейропластичности благодаря наличию новообразованных нейронов, путем нейрогенеза – процесса образования новых нейронов из нейрального стволового клеточного резервуара, которые могут интегрироваться в существующие нейронные цепи и участвовать в формировании новых связей [Navidhamidi M. et al., 2017].

Особая роль в этом отделе уделяется гранулярным клеткам, обеспечивающим способность к нейрогенезу [Liorens-Martin M. et al., 2016]. Во-первых, они вырабатывают сигнальные молекулы, способствующие делению стволовых клеток и их превращению в новые нейроны, что происходит благодаря выделению фактора роста, нейротрофического фактора или других молекул, стимулирующих рост и выживание новых нейронов. Во-вторых, для них характерна специфическая связь с другими клетками в гиппокампе, что усиливает процесс нейрогенеза и позволяет им регулировать механизм образования новых нейронов в зависимости от потребностей организма [Desmond N. et al., 1994, Tomaszczyk J. et al., 2014]. В CA₁ и CA₃ полях гиппокампа, также происходят процессы нейропластичности, связанные с изменениями в экспрессии генов, восстановлением синаптических связей и реорганизацией нейронных сетей [Rebola N. et al., 2017]. Однако высокая степень нейропластичности гиппокампа может также негативно отражаться на выраженной уязвимости гиппокампа к таким пагубным состояниям, как ишемия, эпилепсия, хронический стресс,

нейродегенерация и старение, влияющие на структуру и функции гиппокампа и приводящие к когнитивным нарушениям [Duffau H., 2006]. Таким образом изучение нейропластичности в различных отделах гиппокампа у крыс позволяет понять механизмы мозговой пластичности и ее роль в формировании памяти, обучении и адаптации к окружающей среде [Citri A. et al., 2008].

Физическое повреждение нервной ткани мозга сопровождается гибелю тел нервных клеток и их отростков, запуская процессы реактивной и репаративной нейропластичности [Van Praag H., 2008]. Исследования показывают, что активация нейроваскулярной компенсаторной реакции может способствовать восстановлению функций после повреждения мозга [Zlokovic B., 2011]. Например, стимуляция ангиогенеза может улучшить кровоснабжение поврежденной области, что способствует возобновлению нейронной активности [Arai K. et al., 2009]. Кроме того, нейрогенез и синаптическая пластичность играют важную роль в восстановлении поврежденных сетей нейронов, а микроваскулярная эндотелиальная клетка играет важную роль в обмене веществ и поставке кислорода и питательных веществ к клеткам мозга, что также способствует их выживаемости и функционированию [Guo H. et al., 2016].

1. При этом пациенты, перенесшие ТЧМТ, сталкиваются с проблемами, такими как потеря памяти, нарушение когнитивных функций и эмоциональные расстройства. Исследования показывают, что раннее выявление и лечение этих последствий может значительно улучшить качество жизни пациентов и увеличить шансы на полное восстановление. Кроме того, применение современных технологий (компьютерная и магниторезонансная томография, трехмерная виртуальная реальность, нейромодуляция и глубокая стимуляция деятельности головного мозга) имеют ряд особенностей, позволяющих более точно определить степень повреждения и выбрать оптимальный план лечения [Пошатаев К.Е., 2010, Anderson-Barnes V. et al., 2010]. Считается, что «негативная» нейропластичность является одним из механизмов, лежащих в основе когнитивного и неврологического дефицита, возникающего в результате ишемического

воздействия или травматизма различной степени тяжести [Tomaszczyk. J. et al., 2014, Гуляева Н.В., 2017].

2. Однако концепция нейропластиности становится все более популярной, поскольку она помогает объяснить, по крайней мере частично, функциональное восстановление пациентов после инсульта [Jamjoom A. et al., 2021]. Нейроны, сохранившиеся при травме, образуют новые клональные клетки, склонные к патологии из-за отсутствия резистентности, для них характерна неправильная форма и дефектный генетический фон, когда программа регенерации прерывается, этот пул нейронов становится причиной патологии, обеспечивая структурную основу для поддержания терапии не только в острой и подострой фазе, но и в восстановительной и послеоперационной фазах [Xiong Y. et al., 2010].

Спонтанные восстановительные изменения также происходят после травмы, но обычно их недостаточно для критического функционального восстановления, поэтому важно уточнить основные принципы пластиности мозга, чтобы понять, как происходят компенсаторные процессы в поврежденных нейронах [Liorens-Martin M. et al., 2016].

Для понимания основных принципов пластиности мозга и их практического применения необходимо изучить действие гипоксии на мозг и ее специфические последствия для его функционирования [Berger M. et al., 2017]. Установлено, что различные методы кондиционирования, такие как преоксигенация, гипероксия и гипокапния, включающие такие защитные механизмы, как активация различных сигнальных путей, увеличение выработки антиоксидантов и улучшение функции митохондрий, оказывают защитное действие на клетки от последующей гипоксии и ишемии [Wasserfuhr D. et al., 2008]. Исследования показали, что, например, преоксигенация основана на предварительном увеличении внутриклеточного уровня кислорода, что позволяет клеткам лучше противостоять последующей гипоксии и ишемии [Lukyanova L. et al., 2015]. Гипероксия же повышает концентрацию кислорода во вдыхаемом воздухе, улучшая поглощение кислорода и уменьшая гипоксическое повреждение [Dean J. et al., 2022]. В то же время гипокапния, снижающая уровень углекислого газа в организме, также может играть

роль в защите клеток от гипоксии и ишемии, что может быть особенно полезно, когда высокий уровень углекислого газа усугубляет гипоксическое повреждение [Зарубина И.В., 2011]. Эти исследования могут помочь понять более глубокие молекулярные механизмы клеточной защиты от гипоксии/ишемии и способствовать разработке новых методов лечения и профилактики подобных состояний.

Новейшие медицинские информационные технологии (транскраниальная магнитная стимуляция, функциональная магнитно-резонансная томография и электроэнцефалография) исследуют феномен нейропластичности мозга в режиме реального времени и анализируют отдельные нейроны, синапсы и нейронные сети [Romanchuk N. et al., 2017]. Исследования показывают, что нейропластичность может быть изменена как в положительном, так и в отрицательном направлении в зависимости от условий обучения, тренировки или воздействия внешних факторов [Юсупов Ф.А. и др., 2022, Jamjoom A. et al., 2021]. Например, регулярные физические нагрузки, интеллектуальные задачи, медитация и изучение новых навыков могут помочь развитию феномена нейропластичности и улучшить когнитивные функции организма [Комольцев И.Г. и др., 2020, Бахарев Д.В., 2024]. С другой стороны, негативные факторы, такие как стресс, травмы, хронические заболевания или неправильный образ жизни, могут привести к нарушению нейропластичности и развитию патологических состояний, таких как депрессия, расстройства аутистического спектра, болезнь Альцгеймера и другие [Юсупов Ф.А. и др., 2022, Tomaszczyk. J. et al., 2014]. Таким образом, изучение процессов нейропластичности с помощью современных информационных технологий имеет важное значение для понимания механизмов функционирования мозга, развития и коррекции неврологических и психиатрических расстройств, а также разработке новых методов реабилитации и лечения. Однако, несмотря на значительные успехи, много вопросов остается открытыми, и дальнейшие исследования в этой области непременно продолжаются [Chaudhary U. et al., 2016].

После травмы головного мозга у крыс наблюдаются два основных процесса: воспалительный и регенераторный [Fang Y. et al., 2012]. Воспалительный процесс характеризуется максимальной активацией макрофагов, нейтрофилов и других клеток иммунной системы, направленные на борьбу с рассасыванием поврежденных клеток и очищением тканей от поврежденных элементов, сопровождающийся увеличением проницаемости сосудов, отеком и местной гиперемией [Sulhan S. et al., 2020]. При этом воспаление может быть резким и приводить к повышению давления в мозге, что может вызвать дополнительные повреждения [Jacquens A. et al., 2022]. Процесс регенерации способствует восстановлению поврежденных участков головного мозга, путем активации нейро-глио-сосудистого комплекса, что требует определенного времени для полного восстановления функциональной деятельности мозга [Zupanc G. et al., 2013].

Исследования способов регенерации структурных элементов нервной ткани мозга являются важным направлением в области нейробиологии и медицины, поскольку повреждения мозга, такие как инсульт, травмы и нейродегенеративные заболевания, могут приводить к серьезным последствиям [Ernst A. et al., 2014, Obernier K. et al., 2019]. В частности, ученые изучают способы стимуляции роста нервных клеток, трансплантации стволовых клеток, использование биоматериалов для поддержки регенерации ткани, как основного потенциала к восстановлению функций мозга и улучшению качества жизни пациентов.

При определении характера глиоцитов применим подход трех критериев: глиальные клетки имеют синаптическую связь с нейронами, линейно связаны между собой и самостоятельно не образует пресинаптические структуры. Исследования, проведенные в области стволовых клеток в мозге позвоночных животных, обнаружили интересный факт: глиальные клетки и нейроны часто образуются из одних и тех же клеток-предшественников, которые называются радиальными глиальными клетками. Это открытие создает новые перспективы в понимании природы этих клеток и их роли в развитии мозга, доказывая их глиальную идентичность [Germain N. et al., 2010].

Существует несколько подходов к исследованию способов регенерации клеточных компонентов нервной ткани мозга [Дмитриенко К.Ю. и др., 2015, Li S., 2022]. Один из них — использование стволовых клеток, обладающих способностью дифференцироваться в различные типы клеток, включая нервные клетки и могут быть использованы для замещения поврежденных или погибших нейронов, так исследователи из университета Лунд в Швеции провели эксперимент по внедрению специально выращенных стволовых клеток в поврежденный участок головного мозга крыс с помощью инъекций [Ozen I. et al., 2012]. Результаты исследования показали, что внедрение стволовых клеток способствовало восстановлению поврежденных тканей головного мозга у крыс. Благодаря стволовым клеткам возникли новые нейроны, которые способствуют восстановлению потерянных функций мозга и улучшению общего состояния животных, способствуя регенерации нервной ткани и восстановлению функций мозга [Ozen I. et al., 2014].

Ученые под руководством T. Osanai из университета Хоккайдо повреждали кору головного мозга крыс путем замораживания, а через 7 дней вводили стволовые клетки в сонные артерии животных, выделенные из костного мозга, исключая их попадание в общий кровоток. Анализ ткани мозга крыс экспериментальной группы подтвердил, что введенные стволовые клетки дифференцировались в разные типы клеток мозга и принимали участие в процессе восстановления поврежденных тканей [Osanai T. et al., 2012]. При этом стоит подчеркнуть положительные стороны этих двух способов исследования, среди которых выделяют повышение потенциала восстановления функций нервной ткани и увеличение шансов на регенерацию поврежденного участка, а к отрицательным моментам относят непредсказуемость результатов внедрения и сложность проведения процедуры с высоким риском возникновения осложнений или невосприимчивости организма к введенным стволовым клеткам.

Другим подходом к регенерации нервной ткани является стимуляция нейрогенеза - процесса образования новых нервных клеток, который обеспечивается благодаря стимуляцией различными методами [Shohayeb B. et al,

2018]. Одним из таких методов является стимуляция нейрогенеза фармакологическими средствами при травмах головного мозга, а именно использование нейротрофических факторов роста мозга (NGF, BDNF) и глиального нейротрофического фактора (GDNF) [Sun X., 2014, Ilchibaeva T. et al., 2015]. Эти факторы способствуют выживанию и росту нейронов, улучшают связи между нейронами и помогают восстановлению функций мозга после травмы [Khan N. et al., 2015, Ilchibaeva T. et al., 2016].

Важным направлением исследований является также использование технологий регенеративной медицины, таких как тканевая инженерия и биопринтинг, для создания и трансплантации искусственных нервных клеток [Motta C. et al., 2022]. Эти технологии позволяют создавать 3D-структуры из клеток, материалов и биологически активных веществ, которые могут интегрироваться с существующей нервной тканью и способствовать ее регенерации [Yazdanpanah Z. et al., 2022].

Одним из первых был в области тканевой инженерии был биоинженер профессор Robert Langer, он со своей группой разработал способы создания искусственных нервных клеток, которые необходимы и получили свое применение для реконструкции поврежденных нервных пучков или для создания биосовместимых материалов для имплантации реципиенту [Atala A. et al., 2011]. Chris Macer изучил использование нейронных стволовых клеток для восстановления поврежденной ткани мозга и разработал методы их дифференцировки в нужные типы нервных клеток [Motta C. et al., 2022]. Charles Lawrence работал над созданием наноматериалов, способных улучшить интеграцию имплантированных нервных тканей с окружающими тканями и повысить их функциональность [Mapara K. et al., 2007].

К преимуществам данных методов относится: возможность создания искусственных нервных клеток, уменьшение риска отторжения, так как использование собственных клеток пациента или клеток донора может снизить вероятность возникновения иммунного ответа, возможность точной инженерной настройки свойств искусственных нервных клеток, таких как их электрическая

активность и высвобождение нейротрансмиттеров, повышение эффективности и результативности лечения различных заболеваний, связанных с дефицитом нервных клеток [Ozen I. et al., 2014]. Но и они имеют свои недостатки: высокая стоимость процедуры создания и трансплантации искусственных нервных клеток, недостаточная долговременная эффективность и безопасность искусственных нервных клеток, технические ограничения в процессе создания и трансплантации искусственных нервных клеток (низкая выживаемость), риск возникновения побочных эффектов и осложнений после процедуры трансплантации искусственных нервных клеток [Li S., 2022]. На сегодняшний день исследования в этой области активно ведутся, и уже есть определенные успехи в восстановлении нервной ткани. Например, использование стволовых клеток или нейропластические методы позволяют улучшить функции поврежденного мозга и восстановить его работоспособность. Таким образом, изучение возможности восстановления нервной ткани головного мозга является многообещающим направлением, которое может привести к революционизированию методов лечения и реабилитации пациентов с повреждениями мозга, улучшив их качество жизни.

1.3. Особенности моделирования черепно-мозговой травмы у лабораторных животных

Первооткрывателем моделирования травматических повреждений головного мозга является известный нейрохирург Поль Пьер Брок [Фоминых Т.А., 2021, Lapointe L., 2014]. В конце XIX века он провел множество исследований на крысах, в том числе эксперименты с травмами головы (модель контузии), в ходе которых выявил область мозга, отвечающую за производство речи, так называемая «область Брука» [Ardila A. et al., 2015]. В его модели используется специальный инструмент, называемый контундером, создающий контролируемый удар по голове крысы, вызывающий контузию, которая подразумевает ушиб или сотрясение мозга без прямого проникновения или открытой раны [Pearce J., 2009, Carlos A. et al., 2019]. Эти эксперименты стали прорывом в исследовании мозга и определяющим моментом в развитии нейрохирургии и нейроморфологии [Ekbal B., 2013].

Экспериментальные модели черепно-мозговой травмы на крысах использовались для изучения различных аспектов таких повреждений и разработки новых методов лечения [Романова Г.А., 2015]. В то время как ранние модели черепно-мозговой травмы были сосредоточены на биомеханических аспектах травматического повреждения, то более современные методы были сосредоточены на сложных молекулярных процессах, происходящих в ходе компенсаторно-приспособительных реакций нейроглиального комплекса головного мозга и долгосрочных последствий черепно-мозговой травмы [Сысоев Ю.И., 2018, Kilbourne M. et al., 2008].

Современные модели травмы включают стандартизованные экспериментальные протоколы и хирургические процедуры. В этом случае необходимо изучать "ложно оперированных" животных в качестве контроля, у которых хирургические процедуры, используемые в экспериментах (например, доступ травматических инструментов к мозгу, анестезия, поддержание температуры тела и мозга, введение внутричерепных зондов и канюль), проводятся отдельно от реальной травмы. Для оценки механических параметров, определяющих тяжесть травмы, приложенные нагрузки (например, гидравлический градиент давления, действующий на мозг, скорость ударного элемента, скорость силы, вызывающей ускорение или замедление головы в зависимости от модели) измеряются с помощью компьютерных технологий. Это позволяет регулировать травматическое устройство и поддерживать небольшую вариативность тяжести травмы в рамках одного эксперимента.

Среди современных моделей черепно-мозговой травмы наиболее распространенными в научном сообществе являются модель жидкостно-перкуссионного повреждения (англ. – fluid percussion injury, FPI), модели с использованием падающего груза (англ. – weight-drop impact injury, WDII) и модель контролируемого кортикального ушиба (англ. – controlled cortical impact injury, CCI) [Белошицкий В.В., 2008, Романова Г.А., 2015, Сысоев Ю.И., 2018, Hoogenboom W.S. et al., 2019]. В каждой из этих моделей после создания травмы животное подвергается наблюдению, чтобы оценить неврологические показатели,

включая состояние сознания, координацию движений, память и реакцию на различные виды стимуляций [Tsymbalyuk V. et al., 2008].

В моделях с использованием падающего груза происходит нанесение удара на краниотомированный череп или без краниотомии с помощью устройства пружинного или калиброванного типа и тяжесть наносимого повреждения напрямую зависит от выбранной массы груза и определения высоты наносимого удара [Сысоев Ю.И., 2018]. В модели Feeney D.M. после передней пункции обнаженная твердая мозговая оболочка подвергается нагрузке, вызывая контузионное повреждение участков коры головного мозга, что приводит к образованию и последующему увеличению некротических пространств [Feeney D. et al., 1989]. Морфологически повреждение проявляется кровоизлияниями в белом веществе головного мозга непосредственно под местом удара через несколько часов после травмы, что приводит к развитию некротических корковых участков уже через 24 часа [Сысоев Ю.И., 2018].

E. Shohami с соавторами разработали закрытую модель травматического повреждения головного мозга, характеризующуюся падением груза на открытую поверхность черепа крыс с помощью специально разработанного прибора [Finnie J., 2001]. Выявленные изменения, такие как нарушения функциональности, активация астроцитов и микроглии, а также морфологические изменения, обнаруженные при использовании магнитно-резонансной томографии у травмированных мышей и крыс, очень напоминают изменения, наблюдаемые при реальной открытой травме головы у пациентов в клинической практике [Kilbourne M. et al., 2008]. Существенным недостатком данного типа моделей является невозможность воспроизведения повреждения, встречающегося в результате автокатастрофы или спортивного состязания, характеризующегося воздействием силы удара на переднюю часть головы [Романова Г.А., 2015].

Второй тип — модель жидкостно-перкуссионного повреждения, приводя к травматизации, клинически сходной с ушибом мозга. В этой модели травма вызывается пульсацией давления жидкости на центральную или латеральную неповрежденную твердую мозговую оболочку черепа [Schurman L. et al., 2017].

Этот тип повреждения может наблюдаться, например, при автомобильной аварии, когда голова сильно резко ударяется о руль или стекло, позволяя создавать контролируемое повреждение мозга и изучить его последствия на поведение и мозговую активность у экспериментальных групп животных [Сысоев Ю.И., 2018]. Исследования на этой модели могут помочь в разработке новых методов лечения и профилактики последствий черепно-мозговой травмы. Процедура травмы выглядит следующим образом: у наркотизированного животного, помещенного в стереотаксическое устройство, делается продольный разрез кожи, скальп и височные мышцы откидываются, а необходимая часть черепа отгибается. С помощью жидкостного перкуссионного устройства подаются импульсы для создания импульсной волны давления, которая передается на твердую мозговую оболочку и вызывает деформацию мозга [Madathil S. et al., 2017]. Для повышения воспроизводимости этой методики необходимо уделять особое внимание не только установлению правильной интенсивности импульса давления, но и точному определению интересующей области мозга. Существенным недостатком данного типа моделей являются необходимость трепанации и не пропорциональное воздействие на область ствола мозга при увеличении силы удара, что может отразиться на результатах исследования [Сысоев Ю.И., 2018].

При моделировании контролируемых кортикальных ушибов для воспроизведения удара по неповрежденной твердой мозговой оболочке используется устройство — цилиндр с помповым механизмом, контролируя параметры механических факторов: скорость удара и глубину возникающей деформации [Rail J. et al., 2003, Shah E. et al., 2019]. Приведенные способы моделирования характеризуются рядом преимуществ, таких как репрезентативность, доступность, унификация, этичность и легкость воздействия [Shah E. et al., 2019]. Однако все эти модели повреждения имеют схожие недостатки, такие как быстрое спонтанное восстановление функций мозга (в течение двух недель) и технические трудности моделирования травмы. Основная проблема этих методов проявляется в сложности контроля передачи определенной дозы энергии на мозг экспериментального животного, что приводит

к неоднородности получаемых травм и вынуждает исследователей измерять силу удара [Madathil S. et al, 2017].

Известен способ моделирования черепно-мозговых травм при свободном падении заданной массы груза с заданной высоты, как прототип для предлагаемого изобретения в связи с близкой технической реализацией и полученными техническими результатами. Для реализации способа было использовано ударно-травматическое устройство, состоящее из вертикальной трубы, в которую опускается груз, и энергия удара, дозируемая электронной системой, передающая на голову подопытного животного через стержень трубы. Однако, как показывает практика, этот метод приводит к не одинаковой степени повреждения: в одних экспериментах наблюдается высокая смертность подопытных животных, а в других — быстрое спонтанное восстановление функций мозга (4-5 недель) [Kallakuri S., et al, 2003].

При выборе того или иного способа повреждения, модели травматизации должны соответствовать ряду критериев, таких как возраст, пол, вес, генетические характеристики, условия выращивания и циркадные ритмы используемых животных, и не должно быть различий по этим параметрам между контрольными и опытными группами экспериментальных животных [Finnie J., 2001]. Кроме того, должны быть четко определены такие физические параметры, как точное место травмы и точно установленная степень травматизации. При этом реакция центральной нервной системы на травму должна быть измеримой и воспроизводимой в разных лабораториях, а степень травматизации должна соответствовать механической силе, приложенной к голове или мозгу, и пропорционально возрастать по мере увеличения силы [Laurer H. et al., 2000].

Обзор ряда публикаций по экспериментальной нейротравматологии способствовал выделению четких морфологических и неврологических критериев для обозначения тяжести повреждения с целью определения эффективности лечения [Hoogenboom W. et al., 2019, Ramirez S. et al., 2021, Tsymbalyuk V. et al., 2008]. Помимо различных методов, применяемых для конкретного объекта исследования, чаще всего используется комбинация следующих методов:

гистологическое исследование и подсчет численной плотности пирамидных нейронов головного мозга экспериментальных животных, наблюдение и анализ двигательной, когнитивной дисфункции. Выделены неврологические критерии, позволяющие оценить функциональное состояние пациента после нейротравмы и включающие в себя такие параметры, как нарушение сознания, двигательные и чувствительные нарушения, наличие неврологических дефицитов и другие признаки повреждения нервной системы [Hedel H. et al., 2010]. Эти критерии помогают оценить эффективность лечения и прогнозировать дальнейший прогноз для пациента.

Способ, который мы использовали для нанесения черепно-мозговой травмы крысам в нашем исследовании, включает в себя применение установки с ударным механизмом, обеспечивающей стандартизированность и повторность нанесения травмы на голову крысы для получения достоверных экспериментальных данных. Данный метод позволяет моделировать травму головного мозга у крыс, используя устройство, основанное на передаче кинетической энергии падающего груза, позволяющего достичь дозированного повреждения головного мозга без образования дополнительных сателлитных повреждений [Патент РФ 2788904С1., 2021].

1.4. Современные аспекты патоморфогенеза травматических повреждений головного мозга

Патоморфогенез – процесс возникновения и развития патологических изменений в организме, описывающий пути, по которым нормальные клетки претерпевают изменения и превращаются в аномальные или поврежденные клетки в ответ на генетические мутации, инфекции, травмы или другие воздействия на организм [Хелимский А.М. и др., 2003]. В результате возникают конкретные характеристики и симптомы, связанные с определенными болезнями или состояниями, при этом изменения могут происходить на уровне генов, белков, обмена веществ и других биохимических процессов [Зарубина И.В., 2011].

Стоит отметить, что многие исследования посвящены оценке последствий черепно-мозговой травмы на макро- и микроуровне и включают в себя изучение патоморфологических изменений в структуре и функции мозга с помощью нейрогенеза, нейрофизиологических методов, а также психологических тестов. Это необходимо для понимания механизмов развития болезни и помогает разработать новые методы диагностики, лечения и профилактики [Дмитриенко Е.В. и др., 2013]. Существует множество научных исследований, доказывающих существование специализированной интегрированной клеточной системы, так называемого нейро-глио-сосудистого комплекса мозга, включающую нейроны, глиальные клетки и эндотелиальные клетки сосудов. Этот комплекс играет ключевую роль в поддержании гомеостаза мозга, обеспечивая необходимые условия для нормального функционирования нейронов [Wolburg H. et al., 2009, Liu S. et al., 2012]. Немаловажную роль занимает изучение глиального компонента нервной ткани, в связи с его способностью обеспечивать полностью процессы жизнедеятельности нейронов от их развития до полной деструкции и последующего фагоцитоза. Результаты исследований ученых подтвердили, что появление двунаправленной связи между астроцитами и отростками нейронов регулирует основные пути аксональной и синаптической передачи, обеспечивая обработку поступившей информации от подкорковых структур головного мозга [Shaham S., 2005].

Исследования, проведенные в области патогенеза травм головного мозга (ТГМ) различной степени тяжести, демонстрируют сложность этого процесса, сосредоточившись на изучении основных последствий повреждения клеточных мембран, дисфункции митохондрий, ионного дисбаланса и возникновения окислительного стресса: механического воздействия, механизмов вторичного повреждения, нейрохимических изменений, генетических факторов, эпигенетических механизмов [Bubb E. et al., 2018, Cassol G. et al., 2019]. Сложность протекания механизмов нейропротекции нейронов затрудняет разработку обоснованной коррекции неврологических нарушений и патогенетической терапии посттравматических энцефалопатий (ПЭ) [Murray H., 2022].

Несмотря на интенсификацию исследований актуальность данной патологии не снижается, поскольку изучение реакции компонентного состава нервной ткани на травматическое повреждение является неотъемлемой частью для поиска новых направлений в механизмах дегенерации и компенсации высших отделов мозга в посттравматическом периоде, поэтому предметом настоящего исследования было изучение цитоархитектоники неокортекса и гиппокампа после тяжелого травматического повреждения с помощью световых, иммуногистохимических и морфометрических способов изучения структурных компонентов нервной ткани (нейроны, нейроглия, микрососудистая сеть и синапсы).

При травмах головной мозг подвергается механическому воздействию, которое может быть прямым (например, от удара) или косвенным (например, от движения головы в результате автомобильной аварии). Данное воздействие может привести к повреждению нервных структур мозга, а также к изменению физиологических процессов внутри головного мозга [Dixon K., 2017, Dimitrova-Shumkovska J. et al., 2020]. После первичного механического воздействия происходит ряд вторичных процессов, которые могут вызвать дальнейшее повреждение головного мозга: воспалительные реакции, проявления отечных процессов в тканях мозга, нарушения кровообращения, изменения обменных процессов [Пурас Ю.В. и др., 2012. Albert-Weibenberger C. et al., 2012, Carlos A. et al., 2019].

При травме также происходят нейрохимические изменения в головном мозге, связанные с высвобождением различных медиаторов (например, глутамата и цитокинов) и возникновением окислительного стресса, что оказывает негативное действие на функции нейронов, а также на образование и функционирование новых нейронных связей [Vantini Y. et al., 1989, Harris T. et al., 2019]. Одним из современных аспектов является роль генетических факторов. Некоторые виды животных (крысы, мыши, собаки) могут быть более восприимчивыми к развитию травматического повреждения головного мозга из-за наличия определенных генетических вариантов, которые могут влиять на реакцию организма на травму и на последующее восстановление [Andelic N. et al., 2019, Hoogenboom W. et al.,

2019], но изменения в экспрессии генов без нарушений в ДНК-последовательности, также играют роль в патогенезе травм головного мозга. Данные механизмы могут быть связаны с изменениями в метилировании ДНК, модификациями хроматина и микроРНК, что оказывает влияние на функцию нейронов, регенерацию и ремоделирование тканей головного мозга после травмы [Jasquens A. et al., 2022].

В целом, современные исследования ЧМТ подчеркивают важность комплексного подхода к изучению данного процесса и позволяют нам лучше понять механизмы и факторы, влияющие на развитие травматического повреждения головного мозга [Blennow K. et al., 2012]. В зависимости от силы удара и повреждений, патоморфологические изменения в отделах головного мозга могут быть разнообразными и варьировать от мягкой травмы до отягающих повреждений, к таким можно отнести контузионные повреждения, кровоизлияния, разрывы и переломы, отек, признаки некроза и апоптоза [Карахан В.Б. и др., 2001]. Контузионные повреждения вызваны прямым ударом или ударом о поверхность, при котором головной мозг сильно страдает от сжатия и столкновений с внутренними структурами черепа, что приводит к повреждению нервных волокон, кровоизлиянию и отеку мозга [Katz D. et al., 2015].

При тяжелой ЧМТ могут возникать различные типы кровоизлияний в головном мозге, такие как внутримозговые гематомы, подарахноидальные кровоизлияния и субдуральные или эпидуральные гематомы [Kou Z. et al., 2015]. ТЧМТ вызывает разрывы нервных волокон и переломы костей черепа и может приводить к отеку мозга, что оказывает влияние на увеличение объема мозга и сдавливание окружающих тканей [Maas E. et al., 2017]. В то же время ТЧМТ сопровождается гибелю нервных клеток мозга из-за прямого повреждения или последующего каскада воспалительных и окислительных процессов [Basso M. et al., 2015]. Совокупность всех этих изменений наблюдают на макроскопическом уровне при обследовании головного мозга, а также на микроскопическом уровне при изучении тонких срезов мозговой ткани под микроскопом [Bandak F., 2015].

Из литературных данных научных обзоров [Kou Z. et al., 2015, Freeman L. et al., 2016, Giza C. et al., 2018] установлено, что тяжелая черепно-мозговая травма у

крыс проходит через три основных фазы: первичного и вторичного повреждения, а также ремоделирования. Непосредственно в первую фазу после получения травмы происходит механическое повреждение тканей мозга и черепа в виде моментальных нарушений барьерной функции кровеносных сосудов разрушаются нервные клетки и развивается отек головного мозга [Rovengo M. et al., 2012, Sivandzade F. et al., 2020]. Вторая же фаза начинается относительно незадолго после первичной травмы и продолжается несколько дней или даже недель, при этом возникают каскадные биохимические и метаболические реакции, приводящие к дальнейшим повреждениям тканей мозга и черепа в виде кровоизлияний, участков деструкции нервной ткани [Alves J. et al., 2014, Cheng J. et al., 2018]. При этом фаза ремоделирования сопровождается усилением синаптических связей и функциональной активности мозга с целью дальнейшей реконструкции поврежденных нейронов [Johansson B., 2003]. При этом каждая из фаз требует индивидуального подхода к лечению и реабилитации, поскольку процессы восстановления могут быть различными и зависят от множества факторов, включая характер травмы, возраст крысы и ее общее состояние здоровья [Voelbel G. et al., 2014, Cheng J. et al., 2018].

Макро- и микроскопическая картина острой фазы ЧМТ характеризуется дегенеративными процессами (деструкция, апоптоз или некроз), происходящими в нейронах, глиоцитах и синапсах, а также наблюдаются кровоизлияния и признаки отечной дистрофией нейропиля. К наиболее распространённым признакам установленных невооруженным глазом относятся кровоизлияния с различной степенью локализации и объемом, свидетельствующие о повреждении сосудистого русла головного мозга [Slowik A. et al., 2018]. При этом травматические субарахноидальные кровоизлияния, возникающие в пространстве между поверхностью головного мозга и мягкой мозговой оболочкой, в свою очередь характеризуются наличием свободной крови в субарахноидальном пространстве и приводят к развитию внутричерепной гипертензии и повышению внутричерепного давления [Mendez M. et al., 2017]. В результате ЧМТ могут возникать повреждения нервных стволов, находящиеся в задней части головного мозга, что оказывает

влияние на нарушение основных жизненно важных функций, таких как дыхание и сердечно-сосудистая активность [Zhang N. et al., 2023]. Отёчность головного мозга приводит к сдавливанию соседних структур головного мозга и нарушению их функции [Zappalà G. et al., 2012].

Промежуточный период посттравматической реакции головного мозга характеризуется образованием кист, рубцов, расширением желудочков и локальных долевых изменений [McGinn M. et al., 2016]. Это могут быть арахноидальные кисты и гематомы, образующиеся из-за повреждения сосудов и разлившейся крови. Подобные кисты могут привести к различным симптомам, таким как головные боли, головокружения, нарушения зрения, слуха и координации движений, а также когнитивные расстройства [Balestrino A et al., 2020]. Рубцы представляют собой замену нормальной ткани мозга фиброзной соединительной тканью и могут привести к дегенеративным изменениям [Sivandzade F. et al., 2020]. Черепно-мозговая травма влечет за собой расширение желудочков мозга, вследствие нарушения дренажа спинномозговой жидкости или образования препядствий в циркуляции жидкости внутри головного мозга [Voelbel G et al., 2012]. Морфологические процессы восстановления и регенерации полностью развиваются в промежуточной фазе в ответ на ТГМ. В ответ на трансформирующий фактор роста происходят следующие ключевые процессы: активизация, дифференцировка и миграция клеток с последующим увеличением продукции внеклеточного матрикса, что обеспечивает поддержку и помогает в компенсации функционирования поврежденной ткани [Zappalà G. et al., 2012]. Исследования в этой области продолжаются, и они помогают раскрыть молекулярные механизмы, стоящие за этими процессами, что может привести к новым терапевтическим подходам в восстановительной медицине.

Острый период черепно-мозговой травмы (ЧМТ) и промежуточный период у крыс имеют следующие отличительные признаки по основным трем критериям (симптоматика, продолжительность и характер изменений) [Alves J., 2014]. Симптоматика: острый период ЧМТ начинается непосредственно после травмы и характеризуется нарастающими симптомами и особенностями клиническими

признаками. В этот период наблюдается потеря сознания, рвота и судорожные движения, повышенное волнение, активность и нестабильность [Ghaith H. et al., 2022]. В то время как промежуточный период начинается после острого периода и характеризуется стабилизацией состояния. В эту фазу наблюдаются некоторые изменения поведения, в виде снижения активности, заторможенности и нарушения координации движений, но и неврологические симптомы, такие как паралич и дисфункция чувствительности [Cheng J. et al., 2018, Frank D. et al., 2022]. По продолжительности острый период ЧМТ обычно длится несколько часов или дней, в то время как промежуточный период может продолжаться в течение нескольких дней или недель, в зависимости от силы и тяжести травмы [Khellaf A. et al., 2019]. В острой фазе ЧМТ наблюдаются активные клинические проявления, связанные с непосредственным исходом травмы, а в промежуточной фазе наблюдаются более стабильные, но дисфункциональные нарушения, связанные с тяжестью повреждения [Lamade A., 2020, Kaya D. et al., 2022]. Важно отметить, что конкретные различия между острым и промежуточным периодами ЧМТ у крыс могут варьироваться в зависимости от степени и места травмы, а также от индивидуальной реакции на травму.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Характеристика экспериментальных групп

Для решения цели и поставленных задач диссертационной работы было проведено экспериментальное исследование на 63 аутбредных половозрелых белых крысах самцах сток Wistar в возрасте 15 – 20 недель и массой 350 – 400 грамм. Моделирование ТЧМТ предварительно было одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России, что подтверждено протоколом № 10 от 19.09.2023 г. и решением Проблемной комиссии №8 «Экстремальные и терминальные состояния» от 22.09.2023 г. Вскрытие черепной коробки и извлечение головного мозга проводили через 1 (n = 6), 3 (n = 6), 7 (n = 6), 14 (n = 6), и 30 (n = 6) сут до и после травматизации тяжелой степени. Интактные крысы без ТЧМТ (n = 6) служили контролем. Дизайн исследования отражает полноту эксперимента и представлен на схеме 2.

Схема 2. Дизайн экспериментального исследования



Предварительно крысы были выращены и получены путем доставки из Федерального исследовательского центра «Института цитологии и генетики СО РАН» (г.Новосибирск), и затем были размещены в виварии ИВМиБ ОмГАУ им. П.А. Столыпина, соблюдая принципы сбалансированности рациона и требования к содержанию в соответствии с рекомендациями Международного научного комитета по лабораторным животным [ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными», 2016] и Директивой 2010/63/EU Европейского парламента от 22.09.2010 «О защите животных, используемых в научных целях» [Directive of the European Parliament and of the Council, 2010].

2.2. Модель тяжелой ЧМТ

Моделирование ТГМ с использованием установки осуществлялось на базе учебно-научного центра эндоскопической хирургии Wetlab ИВМиБ ОмГАУ им. П.А. Столыпина. Тяжелая степень повреждения головного мозга была смоделирована путем дозированного механического воздействия падающего груза на затылочно-теменную область коры полушарий для формирования контузионного очага повреждения, для этого способа моделирования была применена установка с ударным механизмом, характеризующаяся применением устройства, основанного на принципе передачи кинетической энергии цилиндрического падающего груза, оказывающего травмирующее воздействие на головной мозг крысы штангой, перемещающейся в направляющей втулке и имеющей осевую подвижность, в сборе с грузом, ударной втулкой и ударной площадкой. Используя этот метод моделирования ЧМТ, в серии экспериментов стало возможным создать условия, наиболее похожие на характеристики нанесенного повреждения головного мозга и однородность травматических изменений, воспроизводящие клиническую картину тяжелого повреждения головного мозга без образования сателлитных поражений [Патент РФ 2788904С1., 2021]. Заявленное устройство показано на рисунке 1.

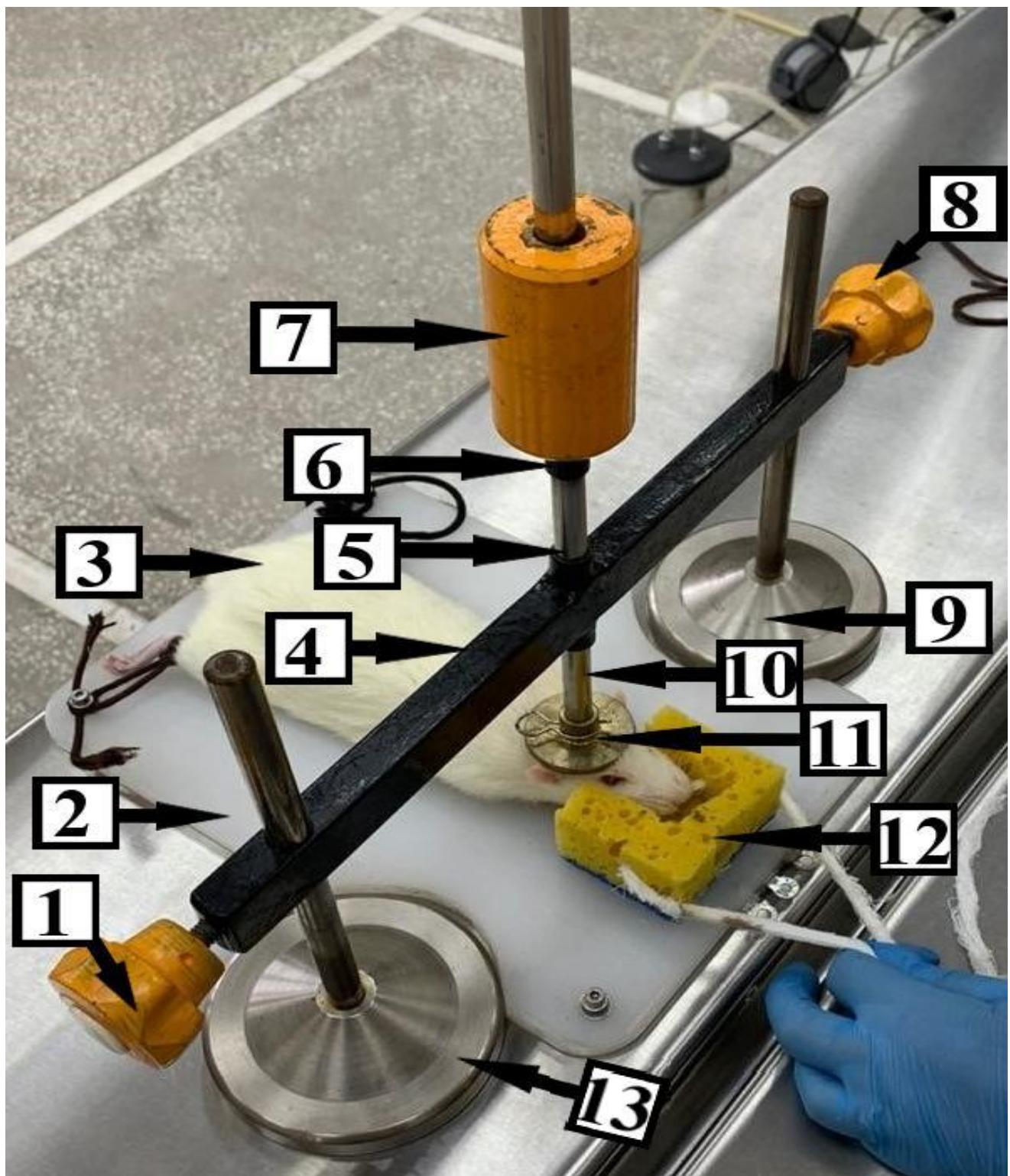


Рис. 1. Устройство для моделирования черепно-мозговой травмы с использованием установки с ударным механизмом: 1 – правый торцевой винт; 2 – операционный столик; 3 – наркотизированное животное; 4 – планка; 5 – центральная втулка; 6 – ударная втулка; 7 – груз; 8 – левый торцевой винт; 9 – левая опора; 10 – направляющая штанга; 11 – ударная площадка; 12 – подушка из губчатого материала; 13 – правая опора.

Исходя из особенностей конструкции установки были выделены основные отличительные признаки используемой модели тяжелой ЧМТ в отличии от ее аналогов:

1. Отсутствие разрыва твердой мозговой оболочки, что не повреждало целостность и герметичность черепа;
2. Моделирование клинической картины травматического повреждения тяжелой степени, характеризующегося поведенческими дисфункциями и нейровоспалением.

Благодаря конструкции оборудования определялась тяжесть повреждения головного мозга путем расчета потенциальной энергии удара с учетом физиологической массы подопытного животного, по формуле (1):

$$E_{\text{удара}} = m \times g \times h = 0,598 \times 9,8 \times 0,35 = 2,05 \text{ Дж}, \text{ где (1)}$$

m - масса падающего груза, g - ускорение свободного падения, h - высота расстояние от точки, начала падения до верхнего края втулки, расположенной на планке.

Используя потенциальную энергию удара в качестве количественного показателя степени повреждения, можно судить о высокой силе внешнего воздействия поражающего объекта, необходимой для получения закрытого механического повреждения головы при сохранении ее целостности, исключая открытые и закрытые переломы черепа и челюсти головы экспериментального животного .

Перед проведением эксперимента в проекции свободной от животного в части операционного столика проводили настройку устройства:

1. При помощи шплинта соединяли ударную площадку диаметром 2,5 см с нижним концом штанги, которую опускали через центральную втулку на планке до соприкосновения с жестко закрепленной на штанге ударной втулкой;
2. На планке ослабили торцевые винты и смещали ее по опорам до соприкосновения с операционным столиком, после чего зафиксировали высоту планки на опорах, затянув винты.

Группам контроля без моделирования травмы и опытным перед ЧМТ вводили в/м инъекционный раствор Zoletil 100 в дозе 10 мг/кг и раствор сульфата атропина в дозе 0,1 мг/кг в качестве обязательного предварительного премедикационного препарата. Причина выбора Zoletil 100 в качестве анестезирующего средства заключалась в том, что в отличие от ингаляционных анестетиков, он вводится внутримышечно, может быть введен точно в соответствии с весом животного и имеет ряд преимуществ (быстрое начало действия и короткое время восстановления, минимальное воздействие на функции организма, т.е. безопасность). Действие глубокой фазы анестезии проявлялось у крыс отсутствием педального, корнеального и лингвального рефлекса с гипералгезией и полной релаксацией. Экспериментальных животных укладывали на операционном столике, привязывая задние конечности при помощи веревочного материала к металлическим штифтам, при этом под голову крысы была подложена амортизирующая губчатая подушечка с фиксацией передних зубов крысы марлевым материалом, это было необходимо для ограничения движения головой с учетом выбранной затылочно-теменной области удара и исключения переломов нижней челюсти. Приподнимая штангу с ударной площадкой, ориентировали устройство ударной площадкой в проекции черепа животного, опустив штангу с ударной площадкой на затылочно-теменную область головы. Цилиндрический груз массой 598 гр устанавливали на высоту 35 см и опускали по направляющей штанге для осуществления повреждения ударной площадкой [Патент РФ 2788904С1., 2021].

2.3. Методы исследования

2.3.1. Морфологические методы исследования

Изучение структурной организации неокортекса и гиппокампа головного мозга в посттравматическом периоде обеспечивалось применением основных гистологических методов: окраска гематоксилином-эозином и тионином по методу Нисселя. При окрашивании гематоксилином-эозином базофильно окрашиваются

структуры, содержащие нуклеиновые кислоты и находящиеся в ядре клетки или в цитоплазме, богатой РНК, в то время как эозинофильно окрашиваются структуры, распределенные как в цитоплазме, так и вне клетки. Это позволяет провести оценку структур нервной ткани, тинкториальных свойств протеинов ядра и цитоплазмы клеток, а также нейропиля. Метод Ниссля – способ окрашивания нервной ткани, при котором хроматофильная субстанция нейронов (вещество Ниссля, тигроид или тигроидное вещество) окрашивается анилиновыми красителями, а нуклеиновые кислоты выявляются на основе их реакции с тионином. Тионин – важный аминокислотный компонент, участвующий в регуляции клеточного метаболизма.

Рандомизация животных после моделирования тяжелой ЧМТ происходила путем случайного отбора (генератора чисел) на каждый срок исследования, что позволило исключить субъективный фактор разделения опытных групп на подгруппы и сделать результаты более объективными и надежными, так как каждое животное имеет равные шансы попасть в определенную группу и получить определенное воздействие.

В глубокую фазу наркоза сосудистое русло мозга крыс промывалось путем инъекции 100-125 мл 0,9% раствора NaCl и фрагмина (5000 ед.) в левый желудочек и фиксировалось перфузией через аорту 4% раствором параформальдегида в 30 мл фосфатного буфера (рН 7,2-7,4) в течение 15 мин под давлением 90-100 мм рт. ст. Декапитация происходила путем отрезания головы ножницами с большими браншами на линии между атлантом и черепом. Процесс извлечения мозга, сопровождающийся отделением от черепа части теменной и височной кости, продемонстрировали на рисунке 2. Полученный материал помещали в аналогичный фиксатор и хранили в холодильнике при температуре +4⁰С [Коптяева К.Е. и др., 2018, Bolon B. et al., 2006].

Для гистологического исследования головной мозг крысы помещался в консервант гомогенизированный парафин HISTOMIX, помогающий сохранить прижизненные свойства компонентов нервной ткани, предотвращая их разрушение и поддерживая их структурную организацию.

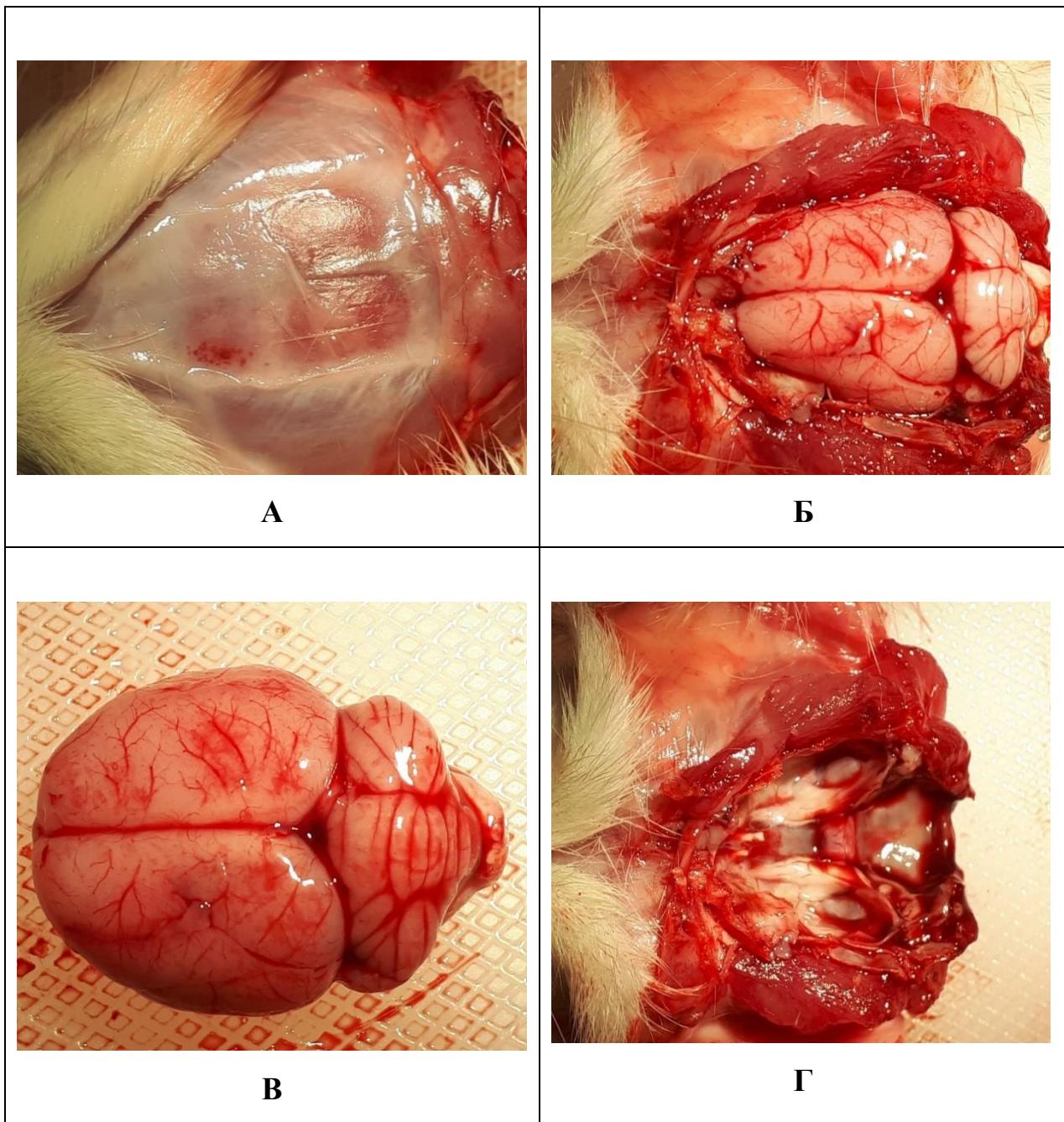


Рис.2. Извлечение головного мозга у крысы: А – голова крысы с отпрепарированной фасцией и кожей в верхней части черепа; Б – частично вскрытая черепная коробка головы путем отделения части височной и теменной кости; В – извлеченный головной мозг крысы; Г – свободная черепная полость головы после извлечения головного мозга.

Изготовление серийных фронтальных срезов осуществлялось при помощи микротома HM450, обеспечивающего высокую точность и контроль при изготовлении срезов гистологического материала, на уровнях 2,2 – (-4,8) от Брегмы и 1,2 – (-3,0) (рисунок 3) от Брегмы толщиной 2-4 мкм. Брегма, антропометрическая точка, соответствующая стыку сагиттального и коронарного швов на крыше черепа, была основным ориентиром для выполнения разреза [Paxinos G. et al., 2005].

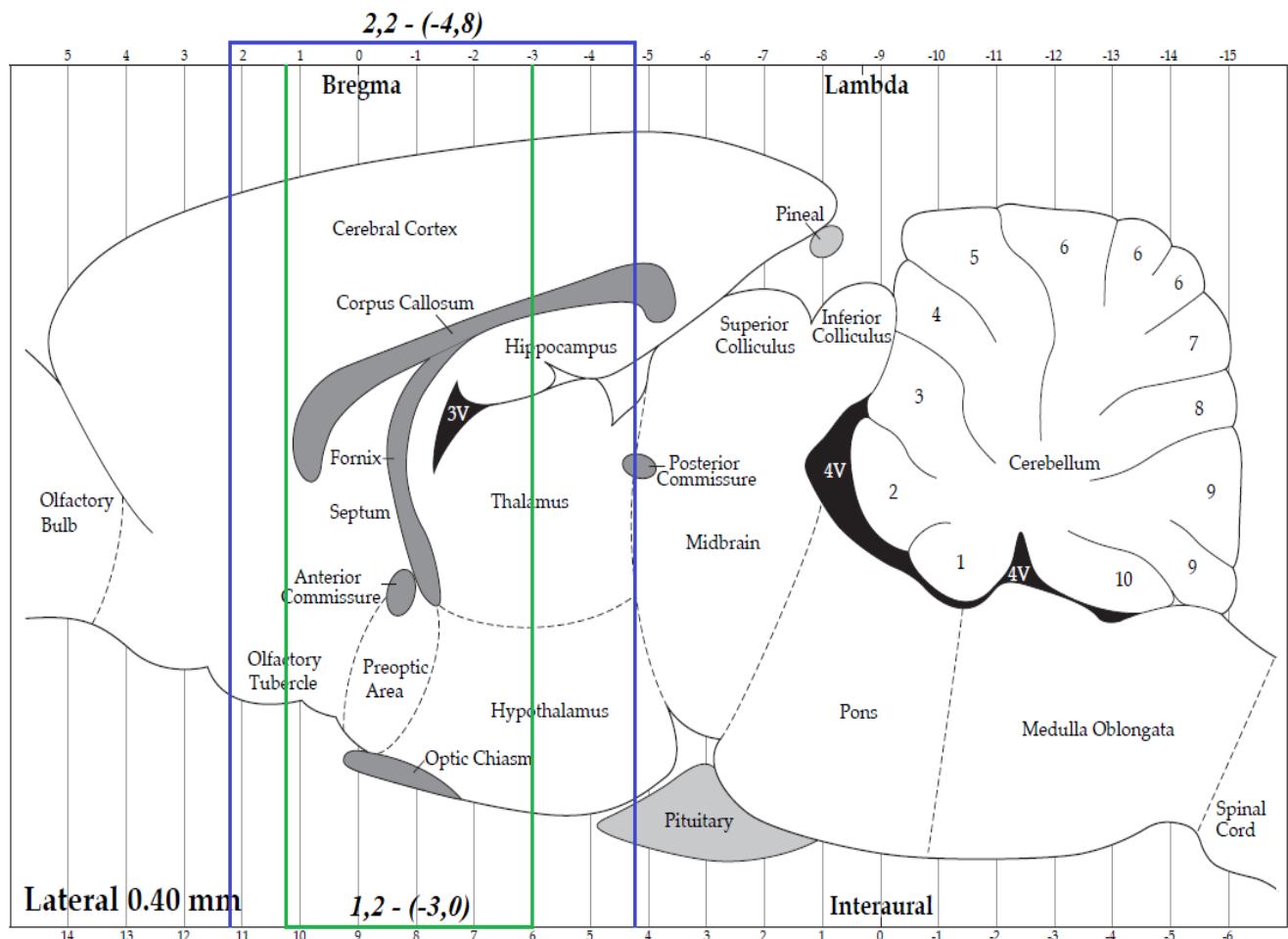


Рис.3. Уровни приготовления серийных фронтальных срезов головного мозга крыс относительно Брегмы (СМК и Гиппокамп).

Срезы помещали в водяную баню SB-80 (56°C) для растворения парафина, переносили на предметные стекла, маркировали и высушивали на горячей плите (60° С, 60 мин). Затем их окрашивали в соответствии с инструкциями по

классическим гистологическим и иммуногистохимическим методам. Препараты головного мозга подвергали методу оптической микроскопии при помощи цифрового микроскопа Leica DM 1000 с получением цифровых микрофотографий высокого разрешения (tiff, 2048x1536 пикселей) на увеличении x4, x10, x40 и x100.

Определение нейронов устанавливалось по наличию ядрышек на срезах тел нервных клеток. Окраска гематоксилин-эозином позволила оценить состояние нервной ткани при тяжелом травматическом воздействии падающего груза, в области неокортекса и гиппокампа проявлялась окси菲尔ность цитоплазмы поврежденных нейронов. На препаратах, окрашенных тионином осуществляли качественную и количественную оценку нормо-, гипер-, гипохромных нейронов, клеток-теней и разновидностей нейроглиоцитов: астроцитов, олигодендроцитов и микроглиоцитов. Количественные результаты исследования анализировались с учетом проверки статистических гипотез в программе Statistica 10.0.

2.3.2. Иммуногистохимические методы исследования

Для подтверждения данных морфометрического анализа нейронов и глиальных клеток СМК и гиппокампа использовали методы иммуногистохимического исследования, представленные в таблице 3, которые являются важным инструментом для подтверждения данных морфометрического анализа и позволяют получить дополнительную информацию о структуре и функции нейронов и глиальных клеток в головном мозге. Иммуногистохимический анализ позволил подтвердить идентификацию нейронов и глиальных клеток в образцах ткани СМК и гиппокампа.

Срезы помещали на маркированные предметные стекла Snowcoat X-TRA. В процессе подготовки и приготовления препаратов использовали раствор для разведения антител (BPAD), отмывочный раствор (BWS10X) и буфер для демаркировки (ERSpH9). Для визуализации изучения использовали набор реагентов на основе полимера NovoLink и пероксидазы NPDS.

Полученные препараты головного мозга исследовали с помощью метода оптической микроскопии для получения цифровых микрофотографий высокого

разрешения (tif, 2048 x 1536 пикселей) при различных типах увеличении объективов (x4, x10, x40 и x100). Морфометрический анализ исследуемых областей осуществлялся при помощи программы ImageJ 1.53, позволяющей вычислять количество объектов (клетки, ядра), их площади, статистические показатели распределения (гистограммы) пикселей в различных областях головного мозга.

Таблица 3. Иммуногистохимические методы при моделировании тяжелой черепно-мозговой травмы у крыс

№	Антитела	Общая характеристика	Тип антитела	Разведение (страна происхождения)
1	NSE (нейрон-специфическая енолаза)	специфичный белок нейронов	кроличьи поликлональные	1:100 (США)
2	GFAP (глиальный фибриллярный кислый белок)	специфичный белок Ас	мышиные моноклональные	1-2 µg/mL (США)
3	IBA1	специфичный белок МГЦ	кроличьи поликлональные	1:100 (США)
4	p38 (синаптофизин)	специфичный белок синаптических терминалей	мышиные моноклональные	1

Таким образом, исследование проводилось с использованием оптической микроскопии для получения изображений образцов головного мозга, а затем анализировалось программой ImageJ для оценки морфометрических параметров. Полученные данные позволили оценить структурные особенности отдельных

участков головного мозга и сделать выводы о состоянии структурных компонентов нервной ткани.

2.3.3. Наливка микрососудистого русла головного мозга тушью

Для оценки степени наполнения и подсчета численной плотности сосудистой сети использовали способ наливки кровеносных сосудов головного мозга горячей застывающей массой 10% желатина с черной тушью (J.L. Corbin, 1961) [Горчаков В.Н., 1997]. Пищевой желатин разбавляли дистиллированной водой в соотношении 1:10 и нагревали на электрической плитке до полного его растворения. В раствор черной гистологической туши HISTOSAFE® добавляли 10% желатин и размешивали, подогревая раствор до физиологической нормы температуры тела животного. После перфузии и обескровливания через восходящую аорту медленно вводили приготовленный раствор туши с желатином.

Наполняемость сосудов тушью оценивали по степени окрашивания в черный цвет глаз и ушей, а также слизистых оболочек полости носа и рта. Через 1,5–2 ч коагуляции желатина проводилась декапитация животных, мозг помещали сначала в 4% раствор параформальдегида на фосфатном буфере (рН 7,2–7,4), а затем через сутки материал заключали с помощью автомата «STP 120» путем парафина фирмы HISTOMIX.

Гистологические препараты толщиной 125 мкм готовили с помощью автоматизированного микротома HM 450 (Thermo) на уровне СМК [Paxinos G. et al., 2005]. Микрофотографии получали при изучении препаратов под микроскопом Leica DM 1000, изображение сохраняли в файлах с расширением tiff (2592×1944 пикселей), затем в Photoshop CC размерность увеличивали (до 3780×2835 пикселей/см, разрешение 600 пикселей/дюйм).

Оценку общей плотности проходимости сосудов в контроле, на 1 и 3 сутки исследования осуществляли при помощи программы Image 1.53. Область интереса соответствовала 25-30 случайно отобранным полям зрения СМК головного мозга крыс с двух сторон. Полученные результаты анализировались с учетом проверки статистических гипотез в программе Statistica 10.0.

2.3.4. Анализ изображений

Препараты приготовлены в соответствии с инструкциями фирмы производителя реагентов, фотографировали на микроскопе Leica DM 1000 (камера GXCAM-DM800 Unique Wrap-Around 8MP AUTOFOCUS USB, pixel size $1.4 \times 1.4 \mu\text{m}$), изображение сохраняли в файлах с расширением tiff (2592×1944 пикселей), затем в Photoshop CC размерность увеличивали (до 3780×2835 пикселей/см, разрешение 600 пикселей/дюйм). Для проведения фрактального анализа полученных изображений был использован плагин FracLac 2.5 (Box Counting Sampling Methods).

Для оценки сети астроцитов использовался фрактальный анализ. В ходе исследования рассчитывали фрактальную размерность (ΦP – мера пространственного заполнения фрактальными структурами) и лакунарность (Λ – мера неоднородности пространственного заполнения фрактальными структурами). Это позволило дать дополнительную количественную характеристику астроцитов, включая оценку формы и распределения отростков в пространстве в дополнение к оценке их площади. В слоях III и V сенсомоторной коры и зонах CA₁ и CA₃ гиппокампа определяли относительную площадь GFAP-позитивного материала в поле зрения (по 25 полей зрения на каждый срок), фрактальную размерность (ΦP – показатель заполнения пространства фрактальной структурой) и лакунарность (Λ – мера неоднородности заполнения пространства фрактальной структурой) для астроцитов. В используемом алгоритме ImageJ 1.53 фрактальная размерность вычислялась по формуле:

$$D = \lim_{\varepsilon \rightarrow \infty} \frac{\ln N_\varepsilon}{\ln \varepsilon}$$

где ε – размер ячейки сетки;

N_ε – количество ячеек размера ε , содержащих пиксели изображения астроцита.

Лакунарность вычислялась по формуле:

$$\Lambda = (\sigma/\mu)2,$$

где σ – стандартное отклонение массы (для бинарного изображения – количество пикселей) фрактальной структуры в ячейках сетки заданного размера ϵ ; μ – среднее значение массы структуры в ячейках заданного размера ϵ .

Мера лакунарности (Λ) в используемой программе (FracLac 2.5) – изменение интенсивности изображения GFAP-положительного астроцитарного материала при сканировании на сетке с различными размерами ячеек. Более высокая лакунарность означает, что рассеивается больше областей, не содержащих GFAP.

Анализ численной плотности синаптических терминалей проводили с помощью инструментов программы ImageJ 1.53 (<https://imagej.nih.gov/ij/docs/menus/process>). Так как CA₁ и CA₃ имеют существенное различие цито- и синаптоархитектоники сравнивали только терминали синапсов в stratum lacunosum молекулярного слоя, имеющих сходное строение нейропиля. Stratum lucidum CA₃, где локализуются гигантские синапсы, в настоящем исследовании не рассматривали. В ходе морфометрии использовали фильтры "Enhance Contrast", "Subtract Background", "Find Maxima" и плагин FindFoci для распознавания пиков яркости на негативных изображениях. Генератор случайных чисел использовался для выбора 15 ROI из 100 зон интереса. Идентификация синаптических терминалей (p38-позитивных меток) проводилась в Threshold путем ручного управления (Over/Under) на пороговых 8-битных изображениях, затем обработанные изображения считывали с помощью машинного обучения, алгоритм которого интегрирован с плагином FindFoci для ImageJ 1.53. Использование плагинов FindFoci Optimiser и FindFoci Batch, позволило сократить время обработки и скорость оценки параметра определения p38-позитивных терминалей на инвертированных цифровых изображениях, обеспечив прозрачность полученных результатов исследования в режиме реального времени. Автоматизированная обработка изображений с помощью FindFoci позволила интерактивно исследовать пространство параметра в интерактивном режиме, стандартизировав процесс установки уровня фона, метода

поиска, критериев слияния и отображения данных. Полученные результаты (List) экспортировали в Excel для дальнейшей обработки.

2.3.5. Методы статистического анализа

Статистическую обработку полученного материала осуществляли с помощью прикладных программ StatSoft Statistica 10.0 и MedCalc 11.6.1.0. Проверка гипотез проводилась с использованием непараметрических критериев (Kruskal-Wallis (KW) ANOVA, Spearman's correlation analysis, Mann-Whitney U-test, Wilcoxon signed-rank test, Kolmogorov-Smirnov test). Задача сравнения трех или более независимых групп по одним и тем же критериям была решена с использованием ANOVA Краскеля-Уоллиса. Корреляционный анализ Спирмена позволил проанализировать взаимосвязь между двумя признаками, и сравнение между двумя независимыми и зависимыми группами по одному и тому же признаку проводилось с использованием U-критерия Манна-Уитни и критерия Вилкоксона. Количественные показатели в анализе выражались как медиана (Me, Q_2), интерквартильный размах (Q_1 -нижний quartиль, Q_3 -верхний quartиль), размах без выбросов (Min-Max) и процент долей (%). В ходе проведения статистического анализа нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$.

Согласно литературным данным для получения достоверных результатов нейроморфологических исследований необходимо 6-8 животных в группе, 5-6 последовательных срезов и 5-10 случайных полей зрения [Коптяева К.Е. и др., 2018, Bolon B. et al., 2006]. Для проверки статистического анализа обработали 25-30 рандомизированных полей зрения СМК и гиппокампа на каждом срезе, что подтверждает достоверность оцениваемых статистических параметров.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Определение психоневрологического статуса

Общий статус животных после травматизации проводился с учетом принципов изучения физиологии и патофизиологии мозга при помощи балльной оценки общего состояния крыс в условиях общей анестезии и в посттравматическом периоде [Корпачев В.Г., Лысенков С.П., Тель Л.З., 1982]. Изменение общего состояния животных прослеживалось в течении всего периода исследования, но наиболее острая фаза отмечалась на первые седьмые сутки после ТЧМТ. У погибших крыс в течение первых трех суток после травмы ($n = 27$) ПОС составил 90 [82–98], у выживших ($n = 36$) – 63 [54–72] [Шоронова А.Ю. и др., 2023]. При этом на 14 и 30 сут после ТЧМТ происходило дальнейшее снижение ПОС, не достигнув уровня контрольных значений показано на рис.4, что свидетельствует о длительном восстановлении общего состояния организма в ответ на травматизацию тяжелой степени.

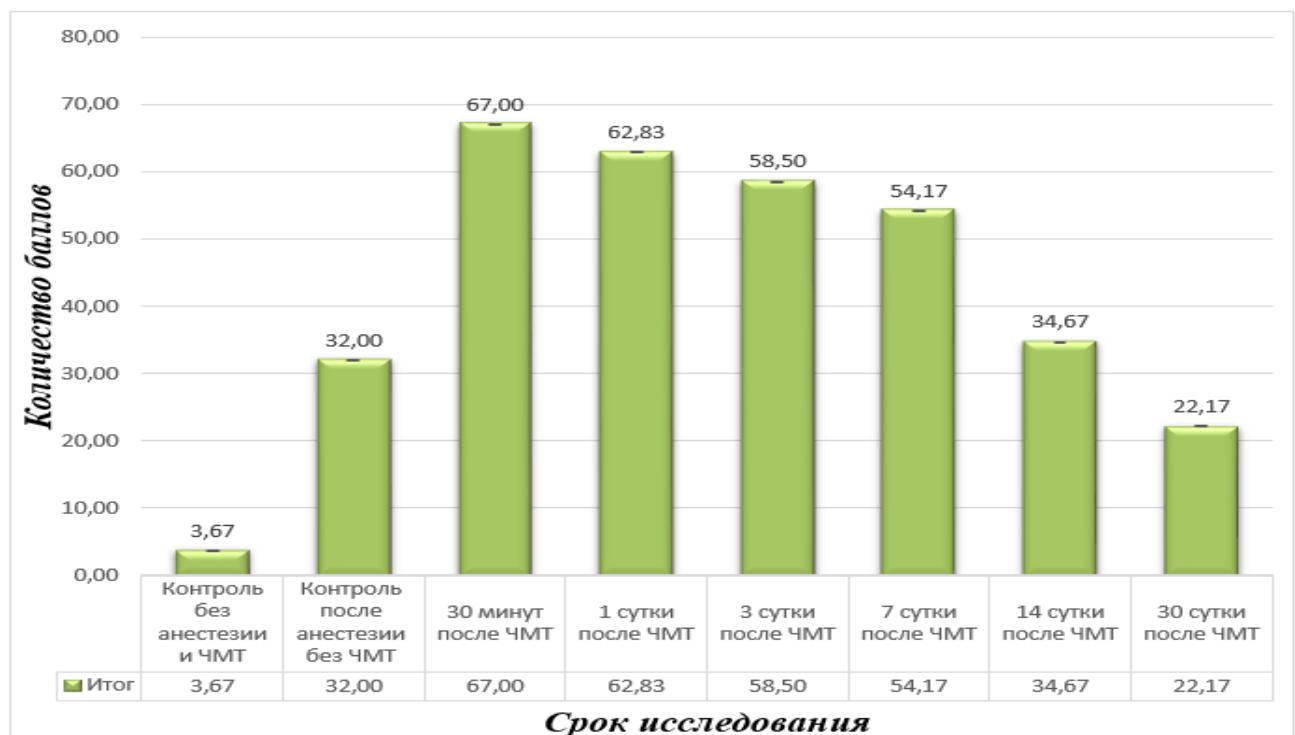


Рис. 4. Балльная оценка показателя общего состояния крыс в условиях общей анестезии и в посттравматическом периоде.

После нанесения однократного удара у животных, как правило, отмечалось нарушение ритма дыхания, обильные и кратковременные носовые кровотечения, экзофтальм, снижение двигательной активности и углубления угнетения сознания, имевшего место быть до травмы за счет общей анестезии [Патент РФ 2788904С1., 2021]. Высокая степень летальности и данные клинических проявлений ЧМТ, представленные в таблице 4, свидетельствуют о тяжелой степени повреждения головного мозга в отличие от группы животных контроля, в которой данные признаки не наблюдались.

Таблица 4. Признаки ЧМТ у экспериментальных животных (n=63)

Клинические проявления	Частота встречаемости признака у животных (%)
Снижение двигательной активности и угнетение сознания после окончания анестезии	73,1%
Нарушение ритма дыхания	55,4%
Носовые кровотечения	49,1%
Непроизвольные мочеиспускания и дефекации	9,5%
Летальный исход	47,3%

Изучение ориентировочно-исследовательской активности и общего эмоционального состояния крыс проводилось с использованием психометрической шкалы McGraw, адаптированной И.В. Ганнушкиной в 1996 году. Баллы, полученные в результате тестирования, интерпретируются согласно разработанным автором метода психометрическим шкалам, которые позволяют оценить тяжесть и характер нарушений у пациента. Если у животного наблюдалось несколько различных признаков неврологического дефицита, баллы суммировались. Таблица 5 содержит данные об оценке неврологического дефицита по следующим показателям: замедленность движений, трепет, птозы, полуптозы,

манежные движения, парезы и параличи конечностей. Исследование показало, что животные тяжело переносили полученную травму и это характеризовалось проявлением коматозного состояния с признаками анизокирии, гипоалгизии, аритмий дыхания и брадикинезии. Суммарное количество баллов (10,5), полученное в ходе оценки психометрической шкалы McGraw, соответствует выраженному тяжелому уровню нарушений неврологического статуса типичному при моделировании ТЧМТ [Шоронова А.Ю. и др., 2023].

Таблица 5. Оценка неврологического дефицита по психометрической шкале McGraw в модификации И.В. Ганнушкиной*

Параметр	Количество баллов
Вялость, замедленность движений – 0,5 балла	0,5
Тремор – 1 балл	0
Односторонний полуптоз – 1 балл	0
Двухсторонний полуптоз – 1,5 балла	0
Односторонний птоз – 1,5 балла	0
Двухсторонний птоз – 1,5 балла	0
Манежные движения – 2 балл	0
Парез 1 – 4 конечности – от 2 до 5 баллов	3,0
Паралич 1 – 4 конечности – от 3 до 6 баллов	0
Коматозное состояние – 7 баллов	7,0
Летальный исход – 10 баллов	0
<i>Примечание: балловый показатель при легкой степени нарушений 0,5 – 2,0 балла; при средней степени нарушений 2,5 – 5,0 балла; при тяжелой степени нарушений 5,5 – 10,0 балла.</i>	

Для оценки повреждений мозга использовались известные неврологические тесты: Bracing test (тест установки позы), Placing test (тест с постановкой лапки), Open field test (тест открытое поле), позволяющие оценить состояние координации

движений, равновесия, чувствительности и общего поведения животного после травмы. Тест установки позы проверяет способность животного удерживать определенную позу, тест с постановкой лапы оценивает реакцию животного на растяжение лапы, а тест открытое поле проверяет степень тревожности и активности животного в новой среде. Данные тесты ориентировочно-исследовательской активности проводили у групп контроля и опытной группы без моделирования ТЧМТ на 1 сутки, а затем на 3 и 7-е сутки после ТЧМТ, выбранные сроки исследования позволяют оценить динамику острой фазы посттравматического периода.

В *Bracing test* крыс мягко перемещали вбок в двух противоположных направлениях на дистанцию 90 см со скоростью 20 см/с по ровной поверхности стола с определением общего количества совершенных шагов и поворотов со стороны толчка, учитывая до 10 попыток каждого животного, что помогло определить общий уровень физической формы и силы крысы, ее способность к координации движений и управлению своим телом [Худякова Н.А. и др., 2012].

При проведении *Placing test* определяли количество вытягиваний передних лапок к краю стола, параллельно тела, удерживая крысу, чтобы ее конечности свисали без опоры, регистрировалось до 10 попыток животного, что помогло дать оценку моторики и координации движений у животных, а также их стремления к достижению поставленной цели [Hua Y. et al., 2002]. Результаты показали, что большинство крыс контрольной группы вытягивали передние лапки за край стола, прежде чем переставали пытаться достать что-то за пределами стола, показывая настойчивость в достижении своей цели, в отличии от опытных групп на 3 и 7 сут после ТЧМТ [Шоронова А.Ю. и др., 2023].

Для *Open field test* использовали круглую пластиковую арену, разбитую на сектора и имеющую 13 отверстиями шириной 2 см. Животное помещали в центр арены, его поведение исследовали в течение 3 минут, оценивая такие показатели, как время, проведенное в центральном секторе, количество пересекающихся секторов, количество заглядываний и постановок [Sestakova N. et al., 2013]. При проведении этого теста крысам предоставлялась возможность свободно

исследовать поле и проявить свои естественные поведенческие реакции, такие как исследование новой среды, поиск пищи и т.д.

Таблица 6. Результаты психоневрологических тестов у контрольной и опытных групп исследования до и после ТЧМТ

Показатели оценивания	До ТЧМТ		После ТЧМ	
	Контроль	Опытная группа	3 сут	7 сут
<i>Open field test</i>				
Время в центре арены, с	$2,5 \pm 0,14$	$2,4 \pm 0,33$	$6,1 \pm 0,48^*$	$5,8 \pm 0,9$
Число пересеченных секторов	$13,3 \pm 2,16$	$14,2 \pm 3,97$	$3,3 \pm 1,03^*$	$5,5 \pm 1,87^*$
Кол-во стоек	$6,5 \pm 1,05$	$5,2 \pm 1,47$	$0,5 \pm 0,55^*$	$1,2 \pm 0,75^*$
Кол-во заглядываний	$4,2 \pm 1,6$	$4,7 \pm 0,82$	$0,3 \pm 0,52^*$	$0,8 \pm 0,75^*$
<i>Bracing test</i>				
Кол-во шагов	$18,2 \pm 1,47$	$17,3 \pm 1,03$	$5,3 \pm 1,51^*$	$6,7 \pm 0,82^*$
Кол-во поворотов	$21,5 \pm 0,84$	$20,2 \pm 1,72$	$4,3 \pm 1,21^*$	$5,7 \pm 1,63^*$
<i>Placing test</i>				
Кол-во поднимания передних лапок	$13,3 \pm 1,63$	$12,7 \pm 1,37$	$3,7 \pm 1,51^*$	$3,2 \pm 0,75^*$
<i>Примечание: M – среднее значение, m – стандартное отклонение, * – различия в сравнении с контролем статистически значимы при $p < 0,05$.</i>				

Результаты исследования зоосоциальных поведенческих реакций крыс, отраженные в таблице 6, показывают, что до получения травмы у крыс из

контрольной и опытных групп не было существенных различий в регуляции двигательной активности, равновесия и чувствительности крыс контрольной и экспериментальной групп до травмы. Однако на 3 и 7 сут после получения травмы данные существенно отличались в пользу ухудшения данных показателей в опытных группах по сравнению с контрольной. Это позволяет сделать вывод о влиянии травмы на ориентировочно-исследовательскую активность у животных, что вероятно связано с нарушениями работы центральной нервной системы, и о необходимости дальнейшего изучения данного вопроса.

3.2. Морфологическое исследование цитоархитектоники неокортекса и гиппокампа в норме и после моделирования тяжелой ЧМТ

Изучение нейроглиального состава неокортекса и гиппокампа головного мозга в посттравматическом периоде обеспечивалось применением светооптического микроскопирования препаратов головного мозга, окрашенных гематоксилином – эозином и тионином по методу Ниссля. Поля исследования: СМК (слой III и V) и гиппокамп (поля CA₁, CA₃).

У контрольной группы исследования на гистологических срезах неокортекса белых крыс отмечена типичная, характерная для шестислойных экранных образований млекопитающих гисто- и цитоархитектоника: в поле зрения микроскопа в слоях III и V СМК наблюдали пирамидные нейроны в виде малых, средних и крупных пирамид, а в слоях II и IV СМК – клетки зерновидной и звездчатой формы (рис.5А).

При большом увеличении микроскопа (объектив $\times 100$) при окрашивании гематоксилином-эозином в слоях III и V СМК наблюдали нормохромные нейроны с равномерно распределенными глыбками хроматина в виде опоясывающего капюшона вокруг светлого ядра с одиночным правильно сформированным темным ядрышком, занимающим большую часть пространства в перикарионе (рис.5Б). Нейропиль неокортекса характеризовался однородным послойным расположением клеток без признаков гидропической и белковой дистрофии в виде деформации ядра, тигролиза нисслевского вещества, эктопии ядрышка, гиперхромии и

гомогенизации цитоплазмы, кариоцитолизиса, очаговым и субтотальным хроматолизом.

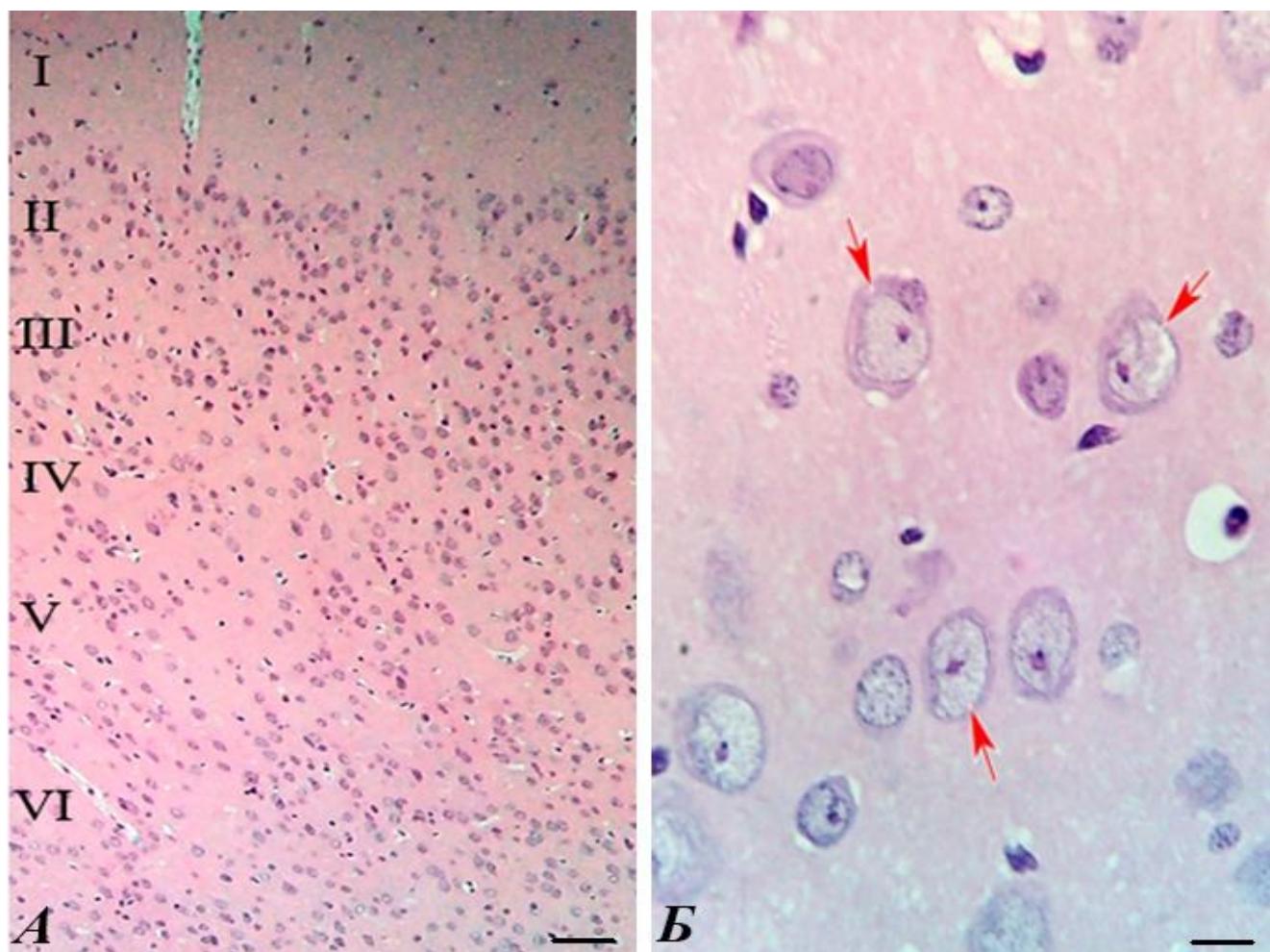


Рис.5. Цитоархитектоника СМК крысы в контроле (А) и фрагмент среза (Б) СМК крысы: I – молекулярный слой, II – наружный зернистый слой, III – наружный слой пирамидальных нейронов, IV – внутренний зернистый слой, V – внутренний слой пирамидальных нейронов, VI – полиморфный слой, нормохромные нейроны со светлым ядром и темным ядрышком округлой формы – красная стрелка. Окраска гематоксилином-эозином. Объектив: $\times 4$ (А), $\times 100$ (Б), шкала – 50 мкм.

На препаратах СМК, окрашенных гематоксилином-эозином, на всем протяжении ТЧМТ (1-30 сут) деструктивным изменениям подвергались все структурные компоненты нервной ткани и микрососудистого русла. Появлялись нейроны с де- (гиперхроматоз) и гипергидратационными (гипохромные, клетки-

тени) изменениями перикариона, набуханием, деформацией и смещением ядра, вакуолизацией, кариорексисом и кариолизисом (рис. 6, 7). Встречались нейроны в процессе фагоцитоза и апоптоза [Shoronova A.Yu. et al, 2022].

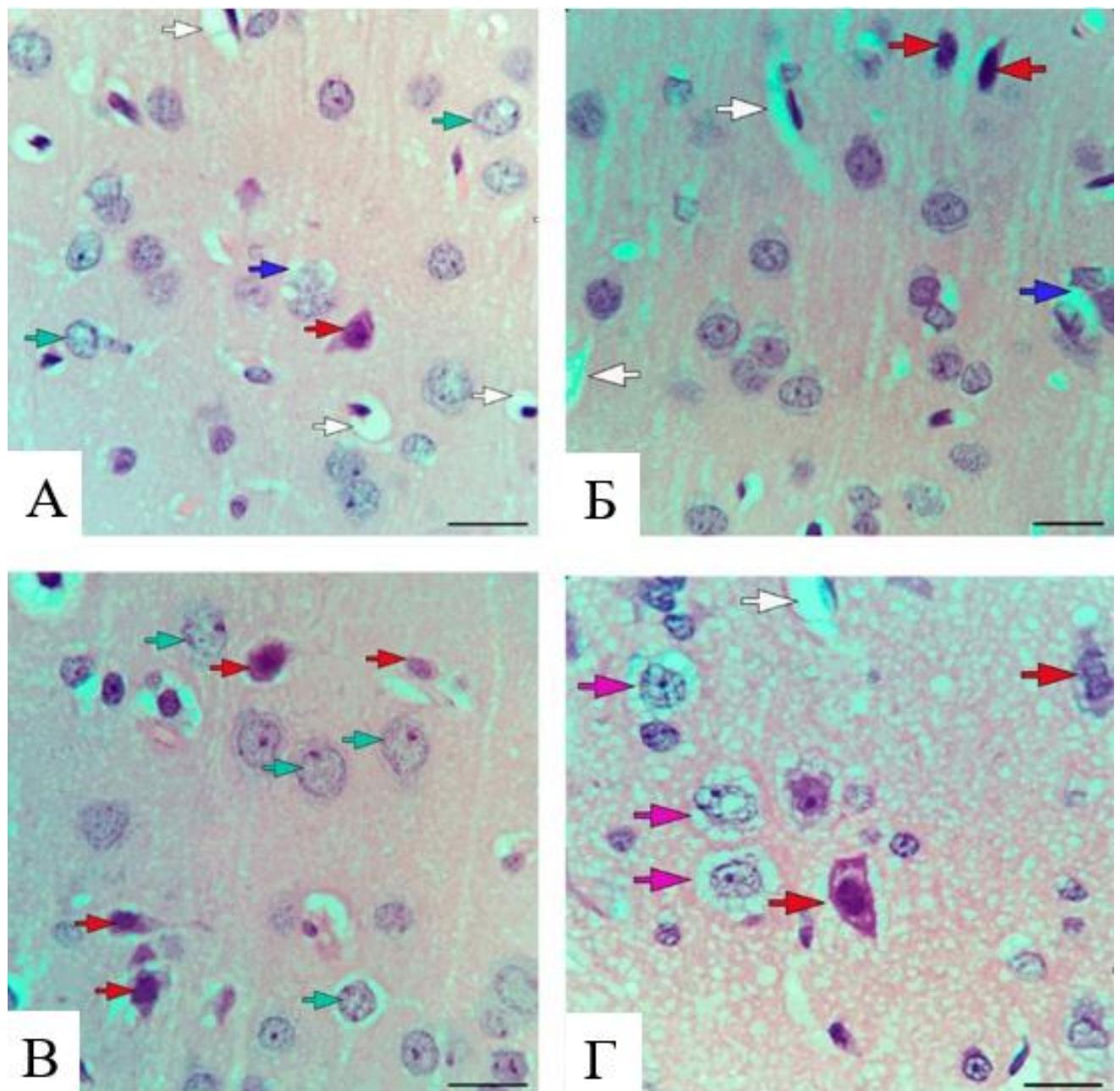


Рис.6. Фрагменты слоя III СМК после ТЧМТ - 1 сут (A), 3 сут (Б), 7 сут (В), 30 сут (Г): гиперхромные сморщеные нейроны с признаками коагуляционно-ишемического некроза – красные стрелки, перинуклеарный отек тела нейронов – синие стрелки, гипер- и гипохромные нейроны с выпадением ядрышка и эктопией – голубые стрелки, очаговая васкуляризация тел необратимо тяжелых нейронов –

розовые стрелки, периваскулярный отек нейропиля – белые стрелки. Окраска гематоксилин-эозином. Объектив: $\times 100$, шкала – 20 мкм.

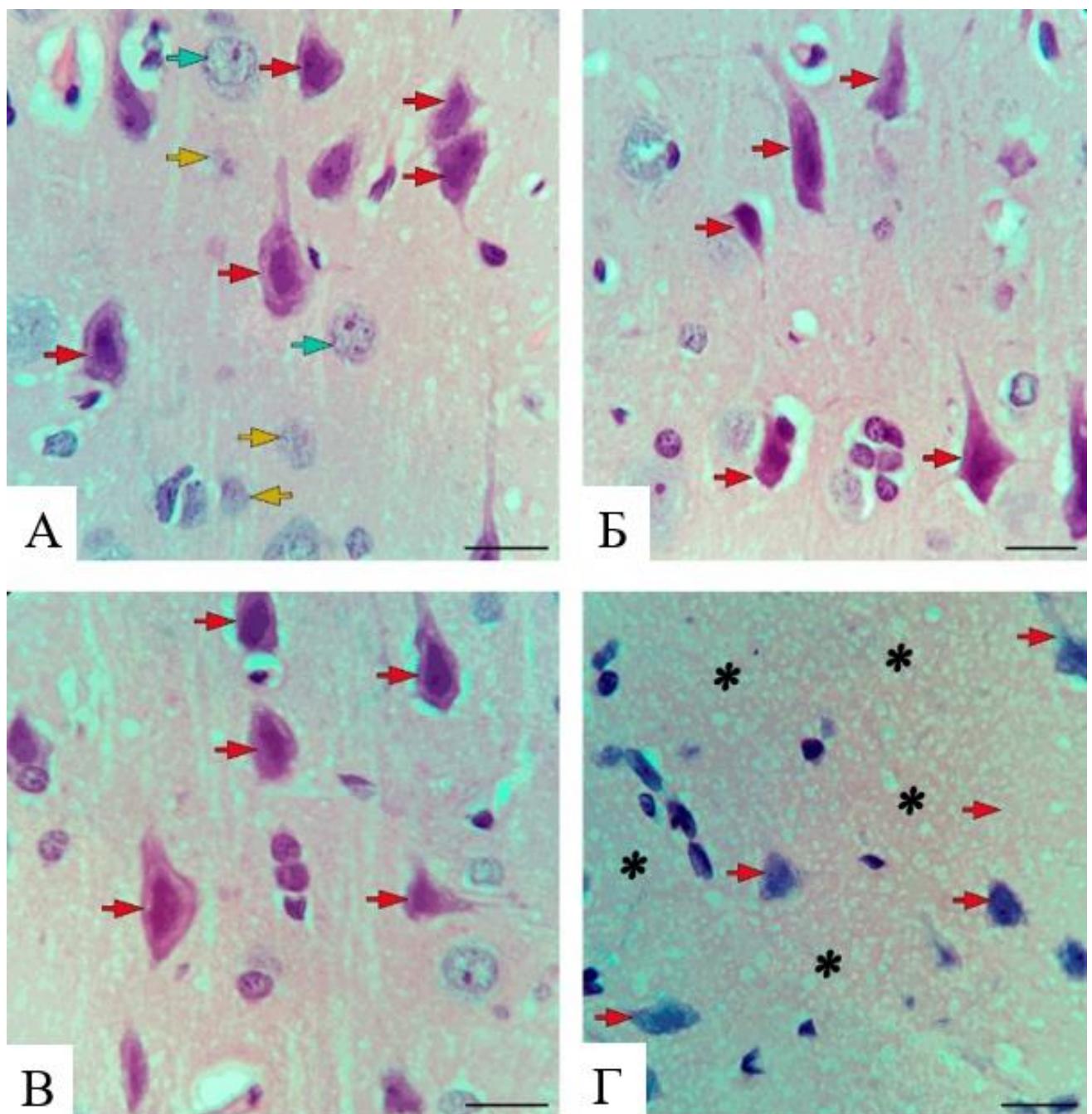


Рис.7. Фрагменты слоя V СМК после ТЧМТ - 1 сут (А), 3 сут (Б), 7 сут (В), 30 сут (Г): гиперхромные сморщеные нейроны с признаками коагуляционно-ишемического некроза – красные стрелки, гипер- и гипохромные нейроны с выпадением ядрышка и эктопией – голубые стрелки, клетки-тени – желтые стрелки, очаги выпадения нейронов на фоне отечного нейропиля – *. Окраска гематоксилин-эозином. Объектив: $\times 100$, шкала – 20 мкм.

Уже на 1 сут в слое III СМК после тяжелой ЧМТ отмечались в поле зрения нормохромные нейроны с эктопией ядрышка и просветлением цитоплазмы, клетки-тени (рис.8А), а в слое V начинали появляться признаки гидропической дистрофии нейронов с перинуклеарным и перицеллюрным отеком (рис.8Б).

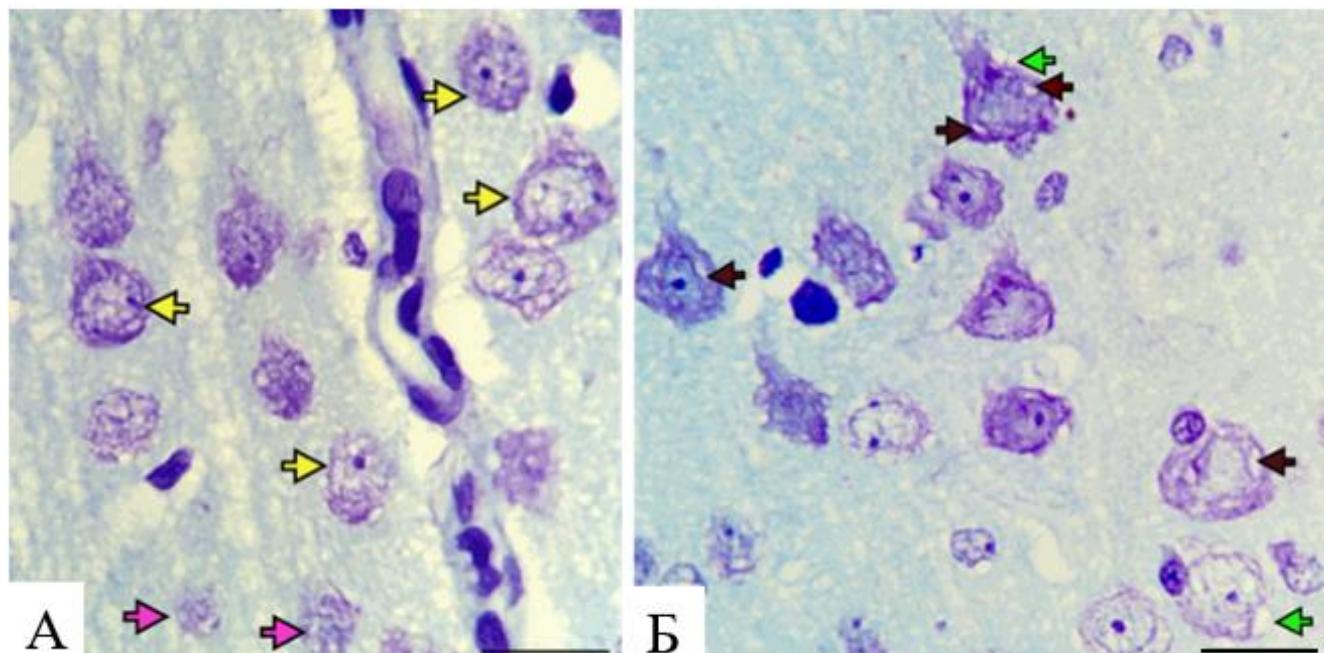


Рис.8. Фрагменты слоев III (А) и V (Б) СМК через 1 сут после ТЧМТ: желтые стрелки – нормохромные нейроны с просветлением цитоплазмы и эктопией ядрышка, розовые стрелки – клетки тени, коричневые стрелки – перинуклеарный отек, зеленые стрелки – перицеллюрный отек. Окраска по Нисслю. Объектив: $\times 100$; шкала – 20 мкм.

На 3–7 сут в слое III и V СМК регистрировалось набухание тел нейронов и их отростков (рис.9А), отмечались гипо- и гиперхромные нейроны с сохраненным ядрышком и эктопией, гомогенизированные необратимые пикноморфные нейроны, а также отмечались признаки периваскулярного отека нейропиля (рис.9Б).

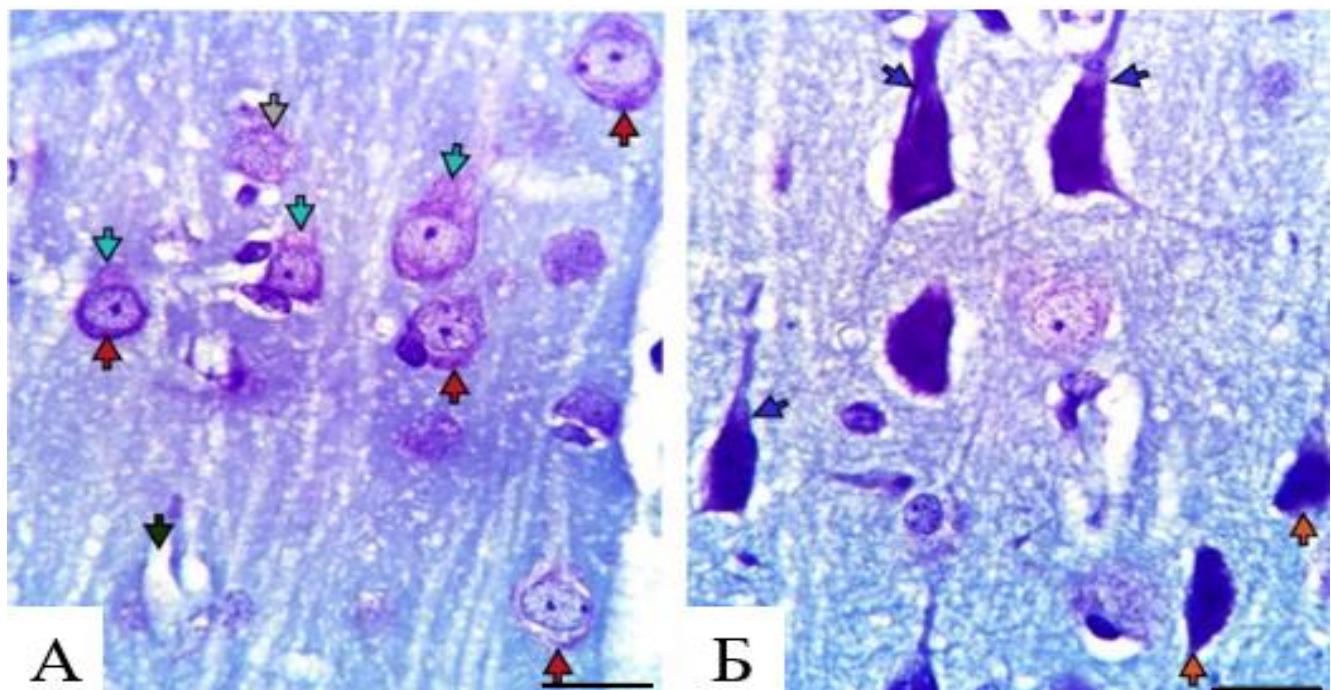


Рис.9. Фрагменты слоев III (А) и V (Б) СМК через 7 сут после ТЧМТ: красные стрелки – набухание тел нейронов, голубые стрелки – набухание апикальных дендритов нейронов, серая стрелка – гомогенезированный гипохромный нейрон с эктопией ядрышка, зеленая стрелка – периваскулярный отек нейропиля, синие стрелки – гиперхромные нейроны с сохраненным ядрышком и дендритными отростками, оранжевые стрелки – гомогенизированные пикноморфные нейроны. Окраска по Нисслю. Объектив: $\times 100$; шкала – 20 мкм.

В посттравматическом периоде на 14 сут в СМК отмечались характерные признаки тяжелой гидропической дистрофии с перинуклеарным и periцеллюрным отеком (рис.10А) и большое содержание необратимых поврежденных нейронов с очагами выпадения нейронов в результате фагоцитоза их микроглиоцитами (рис.10Б).

На 30 сут в посттравматическом периоде в СМК сохранялись гипо- и гиперхромные сморщеные нейроны с крупноячеистой вакуолизацией цитоплазмы, отечным нейропилем и обильным содержанием микроглиоцитов (рис.11).

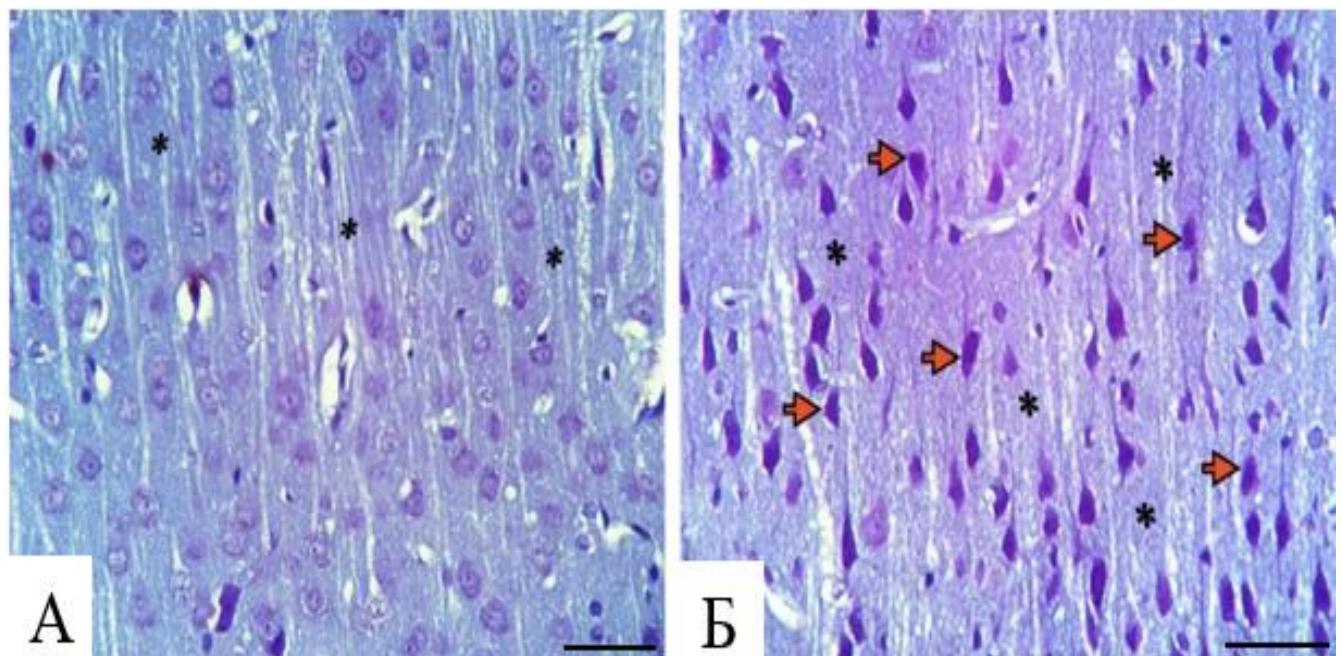


Рис. 10. Фрагменты слоев III (А) и V (Б) СМК через 14 сут после ЧМТ: * – очаги выпадения нейронов, оранжевые стрелки – необратимые поврежденные нейроны. Окраска по Нисслю. Объектив: $\times 40$; шкала – 50 мкм.

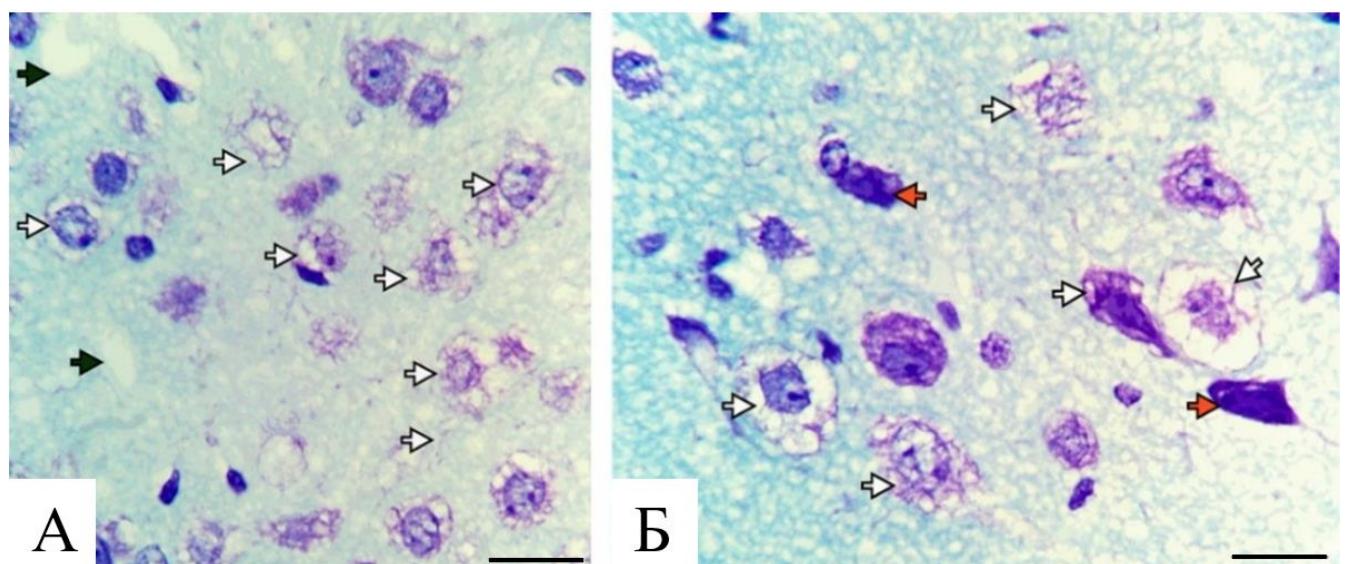


Рис. 11. В слое III СМК (А) и слое V СМК (Б) через 30 сут после ТЧМТ: белые стрелки – крупноячеистая вакуолизация краевых отделов цитоплазмы, оранжевые стрелки – необратимые поврежденные нейроны. Окраска по Нисслю. Объектив: $\times 100$; шкала – 20 мкм.

В посттравматическом периоде на протяжении всех сроков исследования в СМК большинство нейронов характеризовалось гидропической дистрофией, как в нейропиле, так и вокруг самого нейрона и его ядра, отмечались тяжелые многообразные формы поврежденных нейронов, проявляющиеся в виде деформации ядра, эктопии ядрышка, пикнозом ядра, хроматолизом. Это свидетельствует о протекании тинкториальных, гидропических, дегидратационных и некробиотических процессах в СМК.

После ТЧМТ все структурные компоненты СМК и гиппокампа – микрососуды, нейроны и нейропиль, глиальные клетки – подвергались реактивным и деструктивным изменениям. Для нейронов и нейропиля были характерны – де- (гиперхроматоз) и гипергидратационные (гипохромные, клетки-тени, проявления отека-набухания) изменения перикариона и отростков нейронов, со смещением или эктопией деформированного набухшего ядра, вакуолизацией цитоплазмы и нейропиля, кариорексисом и кариолизисом. С позиции классической патоморфологии, это указывало на трансформацию тинкториальных свойств нуклеопротеиновых комплексов, нарушение водно-ионного баланса и активацию некробиотических процессов, характерных для типичных ишемических состояний. По литературным данным, после ТЧМТ типовым доминирующим маркером областей субкритического дефицита кровотока в изученных отделах головного мозга является появление разнообразных «темных нейронов», характеризующихся стадийностью формирования, длительностью сохранения и активацией микроглиоцитов. Через сутки после ТЧМТ в нейронах, как правило, наблюдалось равномерное сжатие цито- и нуклеоплазмы клетки с расширением эндоплазматического ретикулума и усилением изгиба дендритного контура, но без признаков сморщивания и активного хроматолиза. Это так называемые гиперхромные (темные) несморщеные нейроны [Шоронова А.Ю. и др., 2023].

На 1 и 3 сут после ТЧМТ численная плотность ГНН статистически значимо увеличивалась в изучаемых отделах головного мозга. В результате в полях СА₁ и СА₃ гиппокампа содержание темных нейронов через 1 сут увеличивалось до 8,7 и 10,3% (от показателя ОЧПН на 1 мм²) соответственно, а в слоях III и V СМК

максимальное содержания этих нейронов отметили через 3 сут после ТЧМТ (20,8 и 34,2%) [Шоронова А.Ю. и др., 2023]. В более отдаленном периоде (через 14 и 30 сут) относительное содержание ГНН в СМК и гиппокампе уменьшалось: в слое III – до 11%, в слое V СМК – до 28,5%, СА₁ – до 7,6% и СА₃ – 7,7% (табл.7) .

Таблица 7. Относительное содержание гиперхромных сморщеных и несморщенных пирамидных нейронов в СА₁ и СА₃ гиппокампа в норме и после тяжелой черепно-мозговой травмы, Q_2 (Q_1 - Q_3) и Min-Max

Группы	Переменные, %			
	ГСН	ГНН	ГСН	ГНН
	СА ₁		СА ₃	
Контроль	3,7 (3,3-4,0)	0,7 (0,5-0,8)	1,0 (1,1-1,9)	0,9 (0,7-1,2)
1 сут	6,5 (5,2-8,7)	8,7 (6,5-10,7)	10,6 (8,3-14,5) p<0,001 [^]	10,3 (8,2-13,0)
3 сут	10,2 (9,3-11,0) p<0,0001*	6,8 (6,0-8,0)	11,4 (10,3-13,1)	9,2 (6,5-10,7) p=0,002 [^]
7 сут	14,8 (12,0-17,6) p<0,0001*	5,6 (3,9-6,9) p=0,004*	15,3 (13,3-17,2) p=0,0001*	7,4 (5,5-10,3)
14 сут	8,9 (6,3-11,5) p<0,0001*	9,6 (7,6-10,7) p<0,0001*	11,0 (9,3-15,9) p=0,01* p=0,01 [^]	7,1 (5,6-9,1) p=0,038 [^]
30 сут	8,4 (6,3-10,1)	7,6 (5,3-9,6) p<0,038*	11,3 (6,5-14,5) p=0,01 [^]	7,7 (4,3-10,4)
ANOVA	H (df=4) =71,9	H (df=4) =31,7	H (df=4) =20,8	H (df=4) =11,3
K-W test:	p <0,0001	p <0,0001	p <0,0001	p =0,02
<i>Примечание: * – различия в сравнении с контролем и предыдущим сроком (Mann-Whitney U test), между всеми сроками по полю (ANOVA Kruskal-Wallis), ^ – между полями СА₁ и СА₃ (Wilcoxon test) статистически значимы при p≤0,01.</i>				

При этом показатель ГНН в СМК и гиппокампе на всем протяжении исследования (1–30 сут) не восстанавливался до уровня контрольных значений.

Следующее поколение темных нейронов характеризовалось атрофией и утолщением нуклеоплазмы с признаками очаговой фрагментации и частичным растворением телец Нисслевского вещества, это так называемые гиперхромные сморщеные (пикноморфные) нейроны (ГСН). Повышенное количество содержания ГСН происходило в СМК уже на 1 сут, тогда как в гиппокампе пик их увеличения отмечался лишь через 7 сут после ТЧМТ. Содержание ЧПГСН в слое III доходило до 18,2% (от показателя ОЧПН на 1 мм^2), в слое V СМК – 15,1%, в поле CA₁ – 14,8%, CA₃ – 15,3% (табл.7).

Через 30 сут наблюдения (по сравнению с предыдущими сроками) зафиксировали статистически значимое уменьшение ЧПГСН в изученных отделах головного мозга, доказать восстановление показателя до уровня контрольных значений не удалось.

После ТЧМТ отмечали еще одну разновидность темных нейронов – гомогенизированные нейроны с выраженной деструкцией содержимого ядра, окруженные микроглиоцитами. Подобные пространственные композиции, по данным литературы, вероятно, отражают одну из стадий процесса элиминации поврежденных нейронов путем фагоцитоза (феномен «саногенеза» нервной ткани).

Результаты показали, что в конце исследования общая плотность распределения пирамидных нейронов в слое III СМК, слое V СМК, CA₁ и CA₃ гиппокампа снизилась на 31,5%, 17,8%, 41,2% и 42,8%, что достоверно отличалось между собой (Kraskel-Wallis test: H=65,5, p=0,001) [Шоронова А.Ю. и др., 2023].

Таким образом, после ТЧМТ нами выявлены все основные доказанные типы патологически измененных нейронов, присущих острым и хроническим ишемическим состояниям. Следует учитывать, что дегенеративно измененные темные нейроны следует рассматривать, как проявление долговременной адаптации нервных клеток и «борьбы за выживание» в условиях посттравматического дефицита энергетического и пластического метаболизма. В процессе этой адаптации происходит закономерная неизбежная перестройка

нейронных сетей головного мозга, но в патологических условиях. Поэтому исход этой реорганизации зависит от множества факторов и может быть, как благоприятным, так и неблагоприятным [Шоронова А.Ю. и др., 2023].

Гиппокамп представляет собой сложную систему трехслойно расположенных нейронов: молекулярный слой, слой пирамидных нейронов, полиморфный слой. При этом апикальное тело дендрита располагается в радиальном слое, а апикальные передняя и терминальная ветви дендрита – в лакунозном слое молекулярного слоя. Прозрачный слой был замечен в области апикальных дендритов пирамидальных клеток в области CA₃. В зоне CA₁ – мелкие пирамидальные нейроны расположены плотно в два ряда, в CA₃ – крупные и рыхлые, а в зубчатой извилине очень плотно – апикальные дендриты пирамидальных нейронов CA₁ наблюдались в виде единого ствола, удаленного от клетки (рис.12).

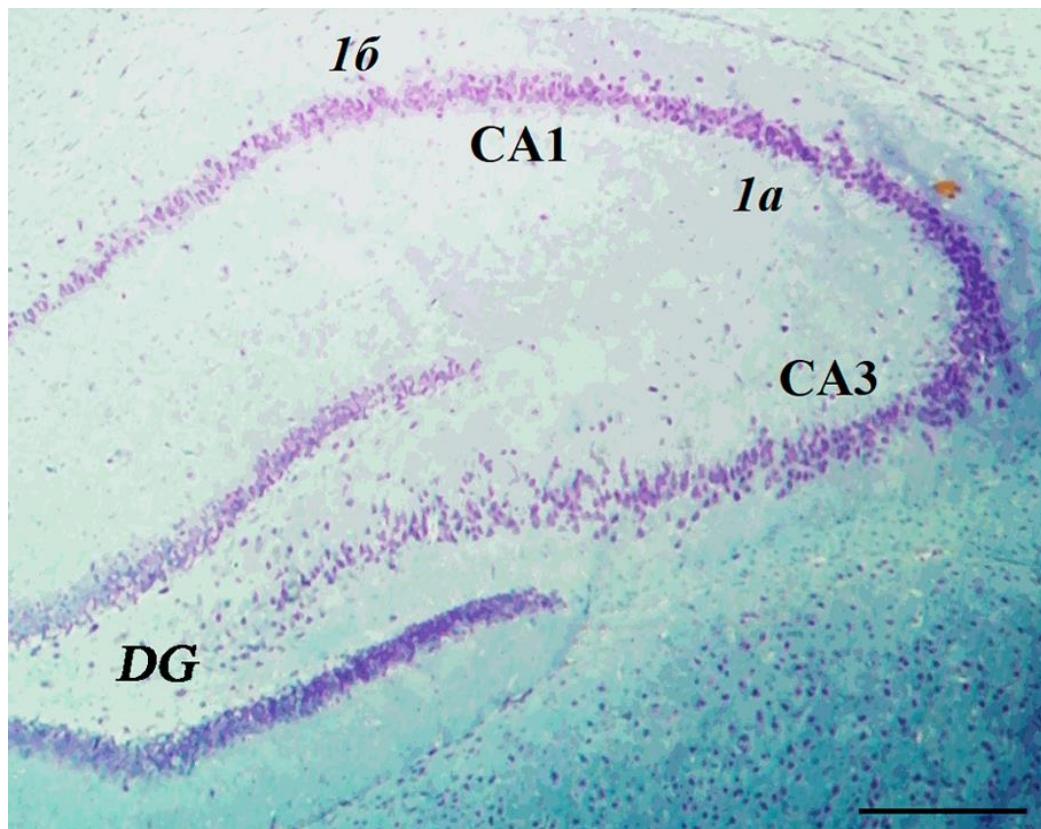


Рис.12. Гиппокампальная формация крысы в контроле: молекулярный слой (1a), слой пирамидных нейронов (поля CA₁, CA₃, DG), полиморфный слой (1б). Окраска по методу Нисселя. Объектив: ×4, шкала – 50 мкм.

После ТЧМТ прослеживается неоднородная степень травматических повреждений нейронов, глии СМК и гиппокампа. Выявленные структурные изменения нейронов носят очаговый характер и отмечались наиболее выражено в слое III СМК уже на 1 сут после ТЧМТ, в отличии от гиппокампа, в которым подобные изменения были выявлены лишь на 7 сут, а именно в зоне CA₃. Нейропиль характеризовался однородным субстратом без структурных проявлений отека-набухания его составляющих (дendриты, синапсы, отростки астроцитов) и единично расположенных дегенеративно изменённых нейронов. На фоне неизмененного нейропиля нормохромные нейроны характеризовались типичным круглым светлым ядром с темным ядрышком и эозинофильной оксифилией цитоплазмы [Шоронова А.Ю. и др., 2023].

После моделирования ТЧМТ в гиппокампе на 1 сут у опытных групп появлялись нейроны с признаками изменения тинкториальных свойств без сморщивания, отмечались очаги выпадения нейронов с выраженным отечным нейропилем и пикноморфные нейроны с выраженным коагуляционно-ишемическим некрозом (рис.13).

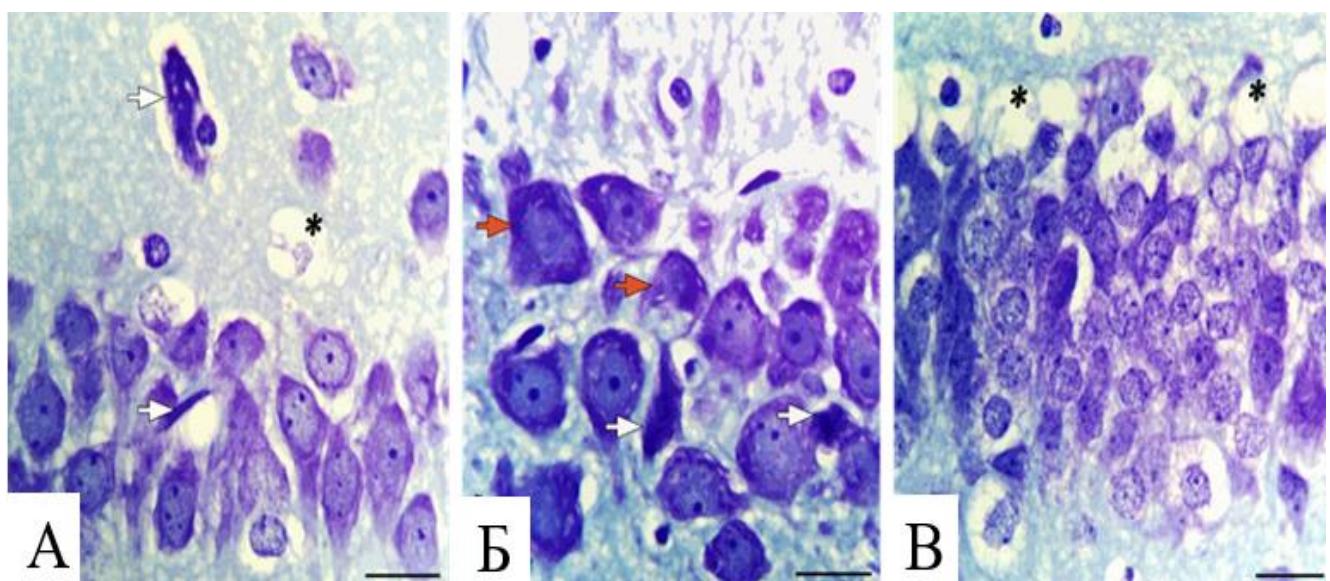


Рис.13. Фрагменты поля CA₁(А), CA₃(Б), DG(В) гиппокампа через 1 сут после ТЧМТ: гиперхромные сморщеные (пикноморфные) нейроны с признаками коагуляционно-ишемического некроза – белые стрелки, гиперхромные нейроны с

выпадением ядрышка – оранжевые стрелки, очаги выпадения нейронов на фоне отечного нейропиля – *. Окраска по методу Нисселя. Объектив: $\times 100$, шкала – 20 мкм.

В нейропиле прослеживалось повышенное содержание микроглиоцитов, что свидетельствует об усиление макрофагической функции этих клеток с целью утилизации необратимых нейронов с признаками конденсации и гомогенизации хроматофильного вещества ядра и цитоплазмы и растворением ядрышка (рис.14).

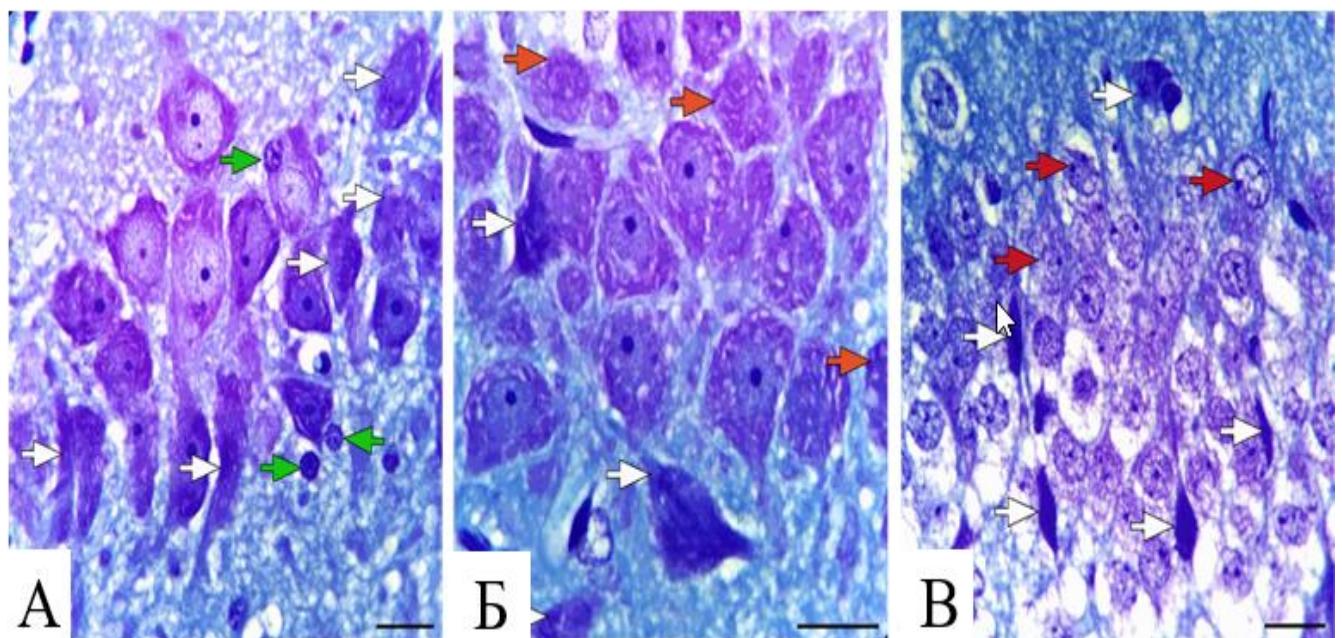


Рис.14. Фрагменты поля CA₁(А), CA₃(Б), DG(В) гиппокампа через 7 сут после ТЧМТ: гиперхромные сморщеные (пикноморфные) нейроны с признаками коагуляционно-ишемического некроза – белые стрелки, микроглиоциты – зеленые стрелки, гиперхромные нейроны с гомогенностью цитоплазмы и выпадением ядрышка – оранжевые стрелки, нормохромные нейроны с эктопией ядрышка – красные стрелки. Окраска по методу Нисселя. Объектив: $\times 100$, шкала – 20 мкм.

В нейропиле прослеживалось повышенное содержание микроглиоцитов, что свидетельствует об усиление макрофагической функции этих клеток с целью утилизации необратимых нейронов с признаками конденсации и гомогенизации хроматофильного вещества ядра и цитоплазмы и растворением ядрышка (рис.14).

В гиппокампе CA₁, CA₃, DG на 30 сут отчетливо прослеживались необратимые изменения нервной ткани: пикноморфные нейроны, отек нейропиля, гиперхромия тел нейронов, эктопия ядрышек вплоть до потери ядрышка (рис.15).

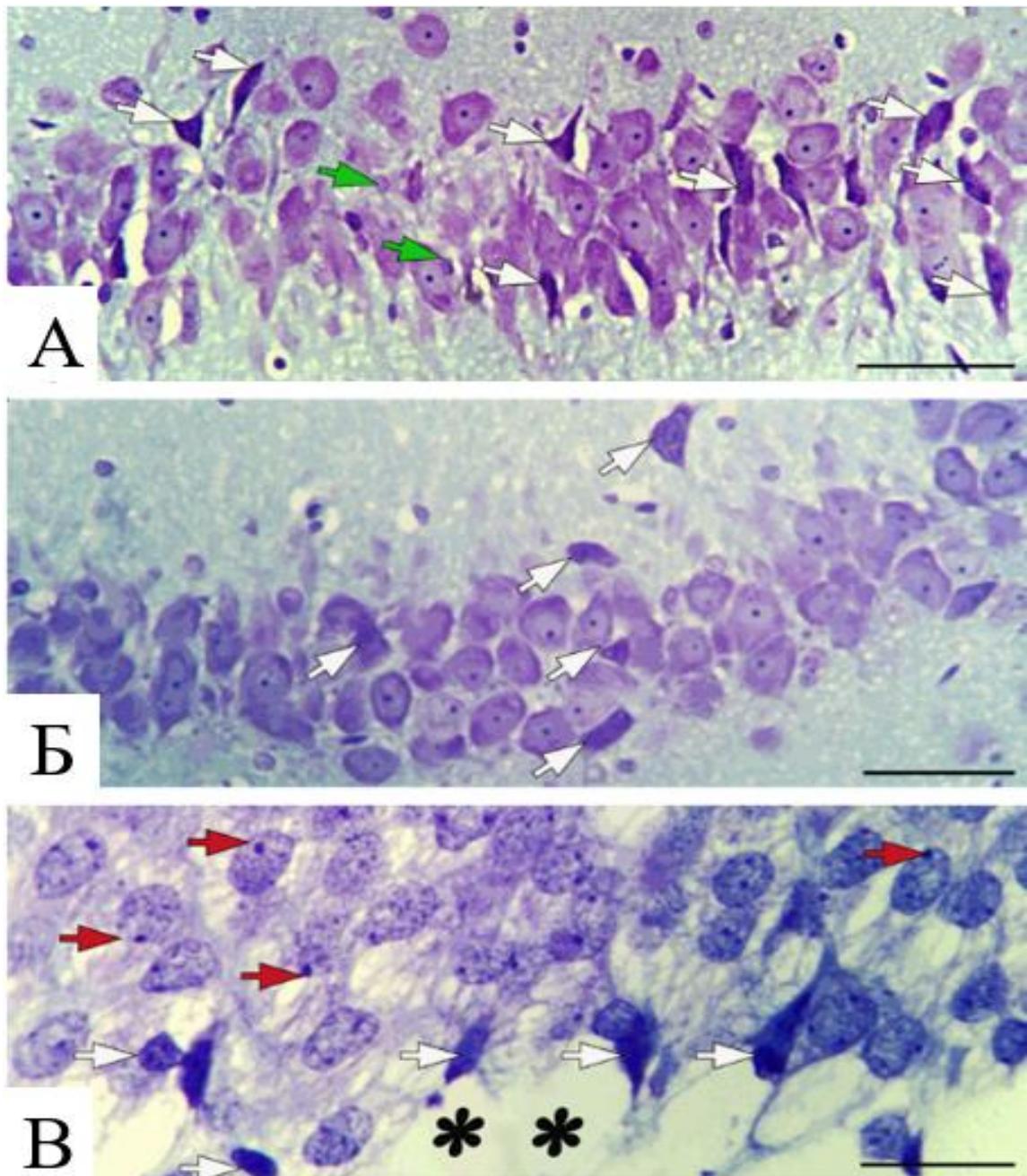


Рис.15. Необратимые изменения нейронов фрагментов поля CA₁(А), CA₃(Б), DG(В) гиппокампа через 30 сут после ТЧМТ: гиперхромные сморщеные (пикноморфные) нейроны с признаками коагуляционно-ишемического некроза –белые стрелки, микроглиоциты – зеленые стрелки, нормохромные нейроны с эктопией ядрышка – красные стрелки. Окраска по методу Нисселя. Объектив: $\times 40$, шкала – 25 мкм.

После ТЧМТ прослеживается неоднородная степень травматических повреждений нейронов и глии СМК и гиппокампа. Выявленные структурные изменения нейронов носят очаговый характер и отмечались наиболее выражено в слое III СМК уже на 1 сут после ТЧМТ, в отличии от гиппокампа, в которым подобные изменения были выявлены лишь на 7 сут, а именно в зоне CA₃.

3.3. Морфометрическая характеристика структурных изменений неокортика после моделирования тяжелой ЧМТ

По данным морфометрического анализа, через 3 сут после ЧМТ общая численная плотность пирамидных нейронов в слое III СМК снижалась на 13,3%, а в слое V СМК – увеличивалась на 19,2%. Максимальное снижение ОЧПН в посттравматическом периоде СМК происходило в слое III на 7 сут и слое V на 30 сут: 38,1% и 18,5% (рис.16).

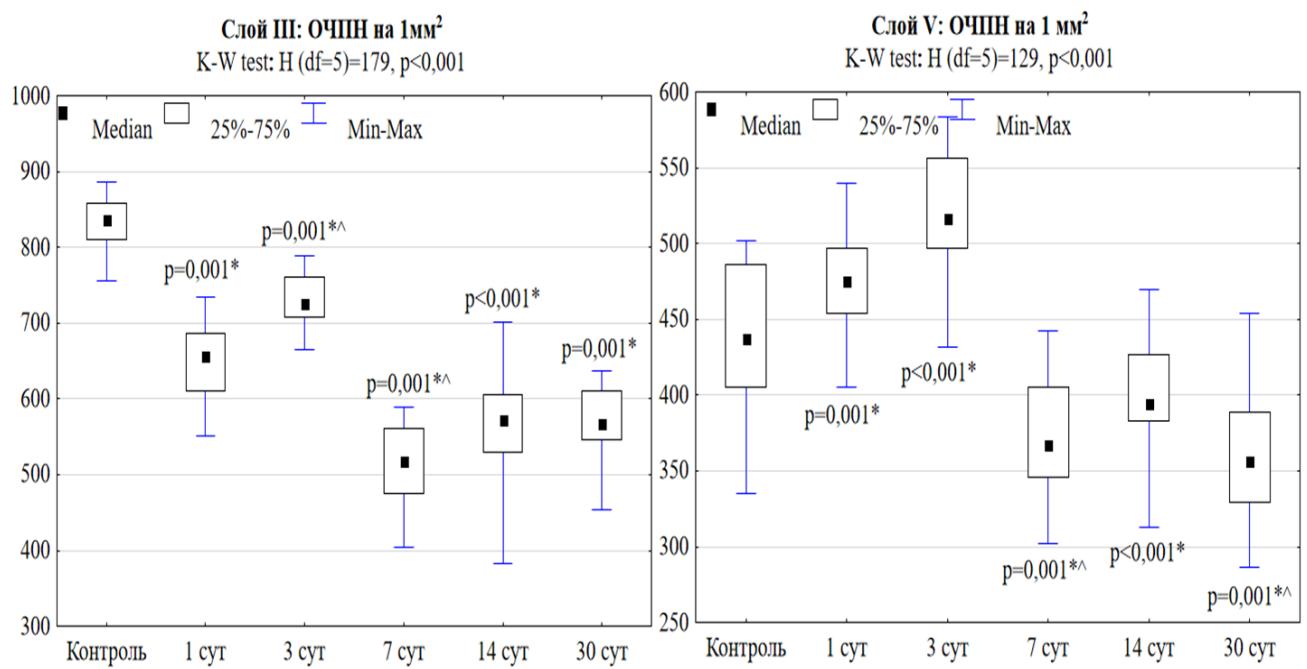


Рис. 16. ОЧПН в слое III и V СМК в контроле, через 1, 3, 7, 14 и 30 сут после ТЧМТ. Примечание. * – сравнение с контролем, ^ – с предыдущим сроком (критерий Манна-Уитни), различия статистически значимы при $p < 0,05$. Материал предоставили как медиану (Me) (Q2), 25–75% квартили (Q1-Q3) и диапазон без

выбросов (Min-Max). Множественное сравнение между всеми группами – с помощью ANOVA Краскела-Уоллиса.

При этом численная плотность нормохромных нейронов (ЧПНН) в слое III СМК, уменьшилась на 60,3% (1 сут) и 77,5% (7 сут), но в слое V СМК уменьшилась на 71,1% (1 сут) и 77,5% (7 сут) (рис.17). Полного восстановления показателя ЧПНН на протяжении всего срока исследования не наблюдалось, так и не достигнув уровня контрольных значений. Возможно, парадоксальное изменение V слоя СМК вызвано более плотным расположением гиперхромных сморщеных нейронов и уменьшением объема их тел в результате обезвоживания.

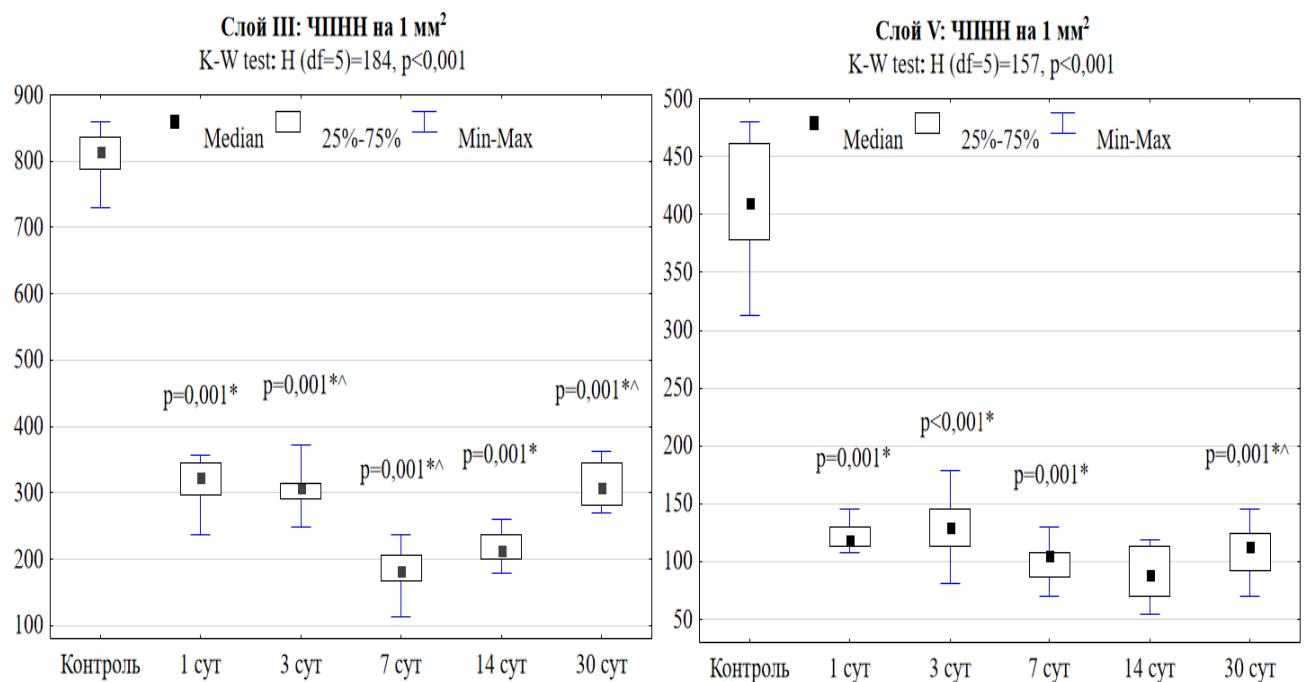


Рис. 17. ЧПНН слоя III и V СМК в контроле, через 1, 3, 7, 14 и 30 сут после ТЧМТ. Примечание. * – сравнение с контролем, ^ – с предыдущим сроком (критерий Манна-Уитни), различия статистически значимы при $p < 0,05$. Материал предоставили как медиану (Me) (Q2), 25–75% квартили (Q1-Q3) и диапазон без выбросов (Min-Max). Множественное сравнение между всеми группами – с помощью ANOVA Краскела-Уоллиса.

Обнаружено, что максимальное увеличения содержания обратимо измененных нейронов (гипо- и гиперхромных несморщеных) в слоях III и V СМК наблюдалось на 3 сут после ТЧМТ (рис. 18), а пик увеличения необратимо изменённых (пикноморфных) отмечался на 1 сут: в слое III СМК до 11,6%, а в слое V СМК – до 18,5% (рис.19) [Шоронова А.Ю. и др., 2023].

Уменьшение численной плотности олигодендроцитов и астроцитов отмечалось через 30 сут после ТЧМТ, но максимальное уменьшение олигодендроцитов отмечалось в слое V СМК и составило 43,9% (Рис. 20, Рис. 21).

Восстановление показателей численной плотности астроцитов и олигодендроцитов в посттравматическом периоде до показателей контроля не происходило. Отчётливо прослеживаются участки выпадения поврежденных необратимых пикноморфных нейронов с признаками коагуляционного ишемического некроза на 30 сут, которые были утилизированы микроглиоцитами, поэтому показатель численной плотности этих клеток увеличивается и не достигает уровня показателя контрольных значений.

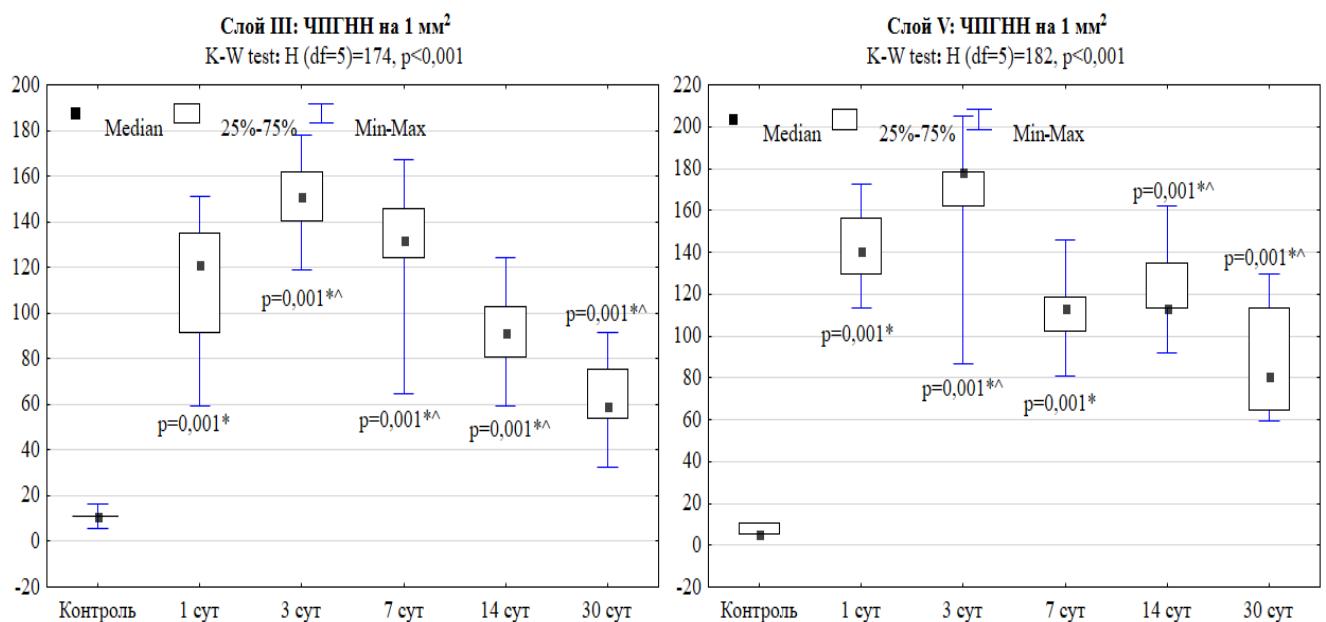


Рис. 18. Численная плотность гиперхромных несморщеных нейронов (на 1 мм²) слоях III и V СМК в контроле и после ТЧМТ. * - сравнение с контролем, ^ - с предыдущим сроком (Mann-Whitney U-test), различия статистически значимы при

$p < 0,001$. Материал представили, как медиану (Median) (Q_2), 25-75% квартили (Q_1 - Q_3) и диапазон без выбросов (Min-Max). K-W-Kraskel-Wallis.

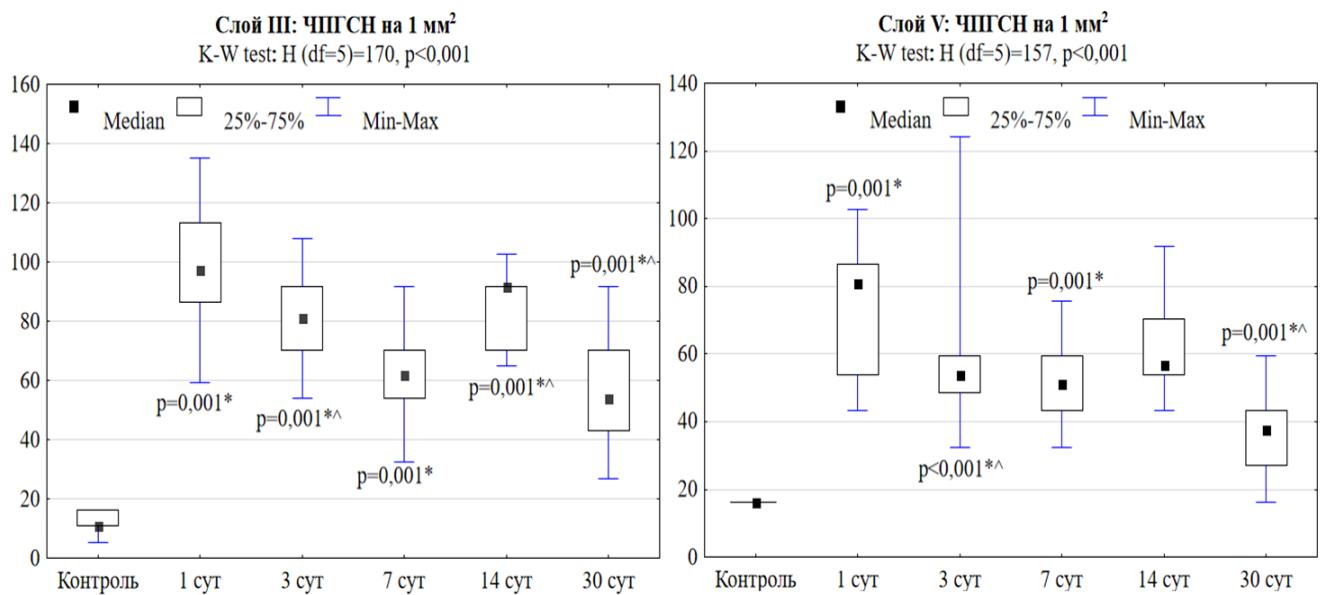


Рис.19. Численная плотность гиперхромных сморщеных (пикноморфных) нейронов (на 1 мм^2) в слоях III и V в контрольной группе и после ТЧМТ. * - сравнение с контролем, ^ - с предыдущим сроком (Mann-Whitney U-test), различия статистически значимы при $p < 0,001$. Материал представили, как медиану (Median) (Q_2), 25-75% квартили (Q_1 - Q_3) и диапазон без выбросов (Min-Max). K-W-Kraskel-Wallis.

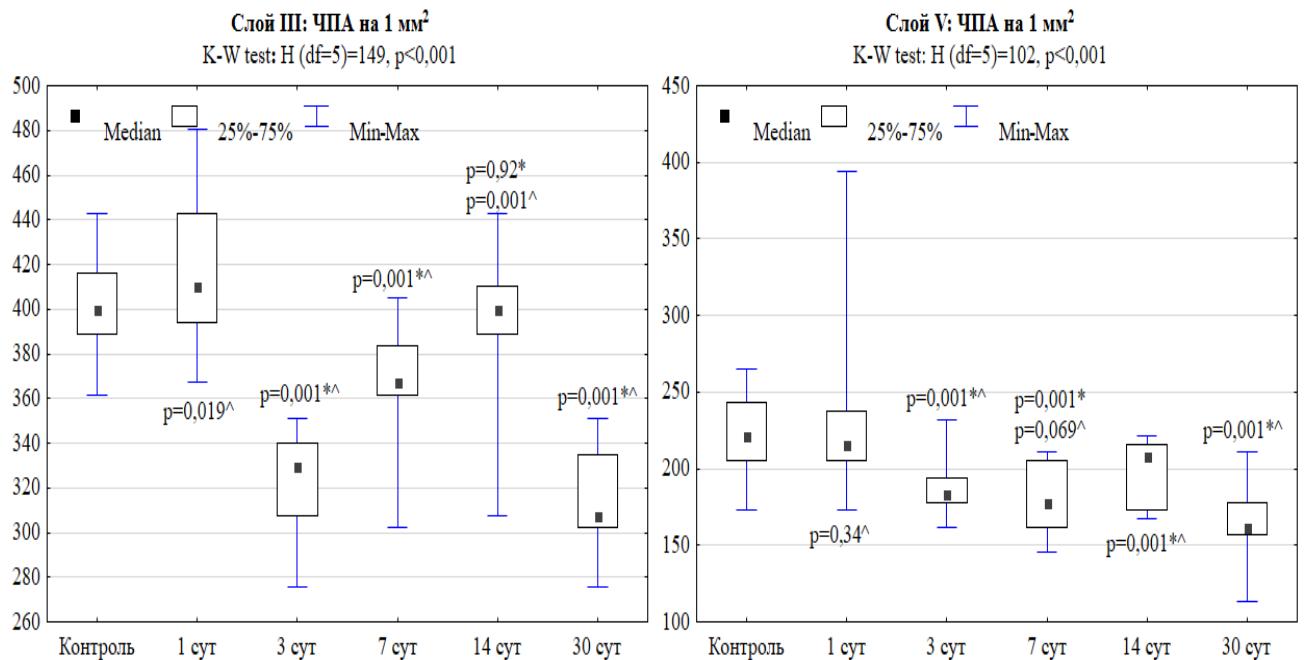


Рис. 20. Численная плотность астроцитов (на 1 мм^2) в слоях III и V СМК в контрольной группе и после ТЧМТ. * - сравнение с контролем, ^ - с предыдущим сроком (Mann-Whitney U-test), различия статистически значимы при $p < 0,001$. Материал представили, как медиану (Median) (Q_2), 25-75% квартили (Q_1 - Q_3) и диапазон без выбросов (Min-Max). K-W-Kraskel-Wallis.

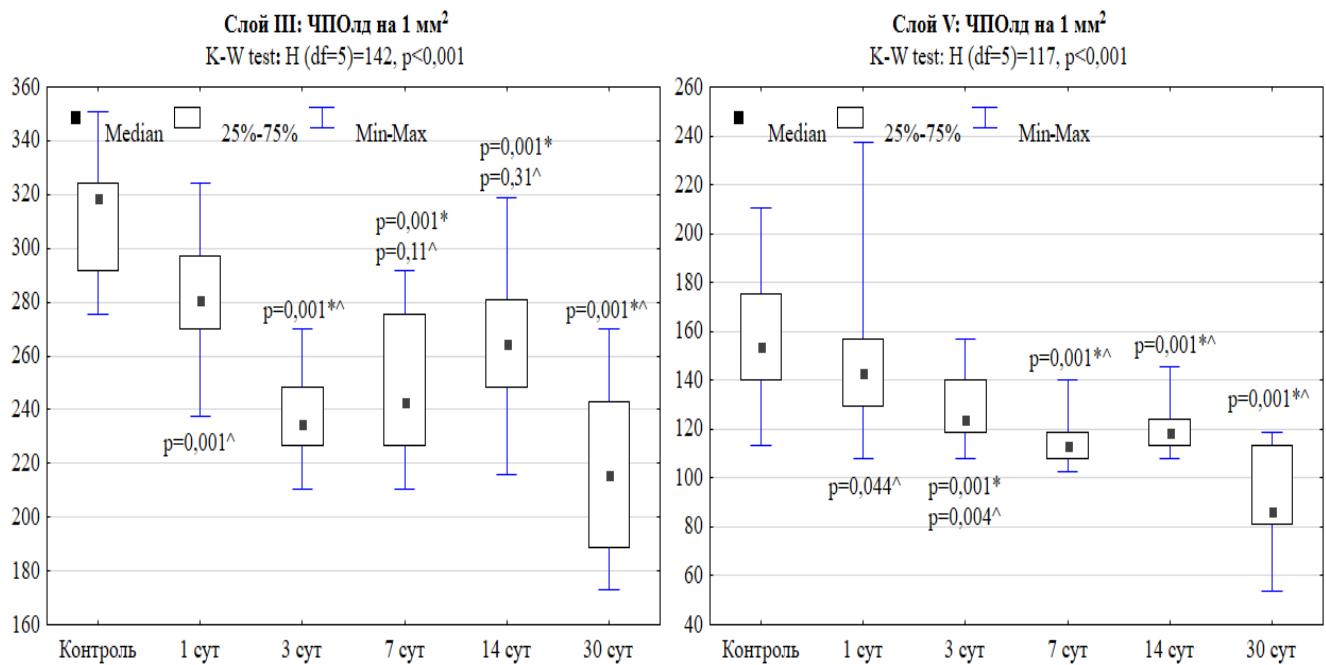
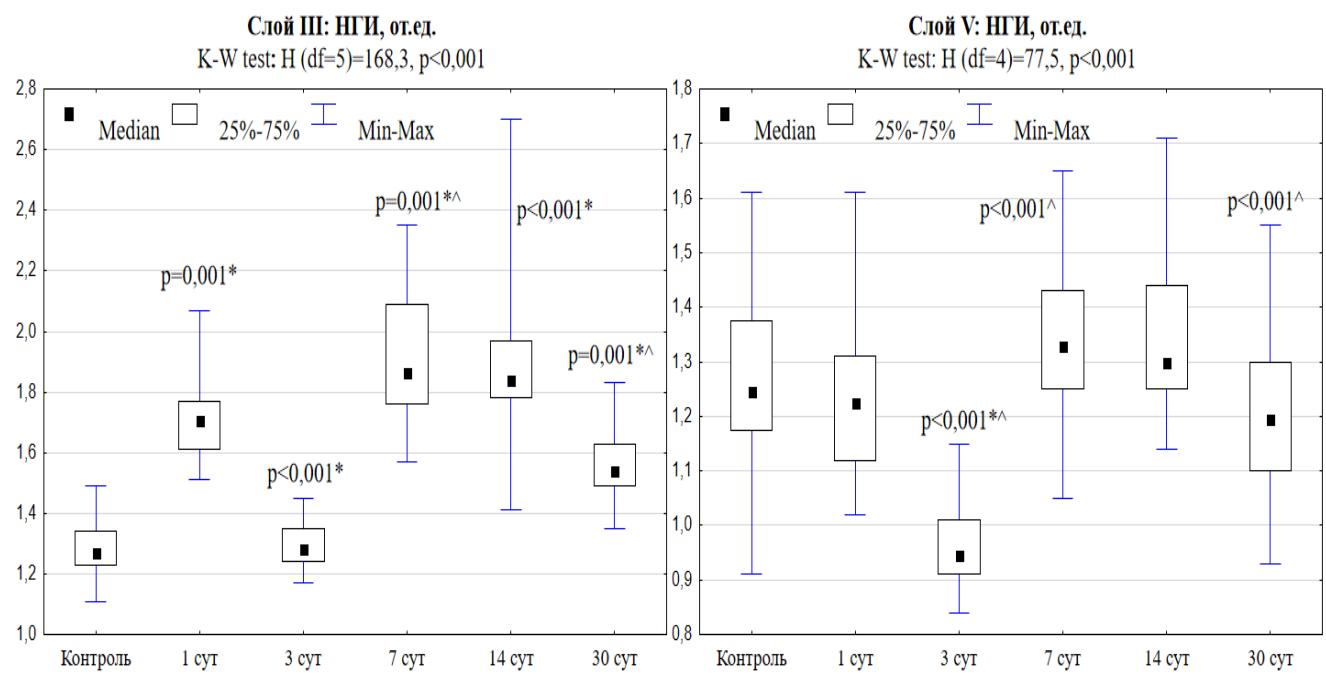


Рис. 21. Численная плотность олигодендроцитов (на 1 мм^2) в слоях III и V СМК в контрольной группе и после ТЧМТ. * - сравнение с контролем, ^ - с предыдущим сроком (Mann-Whitney U-test), различия статистически значимы при $p < 0,001$. Материал представили, как медиану (Median) (Q_2), 25-75% квартили (Q_1 - Q_3) и диапазон без выбросов (Min-Max). K-W-Kraskel-Wallis.

Неоднородная реорганизация нейроглиальных отношений (уменьшение плотности содержания нейронов и увеличение плотности глиальных клеток) привела к статистически значимым изменениям нейроглиального индекса (НГИ) слоя III СМК, который рассматривался как показатель соотношения общей численной плотности глиальных клеток к общей численной плотности нейронов (рис. 22). Полученные данные свидетельствовали о существовании особенностей ответа популяции глиальных клеток мелкоклеточного (слой III) и

крупноклеточного (слой V) слоев СМК мозга крыс, так уже на 1 сут после повреждения показатель нейроглиального соотношения увеличивался в 1,3 раза в отличии от слоя V СМК. Можно предположить, что это связано с различной тяжестью повреждения мелких и крупных нейронов. В обеих слоях отмечен выраженный скачок значений НГИ через 7 сут в сравнении с предыдущим сроком. Это, вероятно, свидетельствовало об общих закономерностях реакции поврежденной нервной ткани на травму - о тотальном переходе в другую фазу воспаления.



*Рис.22. Нейроглиальный индекс в слоях III и V СМК головного мозга крыс. Примечание. * – сравнение с контролем, ^ – с предыдущим сроком (критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$). Материал предоставлен как медиана (Me) (Q2), 25–75% квартили (Q_1 - Q_3) и диапазон без выбросов (Min-Max). Множественное сравнение между всеми подгруппами основной группы проводили с помощью ANOVA Краскела-Уоллиса.*

3.4. Морфометрическая характеристика структурных изменений гиппокампа после моделирования тяжелой ЧМТ

Морфометрический анализ СА₁ и СА₃ гиппокампа. В табл. 8 и 9 приведены результаты определения относительного содержания измененных нейронов и разных типов глиальных клеток. Выявлены статистически значимые различия динамики изменения содержания нейронов в СА₁ и СА₃ гиппокампа после ТЧМТ. В результате появления необратимых патологических изменений в нейронах часть из них подвергалась, вероятно, разрушению и полностью элиминировалась. Как следствие, в течение посттравматического периода прогрессивно уменьшалась общая численная плотность нейронов (ОЧПН) на единицу (1 мм²) площасти срез.

Таблица 8. Относительное содержание основных типов реактивно и некробиотически измененных пирамидных нейронов в полях СА₁ и СА₃ гиппокампа белых крыс после тяжелой черепно-мозговой травмы, Q_2 (Q_1 - Q_3) и Min-Max

Группы	Переменные, %			
	ГСМН	ГНН	ГиН	КТ
СА₁				
1 сут	6,5 (5,2-8,7)	8,7 (6,5-10,7)	6,4 (5,1-7,7)	5,7 (4,7-6,5)
3 сут	10,2 (9,3-11,0) p<0,0001*	6,8 (6,0-8,0) p=0,011*	10,8 (9,2-12,7) p<0,0001*	4,5 (2,8-5,8) p=0,01*
7 сут	14,8 (12,0-17,6) p<0,0001*	5,6 (3,9-6,9) p=0,004*	13,7 (10,8-17,2) p=0,001*	4,2 (2,9-5,8)
14 сут	8,9 (6,3-11,5) p<0,0001*	9,6 (7,6-10,7) p<0,0001*	6,7 (5,3-8,6) p<0,0001*	3,7 (2,4-5,4)
30 сут	8,4 (6,3-10,1)	7,6 (5,3-9,6) p<0,038*	11,7 (9,5-13,2) p<0,0001*	5,1 (3,4-6,5) p=0,02*
ANOVA K-W test:	H (df=4) =71,9 p <0,0001	H (df=4) =31,7 p <0,0001	H (df=4) =89,9 p <0,0001	H (df=4) =15,4 p =0,004
СА₃				
1 сут	10,6 (8,3-14,5) p<0,001^	10,3 (8,2-13,0)	9,0 (7,9-10,7) p<0,001^	7,2 (5,5-9,0) p=0,001^

3 сут	11,4 (10,3-13,1)	9,2 (6,5-10,7) p=0,002 [^]	11,4 (10,5-13,9) p<0,0001*	9,3 (7,3-11,0) p=0,003* p<0,001 [^]
7 сут	15,3 (13,3-17,2) p=0,0001*	7,4 (5,5-10,3)	16,7 (14,0-19,6) p<0,0001* p=0,001 [^]	7,3 (5,9-8,8) p=0,01* p<0,001 [^]
14 сут	11,0 (9,3-15,9) p=0,01* p=0,01 [^]	7,1 (5,6-9,1) p=0,038 [^]	12,5 (9,3-13,8) p<0,0001* p<0,001 [^]	7,6 (5,5-11,6) p<0,001 [^]
30 сут	11,3 (6,5-14,5) p=0,01 [^]	7,7 (4,3-10,4)	12,2 (8,0-14,8)	9,8 (5,6-12,3) p=0,001 [^]
ANOVA K-W test:	H (df=4) =20,8 p =0,0004	H (df=4) =11,3 p =0,02	H (df=4) =60,9 p <0,0001	H (df=4) =10,9 p =0,028
<i>Примечание: * – различия в сравнении с контролем и предыдущим сроком (Mann-Whitney U test), между всеми сроками по полу (ANOVA Kruskal-Wallis), ^ – между полями CA₁ и CA₃ (Wilcoxon test) статистически значимы при p≤0,01.</i>				

Таблица 9. Относительное содержание астроцитов (А), олигодендроцитов (Олд) и микроглиоцитов (М) в полях СА₁ и СА₃ гиппокампа белых крыс в норме и после тяжелой черепно-мозговой травмы, Q₂ (Q₁-Q₃) и Min-Max

Группы	Переменные, %		
	Астроциты	Олигодендроциты	Микроглиоциты
СА₁			
Контроль	34,41 (33,1-35,3)	32,3 (29,9-33,8)	33,3 (32,6-35,1)
1 сут	36,7 (34,7-38,4)	29,2 (26,4-30,7)	34,6 (33,1-35,8)
3 сут	37,1 (35,8-38,6)	30,1 (28,4-31,5) p=0,02*	32,7 (31,4-34,5) p=0,01*
7 сут	35,2 (33,6-37,8) p=0,002*	29,9 (28,4-32,4)	34,6 (32,6-36,6) p=0,02*
14 сут	35,7 (33,3-37,7)	28,9 (27,6-30,9)	35,4 (32,2-37,9)
30 сут	37,6 (34,7-39,4) p=0,039*	26,2 (25,0-28,0) p=0,0002*	35,9 (34,1-38,5)

ANOVA K-W test:	$H (df=4) = 10,1$ $p = 0,039$	$H (df=4) = 34,6$ $p < 0,0001$	$H (df=4) = 21,1$ $p < 0,0001$
CA₃			
Контроль	35,4 (34,2-37,2)	30,4 (28,9-31,6)	34,0 (32,4-35,4)
1 сут	40,4 (38,4-41,7) $p < 0,001^\wedge$	26,1 (24,3-27,6) $p = 0,001^\wedge$	34,0 (32,0-35,4)
3 сут	38,7 (36,7-40,2) $p = 0,01^*$ $p = 0,01^\wedge$	26,5 (24,4-28,3) $p < 0,001^\wedge$	34,7 (33,9-36,9) $p = 0,02^*$ $p = 0,01^\wedge$
7 сут	38,5 (36,6-39,7)	26,5 (24,5-27,2)	35,9 (33,7-37,1)
14 сут	38,5 (37,3-40,4) $p < 0,001^\wedge$	24,7 (22,7-26,7) $p = 0,03^*$ $p < 0,001^\wedge$	36,5 (34,6-38,4)
30 сут	40,1 (39,0-42,1) $p = 0,003^*$ $p = 0,001^\wedge$	27,7 (25,4-28,7) $p = 0,001^*$	32,1 (30,3-34,1) $p < 0,0001^*$ $p = 0,001^\wedge$
ANOVA K-W test:	$H (df=4) = 23,4$ $p = 0,0001$	$H (df=4) = 13,6$ $p = 0,01$	$H (df=4) = 46,9$ $p < 0,0001$
<p><i>Примечание.</i> * – различия в сравнении с контролем и предыдущим сроком (Mann-Whitney U test), между всеми сроками по полю (ANOVA Kruskal-Wallis), ^ – между полями CA₁ и CA₃ (Wilcoxon matched pairs test) статистически значимы при $p \leq 0,01$.</p>			

Между отделами и сроками выявлены статистически значимые различия основных переменных. Через 30 сут после ТЧМТ в CA₁ дефицит ОЧПН составил 43,8%, а в CA₃ – 22,0%. При этом относительное содержание нормохромных нейронов до уровня контроля не восстанавливалось, а НГИ существенно превышал значения контроля (рис. 23). В зонах CA₁ и CA₃ гиппокампа, наоборот на протяжении всего посттравматического периода происходило относительное повышение НГИ, при чем с максимальным пиком на 14 сут (в 1,3 раза в поле CA₁, и в 1,2 раза – CA₃ относительно уровня предыдущего срока).

По данным литературы, процессы удаления необратимо поврежденных нейронов осуществляются при участии клеток нейроглии и, соответственно, как и у нас, сопровождаются изменением нейроглиального индекса (НГИ).

По нашим данным, в гиппокампе контрольных животных выявлена сильная отрицательная корреляционная связь между ОЧПН и ОЧПГК, а также средняя связь между ЧПА и ЧПОлд, ЧПМ и ЧПОлд. Именно это, вероятно, определяет баланс между содержанием основных типов глиоцитов (табл. 10). Существенно, то, что структура корреляционных связей контрольных животных в СА₁ и СА₃ мало отличалась.



Рис. 23 – Общая численная плотность всех нейронов (ОЧН), относительное содержание нормохромных нейронов (ЧПНН) и нейроглиальный индекс (НГИ) в CA₁ и CA₃ гиппокампа белых крыс в норме и после тяжелой черепно-мозговой травмы, Q₂ (Q₁-Q₃) и Min-Max. Примечание. * – различия в сравнении с контролем и предыдущим сроком (Mann-Whitney U test), между всеми сроками (ANOVA Kruskal-Wallis), Δ – между CA₁ и CA₃ (Wilcoxon matched pairs test) статистически значимы при $p \leq 0,01$.

Таблица 10. Статистически значимые парные корреляционные связи (R коэффициент корреляции, p <0,05) между независимыми переменными численной плотности клеток, характеризующими нейроглиальные взаимоотношения в полях CA₁ и CA₃ гиппокампа белых крыс в контроле, метод Спирмена

Переменные	ОЧПГК	ЧПНН	ЧПА	ЧПМ
CA₁				
ОЧПН	-0,74*	-	-	-
ЧПНН	-	-	-	-0,31#
ЧПОлд	-	-	-0,65^	-0,71*
CA₃				
ОЧПН	-0,77*	0,28#	-	-
ЧПА	-	-	-	-0,52^
ЧПОлд	0,32#	-	-0,51^	-0,42#

*Примечание. * – сильные, ^ – средние и # – слабые корреляционные связи.*

После травмы сохранялись сильные отрицательные связи между ОЧПН и ОЧПГК, но в силу появления реактивных, дистрофических и некробиотических изменений в популяции нейронов и глиальных клеток диапазон парных связей расширился. Причем выявленные связи различались по срокам наблюдения и отделам гиппокампа (табл. 11). Это свидетельствовало о наличии особенностей реакции на повреждение CA₁ и CA₃, а также различиях динамики посттравматических изменений в этих полях.

Таблица 11. Статистически значимые парные корреляционные связи (R коэффициент корреляции, p <0,05) между независимыми переменными численной плотности клеток, характеризующими нейроглиальные взаимоотношения в полях CA₁ и CA₃ гиппокампа белых крыс после тяжелой черепно-мозговой травмы, метод Спирмена

Пары	Посттравматический период, сут				
	1	3	7	14	30
CA₁					
ОЧПН&ОЧПГК	-0,75*	-0,60	-0,74*	-0,91*	-0,91*
ОЧПН&ЧПНН	-0,43#	-	-	-0,59^	-

ОЧПН&ЧПКТ	-	-	0,47#	-	-
ОЧПГК&ЧПКТ	-	-	-0,37#	-	-
ЧПНН&ОЧПГК	-	-	-	0,54^	-
ЧПНН&ЧПГСМН	-	-	-0,58^	-0,40#	-0,39#
ЧПНН&ЧПГНН	-0,57^	-0,54^	-	-	-
ЧПНН&ЧПГиН	-0,45#	-0,48#	-	-	-
ЧПНН&ЧПКТ	-	-	-	-	-0,57^
ЧПНН&ЧПОлд	-	-0,49#	-	-	-
СА₃					
ОЧПН&ОЧПГК	-0,79*	-0,90*	-0,83*	-0,86*	-0,89*
ОЧПН&ЧПНН	-	-0,37#	-	-	-
ОЧПН&ЧПГНН	-	0,36#	-	-	-
ОЧПН&ЧПОлд	-	-	-	-	-0,41#
ОЧПГК&ЧПНН	-	-	-	-	0,43#
ОЧПГК&ЧПГиН	-	-	-0,38#	-	-
ОЧПГК&ЧПОлд	-	-	-	0,40#	0,43#
ОЧПГК&ЧПМ	-	-	-	-0,42#	-
ЧПНН&ЧПГСМН	-0,41#	-0,58^	-0,41#	-	-0,38#
ЧПНН&ЧПГНН	-	-0,50#	-0,63^	-	-0,44#
ЧПНН&ЧПГиН	-	-	-	-	-0,41#
ЧПНН&ЧПКТ	-	-0,57^	-	-	-
ЧПНН&ЧПА	-	-	-	-	-0,38#

*Примечание. * – сильные, ^ – средние и # – слабые корреляционные связи.*

При сравнительном изучении морфометрических показателей структурной организации СА₁ и СА₃ необходимо учитывать, что у белых крыс в норме в этих отделах существенно отличается не только гисто- и цитоархитектоника, но и синаптоархитектоника.

3.5. Морфометрическая характеристика и оценка проходимости микрососудистой сети головного мозга

Выявленные различия ответной реакции пирамидных нейронов слоя III и V СМК на ТЧМТ в определенной степени могли быть связаны с различиями изменений общей численной плотности и относительной площади срезов

микрососудистой сети на этих уровнях СМК, выявленных нами с помощью её перфузии тушью (рис. 24).

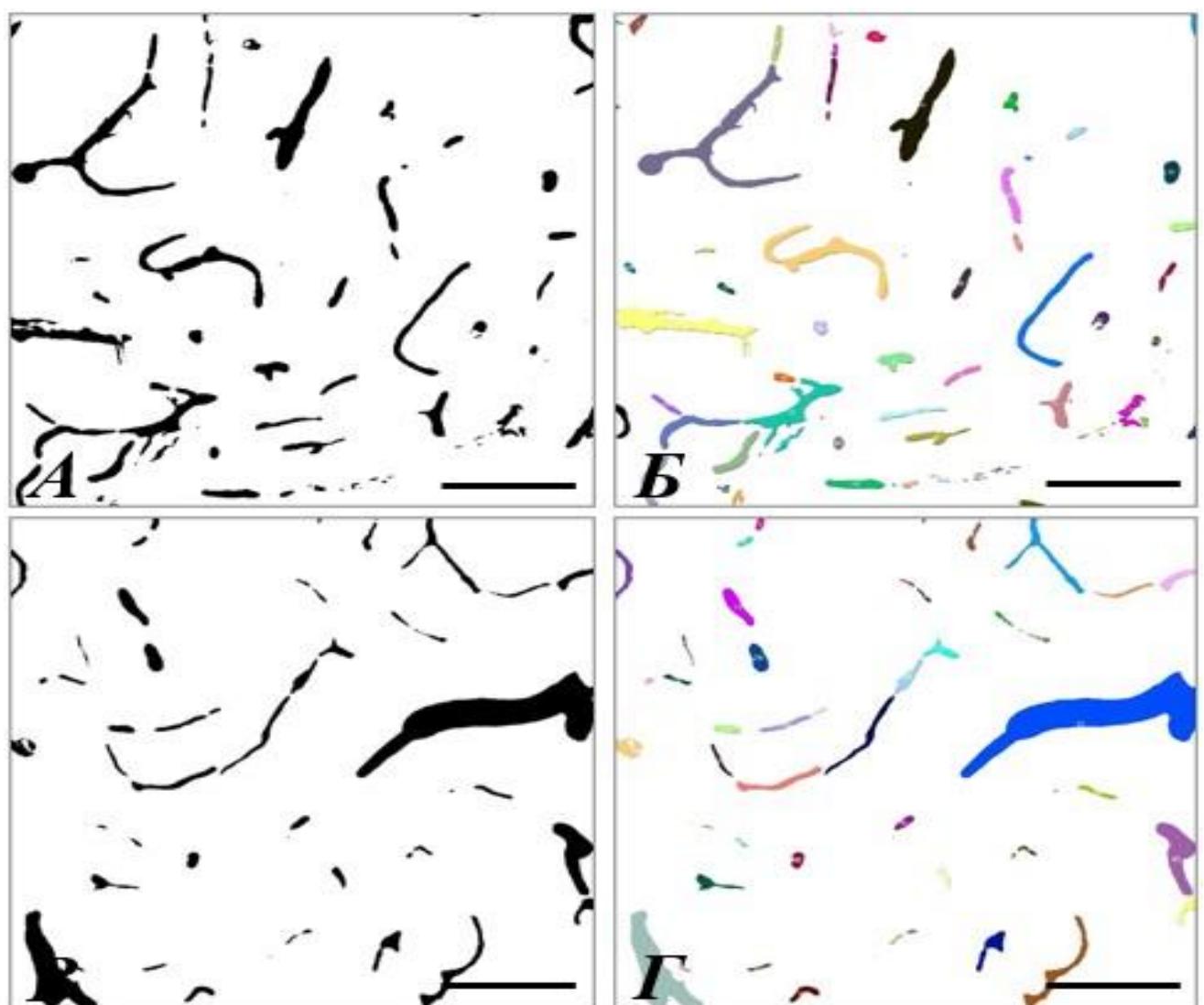


Рис.24. Заполненные тушью участки микрососудистой сети в плоскости среза слоя III (A,Б) и V СМК (B,Г) крыс через 1 сут после ТЧМТ. Цветом показано многообразие форм и размеров анализируемых фигур (ImageJ 1.53). Объектив: $\times 40$, шкала – 50 мкм.

По данным морфометрического анализа, в слое III СМК в левом и правом полушарии выявили статистически значимое уменьшение общей численной плотности проходимых микросудов (вероятно, последствие окклюзии периваскулярным отеком или разрушения). При этом их относительная

площадь/объем увеличивалась, что, свидетельствовало об их расширении (дилатации) (рис. 25). Вполне возможно сочетание окклюзии микрососудов и их расширения.

В слое III СМК через 3 сут после ТЧМТ выявлена слабая положительная корреляционная связь (Спирмен: $r=0,47$; $p=0,01$) между общей численной плотностью срезов сосудов и их относительной площадью. То есть, изменение (увеличение) численной плотности срезов сосудов сопровождалось увеличением их относительной площади. Для слоя V СМК подобных связей выявлено не было. Это также свидетельствовало о существовании различий реакции на ТЧМТ разных уровней СМК [Shoronova A.Yu. et al, 2022].

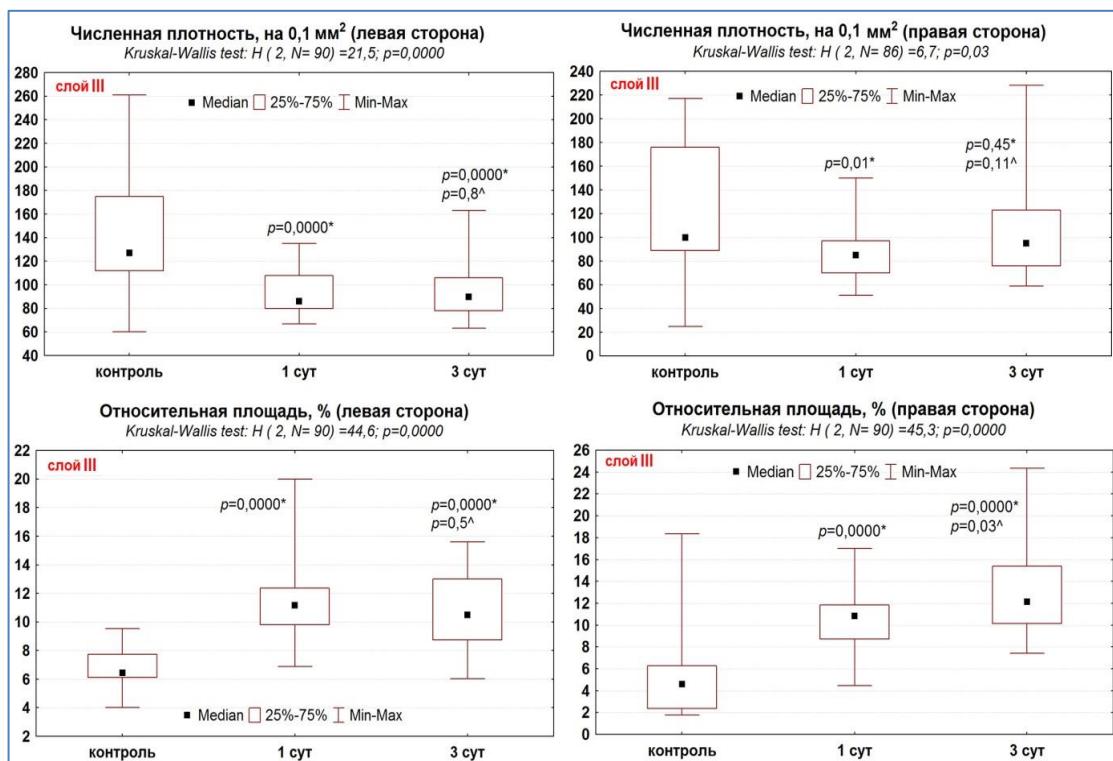


Рис. 25. Морфометрическая характеристика микросудистой сети в слое III СМК мозга крыс в контроле, через 1 и 3 сут после ТЧМТ. Примечание. * – сравнение с контролем, ^ – с предыдущим сроком (критерий Манна-Уитни), различия статистически значимы при $p < 0,05$. Материал представили как медиану (Me) (Q2), 25–75% квартили (Q1-Q3) и диапазон без выбросов (Min-Max). Множественное сравнение между всеми группами с помощью ANOVA Краскела-Уоллиса.

Для слоя V СМК была выявлена иная закономерность: общая численная плотность срезов микрососудов значимо не изменялась ни через 1, ни через 3 сут после ТЧМТ. Однако в этот период их относительная площадь была статистически значимо выше контрольного значения (рис. 26). В результате использованной нами модели ТЧМТ, несмотря на центральную локализацию вектора повреждающего фактора, было отмечено формирование асимметрии ответных изменений микросудистой сети [Shoronova A.Yu. et al, 2022].

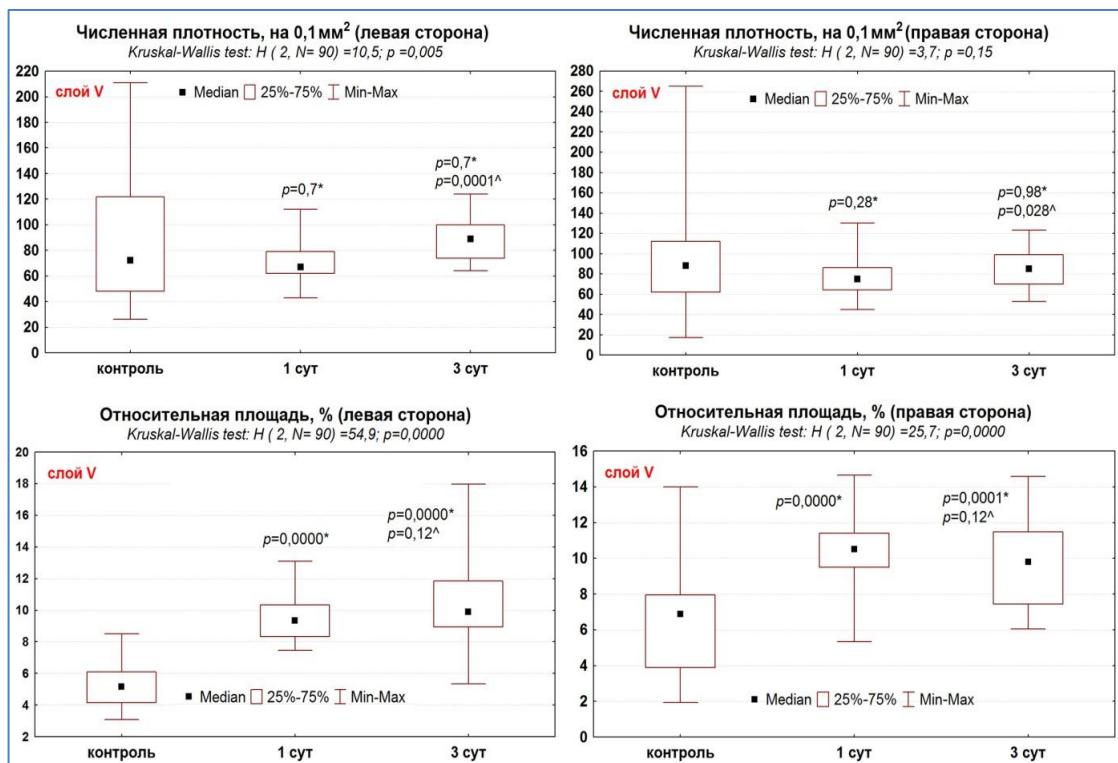


Рис. 26. Морфометрическая характеристика микросудистой сети в слое V СМК мозга крыс в контроле, через 1 и 3 сут после ТЧМТ. Примечание. * – сравнение с контролем, ^ – с предыдущим сроком (критерий Манна-Уитни), различия статистически значимы при $p < 0,05$. Материал предоставили как медиану (Me) (Q_2), 25–75% квартили (Q_1-Q_3) и диапазон без выбросов (Min-Max). Множественное сравнение между всеми группами с помощью ANOVA Краскела-Уоллиса.

Выявлены статистически значимые различия между правым и левым полушарием по переменной «относительная площадь сосудов» в слое III СМК (Wilcoxon, $p=0,02$) через 3 сут и в слое V СМК (Wilcoxon, $p=0,016$) через 1 сут. Однако, связать это с количественными изменениями нейронов в соответствующих полушариях не удалось. Таким образом, нами установлено, что более выраженные деструктивные изменения нейронов слоя III СМК сочетались с уменьшением общей численной плотности проходящих микрососудов. Для слоя V это не было характерно. В нем превалировали дилатационные изменения.

3.6. Иммуногистохимическая характеристика нейроглиального состава СМК и гиппокампа

Нейроспецифическая енолаза (NSE) является потенциально валидным биомаркером повреждения центральной и периферической нервной системы, позволяющим судить о степени дифференцировки нейронов и нарушении мембранный функции гематоэнцефалического барьера. Этот цитолитический гликолитический фермент необходим для энергетического метаболизма (гликолиза) - одного из важнейших энергетических процессов в клетке.

Иммуногистохимическое исследование образцов мозга крыс после ТЧМТ показало неравномерное распределение NSE-позитивного материала в перикарионах нейронов и нейропиле головного мозга крыс, как в разные периоды исследования, так и в соседних областях (рис. 27, 28).

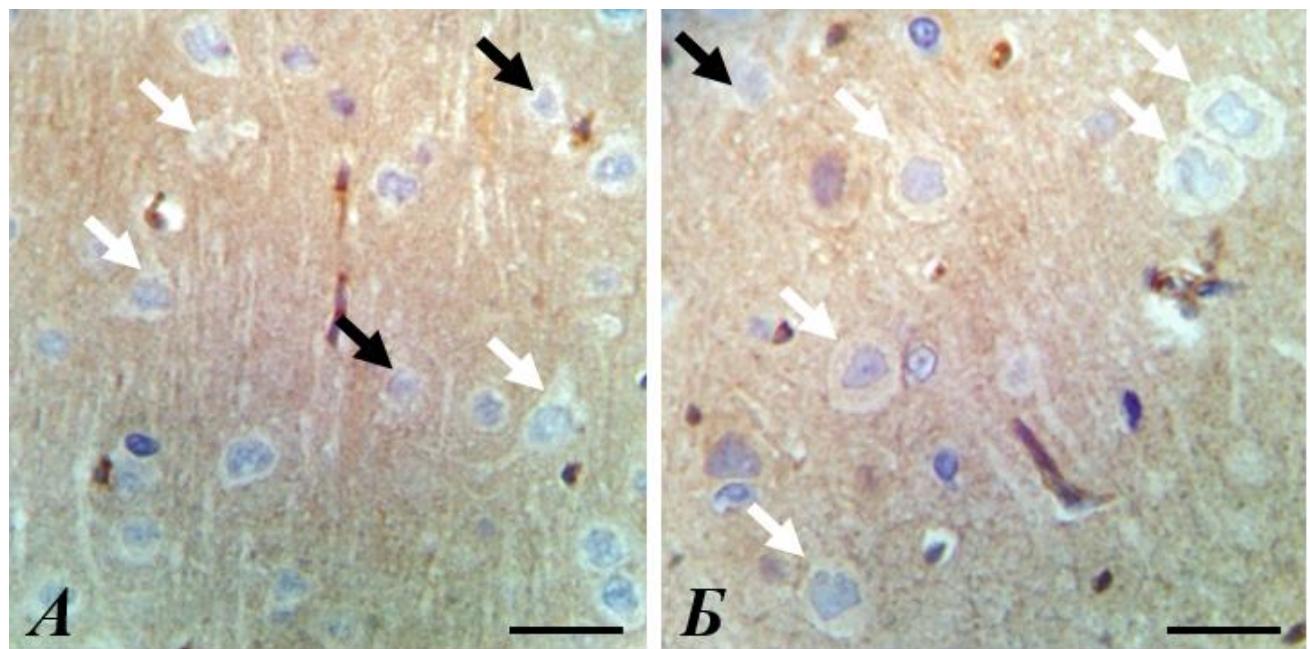


Рис. 27. Фрагмент слоя III (А) и V (Б) СМК при реакции на специфический нейромаркер (NSE), через 1 сут после ТЧМТ: пирамидные нейроны и нейропиль с высокой плотностью типированного белка – белые стрелки и нейроны с низкой плотностью – – черные стрелки. Иммуногистохимия NSE, докраска гематоксилином. Объектив: $\times 100$; шкала – 20 мкм.

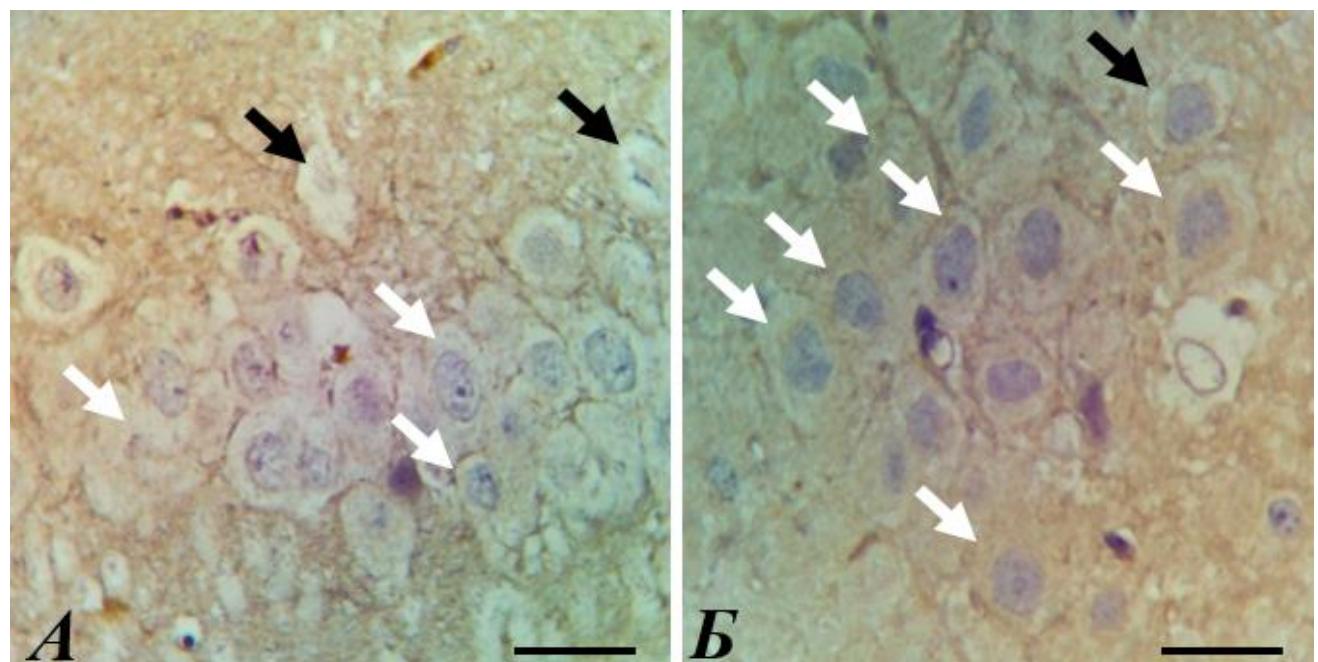


Рис. 28. Фрагмент поля CA₁ (А) и поля CA₃ (Б) гиппокампа при реакции на специфический нейромаркер (NSE), через 1 сут после ТЧМТ: пирамидные нейроны и нейропиль с высокой плотностью типированного белка – белые стрелки и

нейроны с низкой плотностью – черные стрелки. Иммуногистохимия NSE, докраска гематоксилином. Объектив: $\times 100$; шкала – 20 мкм.

Экспрессия NSE позволила оценить тинкториальные свойства клеток нервной ткани сенсомоторной коры и гиппокампа: при повышенных концентрациях этого цитолитического фермента в нейронах наблюдалось высокая плотность типирования белком (сильное окрашивание), но при пониженных концентрациях отмечалась низкая плотность к типированию (слабое окрашивание) нервных клеток (рис. 27, 28, 29). Полученные данные свидетельствуют о различной степени функциональной активности и степени гликолиза в обнаруженных нормо- и гиперхромных сморщенных нейронах после ТЧМТ.

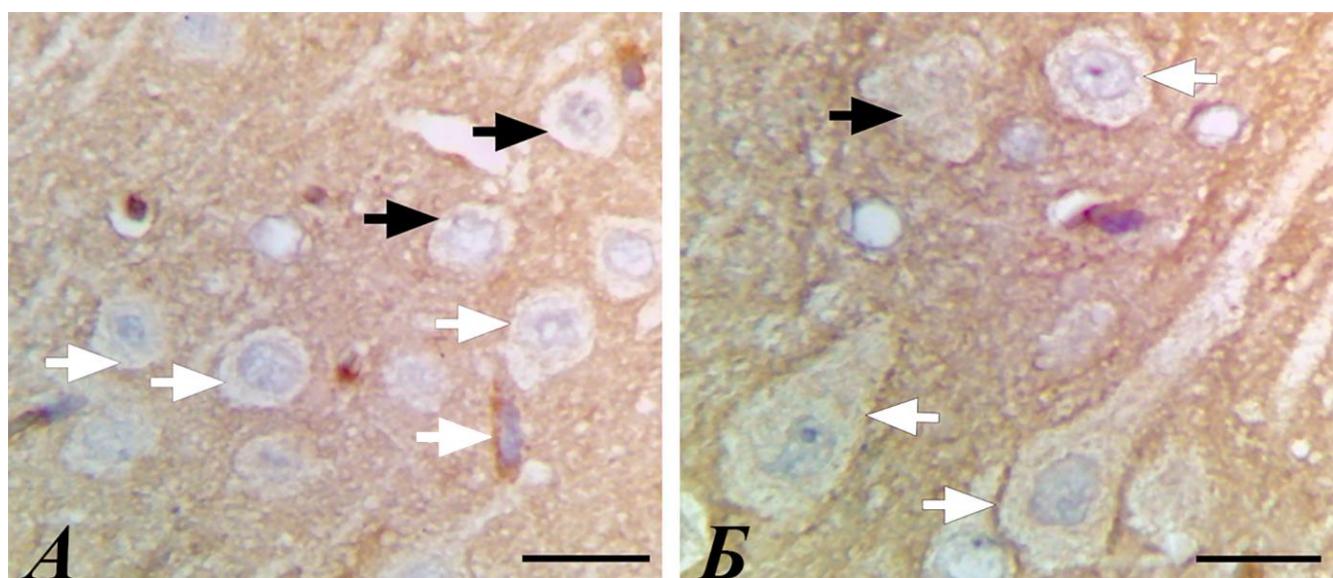


Рис. 29. Фрагмент слоя III (A) и V (Б) СМК при реакции на специфический нейромаркер (NSE), через 7 сут после ТЧМТ: пирамидные нейроны и нейропиль с высокой плотностью типированного белка – белые стрелки и нейроны с низкой плотностью – – черные стрелки. Иммуногистохимия NSE, докраска гематоксилином. Объектив: $\times 100$; шкала – 20 мкм.

Согласно статистическому анализу полученных данных максимальное содержание NSE-позитивных нейронов в слое III СМК (относительно ОЧПН на 1

мм²) отмечалось через 1 и 3 сут после повреждения – 35 и 42%. На 7 сут (рис.30) этот показатель постепенно уменьшался на 3% от предыдущего срока, тогда как на 14 сут происходило дальнейшее снижение доли позитивных нейронов до 31%. Даже на 30 сут после ТЧМТ доля типированных нейронов к NSE в СМК оставалась статистически значимо выше, чем в контроле - 21% (рис. 30).

В слое V СМК статистически значимое увеличение доли NSE-позитивных нейронов отмечалось уже на 3 сут после ТЧМТ и составляло 46%. В отличии от III слоя относительное содержание этого маркера в слое V СМК на 1 сут превышало полученные данные на 6% соответственно. В дальнейшем происходило резкое снижение доли нейронов на 7 и 14 сут после ТЧМТ: 35 и 31%, но восстановление показателя до уровня контрольных значений не происходило даже на 30 сут после травматизации (рис.30).

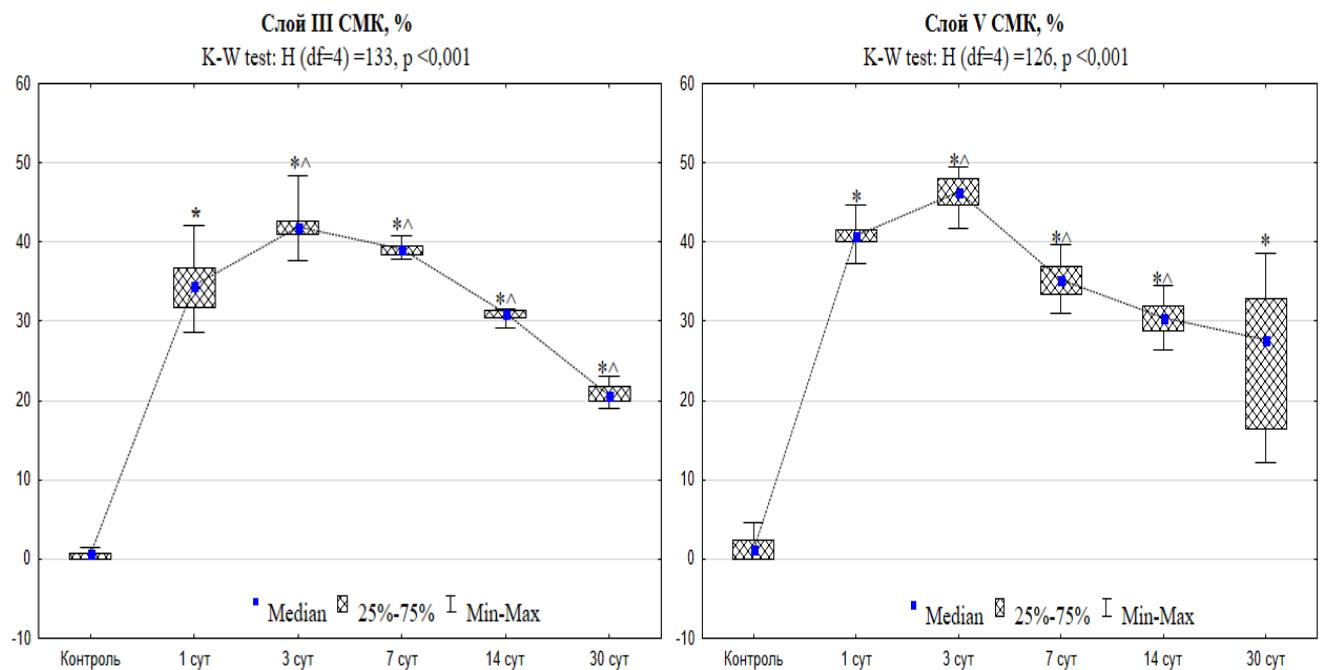


Рис. 30. Доля (%) NSE позитивных нейронов в слоях III и V СМК у контрольных животных и после ТЧМТ. * – сравнение с контролем ($p < 0,001$), ^ – с предыдущим сроком ($p < 0,001$; Mann-Whitney U-test), различия статистически значимы при $p \leq 0,01$. Материал представлен, как медиана (Median) (Q_2), 25-75% квартили (Q_1 - Q_3) и диапазон без выбросов (Min-Max). K-W test – Kraskel-Wallis test (сравнение по срокам после ТЧМТ).

Неоднородная степень экспрессии NSE-позитивного материала прослеживалась и областях исследования гиппокампа (CA₁ и CA₃). Относительное повышенное содержание NSE-позитивных нейронов в CA₁ (относительно ОЧПН на 1 мм²) отмечалось только через 14 сут после ТЧМТ и составило 25%, тогда как в поле CA₃ это происходило уже на 1 сут - 23% [Шоронова А.Ю. и др., 2023]. Статистически значимое уменьшение относительного содержания этого маркера проявлялось уже на 7 сут в CA₁ и 14 сут в CA₃ полей гиппокампа: 12 и 14%. По сравнению с 1 сут через 3 и 7 сут после ТЧМТ в гиппокампе происходило уменьшение доли NSE-типованных нейронов в обеих областях, но и через 30 сут после ТЧМТ содержание меченых нейронов превышало уровень контрольных значений на 18-20% (рис. 31).

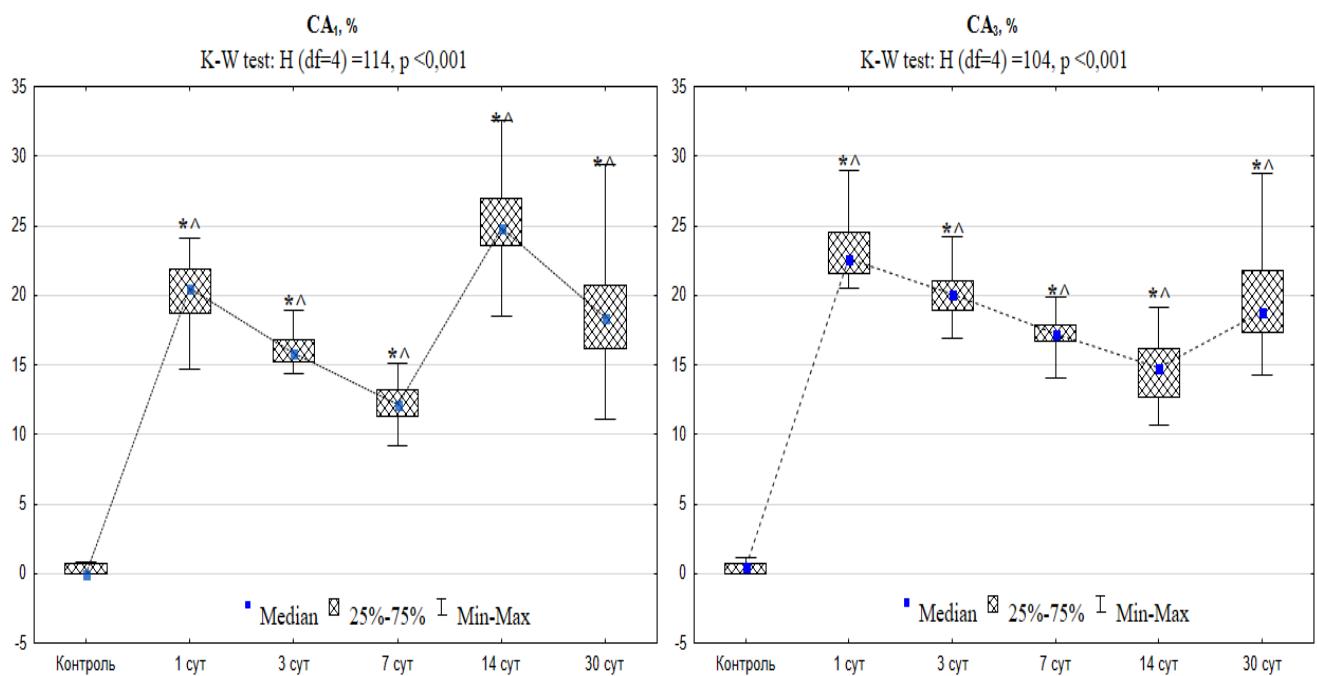


Рис. 31. Доля (%) NSE позитивных нейронов в CA₁ и CA₃ гиппокампа у контрольных животных и после ТЧМТ. * – сравнение с контролем ($p < 0,001$), ^ – с предыдущим сроком ($p < 0,001$; Mann-Whitney U-test), различия статистически значимы при $p \leq 0,01$. Материал представлен, как медиана (Median) (Q_2), 25-75% квартили (Q_1 - Q_3) и диапазон без выбросов (Min-Max). K-W test – Kraskel-Wallis test (сравнение по срокам после ТЧМТ).

Результаты морфологических и морфометрических исследований нервной ткани двух отделов головного мозга (СМК, гиппокампа) показали статистически значимые изменения доли типированных нейронов к этому маркеру на всем протяжении посттравматического периода. Следовательно, сравнительная характеристика полученных данных экспрессии NSE в СМК и гиппокампе, свидетельствует о разной степени типирования нервной ткани в ответ на повреждение, как на разных сроках исследования в пределах одной или двух областей изучения, так и в двух отделах головного мозга.

Парный корреляционный анализ (Spearman's rank correlation test) показал, что между содержанием NSE-позитивных и ГНН после ТЧМТ в головном мозге белых крыс существовала сильная положительная связь ($R=0,87$; $p=0,0001$), а между NSE-позитивными и ГСН – положительная связь средней силы ($R=0,61$; $p=0,0001$). Мы полагаем, что это связано с разной долей необратимо поврежденных нейронов и низкой метаболической активностью среди ГНН и ГСН. То есть, ГНН имели больший адаптационный потенциал за счет активации NSE. Это, вероятно, свидетельствует о том, что все метаболические резервы реактивно измененных клеток были мобилизованы для компенсаторно-репаративной реорганизации нейронной сети в неокортике и гиппокампе после ЧМТ. Динамика изменений содержания NSE-позитивных нейронов после ЧМТ отражала, с одной стороны, необратимость разрушения ткани головного мозга, а с другой - наличие резервов для долгосрочной адаптации к потере части нейронов [Шоронова А.Ю. и др., 2023].

После тяжелой ТГМ в неокортике прослеживалась неоднородная перестройка нейроглиоцитов, что нашла подтверждение при изучении гистологических препаратов сенсомоторной коры и гиппокампа, окрашенных иммуногистохимическими реагентами. Как известно кальций-связывающий белок (IBA1), специфичный для микроглии, присутствует в телах и отростчатых ветвлениях микроглиоцитов, отвечая за перестройку их цитоскелета и активацию, что позволяет проследить за их функциональной активностью. В соответствии с иммуногистохимическим анализом на IBA1 в двух слоях неокортиекса (III и V) и двух зонах гиппокампа (CA₁ и CA₃) происходила пространственная перестройка

отростков фагоцитирующих микроглиоцитов путем изменения форм глиальных клеток от округлой до овальной (рис. 32, 33, 34, 36,37).

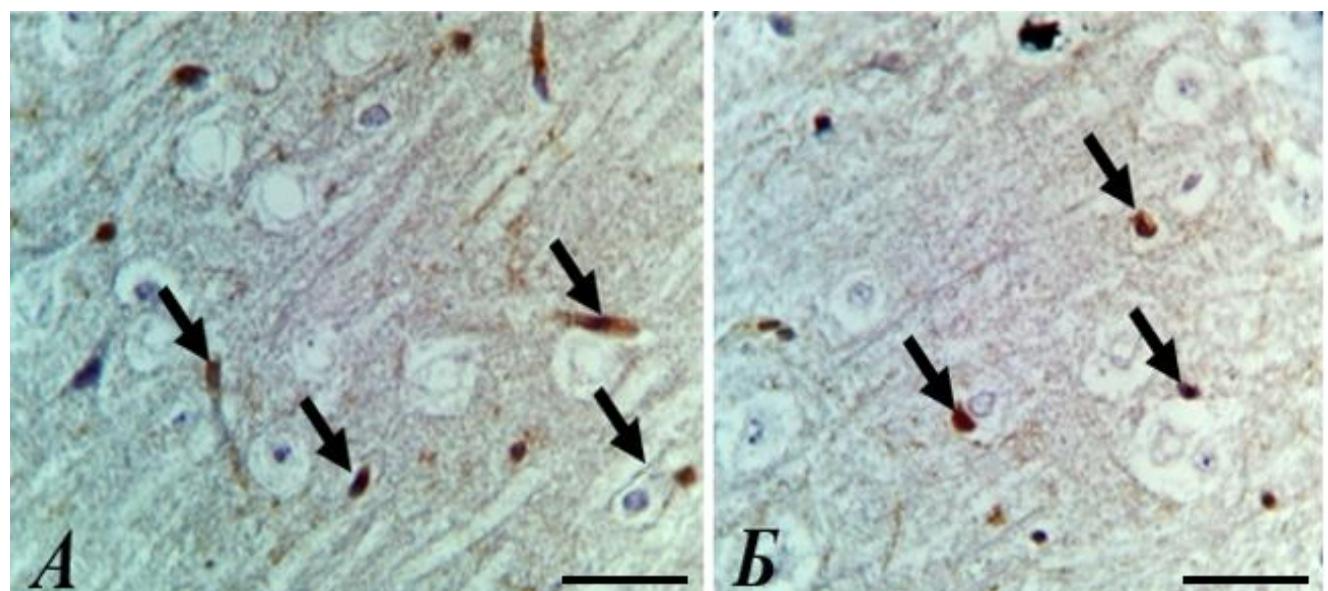


Рис.32. Фрагмент слоя III (A) и V (Б) СМК при реакции на IBA1, через 1 сут после ТЧМТ: микроглиоциты с высокой плотностью типированного белка – черные стрелки. Иммуногистохимия IBA1, докраска гематоксилином. Объектив: $\times 100$; шкала – 20 мкм.

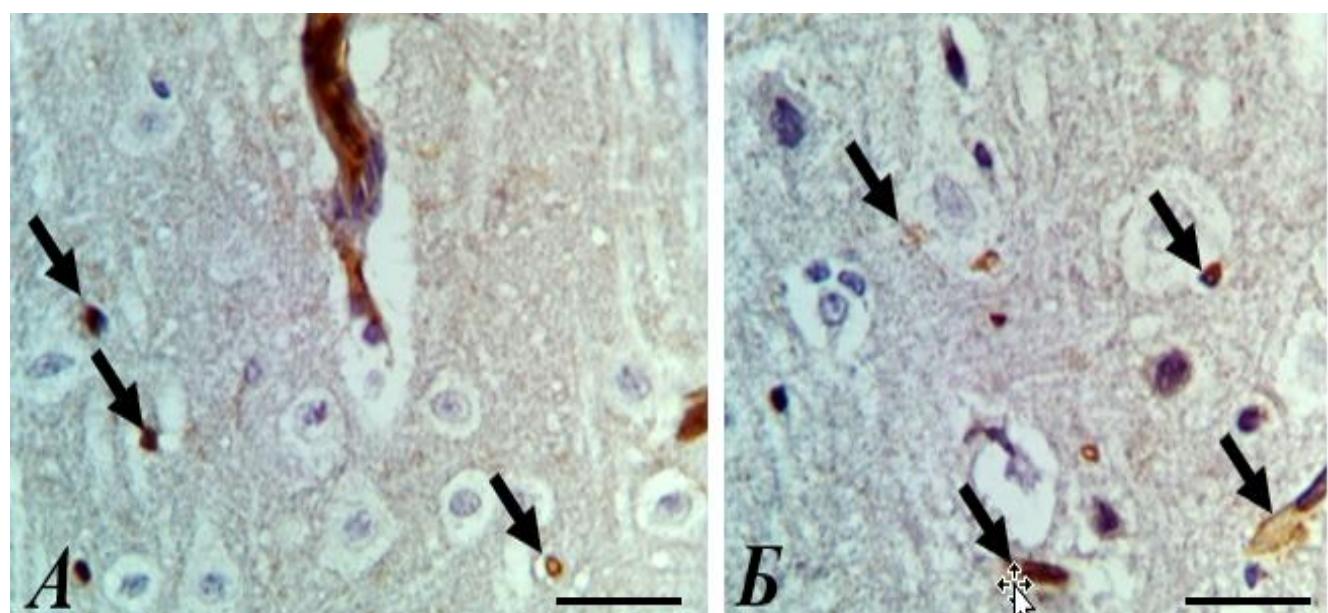


Рис.33. Фрагмент слоя III (A) и V (Б) СМК при реакции на IBA1, через 7 сут после ТЧМТ: микроглиоциты с высокой плотностью типированного белка – черные

стрелки. Иммуногистохимия *IBA1*, докраска гематоксилином. Объектив: $\times 100$; шкала – 20 мкм.

Повышение содержания фагоцитирующих микроглиоцитов СМК (слой III) наблюдалось на 1 сут (16%) и 3 сут (9%). Затем наблюдалось снижение процента активированных форм микроглии на срок до 30 сут после ТЧМТ (рис. 35). При этом статистические колебания в слое V СМК (рис. 36) свидетельствовали об изменении свойств пролиферативной активности микроглиоцитов. Однако на протяжении всего изучаемого срока исследования восстановление показателя в изучаемых областях СМК и гиппокампа не происходило (рис. 35, рис. 38), что подтверждает высокую степень активации этих клеток в связи с их фагоцитарной функцией в ответ на травматическое повреждение.

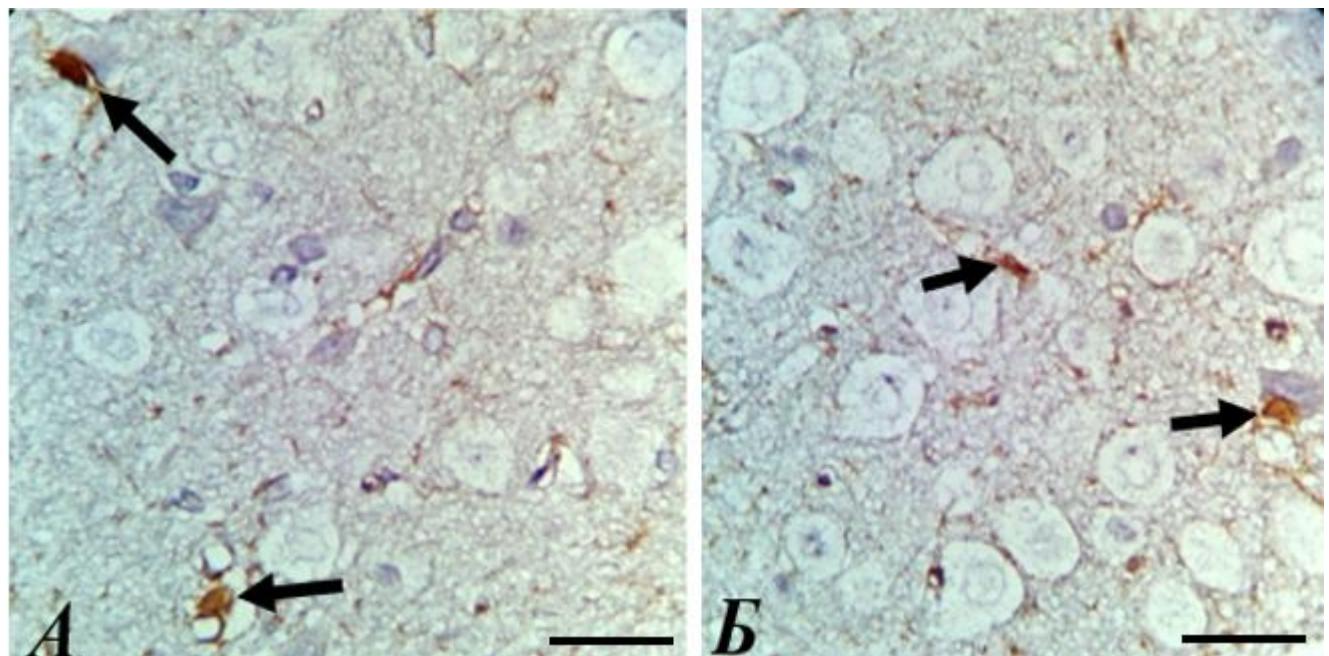


Рис.34. Фрагмент слоя III (А) и V (Б) СМК при реакции на *IBA1*, через 30 сут после ТЧМТ: микроглиоциты с высокой плотностью типированного белка – черные стрелки. Иммуногистохимия *IBA1*, докраска гематоксилином. Объектив: $\times 100$; шкала – 20 мкм.

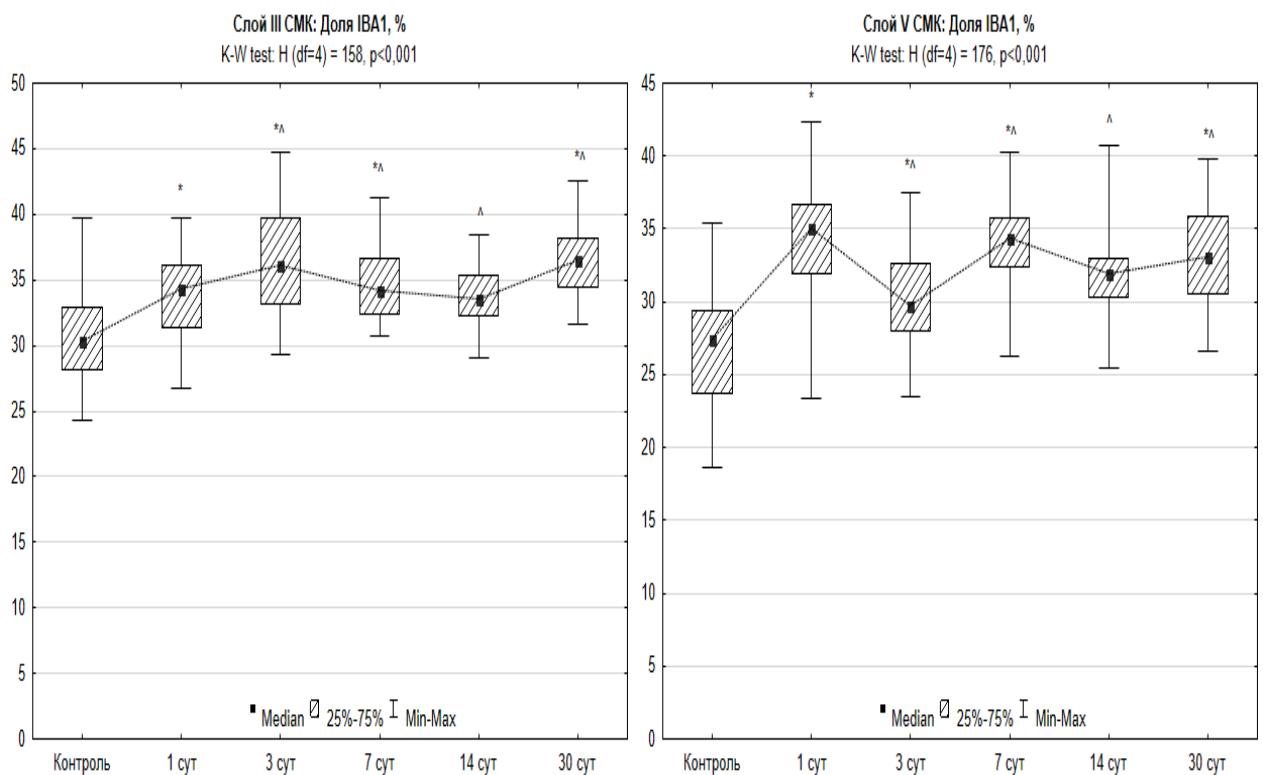


Рис. 35. Доля (%) IBA1 позитивных микроглиоцитов в слоях III и V СМК у контрольных животных и после ТЧМТ относительно ОЧПГК. * – сравнение с контролем ($p < 0,001$), ^ – с предыдущим сроком ($p < 0,001$; Mann-Whitney U-test), различия статистически значимы при $p \leq 0,01$. Материал представлен, как медиана (Median) (Q_2), 25-75% квартили (Q_1-Q_3) и диапазон без выбросов (Min-Max). K-W test – Kraskel-Wallis test (сравнение по срокам после ТЧМТ).

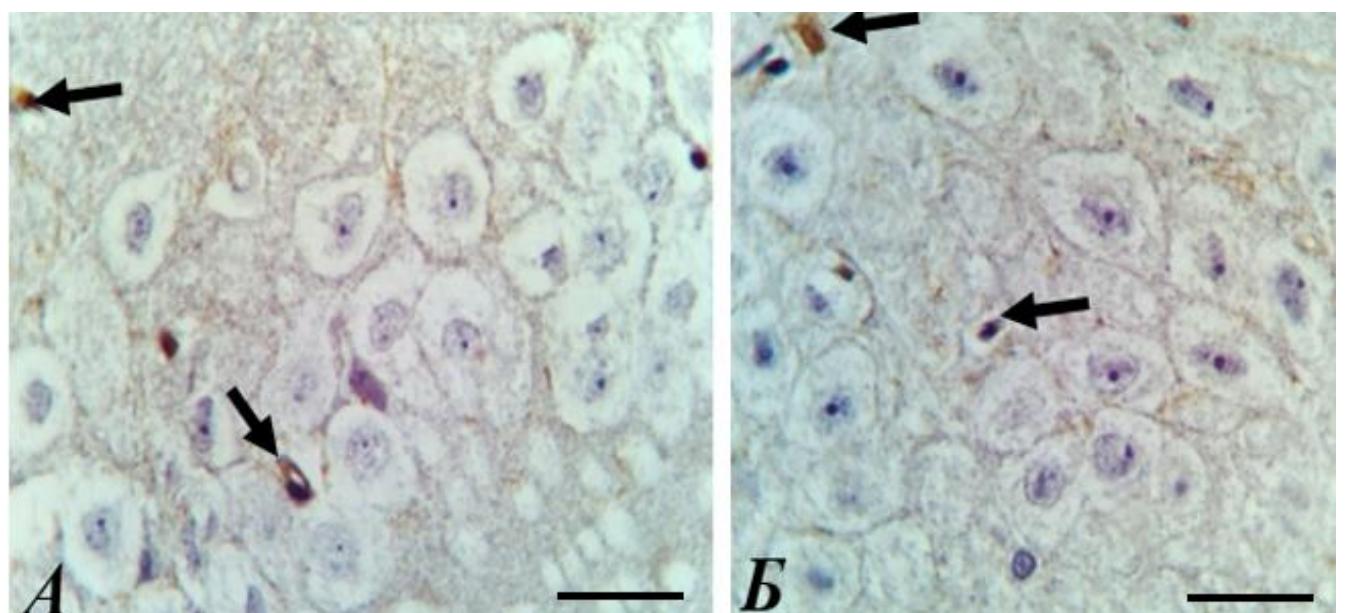


Рис.36. Фрагмент поля CA_1 (A) и поля CA_3 (Б) гиппокампа при реакции на IBA1, через 1 сут после ТЧМТ: микроглиоциты с высокой плотностью типированного белка – черные стрелки. Иммуногистохимия IBA1, докраска гематоксилином. Объектив: $\times 100$; шкала – 20 мкм.

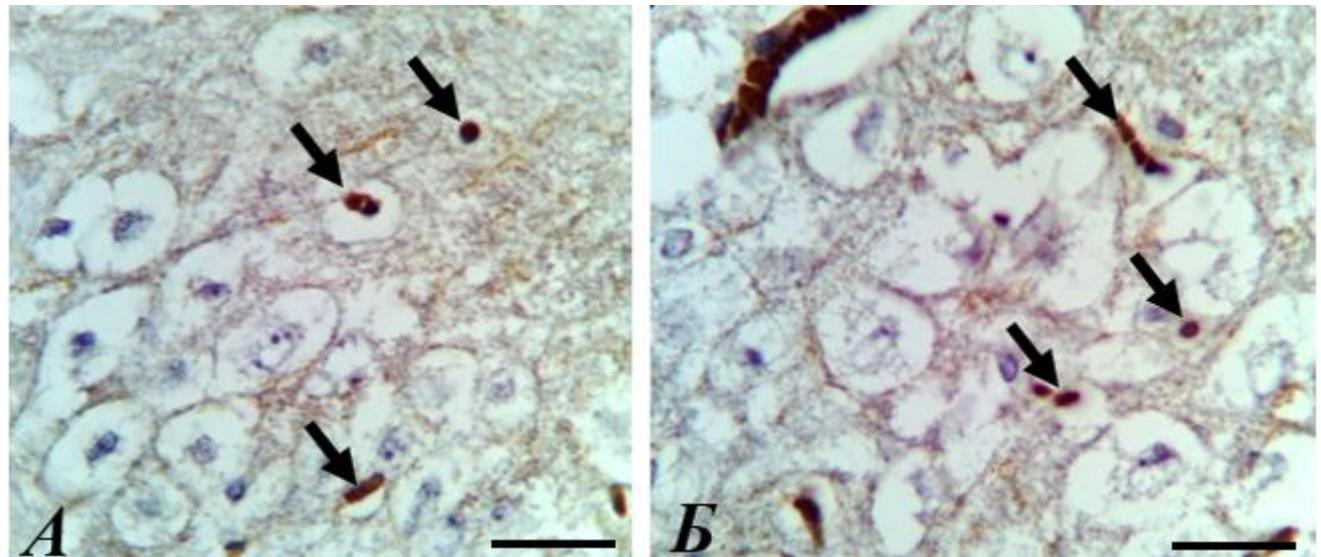


Рис.37. Фрагмент слоя III (A) и V (Б) СМК при реакции на IBA1, через 7 сут после ТЧМТ: микроглиоциты с высокой плотностью типированного белка – черные стрелки. Иммуногистохимия IBA1, докраска гематоксилином. Объектив: $\times 100$; шкала – 20 мкм.

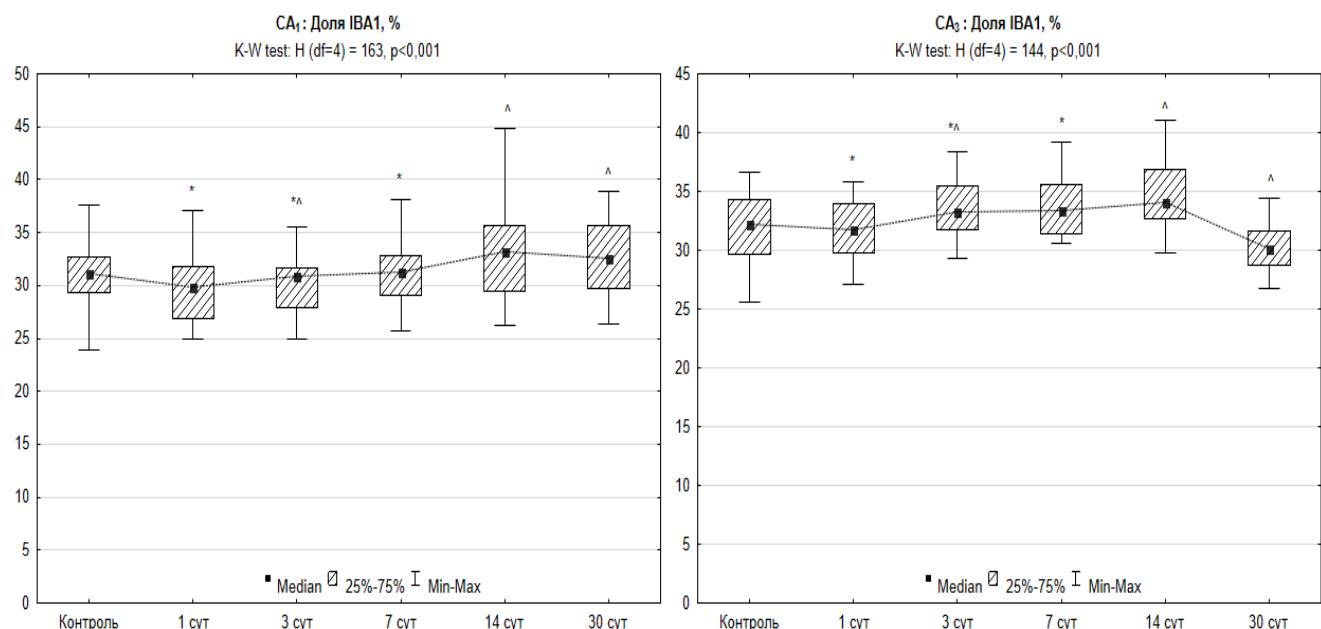


Рис. 38. Доля (%) IBA1 позитивных микроглиоцитов в CA_1 и CA_3 гиппокампа у контрольных животных и после ТЧМТ относительно ОЧПГК. * – сравнение с

контролем ($p < 0,001$), \wedge – с предыдущим сроком ($p < 0,001$; Mann-Whitney U-test), различия статистически значимы при $p \leq 0,01$. Материал представлен, как медиана (Median) (Q_2), 25-75% квартили (Q_1-Q_3) и диапазон без выбросов (Min-Max). K-W test – Kraskel-Wallis test (сравнение по срокам после ТЧМТ).

При экспрессии глиального фибриллярного протеина в контроле отмечалось умеренное содержание равномерно распределённого хромогена с максимальной концентрацией вокруг кровеносных капилляров (рис.39). Астроциты имели круглую форму и содержали GFAP в узкой полоске цитоплазмы вокруг ядра. Этот тип глиоцитов обнаруживали в тесном контакте с перикарионом, но не в самом перикарионе. Тела и отростки астроцитов представлены в виде сети, заполняющей пространство между перикарионами СМК.

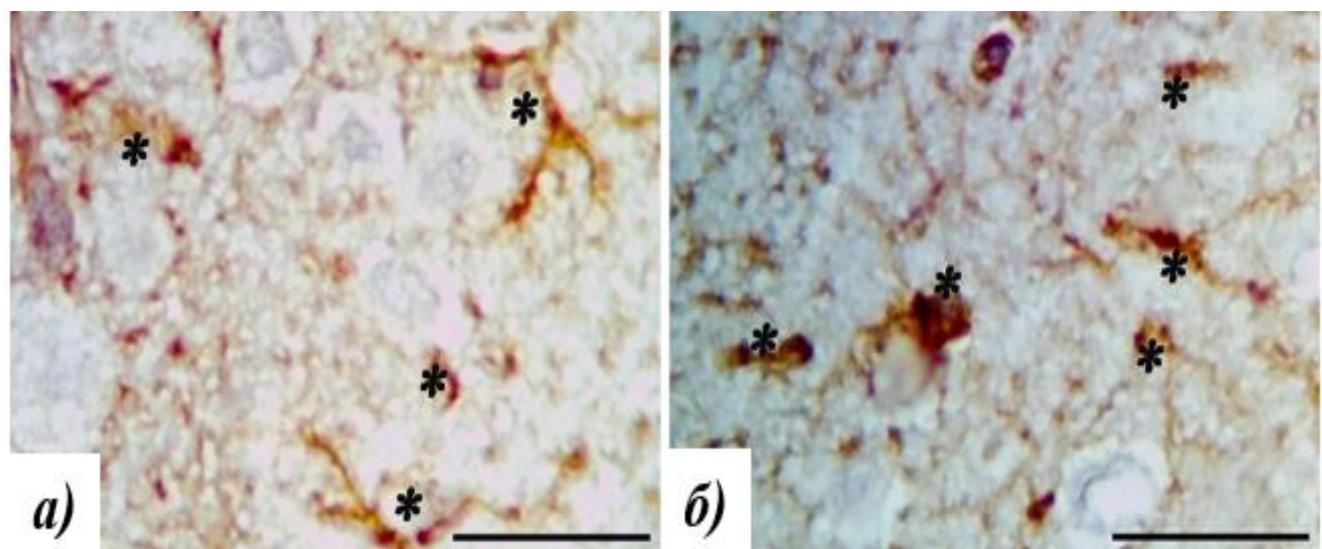


Рис. 39. Слой III СМК (а) и слой V СМК (б) контрольной группы: преобладают участки умеренного содержания GFAP-позитивных клеток (*). Окраска: иммуногистохимическая реакция на GFAP. Объектив: $\times 100$, шкала – 25 мкм

На гистологических препаратах в слое III и V СМК, окрашенных с помощью GFAP, встречались оба вида астроцитов, причем протоплазматические характеризовались наличием достаточно крупного тела с короткими и толстыми

отростками, а волокнистые наоборот – маленьким телом с длинными и тонкими отростками (рис.40).

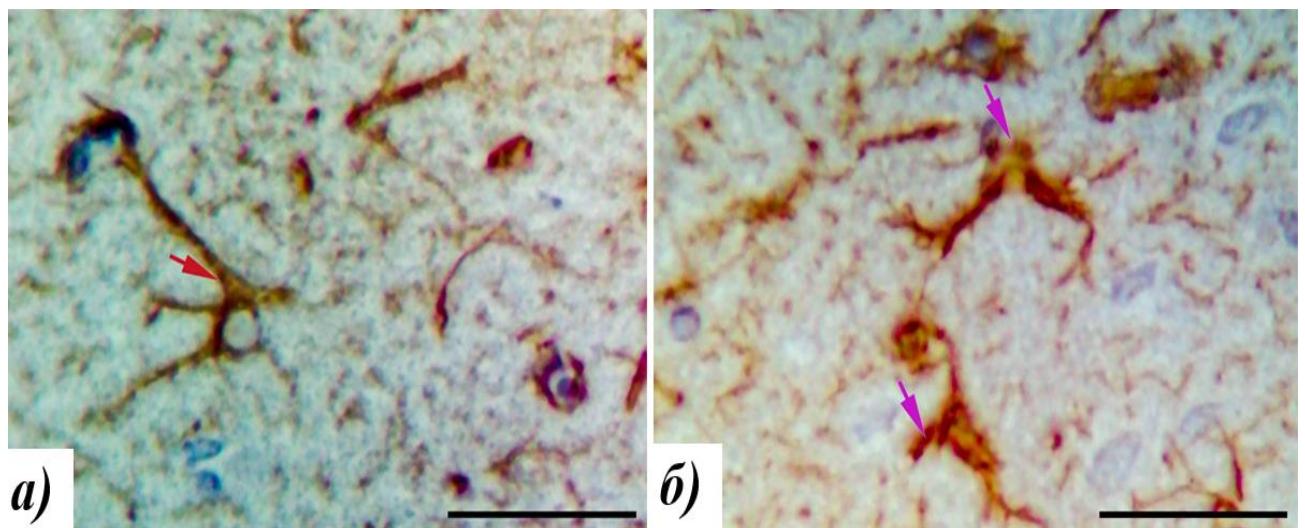


Рис. 40. Фрагменты СМК (а, б) через 3 сут после ТЧМТ: волокнистый астроцит – красная стрелка, протоплазматические астроциты – розовые стрелки. Окраска: иммуногистохимическая реакция на GFAP. Объектив: $\times 100$, шкала – 25 мкм.

Форма отростков и степень заполнения ими окружающего пространства нейропиля значимо различались на разных сроках посттравматического периода (рис.41). Астроциты имели характерный вид древовидной структуры, занимающей пространственную область, в которой на фронтальных срезах было видно тело клетки с отростками.

Учитывая пространственные и временные особенности реакции клеток на травму, логично предположить, что в патологически измененной СМК формируются сложные клеточные системы, включающие нейроны и глиальные клетки с точки зрения клеточно-фагоцитозных и других видов взаимоотношений. При этом каждый тип глиальных клеток играет особую роль в этих взаимоотношениях: астроциты - обеспечивают поддержку нейронов, регулируя содержание ионов и нейромедиаторов в экстрацеллюлярной среде, участвуя в поддержании гематоэнцефалического барьера; олигодендроциты - отвечают за

миелинизацию нейронов, что способствует улучшению передачи нервных импульсов; микроглиоциты - обеспечивают фагоцитоз и удаление некротических клеток и патогенов, с другой стороны, могут секретировать различные цитокины и факторы роста, которые могут как способствовать восстановлению, так и вызывать воспаление. Все вместе они, вероятно, обеспечивали адаптацию и репаративную реорганизацию нервной ткани в целом. Вместе эти клеточные типы создают сложную среду, которая влияет на исход травмы. Например, если реакция глиальных клеток будет чрезмерной или неправильной, это может привести к хроническому воспалению и развитию нейродегенеративных заболеваний. Напротив, оптимальная реакция может способствовать восстановлению функции и структурной целостности поврежденной области ЦНС.

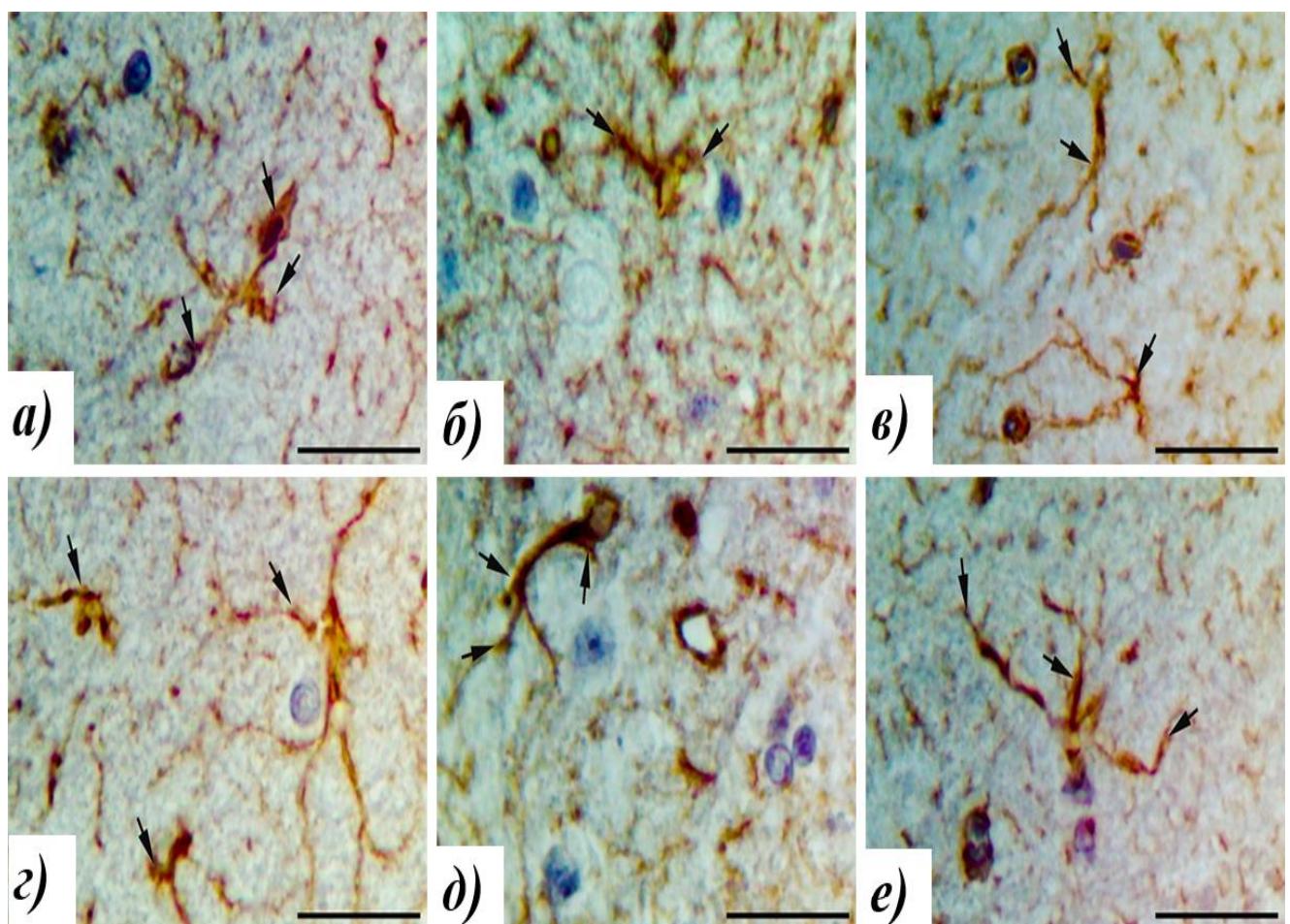


Рис.41. Слой III CMK (а, б, в) и слой V CMK (г, д, е) через 1 (а, г), 7 (б, д), 14 (в, е) сут после ТЧМТ. Разная степень гипертрофии отростков астроцитов – черные

стрелки. Окраска: иммуногистохимическая реакция на GFAP. Объектив: $\times 100$, шкала – 20 мкм.

Для изучения пространственной реорганизации отростков астроцитов после ТЧМТ использован метод фрактального анализа их бинарных изображений. Установлено, что после ТЧМТ показатели, характеризующие отростки, как пространственный объект, статистически значимо изменялись в сравнении с контролем и в посттравматическом периоде между сроками. При этом наиболее сильно изменялась фрактальная размерность в слое III СМК (рис. 42). В течение 14 сут показатель был меньше контрольного значения, а в слое V СМК к этому времени он уже восстанавливался. Для слоя III была характерна и самая высокая лакунарность после ТЧМТ. В совокупности все это свидетельствовало о более высокой реактивной реорганизации отростков астроцитов мелкоклеточного слоя III. Ранее нами установлено, что именно для этого слоя характерно и максимальное повреждение пирамидных нейронов.

Морфометрический анализ верифицированных с помощью иммуногистохимической реакции на синаптофизин синаптических терминалей, показал, что их численная плотность через 1 сут после ТЧМТ в разных слоях СМК уменьшалась в 1,5-2 раза. В большей степени страдали синапсы слоев III и V СМК мозга. Данный показатель межнейронных взаимоотношений оставался на уровне ниже контрольного в течение всего периода наблюдения (рис. 43). Однако были выявлены статистически значимые различия между сроками по всем слоям СМК, что свидетельствовало об изменении баланса процессов деструкции и восстановления синаптического пула после ТЧМТ. Вполне вероятно, что после травмы активировались не только процессы повреждения терминалей, но и процессы синаптической пластичности. Вероятно, в течение 30 сут посттравматического периода в поврежденных нейронах СМК не было достаточных энергетических и пластических резервов, необходимых для завершения компенсаторно-восстановительной реорганизации межнейронных отношений.

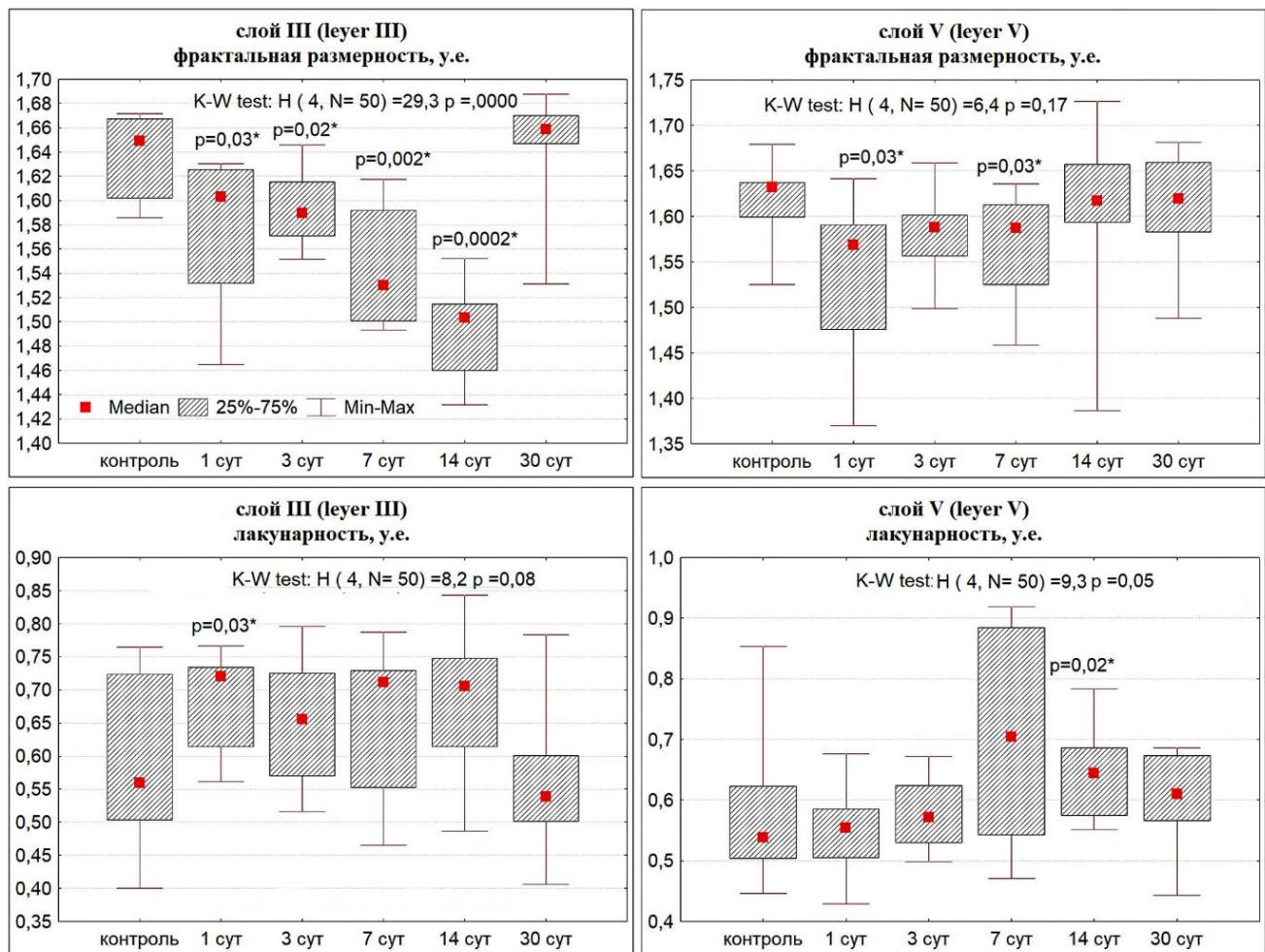
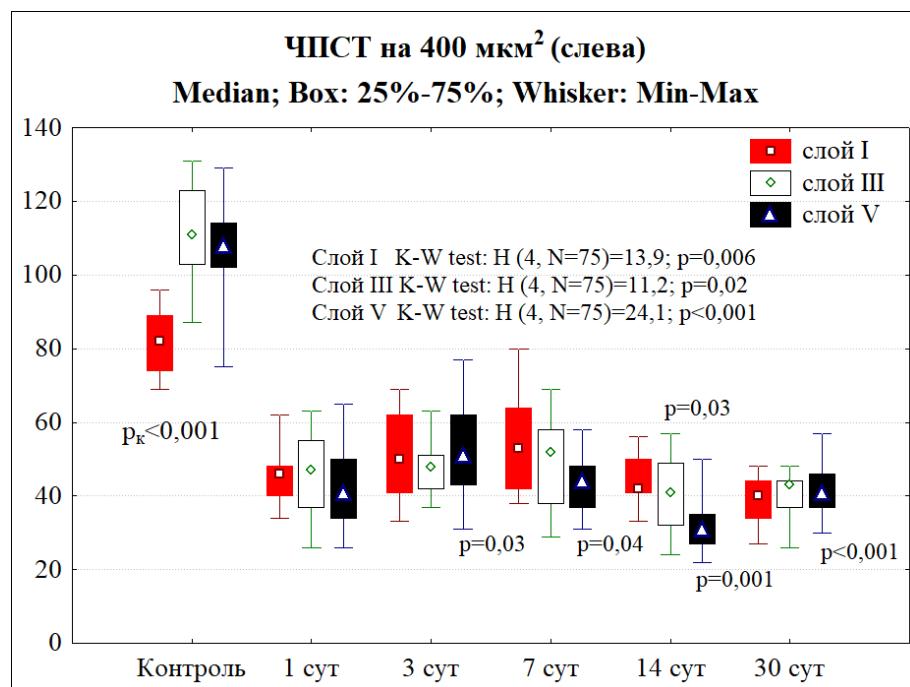


Рис. 42. Показатели фрактального анализа отростков астроцитов в слоях III и V СМК в контроле и посттравматическом периоде. Различия статистически значимы в сравнение с контролем (Mann-Whitney U-test, $p < 0,05$). Медиана (Q_2), 25-75% квартили (Q_1 - Q_3) и Min-Max. K-W test – Kraskel-Wallis test (сравнение всех сроков после травмы).

ТЧМТ, вероятно, приводила к появлению право-левосторонней асимметрии морфофункциональных изменений синапсов полушарий СМК. Об этом свидетельствовали выявленные нами статистически значимые различия общей численной плотности синаптических терминалей через 1 сут (в слое I; $p=0,002$) и через 14 сут (в слое III, $p=0,01$; в слое V, $p=0,038$; критерий Вилкоксона, $p=0,002$) после травмы (рис. 43). В контроле различий не было. Изменения подобного рода

можно объяснить неравномерностью механического воздействия свободно падающего груза.

Результаты, полученные в процессе иммуногистохимического анализа p38, могут быть интерпретированы, как проявления отека и набухания терминалей, а также агглютинации и разрушения синаптических пузырьков. Кроме того, это может свидетельствовать о полной деструкции синапса в целом, что происходит с участием активированных микроглиальных клеток. В основном эти изменения наблюдались в III слое головного мозга, который отличался, как наиболее сильным повреждением нейронов, так и значительной активацией глиоцитов путем увеличения их членной плотности. Таким образом, после ТЧМТ в течение всего периода наблюдения (30 сут) сохранялись предпосылки для повреждения синапсов и биологически обусловленной неизбежности активации репаративного синаптогенеза, лежащего в основе восстановления функций мозга путем перестройки нейронных сетей.



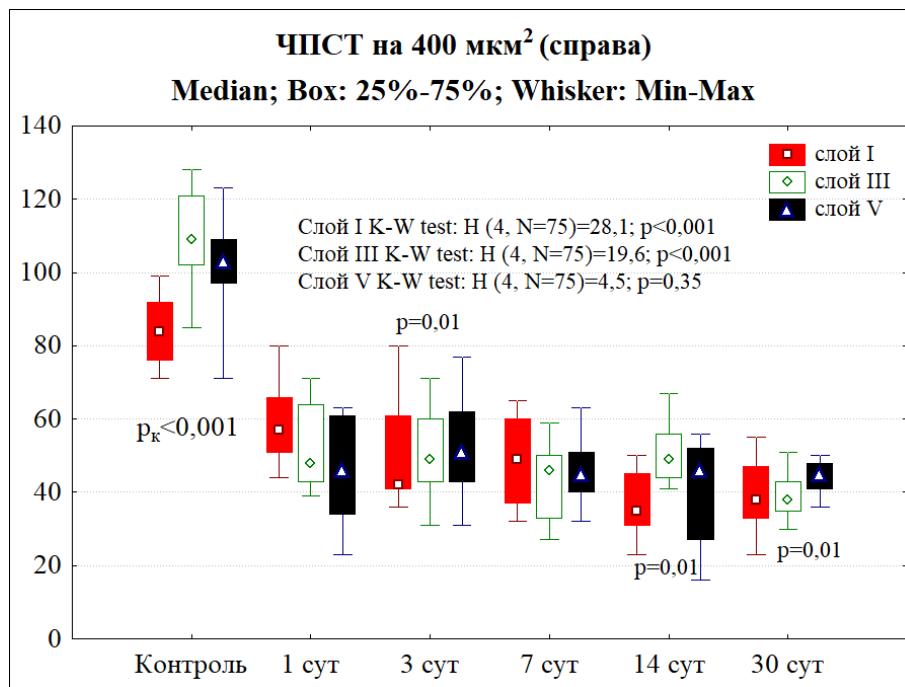


Рис.43. Численная плотность синаптических терминалей (реакция на синаптофизин) в нейропиле разных слоев СМК (левое и правое полушарие) у контрольных животных и после тяжелой черепно-мозговой травмы. K-W test – множественное сравнение временных подгрупп основной (травма) группы (критерий Краскела-Уоллиса). p_k – различия между контролем и всеми сроками статистически значимы при $p < 0,001$ (критерий Манна-Уитни).

При сравнительном изучении морфометрических показателей структурной организации СА₁ и СА₃ необходимо учитывать, что у белых крыс в норме в этих отделах существенно отличается не только гисто- и цитоархитектоника, но и синаптоархитектоника. Гиппокамп содержит 3 важных клеточных слоя: полиморфный слой, пирамидный слой нейронов и молекулярный слой. Апикальные дендриты расположены в stratum radiatum, а их передний конец и концевые ответвления расположены в stratum lacunosum молекулярного слоя. В области СА₃ выделяется небольшая светлая область (stratum lucidum), которая состоит из дендритов пирамидных нейронов и больших синаптических контактов, образованных аксонами мицистых волокон. В поле СА₁ гигантские синапсы практически не встречались, поэтому сравнивать можно только нейропиль похожих зон – stratum lacunosum и radiatum (рис. 44).

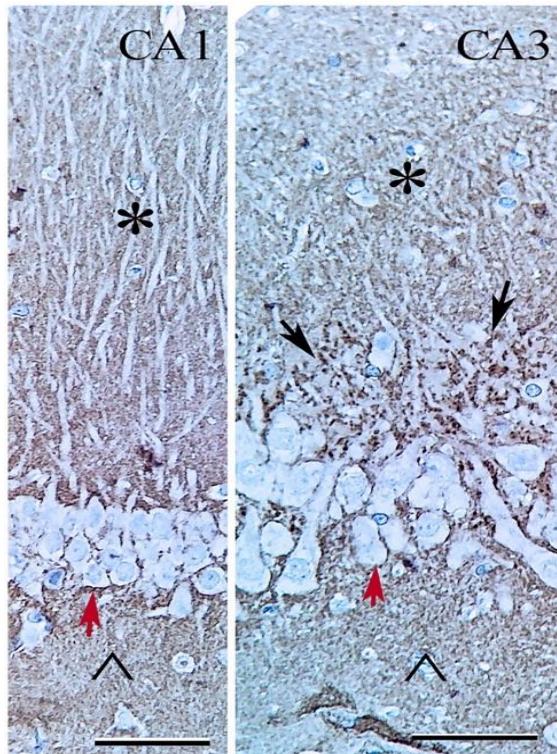


Рис. 44. Распределение синаптофизина (синаптические терминали) в CA₁ и CA₃ гиппокампа белой мыши контрольной группы. * – зона молекулярного слоя (в CA₁ преобладает stratum radiatum, в CA₃ видна большая часть stratum lacunosum); черные стрелки – stratum lucidum, содержащий крупные терминали; красные стрелки – слои пирамидных нейронов; ^ – полиморфный слой. Иммуногистохимическая реакция на синаптофизин. Объектив: ×40, шкала – 50 мкм.

При иммуногистохимическом исследовании, для оценки влияния травмы на межнейронные связи, сравнение численной плотности терминалей в нейропиле stratum lacunosum CA₁ и CA₃ после ТЧМТ проводили в относительных единицах (относительно контроля соответствующего отдела) (рис. 44, 45).

Типирование терминалей осуществляли с помощью реакции на синаптофизин (p38) – специфический везикулярный гликопротеин синапсов, участвующий в экзоцитозе синаптических пузырьков. В контроле (область интереса ROI, 20×20 мкм) выявлялось 100-160 меченых терминалей (рис. 45). Для их морфометрии использовали плагин FindFoci из программы Image 1.53.

Измерения проводили на инвертированных 8-битных изображениях, что позволило, кроме количества, оценить и яркость (содержание меченого материала) каждой терминали (рис. 46). В контроле преобладали терминали с высоким уровнем содержания синаптофизина (рис. 46, наиболее яркие частицы).

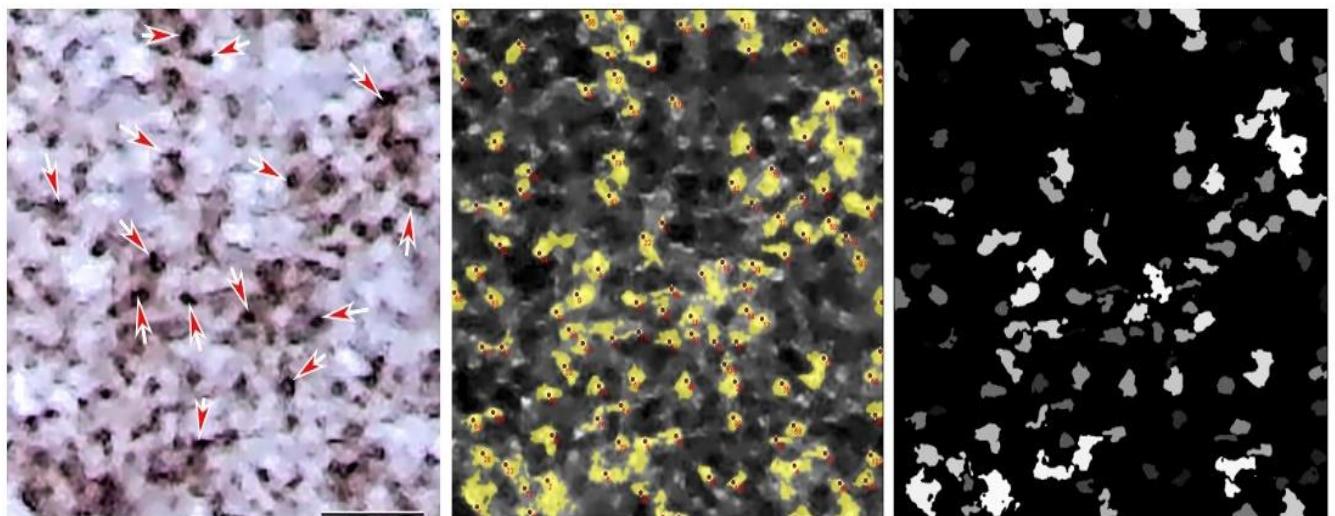


Рис. 45. Синаптические терминали (стрелки) в нейропиле молекулярного слоя гиппокампа в поле CA₁ белой крысы контрольной группы. Типирование синаптофизина. Объектив: $\times 100$, шкала – 5 мкм; маски изображения с указанием количества терминалей и уровня яркости каждой терминали в градации серого (0-255) на инвертированных изображениях (плагин *FindFoci ImageJ 1.53*).

По данным проведенного таким образом морфометрического анализа установили, что в нейропиле молекулярного слоя CA₁ и CA₃ через 1 сут после ТЧМТ ОЧПТ уменьшилась на 30–40% (критерий Манна-Уитни, $p=0,01$). Через 7 сут после ТЧМТ в CA₁ отмечена тенденция увеличения этого показателя ($p=0,01$), что не характерно для CA₃. Вероятно, это было связано с тем, что через 3 и 7 сут относительный показатель снижения ОЧПТ в CA₃ был соответственно на 10 и 20% больше, чем в CA₁ (рис. 46).

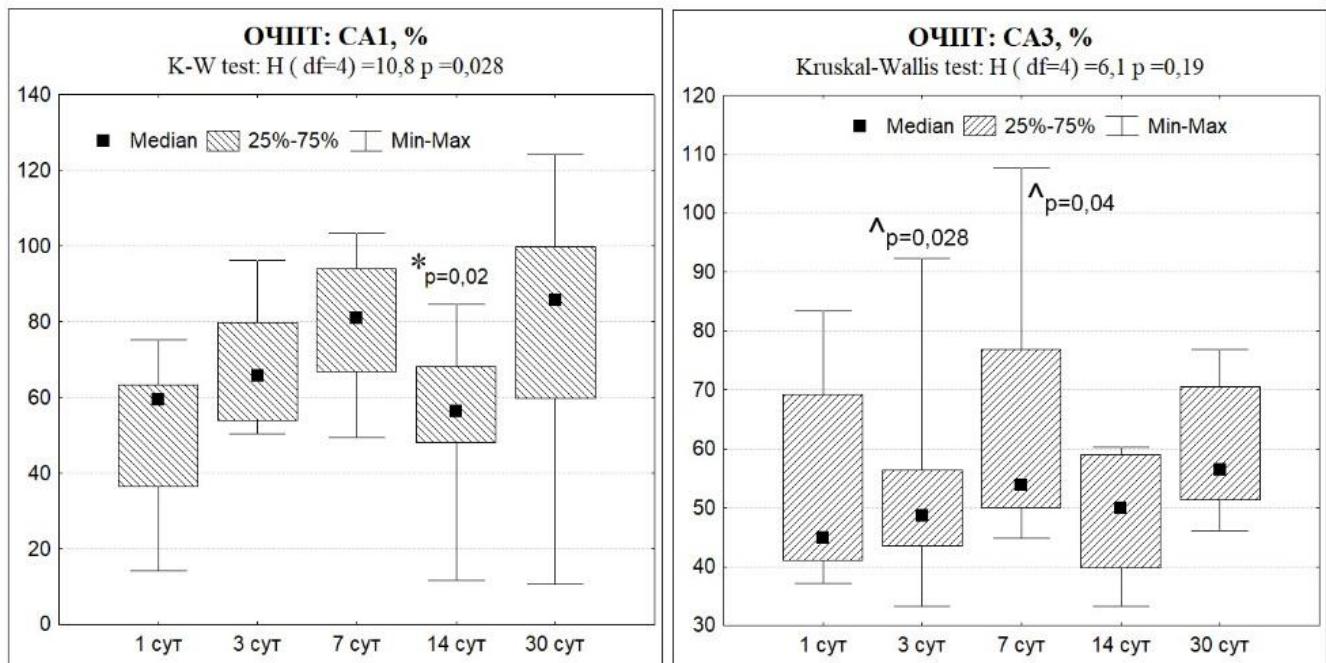


Рис. 46. Общая численная плотность (относительно контрольного значения, 100%) всех *p38*-позитивных терминалей (ОЧПТ) в *stratum lacunosum* и *stratum radiatum* молекулярного слоя *CA₁* и *CA₃* гиппокампа белых крыс после тяжелой черепно-мозговой травмы, *Q₂* (*Q₁-Q₃*) и Min-Max. Примечание. *Различия в сравнении с предыдущим сроком (критерий Манна-Уитни), между всеми сроками (ANOVA Краске-Уоллиса), ^ между *CA₁* и *CA₃* (критерий Вилкоксона) статистически значимы при *p* < 0,05.

Таким образом, несмотря на наличие некоторых различий динамики изменения ОЧПТ, в *stratum lacunosum* сравниваемых полей гиппокампа на протяжении всего периода наблюдения (30 сут) после ТЧМТ сохранялся значительный (20–40%) дефицит межнейронных синапсов. Необходимо отметить, что это наблюдалось при выраженных проявлениях гидропической дистрофии в нейронах и нейропиле СА₁ и СА₃. Ранее нами изучалась динамика изменения в посттравматическом периоде численной плотности гигантских терминалей в *stratum lucidum*, в которой аксональные терминали повреждались меньше, а восстанавливались более полно.

Несмотря на выявленные различия общие закономерности реорганизации межнейронных отношений в гиппокампе после ТЧМТ базируются на элиминации

излишних или поврежденных (гомеостатическая пластичность) синапсов и образовании новых синапсов (пластичностью Геббеса). Эти два вида пластичности взаимосвязаны, идут параллельно и непрерывно. Однако, необходимо учитывать специфику первичного повреждения и отдел гиппокампа.

После ТЧМТ компенсаторно-восстановительная реорганизация нейронных сетей гиппокампа происходила на фоне его структурно-функциональной недостаточности. Вероятно, в *stratum lacunosum* быстро формировались нестабильные новые синапсы, которые и быстро разрушались. Мы полагаем, что при этом какую-то роль играли разнообразные каспазы – протеолитические ферменты, относящихся к семейству цистеиновых протеаз. Эти ферменты активируются при ишемии и других патологических состояниях, инициируют апоптоз и протеолиз компонентов цитоскелета.

Таким образом, после ТЧМТ компенсаторно-восстановительная реорганизация нейронных сетей гиппокампа происходила на фоне его структурно-функциональной недостаточности. Вероятно, в *stratum lacunosum* быстро формировались нестабильные новые синапсы, которые и быстро разрушались. Мы полагаем, что при этом какую-то роль играли разнообразные каспазы – протеолитические ферменты, относящихся к семейству цистеиновых протеаз. Эти ферменты активируются при ишемии и других патологических состояниях, инициируют апоптоз и протеолиз компонентов цитоскелета.

Тем не менее, при исследовании одного из важнейших интегральных маркеров апоптоза – Caspase 3, в опытной группе после ТЧМТ, нами отмечались лишь единичные меченные нейроны в поле СА₁ с высокой активностью фермента в перикарионе. Основная часть ярко выраженных меток Caspase 3, как и в контроле, соответствовала нейропилию и поверхности нейронов (рис. 47).

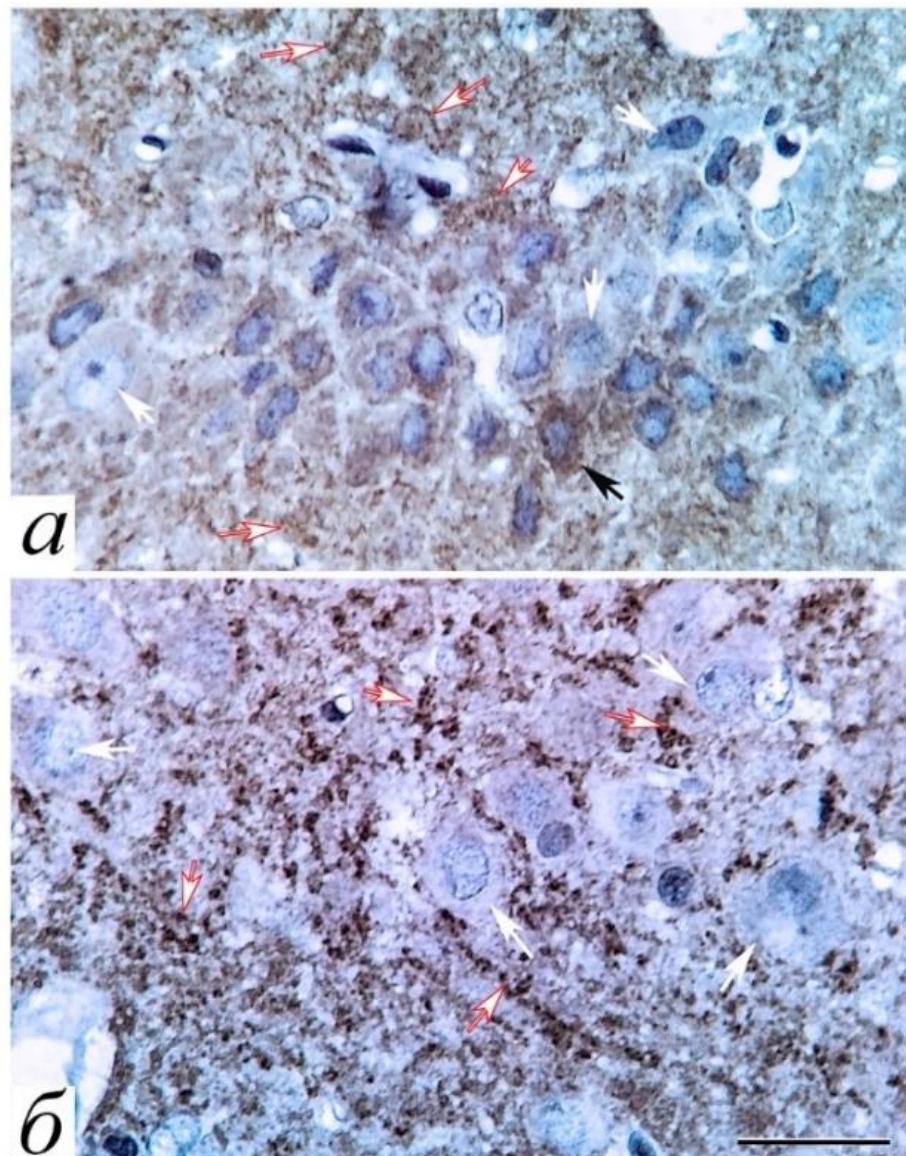


Рис. 47. Распределение (красные стрелки – высокая активность) Caspase 3 в CA₁ (а) и CA₃ (б) гиппокампа белой крысы из основной группы, через 1 сут после ТЧМТ. Белые стрелки – перикарионы пирамидных нейронов без признаков активности фермента; черные стрелки – единичные пирамидные нейроны с активной формой Caspase 3. Иммуногистохимическая реакция на Caspase 3. Объектив: ×100, шкала – 25 мкм.

Установлено, что активная форма Caspase 3 не проявлялась в телах нейронов с отеком-набуханием и вакуолизацией нейропиля. Вполне вероятно, что в этих поврежденных нейронах уровень АТФ был недостаточен для реализации энергозависимого процесса апоптоза и Caspase 3 переключалась на другие каскады

ферментативных реакций, например, связанных с протеолизом или нейропластичностью, реорганизацией синапсов. То есть, происходила своеобразная «защита» таких клеток от необратимой апаптозной дегенерации. Возможность реализации такого механизма защиты частично поврежденных дистрофических нейронов от апоптоза требует специального исследования.

Следовательно, можно предположить, что в гиппокампе, при данной модели, ТЧМТ инициирует преимущественно Caspase 3 – независимые пути повреждения нейронов. По локализации, в норме и после травмы, этот белок совпадал с синаптофизином – преимущественно в зонах синаптических терминалей. Выявленная в нейропиле высокая активность Caspase 3, вероятно, связана с участием этого фермента не в процессах повреждения, а, например, в функционировании и восстановлении межнейронных связей.

По литературным данным, известно, что Caspase 3 может принимать участие в обновлении актиновых филаментов, что важно для нормальной синаптической пластичности. Имеется подтверждение того, что реорганизация нейронального актинового цитоскелета важна для консолидации долговременной памяти и, вообще, функционирования синапсов. Именно динамические актиновые филаменты, как предполагают, участвуют в специфических аспектах синаптической пластичности. Практически все белки системы межнейронной коммуникации, включая актин, спектрин, тубулин, белок, ассоциированный с микротрубочками, являются субстратами каспаз и/или калпаина. Взаимодействие актина и спектрина играет важную роль в формировании дендритных шипиков зрелых нейронов. Актиновые филаменты также участвуют в регуляции синаптической активности путем регуляции размера, формы дендритов и синапсов, что в свою очередь влияет на синаптическую пластичность. Благодаря динамике актиновых филаментов возможно изменение структуры и функции синапсов, что позволяет нервной системе адаптироваться к изменяющимся условиям и обучению. Таким образом, динамические актиновые филаменты играют ключевую роль в синаптической пластичности, обеспечивая необходимую гибкость и подстраиваемость нервной системы под новые ситуации.

Пути участия различных каспаз в феноменах нейропластиности после ТЧМТ мало изучены в силу значительной сложности молекулярных взаимоотношений между патологическими и компенсаторно-восстановительными процессами. Весьма вероятно, что исследования в этом направлении дадут новые экспериментальные данные для поиска истины.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В последние годы заметно увеличилось количество публикаций, посвященных морфофункциональному состоянию структур головного мозга у экспериментальных животных вовремя и после травматического повреждения мозга [Blennow K. et al., 2016; Cole J. et al., 2018; Murray H. et al., 2022]. Изучение всех трех аспектов ремоделирования: нейроны, глия и сосуды позволяет более полно понять механизмы реакции нервной системы на различные факторы травматического воздействия [Pati S. et al., 2016; Xu S. et al., 2020; Li Z. et al., 2021]. Поэтому исследование структурной организи нейропиля сенсомоторный коры и гиппокампа помогает понять процесс развития нейропластичности [Schepici G. et al., 2020]. Многочисленные исследования уже дали определённые результаты, однако конкретных методов коррекции изменений в глиальных клетках для восстановления поврежденных нейронов вероятно недостаточно, некоторые из возможных подходов включают использование фармакологических препаратов, транспланацию глиальных клеток, стимуляцию регенерации нейронов с помощью факторов роста, несмотря на то, что результаты исследований в этой области продолжаются, ещё много требуется работы для разработки эффективных методов восстановления поврежденных нейронов [Esposito E. et al., 2014; Freeman L. et al., 2016; Jha R. et al., 2019; Doganyigit Z. et al., 2022].

Проблема заключается в том, что постоянная регуляция микроглиоцитов и астроцитов может препятствовать нормальному восстановлению тканей после тяжелой травмы [Verkhratsky A. et al., 2013]. Существует вероятность того, что макро- и микроглия участвуют в запуске воспалительного ответа и поддержании рецепторного аппарата в мозге, когда находятся в активной фазе, что влечет за собой торможение компенсаторно-восстановительных процессов и как следствие приводит к хроническому течению патологического процесса [Bisicchia E. et al., 2019, McDonough A. et al., 2020]. В результате этого торможения нейродегенеративный каскад, который должен быть запущен для восстановления поврежденных нейронов и синапсов, может быть заторможен, но при этом

постоянная активация микроглиоцитов и астроцитов может привести к высвобождению трофических факторов, противовоспалительных цитокинов и олигодендроцитов, что может быть, как положительным, так и отрицательным аспектом [Jamjoom A. et al., 2021; Roque C et al., 2021]. В случае переизбытка этих факторов возникает нежелательная реакция, приводящая к дальнейшим процессам дегенерации, т.е. необходимо балансировать активацию микроглиоцитов и астроцитов после тяжелой травматизации, чтобы минимизировать риск развития хронического воспаления и нейродегенерации [Mishra A. et al., 2016, Jassam Y. et al., 2017, Li Z. et al., 2021].

Вопреки прогрессу в лечении черепно-мозговых травм, до сих пор не удалось найти нейропротекторы, которые могли бы предотвратить первичные и вторичные патоморфологические признаки повреждений головного мозга и способствовать его восстановлению [Marklund N. et al., 2019, Olson K. et al., 2023]. Дифференцировка стволовых клеток в нейроны и глиальные клетки имеет решающее значение при заместительной терапии нейродегенеративных заболеваний, но до сих пор не удалось найти способ получения достаточного количества клеточных линий для трансплантации в поврежденные участки мозга и улучшение функциональной активности нервной системы, только комплексный подход к заместительной терапии нейродегенеративных заболеваний может замедлить их прогрессирование за счет активации нейропротекторных механизмов [Arulsamy A. et al., 2018; Jha R. et al., 2019].

В данной работе был использован запатентованный способ моделирования черепно-мозговой травмы путем нанесения механического удара падающим грузом на затылочно-теменную область коры головного мозга [Патент № 27889004]. Согласно литературным обзорам многих авторов [Белошицкий В.В., 2008; Finnie J. et al., 2001], существуют различные модели ЧМТ [Романова Г.А. и др., 2015; Сысоев Ю.И., 2018; Hoogenboom W. et al., 2019], но несмотря на их схожие недостатки в плане быстрого спонтанного восстановления функций мозга и неоднородностью повреждений, расчет энергии удара и особенности конструкции нашей установки позволили выделить ряд преимуществ от

предыдущих аналогов, проявляющиеся в виде сохранения целостности мозговых оболочек и герметичности черепа головы крысы, а также моделированием тяжелого повреждения головного мозга, характеризующегося признаками нейровоспаления и когнитивных дисфункций.

Тяжесть черепно-мозговой травмы оценивали по уровню летальности, степени психоневрологического статуса и морфологическим изменениям цитоархитектоники в головном мозге. При оценке неврологического статуса крыс в контрольной и экспериментальной группах до травмы не было обнаружено существенных различий в показателях нарушения координации движений, тогда как на протяжении всего постравматического периода, показатель общего состояния (ПОС) соответствовал тяжелой степени неврологического дефицита, проявляющегося в виде признаков общего коматозного состояния, среди которых преобладало снижение двигательной активности вплоть до угнетения сознания с максимальной частотой встречаемости у экспериментальных животных (73,1%), что вероятно свидетельствует о нарушениях в работе центральной нервной системы, в следствие долговременного двигательного дефицита конечностей. Следовательно, выбор данного способа моделирования обусловлен тем фактом, что позволяет воспроизвести клиническую картину ТЧМТ в серии однородных экспериментов с высокой степенью летальности 47,3% для изучения цито- и синаптоархитектоники неокортекса и гиппокампа при помощи световой микроскопии, иммуногистохимических и морфометрических методов исследования.

Морфологическая сегментация объектов нашего исследования по зонам яркости осуществлялась при анализе цветных изображений отдельных однородных участков микрофотографий СМК и гиппокампа, полученных при гистологической окраске срезов головного мозга крыс тионином по методу Нисселя, используя плагин «Морфологические фильтры» программы ImageJ 1.8.0 из пакета «MorphoLibJ» и «Find Maxima». Считалось, что травма в мозге может привести к нарушению равновесия между водой и ионами внутри и вокруг нервных клеток, при этом в ответ на воздействие выделяется свободная вода, содержащая макромолекулы, которая заполняет межклеточные пространства, что и приводит к

отечной дистрофии [Zappala G. et al., 2012; Кошман И.П. и др., 2020, Zhang N. et al., 2023]. Результаты показывают, что свободный поток воды между нейронами и глиоцитами осуществляется в двух направлениях, при этом в одних случаях вода покидает нейрона только при расширении нейритов, а в других, она выходит в обоих направлениях, что может иметь определенные последствия исхода патологически измененных нейронов в результате повреждения.

В ответ на тяжелое травматическое повреждение нейроны, глиальные клетки, синапсы и компоненты микрососудистой сети двух исследуемых областей головного мозга реагировали одновременно. При этом одна и та же структура любого отдела мозга реагировала по-разному, учитывая степень и продолжительность воздействия повреждающего агента [Горбунова А.В. и др., 2020; Pavlovic D. et al., 2019;]. Поэтому при выборе двух областей исследования после ТЧМТ были приняты во внимание онтогенетические особенности развития мозга, позволяющий выделить нам неокортекс, как новую область коры, ответственную эволюционно за более сложные когнитивные функции, такие как мышление, речь, контроль поведения и адаптация к новым ситуациям, а с другой стороны – гиппокамп, как древнейшая область мозга, отвечающая за обучение, формирование и хранение долговременной памяти, а также за пространственную навигацию, играя важную роль в процессах обучения и запоминания информации [Бонь Е.И. и др., 2018; Ноздрачев А.Д. и др., 2001; Обухов Д.К., 2009; Germain N. et al., 2010]. Несмотря на то, что процессы онтогенеза гиппокампа и неокортекса имеют сходства в формировании связей между нейронами, они также имеют определенные отличия, заключающиеся в их функциональной специализации, времени их формирования и общей роли в когнитивном развитии, что позволяет провести морфологический комплексный анализ нейронов, глии и микрососудистого русла исследуемых отделов мозга с целью выявления реорганизации их структурных компонентов.

Установлено, что в очаге повреждения формировались все основные типы патологически измененных нейронов (гипо- и гиперхромные с признаками сморщивания и без, с сохраненным ядрышком и эктопией, гомогенизированные

необратимые пикноморфные нейроны, клетки тени и т.д.). Высокая чувствительность нейрональных клеток к травме, вероятно, объяснялось специфичностью этого многообразия клеточных форм нейронов, а именно: 1) потребление большого количества АТФ, связанное с действием K^+ -, Na^+ -, Ca^{2+} -АТФаз и ферментативными реакциями; 2) производство АТФ почти исключительно ограниченное анаэробным гликолизом и подавляется в бескислородных условиях; 3) усиление анаэробного гликолиза способствует повторному гликолизу АТФ и АДФ до АМФ, что приводит к образованию мочевой кислоты, развитию дефицита пуриновых мононуклеотидов, увеличению продукции супероксидных радикалов ксантинооксидазы и перекиси водорода; 4) клеточная мембрана нейронов содержит большое количество фосфолипидов, в том числе ненасыщенных жирных кислот; 5) источником реактивных форм кислорода в нейронах обычно является митохондриальная дыхательная цепь или монооксидаза во внешней мембране данных органелл; 6) активность антиоксидантных ферментов снижена [Козловский С., 2021; Узлова Е.В. и др., 2023; Arundine M. et al., 2004]. Все это свидетельствовало о необходимости комплексного подхода исследования нейропиля головного мозга в нашей работе с применением, как классических методов морфологии (окраска гематоксилин-эозином, окраска тионином по Нисслю, наливка черной тушью), так и иммуногистохимии (IBA1 – Ionized Calcium-Binding Adapter Molecule 1, NSE – Neuron-Specific Enolase, GFAP – Glial Fibrillary Acidic Protein, p38 – synaptophysin), основанной на специфическом связывании антител с целевыми молекулами, что позволяет визуализировать их распределение и уровень экспрессии [Krohn M. et al., 2015; Shai A. et al., 2018].

Детальное морфологическое исследование структурной морфологии клеток СМК и гиппокампа показал, что активность определенного отдела головного мозга крыс сопровождается неоднородной реорганизацией нейронных связей. Эти изменения отражаются на постоянной защите нейронов, которые могут быть обратимо и необратимо поражены, а также на фоне реактивного глиоза и активации нейрональных взаимодействий. Морфологические изменения, обнаруженные в

этом исследовании, показали, что после черепно-мозговой травмы наблюдается типичные некротические механизмы гибели нейронов, основанные на взаимодействующем воздействии свободных радикалов, фосфолипаз и связанных с Ca^{2+} факторов повреждения. В течение всего периода наблюдения была обнаружена статистическая значимость изменений в количественной плотности синаптических терминалей, указывающих на изменение баланса процессов деструкции и компенсации синаптического пула после тяжелой травмы. Полученные данные исследования помогут уточнить реорганизацию различных компонентов нейронного комплекса СМК (слоев III и V) после ТЧМТ.

Согласно нашим и литературным данным [Villalba N. et al., 2017, Yingxi W. et al., 2021], любое повреждение микрососудистого русла вследствие гипоксии, характерное для мозга после ЧМТ, ассоциируется с разрушением барьерной функции капилляров головного мозга, нарушением мозгового кровотока и развитием церебрального отека. При этом повреждении степень проявления патоморфологической картины сосудистой сети неразрывно связано с факторами нарушения целостности микрососудов: 1) недостаток кислорода для нормального функционирования, приводящий к повреждению их стенок и образованию свободных радикалов; 2) нарушение кровотока из-за образования тромбов; 3) перекисное окисление жиров, приводящее к нарушению клеточных мембран и, как следствие, самих кровеносных сосудов; 4) воспалительные процессы и активация биологически активных веществ, выделяемых эндотелием, лейкоцитами и форменными элементами тромбоцитарного ряда, как следствие приводят к повреждению стенки сосуда и повышение ее проницаемости. Анализ гистологических препаратов головного мозга с заливкой черной тушью (способ наливки микрососудов черной тушью с желатином) показал, что нами выявлена асимметрия изменений ответа между правым и левым полушарием мозга относительно площади микрососудистой сети в слое III СМК на 3 сут, а в слое V СМК уже на 1 сут, что не было имело прямой взаимосвязи с численной плотностью нервных клеток, при этом заметные деструктивные изменения нейронов слоя III СМК были связаны с уменьшением общей плотности проходящих микрососудов,

препятствуя распространению кровотока в микрососудистой сети, однако в слое V этого проследить не удалось, там преобладали дилатационные изменения, что свидетельствует о проявление признаков дисфункции эндотелия и различиях в реакции различных уровней СМК.

При повреждении нейронов, нейроглия играет ключевую роль в восстановлении их функциональности путем активного фагоцитоза, что помогает предотвратить дальнейшее распространение воспалительных процессов и дегенерации [Sulhan S. et al., 2020; Xiong Y. et al., 2022]. Экзосомы также играют важную роль в межклеточном обмене информацией и могут быть задействованы в различных физиологических и патологических процессах, включая заживление ран, иммунный ответ и регуляцию воспаления. При повреждении клеток, происходит повышенное выделение экзосом, чем обычно, для сигнализации о проблемах и стимуляции процесса регенерации, что необходимо для диагностики и оценки тяжести повреждений, а также для обнаружения различных биомаркеров [Bosco D. et al., 2021; Zhang N. et al., 2023].

Изучение механизмов, с помощью которых можно преобразовать глиальные клетки в нейроны является актуальным направлением, к одному из самых перспективных подходов относится использование техник генной инженерии (введение генов, кодирующих сигнальные молекулы, стимулирующих преобразование глиальных клеток в нейроны), а другие сосредоточены на использовании различных химических средств и факторов роста для активации внутриклеточных сигнальных путей [Bertram L. et al., 2020., Jiang M.Q. et al., 2021, Guo S. et al., 2022]. Некоторые факторы роста, такие как факторы роста нервных клеток, вносят вклад в факторы роста для астроцитов, способствуя выживанию глиальных клеток и их дифференцировке в нейроны.

По данным эксперимента установлено, что астроциты способствуют оптимизации метаболических процессов, сбалансировании уровня нейротрансмиттеров и обеспечении нормального развития нейронных сетей путем регуляции мозгового кровотока и ремоделирования синаптических связей. Наибольшее внимание вызывает изучение различных клеточных фенотипов

астроцитов и микроглиоцитов, которые существенно влияют на поддержание гомеостаза, защиту нервной ткани, иммунный ответ и нейропластичность. Важно отметить, что ряд факторов, включая интенсивность, время и продолжительность воздействия патогенного агента, могут способствовать формированию того или иного фенотипа этих клеток [Rovegno M. et al., 2012; Калинина Ю.А. и др., 2019]. Это делает их не только важными для поддержания гомеостаза и защиты нервных клеток, но и ключевыми участниками в процессах пластичности и адаптации нервной системы к переменным условиям, только не только как стволовые клетки, но и как нишевые клетки, и эта область будет оставаться перспективной еще долгое время [Amtul Z. et al., 2019; Schneider J. et al., 2019].

Изучение взаимодействия между нейронами и глиальными клетками становится все более актуальным, особенно в контексте нейропротекции после травматизации, ведь ранее глиальные клетки считались просто поддерживающими, сегодня рассматриваются, как ключевые участники в процессах нейропластичности, что начинает затрагивать вопрос, как же эти клетки взаимодействуют друг с другом и с нейронами. В нашем исследовании, изучение данного феномена, характеризовалось таким показателем, как нейроглиальное взаимоотношение или соотношение общей численной плотности глиальных клеток к общей численной плотности нейронов. После ТЧМТ ремоделирование глиальных клеток в выбранных слоях сенсомоторной коры сопровождалось изменением количественного содержания микроглиоцитов и астроцитов максимально уже на 1 сут в мелкоклеточном слое (слой III), но в крупноклеточном слое (слой V) повышенное содержание наблюдали лишь на 3 сут, однако на 30 сут происходило максимальное уменьшение всех типов глиоцитов, не доходя до уровня показателей численной плотности интактной группы животных, при этом подтверждая, что повышенная активация, изменчивость формы и отростков глиальных клеток способствует ускоренному фагоцитозу деструктивно необратимых нейронов. Количественное же содержание олигодендроцитов уменьшалось в течении всего периода наблюдений, что подтверждает их индивидуальную реакцию ответа на травму в отличии от астроцитов и микроглиоцитов. Таким образом процесс

самоочистки нервной ткани представляет собой комбинацию неоднородной активации всех типов глиальных клеток, что приводит к максимальному и полному структурно-функциональному восстановлению, образуя нейроглиальные взаимосвязанные системы головного мозга, в которых каждый компонент выполняет свою функцию, как единая система адаптации и регенерации нервной ткани в ответ на травматическое воздействие.

С помощью иммуногистохимических антител мы определили два основных структурных показателя: параметр отростков астログлиальных клеток (GFAP) и терминалей межнейронной связи (p38), характеризующихся наибольшими структурными изменениями в нейропиле с постоянным уменьшением количества нейронов в связи с адаптацией к новым функциональным состояниям и посттравматической репаративной перестройки структур сенсомоторной коры и гиппокампа.

Как известно, реактивные и деструктивные изменения сенсомоторной коры и гиппокампа в острой фазе после ТГМ приводили к затрудненной передачи импульсов между обратимыми и необратимыми поврежденными нейронами и оказывали негативное влияние на их межнейронную связь [Hobbiss A.F. et al., 2018; Jacquens A. et al., 2022]. Синаптические межклеточные контакты играют ключевую роль в передаче сигналов между нейронами в центральной нервной системе. Исследования в этой области позволяют понять механизмы, лежащие в основе пластичности нейронных сетей, а также выявить возможные нарушения в работе мозга при различных патологиях [Jacquens A., 2022]. При травме головного мозга у крыс с одной стороны может происходить нарушение синаптических контактов, что может привести к дисфункции нейронов и снижению нейропластичности, а с другой часть нейронов могут формировать новые межклеточные синаптические контакты или усиливать уже существующие для компенсации поврежденных нейронных сетей, что позволяет нейронам адаптироваться к новым условиям путем их качественного и количественного ремоделирования, при этом улучшая свою производительность и способность восстановления после повреждения [Цинзерлинг В.А., 2013]. Прежде всего данные изменения приводят к дисфункции

энторинальной коры, играющей важную роль в памяти и обучении, но влияние осуществляется и на работу гиппокампа, что может привести к различным расстройствам и нарушениям поведения, при этом компенсаторные и репаративные процессы нейронов и астроглиальной сети активировались параллельно, усиливая функциональную активность астроглии и синаптическую пластичность. Согласно нашим данным, пластичность Геббеса и гомеостатическая пластичность в гиппокампе происходили одновременно, включая бразование и распад синапсов. В результате было показано, что для восстановления функции гиппокампа даже при относительно незначительных повреждениях необходима длительная непрерывная адаптация утраченных функций, например в когнитивных способностях, и для полного восстановления требуется систематический подход к терапии и адаптации.

Компенсаторная реакция двух выбранных областей гиппокампа (СА₁, СА₃) выражалась в активизации саногенеза необратимых нейронов, что приводило к снижению их численной плотности. Наблюдалось также увеличение общего количества и последующая активация глиальных клеток нейропиля, включая астроциты, олигодендроциты и микроглию. В результате этого процесса происходило ремоделирование структурной организации частично поврежденных нейронов, а также ускорение интеграции и формирование синаптических терминалей.

Компенсация функций поля СА₁ и СА₃ гиппокампа проявлялась активным саногенезом необратимых нейронов с уменьшением их численной плотности, увеличением количественного содержания и последующей активацией глиального компонента нейропиля (астроциты, олигодендроциты и микроглиоциты), ремоделирование структурной организации частично поврежденных нейронов, усиленной интеграцией и образованием синаптических окончаний, что ведет к дисфункции гиппокампа. Понимание механизмов реакции (естественная защита и адаптация) данного отдела головного мозга на травму является актуальным для разработки эффективных методов лечения посттравматического стрессового расстройства [Chaudhary U. et al., 2016].

Особое внимание уделяется изучению защитных механизмов гиппокампальной формации, связанных с изучением механизма действия микроглии, антиоксидантных ферментов и метаболической поддержки [Jassam Y. et al., 2017, Lamade A., 2020]. Результаты нашего исследования показали, что понимание молекулярных механизмов активации микроглиоцитов и регуляции ферментов антиоксидантной системы, потенциально используемых в качестве терапевтических мишеней в дальнейшем, требует дополнительного изучения с целью разработки новых методов и подходов для нормального функционирования и выживания нейронов в различных полях гиппокампа [Ousman S, Kubes P., 2012].

Реакция гиппокампа на повреждение проявлялась реактивностью дренажно-детоксикационной функции в определенных областях гиппокампа, но при этом данный показатель был выше в зоне CA₃ в отличии от зоны CA₁. Это может объяснить различную чувствительность нейронов разных областях гиппокампа к травматическому повреждению, как утверждают работы других исследователей [Rovengo M. et al., 2012, Walker M., 2015]. Гипотеза заключается в том, что высокая активация функций дренажа и детоксикации, а также постоянно поддерживаемая высокая гидратация нейрональных и астроцитарных процессов обеспечивает механизм самоочистки нейропиля после травмы. Возможно, неоднородная реакция различных зон гиппокампа связана с различной плотностью нейронов, при чем высокая плотность нейронов в зоне CA₁ требует более активных процессов детоксикации и дренажа. Кроме того, реакция области CA₃ гиппокампа может быть связана с потоком информации из энторинальной коры в высокоорганизованную сеть нейронов этой же области гиппокампа, в отличие от зоны CA₁, которая рассматривается, как точка выхода из гиппокампа.

Современные исследования нейропластичности головного мозга показывают, его свойства изменяться и адаптироваться к различным стрессовым факторам, что способствует разработке новых методов терапевтического вмешательства, направленных на восстановление функций мозга путем контролирования механизмов нейропластичности после стрессовых ситуаций [Ilchibaeva T. et al., 2015]. Мы полагаем, что такие изменения в нейроглиальной сети

головного мозга можно рассматривать как естественный способ регулирования нейропластичности на протяжении всего экспериментального исследования, вероятно, что реактивный астроглиоз имел разностороннее влияние на нейропластичность в зависимости от контекста и условий, стимулируя активацию синаптических контактов в различных слоях неокортика и полях гиппокампа головного мозга крыс. Доказано, что различные факторы, например, стресс способствует увеличению длительной депрессии (LTD) CA₁ за счет снижения концентрации долгосрочной потенциализации (LTP) в области CA₃, а LTD также может влиять на синаптические белки и факторы роста, необходимые для долговременного потенцирования в гиппокампе [Esposito E. et al., 2014, Горбунова А.В., 2021]. Предположительно астроглия участвует в контроле возбуждающих и тормозных систем мозга, путем удаления молекул, оказывающих блокирующее влияние на синаптическую пластичность, что имеет подтверждение в данных литературных источников [Jamjoom A. et al., 2010; Karve I. et al., 2016; Markin S., 2017]. В нашем исследования как раз показаны различия в проявлении реорганизация отростков астроцитов в зоне CA₁ и CA₃ гиппокампа.

Протоплазматические астроциты имеют радиальную форму и простираются от поверхности мозга к его глубоким слоям, удаляя излишки нейротрансмиттеров из синапсов и участвуя в поддержании оптимального уровня воды и ионов в межклеточном пространстве, обеспечивая нормальное функционирование нервных клеток [Abbott N. et al., 2006]. Периваскулярные ножки астроцитов играют роль фильтра, контролирующего транспорт различных молекул из крови в мозг и обратно. Таким образом астроциты являются уникальными модуляторами функциональной активности как нервных клеток, так и групп клеток макро- и микроглии, что помогает поддерживать оптимальную микроокружающую среду для нейронов и других клеток мозга [Cao Z. et al., 2020; Xu S. et al., 2020].

Возможно, нормальная активация астроглии может вызвать изменения в нейронных сетях гиппокампа, сенсомоторной коры и миндалины, восстанавливая баланс возбуждения и торможения образования нервных импульсов в гиппокампе и лимбической системе головного мозга, уделяя особое внимание пониманию

вопроса естественных механизмов модуляции взаимодействия нейронов, включая механизмы передачи сигналов и регуляции активности нейронов. При этом морфогенетическая приспособленность астроцитов представляет собой сложный механизм, позволяющий этим клеткам адаптироваться к различным условиям, обеспечивая оптимальными условиями для роста и дифференциации нервных клеток. Следовательно, важно изучать гетерогенность, как на уровне отдельных молекул, так и на более крупном уровне организации тканей, что необходимо для точного понимания нейроглиальных взаимодействий в норме и при нейродегенеративных процессах в головном мозге [Segi-Nishida E., 2017].

В нашем исследовании, используя метод фрактального анализа, мы выявили послойную неоднородность структурной организации в пространстве астроцитарных сетей двух областей головного мозга. Фрактальный анализ представляет собой математический метод изучения сложных и иерархических структур, позволяющих оценить их фрактальную размерность и форму (фракталы), позволяя изучать сложные системы на разных уровнях организации и выявлять характерные изменения, невидимые на первый взгляд. В процессе выполнения фрактального анализа оценивалось два показателя, одним из них была фрактальная размерность – параметр заполнения нервной ткани (фрактального пространства) астроцитами (фрактальные структуры), а другим лакунарность – параметр неоднородности распределения фрактальных структур (рис. 48). В контексте астроцитов фрактальный анализ может использоваться для оценки их морфологических особенностей (размер, форма, ветвление), выявление которых может указывать на нарушения в их функции или на развитие определенных патологий, таких как, например, глиомы.

После ТЧМТ показатели, характеризующие тонкие отростки, как пространственный объект, статистически значимо изменились в сравнении с контрольной группой и в посттравматическом периоде между сроками. В то же время фрактальная размерность мелкоклеточного слоя СМК изменилась наиболее сильно. В течение 14 сут показатель был ниже значений контрольной группы и к этому времени в крупноклеточном слое СМК уже восстановился. Для

мелкоклеточного слоя также была характерна и высокая степень лакунарности. Оценка фрактальной размерности в гиппокампе показала наиболее высокие показатели в поле CA₃ гиппокампа, не доходя до уровня контрольных значений даже на 14 сут, в отличии от поля CA₁ гиппокампа, где этот показатель уменьшался на протяжении всего посттравматического периода. Таким образом астроциты мелкоклеточного слоя сенсомоторной коры обладали высокой степенью к реактивной реорганизации отростков и также ранее было установлено максимальное повреждение нормохромных нейронов в этом же слое. Эти результаты говорят о том, что астроциты играют важную роль в процессах реактивации и реорганизации нейронов после травмы, указывают на то, что процессы восстановления после травмы могут быть различны в различных областях гиппокампа и даже в разных слоях одной и той же области.

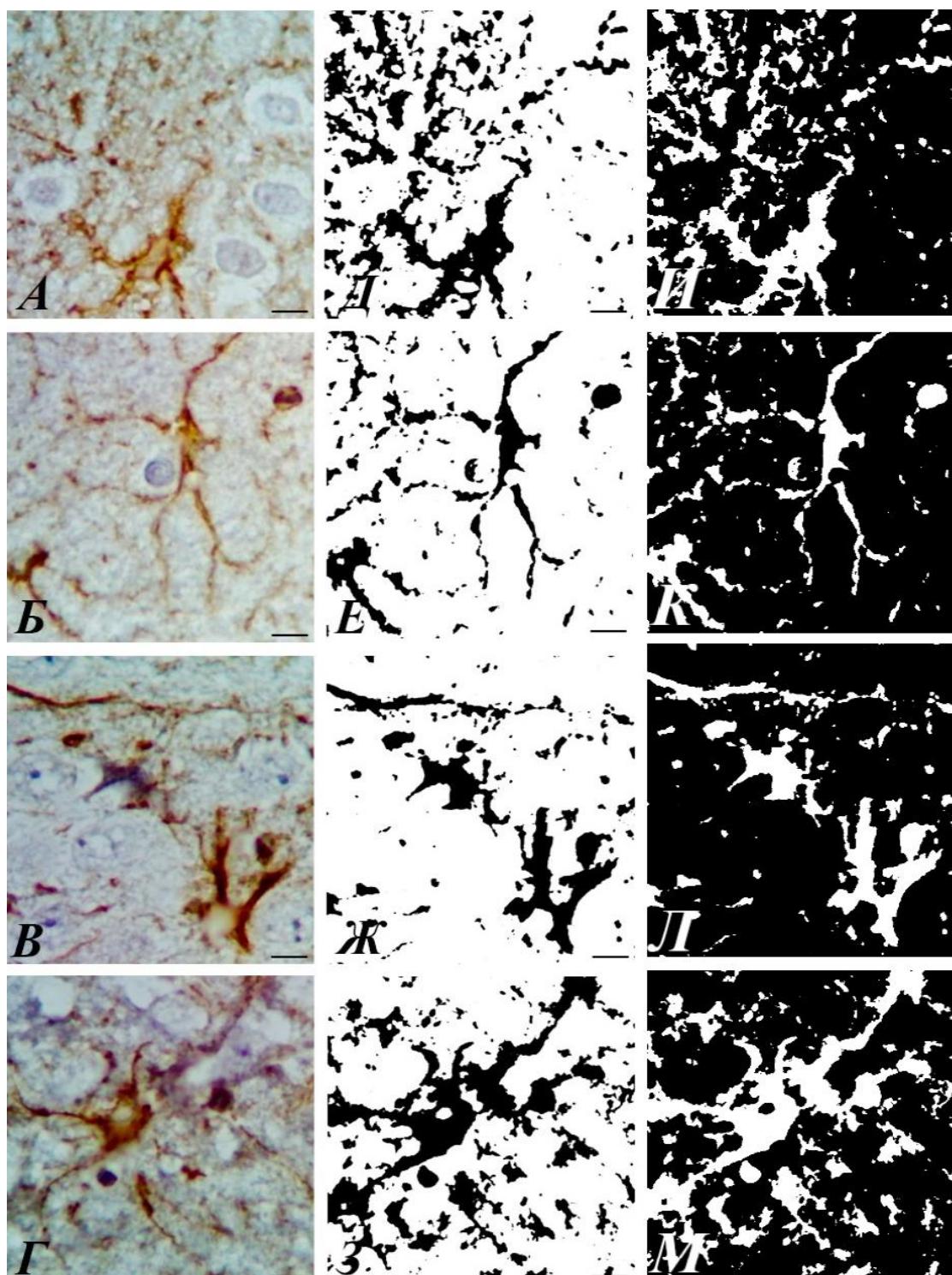


Рис. 48. Астроциты слоя III СМК через 1 сут (A, Д, И) и V СМК (Б, Е, К) через 3 сут и гиппокампа зоны CA₁ (В, Ж, Л) через 1 сут и зоны CA₃ (Г, З, М) через 3 сут после ТЧМТ: А, Б, В, Г – оригинальные изображения, Д, Е, Ж, З – маски изображения оценивания показателя фрактальной размерности, И, К, Л, М – маски изображения оценивания показателя фрактальной лакунарности. Иммуногистохимическая реакция на GFAP. Объектив: $\times 100$, шкала – 20 мкм.

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) по нашей модели вызывает неоднородные изменения в нейроглии гиппокампа и сенсомоторной коры. В ходе экспериментальных данных было установлено, что в двух слоях сенсомоторной коре содержание численной плотности пикноморфных нейронов было вдвое меньше, чем темных нейронов в раннем периоде, при этом больше всего страдали нейроны слоя III сенсомоторной коры на всех сроках исследования после ТЧМТ, доказывая их способность к необратимой дегенерации. Численная плотность же деструктивных нейронов в двух выбранных полях гиппокампа соответствовала численной плотности темных нейронов, что доказывает их необратимую гибель без признаков компенсации и восстановления [Abbott N.J. et al., 2006, Ooigawa H. et al., 2006]. Следовательно, неоднородные изменения в нейроглии гиппокампа и неокортекса при ЧМТ могут быть связаны с разной степенью контузии. Контузия – повреждение мягких тканей головного мозга, которое не сопровождается смещением структур. Она может проявляться в различных симптомах, таких как головная боль, головокружение, расстройства сна, изменение настроения и проблемы с концентрацией [Zhao Z. et al., 2017; Armstrong R.A., 2018].

Изменения в нейроглии гиппокампа и неокортекса при ЧМТ могут быть обусловлены различными факторами. Например, механическое воздействие на ткани головного мозга может вызвать некроз некоторых клеток нейроглии, что приводит к их потере и изменению структуры. Кроме того, в ответ на травму, активируются воспалительные процессы, которые могут влиять на функции нейроглии [Karve I.P. et al., 2016].

Более подробное описание изменений нейроглии в гиппокампе и неокортексе при ЧМТ требует дальнейших исследований и наблюдений. Наблюдения при помощи метода оптической микроскопии, анализ маркеров и степени активации клеток нейроглии, а также изучение изменений в экспрессии генов и белковых маркеров могут помочь в определении более точной природы и механизмов таких изменений. Это позволит лучше понять, какие конкретные изменения в нейроглии способствуют более тяжелой или легкой степени контузии, а также может открыть новые пути лечения и реабилитации при черепно-мозговой травме.

Согласно полученным нами данным, можно предположить, что патоморфологические посттравматические изменения в двух выбранных отделах головного мозга в начале и в течение длительного времени после воздействия представляет собой последовательное развитие изменений в функциональной и структурной организации нейронов, а также сопровождаются морфофункциональной патологической и репаративной перманентной перестройкой популяций глиальных клеток. Аналогичные результаты получены другими авторами [Jha R.M. et al., 2019; Cash A., Theus M.H., 2020].

Известно, что в раннем периоде после воздействия на сенсомоторную кору головного мозга наблюдается прямой механический эффект, вызывающий сдавление, переломы костей черепа и повреждение мягких тканей. Это может привести к образованию кровяных сгустков, инфарктам и отеку тканей. С такими изменениями связано первичное нейроэксайтотоксическое повреждение, которое приводит к увеличению перемобильности мембран нейронов и повреждению клеток [Cassol G. et al., 2019].

Однако основные последствия посттравматического повреждения сенсомоторной коры и гиппокампа головного мозга проявляются в отдаленном периоде. В этот период происходят последующие биохимические и физиологические изменения, которые могут приводить к снижению мозговой активности, расстройствам кровообращения, а также к избыточной активации механизмов воспаления и пролиферации. Встречается также активация глиальных клеток, которые отвечают за регуляцию воспаления и репарации ткани [Raghavendra R. et al., 2000, Zupang G. et al., 2013]. Вероятно, происходит своеобразное накопление и увеличение количества патологических факторов, о чем свидетельствуют и наши морфологические данные.

В отдаленном периоде после воздействия происходят также изменения в синаптической пластичности и ремоделирование нейронных сетей. Это может привести к снижению связности между нейронами и изменению функции сенсомоторной коры и гиппокампа. Возможно развитие сенситизации болевых

рецепторов и появление хронической боли [Verbalis J., 2020, Jamjoom A. et al., 2021].

Мы считаем, что патоморфогенез посттравматического поражения двух изученных отделов головного мозга (сенсомоторная кора и гиппокамп) охватывает механические, биохимические и физиологические изменения. Эти изменения приводят к деформациям структуры и функции нейронов, а также к возникновению неадекватного воспалительного процесса и пролиферации. В результате таких нарушений активность мозга снижается, а функциональность отделов нарушается, при этом возможность адаптации функции мозга посредством нейропластичности нейронов по-прежнему имеет место быть.

Накопленный нами экспериментальный материал свидетельствует о том, что патоморфогенез посттравматического и постишемического повреждения головного мозга отличается в своих основных механизмах и последствиях. Черепно-мозговая травма и окклюзия общих сонных артерий способны вызывать схожие молекулярные процессы, приводящие к повреждению нейронов головного мозга. В первую очередь, эти состояния способствуют развитию ишемии, что означает недостаток кровоснабжения, а также гипоксии, то есть нехватки кислорода для нейронов. Эти патологические процессы в свою очередь приводят к повреждению и гибели нейрональных клеток.

При травматическом повреждении головного мозга могут происходить различные механизмы повреждения, включая прямое механическое воздействие на нейроны, нарушения целостности клеточных мембран и синаптических соединений, разрывы аксонов и другие. В результате этих повреждений активируются глиальные реакции, что приводит к активации глиальных клеток (астроцитов и микроглии) и высвобождению разнообразных цитокинов и хемокинов. Это, в свою очередь, инициирует воспалительные процессы и формирование рубцовой ткани, что может негативно сказаться на жизнеспособности и восстановлении функции нейронов [Johansson B., 2003; Cheng J. et al., 2018].

При окклюзии общих сонных артерий также наблюдается гипоксия и ишемия нейронов, что может сопровождаться нарушением электрохимического баланса, накоплением токсичных метаболитов и активизацией воспалительных процессов. Эти изменения приводят к умеренной активации глиальных клеток и синтезу противовоспалительных цитокинов, что является реакцией организма на смягчение воспалительного ответа [Горбунова А.В. и др., 2020]. Однако в условиях стойкой и выраженной ишемии глиальные клетки могут активироваться более сильно, что, вероятно, приведет к развитию патологической глиальной реакции [Esposito E. et al., 2014]. В то же время молекулярные механизмы, вызывающие повреждение нейронов головного мозга при черепно-мозговых травмах и окклюзии общих сонных артерий, могут быть схожи, в то время как уровень экспрессии глиальных реакций может различаться в зависимости от типа повреждения и времени его воздействия. В наших работах прослеживаются аналогичные взаимоотношения клеток СМК после травмы и перевязки общих сонных артерий. Однако при 20- и 30-минутной ООСА проявления одного из ключевых факторов повреждения – отека-набухания выражены существенно меньше, чем после травмы [Авдеев Д.Б., 2022].

Мы полагаем, при ТЧМТ происходит физическое повреждение мозговой ткани, что приводит к сильному воспалительному ответу организма. В результате воспаления происходит увеличение проницаемости сосудов в мозге, что позволяет крови и другим веществам проникнуть в экстракеллюлярное пространство и вызвать отек ткани. С другой стороны, при двусторонней окклюзии общих сонных артерий отмечается перекрытие кровотока к мозгу без разрыва микрососудов. Это может привести к ишемии (недостатку кровоснабжения) и инфаркту мозга, но отек ткани может быть менее выраженным, поскольку отсутствует воспалительный ответ, характерный для ЧМТ. Роль подобных механизмов при развитии отека-набухания подтверждается экспериментально и широко обсуждается, при этом учитывается роль нейроглии [Galgano M. et al., 2017; Jha R. et al., 2019; Marklund N. et al., 2019].

Нами показано длительное сохранении после ТЧМТ проявлений гипергидратации и СМК, и гиппокампа. Известно, что отек головного мозга (ОГМ) и возникающая в результате этого внутричерепная гипертензия связаны с неблагоприятным прогнозом при ЧМТ. ОГМ является ведущей причиной госпитальной смертности, встречающейся у $>60\%$ пациентов с массовыми поражениями и у $\approx 15\%$ пациентов с нормальной томографией. При ТЧМТ важным направлением неотложной помощи является оценка и коррекция вторичного повреждения при ОГМ и возникающей в результате внутричерепной гипертензии. Хорошо идентифицированы и изучены клеточные факторы, способствующие развитию ОГМ, механизмы, влияющие на нарушение гематоэнцефалического барьера (ГЭБ)/вазогенный отек [Wei L. et al., 2001, Lamade A., 2020].

По данным литературы, актуальным остается вопрос селективности повреждения слоев III и V СМК, а также зон гиппокампа после черепно-мозговой травмы. Почему при одной и той же тяжести травмы в этих отделах мозга наблюдаются аналогичные, но количественно отличающиеся изменения?

Мы полагаем, что количественные различия могут быть объяснены несколькими факторами:

1. Разная уязвимость различных типов нейронов. Некоторые типы нейронов имеют большую уязвимость к повреждению, чем другие. Например, некоторые мелкие нейроны слоев III и V СМК крыс, далекие от микрососудов, могут быть более чувствительными к травме, чем другие типы нейронов в этих же областях.

2. Показанная нами разная плотность нейронной сети, вероятно, приводит к различной потере нейронов при повреждении. Например, если в определенной области мозга плотность нейронов выше, то при одинаковой травме там могут быть более серьезные повреждения, чем в области с более низкой плотностью нейронов. Наглядный пример пирамидные нейроны слоев III и V СМК, а также зон CA₁ и CA₃ гиппокампа.

3. Отличительные особенности онтогенетической нейрональной дифференцировки областей головного мозга крыс. Как известно, СМК развивается во время эмбрионального периода развития и претерпевает последовательные

этапы формирования различных слоев. Слой III сенсомоторной коры появляется раньше слоя V, потому что клетки слоя II начинают дифференцироваться и мигрировать на свои места в коре раньше, чем клетки слоя V. Кроме того, слой III коры содержит большое количество пирамидальных нейронов, имеющих короткие аксоны и образующие местные связи внутри коры, обеспечивающие функциональную роль в передаче сенсорной и моторной информации. При этом слой V содержит большие пирамидальные нейроны, которые имеют длинные аксоны и образуют выходные связи с другими областями коры и подкорковыми структурами, обеспечивая более дальние связи, чем у слоя III СМК. Онтогенез дифференцировки нейронов зоны CA₁ и CA₃ гиппокампа отличается во времени и паттерне развития. В зоне CA₁, дифференцировка нейронов начинается раньше, во время эмбрионального периода развития, и продолжается в постнатальном периоде. В зоне CA₃, процесс дифференцировки нейронов начинается позже, в постнатальном периоде. Поэтому нейрональные клетки слоя III коры развиваются быстрее и появляются первыми в процессе развития сенсомоторной коры, а значит первыми реагируют быстрее на травматическое повреждение.

3. Разная функциональная роль разных областей мозга. Разные области мозга выполняют различные функции и могут отличаться по своей специализации и важности. Некоторые области мозга могут быть более критическими для выполнения определенных задач и иметь большие резервные возможности для восстановления функций после повреждения (например, СМК), тогда как другие области могут быть менее специализированными и иметь ограниченные возможности восстановления (например, нейроны гиппокампа).

4. Разные пути и механизмы повреждений. Черепно-мозговая травма может включать различные механизмы повреждения, такие как прямой удар, контузия, разрыв или растяжение нервных волокон. В зависимости от механизма повреждения, разные области мозга могут быть затронуты с различной степенью.

Таким образом, количественные различия в изменениях при черепно-мозговой травме в слоях III и V неокортекса и зонах гиппокампа крыс могут быть обусловлены комбинацией факторов, включая разную уязвимость нейронов,

разную плотность нейронной сети, функциональную специализацию области мозга и различные механизмы повреждения.

В селективности повреждения и восстановления нейронов при черепно-мозговой травме глиальные клетки играют важную роль. Они выполняют несколько функций. Глиальные клетки обеспечивают опору для нейронов и других клеток нервной системы, поддерживают их межклеточные связи и помогают поддерживать структурную целостность. Особые типы глиальных клеток, такие как астроциты, образуют гематоэнцефалический барьер, регулирующий проницаемость микрососудистых гемокапилляров, защищая нейроны от воздействия пагубных факторов, например, токсичных веществ и патогенных микроорганизмов из крови [Степанов С.С. и др., 2023]. Глиальные клетки отвечают за регулирование концентрации химического состава веществ в нервной ткани, таких как ионы кальция, калия и нейротрансмиттеры. Это позволяет создавать оптимальные условия для функционирования нейронов. После черепно-мозговой травмы глиальные клетки активируются и начинают процесс реконструкции поврежденной нервной ткани. Они проводят рост новых аксонов, формируют новые синапсы и помогают восстановлению функциональной активности нейронов. В разных отделах мозга эти клетки имеют особенности реализации своего потенциала [Jamjoom A. et al., 2021]. Например, в крупных очагах контузии глиальные клетки могут быть ответственны за формирование рубца и образование специфических типов глиозных клеток, которые могут не всегда способствовать нормальному восстановлению ткани, поэтому дальнейшие исследования в этой области нужны для лучшего понимания роли глиальных клеток в механизмах деструкции и восстановления нейронов при тяжелой черепно-мозговой травме. Таким образом, в настоящее время, несмотря на значительное накопление информации, остается множество нерешенных вопросов.

Синтез литературных данных и собственных результатов исследований показывает, что морфологическое изучение нервной ткани после ЧМТ открывает несколько перспективных направлений, каждое из которых имеет важное значение для понимания последствий травмы и разработки эффективных методов лечения:

1. Изучение изменений в структуре и функции нервных клеток: исследование деструктивных и компенсаторно-репаративных изменений в морфологии и функциональности нейронов после травматизации различных областей головного мозга и их сравнительный аспект.

2. Исследование изменений в нервной ткани: анализ изменений в экстрацеллюлярной матрице, особенно в глиальных клетках, и их воздействие на процессы восстановления нервной ткани.

3. Исследование изменений в кровоснабжении: изучение васкулярной реактивности и ремоделирования кровеносных сосудов, включая анализ микрососудистой структуры и перфузионных характеристик.

4. Анализ изменений в нейропластичности: изучение возможных изменений в формировании и перестройке синапсов и нейронных сетей после травмы.

5. Оценка воспалительных процессов: исследование воспалительных механизмов, включая активацию микроглии и астроцитов, и их влияние на восстановление нервной ткани.

Эти направления могут помочь понять механизмы восстановления нервной ткани после тяжелых черепно-мозговых травм и разработать новые подходы к их лечению и реабилитации.

ВЫВОДЫ

1. Неокортекс слоя III и V сенсомоторной коры и гиппокамп полей CA₁ и CA₃ мозга крыс в контроле и через 1, 3, 7, 14 и 30 сут статистически значимо отличались по нейроцито-, глиоцито- и синаптоархитектоники, а также по содержанию гипер- и гипохромных нейронов, нейроглиальному отношению, цитоморфологическая характеристика которых свидетельствовала об их прижизненных дегенеративных изменениях.

2. В острый период (1 и 7 сут) после тяжелой черепно-мозговой травмы преобладали деструктивные изменения нейро-глио-сосудистого комплекса головного мозга крыс. Изменения неокортекса (1-3 сут) и гиппокампа (3-7 сут) мозга крыс носили различный характер по степени тяжести поражения и отличались во временном интервале: показатель плотности пирамидных нейронов в поле CA₁ превалировал над полем CA₃, что проявлялось длительным сохранением высокой гидратации гиперхромных сморщенных нейронов на разных стадиях дегенерации и подтверждалось отсутствием активного саногенеза, характерного для поля CA₃ и слоя III сенсомоторной коры.

3. Промежуточный период (14 и 30 сут) после тяжелой черепно-мозговой травмы характеризовался пролиферацией нейроглии, снижением доли гипер- и гипохромных нейронов в пользу нормохромных нейронов, численная плотность микроглиоцитов доходило до уровня контрольных значений показателя, при этом изменения в сенсомоторной коре и гиппокампе мозга крыс носили равномерный характер.

4. Фрактальный анализ после тяжелой черепно-мозговой травмы мозга крыс показал усложнение пространственной реорганизации астроцитов, в частности происходило снижение показателя фрактальной размерности и увеличение лакунарности в слое III сенсомоторной коры вплоть до 14 сут, в отличии от слоя V, в котором данные показатели восстанавливались до уровня контрольных значений. Это свидетельствовало о более высокой реактивной реорганизации

отростков астроцитов именно мелкоклеточного слоя III, в котором и отмечалось максимальное повреждение пирамидных нейронов.

5. Показатель нейроглиального индекса увеличивался и в сенсомоторной коре и гиппокампе на фоне увеличения содержания пикноморфных нейронов после тяжелой черепно-мозговой травмы, доказывая феномен саногенеза нервной ткани путем фагоцитоза микроглией необратимо поврежденных нейронов.

6. Тяжелая черепно-мозговая травма приводила к появлению право-левосторонней асимметрии морфофункциональных изменений синапсов полушарий сенсомоторной коры. Об этом свидетельствовали различия общей численной плотности синаптических терминалей через 1 сут (в слое I; $p=0,002$) и через 14 сут (в слое III, $p=0,01$; в слое V, $p=0,038$; критерий Вилкоксона, $p=0,002$) после травмы.

7. В гиппокампе через 1 сут общая численная плотность терминалей уменьшалась на 30–40% (критерий Манна-Уитни, $p=0,01$), но через 7 сут после ТЧМТ в CA₁ отмечена тенденция увеличения показателя синаптических терминалей (критерий Манна-Уитни, $p=0,01$), что не было характерно для CA₃. В промежуточном периоде (14 и 30 сут) сохранялся дефицит межнейронных синапсов (20–40%) и отмечалась гидропическая дистрофия, это свидетельствовало о компенсаторно-восстановительной реорганизации нейронных сетей гиппокампа на фоне его структурно-функциональной недостаточности в виде образования новых синапсов, которые и быстро разрушались.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

3. Авдеев Д.Б. Сравнительная морфометрическая характеристика проявлений отёка-набухания миндалевидного тела половозрелых белых крыс после 20-, 30-, 40- минутной окклюзии общих сонных артерий / Д.Б. Авдеев // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2022. – Т. 66. – № 2. – С. 18-27.
4. Адрианов О.С. О принципах структурно-функциональной организации мозга: избранные научные труды / О.С. Адрианов. – Москва: Стоматология. – 1999. – 252 с.
5. Анашкина А.А. Молекулярные механизмы аберрантной нейропластичности при заболеваниях аутистического спектра (обзор) / А.А. Анашкина, Е.И. Ерлыкина // Современные технологии в медицине. – 2021. – Т. 13. – № 1. – С. 78-92.
6. Андреева Н.Г. Структурно-функциональная организация нервной системы: учеб. пособие / Н.Г. Андреева. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургского университета. – 2003. – 261 с.
7. Бахарев Д.В. Фронтиры биологии и горизонты юриспруденции: влияние исследований природы человеческой агрессии на развитие уголовной юстиции / Д.В. Бахарев Д.В // Право. Журнал Высшей школы экономики. – 2024. – Том 17. – № 1. – С. 163-189.
8. Боголепова И.Н. Архитектоника коры мозга человека: МРТ-атлас / И.Н. Боголепова, М.В. Кротенкова, Л.И. Малофеева, Р.Н. Коновалов, П.А. Агапов. – Москва: Издательский холдинг «Атмосфера». – 2003. – 216 с.
9. Бонь Е.И. Строение и развитие гиппокампа крысы / Е.И. Бонь, С.М. Зиматкин // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2018. – Т.16. – № 2. – С. 132-138.
10. Белошицкий В.В. Принципы моделирования черепно-мозговой травмы в эксперименте / В.В. Белошицкий // Украинский нейрохирургический журнал – 2008. – № 4. – С. 9-15.

11. Воронова Н.В. Анатомия центральной нервной системы: учебное пособие для студентов вузов / Н.В. Воронова, Н.М. Климова, А.М. Менджерицкий. – Москва: Аспект Пресс. – 2005. – 128 с.
12. ГОСТ 33216-2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами. Дата введения в действие. 01.07.2016. Код ОКС. 13.020.01.
13. Горбунова А.В. Сравнительная характеристика структурно-функциональных изменений поля СА₃ гиппокампа после острой ишемии и травмы головного мозга белых крыс / А.В. Горбунова, И.П. Кошман, А.Ю. Шоронова, Д.Б. Авдеев, В.А. Акулинин, С.С. Степанов, Л.М. Макарьева, М.С. Коржук // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2020. – Т.9. – № 4. – С. 19-30.
14. Горбунова А.В. Реорганизация гиппокампа белых крыс после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий: дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук: 1.5.22. — Новосибирский государственный медицинский университет, 2021 — 163 с.
15. Горчаков В.Н. Морфологические методы исследования сосудистого русла / В.Н. Горчаков. – Новосибирск: Издательство СО РАМН. – 1997. – 438 с.
16. Гуляева Н.В. Молекулярные механизмы нейропластичности: расширяющаяся вселенная / Н.В. Гуляева // Журнал биохимия. – 2017. – Т.82. – № 3. – С. 365-371.
17. Дмитриенко Е.В. Иммунная система мозга и черепно-мозговая травма: попытки коррекции / Е.В. Дмитриенко, Н. Акимото, С. Наое // Медицинский академический журнал. – 2013. – № 13. – С.7-18.
18. Дмитриенко К.Ю. Опыт применения различных методов, способствующих восстановлению нервной ткани (обзор литературы) / К.Ю. Дмитриенко, Ш.С. Нухов, И.Г. Ласков, Т.А. Терехова // Bulletin of Medical Internet Conferences. – 2015. – Vol. 5. – Р. 694.
19. Еникеева Р.Ф. Роль генов регуляции синаптической пластичности в формировании индивидуальных различий в объеме рабочей памяти / Р.Ф. Еникеева, М.М. Лобаскова, А.В. Казанцева, А.Р. Романова, А.С. Карунас, С.Б.

Малых и др. // Теоретическая и экспериментальная психология. – 2017. – Т.10.– № 4. – С. 6-15.

20. Живолупов С.А. Адаптивная нейропластиность, связанная с ишемическим повреждением головного мозга, и ее роль в восстановлении больных после инсульта: теоретические предпосылки эффективной нейрореабилитации / С.А. Живолупов, И.А. Вознюк, И.Н. Самарцев и др. // Эффективная фармакотерапия. – 2020. – Т.16. – № 31. – С. 24-38.

21. Зарубина И. В. Современные представления о патогенезе гипоксии и ее фармакологической коррекции / И.В. Зарубина // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2011. – Т.9. – № 3. – С. 31-48.

22. Зиматкин С.М. Строение и развитие коры головного мозга крысы: монография / С.М. Зиматкин, Е.И. Бонь. – Гродно: ГрГМУ. – 2019. – 155 с.

23. Иванова Н.Е. Черепно-мозговая травма - колоссальная проблема мирового здравоохранения / Н.Е. Иванова // Неврология и психиатрия. – 2020. – Т. 16. – № 14. – С. 8-10.

24. Карабан В.Б. Травматические поражения центральной нервной системы / В.Б. Карабан, В.В. Крылов, В.В. Лебедев // Болезни нервной системы: руководство для врачей. – Москва: Медицина. – 2001. – 744 с.

25. Козловский С. Двойная жизнь АТФ: и "батарейка", и нейромедиатор / С. Козловский // Наука и жизнь. – 2021. – № 10. – С. 20-30.

26. Комольцев И.Г. Отдаленные последствия черепно-мозговой травмы у крыс: морфологическое, поведенческое и электрофизиологическое исследование / И.Г. Комольцев, А.А. Волкова, И.П. Левшина, М.Р. Новикова, Н.В. Гуляева // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 2020. – Т. 70. – № 4. – С. 500-514.

27. Коренюк И.И. Морфофункциональная организация интегративной деятельности теменной ассоциативной коры / И.И. Коренюк, О.И. Колотилова // Серия «Биология, химия». – 2008. – Т. 21. – № 10. – С. 55-91.

28. Корпачев В.Г. Моделирование клинической смерти и постреанимационной болезни у крыс / В.Г. Корпачев, С.П. Лысенков, Л.З. Тель //

Патологическая физиология и экспериментальная терапия – 1982. – Т. 26. – № 3. – С. 78-80.

29. Коптяева К.Е. Методика вскрытия и извлечения органов лабораторных животных (крысы) / К.Е. Коптяева, А.А. Мужикян, Я.А. Гущин, Е.В. Беляева, М.Н. Макарова, В.Г. Макаров // Лабораторные животные для научных исследований. – 2018. – № 2. – С. 72-92.

30. Кошман И.П. Морфометрическая оценка степени отека-набухания сенсомоторной коры головного мозга белых крыс после тяжелой черепно-мозговой травмы / И.П. Кошман, А.Ю. Шоронова, В.А. Акулинин, Д.Б. Авдеев // Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием, посвященной 80-летию Курского государственного медицинского университета «Достижения современной морфологии – практической медицине и образовании»: сборник научных статей по материалам конференции 21-23 мая 2020г, Курск. – С. 320-328.

31. Краснощекова Е.И. Модульная организация нервных центров: монография / Е.И. Краснощекова. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургского университета. – 2007. – 127 с.

32. Курина А.Ю. Кооперативный синтез дофамина в медиобазальном гипоталамусе крыс как компенсаторный механизм при гиперпролактинемии / А.Ю. Курина, Т.С. Пронина, Л.К. Дильмухаметова, Г.В. Малеев, М.В. Угрюмов // Биохимия. – 2017. – № 82. – С. 511.

33. Мамытова Э.М. Черепно-мозговая травма и структурные мишени ее протекции / Э.М. Мамытова, Т.К. Кадыралиев, Э.К. Жолдошев // Журнал «Вестник КРСУ». – 2014. – Т.14. – № 4. – С. 124-127.

34. Ноздрачев А.Д. Анатомия крысы (Лабораторные животные) / А.Д. Ноздрачев, Е.Л. Поляков. – Санкт-Петербург: Лань. – 2001. – 464 с.

35. Обухов Д.К. Современные представления о развитии, структуре и эволюции неокортика конечного мозга млекопитающих животных и человека / Д. К. Обухов // Сборник научных трудов, посвященный 100-летию кафедры

медицинской биологии СПбГМА им. И. И. Мечникова. Вопросы морфологии XXI века. – 2009. – № 1. – С. 200-223.

36. Обухов Д.К. Современные представления об эволюционном развитии и строении новой коры млекопитающих / Д.К. Обухов, Т.А. Цехмистренко, Е.В. Пущина // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2019. – Т.8. – № 3. – С. 96-107.

37. Романова Г.А. Моделирование черепно-мозговой травмы / Г.А. Романова, Ф.М. Шакова, А.Л. Парфенов // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2015. – № 2. – С. 112-115.

38. Семченко В.В. Синаптическая пластичность головного мозга (фундаментальные и прикладные аспекты) / В.В. Семченко, С.С. Степанов, Н.Н. Боголепов. – Омск: Омская областная типография. – 2008. – 408 с.

39. Степанов С.С. Сопоставление иммуногистохимического и ультраструктурного изучения реакции аксональных терминалей сенсомоторной коры белых крыс на перевязку общих сонных артерий / С.С. Степанов, Л.М. Макарьева, В.А. Акулинин, М.С. Коржук, А.Ю. Шоронова, Д.Б. Авдеев, И.Г. Цускман, А.В. Слободская // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2022. – Т.11. – № 3. – С. 65-74.

40. Сысоев Ю.И. Моделирование черепно-мозговых травм у лабораторных животных в нейрофармакологии / Ю.И. Сысоев, С.В. Оковитый // Вестник образования и развития науки Российской академии естественных наук. – 2018. – Т.22. – № 3. – С. 66-73.

41. Тишевская И.А. Анатомия центральной нервной системы / А.И. Тишевская // – Челябинск: Издательство ЮУрГУ, – 2000. – 131 с.

42. Патент РФ 2788904С1. Способ моделирования черепно-мозговой травмы у крыс с использованием установки с ударным механизмом / Кинзерский А.А, Шоронова А.Ю, Коржук М.С, Акулинин В.А., Макарьева Л.М. Заявл. 25.10.2021.

43. Пошатаев К.Е. Эпидемиологические и клинические аспекты черепно-мозговой травмы / К.Е. Пошатаев // Дальневосточный медицинский журнал. – 2010. – Т.4. – С.125-128.

44. Пулас Ю.В. Механизмы вторичного повреждения мозга и нейротрофическое действие церебролизина при черепно-мозговой травме / Ю.В. Пулас, А.Э. Талыпов, А.Э. Кордонский // Нейрохирургия. – 2012. – № 4. – С. 94-101.

45. Узлова Е.В. Изменения содержания АТФ синтазы в нейронах мозга при экспериментальной церебральной ишемии / Е.В. Узлова, С.М. Зиматкин, Е.И. Бонь // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2023. – Т.12. – № 1. – С. 76-86.

46. Фоминых Т.А. Поль Пьер Брука и его вклад в медицину / Т.А. Фоминых, А.П. Дьяченко, С.А. Кутя // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2021. – Т.21. – № 6. – С. 67-70.

47. Хелимский А.М, Карнаух А.И. Клиника, диагностика и лечение черепно-мозговых травм / А.М. Хелимский, А.И. Карнаух //: Учебное пособие. – Хабаровск: Издательство Дальневосточного государственного медицинского университета, 2003. – 127 с.

48. Худякова Н.А. Поведенческая активность линейных и не линейных мышей разных цветовых вариаций в teste «Открытое поле» / Н.А. Худякова, Т.В. Баженова // Вестник Удмуртского университета. Серия «Биология. Науки о Земле». – 2012. – Т. 2 – С. 89-93.

49. Цинзерлинг В.А. Проблемы нейропластиности и нейропротекции / В.А. Цинзерлинг, А.Д. Сапаргалиева, Ю.И. Вайншнекер, С.В. Медведев // Вестник Санкт-Петербургского университета. – 2013. – № 4. – С. 3-12.

50. Шоронова А.Ю. Изменения структурной организации пирамидных нейронов двух отделов головного мозга половозрелых крыс в результате тяжелой черепно-мозговой травмы / А.Ю. Шоронова, С.С. Степанов, В.А. Акулинин, М.С. Коржук, Л.М. Макарьева, И.Г. Цускман, А.О. Гирш // Политравма. – 2023. – Т.12. – № 3. – С. 86-95.

51. Шоронова А.Ю. Реакция нейроглиальных взаимоотношений сенсомоторной коры и гиппокампа головного мозга крыс после тяжелой черепно-мозговой травмы / А.Ю. Шоронова, В.А. Акулинин, С.С. Степанов, Л.М. Макарьева // XXIII Всероссийская научно-практическая конференция,

посвященная 30-летию центра охраны здоровья шахтеров «Многопрофильная больница: инновационные решения» 19-20 мая 2023г, Ленинск-Кузнецкий. – С. 196–197.

52. Юсупов Ф.А. Нейропластичность и возможность современной реабилитации / Ф.А. Юсупов, А.А. Юлдашев // Бюллетень науки и практики. – 2022. – Т. 8. – № 3. – С. 256-272.

53. Яшкичев В.И. Изменение гидратации белков цитоскелета нейрона – механизм образования и движения нервного импульса / В.И. Яшкичев // Социально – экологические технологии. – 2015. – Т. 1. – № 5. – С. 45-49.

54. Ahmadpour S. Dark neurons: a protective mechanism or a mode of death / S. Ahmadpour, A. Behrad, I. Fernandez-Vega // Journal of Medical Histology. – 2019 – Vol. 3. – № 2. – P. 125-131.

55. Arai K. Brain angiogenesis in developmental and pathological processes: neurovascular injury and angiogenic recovery after stroke / K. Arai, G. Jin, D. Navaratna, E. Lo // The FEBS Journal. – 2009.– Vol. 276. – № 17. – P. 4644-4652.

56. Ardila A. How Localized are Language Brain Areas? A Review of Brodmann Areas Involvement in Oral Language / A. Ardila, B. Bernal, M. Rosselli // Archives of Clinical Neuropsychology. – 2015. – Vol. 31. – № 1. – P. 1-11.

57. Arundine M. Molecular mechanisms of glutamate-dependent neurodegeneration in ischemia and traumatic brain injury / M. Arundine, M. Tymianski // Cellular and Molecular Life Sciences. – 2004. – Vol. 61. – № 6. – P. 657-668.

58. Arulsamy A. Evaluation of early chronic functional outcomes and their relationship to pre-frontal cortex and hippocampal pathology following moderate-severe traumatic brain injury / A. Arulsamy, J. Teng, H. Colton, F. Corrigan, L. Collins-Praino // Behavioural Brain Research. – 2018. – Vol. 348. – P. 127-138.

59. Atala A. Principles of regenerative medicine / A. Atala, R. Lanza, J. Thompson, R. Nerem R // 1-th ed. Academic Press is an imprint of Elsevier, 2011 – P. 1182.

60. Altman J. Mosaic organization of the hippocampal neuroepithelium and the multiple germinal sources of dentate granule cells / J. Altman, S. A. Bayer // Journal of Comparative Neurology. – 1990. – Vol. 301. – P. 325-342.
61. Albert-Weißenberger C. An experimental protocol for mimicking pathomechanisms of traumatic brain injury in mice / C. Albert-Weißenberger, C. Varrallyay, F. Raslan, C. Kleinschnitz, A.L. Siren // Experimental & Translational Stroke Medicine. – 2012. – № 4. – P. 48-54.
62. Alves J. Blood-brain barrier and traumatic brain injury / J. Alves // Journal of Neuroscience Research. – 2014. – Vol. 92. – № 2. – P. 141-147.
63. Amtul Z. Spatial dynamics of vascular and biochemical injury in rat hippocampus following striatal injury and toxicity / Z. Amtul, C. Frias, J. Randhawa // Molecular Neurobiology. – 2019. – Vol. 56. – № 4. – P. 2714-2727.
64. Andelic N. Incidence of hospital-admitted severe traumatic brain injury and in-hospital fatality in Norway: a national cohort study / N. Andelic, A. Anke, T. Skandsen // Neuroepidemiology. – 2012. – Vol. 38. – № 4. – P. 259-267.
65. Anderson-Barnes V. Mild traumatic injury update. Continuum / V. Anderson, S. Weeks, J. Tsao // Journal of Traumatic Brain Injury. – 2010. – Vol. 16. – № 6. – P. 17-26.
66. Baimel C. Hippocampal-evoked inhibition of cholinergic interneurons in the nucleus accumbens / C. Baimel, E. Jang, S. Scudder, K. Manoocheri, A. Carter // Cell reports. – 2022. – Vol. 40. – P. 111-142.
67. Balestrino A. Spontaneous rupture of middle fossa arachnoid cysts: surgical series from a single center pediatric hospital and literature review / A. Balestrino, G. Piatelli, A. Consales, A. Cama, A. Rossi, M. Pacetti // Childs Nervous System. – 2020. – Vol. 36. – P. 2789-2799.
68. Baimbridge K. Immunohistochemical localization of calcium-binding protein in the cerebellum, hippocampal formation and olfactory bulb of the rat / K. Baimbridge, G. Miller // Brain Research. – 1982. – Vol. 245. – P. 223-229.

69. Bandak F. Injury biomechanics, neuropathology, and simplified physics of explosive blast and impact mild traumatic brain injury / F. Bandak, G. Ling, A. Bandak, N. De Lanerolle // *Handbook of Clinical Neurology*. – 2015. – Vol. 127. – P. 89-104.
70. Basso M. Transglutaminases, neuronal cell death and neural repair: implications for traumatic brain injury and therapeutics / M. Basso, A. Milelli // *Current Opinion in Neurology*. – 2019. – Vol. 32. – № 6. – P. 796-801.
71. Bayer S. Changes in the total number of dentate granule cells in juvenile and adult rats: a correlated volumetric and thymidine autoradiographic study / S. Bayer // *Experimental Brain Research*. – 1982. – Vol. 46. – P. 315-323.
72. Berger M. Facing acute hypoxia: from the mountains to critical care medicine / M. Berger, M. Grocott // *British Journal of Anaesthesia*. – 2017. – Vol. 118. – № 3. – P. 283-286.
73. Bertram L. Genomic mechanisms in Alzheimer's disease / L. Bertram, R. Tanzi // *Brain Pathology*. – 2022. – Vol. 30. – P. 966-977.
74. Bodnar C. Inflammatory Regulation of CNS Barriers After Traumatic Brain Injury: A Tale Directed by Interleukin-1 / C. Bodnar, J. Watson, E. Higgins, N. Quan, A. Bachstetter // *Frontiers in Immunology*. – 2021. – Vol. 12. – P. 68-75.
75. Bolon B. Best practices approach to neuropathologic assessment in developmental neurotoxicity testing — for Today / B. Bolon, R. Garman, K. Jensen, G. Krinke // *Toxicologic Pathology*. – 2006. – Vol. 34. – P. 296-313.
76. Bosco D. Mouse closed head traumatic brain injury replicates the histological tau pathology pattern of human disease: characterization of a novel model and systematic review of the literature / D. Bosco, J. Bouley, T. Smith, A. Kahriman // *Acta Neuropathologica Communications*. – 2021. – Vol. 9. – № 118. – P. 1-17.
77. Brown R. Donald O. Hebb and the Organization of Behavior: 17 years in the writing / R. Brown // *Molecular brain*. – 2020. – Vol. 13. – № 58. – P. 1-28.
78. Bubb E. The cingulum bundle: Anatomy, function, and dysfunction / E. Bubb, C. Metzler-Baddeley, J. Aggleton // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. – 2018. – Vol. 92. – P. 104-127.

79. Burda J. Reactive gliosis and the multicellular response to CNS damage and disease / J. Burda, M. Sofroniew // *Neuron*. – 2014. – Vol. 81. – P. 229-248.
80. Blennow K. The neuropathology and neurobiology of traumatic brain injury / K. Blennow, J. Hardy, H. Zetterberg // *Neuron*. – 2012. – Vol. 76. – № 5. – P. 886-899.
81. Cash A. Mechanisms of Blood-Brain Barrier Dysfunction in Traumatic Brain Injury / A. Cash, M. Theus // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2020. – Vol. 8. – № 21. –P. 33-44.
82. Carlos A. From brain collections to modern brain banks: A historical perspective / A. Carlos, T. Poloni, V. Medici, M. Chikhladze // *Alzheimers & Dementia Translational Research & Clinical Interventions*. – 2019. – Vol. 5. – P. 52-60.
83. Caporale N. Spike timing-dependent plasticity: a Hebbian learning rule / N. Caporale, Y. Dan // *Annual Review of Neuroscience*. – 2008. – Vol. 31. – P. 25-46.
84. Cassol G. Potential therapeutic implications of ergogenic compounds on pathophysiology induced by traumatic brain injury: A narrative review / G. Cassol, D. Godinho, V. de Zorzi, J. Farinha, I. Della-Pace, M. de Carvalho Gonçalves, M. Oliveira, A. Furian, M. Fighera, L. Royes // *Life Science* – 2019. – Vol. 233. – P. 116-168.
85. Citri, A. Synaptic plasticity: multiple forms, functions, and mechanisms / A. Citri, R. Malenka // *Neuropsychopharmacology*. – 2008. – Vol. 33. – № 1. – P. 18-41.
86. Cole J. Spatial patterns of progressive brain volume loss after moderate-severe traumatic brain injury / J. Cole, A. Jolly, S. de Simoni, N. Bourke, M. Patel, G. Scott // *Brain*. – 2018. – Vol. 141. – № 3. – P. 822-836.
87. Chao M. Neurotrophins and their receptors: a convergence point for many signalling pathways / M. Chao // *Nature Reviews Neuroscience*. – 2003. – Vol. 4. – № 4. – P. 299-309.
88. Chaudhary U. Brain-computer interfaces for communication and rehabilitation / U. Chaudhary, N. Birbaumer, A. Ramos-Murguialday // *Nature Reviews Neurology*. – 2016. – Vol. 12. – № 9. – P. 513-525.
89. Cheng J. Targeting pericytes for therapeutic approaches to neurological disorders/ J. Cheng, N. Korte, R. Nortley, H. Sethi, Y. Tang, D. Attwell // *Acta Neuropathology*. – 2018. –Vol. 136. – № 4. – P. 507-523.

90. Chew L. Microglia and inflammation: impact on developmental brain injuries / L. Chew, A. Takanohashi, M. Bell // Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews. – 2006. – Vol. 12. – P. 105-112.
91. Da Y. Real-Time Monitoring of Neurotransmitters in the Brain of Living Animals / Y. Da, S. Luo, Y. Tian // ACS Applied Materials & Interfaces. – 2023. – Vol. 15. – P. 138-157.
92. Danton G. Inflammatory mechanisms after ischemia and stroke / G. Danton, W. Dietrich // Journal of Neuropathology & Experimental Neurology. – 2003. – № 62. – P. 127-136.
93. Dayan E., Cohen L.G. Neuroplasticity subserving motor skill learning / E. Dayan, L. Cohen // Journal of Neuron. – 2011. – Vol. 72. – № 3. – P. 443-454.
94. Dean J. The O₂-sensitive brain stem, hyperoxic hyperventilation, and CNS oxygen toxicity / J. Dean, N. Stavitzski // Frontiers in Physiology. – 2022. – Vol. 13. – P. 2-18.
95. Desmond N. Ultrastructural identification of entorhinal cortical synapses in CA1 stratum lacunosum-moleculare of the rat / N. Desmond, C. Scott, W. Levy // Hippocampus. – 1994. – Vol. 4. – № 5. – P. 594-600.
96. Dimitrova-Shumkovska J. Diagnostic and Therapeutic Potential of TSPO Studies Regarding Neurodegenerative Diseases, Psychiatric Disorders, Alcohol Use Disorders, Traumatic Brain Injury, and Stroke: An Update / J. Dimitrova-Shumkovska, L. Krstanoski, L. Veenman // Cells. – 2020. – Vol. 9. – № 4. – P. 870.
97. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes: text with EEA relevance 20.10.2010. – Strasbourg: Official Journal of the European Union, 2010.
98. Dixon K. Pathophysiology of Traumatic Brain Injury / K. Dixon // Physical Medicine and rehabilitation clinics of North America Clinical. – 2017. – Vol. 28. – № 2. – P. 215-225.
99. Douglas, R. Neuronal circuits of the neocortex / R. Douglas, K. Martin // Annual Review of Neuroscience. – 2004. – Vol. 27. – P. 419-451.

100. Doganyigit Z. The Role of Neuroinflammatory Mediators in the Pathogenesis of Traumatic Brain Injury: A Narrative Review / Z. Doğanyiğit, K. Erbakan, E. Akyuz, A. Polat, A. Arulsamy, M. Shaikh // ACS Chemical Neuroscience. – 2022. – Vol. 13 – № 13. – P. 1835-1848.
101. Dolleman-Van der Weel M. Nucleus reuniensthalami innervates gamma aminobutyric acid positive cells in hippocampal field CA₁ of the rat / M. Dolleman-Van der Weel, M. Witter // Neuroscience. – 2000. – Vol. 278. – № 3. – P. 145-148.
102. Duffau H. Brain plasticity: from pathophysiological mechanisms for coincidence detection in synaptic plasticity / H. Duffau // Journal of Clinical Neuroscience. – 2006. – Vol. 13. – № 9– P. 855-897.
103. Ekbal B. Pierre Paul Broca: Tribute / B. Ekbal // Archives of Medicine and Health Sciences. – 2013. – Vol. 1. – № 1– P. 89-91.
104. Ernst A. Neurogenesis in the striatum of the adult human brain. / A. Ernst, K. Alkass, S. Bernard // Cell. – 2014. – Vol. 156.– P. 1072-1083.
105. Esposito E. Roles of fatty acid ethanolamides (FAE) in traumatic and ischemic brain injury / E. Esposito, M. Cordaro, S. Cuzzocrea // Pharmacological Research. – 2014. – Vol. 86. – № 3. – P. 26-31.
106. Fang Y. Axon degeneration and regeneration: insights from *Drosophila* models of nerve injury / Y. Fang, N. Bonini // Annual Review of Cell and Developmental Biology. – 2012. – Vol. 28. – P. 575-597.
107. Feeney D. Responses to cortical injury / D. Feeney, M. Boyeson, R. Linn, H. Murray, W. Dail // Methodology and local effects of contusions in the rat. – 1989. – P. 67-77.
108. Finnie J. Animal models of traumatic brain injury: areview / J. Finnie // Australian Veterinary Journal. – 2001. – Vol. 79. – № 9. – P. 628-633.
109. Frank D. Assessing Dominant-Submissive Behavior in Adult Rats Following Traumatic Brain Injury / D. Frank, B. Gruenbaum, M. Semyonov, Y. Binyamin, O. Severynovska, R. Gal, A. Frenkel, B. Knazer, M. Boyko, A. Zlotnik // Journal of Visualized Experiments. – 2022. – Vol. 190. – № 1. – P. 79-88.

110. Freeman L. The pathogenic role of the inflammasome in neurodegenerative diseases / L. Freeman, J. Ting // Journal of Neurochemistry. – 2016. – Vol. 136. – № 1. – P. 29-38.
111. Galgano M. Treatments and rehabilitation in the acute and chronic state of traumatic brain injury / M. Galgano, G. Toshkezi, X. Qiu, T. Russell, L. Chin, L. Zhao // Cell Transplantion. – 2017. – Vol. 26. – № 7. – P. 1118-1130.
112. Germain N. Embryonic stem cell neurogenesis and neural specification / N. Germain, E. Banda, L. Grabel // Journal Cell Biochemistry. – 2010. – Vol. 111. – № 3. – P. 535-542.
113. Giza C. Concussion: pathophysiology and clinical translation / C. Giza, T. Greco, M. Prins // Handbook of Clinical Neurology. – 2018. – Vol. 158. – P. 51-61.
114. Guo H. Vascular endothelial growth factor: an attractive target in the treatment of hypoxic/ischemic brain injury / H. Guo, H. Zhou, J. Lu, Y. Qu, D. Yu, Y. Tong // Neural Regeneration Research. – 2016. – Vol. 11. – № 1. – P. 174-179.
115. Guo S. Microglia polarization from M1 to M2 in neurodegenerative diseases / S. Guo, H. Wang, Y. Yin // Frontiers in Aging Neuroscience. – 2022. – Vol. 14. – P. 1-16.
116. Gupta A. Organizing principles for a diversity of GABAergic interneurons and synapses in the neocortex / A. Gupta, Y. Wang, H. Markram // Science. – 2000. – Vol. 287. – P. 273-278.
117. Ghaith H. A Literature Review of Traumatic Brain Injury Biomarkers / H. Ghaith, A. Nawar, M. Gabra, M. Abdelrahman, M. Nafady, E. Bahbah et al // Molecular Neurobiologe. – 2022. – Vol. 59. – № 7. – P. 4141-4158.
118. Hadanny A. Treatment of persistent post-concussion syndrome due to mild traumatic brain injury: current status and future directions. / A. Hadanny, S. Efrati // Expert Review of Neurotherapeutics. – 2016. – Vol. 16. – № 8. – P. 875-887.
119. Harris T. The Shrinking Brain: Cerebral Atrophy Following Traumatic Brain Injury / T. Harris, R. de Rooij, E. Kuhl // Annals of Biomedical Engineering. – 2019. – Vol. 47. – № 9. – P. 1941-1959.

120. Hamilton G. Behavioral deficits induced by third-trimester equivalent alcohol exposure in male C57BL/6J mice are not associated with reduced adult hippocampal neurogenesis but are still rescued with voluntary exercise / G. Hamilton, P. Bucko, D. Miller, R. DeAngelis, C. Krebs, J. Rhodes // Behavioural Brain Research. – 2016. – Vol. 314. – P. 96-105.
121. Hedel H. Rehabilitation of locomotion after spinal cord injury // H. Hedel, V. Dietz // Restorative Neurology and Neuroscience – 2010. – Vol. 28. – P. 123-134.
122. Hua Y. Behavioral tests after intracerebral hemorrhage in the rat / Y. Hua, T. Schallert, R.F. Keep, J. Wu, J.T. Hoff, G. Xi // Stroke. – 2002. – № 33. – P. 2478-2484.
123. Hoogenboom W. Animal models of closed-skull, repetitive mild traumatic brain injury / W. Hoogenboom, C. Branch, M. Lipton // Pharmacology Therapia. – 2019. – Vol. 198. – P. 109-122.
124. Ilchibaeva T. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and its precursor (proBDNF) in genetically defined fear-induced aggression / T. Ilchibaeva, E. Kondaurova, A. Tsybko, R. Kozhemyaldna, N. Popova // Behavioural Brain Research. – 2015. – Vol. 290. – P. 45-50.
125. Ilchibaeva T. Glial cell line - derived neurotrophic factor in genetically defined fear- induced aggression / T. Ilchibaeva, A. Tsybko, R. Kozhemyakina, N. Popova, V. Naumenko // Journal of Neuroscience. – 2016. – Vol. 44. – P. 2467-2473.
126. Jassam Y. Neuroimmunology of Traumatic Brain Injury: Time for a Paradigm Shift / Y. Jassam, S. Izzy, M. Whalen, D. McGavern, J. El Khoury // Journal of Neuron. – 2017. – Vol. 95. – № 6. – P. 1246-1265.
127. Jacquens A. Neuro-Inflammation Modulation and Post-Traumatic Brain Injury Lesions: From Bench to Bed-Side / A. Jacquens, E. Needham, E. Zanier, V. Degos, P. Gressens, D. Menon // International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – Vol. 23. – № 19. – P. 1-36.
128. Jamjoom A. The synapse in traumatic brain injury Side / A. Jamjoom, J. Rhodes, P. Andrews // Brain. – 2021. – Vol. 144. – № 1. – P. 18-31.

129. Johansson B. Neurorehabilitation and brain plasticity / B. Johansson // Journal of Rehabilitation Medicine. – 2003. – Vol. 35. – № 1. – P. 1-2.
130. Jha R. Pathophysiology and treatment of cerebral edema in traumatic brain injury / R. Jha, P. Kochanek, J. Simard // Neuropharmacology. – 2019. – Vol. 145. – P. 230-246.
131. Kallakuri S. The effect of varying impact energy on diffuse axonal injury in the rat brain: a preliminary study / S. Kallakuri, J.M. Cavanaugh, A.C. Ozaktay, T. Takebayashi // Experimental Brain Research. – 2003. – Vol. 148. – № 4. – P. 419-424.
132. Karve I. The contribution of astrocytes and microglia to traumatic brain injury / I. Karve, J. Taylor, P. Crack // British Journal of Pharmacology. – 2016. – Vol. 173. – № 4. – P. 692-702.
133. Katz D. Mild traumatic brain injury / D. Katz, S. Cohen, M. Alexander // Handbook of Clinical Neurology. – 2015. – Vol. 127. – P. 131-156.
134. Kaya D. Allopurinol attenuates repeated traumatic brain injury in old rats: A preliminary report / D. Kaya, S. Micili, C. Kizmazoglu, A. Mucuoglu, S. Buyukcoban, N. Ersoy, O. Yilmaz, A. Isik // Journal of Experimental Neurology. – 2022. – Vol. 357. – P. 114-196.
135. Kelsom C. Development and specification of GABAergic cortical interneurons / C. Kelsom, W. Lu // Cell Bioscience. – 2013. – Vol. 3. – P. 19.
136. Kilbourne M. Novel Model of Frontal Impact Closed Head Injury in the Rat / M. Kilbourne, R. Kuehn, C. Tosun, J. Caridi, K. Keledjian, G. Bochicchio // Journal of Neurotrauma. – 2008. – Vol. 26. – P. 2233-2243.
137. Kou Z. Evaluating the Role of Reduced Oxygen Saturation and Vascular Damage in Traumatic Brain Injury Using Magnetic Resonance Perfusion-Weighted Imaging and Susceptibility-Weighted Imaging and Mapping / Z. Kou, Y. Ye, E. Haacke // Magnetic Resonance Imaging. – 2015. – Vol. 24. – № 5. – P. 253-265.
138. Khan N. Neurotrophins and neuropathic pain: role in pathobiology / N. Khan, M. Smith // Journal of Molecules. – 2015. – Vol. 20. – P. 657-688.

139. Khellaf A. Recent advances in traumatic brain injury / A. Khellaf, D. Khan, A. Helmy // Journal of Experimental Neurology. – 2019. – Vol. 266. – № 11. – P. 2878-2889.
140. Lamade A. Mitochondrial damage & lipid signaling in traumatic brain injury / A. Lamade // Journal of Experimental Neurology. – 2020. – Vol. 26. – P. 329.
141. Lapointe L. Paul Broca and French Brains / L. Lapointe // Communication Disorders. – 2014. – Vol. 36. – № 1. – P. 29-34.
142. Laurer H. Models of traumatic brain injury / H. Laurer, P. Lenzlinger, T. McIntosh // European Journal of Trauma and Emergency Surgery. – 2000. – № 3. – P. 95-110.
143. Laskowitz D. Translational research in traumatic brain injury / D. Laskowitz, G. Grant // Frontiers in Neuroscience, CRC Press. – 2016. – P. 436.
144. Li S. Editorial: Advances in CNS Repair, Regeneration, and Neuroplasticity: From Basic Mechanisms to Therapeutic Strategies / S. Li // Frontiers in Cellular Neuroscience. – 2022. – Vol. 16. – P. 85-89.
145. Liorens-Martin M. The Ever-Changing Morphology of Hippocampal Granule Neurons in Physiology and Pathology / M. Liorens-Martin, A. Rabano, J. Avila // Frontiers in Neuroscience. – 2016. – Vol. 9. – P. 1-14.
146. Liu S. The role of pericytes in blood-brain barrier function and stroke / S. Liu, D. Agalliu, C. Yu, M. Fisher // Current Pharmaceutical Design. – 2012. – Vol. 18. – № 25. – P. 3653-3662.
147. Li G. MAP₂ and neurogranin as markers for dendritic lesions in CNS injury. An immunohistochemical study in the rat / G. Li, M. Farooque, A. Lewen // APMIS Journal. – 2000. – Vol. 108. – № 2. – P. 98-106.
148. Lukyanova L. Mitochondria-controlled signaling mechanisms of brain protection in hypoxia / L. Lukyanova, Y. Kirova // Frontiers in neuroscience. – 2015. – Vol. 9. – P. 1-16.
149. Maas E. Traumatic brain injury: integrated approaches to improve prevention, clinical care and research / E. Maas, D. Menon, P. Adelson, N. Andelik, M. Bell // Lancet Neurology. – 2017. – Vol. 16. – № 12. – P. 987-1048.

150. Markin S. Neuroplasticity is the basis of restorative neurology / S. Markin // Applied Information Aspects of Medicine. – 2017. – Vol. 20. – № 2. – P. 104-108.
151. Marklund N. Treatments and rehabilitation in the acute and chronic state of traumatic brain injury / N. Marklund, B. Bellander, A. Godbolt, H. Levin, P. McCrory, E. Thelin // Journal of Internal Medicine. – 2019. – Vol. 285. – № 6. – P. 608-623.
152. Madathil S. Alterations in brain-derived neurotrophic factor and insulin-like growth factor-1 protein levels after penetrating ballistic-like brain injury in rats / S. Madathil, Y. Deng-Bryant, B. Wilfred, L. Leung, J. Gilsdorf, D. Shear // Journal of Trauma Acute Care Surgery. – 2017. – Vol. 83. – P. 16-24.
153. Mapara K. Stem cells as vehicles for the treatment of brain cancer / K. Mapara, C. Stevenson, R. Thompson, M. Ehtesham // Neurosurgery Clinics of North America. – 2007. – Vol. 18. – P. 71-80.
154. Mendez M. What is the Relationship of Traumatic Brain Injury to Dementia? / M. Mendez // Journal of Alzheimers Disease. – 2017. – Vol. 57. – № 3. – P. 667-681.
155. Morrison J. Immunohistochemical distribution of pro-somatostatin-related peptides in cerebral cortex / J. Morrison, R. Benoit, J. Pierre, E. Bloom // Brain Research. – 1983. – Vol. 262. – № 2. – P. 344-351.
156. Motta C. Tissue engineering and regenerative medicine / C. Motta, T. Simon // Rossi's Principles of Transfusion Medicine. – 2022. – Vol. 6. – P. 648-666.
157. Murray H. Neuropathology in chronic traumatic encephalopathy: a systematic review of comparative post-mortem histology literature / H. Murray, C. Osterman, P. Bell, L. Vinnell, M.A. Curtis // Acta Neuropathol Communications. – 2022. – Vol. 10 – P. 108.
158. McGinn M. Pathophysiology of Traumatic Brain Injury / M. McGinn, J. Povlishock // Neurosurgery clinics of North America. – 2016. – Vol. 27. – № 4. – P. 397-407.
159. Narayanan R. Cell Type-Specific Structural Organization of the Six Layers in Rat Barrel Cortex / R. Narayanan, D. Udvary, M. Oberlaender // Frontiers in Neuroanatomy. – 2017. – Vol. 11. – P. 1-10.

160. Nakahashi Y. Role of nerve growth factor-tyrosine kinase receptor a signaling in paclitaxel-induced peripheral neuropathy in rats / Y. Nakahashi, Y. Kamiya, K. Funakoshi, T. Miyazaki, K. Uchimoto, K. Ogawa, T. Fukuoka, T. Goto // Journal of Biochemical and Biophysical Research Communications. Biochem. 2014. – Vol. 444. – P. 415-419.
161. Navidhamidi M. Epilepsy-associated alterations in hippocampal excitability / M. Navidhamidi, M. Ghasemi, N. Mehranfard // Reviews in the Neurosciences. – 2017. – Vol. 28. – № 3. – P. 307-334.
162. Noguchi J. In vivo two-photon uncaging of glutamate revealing the structure–function relationships of dendritic spines in the neocortex of adult mice / A. Nagaoka, S. Watanabe, G. Ellis-Davies, K. Kitamura, M. Kano, H. Kasai // The Journal of physiology. – 2011. – Vol. 589. – № 10. – P. 2447-2457.
163. Nordenankar K. Increased hippocampal excitability and impaired spatial memory function in mice lacking VGLUT₂ selectively in neurons defined by tyrosine hydroxylase promoter activity / K. Nordenankar, C. Smith-Anttila, N. Schweizer, T. Viereckel, C. Birgner, J. Mejia-Toiber et al // Brain Structure and Function. – 2015. – Vol. 220. – P. 2171-2190.
164. Obernier K., Alvarez-Buylla A. Neural stem cells: origin, heterogeneity and regulation in the adult mammalian brain / K. Obernier, A. Alvarez-Buylla // Development. – 2019. – Vol. 147. – № 4. – P. 1-15.
165. Ooigawa H. The fate of Nissl-stained dark neurons following traumatic brain injury in rats: difference between neocortex and hippocampus regarding survival rate / H. Ooigawa, H. Nawashiro, S. Fukui // Acta Neuropathologica Communications. – 2006. – Vol. 112. – P. 471-481.
166. Ousman S, Kubes P. Immune surveillance in the central nervous system / S. Ousman, P. Kubes // Nature Neuroscience. – 2012. – Vol. 15. – № 8. – P. 1096-1101.
167. Osanai T. Therapeutic effects of intra-arterial delivery of bone marrow stromal cells in traumatic brain injury of rats in vivo cell tracking study by near-infrared fluorescence imaging / T. Osanai, S. Kuroda, T. Sugiyama, M. Kawabori, M. Ito, H.

Shichinohe, Y. Kuge, K. Houkin, N. Tamaki, Y. Iwasaki // Neurosurgery. – 2012. – Vol. 70. – № 2. – P. 435-444.

168. Olson K. The potential for treg-enhancing therapies in nervous system pathologies / K. Olson, R. Mosley, H. Gendelman // Clinical and Experimental Immunology. – 2023. – Vol. 211. – № 2. – P. 108-121.

169. Ozen I. Perivascular mesenchymal stem cells in the adult human brain: a future target for neuroregeneration? / I. Ozen, J. Boix, G. Paul // Clinical and Translational Medicine. – 2012. – Vol. 1. – № 1. – P. 30.

170. Ozen I. Brain pericytes acquire a microglial phenotype after stroke / I. Ozen, T. Deierborg, K. Mihardha, T. Padel, E. Englund, G. Genové, G. Paul // Acta Neuropathologica. – 2014. – Vol. 128. – № 3. – P. 381-396.

171. Pan Y. The Role of MicroRNA in Traumatic Brain Injury / Y. Pan, Z. Sun, D. Feng // Neuroscience. – 2017. – Vol. 367. – P. 189-199.

172. Pati S. Neurogenic plasticity of mesenchymal stem cell, an alluring cellular replacement for traumatic brain injury. / S. Pati, S. Muthuraju, R. Hadi, T. Huat, S. Singh, M. Abdullah, H. Jaafar // Current Stem Cell Research & Therapy. – 2016. – Vol. 11. – № 2. – P. 149-164.

173. Paxinos G. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates / G. Paxinos, C. Watson // 5th ed. Elsevier Academic Press, San Diego, CA. – 2005. – P. 367.

174. Paxinos G. The rat nervous system / G. Paxinos // Prince of Wales Medical Research Institute the University of New South Wales Sydney Academic Press, Australia. – 2015. – P. 1052.

175. Pavlovic D. Traumatic brain injury: neuropathological, neurocognitive and neurobehavioral sequelae / D. Pavlovic, S. Pekic, M. Stojanovic, V. Popovic // Pituitary. – 2019. – Vol. 22. – № 3. – P. 270-282.

176. Pearce J. Broca's aphasiacs / J. Pearce // Journal of European Neurology. – 2009. – Vol. 61. – № 3. – P. 183-189.

177. Qi C. Molecular mechanisms of synaptogenesis / C. Qi, L. Luo, I. Feng, S. Ma // Frontiers in Synaptic Neuroscience. – 2022. – Vol. 14. – P. 1-20.

178. Raghavendra R. Traumatic brain injury to increased expression of peripheral-type benzodiazepine receptor, neuronal death and activation of astrocytes and microglia in rat thalamus / R. Raghavendra, A. Dogan, K. Bowen // *Neurology Experimental.* – 2000. – Vol. 16. – № 1. – P. 102-114.
179. Ramirez S. Modeling Traumatic Brain Injury in Human Cerebral organoids / S. Ramirez, A. Mukherjee, S. Sepulveda, A. Becerra-Calixto, N. Bravo-Vasquez, C. Gherardelli, M. Chavez, C. Soto // *Cells.* – 2021. – Vol. 10. – № 10. – P. 2683.
180. Rebola N. Operation and plasticity of hippocampal CA3 circuits: implications for memory encoding / N. Rebola, M. Carta, C. Mulle // *Nature Reviews Neuroscience.* – 2017. – Vol. 18. – № 4. – P. 208-220.
181. Rovegno M. Biological mechanisms involved in the spread of traumatic brain damage / M. Rovegno, P. Soto, J. Saez, R. von Bernhardi // *Medicina Intensiva.* – 2012. – Vol. 36. – № 1. – P. 37-44.
182. Romanchuk N. From electroencephalography to positron emission tomography hybrid and combined methods of management cognitive brain / N. Romanchuk, V. Pyatin, A. Volobuev // *Online scientific & educational Bulletin «Health and Education Millennium».* – 2017. – Vol. 19. – № 8. – P. 2-8.
183. Rukavishnikov V. Role of neuroautoimmune integration in pathogenesis of vibration disease / V. Rukavishnikov, G. Bodienkova, S. Kurchevenko, D. Rusanova, O. Lakhman // *Meditina truda i promyshlennaia ekologiiia.* – 2017. – Vol. 1. – P. 17-20.
184. Salmond C. Cognitive sequelae of head injury: involvement of basal forebrain and associated structures / C. Salmond, D. Chatfield, D. Menon, J. Pickard, B. Sahakian // *Brain.* – 2005. – Vol. 128. – № 1. – P. 189-200.
185. Sestakova N. Determination of motor activity and anxiety-related behaviour in rodents: methodological aspects and role of nitric oxide / N. Sestakova, A. Puzserova, M. Kluknavsky // *Interdisciplinary Toxicology.* – 2013. – Vol. 6. – № 3. – P. 126-135.
186. Seress L. GABAergic cells in the dentate gyrus appear to be local circuit and projection neurons / L. Seress, C.E. Ribak // *Experimental Brain Research.* – 1983. – Vol. 50. – № 2. – P. 173-182.

187. Segi-Nishida E. The Effect of Serotonin-Targeting Antidepressants on Neurogenesis and Neuronal Maturation of the Hippocampus Mediated via 5-HT1A and 5-HT4 Receptors / E. Segi-Nishida // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. – 2017. – Vol. 11. – P. 1-13.
188. Sulhan S. Neuroinflammation and blood-brain barrier disruption following traumatic brain injury: Pathophysiology and potential therapeutic targets / S. Sulhan, K. Lyon, L. Shapiro, J. Huang // *Journal Neuroscience Research*. – 2020. – Vol. 98. – № 1. – P. 19-28.
189. Sun X. The proform of glia cell linederived neurotrophic factor: a potentially biologically active protein / X. Sun // *Molecular Neurobiology*. – 2014. – Vol. 67. – № 2. – P. 1134-1140.
190. Sik A. Interneurons in the hippocampal dentate gyrus: An in vivo intracellular study / A. Sik, M. Penttonen, G. Buzsaki // *European Journal of Neuroscience*. – 1997. – Vol. 9. – № 3. – P. 573-588.
191. Sivandzade F. Traumatic Brain Injury and Blood-Brain Barrier (BBB): Underlying Pathophysiological Mechanisms and the Influence of Cigarette Smoking as a Premorbid Condition / F. Sivandzade, F. Alqahtani, L. Cucullo // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2020. – Vol. 21. – № 8. – P. 1-21.
192. Spitz G. Regional cortical volume and cognitive functioning following traumatic brain injury / G. Spitz, E.D. Bigler, T. Abildskov, J.J. Maller, R. O'Sullivan, Ponsford J.L. Ponsford // *Brain and Cognition*. – 2013. – Vol. 83 – № 1. – P. 34-44.
193. Schepici G. Traumatic Brain Injury and Stem Cells: An Overview of Clinical Trials, the Current Treatments and Future Therapeutic Approaches / G. Schepici, S. Silvestro, P. Bramanti, E. Mazzon // *Medicina (Kaunas)*. – 2020. – Vol. 56. – № 3. – P. 137.
194. Shah E. Mammalian Models of Traumatic Brain Injury and a Place for Drosophila in TBI Research / E. Shah, K. Gurdziel, D. Ruden // *Frontiers in Neuroscience*. – 2019. – Vol. 13. – P. 409.

195. Shaham S. Glia-Neuron Interactions in Nervous System Function and Development / S. Shaham // Current Topics in Developmental Biology. – 2005. – Vol. 69. – P. 39-66.
196. Shohayeb B. Factors that influence adult neurogenesis as potential therapy / B. Shohayeb, M. Diab, M. Ahmed // Translational Neurodegeneration. – 2018. – Vol. 7. – P. 4-13.
197. Shoronova A. Yu. Morphological characteristics of neurons and microvascular network of the sensorimotor cortex of rats after severe traumatic brain injury / A. Yu. Shoronova, V. A. Aculinin, L. M. Makarieva, S. S. Stepanov, M. S. Korzhuk, D. B. Avdeev, I. G. Tsuskman // Научно-практическая конференция, приуроченная к 80-летию член-корреспондента РАН, д-ра мед. наук, профессора Д. Б. Баженова «Актуальные вопросы фундаментальной и клинической морфологии». – 2022. – С. 550-559.
198. Schurman L. Investigation of left and right lateral fluid percussion injury in C57BL6/J mice: In vivo functional consequences / L. Schurman, T. Smith, A. Morales, N. Lee, T. Reeves, L. Phillips // Neuroscience Letter. – 2017. – Vol. 653. – P. 31-38.
199. Schumacher A. Ventral hippocampal CA₁ and CA₃ differentially mediate learned approach-avoidance conflict processing / A. Schumacher, F. Villaruel, S. Riaz, A. Lee, R. Ito // Current Biology. – 2018. – Vol. 28. – № 8. – P. 1318.
200. Schepici G. Traumatic Brain Injury and Stem Cells: An Overview of Clinical Trials, the Current Treatments and Future Therapeutic Approaches / G. Schepici, S. Silvestro, P. Bramanti, E. Mazzon // Medicina (Kaunas). – 2020. – Vol. 56. – № 2. – P. 137.
201. Slowik A. Brain inflammasomes in stroke and depressive disorders: Regulation by oestrogen / A. Slowik, L. Lammerding, S. Hoffmann, C. Beyer // Journal of Neuroendocrinology. – 2018. – Vol. 30. – № 2. – P. 10-12.
202. Stein T. Conclusion in Chronic Traumatic Encephalopathy / T. Stein, V. Alvarez, A. McKee // Current Pain and Headache Reports. – 2015. – Vol. 19. – № 10. – P. 409.

203. Todarello G. Incomplete penetrance of NRXN1 deletions in families with schizophrenia / G. Todarello, N. Feng, B. Kolachana // Schizophrenia Research. – 2014. – Vol. 155. – № 1. – P. 1-7.
204. Tomaszczyk. J. Negative neuroplasticity in chronic traumatic brain injury and implications for neurorehabilitation / J. Tomaszczyk, N. Green, D. Frasca, B. Colella, G. Turner, B. Christensen, et al // Neuropsychology Review. – 2014. – Vol. 24. – № 4. – P. 409-427.
205. Tsymbalyuk V. Experimental modeling of head injury / V. Tsymbalyuk, O. Kochin // Journal of Neurosurgery. – 2008. – Vol. 19. – № 2. – P. 10-12.
206. Van den Bedem H. Molecular mechanisms of chronic traumatic encephalopathy / H. Van den Bedem // Current Opinion in Biomedical Engineering. – 2017. – Vol. 16. – P. 23-30.
207. Vantini Y. Evidence for a physiological role of nerve growth factor in the central nervous system of neonatal rats / Y. Vantini, A. Mardino // Neuron. – 1989. – Vol. 3. – P. 1567-1575.
208. Van Praag H. Functional neurogenesis in adult hippocampus / H. Van Praag // Nature. – 2008. – Vol. 415. – P. 317.
209. Verbalis J. Acquired forms of central diabetes insipidus: Mechanisms of disease / J. Verbalis // Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism. – 2020. – Vol. 34. – № 5. – P. 1014-1049.
210. Verkhratsky A. Astroglia in neurological diseases /A. Verkhratsky, J. Rodriguez, V. Parpura // Future Neurology. – 2013. – Vol. 8. – № 2. – P. 149-158.
211. Voelbel G. Diffusion tensor imaging of traumatic brain injury review: implications for neurorehabilitation / G. Voelbel, H. Genova, N. Chiaravallotti, M. Hoptman // NeuroRehabilitation. – 2012. – Vol. 31. – № 3. – P. 281-293.
212. Villalba N. Traumatic brain injury causes endothelial dysfunction in the systemic microcirculation through arginase dependent uncoupling of endothelial nitric oxide synthase / N. Villalba, A. Sackheim, I. Nunez, D. Hill-Eubanks, M. Nelson, G. Wellman // Journal of Neurotrauma. – 2017. – Vol. 34. – P. 192-203.

213. Voineskos A. Neurexin-1 and frontal lobe white matter: an overlapping intermediate phenotype for schizophrenia and autism spectrum disorders / A. Voineskos, T. Lett, J. Lerch // PLOS ONE. – 2011. – Vol. 6. – № 6. – P. 1-8.
214. Walker M. Hippocampal Sclerosis: Causes and Prevention / M. Walker // Seminars in Neurology. – 2015. – Vol. 35. – № 3. – P. 193-200.
215. Wasserfuhr D. Protection of the right ventricle from ischemia and reperfusion by preceding hypoxia. / D. Wasserfuhr, S. Cetin, J. Yang // Pharmacology. 2008. – Vol. 378. – № 1. – P. 27-32.
216. Wei L. Collateral growth and angiogenesis around cortical stroke / L. Wei, J. Erinjeri, C. Rovainen, T. Woolsey // Stroke. – 2001. – № 32. – P. 2179-2184.
217. Wolburg H. Brain endothelial cells and the glio-vascular complex / H. Wolburg, S. Noell, A. Mack, K. Wolburg-Buchholz, P. Fallier-Becker // Cell and Tissue Research. – 2009. – Vol. 335. – № 1. – P. 75-96.
218. Wu K. VEGF attenuated increase of outward delayed-rectifier potassium currents in hippocampal neurons induced by focal ischemia via PI3-K pathway / K. Wu, P. Yang // Neuroscience. – 2015. – № 8. – P. 94-101.
219. Witter M. Perforant pathway projections to the ammons horn and the subiculum in the rat. An electron microscopical PHA-L study / M. Witter, B. Jorritsma-Byham, F. Wouterlood // Society for Neuroscience. – 1992. – Vol. 18. – P. 323-354.
220. Xiong Y. Angiogenesis, neurogenesis and brain recovery of function following injury / Y. Xiong, A. Mahmood, M. Chopp // Current opinion in investigational drugs. – 2010. – Vol. 11. – № 3. – P. 298-308.
221. Xiong Y. Exosomes Derived from Mesenchymal Stem Cells: Novel Effects in the Treatment of Ischemic Stroke / Y. Xiong, J. Song, X. Huang, Z. Pan // Frontiers in Neuroscience. – 2022. – Vol. 16. – P. 1-18.
222. Yazdanpanah Z. 3D bioprinted scaffolds for bone tissue engineering: State-of-the-art and emerging technologies / Z. Yazdanpanah, J. Johnston, D. Cooper, X. Chen // Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. – 2022. – Vol. 10. – № 3. – P. 41-56.
223. Yingxi W. Mild traumatic brain injury induces microvascular injury and accelerates Alzheimer-like pathogenesis in mice / W. Yingxi, W. Haijian, Z. Jianxiong,

B. Pluimer, D. Shirley, X. Xiaochun, T. Ge // *Acta Neuropathologica Communications*. – 2021. – Vol. 9. – P. 2-14.

224. Zappalà G. Traumatic brain injury and the frontal lobes: what can we gain with diffusion tensor imaging? / G. Zappalà, M. Thiebaut de Schotten, P. Eslinger // *Cortex*. – 2012. – Vol. 48. – № 2. – P. 156-165.

225. Zupang G. Teleost Fish as a Model System to Study Successful Regeneration of the Central Nervous System / G. Zupang, R. Sîrbulescu // *Current Topics in Microbiology and Immunology*. – 2013. – Vol. 367. – P. 193-233.

226. Zhao Z. Cellular microparticles and pathophysiology of traumatic brain injury / Z. Zhao, Y. Zhou, Y. Tian, M. Li, J. Dong, J. Zhang // *Protein Cell*. – 2017. – Vol. 8. – № 11. – P. 801-810.

227. Zhang N. Long Non-Coding RNAs in Retinal Ganglion Cell Apoptosis / N. Zhang, W. Cao, X. He, Y. Xing, N. Yang N // *Cellular and Molecular Neurobiology*. – 2023. – Vol. 43. – № 2. – P. 561-574.

228. Zhu M. Mitophagy in Traumatic Brain Injury: A New Target for Therapeutic Intervention / M. Zhu, X. Huang, H. Shan, M. Zhang // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2022. – Vol. 20. – P. 1-10.

229. Zlokovic B. Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer's disease and other disorders. / B. Zlokovic // *Nature Reviews Neuroscience* – 2011. – Vol. 12. – № 12. – P. 723.