

К.В. Мізякіна  
Л.А. Дзяк  
І.В. Твердохліб

Дніпровський державний медичний університет  
Дніпро, Україна

Надійшла: 22.01.2025

Прийнята: 12.03.2025

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2025.1.35-44>

УДК 591.481.1-001:57.012.4

## ДИНАМІКА СТРУКТУРНИХ ПЕРЕБУДОВ СОМАТОСЕНСОРНОЇ КОРИ У ЩУРІВ З РІЗНИМИ НЕЙРОКОГНІТИВНИМИ РОЗЛАДАМИ ПІСЛЯ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ

Mizyakina K.V.  , Dzyak L.A. , Tverdokhlib I.V.   Dynamics of structural changes in the somatosensory cortex in rats with various neurocognitive disorders after traumatic brain injury.



Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine.


**ABSTRACT. Background.** Information about the sensitivity of different neurons and neuroglia cells to injury and their ability to recover depending on the location of the damage and the nature of microcirculation changes in the post-traumatic period require significant clarification. **The study aims** to study the tissue and cellular posttraumatic changes in the structure of the somatosensory cortex of rats with various neurocognitive disorders at different times after severe traumatic brain injury. **Methods.** A "shock acceleration model" was used to reproduce severe traumatic brain injury in rats. According to the results of neurological tests, the rats were divided into three groups: 1) the first – animals after trauma with neurocognitive disorders and memory disorders; 1) the second – animals after trauma with neurocognitive disorders without memory disorders; 3) comparison group – animals after trauma without neurocognitive disorders. A histological, morphometric and immunohistochemical study of the somatosensory cortex was carried out using the markers  $\beta$ -tubulin, Synaptophysin, GAP43, NCAM1, N-cadherin, GFAP. **Results.** In animals with neurocognitive disorders, a moderate decrease in the total content of neurons of different types in the somatosensory cortex is observed, while in animals without cognitive deficits, the density of neurocytes does not differ from the normal level. The suppressed expression of Synaptophysin in the somatosensory cortex in rats with neurocognitive disorders does not change significantly 20 and 40 days after injury and remains at a low level. In animals of the comparison group, the density of p38-positive synapses is restored during the post-traumatic period. 10 days after injury, in animals of all groups, a moderate accumulation of CD56- and N-cadherin-positive protoplasmic astrocytes in the pericapillary spaces is observed, which is often associated with foci of edema and increased mitotic activity of gliocytes. In animals with neurocognitive disorders, in some cases, astroglia form cell layers on the surface of microvessels in the form of dense couplings, which indicates the blockage of transendothelial transport. 40 days after injury, the number of damaged microvessels with layers of astrocytes on the outer surface is significantly reduced. **Conclusion.** 10 days after injury, moderately pronounced neurodegenerative and destructive changes occur in the somatosensory cortex due to the post-traumatic cytotoxic cascade. 20 and 40 days after injury, signs of neuroinflammation are reduced regardless of the degree of cognitive deficit.

**Key words:** traumatic brain injury, rats, neurocognitive disorders, somatosensory cortex, morphology.

Mizyakina KV, Dzyak LA, Tverdokhlib IV. [Dynamics of structural changes in the somatosensory cortex in rats with various neurocognitive disorders after traumatic brain injury]. *Morphologia*. 2025;19(1):35-44. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2025.1.35-44>

 Mizyakina K.V. 0000-0003-2130-6132;  Dzyak L.A. 0000-0002-2827-3663;

 Tverdokhlib I.V. 0000-0002-8672-3773

 [mizyakina.e@gmail.com](mailto:mizyakina.e@gmail.com); [ivt@dmu.edu.ua](mailto:ivt@dmu.edu.ua)

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

### Вступ

Патогномонічність психопатологічних наслідків мало залежить від тяжкості травми, глибини неврологічних розладів, особливостей макроструктурних пошкоджень мозку та може формуватися як у гострому, так і у віддаленому періоді травматичного ушкодження головного мозку (ТУГМ). Широкий спектр нейрокогнітивних розладів формується у більшості хворих з ТУГМ,

причому у 3-10% постраждалих, які мають в анамнезі тяжку черепно-мозкову травму (ТЧМТ), розвивається деменція [1, 2].

У вирішенні численних питань, пов'язаних із лікуванням та реабілітацією пацієнтів з ТУГМ, особливий інтерес представляє вивчення патоморфологічних механізмів, які визначають характер формування та динаміки нейрокогнітивних порушень у різні терміни після травми. Показано, що

після ЧМТ запальна реакція, токсичність глутамату та інших медіаторів, утворення вільних радикалів, іонний дисбаланс і активація апоптотичних процесів спричиняють масовану вторинну загибель нейронів, тим часом призводячи до набряку мозку, пошкодження аксонів і аноксії, деструкції гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ), посилення запалення, окислювального стресу та нейродегенерації, що обумовлює поглиблення когнітивних порушень [3-5]. Основною причиною нейрокогнітивних порушень є пошкодження нервових клітин, проте також активуються астроцити, олігодендроцити та мікроглія. Активація астроцитів викликає гіперплазію гліального рубця після ЧМТ та низку інших перебудов макроглії [6]. Пошкоджені олігодендроцити можуть впливати на мієлін, спричиняючи таким чином дисфункцію нервової провідності [7]. Активовані мікрогліальні клітини беруть участь у фагоцитозі та функціональному відновленні, а потім ініціюють подальші зміни судинної проникності, що викликає реакцію аноксії клітин [4, 8]. Було також показано, що активація імунної системи після ЧМТ призводить до міграції макрофагів та моноцитів у пошкоджену ділянку мозку з подальшим вивільненням медіаторів запалення (IL-1 $\beta$  та IL-6) і додатковим ушкодженням нервових клітин [9].

Ексайтотоксичні пошкодження призводять до порушення когнітивних функцій (збудження, швидкості обробки інформації, уваги, пам'яті тощо), які реалізуються за участі уражених ділянок мозку [10, 11]. З мірою того, як гострий нейромедіаторний дисбаланс поступово редукується або трансформується, довготривалий дефіцит розвивається в церебральних холінергічних системах і, можливо, також у катехоламінергічних структурах, що пролонгує або поглиблює порушення когнітивних функцій. Повідомляється також, що існує тісний зв'язок між нейродеструктивними процесами, когнітивними порушеннями та синаптичною передачею [12-15].

Таким чином, дотепер уявлення про взаємозв'язок між послідовністю патогенетичних механізмів ТУГМ і характером когнітивних порушень після ЧМТ залишаються фрагментарними. Наразі суперечливими є відомості про динаміку віддалених посттравматичних змін міжклітинних взаємодій у різних відділах ГМ. Потребують суттєвих уточнень відомості про чутливість різних нейронів і клітин нейроглії до травми та їх здатність до відновлення в залежності від локалізації ушкодження та характеру перебудов гемомікроциркуляції в посттравматичному періоді.

Метою дослідження було визначення тканинних і клітинних посттравматичних змін структури соматосенсорної кори щурів з різними нейрокогнітивними розладами у різні терміни після тяжкої черепно-мозкової травми.

#### **Матеріали та методи**

Для моделювання ТЧМТ у дорослих нелінійних щурів-самців (віком від 4 до 6 міс) з вагою

300-400 г застосовували «модель ударного прискорення» [16, 17]. Перед нанесенням травми під загальною анестезією виконували сагітальний розріз шкіри голови завдовжки 2 см по середній лінії з оголенням брегми і лямбди та фіксували сталеву монету діаметром 1 см за допомогою ціаноакрилового клею. Стандартизована ТЧМТ наносилась шляхом вільного падіння грузика вагою 450 г із висоти 170 см. Перед моделюванням ТЧМТ, а також через 10, 20 і 40 дів після нього щурам проводили комплексне загальне та неврологічне обстеження, що включало: 1) оцінку неврологічного дефіциту за шкалою mNSS (Modified Neurological Severity Scores) з проведенням тестів рівноваги на трубі, асиметрії розгинання лап та розміщення; 2) тест «відкрите поле»; 3) тест умовної реакції пасивного уникнення [18].

За результатами неврологічних тестів щури були розподілені на три групи: 1) перша – тварини після ЧМТ з нейрокогнітивними розладами і порушеннями пам'яті; 2) друга – тварини після ЧМТ з нейрокогнітивними розладами без порушень пам'яті; 3) група порівняння – тварини після ЧМТ без нейрокогнітивних розладів. Контрольну групу склали інтактні щури віком  $4,8 \pm 0,6$  міс з вагою  $347 \pm 28$  г.

Всі дослідження з лабораторними тваринами проводили із дотриманням положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), Ванкуверської декларації про проведення дослідів на тваринах, Постанови Першого Національного конгресу з біоетики (Київ, 2001), Положення з біоетики МОЗ України від 1 листопада 2000 р. № 281, Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3446-IV від 21 лютого 2003 р. згідно з директивою Ради ЄС 2010/63/EU про дотримання постанов, законів, адміністративних положень Держав ЄС з питань захисту тварин, які використовуються з науковою метою [19, 20].

Для патоморфологічного дослідження мозок щурів після евтаназії вилучали з порожнини черепа, макроскопічно оцінювали стан м'яких оболонок, рельєфу, наявності крововиливів та локалізацію осередків забою. Для морфологічного дослідження великий мозок фіксували протягом 24 годин у 10%-му розчині забуференого формаліну. Після фіксації мозок розрізали у фронтальній площині на часточки на рівні лімбічної частки з подальшим виготовленням парапластових блоків. Гістологічні зрізи завтовшки 5-7 мкм із забарвленням їх за Нісслем (тіоніном із додаванням крезил-віолети) або імпрегнацією сріблом [21, 22] вивчали за допомогою світлооптичного мікроскопа AxioScope A1 («Carl Zeiss», Німеччина).

Імуногістохімічне дослідження з використанням первинних антитіл ( $\beta$ -tubulin, Synaptophysin, GAP43, NCAM1, N-cadherin, GFAP – «Thermo Scientific», USA) виконували у відповідності до

протоколу, який містив наступні етапи. Фіксовані на предметних скельцях гістологічні зрізи демаскувались упродовж 20 хвилин у мікрохвильовій печі при +100°C у цитратному буфері (pH 6,0). Для оцінки специфічності імуногістохімічного забарвлення проводили контрольні реакції. На наступному етапі із залученням системи візуалізації Lab Visison Quanto ("Thermo Scientific", USA) проводили обробку скелець та препаратів мозку з кожним реагентом упродовж 10 хвилин з проміжним промиванням у Трис-буферному розчині. В якості хромогена використовували 3,3'-Diaminobenzidine ("DakoCytomation", Данія). Для диференціювання кортикальних структур зрізи додатково забарвлювали гематоксиліном Майєра відповідно до загальних стандартів [23, 24].

Проводили фотофіксацію досліджуваних ділянок соматосенсорної кори за допомогою цифрової фотокамери AxioCam ERc 5s («Carl Zeiss», Німеччина). Обробку отриманих мікрофотографій проводили за допомогою програмного забезпечення AxioVs40 V 4.6.3.0 («Carl Zeiss Imaging Solutions GmbH», Німеччина). Проводили підрахунок чисельної щільності нейронів, середнього діаметра перикаріона пірамідних нейронів, чисельної щільності макрогліоцитів, мікрогліоцитів і гемокапілярів кори з використанням програмного пакету ImageJ 1.47v [25].

Варіаційно-статистична обробка отриманих результатів проводилася з урахуванням критерію t Стьюдента. У тому випадку, якщо отримане в дослідженні емпіричне розподілення не відповідало нормальному закону, оцінку відмінностей між вибірками оцінювали за допомогою непараметричного критерію Вілкоксона для пов'язаних вибірок та Манна-Уїтні для непов'язаних вибірок або із використанням рангового критерію Вандер-Вардена за стандартними процедурами [26]. При проведенні статистичної обробки отриманих квантифікованих результатів усі необхідні розрахунки виконували в оболонці електронної таблиці Excel при використанні відповідних формул і з використанням ліцензійного програмного пакету Statistica v6.1 (Statsoft Inc., USA) (серійний номер AGAR909E415822FA).

### Результати

Гістологічне дослідження соматосенсорної кори, розташованої каудально і латерально від зони удару, через 10 діб після травми у тварин всіх експериментальних груп виявило збережену на світлооптичному рівні цитоархітектоніку з типовим співвідношенням між шарами нейронів, що не відрізнялося від групи інтактних тварин. Помірні за ступенем виразності нейродегенеративні та деструктивні зміни спостерігались у невеликих за площею ділянках кори. У цих ділянках частина нейронів містила ознаки тигролізу, що за рахунок конденсації та диспергування хроматофільної субстанції призводило до формування гіпохромних нейронів кулястої форми з витонченими

відростками. Ядра гіпохромних клітин були збільшені та розташовувались ексцентрично. Поряд з гіпохромними нейронами виявлялись гіперхромні нейрони видовженої форми з невеликими перикаріонами. В окремих випадках визначались поодинокі «тіні» нейронів на тлі світлооптично незміненого нейропілю без ознак нейрозапалення (рис. 1). Характерні ознаки активного апоптотичного процесу спостерігались лише у незначній кількості нейронів соматосенсорної кори у тварин всіх досліджуваних груп, причому кількість апоптотичних фігур не залежала від терміну після нанесення травми. Некротично змінені нейрони не виявлялись, появи аутофагії нейронів, переважно пірамідних, зустрічались рідко на всіх досліджуваних термінах після травми.



Рис. 1. Соматосенсорна кора головного мозку щура 2-ї експериментальної групи через 10 діб після ЧМТ. Імпрегнація сріблом.  $\times 100$ .

Через 10 діб після травми ознаки помірного міжклітинного та периваскулярного набряку спостерігались лише у тих ділянках соматосенсорної кори, які топографічно були наближені до зони удару. В означених ділянках виявлялись помірні ушкодження мікросудин у вигляді потовщення та ущільнення ендотеліальної базальної мембрани без залишків інтерстиційних або діapedезних крововиливів. Морфологічні ознаки дрібних мультиполярних нейронів соматосенсорної кори не відрізнялись суттєво від характеристик інтактної групи тварин на всіх етапах експерименту. Через 20 і 40 діб після нанесення травми в соматосенсо-

рній корі тварин всіх досліджуваних груп були відсутні морфологічні прояви цитотоксичного каскаду або загибелі нейронів.

При морфометричному визначенні чисельної щільності нейроцитів, які імуногістохімічно маркувалися  $\beta$ -тубуліном, у групі тварин без нейрокогнітивних розладів на жодному терміні експерименту клітинна щільність не відрізнялась від показника інтактних тварин (табл. 1). У шурів першої і другої груп через 10 діб після травми сумарний вміст нейронів різних типів соматосенсорної кори на 15,6% ( $p < 0,05$ ) і 17,2% ( $p < 0,05$ )

відповідно поступався нормальному рівню. Через 20 діб після ТЧМТ у першій і другій групах тварин чисельна щільність нейронів суттєво не змінювалась відносно попереднього терміну, суттєво поступаючись значенню інтактних шурів – на 18,3% ( $p < 0,05$ ) і 20,2% ( $p < 0,05$ ) відповідно. Через 40 діб експерименту чисельна щільність нейроцитів соматосенсорної кори ГМ шурів першої і другої експериментальних груп істотно не змінювалась у порівнянні з попереднім терміном і поступалась показнику інтактних тварин на 17,5% ( $p < 0,05$ ) і 20,4% ( $p < 0,05$ ) відповідно.

Таблиця 1

Чисельна щільність нейроцитів кори соматосенсорної кори,  $\times 10^2$  мм<sup>-2</sup> (M  $\pm$  m)

Термін після травми	Групи дослідження		
	Перша	Друга	Порівняння
10 діб	31,4 $\pm$ 3,7 *	30,8 $\pm$ 2,9 *	34,2 $\pm$ 3,7
20 діб	30,4 $\pm$ 2,5 *	29,7 $\pm$ 2,7 *	34,9 $\pm$ 4,0
40 діб	30,7 $\pm$ 2,8 *	29,6 $\pm$ 2,5 *	36,1 $\pm$ 4,2

Примітка: \* –  $p < 0,05$  при порівнянні зі значенням у групі інтактних шурів ( $37,2 \pm 3,5 \times 10^2$  мм<sup>-2</sup>).

Морфометричний аналіз показав, що за розмірами пірамідні нейрони соматосенсорної кори істотно не різнилися між трьома експериментальними групами, проте суттєво поступалися нормальному значенню середнього діаметра перикаріону інтактних шурів через 10 діб після нанесення ТЧМТ (табл. 2). Найбільш виразне зменшення розмірів перикаріонів спостерігалось в першій групі тварин – на 26,3% ( $p < 0,05$ ). У тварин другої групи параметр поступався нормальному рівню

на 25,5% ( $p < 0,05$ ), у тварин групи порівняння – на 25,1% ( $p < 0,05$ ). Через 20 діб у тварин першої групи параметр поступався нормі на 22,3% ( $p < 0,05$ ), у тварин другої групи – на 20,2% ( $p < 0,05$ ), у тварин групи порівняння – на 21,9% ( $p < 0,05$ ). Через 40 діб після травми у тварин всіх досліджуваних груп пірамідні нейрони за розмірами не відрізнялись у статистично вагомому ступені від показника інтактних тварин.

Таблиця 2

Середній діаметр перикаріона пірамідних нейронів соматосенсорної кори, мкм (M  $\pm$  m)

Термін після травми	Групи дослідження		
	Перша	Друга	Порівняння
10 діб	5,32 $\pm$ 0,47 *	5,38 $\pm$ 0,53 *	5,41 $\pm$ 0,53 *
20 діб	5,61 $\pm$ 0,43 *	5,76 $\pm$ 0,46 *	5,64 $\pm$ 0,54 *
40 діб	6,63 $\pm$ 0,55	6,85 $\pm$ 0,61	6,78 $\pm$ 0,72

Примітка: \* –  $p < 0,05$  при порівнянні зі значенням у групі інтактних шурів ( $7,22 \pm 0,69$  мкм).

При аналізі впливу ТЧМТ на синаптичний апарат нейронів соматосенсорної кори з використанням моноклональних антитіл до синаптофізину (p38) у тварин всіх експериментальних груп спостерігалось помірне дифузне зниження експресії даного маркера через 10 діб після травми у порівнянні з інтактними тваринами. Рівномірне розподілення імуногістохімічної мітки маркера p38 не відрізнялося між досліджуваними групами (рис. 2). Через 20 і 40 діб після нанесення травми експресія синаптофізину у соматосенсорній корі шурів з нейрокогнітивними розладами суттєво не змінювалась, залишаючись на обмеженому рівні, в той час як у тварин групи порівняння спостері-

галось відновлення щільності p38-позитивних синапсів протягом посттравматичного періоду (рис. 3).

Дослідження синаптичного маркера GAP43, що характеризує активність ремоделювання аксонних терміналей, виявило відсутність GAP43-позитивних структур у соматосенсорній корі як у інтактних шурів, так і в усіх трьох експериментальних групах тварин протягом досліджуваного посттравматичного періоду.

При використанні маркерів NCAM1 і N-кадгерину було встановлено, що у всіх тварин після моделювання ТЧМТ незалежно від ступеня нейрокогнітивного дефіциту інтенсивність імуногі-

тохімічної мітки на поверхні перикаріонів більшості нейронів соматосенсорної кори не відрізнялась від експресії цих маркерів на мембранах інтактних нейронів. При цьому загальна інтенсивність імуногістохімічного забарвлення зрізів мозку тварин була помітно нижчою після травми,

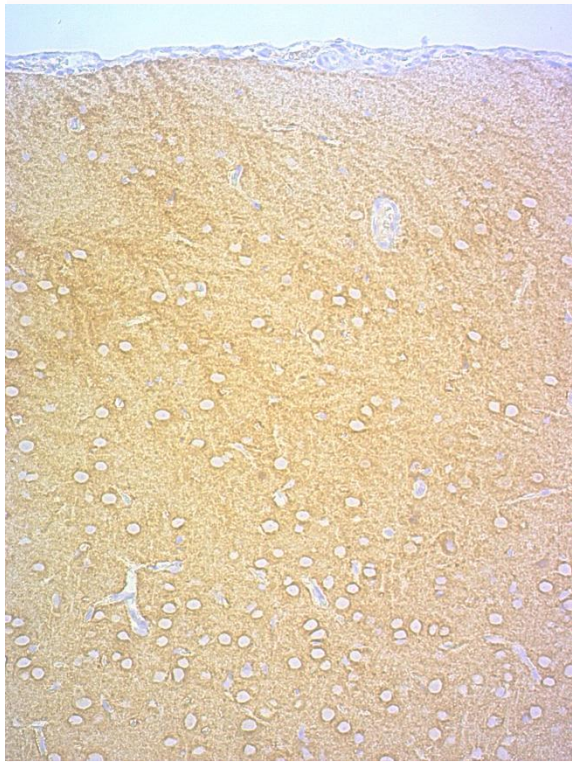


Рис. 2. Соматосенсорна кора головного мозку щура 1-ї експериментальної групи через 10 днів після ЧМТ. Імуногістохімічна реакція з маркером р38. Додаткове забарвлення гематоксилином Майєра.  $\times 100$ .

При дослідженні гліального компоненту соматосенсорної кори прояви аутофагії гліоцитів зустрічалися частіше, ніж у нейроцитів. Суттєві морфогенетичні перебудови макрогліоцитів у віддаленому посттравматичному періоді стосувались характеру їх просторового перерозподілу, проліферативних і міграційних властивостей. Зокрема, через 10 днів після нанесення ТЧМТ у тварин всіх експериментальних груп спостерігалось помірне збільшення кількості протоплазматичних астроцитів. Макрогліоцити інших типів у складі соматосенсорної кори не змінювались у порівнянні з інтактними тваринами. Астроцити накопичувались переважно у перикапілярних просторах поряд з осередками набряку, який через 10 днів після травми супроводжував значну кількість мікросудин у віддаленій від зони удару сірій речовині великих півкуль. Щільність розташування волокнистих астроцитів у складі нейропілю соматосенсорної кори не відрізнялась від типової інтатної архітектоники. Астроцити з розгалуженими відростками контактували між собою, проте помі-

ніж у інтактних тварин, за рахунок зниженої щільності нейронів. Характер розподілу CD56-позитивних і N-кадгерин-позитивних нейроцитів у щурів експериментальних груп не змінювався протягом досліджуваного терміну посттравматичного періоду.

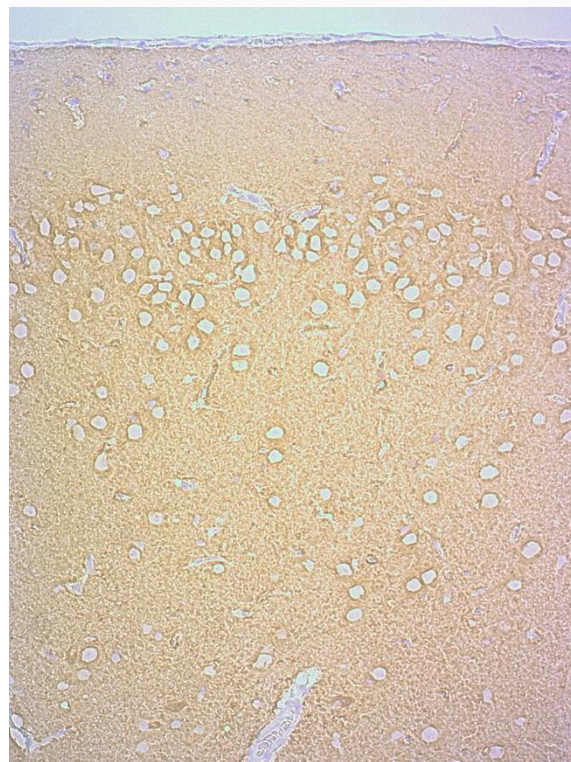


Рис. 3. Соматосенсорна кора головного мозку щура групи порівняння через 20 днів після ЧМТ. Імуногістохімічна реакція з маркером р38. Додаткове забарвлення гематоксилином Майєра.  $\times 100$ .

рна кількість гліоцитів була представлена відокремленими клітинами. В окремих ділянках між мікросудинами спостерігалось помітне зниження щільності астроцитів. Через 20 і 40 днів після моделювання травми у тварин всіх експериментальних груп не спостерігалось суттєвих патоморфологічних змін або перебудов структурної організації макроглії в досліджуваній локалізації.

Визначення маркерів CD56 (NCAM1) і N-кадгерину показало певні особливості розподілу імуногістохімічної мітки міжклітинної кооперації в соматосенсорній корі ГМ тварин у всіх досліджуваних групах. Зокрема, через 10 днів після нанесення ТЧМТ протоплазматичні астроцити навколо окремих мікросудин інтенсивно накопичували мітку обох означених маркерів. Нейропіль між мікросудинами містив значно меншу щільність CD56- і N-кадгерин-позитивних клітин. Через 20 і 40 днів після моделювання ТЧМТ характер розподілу імуногістохімічної мітки не змінювався і не розрізнявся між трьома експериментальними групами.

Морфометричний аналіз макрогліоцитів на

зрізах, забарвлених з використанням антитіл до GFAP, показав, що через 10 діб від початку експерименту середня чисельна щільність клітин у соматосенсорній корі поступалася нормальному значенню в першій групі тварин на 23,2% ( $p < 0,05$ ), у другій – на 24,7% ( $p < 0,05$ ), у групі порівняння – на 18,4% ( $p < 0,05$ ). Через 20 діб після нанесеної травми у тварин першої і другої експериментальних груп ступінь астроцитарного дефіциту істотно не змінювався відносно попереднього терміну, поступаючи рівню інтактної

групи на 19,5% ( $p < 0,05$ ) і 20,5% ( $p < 0,05$ ) відповідно. У щурів групи порівняння через 20 діб експерименту відбувалося істотне зростання параметра порівняно з попереднім терміном з його відновленням до нормального рівня (табл. 3). Через 40 діб після нанесення травми у тварин першої і другої груп параметр повертався до нормальних значень і не відрізнявся від показника групи порівняння.

Таблиця 3

Чисельна щільність макроглоцитів соматосенсорної кори,  $\times 10^2$  мм<sup>-2</sup> (M  $\pm$  m)

Термін після травми	Групи дослідження		
	Перша	Друга	Порівняння
10 діб	146 $\pm$ 16 *	143 $\pm$ 19 *	155 $\pm$ 18 *
20 діб	153 $\pm$ 12 * **	151 $\pm$ 11 * **	184 $\pm$ 13
40 діб	172 $\pm$ 22	180 $\pm$ 18	194 $\pm$ 18

Примітка: \* –  $p < 0,05$  при порівнянні зі значенням у групі інтактних щурів ( $190 \pm 15 \times 10^2$  мм<sup>-2</sup>); \*\* –  $p < 0,05$  при порівнянні з відповідним за терміном значенням у групі порівняння.

Розподіл та морфологія мікроглоцитів мали певні особливості у різних шарах соматосенсорної кори ГМ тварин досліджуваних груп. Переважна більшість клітин мала сплюснену форму та розгалужені відростки, які занурювалися між нейронами або в товщу нейропілю. Мікроглоцити кулястої форми з поодинокими довгими хвилеподібними відростками зустрічалися переважно навколо гемокапілярів. Дані клітини контактували з мікросудинною стінкою та протоплазматичними астроцитами. Також поблизу мікросудин з ознаками периваскулярного набряку виявлялись типові циркулюючі макрофаги та поодинокі лімфоцити. Через 40 діб посттравматичного періоду ознаки периваскулярної клітинної інфільтрації не спостерігались у жодній з експериментальних груп.

При морфометрії чисельної щільності мікро-

глоцитів у соматосенсорній корі в усіх досліджуваних тварин через 10 діб після травми відзначався значно підвищений рівень щільності клітин з макрофагальною активністю в порівнянні з інтактними тваринами: в першій групі – на 67,0% ( $p < 0,05$ ), у другій групі – на 71,4% ( $p < 0,05$ ), у групі порівняння – на 60,7% ( $p < 0,05$ ). Через 20 діб після ТЧМТ спостерігалось помірне зниження щільності мікроглоцитів. Статистично значущих відмінностей параметра у першій і другій групах дослідження від показників групи порівняння не спостерігались протягом усього посттравматичного періоду (табл. 4). Через 40 діб після нанесення травми чисельна щільність мікроглоцитів перевищувала показник інтактних тварин: в першій групі – на 54,5% ( $p < 0,05$ ), у другій групі – на 52,7% ( $p < 0,05$ ), у групі порівняння – на 46,4% ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 4

Чисельна щільність мікроглоцитів соматосенсорної кори, мм<sup>-2</sup> (M  $\pm$  m)

Термін після травми	Групи дослідження		
	Перша	Друга	Порівняння
10 діб	1,87 $\pm$ 0,34 *	1,92 $\pm$ 0,28 *	1,80 $\pm$ 0,26 *
20 діб	1,73 $\pm$ 0,30 *	1,71 $\pm$ 0,30 *	1,64 $\pm$ 0,19 *
40 діб	1,68 $\pm$ 0,21 *	1,59 $\pm$ 0,27 *	1,62 $\pm$ 0,23 *

Примітка: \* –  $p < 0,05$  при порівнянні зі значенням у групі інтактних щурів ( $1,12 \pm 0,14 \times 10^2$  мм<sup>-2</sup>).

При вивченні гемомікроциркуляторних змін у складі соматосенсорної кори, що відбувалися внаслідок ТЧМТ, в усіх досліджуваних експериментальних групах переважна кількість гемокапілярів у віддалених від зони удару ділянках мала інтактну структуру стінки й утворювала типовий за будовою ГЕБ. Через 10 діб після травми окремі

мікросудини мали ознаки внутрішньосудинного мікротромбозу в оточенні дрібних осередків вторинних крововиливів, з плазматичним просоченням гемокапілярної стінки та периваскулярного простору. У тварин з нейрокогнітивними розладами таких мікросудин було помітно більше, ніж у тварин групи порівняння. Крім того, виявлялись

окремі патологічно змінені мікросудин з нашаруваннями астроцитів на зовнішній поверхні (рис. 4, 5 стаття), в той час як у тварин групи порівняння астроцити не утворювали будь-яких клітинних конгломератів поблизу мікросудин (рис. 6 стаття). Гемокапіляри з некрозом, деструкцією або фрагментацією ендотеліальної стінки не виявлялись у жодній з груп. Через 20 і 40 діб після нанесення травми значно зменшувалась кількість патологічно змінених мікросудин і осередків діapedезних крововиливів у тканину кори.

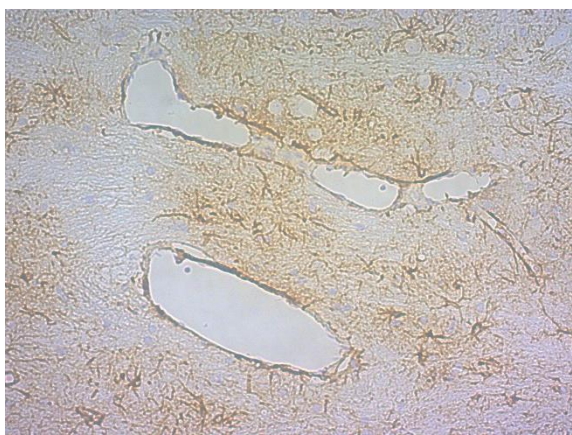


Рис. 4. Соматосенсорна кора головного мозку щура групи порівняння через 10 діб після ЧМТ. Імуногістохімічна реакція з маркером GFAP. Додаткове забарвлення гематоксилином Майєра.  $\times 400$ .

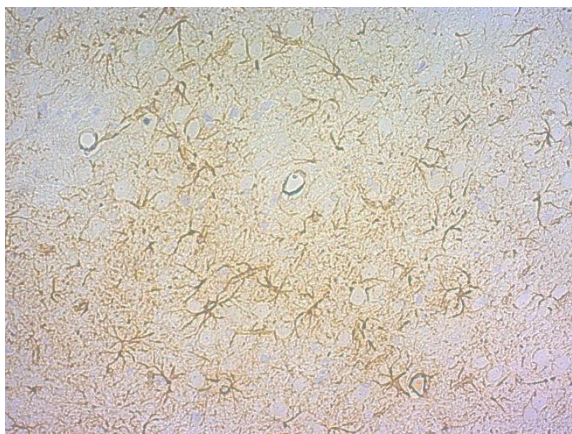


Рис. 5. Соматосенсорна кора головного мозку щура 1-ї експериментальної групи через 10 діб після ЧМТ. Імуногістохімічна реакція з маркером GFAP. Додаткове забарвлення гематоксилином Майєра.  $\times 400$ .

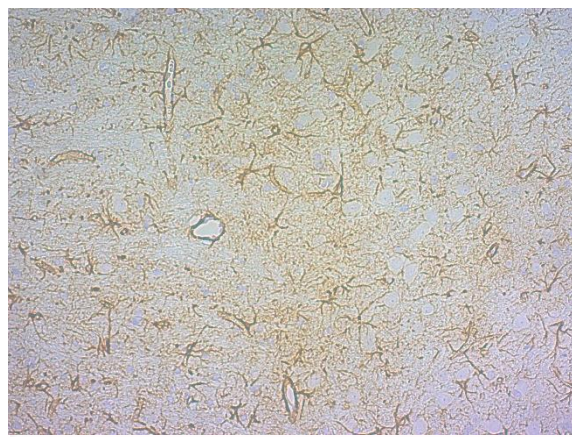


Рис. 6. Соматосенсорна кора головного мозку щура 2-ї експериментальної групи через 10 діб після ЧМТ. Імуногістохімічна реакція з маркером GFAP. Додаткове забарвлення гематоксилином Майєра.  $\times 400$ .

При морфометричному визначенні чисельної щільності гемокапілярів у складі соматосенсорної кори через 10 діб після ТЧМТ спостерігався достовірно підвищений у порівнянні з інтактним рівень параметра: у тварин першої групи – на 31,4% ( $p < 0,05$ ); другої групи – на 23,9% ( $p < 0,05$ ); групи порівняння – на 29,4% ( $p < 0,05$ ). Через 20 і 40 діб після нанесення експериментальної травми щільність мікросудин у соматосенсорній корі поверталась до нормального рівня у всіх експериментальних групах тварин (табл. 5).

#### Обговорення

ЧМТ викликає складний набір первинних і вторинних реакцій, які ушкоджують ділянки мозку, що обслуговують певні когнітивні функції. Вогнищеві ушкодження викликають стійкі когнітивні порушення, типи яких відносно нескладно зрозуміти на основі сучасних нейроанатомічних уявлень [27]. Крім того, ушкодження аксонів у поєднанні з цитотоксичними процесами є найпоширенішою патоморфологічною причиною посттравматичних когнітивних порушень і мають найбільший вплив на швидкість та ефективність обробки інформації [10, 12]. У цьому відношенні викликають інтерес конкретні топологічні особливості структурних перебудов різних відділів ГМ, які відбуваються протягом віддаленого посттравматичного періоду і пов'язані з характером нейрокогнітивних розладів.

Таблиця 5

Чисельна щільність гемокапілярів соматосенсорної кори,  $\text{мм}^2$  ( $M \pm m$ )

Термін після травми	Групи дослідження		
	Перша	Друга	Порівняння
10 діб	$69,4 \pm 5,7$ *	$65,4 \pm 7,2$ *	$68,3 \pm 6,4$ *
20 діб	$57,2 \pm 5,3$	$56,3 \pm 5,7$	$55,9 \pm 6,7$
40 діб	$54,1 \pm 6,4$	$55,0 \pm 5,1$	$53,7 \pm 6,5$

Примітка: \* –  $p < 0,05$  при порівнянні зі значенням у групі інтактних щурів ( $52,8 \pm 4,7 \text{ мм}^2$ ).

У нашому дослідженні проаналізовані оборотні та стабільні морфологічні зміни в соматосенсорній корі ГМ щурів протягом 40 діб після нанесення стандартизованої симетричної тяжкої ЧМТ в моделі ударного прискорення. Показано, що через 10 діб після травми у соматосенсорній корі відбуваються помірно виражені нейродегенеративні та деструктивні зміни сірої речовини. У тварин з нейрокогнітивними розладами спостерігається помірне зменшення сумарного вмісту нейронів різних типів, в той час як у тварин без когнітивного дефіциту щільність нейронів не відрізняється від нормального рівня. Через 20 і 40 діб після ЧМТ ознаки нейрозапалення в соматосенсорній корі редукуються незалежно від ступеня когнітивного дефіциту.

За результатами проведеного імуногістохімічного дослідження виявлено, що пригнічена експресія синаптофізину у соматосенсорній корі щурів з нейрокогнітивними розладами через 20 і 40 діб після ЧМТ суттєво не змінюється та залишається на низькому рівні. У тварин групи порівняння відбувається відновлення щільності р38-позитивних синапсів протягом посттравматичного періоду. Через 10 діб після ЧМТ у соматосенсорній корі тварин всіх груп спостерігається помірне накопичення CD56- і N-кадгерин-позитивних протоплазматичних астроцитів у перикапілярних просторах, що часто асоційовано з осередками набряку і підвищенням мітотичної активності гліоцитів. При цьому утворюються значні за об'ємом ділянки нейропіля з низькою щільністю розташування волокнистих астроцитів. Через 20 і 40 діб посттравматичного періоду у тварин з нейрокогнітивними розладами осередки астроцитарного дефіциту зберігаються, у щурів групи порівняння – зустрічаються дуже рідко.

Отримані нами дані кількісно характеризують та пояснюють численні відомості наукової літератури про те, що деструкція та напруження аксонів викликає різке підвищення рівня більшості церебральних нейромедіаторів, причому травматично індукований надлишок глутамату та ацетилхоліну є найбільш нейротоксичним [15]. Деструктивні наслідки такого надлишку нейромедіаторів виявляються найбільшими в тих областях, де ці нейромедіатори локалізовані сумісно – в структурах енторинально-гіпокампаального комплексу, базальному відділі переднього мозку, фронтальній корі.

Заслугує на увагу той факт, що після ЧМТ запальна реакція, токсичність глутамату і активація апоптотичних процесів спричиняють масовану вторинну загибель нейронів, тим часом призводячи до нейродегенерації, що обумовлює поглиблення когнітивних порушень [3-5, 28, 29]. У нашому дослідженні показано, що у віддаленій від зони ушкодження соматосенсорній корі у тварин з нейрокогнітивними розладами спостерігається значне зростання кількості новоутворених гемокapілярів з типовою будовою ендотеліальної

стінки, проте на поверхні окремих ушкоджених капілярів виявляється велика кількість щільно упакованих протоплазматичних астроцитів. У цих випадках астроглія утворює клітинні нашарування на поверхні мікросудин у вигляді щільних муфт, що вказує на блокування трансендотеліального транспорту. На нашу думку, наявність таких патологічно змінених гемокapілярів у соматосенсорній корі може бути однією із складових стійкого нейрокогнітивного дефіциту.

#### **Висновки**

1. Через 10 діб після нанесення травми у віддаленій від зони удару соматосенсорній корі відбуваються помірно виражені нейродегенеративні та деструктивні зміни сірої речовини внаслідок посттравматичного цитотоксичного каскаду. У тварин з нейрокогнітивними розладами спостерігається помірне зменшення сумарного вмісту нейронів кори, в той час як у тварин без когнітивного дефіциту щільність нейронів не відрізняється від нормального рівня. Через 20 і 40 діб після ЧМТ ознаки нейрозапалення в соматосенсорній корі редукуються незалежно від ступеня когнітивного дефіциту.

2. Пригнічена експресія синаптофізину у соматосенсорній корі щурів з нейрокогнітивними розладами через 20 і 40 діб після ЧМТ суттєво не змінюється та залишається на низькому рівні. У тварин групи порівняння відбувається відновлення щільності р38-позитивних синапсів протягом посттравматичного періоду.

3. Через 10 діб після ЧМТ у соматосенсорній корі тварин всіх груп спостерігається помірне накопичення CD56- і N-кадгерин-позитивних протоплазматичних астроцитів у перикапілярних просторах, що часто асоційовано з осередками набряку і підвищенням мітотичної активності гліоцитів. При цьому утворюються значні за об'ємом ділянки нейропіля з низькою щільністю розташування волокнистих астроцитів. Через 20 і 40 діб посттравматичного періоду у тварин з нейрокогнітивними розладами осередки астроцитарного дефіциту зберігаються, у щурів групи порівняння – зустрічаються дуже рідко.

4. Через 10 діб після ЧМТ у тварин з нейрокогнітивними розладами спостерігається значне зростання кількості новоутворених гемокapілярів з типовою будовою ендотеліальної стінки. На поверхні поодиноких ушкоджених капілярів виявляється велика кількість щільно упакованих протоплазматичних астроцитів. В окремих випадках астроглія утворює клітинні нашарування на поверхні мікросудин у вигляді щільних муфт, що вказує на блокування трансендотеліального транспорту. Через 40 діб після травми суттєво зменшується кількість ушкоджених мікросудин з нашаруваннями астроцитів на зовнішній поверхні.

**Перспективи подальших розробок** полягають у з'ясуванні взаємозв'язку між патоморфологічними механізмами перетворень при ТУГМ і ха-



рактором когнітивних порушень після ЧМТ. Актуальним також є дослідження чутливості нейронів і гліоцитів до травми та їх здатності до відновлення в залежності від локалізації ушкоджень та характеру перебудов гемомікроциркуляції в пост-травматичному періоді.

#### **Інформація про конфлікт інтересів**

Потенційних або явних конфліктів інтересів,

що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

#### **Джерела фінансування**

Робота виконана в рамках науково-дослідної теми «Оптимізація діагностики та лікування гострих церебральних пошкоджень» (номер державної реєстрації 0122U000086).

### **Літературні джерела References**

1. Howlett JR, Nelson LD, Stein MB. Mental Health Consequences of Traumatic Brain Injury. *Biol Psychiatry*. 2022;91(5):413-420. doi: 10.1016/j.biopsych.2021.09.024
2. James SL, Theadom A, Ellenbogen RG. Global, regional, and national burden of traumatic brain injury, 1990-2016 a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol*. 2019;18(1):56-87. doi: 10.1016/S1474-4422(18)30415-0
3. Chary K, Nissi MJ, Nykänen O, Manninen E, Rey RI, Shmueli K, Sierra A, Gröhn O. Quantitative susceptibility mapping of the rat brain after traumatic brain injury. *NMR Biomed*. 2021;34(2):e4438. doi: 10.1002/nbm.4438
4. Zohar O, Lavy R, Zi X, Nelson TJ, Hongpaisan J, Pick CG, Alkon DL. PKC activator therapeutic for mild traumatic brain injury in mice. *Neurobiol Dis* 2011;41(2):329-337. DOI: 10.1016/j.nbd.2010.10.001
5. Wu M, Wang C, Gong Y, Huang Y, Jiang L, Zhang M, Gao R, Dang B. Potential mechanism of TMEM2/CD44 in endoplasmic reticulum stress-induced neuronal apoptosis in a rat model of traumatic brain injury. *Int J Mol Med*. 2023;52(6):119. doi: 10.3892/ijmm.2023.5322.
6. Di Giovanni S, Movsesyan V, Ahmed F. Cell cycle inhibition provides neuroprotection and reduces glial proliferation and scar formation after traumatic brain injury. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102(23):8333-8338. DOI: 10.1073/pnas.0500989102
7. Jones NC, Cardamone L, Williams JP, Salzb erg MR, Myers D, O'Brien TJ. Experimental traumatic brain injury induces a pervasive hyperanxious phenotype in rats. *J Neurotrauma*. 2008;25(11):1367-1374. DOI: 10.1089/neu.2008.0641
8. Bachstetter AD, Zhou Z, Rowe RK. MW151 Inhibited IL-1 $\beta$  Levels after Traumatic Brain Injury with No Effect on Microglia Physiological Responses. *PLoS One*. 2016;11(2):e0149451. DOI: 10.1371/journal.pone.0149451
9. Shaw BC, Anders VR, Tinkey RA, Habean ML, Brock OD, Frostino BJ, Williams JL. Immunity impacts cognitive deficits across neurological disorders. *J Neurochem*. 2023;10.1111/jnc.15999. doi: 10.1111/jnc.15999.
10. Macks C, Jeong D, Bae S, Webb K, Lee JS. Dexamethasone-Loaded Hydrogels Improve Motor and Cognitive Functions in a Rat Mild Traumatic Brain Injury Model. *Int J Mol Sci*. 2022;23(19):11153. doi: 10.3390/ijms231911153.
11. Yang Z, Zhu T, Pompilus M, Fu Y, Zhu J, Arjona K, Arja RD, Grudny MM, Plant HD, Bose P, Wang KK, Febo M. Compensatory functional connectome changes in a rat model of traumatic brain injury. *Brain Commun*. 2021;3(4):244. doi: 10.1093/braincomms/fcab244.
12. Griffiths DR, Law LM, Young C, Fuentes A, Truran S, Karamanova N, Bell LC, Turner G, Emerson H, Mastroeni D, Gonzales RJ, Reaven PD, Quarles CC, Migrino RQ, Lifshitz J. Chronic Cognitive and Cerebrovascular Function after Mild Traumatic Brain Injury in Rats. *J Neurotrauma*. 2022;39(19-20):1429-1441. doi: 10.1089/neu.2022.0015.
13. Gu YL, Zhang LW, Ma N. Cognitive improvement of mice induced by exercise prior to traumatic brain injury is associated with cytochrome c oxidase. *Neurosci Lett*. 2014;570:86-91. DOI: 10.1016/j.neulet.2014.04.004
14. Hui Y, Zhao H, Shi L, Zhang H. Traumatic Brain Injury-Mediated Neuroinflammation and Neurological Deficits are Improved by 8-Methoxypsoralen Through Modulating PPAR $\gamma$ /NF- $\kappa$ B Pathway. *Neurochem Res*. 2023;48(2):625-640. doi: 10.1007/s11064-022-03788-6.
15. Song H, Chen C, Kelley B, Tomasevich A, Lee H, Dolle JP, Cheng J, Garcia B, Meaney DF, Smith DH. Traumatic brain injury recapitulates developmental changes of axons. *Prog Neurobiol*. 2022;217:102332. doi: 10.1016/j.pneurobio.2022.102332.
16. Foda MA, Marmarou A. A new model of diffuse brain injury in rats. Part II: Morphological characterization. *J Neurosurg*. 1994;80(2):301-313. doi: 10.3171/jns.1994.80.2.0301
17. Marmarou AI, Foda MA, van den Brink W. A new model of diffuse brain injury in rats. Part I: Pathophysiology and biomechanics. *J Neurosurg*. 1994;80(2):291-300. doi:10.3171/jns.1994.80.2.0291
18. Bureš J, Burešová O, Huston JP. Techniques and basic experiments for the study of brain and behavior. Second edition. Amsterdam – New York : Elsevier science publishers BV; 2016. 326 p.
19. European Convention for the protection of

vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg : Council of Europe. 1986;123:52.

20. 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. Off J Eur Union. 2010;53(L276):33-79.

21. Mulish M, Welsh U. (Eds.). *Romeis Mikroskopische technic*. Heidelberg : Spektrum Akademischer Verlag; 2010. 551 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-8274-2254-5>

22. Suvarna SK, Layton C, Bancroft GD. (Eds.). *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*, 8th Edition. Elsevier; 2019. 558 p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6864-5.00008-6>

23. Magaki S, Hojat SA, Wei B, So A, Yong WH. An Introduction to the Performance of Immunohistochemistry. *Methods Mol Biol*. 2019;1897:289-98. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8935-5\\_25](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8935-5_25)

24. Nguyen T. *Immunohistochemistry: A Technical Guide to Current Practices*. Cambridge : Cambridge University Press; 2022. 272 p.

25. Poslavska, OV. [Determination of linear di-

mensions and areas of individual morphological objects on photomicrographs using the ImageJ program]. *Morphologia*. 2016;10(3):377-81.

26. Hruzieva TS, Lekhan VM, Ohniev VA, Halienko LI, Kriachkova LV, Palamar BI. [Biostatistics]. Vinnytsia : New Book; 2020. 384 p.

27. Nie L, He J, Wang J, Wang R, Huang L, Jia L, Kim YT, Bhawal UK, Fan X, Zille M, Jiang C, Chen X, Wang J. Environmental Enrichment for Stroke and Traumatic Brain Injury: Mechanisms and Translational Implications. *Compr Physiol*. 2023;14(1):5291-323. doi: 10.1002/cphy.c230007

28. Wu M, Wang C, Gong Y, Huang Y, Jiang L, Zhang M, Gao R, Dang B. Potential mechanism of TMEM2/CD44 in endoplasmic reticulum stress-induced neuronal apoptosis in a rat model of traumatic brain injury. *Int J Mol Med*. 2023;52(6):119. doi: 10.3892/ijmm.2023.5322

29. Nie L, He J, Wang J, Wang R, Huang L, Jia L, Kim YT, Bhawal UK, Fan X, Zille M, Jiang C, Chen X, Wang J. Environmental Enrichment for Stroke and Traumatic Brain Injury: Mechanisms and Translational Implications. *Compr Physiol*. 2023;14(1):5291-5323. doi: 10.1002/cphy.c230007.

### **Мізякіна К.В., Дзяк Л.А., Твердохліб І.В. Динаміка структурних перебудов соматосенсорної кори у щурів з різними нейрокогнітивними розладами після черепно-мозкової травми.**

**РЕФЕРАТ. Актуальність.** Потребують суттєвих уточнень відомості про чутливість різних нейронів і клітин нейроглії до травми та їх здатність до відновлення в залежності від локалізації ушкоджень та характеру перебудов гемомікроциркуляції в посттравматичному періоді. **Метою** дослідження було визначення тканинних і клітинних посттравматичних змін структури соматосенсорної кори головного мозку щурів з різними нейрокогнітивними розладами у різні терміни після тяжкої черепно-мозкової травми. **Методи.** Для відтворення тяжкої черепно-мозкової травми у щурів застосовували «модель ударного прискорення». За результатами неврологічних тестів щури були розподілені на три групи: 1) перша – тварини після травми з нейрокогнітивними розладами і порушеннями пам'яті; 1) друга – тварини після травми з нейрокогнітивними розладами без порушень пам'яті; 3) група порівняння – тварини після травми без нейрокогнітивних розладів. Проводили гістологічне, морфометричне та імуногістохімічне дослідження соматосенсорної кори з використанням маркерів  $\beta$ -tubulin, Synaptophysin, GAP43, NCAM1, N-cadherin, GFAP. **Результати.** У тварин з нейрокогнітивними розладами спостерігається помірне зменшення сумарного вмісту нейронів різних типів у соматосенсорній корі, в той час як у тварин без когнітивного дефіциту щільність нейронів не відрізняється від нормального рівня. Пригнічена експресія синаптофізину у соматосенсорній корі щурів з нейрокогнітивними розладами через 20 і 40 діб після травми суттєво не змінюється та залишається на низькому рівні. У тварин групи порівняння відбувається відновлення щільності р38-позитивних синапсів протягом посттравматичного періоду. Через 10 діб після травми у тварин всіх груп спостерігається помірне накопичення CD56- і N-кадгерин-позитивних протоплазматичних астроцитів у перикапілярних просторах, що часто асоційовано з осередками набряку і підвищенням мітотичної активності гліоцитів. У тварин з нейрокогнітивними розладами в окремих випадках астроглія утворює клітинні нашарування на поверхні мікросудин у вигляді щільних муфт, що вказує на блокування трансдотеліального транспорту. Через 40 діб після травми суттєво зменшується кількість ушкоджених мікросудин з нашаруваннями астроцитів на зовнішній поверхні. **Підсумок.** Через 10 діб після нанесення травми у складі соматосенсорної кори відбуваються помірно виражені нейродегенеративні та деструктивні зміни внаслідок посттравматичного цитотоксичного каскаду. Через 20 і 40 діб після травми ознаки нейрозапалення редукуються незалежно від ступеня когнітивного дефіциту.

**Ключові слова:** черепно-мозкова травма, щури, нейрокогнітивні розлади, соматосенсорна кора, морфологія.