

К.В. Мізякіна

Дніпровський державний
медичний університет,
Дніпро, Україна

Надійшла: 25.10.2024
Прийнята: 12.12.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.4.81-87>

УДК 591.481.1-001:57.012.4

КІЛЬКІСНА МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЗМІН ЗУБЧАСТОЇ ФАСЦІЇ ГІПОКАМПА У ЩУРІВ З РІЗНИМИ НЕЙРОКОГНІТИВНИМИ РОЗЛАДАМИ ПІСЛЯ ТЯЖКОЇ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ

Mizyakina K.V.  Quantitative morphological characteristics of changes in the hippocampal dentate gyrus in rats with various neurocognitive disorders after severe traumatic brain injury.

Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine.

ABSTRACT. Background. In solving numerous issues related to the treatment and rehabilitation of patients with traumatic brain injury, it is of particular interest to study the pathomorphological mechanisms that determine the nature of the formation and dynamics of neurocognitive disorders at various times after the injury. **The study aims** to determine the tissue and cellular posttraumatic changes in the structure of the cerebral dentate 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 cerebral dentate cortex was carried out using the markers β -tubulin, Synaptophysin, GAP43, NCAM1, N-cadherin, GFAP. **Results and conclusion.** Neurocognitive disorders with memory impairment in the long-term after severe traumatic brain injury are accompanied by a deepening of neurocyte degeneration and chronicity of neuroinflammation with activation of neuronal apoptosis and gliocyte autophagy mechanisms, which leads to irreversible deformation of the dentate gyrus cytoarchitectonics. The progression of neurodegeneration is accompanied by activation of microglia and leads to disintegration and migration of macrogliaocytes with the formation of irreversible mosaic astrocytic deficiency and the formation of glial layers in the form of couplings around hemocapillaries. Preservation of memory function in animals with neurocognitive disorders is associated with the limitation of secondary neurocyte death and stabilization of adhesive properties of astroglia of the dentate cortex, which prevents the formation of astrocytic couplings around newly formed hemocapillaries while maintaining the integrity of the blood-brain barrier. In animals without neurocognitive disorders, compensatory mechanisms are implemented in the dentate cortex during long post-traumatic period through effective neovasculogenesis, limitation of perivascular astrocyte hyperplasia and neuroinflammation, which prevents neurocyte death and leads to the activation of synaptic remodeling from the entorhinal cortex to the CA1 area and from the dentate gyrus to the CA3 area of the hippocampus 40 days after injury.

Key words: traumatic brain injury, rats, neurocognitive disorders, cerebral dentate cortex, morphology.

Citation:

Mizyakina KV. [Quantitative morphological characteristics of changes in the hippocampal dentate gyrus in rats with various neurocognitive disorders after severe traumatic brain injury]. *Morphologia*. 2024;18(4):81-7. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.4.81-87>

 Mizyakina K.V. 0000-0003-2130-6132

 mizyakina.e@gmail.com

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Черепно-мозкова травма (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 [1, 2]. У цьому відношенні викликають інтерес конкретні топологічні особливості структурних перебудов різних відділів головного мозку (ГМ), які відбуваються протягом віддаленого посттравматичного

періоду і пов'язані з характером нейрокогнітивних розладів.

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, де-струкції 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 [6-9]. 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 травматичного ушкодження головного мозку 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 ушкоджень та характеру перебудов гемомікроциркуляції в посттравматичному періоді.

Мета

Метою дослідження було визначення тканинних і клітинних посттравматичних змін структури кори зубчастої звивини головного мозку 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 моделюванням ТЧМТ, а також через 10, 20 і 40 діб після нього щурам проводили комплексне загальне та неврологічне обстеження [18]. За результатами неврологічних тестів щури були розподілені на три групи: 1) перша – тварини після ЧМТ з нейрокогнітивними розладами і порушеннями пам'яті; 1) друга – тварини

після ЧМТ з нейрокогнітивними розладами без порушень пам'яті; 3) група порівняння – тварини після ЧМТ без нейрокогнітивних розладів. Контрольну групу складали інтактні щури віком $4,8 \pm 0,6$ міс з вагою 347 ± 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), Ванкувської 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 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 крезилвіолету) або імпрегнацією сріблом [21, 22] вивчали за допомогою світлооптичного мікроскопа AxioSkope A1 («Carl Zeiss», Німеччина).

Імуногістохімічне дослідження з використанням первинних антитіл (β -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 $+100^{\circ}\text{C}$ 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 зубчастої 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 гемокapілярів кори з використанням програмного пакету ImageJ 1,47v [25].

Варіаційно-статистична обробка отриманих результатів проводилась з урахуванням критерію t Стюдента 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 та їх обговорення

При морфологічному дослідженні зубчастої фасції гіпокампа ГМ щурів всіх експериментальних груп виявлялась типова тришарова будова кори, проте ознаки її дезорганізації мали неоднаковий ступінь у залежності від характеру нейрокогнітивного дефіциту. У тварин першої експериментальної групи через 10 діб після нанесення ТЧМТ спостерігались численні ушкодження клітинного складу сірої речовини, а також характерні нейродегенеративні та деструктивні зміни. В багатьох ділянках визначались зони деформації гранулярного і молекулярного шарів зубчастої звивини із заповненням їх дрібними осередками астроцитарного гліозу або розповсюдженням зовнішнього поліморфного хілусу на всю товщу кори. Визначалося нерівномірне стоншення кори з утворенням ділянок дегенерації сірої речовини до товщини 360-420 мкм. Спостерігались ознаки дифузного міжклітинного та периваскулярного набряку, ушкодження мікросудин, масованої клітинної загибелі нейронів, варіативні дистрофічні зміни зернистих нейронів. Через 20 і 40 діб посттравматичного періоду ступінь деформації цитоархітекtonіки в даній групі тварин не змінювався або в окремих спостереженнях навіть зростав, що свідчило про незворотній характер патоморфозу змін зубчастої фасції гіпокампа.

У тварин другої експериментальної групи через 10 діб після травми триламінарна структура сірої речовини зберігалася на всій протяжності зубчастої фасції гіпокампа. Зони деформації шарів кори та осередки астроцитарного гліозу зустрічались в обмеженій кількості і мали відносно невеликі розміри. Стоншення кори варіювало у межах від 540 мкм до 660 мкм. Спостерігались ознаки помірного набряку з ушкодженням гемокapілярів і дегенеративні зміни різних типів нейронів. Через 20 і 40 діб посттравматичного періоду цитоархітекtonіка кори в даній групі тварин не змінювалась і відповідала типовій тришаровій будові, ознаки нейрозапалення помітно зменшувались.

У тварин групи порівняння через 10 діб після ТЧМТ патоморфологічні зміни зубчастої фасції

гіпокампа суттєво поступалися за ступенем вираженості тим ушкодженням, які спостерігались у тварин з нейрокогнітивними розладами. Типова тришарова структура кори спостерігалася по всій її протяжності, товщина становила 690-750 мкм і була відносно рівномірною, осередки астроцитарного гліозу виявлялися лише в поодиноких випадках, прояви нейрозапалення та нейродегенерації редукувалися протягом досліджуваного терміну посттравматичного періоду.

При аналізі процесів загибелі нейронів зубчастої кори після нанесення ТЧМТ спостерігався інтенсивний апоптоз зернистих нейронів у тварин з нейрокогнітивним дефіцитом через 10 діб експерименту. Через 20 і 40 діб після травми у тварин першої групи апоптотичний процес значно посилювався, у той час як у тварин другої групи частота апоптозу суттєво зменшувалась. У щурів групи порівняння помірна частота апоптотичної загибелі нейронів спостерігалась через 10 діб після ТЧМТ і в подальшому ставала значно менш вираженою. Некротично змінені нейрони виявлялись в окремих спостереженнях у першій експериментальній групі через 10 діб після травми, переважно поблизу дрібних осередків гліозу в зовнішньому шарі кори зубчастої звивини. В другій групі тварин і в групі порівняння некротичні зміни не спостерігались на жодному з досліджуваних термінів. Прояви аутофагії зернистих нейронів зустрічались в поодиноких спостереженнях в усіх групах щурів; їх частота не залежала від терміну після нанесення травми.

Морфометричний підрахунок чисельної щільності нейронів всіх типів за допомогою імуногістохімічного визначення експресії β -тубуліну, який використаний для ідентифікації мікротрубочок нейронів, показав різке зменшення загального вмісту нейронів у зубчастій фасції гіпокампа щурів першої і другої груп через 10 діб після травми – на 42,1% ($p < 0,05$) і 41,4% відповідно ($p < 0,05$), в той час як у групі порівняння параметр зменшувався у помірному ступені – на 21,5% ($p < 0,05$). При цьому у першій і другій групах тварин чисельна щільність нейронів коливалась в обмеженому діапазоні на всіх термінах експерименту та статистично вагомо поступалася показнику групи порівняння (табл. 1). Через 20 і 40 діб після ТЧМТ у щурів без нейрокогнітивних розладів спостерігалось поступове ущільнення нейронів і наближення до нормальних значень за рахунок обмеження апоптотичного процесу і редукції набряку та інших тканинних ознак нейрозапалення. У тварин першої експериментальної групи у віддаленому посттравматичному періоді відбувалось зниження чисельної щільності нейронів відносно показника інтактних тварин: через 20 діб після травми – на 50,2% ($p < 0,05$), через 40 діб – на 57,1% ($p < 0,05$). Така негативна динаміка вмісту нейронів віддзеркалювала поглиблення апоптотичного процесу в зубчастій корі у тварин даної

групи протягом досліджуваного терміну експерименту. У тварин другої групи чисельна щільність нейронів зубчастої звивини через 20 діб після травми поступалася нормальному рівню на 37,2% (р

< 0,05), через 40 діб – на 35,6% (р < 0,05), істотно не змінюючись у порівнянні з терміном 10 діб після травми, що свідчило про обмеження апоптозу протягом посттравматичного періоду.

Таблиця 1

Чисельна щільність нейронів зубчастої звивини гіпокампа, $\times 10^2 \text{ мм}^{-2}$ (M $\pm$ m)

Термін після травми	Групи дослідження		
	Перша	Друга	Порівняння
10 діб	15,1 $\pm$ 1,7 * **	15,3 $\pm$ 1,5 * **	20,5 $\pm$ 2,2 *
20 діб	13,0 $\pm$ 1,9 * **	16,4 $\pm$ 1,7 * **	24,7 $\pm$ 3,0
40 діб	11,2 $\pm$ 1,6 * **	16,8 $\pm$ 1,9 * **	24,6 $\pm$ 2,5

Примітка: * – р < 0,05 при порівнянні зі значенням у групі інтактних щурів (26,1 $\pm$ 2,9 $\times 10^2 \text{ мм}^{-2}$); ** – р < 0,05 при порівнянні з відповідним за терміном значенням у групі порівняння.

Імуногістохімічний аналіз впливу ТЧМТ на синаптичний апарат нейронів зубчастої звивини за допомогою моноклональних антитіл до синаптофізину (р38) виявив різке зниження експресії даного маркера у всіх експериментальних групах тварин через 10 діб після травми у порівнянні з інтактними тваринами. Через 20 і 40 діб після ТЧМТ низька щільність р38-позитивних структур у зубчастій корі щурів з нейрокогнітивними розладами і порушеннями пам'яті суттєво не змінювалась, залишаючись на мінімальному рівні. У тварин другої експериментальної групи і в групі порівняння через 20 діб після травми відзначалось збільшення експресії синаптофізину, через 40 діб у переважній більшості об'єму зубчастої звивини у даних експериментальних групах відбувалось відновлення щільності р38-позитивних синапсів.

Дослідження синаптичного маркера GAD65, який віддзеркалює регенераторну активність аксонів, показало лише фонове імуногістохімічне забарвлення даного маркера у зубчастій фасції як у інтактних щурів, так і в групах тварин з нейрокогнітивними розладами через 10 діб після травми. Через 20 і 40 діб експерименту у тварин першої групи і групи порівняння в зубчастій корі ГМ спостерігалась активація експресії GAD65, що свідчило про ремоделювання пресинаптичних терміналей аксонів даної локалізації. Найбільшою мірою зростання експресії GAD65 виявлялося у складі поліморфного хілуса, що містить дендрити гранулярних нейронів зубчастої кори і перфорантний провідний шлях від енторинальної кори до ділянки СА1 гіпокампа.

З використанням маркерів CD56 і N-кадгерину було встановлено, що інтенсивність імуногістохімічної мітки на цитолемі нейронів зубчастої фасції гіпокампа була подібною до характеру експресії цих маркерів на зовнішній мембрані інтактних нейронів. Загальна інтенсивність специфічного забарвлення зрізів була суттєво меншою після травматичного ушкодження ГМ, ніж у інтактних щурів, за рахунок активного апоптотичного процесу, який відбувався з різною інтенсивністю

в досліджуваних експериментальних групах. Через 20 діб експресія маркерів у зубчастій звивині ГМ щурів першої групи була нижчою, ніж на попередньому терміні експерименту, і до 40-ї доби продовжувала зменшуватись. Розподіл CD56- і N-кадгерин-позитивних нейронів у щурів другої групи і групи порівняння не змінювався протягом 40 діб посттравматичного періоду.

Морфологічний аналіз гліального компонента кори зубчастої фасції гіпокампа показав, що через 10 діб після травми у тварин всіх експериментальних груп спостерігалось значне накопичення астроцитів у периваскулярних просторах поряд з осередками набряку. У проміжках між мікросудинами візуалізувались ділянки нейропілі, в яких щільність розташування волокнистих астроцитів була помітно нижчою, ніж в аналогічних ділянках кори інтактних щурів. У цих ділянках виявлялись відокремлені одна від одної клітини з довгими відростками, які не контактували із сусідніми астроцитами. Характерними для мозаїчного міжсудинного астроцитарного дефіциту у складі зубчастої кори були прояви масованої аутофагії гліоцитів. Через 20 і 40 діб посттравматичного періоду у тварин першої і другої груп дослідження осередки гліального дефіциту з поширенням аутофагії астроцитів зберігалися, у той час як у щурів групи порівняння подібні осередки з аутофагією зустрічались лише в поодиноких випадках. Важливо зазначити, що у віддаленому посттравматичному періоді у тварин другої групи, на відміну від першої групи, спостерігалось обмеження периваскулярної гіперплазії астроцитів.

Морфометричний аналіз щільності макрогліоцитів за допомогою мітки гліального маркера GFAP показав, що через 10 діб від початку експерименту чисельна щільність клітин у зубчастій корі поступалась нормальному значенню в першій групі тварин на 26,1% (р < 0,05), у другій – на 22,9% (р < 0,05), у групі порівняння – на 21,0% (р < 0,05). Через 20 діб після нанесеної травми у тварин першої експериментальної групи ступінь астроцитарного дефіциту зростав; у тварин другої

групи – не змінювався; у тварин групи порівняння – ставав менш виразним у порівнянні з попереднім терміном дослідження (табл. 2). Через 40 діб після ТЧМТ у тварин першої групи параметр поступався показнику інтактних тварин на 39,5% ($p < 0,05$), показнику групи порівняння – на 37,9% (p

$< 0,05$). У цей термін у тварин другої групи чисельна щільність макрогліоцитів зростала відносно попереднього терміну спостережень, поступаючи показнику інтактних тварин на 17,8% ($p < 0,05$) і не відрізняючись суттєво від значення у групі порівняння.

Таблиця 2

Чисельна щільність макрогліоцитів зубчастої звивини гіпокампа, $\times 10^2 \text{ мм}^{-2}$ ($M \pm m$)

Термін після травми	Групи дослідження		
	Перша	Друга	Порівняння
10 діб	116 $\pm$ 15 *	121 $\pm$ 15 *	124 $\pm$ 16 *
20 діб	103 $\pm$ 11 * **	129 $\pm$ 12 *	139 $\pm$ 11
40 діб	95 $\pm$ 14 * **	145 $\pm$ 13	153 $\pm$ 19

Примітка: * – $p < 0,05$ при порівнянні зі значенням у групі інтактних щурів ($157 \pm 16 \times 10^2 \text{ мм}^{-2}$); ** – $p < 0,05$ при порівнянні з відповідним за терміном значенням у групі порівняння.

Після нанесення ТЧМТ у тварин всіх досліджуваних груп морфологічні зміни мікрогліоцитів у трьох шарах зубчастої фасції гіпокампа характеризувались виразною гетероморфністю. Зокрема, переважна більшість мікрогліоцитів мала сплюснену форму та складно-розгалужені відростки, які занурювались між нейронами або в глибину нейропіля. У тварин з нейрокогнітивним дефіцитом, на відміну від щурів групи порівняння, поблизу зернистих нейронів периваскулярно розташовувались типові транзитні макрофаги та лімфоцити, що свідчило про збереження запального процесу та було пов'язано з елімінацією апоптотично змінених нейроцитів після травми.

Вивчення кровоносних мікросудин у складі зубчастої звивини показало, що у першій і другій групах тварин через 10 діб після ТЧМТ спостерігалась значна кількість ушкоджених артерій і гемокапілярів з ознаками стази, інколи з частково або повністю облітерованим просвітом. За допомогою маркера GFAP на зовнішній поверхні ушкоджених капілярів візуалізувались нашарування протоплазматичних астроцитів у вигляді щільних муфт. Також виявлялися мікросудини з ознаками внутрішньосудинного мікротромбозу в оточенні дрібних осередків вторинних крововиливів, з плазматичним просоченням гемокапілярної стінки та периваскулярного простору. Зустрічались поодинокі гемокапіляри з некрозом, деструкцією або фрагментацією ендотеліальної стінки. Частина гемокапілярів або ендотеліальних тяжів не утворювали характерних для ГЕБ сполучень з астроцитами. Крім гемокапілярів з ушкодженою структурою спостерігалось значне зростання кількості новоутворених гемокапілярів з типовою будовою ендотеліальної стінки і звичайним кровонаповненням, у супроводі астроцитарної глії і зі сформованим ГЕБ.

Через 20 діб після ТЧМТ у зубчастій корі ГМ тварин з нейрокогнітивними розладами зберігалася значна кількість ушкоджених мікросудин,

що вказувало на наявність тривалого деструктивного процесу. Через 40 діб після нанесення травми зберігалась помірна кількість патологічно змінених мікросудин з нашаруваннями астроцитів на зовнішній поверхні; зустрічались поодинокі фрагментовані гемокапіляри та дрібні осередки діapedезних крововиливів. На відміну від першої групи тварин, у другій експериментальній групі протягом віддаленого посттравматичного періоду спостерігались численні новоутворені гемокапіляри з повноцінними структурами ГЕБ, а також ендотеліальні угруповання, що вказувало на активацію неоваскулогенезу. На відміну від першої і другої груп, у тварин групи порівняння ушкоджені мікросудини в оточенні астроцитарних конгломератів зустрічались у невеликій кількості. Переважна більшість гемокапілярів мала інтактну структуру стінки й утворювала типовий за будовою ГЕБ. Через 20 і 40 діб після нанесення травми у тварин без нейрокогнітивного дефіциту кількість ушкоджених гемокапілярів помітно зменшувалась відносно попереднього терміну спостережень. Найбільша інтенсивність неоваскулогенезу у зубчастій корі ГМ у тварин групи порівняння спостерігалась через 10 діб після травми; через 20 і 40 діб експерименту незрілих новоутворених гемокапілярів ставало помітно менше.

Висновки

1. Нейрокогнітивні розлади з порушеннями пам'яті у віддаленому періоді після ТЧМТ супроводжуються поглибленням дегенерації нейроцитів і хронізацією нейрозапалення з активацією механізмів апоптозу нейронів і аутофагії гліоцитів, що призводить до незворотної деформації цитоархітектоніки зубчастої звивини.

2. Прогресування нейродегенерації супроводжується активацією мікроглії і призводить до дезінтеграції та міграції макрогліоцитів з формуванням незворотного мозаїчного астроцитарного дефіциту і утворенням гліальних нашарувань у вигляді муфт навколо гемокапілярів.

3. Збереження функції пам'яті у тварин з нейрокогнітивними розладами пов'язано з обмеженням вторинної загибелі нейроцитів і стабілізацією адгезивних властивостей астроглії зубчастої кори, що запобігає утворенню астроцитарних муфт навколо новоутворених гемокапілярів при збереженні цілісності ГЕБ.

4. У тварин без нейрокогнітивних розладів у віддаленому посттравматичному періоді в зубчастій корі компенсаторні механізми реалізуються через ефективний неоваскулогенез, обмеження периваскулярної гіперплазії астроцитів і нейрозапалення, що запобігає загибелі нейроцитів і призводить до активації синаптичного ремоделювання від енторинальної кори до ділянки CA1 і від зубчастої звивини до ділянки CA3 гіпокампа через 40 днів після травми.

Перспективи подальших розробок полягають у з'ясуванні взаємозв'язку між патоморфологічними механізмами перетворень при ТУГМ і характером 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 посттравматичному 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. 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

2. 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

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, Salzberg 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 β 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, Habeau 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, 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 γ /NF- κ 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

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

25. Poslavska, OV. [Determination of linear dimensions and areas of individual morphological objects on photomicrographs using the ImageJ program]. *Morphologia.* 2016;10(3):377-81.

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

Мізякіна К.В. Кількісна морфологічна характеристика змін зубчастої фасції гіпокампа у щурів з різними нейрокогнітивними розладами після тяжкої черепно-мозкової травми.

РЕФЕРАТ. Актуальність. У вирішенні численних питань, пов'язаних із лікуванням та реабілітацією пацієнтів з травматичним ушкодженням головного мозку, інтерес представляє вивчення патоморфологічних механізмів, які визначають характер формування та динаміки нейрокогнітивних порушень у різні терміни після травми. **Метою** дослідження було визначення тканинних і клітинних посттравматичних змін структури кори зубчастої звивини головного мозку щурів з різними нейрокогнітивними розладами у різні терміни після тяжкої ЧМТ. **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 зубчастої звивини з використанням маркерів β -tubulin, Synaptophysin, GAP43, NCAM1, N-cadherin, GFAP. **Результати та підсумок.** Нейрокогнітивні розлади з порушеннями пам'яті у віддаленому періоді після тяжкої черепно-мозкової травми супроводжуються поглибленням дегенерації нейронів і хронізацією нейрозапалення з активацією механізмів апоптозу нейронів і аутофагії гліоцитів, що призводить до незворотної деформації цитоархітекτονіки зубчастої звивини. Прогресування нейродегенерації супроводжується активацією мікроглії і призводить до дезінтеграції та міграції макрогліоцитів з формуванням незворотного мозаїчного астроцитарного дефіциту і утворенням гліальних нашарувань у вигляді муфт навколо гемокapілярів. Збереження функції пам'яті у тварин з нейрокогнітивними розладами пов'язано з обмеженням вторинної загибелі нейронів і стабілізацією адгезивних властивостей астроглії зубчастої кори, що запобігає утворенню астроцитарних муфт навколо новоутворених гемокapілярів при збереженні цілісності гемато-енцефалічного бар'єру. У тварин без нейрокогнітивних розладів у віддаленому посттравматичному періоді в зубчастій корі компенсаторні механізми реалізуються через ефективний неоваскулогенез, обмеження периваскулярної гіперплазії астроцитів і нейрозапалення, що запобігає загибелі нейронів і призводить до активації синаптичного ремоделювання від ентोरинальної кори до ділянки CA1 і від зубчастої звивини до ділянки CA3 гіпокампа через 40 діб після травми.

Ключові слова: черепно-мозкова травма, щури, нейрокогнітивні розлади, зубчаста фасція гіпокампа, морфологія.