АВТОНОМНАЯ НЕКОММЕРЧЕСКАЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «НАУЧНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ «СИРИУС»

На правах рукописи



КОНОВАЛОВА СОФИЯ ПАВЛОВНА

РОЛЬ СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В РЕГУЛЯЦИИ НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ И СЕНСОМОТОРНОЙ РЕОРГАНИЗАЦИИ ПОСЛЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ СПИННОГО МОЗГА

1.5.24. Нейробиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук, профессор

Мусиенко Павел Евгеньевич

Федеральная территория «Сириус»

2026 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 5
Актуальность темы исследования 5
Степень разработанности темы исследования 5
Цель и задачи работы 7
Научная новизна работы 7
Теоретическая и практическая значимость работы 8
Методология и методы исследования 9
Личный вклад автора 10
Основные положения, выносимые на защиту 10
Соответствие диссертации паспорту научной специальности 10
Степень достоверности и апробация результатов 11
Публикации по теме диссертации 11
Структура и объем диссертации 11
Финансовая поддержка работы 12
Благодарности 12
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 13
1.1 ТСМ как мультифакториальное заболевание 13
1.1.1 Эпидемиология и социально-экономическая значимость 13
Глобальные эпидемиологические показатели 13
Этиологическая структура (причины спинальных повреждений) 13
Гендерные и демографические особенности 14
Социально-экономическое бремя 14
Социальная дезадаптация и качество жизни 15
1.1.2 Патофизиологические каскады ТСМ: от первичного механического повреждения до вторичных нейродегенеративных процессов 15
1.1.3 Нейропластичность после ТСМ 18
1.1.4 Супраспинальные изменения после ТСМ 22
1.1.5 Современные терапевтические стратегии после ТСМ 25
1.1.6 Экспериментальные модели ТСМ и методы оценки восстановления 28
1.2 Морфо-функциональные изменения микроокружения в зоне травмы 31
1.2.1 Активация микроглии и астроцитов в острой и хронической фазах после ТСМ 31
Посттравматическая сирингомиелия (кистозная дегенерация) 37
Глиальный рубец 37
Валлеровская дегенерация и демиелинизация 37
Сосудистая перестройка и ишемия 38
1.2.2 Метаболические перестройки в микроглии 38
1.3 Серотонинергическая система как модулятор функций ЦНС 41

1.3.1 Биосинтез 5-НТ, роль фермента ТРН2 41
1.3.2 Серотониновые рецепторы 42
1.3.3 5-НТ иннервация СМ 45
1.4 Роль серотонинергической системы в патогенезе и восстановлении при ТСМ 47
1.4.1 Изменения серотонинергической системы после ТСМ 47
1.4.2 Влияние 5-НТ на восстановление двигательных функций 49
1.4.3 Роль 5-НТ в регуляции нейропластичности и нейрогенеза 51
1.4.4 Модуляция нейровоспаления серотонином 54
1.5 Экспериментальные модели для изучения роли 5-НТ в восстановлении после ТСМ 57
1.5.1 Фармакологические подходы 57
1.5.2 Генетические модели 61
1.5.3 ТРН2-КО 63
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 67
2.1 Характеристика экспериментального материала 67
Генотипирование 67
Моделирование ТСМ 67
2.2 Физиологические методы исследования 68
Кинематический анализ локомоции 68
Анализ моторно-координационной функции в тесте «Горизонтальная лесенка» 71
Горячая/холодная пластина 71
Сила хвата 71
Балльная оценка восстановления 71
2.3 Иммуногистохимические методы исследования 73
Метод in vivo мечения пролиферирующих клеток с использованием 5-бром-2'-дезоксиуридина (BrdU) 73
Забор и фиксация ткани 73
Парафиновая проводка (спинной мозг) 73
Криопроводка и получение срезов (спинной мозг) 73
Вибратомные срезы (головной мозг) 73
Иммуногистохимия 74
Обработка и анализ микрофотографий 76
2.4 Статистическая обработка данных 78
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ 79
3.1. Сенсомоторное фенотипирование самцов и самок крыс ТРН2-КО в норме 79
3.1.1 Анализ кинематических параметров у животных без экспериментального воздействия 79
3.1.2 Моторная координация в тесте «Горизонтальная лесенка» 87
3.1.3 Сенсорная чувствительность в тесте ХГП в норме 87
3.1.4 Сила хвата передних конечностей в норме 88
3.2. Оценка степени повреждения СМ и валидация модели травмы 90
3.3. Оценка восстановления тонуса и спонтанных движений задними лапами после

латеральной гемисекции ... 92
3.4. Оценка локомоторной и сенсомоторной функции у крыс после латеральной гемисекции ... 93
3.4.1 Анализ кинематических параметров у животных после латеральной гемисекции ... 93
3.4.2 Оценка моторно-координационной функции в тесте «Горизонтальная лесенка» после ТСМ ... 101
3.4.3 Динамика температурной чувствительности в тесте «ХГП» после ТСМ ... 102
3.5. Иммуногистохимическая характеристика очага повреждения СМ ... 104
3.5.1 Реактивный астроглиоз и микроглиоз в очаге травмы ... 104
3.5.2 Морфометрия микроглии/макрофагов в очаге травмы ... 109
3.6. Структурные нейровоспалительные изменения и нейрогенез в гиппокампе после ТСМ ... 111
3.6.1 Структурно-функциональные нейровоспалительные и нейропластические изменения в гиппокампе после ТСМ ... 111
3.6.2 Нейровоспалительные изменения в гиппокампе крыс TPH2-KO после ТСМ . 117
3.6.3 Нейрогенез в гиппокампе самцов крыс TPH2-KO после ТСМ ... 121
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ... 122
ЗАКЛЮЧЕНИЕ ... 138
ВЫВОДЫ ... 141
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ ... 142
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ ... 145
ПРИЛОЖЕНИЕ А ... 167
Параметры локомоции до ТСМ ... 167
ПРИЛОЖЕНИЕ Б ... 173
Основные кинематические параметры до ТСМ ... 173
ПРИЛОЖЕНИЕ В ... 179
Параметры локомоции после ТСМ ... 179
ПРИЛОЖЕНИЕ Г ... 195
Основные кинематические параметры после ТСМ ... 195

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Травма спинного мозга (ТСМ) выступает острой медико-социальной проблемой и одной из ведущих причин стойкой инвалидизации населения. Ежегодно во всем мире регистрируется от 250 000 до 500 000 новых случаев этого заболевания (Van Den Berg et al., 2010). При этом наиболее высокий риск травматизации характерен для молодых лиц трудоспособного возраста в диапазоне от 15 до 25 лет (Yang et al., 2014). Несмотря на то, что современные стратегии нейрореабилитации способны существенно повысить качество жизни пострадавших, ни один из существующих терапевтических подходов не обеспечивает полного восстановления утраченных функций (Asboth et al., 2018). Более того, на сегодняшний день понимание молекулярных и клеточных механизмов вторичного повреждения после возникновения ТСМ ограничено. Накопленные в современной литературе данные свидетельствуют о том, что серотонинергическая система играет фундаментальную роль в регенерации двигательных функций конечностей после травмы. Различные методы повышения или модуляции активности данной системы в центральной нервной системе (ЦНС) демонстрируют ее способность стимулировать нейрогенез и пластические перестройки в поврежденных структурах как головного (ГМ), так и спинного мозга (СМ) (Ghosh, Pearse, 2015; Azargoonjahromi, For the Alzheimer’s Disease Neuroimaging Initiative, 2024; Fauss, Hudson, Grau, 2022; Perrin, Noristani, 2019).

Степень разработанности темы исследования

Роль серотонинергической системы в физиологии СМ и в патогенезе травматического повреждения изучается на протяжении нескольких десятилетий и к настоящему времени достаточно детально охарактеризована на уровне отдельных механизмов, хотя целостная картина их взаимодействия остается неполной.

Хорошо изучена анатомия и фармакология нисходящих серотонинергических проекций из ядер шва: описано их участие в модуляции возбудимости спинальных мотонейронов через регуляцию устойчивых входящих токов, а также ключевая роль в активации центральных генераторов паттернов (ЦГП) (Flaive et al., 2020; Fauss, Hudson, Grau, 2022). На моделях ТСМ у грызунов подробно охарактеризованы молекулярные

механизмы восстановления двигательной функции, опосредованные конститутивной активностью 5-HT2C-рецепторов мотонейронов, и показана их двойственная роль – как в восстановлении произвольных движений, так и в развитии спастичности (Sim et al., 2025; Murray et al., 2010). Эти данные легли в основу представлений о серотонине как о ключевом модуляторе спинального локомоторного контроля после травмы.

Параллельно детально изучена общая картина нейровоспалительного ответа при ТСМ, включая динамику поляризации микроглии и макрофагов по провоспалительному (M1) и альтернативно активированному (M2) фенотипам и роль реактивного глиоза в формировании глиального рубца (Fu et al., 2022). Вместе с тем классическая бинарная модель M1/M2 в последние годы подвергается пересмотру в пользу более сложных, континуальных представлений о функциональном состоянии микроглии, что стимулировало поиск новых, более чувствительных маркеров клеточной дисфункции (Cherry, Olschowka, O'Banion, 2014; Paolicelli et al., 2022; Wang, He, Zhang, 2023). Одним из таких маркеров, описанных для стареющего и нейродегенерирующего мозга, стало накопление липидных капель в микроглии (lipid-droplet-accumulating microglia, LDAM), ассоциированное со сниженной фагоцитарной активностью и провоспалительной секрецией (Guo et al., 2026; Marschallinger et al., 2020); только в последние годы данный фенотип начали изучать и на моделях ТСМ, при том что ключевые особенности этих клеток практически не описаны (Huang et al., 2026; Ou et al., 2024). Тем более не рассмотрена связь данного фенотипа микроглии с серотонинергической регуляцией нейровоспаления.

Использование животных с врожденным, генетически обусловленным дефицитом центрального серотонина (крыс с нокаутом гена триптофан-гидроксилазы 2 типа (TPH2-KO)) представляет собой относительно новый методический подход, разработанный и валидированный преимущественно для изучения эмоционального и социального поведения (Meng et al., 2022). При этом особенности сенсомоторного восстановления после травмы, а также гистологические и метаболические изменения в очаге повреждения (характер активации микроглии и накопление в ней липидных включений) у таких животных ранее не исследовались.

Таким образом, несмотря на значительный объем накопленных данных о роли отдельных компонентов серотонинергической системы в контроле локомоции, нейровоспалении и психоэмоциональном статусе по отдельности, комплексное исследование, объединяющее анализ сенсомоторного, психоэмоционального и

нейровоспалительного/метаболического профилей восстановления в условиях врожденного генетического дефицита серотонина, до настоящего времени не проводилось, что определяет актуальность и научную новизну настоящей работы.

Цель и задачи работы

Цель настоящего исследования заключается в изучении роли серотонинергических механизмов в регуляции нейровоспалительных процессов и структурно-функциональной реорганизации сенсомоторной системы после повреждения СМ.

Задачи исследования:

1. Охарактеризовать фенотип взрослых самцов и самок крыс с нокаутом гена *Tph2* для выявления различий в сенсомоторном контроле, обусловленных дефицитом центрального серотонина.
2. Изучить динамику изменения сенсомоторных функций крыс TPH2-KO обоего пола после ТСМ.
3. Исследовать влияние центрального серотонина на процессы нейровоспаления в очаге повреждения спинного мозга после ТСМ у крыс обоего пола.
4. Оценить процессы нейровоспаления в головном мозге у TPH2-KO крыс обоего пола после ТСМ.
5. Выявить особенности нейрогенеза у самцов TPH2-KO крыс после ТСМ.

Научная новизна работы

Для изучения роли серотонинергической системы в функциональном восстановлении после ТСМ впервые используются крысы с нокаутом по гену *Tph2* (TPH2-KO). Данная уникальная модель обеспечивает врожденный, изолированный дефицит центрального серотонина без затрагивания его периферического пула и позволяет изучить механизмы серотонинергической модуляции функционального восстановления после ТСМ в условиях, принципиально отличных от острой фармакологической или нейротоксической деплеции серотонина, использовавшейся в большинстве предшествующих исследований.

Впервые проведена комплексная, многоуровневая оценка последствий ТСМ у животных с дефицитом серотонина, объединяющая в рамках единого экспериментального

дизайна три направления анализа – динамику восстановления сенсомоторных функций, а также нейровоспалительных и нейропластических изменений в спинном и головном мозге. Ранее эти аспекты изучались преимущественно по отдельности и на разных экспериментальных моделях. Нейровоспалительные изменения и восстановление проанализированы раздельно для самок и самцов, что позволило выделить как общие для обоих полов, так и половые особенности влияния дефицита серотонина.

Впервые исследован метаболический профиль микроглии в очаге ТСМ в условиях генетического дефицита серотонина, в частности – характер накопления в ней липидных включений. Данный феномен, недавно описанный для стареющего и нейродегенерирующего мозга как маркер дисфункционального, провоспалительного состояния клетки (Marschallinger et al., 2020), ранее не рассматривался во взаимосвязи с серотонинергической регуляцией нейровоспаления при ТСМ, что открывает новое направление в понимании клеточных механизмов, лежащих в основе замедленного восстановления при дефиците серотонина.

Полученные данные позволили впервые оценить, является ли характер иммуногистохимических изменений в очаге повреждения (активация микроглии, накопление липидов, экспрессия провоспалительных маркеров) прогностически значимым в контексте серотонинергической регуляции, что создает основу для последующего поиска клеточных и молекулярных биомаркеров тяжести и прогноза восстановления после ТСМ.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость работы заключается в расширении фундаментальных представлений о роли серотонинергической системы как связующего звена между ключевыми составляющими последствий ТСМ (сенсомоторным дефицитом, системным нейровоспалительным ответом), которые в существующей литературе, как правило, рассматриваются изолированно друг от друга. Полученные данные о взаимосвязи между дефицитом центрального серотонина и метаболическим состоянием микроглии в очаге повреждения, в частности накоплением в ней липидных включений, расширяют современные представления о клеточных механизмах вторичного повреждения СМ и о роли нейромедиаторной регуляции в формировании провоспалительного или репаративного фенотипа глиальных клеток.

Практическая значимость работы заключается в обосновании новых патогенетически ориентированных подходов к терапии ТСМ. Полученные данные указывают на связь дефицита серотонинергической передачи с усилением нейровоспаления и ухудшением функциональных исходов, что открывает перспективу применения препаратов, повышающих содержание серотонина в ЦНС (прекурсоры синтеза, СИОЗС, агонисты рецепторов 5-HT2C и 5-HT7), в качестве адъювантной терапии – самостоятельно или в сочетании с реабилитационными методами (локомоторные тренировки, эпидуральная и чрескожная стимуляция).

Кроме того, установленная взаимосвязь между серотонинергическим статусом и паттернами активации микроглии (включая накопление липидных включений) создает основу для использования гистологических, а в дальнейшем – визуализационных и биохимических маркеров для оценки тяжести нейровоспаления и прогноза восстановления, что позволит совершенствовать стратификацию пациентов при выборе индивидуализированной тактики ведения.

Методология и методы исследования

Экспериментальные вмешательства осуществлялись при строгом соблюдении директивы Европейского парламента и Совета 2010/63/ES от 22 сентября 2010 г. В работе выполнялись Правила надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств, утвержденные Решением Совета ЕврАзЭС от 03.11.2016 года № 81. Протоколы экспериментов с животными прошли обязательную этическую экспертизу и получили официальное одобрение Комитета по этике Санкт-Петербургского государственного университета, что подтверждается заключением №131-03-4 от 03.04.2023.

Исследование выполнено на крысах Dark Agouti (TPH2-KO и WT) с моделированием левосторонней латеральной гемисекции СМ на уровне Th8. Локомоторную функцию оценивали методами кинематического анализа походки (MotoRater), теста «Горизонтальная лесенка», динамометрии и балльной шкалы восстановления для крыс; сенсорную функцию – в тестах «Горячая пластина» и «Холодная пластина». Нейровоспалительные и нейропластические изменения в СМ и ГМ оценивали с помощью иммуногистохимического окрашивания. Полученные препараты исследовали методом световой и конфокальной микроскопии.

Личный вклад автора

Личный вклад соискателя включал получение экспериментальных данных, их статистический анализ, обобщение результатов и формулирование выводов исследования. Автор подготовил научные публикации по материалам диссертации и выступил с докладами о результатах работы на специализированных научных конференциях.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Дефицит центрального серотонина приводит к снижению скорости восстановления после спинальной травмы. Одним из ключевых патогенетических механизмов этого является измененная микроглиальная реакция в очаге повреждения спинного мозга, нарушение элиминации продуктов деградации миелина, что создает неблагоприятную среду для компенсаторных нейропластических процессов.
2. Системное нейровоспаление в головном мозге при серотониновом дефиците сопровождается сниженным нейрогенезом в гиппокампе, что усугубляет нарушения адаптивных механизмов сенсомоторной реорганизации после повреждения спинного мозга.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационное исследование соответствует Паспорту научной специальности 1.5.24. Нейробиология (биологические науки). Соответствие диссертации областям исследования специальности подтверждается следующими научными результатами работы:

- 3. Нейроглия, механизмы нейро-глиальных взаимодействий;
- 11. Двигательные (эффекторные) системы в нормальном и экстремальных состояниях.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов основывается на достаточном объеме выборки,

использовании современных методов исследования, корректной обработке и статистическом анализе полученных данных посредством современного программного обеспечения. Результаты настоящей работы получены в полном соответствии с протоколами исследований, выводы базируются на экспериментальных данных, приведенных в виде иллюстраций, включающих графики и фотографии. Достоверность результатов подтверждается публикацией работ в рецензируемых российских и зарубежных научных изданиях.

Результаты работы были представлены на X Российской конференции с международным участием «Управление движением», VII Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 100-летию Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, XXV съезде Физиологического общества им. И.П. Павлова, XIII Российском форуме биотехнологий OpenBio-2026.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 3 научные статьи в журналах, входящих в Scopus/Web of Science, а также в список, рекомендованный ВАК «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертации на соискание ученой степени доктора и кандидата наук».

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, глав «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты» и «Обсуждение», заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и 4 приложений. Работа изложена на 165 страницах без учета приложений, иллюстрирована 36 рисунками и 2 таблицами. Список литературы содержит 303 наименования на английском языке.

Финансовая поддержка работы

Работа поддержана грантом в рамках государственной программы федеральной

территории «Сириус» «Научно-технологическое развитие федеральной территории «Сириус»» (Соглашение № 18-03 от 10 сентября 2024 г.).

Благодарности

Автор приносит благодарность научному руководителю Павлу Евгеньевичу Мусиенко за чуткое руководство, ценные рекомендации и внимательность на всех этапах подготовки диссертации. Особая признательность выражается Юрию Игоревичу Сысоеву за помощь и поддержку в реализации методов исследования. Автор благодарит Валерию Сергеевну Штоль, Дарью Дмитриевну Щиц, Кирилла Андреевича Арсентьева и Анну Ветлугину за плодотворную совместную работу, ценный вклад и поддержку в подготовке диссертации.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 ТСМ как мультифакториальное заболевание

1.1.1 Эпидемиология и социально-экономическая значимость

ТСМ представляет собой повреждение центральной нервной системы, которое может сопровождаться стойкими нарушениями двигательных, сенсорных и вегетативных функций, инвалидизацией, ограничением самостоятельности и общим снижением качества жизни. Несмотря на существенный прогресс в области нейрохирургии и медицинской реабилитации, проблема восстановления утраченных функций после ТСМ остается одной из наиболее актуальных задач современной нейробиологии и клинической медицины (World Health Organization (WHO), 2024).

Глобальные эпидемиологические показатели

По данным Всемирной организации здравоохранения, в мире более 15 млн человек живут с последствиями ТСМ. Показатели заболеваемости ТСМ существенно различаются между популяциями (World Health Organization (WHO), 2024). В систематическом обзоре значения ежегодной заболеваемости составляли 5,1–150,5 случая на 1 млн населения по данным исследований национального уровня и 3,3–195,4 случая на 1 млн населения по данным субнациональных исследований (Jazayeri et al., 2023). Возрастная структура ТСМ неоднородна: высокая частота травм среди молодёжи сочетается с наметившимся в последние десятилетия в ряде стран ростом среднего возраста пациентов и доли повреждений у пожилых пациентов (Singh et al., 2014).

Этиологическая структура (причины спинальных повреждений)

Причины повреждения СМ традиционно разделяют на травматические и нетравматические. В структуре нетравматической патологии СМ выделяют три основные группы факторов: новообразования, инфекции и дегенеративно-дистрофические изменения. Опухоли (как первичные спинальные, так и метастатические) оказывают повреждающее действие преимущественно через сдавление или инфильтрацию нервной ткани. Инфекционные заболевания СМ (эпидуральные абсцессы, остеомиелит) реализуют свой патогенный потенциал посредством компрессионного синдрома, тромбоза сосудов и дестабилизации позвоночника. Дегенеративные процессы, такие как стеноз канала и спондилез (на краях тел позвонков образуются костные наросты), приводят к

прогрессирующему сужению спинномозгового канала, что снижает порог устойчивости СМ к травмирующим факторам, вплоть до повреждения при минимальных воздействиях (Margetis, Das, Emmady, 2026). Травматические повреждения остаются преобладающей формой ТСМ в структуре заболеваемости (от 66 до 87 % от общего числа случаев) (José Álvarez Pérez, 2023).

В структуре травматических повреждений ведущими причинами ТСМ остаются дорожно-транспортные происшествия (до 60 % случаев) (Kumar et al., 2018), падения с высоты и бытовые травмы (Jain et al., 2015), при этом их относительный вклад существенно варьируется в зависимости от возраста населения, уровня урбанизации и социально-экономических условий страны. В ряде регионов, например, в странах Латинской Америки и Южной Африки, значительную долю составляют огнестрельные и ножевые ранения (до 22% случаев ТСМ в Латинской Америке и до 36% в Южной Африке), что является самым высоким показателем насилия как причины ТСМ в мире (38% для стран Африки), тогда как у лиц пожилого возраста основной причиной являются падения с высоты собственного роста (Jain et al., 2015).

Гендерные и демографические особенности

Исследования неизменно показывают значительное преобладание мужчин среди пострадавших. У мужчин ТСМ встречается в 2–4 раза чаще, чем у женщин. Эта тенденция, по-видимому, обусловлена профессиональными рисками, характерными для мужских специальностей, и общей предрасположенностью мужчин к риску. Однако в возрастной группе старше 65 лет соотношение выравнивается за счет увеличения числа падений среди женщин (Singh et al., 2014; Wyndaele, Wyndaele, 2006).

Социально-экономическое бремя

Социально-экономическая значимость ТСМ выходит далеко за рамки прямых медицинских расходов и характеризуется колоссальным кумулятивным эффектом, влияющим на экономику страны и благополучие семей. Лечение пациентов с ТСМ требует длительной госпитализации в отделения интенсивной терапии и нейрохирургии, проведения дорогостоящих хирургических вмешательств, а также последующей реабилитации в течение всей жизни. Исследования, проведенные в США, показывают, что средние затраты на лечение пациента с тетраплегией в первый год после травмы могут превышать 1 миллион долларов, а последующие ежегодные затраты составляют сотни тысяч долларов (National Spinal Cord Injury Statistical Center, 2022). Одним из наиболее тяжелых последствий ТСМ является утрата трудоспособности. Также к непрямым потерям относится экономический

ущерб от того, что члены семьи пострадавшего вынуждены сокращать рабочую нагрузку или полностью оставлять работу, становясь неоплачиваемыми сиделками (Krueger et al., 2013).

Социальная дезадаптация и качество жизни

Помимо экономического аспекта, ТСМ влечет за собой глубокую социальную дезинтеграцию. Пациенты сталкиваются с безработицей (уровень занятости не превышает 35–40%) (Young, Murphy, 2009), высоким уровнем разводов и социальной изоляцией (DeVivo et al., 1995). Пожизненная зависимость от посторонней помощи, хронические боли (нейропатические и ноцицептивные) и высокая частота вторичных осложнений (пролежни, инфекции мочевыводящих путей, остеопороз) приводят к развитию депрессии (Lim et al., 2017) и суицидальных рисков (Kennedy, Garmon-Jones, 2017), что многократно снижает качество жизни пациентов (Hill et al., 2010).

1.1.2 Патофизиологические каскады ТСМ: от первичного механического повреждения до вторичных нейродегенеративных процессов

Согласно определению Всемирной организации здравоохранения, ТСМ представляет собой структурное повреждение тканей СМ, приводящее к временным или постоянным нарушениям двигательных, сенсорных и вегетативных функций (World Health Organization (WHO), 2024). Клиническая картина рассматриваемой нозологии отличается высокой вариабельностью, определяемой преимущественно уровнем расположения самой травмы и степенью тяжести разрушения ткани. Выраженность неврологического дефицита варьируется в широких пределах, начиная от возникновения парестезий и частичной гипестезии вплоть до полной утраты моторных и сенсорных функций каудальнее зоны поражения (Alizadeh, Dyck, Karimi-Abdolrezaee, 2019). С патофизиологической точки зрения развитие травмы является двухфазным последовательным процессом, включающим первичное и вторичное повреждение (Alizadeh, Dyck, Karimi-Abdolrezaee, 2019; Dumont et al., 2001).

Первичное повреждение формируется непосредственно при механическом воздействии и связано с действием сил компрессии, растяжения или тупого разрыва тканей СМ, нередко сопровождаясь переломами и вывихами позвонков. Наиболее распространенными механизмами первичного повреждения являются компрессии, дистракции и смещения позвонков (Alizadeh, Dyck, Karimi-Abdolrezaee, 2019). После получения травмы происходит нарушение целостности как восходящих, так и нисходящих

путей СМ и разрыв кровеносных сосудов (Kumar et al., 2018). В очаге повреждения возникает интенсивное кровоизлияние, которое ведет к прекращению местного кровоснабжения, гипоксии и ишемическому повреждению нейронов. Вслед за этим, как правило, развивается спинальный шок, проявляющийся обратимой или стойкой утратой всех функций спинного мозга ниже уровня повреждения (от двигательного дефицита и параличей до полной дисфункции кишечника и мочевого пузыря) (Wyndaele, Wyndaele, 2006).

Патофизиологические процессы вторичного повреждения запускаются уже в первые минуты после получения травмы. При этом продолжительность данных процессов может варьироваться от нескольких дней до нескольких недель и даже месяцев, что обусловливает прогрессирующий характер структурно-функциональных изменений в тканях СМ (Burda, Sofroniew, 2014). В развитии вторичного повреждения условно можно выделить острую, подострую и хроническую фазы (David, Kroner, 2015). Острая фаза, которая наступает сразу после получения повреждения, характеризуется развитием ионного дисбаланса, эксайтотоксичностью вследствие накопления нейротрансмиттеров и окислительным стрессом (Alizadeh, Dyck, Karimi-Abdolrezaee, 2019; Dumont et al., 2001; Gensel, Zhang, 2015; Hellenbrand et al., 2021). Разрушение барьерных свойств клеточных мембран наряду со сбоем в функционировании ионных насосов выступает пусковым механизмом для сложного биохимического каскада. В рамках данного процесса происходит активная генерация свободных радикалов, что неизбежно приводит к аккумуляции супероксидов. Последующее химическое взаимодействие супероксидов с молекулами оксида азота (NO) инициирует формирование пероксинитрита ($ONOO^-$). Это высокотоксичное соединение выступает мощным фактором, многократно усиливающим деструктивные изменения в нервной ткани (Cherry, Olschowka, O'Banion, 2014).

Все эти процессы формируют локальное воспаление, после чего происходит активация резидентных астроцитов и микроглии и последующая инфильтрация иммунных клеток крови, вызывая системный воспалительный ответ (Kigerl et al., 2009). Воспаление после ТСМ управляется многими типами клеток и многочисленными воспалительными цитокинами (Anwar, Al Shehabi, Eid, 2016). По мере прогрессирования патологического процесса развивается подострая фаза, которая включает апоптоз нейронов, демиелинизацию части выживших аксонов и ремоделирование состава внеклеточного матрикса (Anwar, Al Shehabi, Eid, 2016). Через 7–10 дней в острой и подострой фазах ТСМ астроциты и перициты, которые в норме находятся в паренхиме СМ, активно пролиферируют и мигрируют к месту повреждения, где участвуют в формировании глиального рубца (Wanner et al., 2013).

Дальнейшие патологические изменения происходят уже в хронической фазе повреждения и включают образование кистозной полости, прогрессирующее отмирание аксонов и созревание образовавшегося рубца. Часто в центре места повреждения могут образовываться заполненные жидкостью кисты, которые постепенно увеличиваются в размерах и вносят дополнительный вклад в гибель клеток за счет сдавливания и повреждения нервных волокон (рисунок 1.1) (Squier, Lehr, 1994).

Вторичное повреждение при ТСМ опосредуется совокупностью взаимосвязанных молекулярных сигнальных путей, действующих комбинаторно и синергично. Результатом этой комплексной регуляции становятся стойкие деструктивные изменения на всех уровнях нервной ткани. Сформировавшиеся вторичные каскады, а не изолированное первичное воздействие, служат ключевым фактором осложнения неврологического прогноза. Активация данных процессов закономерно ведет к разрастанию рубцовой ткани, обширному некрозу и апоптотической гибели нейронов, вследствие чего потенциал самостоятельной регенерации нервной ткани оказывается практически полностью исчерпан.

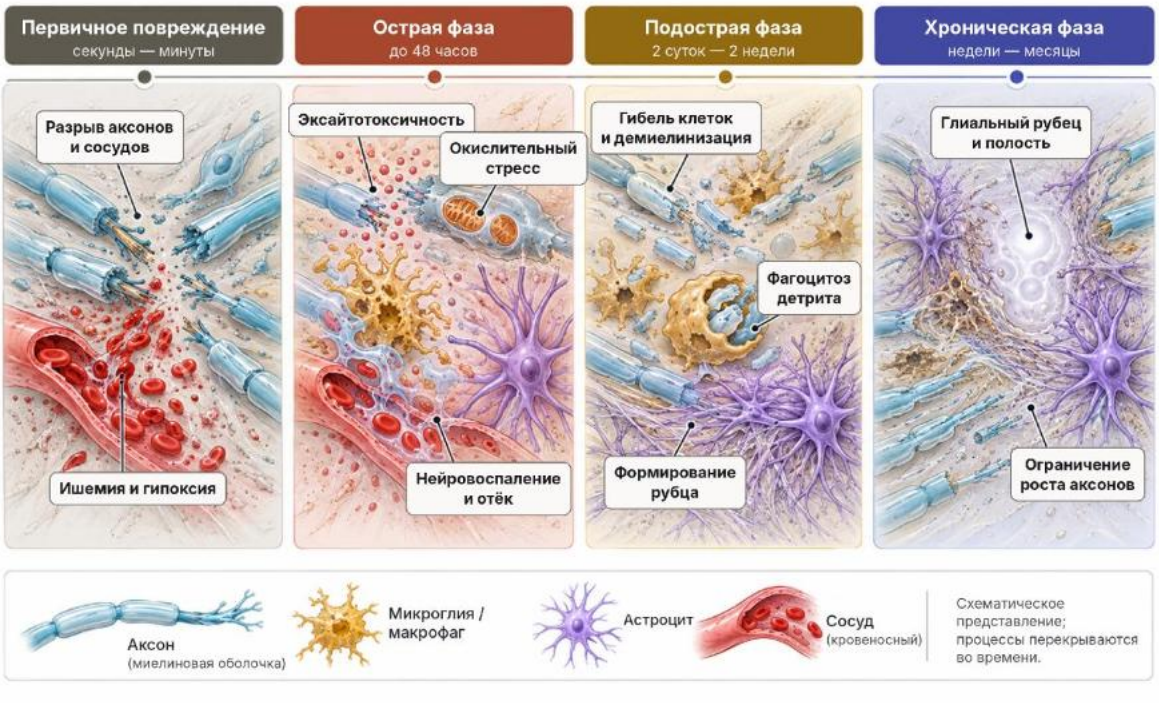


Рисунок 1.1 — Патогенетический каскад ТСМ

1.1.3 Нейропластичность после ТСМ

Травматическое повреждение СМ запускает сложную цепь деструктивных процессов, финальной стадией которых является необратимая утрата нейронов и нейроглиальных клеток наряду с дезорганизацией проводящих трактов. Несмотря на тяжесть указанных изменений, данные клинической практики и результаты экспериментальных работ подтверждают способность нервной ткани к частичному возвращению утраченных функций даже в условиях выраженного морфологического повреждения. Фундаментальной базой подобного компенсаторного механизма служит нейропластичность, под которой понимается врожденная способность ЦНС адаптировать свою архитектуру и функциональные связи в условиях патологического воздействия или модификации условий окружающей среды. Указанная адаптационная способность не только детерминирует естественные процессы спонтанной реабилитации, но и рассматривается в качестве приоритетной мишени при разработке современных восстановительных стратегий (Asboth et al., 2018).

Согласно современным представлениям нейропластичность после ТСМ является двухуровневым процессом, включающим изменения как на уровне самой спинномозговой (спинальной) сети, так и на уровне головного мозга (супраспинальная пластичность). При этом спинальная пластичность реализуется через нейронные сети ниже уровня повреждения, которые обладают собственной сложной организацией, включающей ЦГП. После ТСМ эти сети становятся гипервозбудимыми и способными к реорганизации рефлекторных дуг, что проявляется, например, в феномене спинального автоматизма или развитии спастичности. Последняя рассматривается как патофизиологическое следствие пластичности, но может быть использована в терапевтических целях (Edgerton, Roy, 2012). Супраспинальная пластичность, в свою очередь, выражается в том, что головной мозг, включая сенсомоторную кору и стволовые структуры, демонстрирует выраженную функциональную перестройку. С помощью МРТ было показано, что зоны коры, ответственные за движение парализованных конечностей, не затухают, а изменяют свою активность, при этом происходит рекрутирование дополнительных корковых полей с усилением межполушарного взаимодействия для компенсации утраченных нисходящих путей (Freund et al., 2011).

Структурная и функциональная пластичность находятся в состоянии тесной взаимозависимости. Реорганизация функциональных связей происходит за счет морфологических перестроек, регулируемых совокупностью физиологических процессов на

клеточном и молекулярном уровнях, где нейропластичность проявляется рядом механизмов, среди которых особое место занимает аксональный и коллатеральный спраутинг. Сохранившие жизнеспособность аксоны формируют новые отростки, устанавливающие синаптические связи с денервированными нейрональными окончаниями каудальнее зоны повреждения. Данный процесс наиболее интенсивно протекает в сером веществе СМ, создавая обходные пути нервной проводимости (Bareyre et al., 2004). Существенное значение имеет и синаптическая пластичность, которая реализуется через долговременную потенциацию, при которой многократная активация нейронных цепей сопрягается с повышением эффективности синаптической трансмиссии. Именно этот механизм важен для обучения ЦГП и поддается изменениям при применении специализированных реабилитационных протоколов (Wolpaw, 2018).

В посттравматическом периоде нейроны подвергаются выраженным количественным и качественным трансформациям. Первичное механическое воздействие непосредственно затрагивает как тела нейронов, так и их отростки в фокусе травмы, что обусловливает быструю утрату клеточных популяций. Каскад вторичных реакций, включающий ишемию, эксайтотоксичность, оксидативный стресс и митохондриальную дисфункцию, запускает апоптоз, приводящий к элиминации перилезиональных нейронов (расположенный вокруг очага поражения). Разрыв аксонов инициирует валлерову дегенерацию, проявляющуюся распадом аксомиелинового комплекса дистальнее очага травмы. Дезорганизация нисходящих проводящих путей ведет к снижению афферентной синаптической связи с мотонейронами и сопровождается редукцией дендритных шипиков и развитием постсинаптической атрофии. Несмотря на перечисленные деструктивные изменения, травмированная ткань частично сохраняет врожденный адаптивный потенциал, запуская процессы синаптической реорганизации дендритного аппарата с целью компенсации нарушенной передачи (Bareyre et al., 2004).

Нейроглиальные клетки выступают ключевыми модуляторами процессов нейропластичности в посттравматическом периоде. Астроциты подвергаются быстрой активации, действуя при этом двойственно и противоречиво. С одной стороны, они секретируют нейротрофические факторы (BDNF, NT-3 и CNTF), стимулируют синаптогенез и формируют глиальный рубец, локализующий зону воспаления. Но с другой стороны, именно формирующийся глиальный рубец создает физические и биохимические препятствия на пути регенерирующих аксонов. Олигодендроциты в условиях травмы подвержены массивной гибели, что неизбежно ведет к демиелинизации проводящих путей.

В ответ на это предшественники олигодендроцитов активируются и вступают в фазу пролиферации, обеспечивая процессы эндогенной ремиелинизации, которые зачастую носят неполный характер (Alizadeh, Dyck, Karimi-Abdolrezaee, 2019). Микроглия, представляющая собой резидентную иммунную популяцию ЦНС, активируется в первые часы после травмы с последующей поляризацией в провоспалительный фенотип M1 либо противовоспалительный фенотип M2. Клетки фенотипа M1 секретируют провоспалительные цитокины, способные усугублять воспалительный каскад, тогда как микроглия M2 продуцирует противовоспалительные медиаторы, оказывающие нейропротективное действие. Помимо этого, микроглиальные клетки обладают способностью лимитировать дегенерацию травмированных аксонов, формируя вокруг них защитные структуры в области перехватов Ранвье и тем самым предотвращая распространение острой аксональной деструкции за пределы травмированной области (Wu et al., 2024).

На молекулярном уровне ключевую роль в поддержке пластичности играют нейротрофические факторы, такие как мозговой нейротрофический фактор (BDNF), фактор роста нервов (NGF) и нейротрофин-3 (NT-3) (Keefe, Sheikh, Smith, 2017). При этом физическая активность и реабилитация увеличивают синтез этих факторов как в коре, так и в спинном мозге, создавая благоприятную среду для выживания нейронов. Показано также, что генетические особенности, например, полиморфизм гена BDNF может влиять на способность конкретного пациента к пластичности и восстановлению, что открывает перспективы для персонализированной медицины (Bagrowski et al., 2022; Maritska et al., 2023). Существенный вклад в процессы регенерации вносят факторы транскрипции (ATF3, Sox11b, LEF1, NF-κB), регулирующие экспрессию генов, связанных с регенерацией, нейровоспалением и нейрональной возбудимостью. Молекулы, направляющие рост аксонов, включая нетрины, белки семейства Wnt, Slit, семафорины и сигналинг Eph/эфрин, выполняют двунаправленную регуляторную функцию, причем их дисбаланс после травмы может как способствовать, так и препятствовать регенерации (Hollis, 2016).

Определяющее значение для обоснования терапевтических подходов имеет тот факт, что нейропластичность ЦНС не является однозначно положительным феноменом: она способна проявляться как в адаптивном, так и в дезадаптивном русле. Адаптивный вариант пластичности сопряжен с компенсацией утраченных функций, причем ведущую роль в этом процессе выполняет сенсорный вход с проприорецепторов мышечно-суставного аппарата, генерируемый в ходе двигательной активности. Экспериментально и клинически подтверждено, что масштаб перестройки спинальных нейронных сетей находится в прямой

корреляции с объемом поступающей афферентной импульсации (Harkema, Angeli, Gerasimenko, 2022). В условиях дефицита адекватной реабилитационной поддержки пластические трансформации нередко приобретают дезадаптивный характер. Подобное патологическое ремоделирование клинически манифестирует развитием спастических синдромов, хронической нейропатической боли, неправильной реорганизацией ноцицептивных трактов и вегетативной дисрефлексией. Указанные осложнения правомерно рассматривать как прямое следствие неадекватной реализации врожденных механизмов нейропластичности (Brown, Weaver, 2012).

Реализация потенциала нейропластичности и степень функционального восстановления после ТСМ определяются комплексом факторов, среди которых ключевое место занимают возраст пациента, морфологическая тяжесть повреждения и временной интервал, прошедший с момента травматизации. Нервная система лиц молодого возраста отличается пролонгированной пластичностью, высокой транскрипционной активностью генов и интенсивным синаптическим ремоделированием. Напротив, процессы старения сопряжены со снижением метаболической активности нейронов, угнетением экспрессии регенеративных сигнальных молекул и ограничением адаптивных возможностей к изменениям внеклеточной микросреды. Степень тяжести травмы непосредственно определяет объем сохранивших жизнеспособность проводящих путей, причем при неполных повреждениях сохраняется более обширный субстрат для компенсаторной пластичности. Временной фактор также играет критическую роль, поскольку острая фаза характеризуется максимальной пластичностью, тогда как хронический период требует запуска сложных механизмов адаптивной реорганизации. Своевременное инициирование реабилитационных мероприятий позволяет максимально задействовать высокий адаптивный потенциал острой стадии, что закономерно приводит к достижению более выраженных результатов функциональной реабилитации (Asboth et al., 2018).

Понимание вышеперечисленных механизмов привело к смене парадигмы реабилитации от пассивных методов к активной стимуляции нейропластичности, базирующейся на принципе пластичности, зависимой от активности. Сегодня локомоторная терапия на беговых дорожках с системой поддержки веса тела направлена на активацию спинальных центральных генераторов паттернов за счет ритмической сенсорной обратной связи (Gouveia et al., 2022; Smith, Knikou, 2016). Методы неинвазивной стимуляции коры головного мозга (транскраниальная магнитная и транскраниальная электрическая стимуляция) позволяют модулировать возбудимость нейронов, усиливая пластичность в

нужном направлении и подготавливая кору к восприятию реабилитационных сигналов (Huang et al., 2017). Интерфейсы мозг-компьютер и роботизированные экзоскелеты создают условия для замыкания сенсомоторной петли и стимуляции ассоциативной пластичности, связывая намерение пациента с движением конечности (Donati et al., 2016).

1.1.4 Супраспинальные изменения после ТСМ

Если ранее ТСМ воспринималась исключительно как очаговое нарушение целостности проводящих путей, то современные исследования свидетельствуют в пользу системного характера этой патологии, вовлекающей в патологический процесс всю нейроаксиальную структуру, включая супраспинальные отделы (Yezierski, 2009). Уже в первые месяцы после травмы у пациентов методами структурной МРТ регистрируется прогрессирующая атрофия кортикоспинального тракта на всем его протяжении, уменьшение объема серого вещества первичной сенсомоторной коры, причем скорость этих изменений коррелирует со степенью функционального восстановления (Freund et al., 2013).

В экспериментах на животных неоднократно описывалась реорганизация сенсорных и моторных корковых карт (включая первичную и премоторную кору). Методы функциональной нейровизуализации показали, что корковое представительство зоны сохранной передней конечности на ранних сроках расширяется и захватывает соседние деафферентированные территории задней конечности. Электрофизиологические работы, в свою очередь, свидетельствуют, что деафферентация, вызванная ТСМ, способна изменять состояние обширных корковых сетей уже в течение первого часа после повреждения, причем эти ранние изменения играют критическую роль в последующей функциональной перестройке (Nardone et al., 2013). У человека нейровизуализация также фиксирует смещение моторных и сенсорных корковых представительств, степень которого коррелирует с тяжестью травмы. При шейном повреждении, по данным транскраниальной магнитной стимуляции, корковое представительство предплечья может перестраиваться в сторону зоны кисти, что позволяет максимизировать нисходящий контроль над мышцами паретичной конечности. Чрезмерная или аберрантная реорганизация коры способна приводить к патологическим последствиям, например, к фантомным ощущениям и хроническим нейропатическим болям (Nardone et al., 2013). Супраспинальные структуры подвержены вторичным дистантным эффектам спинальной травмы, что подтверждает системный характер заболевания.

Механистически взаимодействие между спинальным очагом и ГМ опосредовано не только деафферентацией и деэфферентацией, но и гуморальным звеном (системным воспалительным ответом). ТСМ индуцирует выброс провоспалительных цитокинов (ИЛ-1β, ИЛ-6, TNF-α) в системный кровоток, активирует печеночный острофазовый ответ с вовлечением клеток Купфера и нейтрофилов, что многократно потенцирует интенсивность воспаления в самой нервной ткани (Zeng, Zeng, 2025; Fernandez-Canadas et al., 2025). Дополнительным патогенетическим фактором служит нарушение вегетативной регуляции кишечника, сопровождающееся дисбиозом, который поддерживает хроническое системное воспаление и негативно влияет на неврологический прогноз (Dong et al., 2025). Циркулирующие цитокины воздействуют на мозговой эндотелий, повышают проницаемость ГЭБ и переводят микроглию в активированное состояние. Как следствие, хроническая микроглиальная активация и стойкое повышение уровня провоспалительных медиаторов регистрируются в структурах, удаленных от самого очага (префронтальной коре, таламусе и гиппокампе) спустя недели и месяцы после изолированного повреждения тканей СМ (Wu et al., 2014a).

Среди супраспинальных структур гиппокамп занимает особое положение как область, наиболее рано и наиболее избирательно реагирующая на нейровоспаление любого происхождения. Эта избирательная уязвимость имеет несколько причин: высокая плотность микроглии и рецепторов IL-1 в поле CA1 и зубчатой извилине, относительная проницаемость барьера в этой области и наличие пула делящихся предшественников, критически чувствительных к провоспалительному микроокружению (Colasanti et al., 2016). В экспериментальных моделях системного воспаления (введение липополисахаридов, периферические хирургические травмы) активация микроглии и нарушение синаптической пластичности выражены в гиппокампе сильнее, чем в других отделах мозга, даже при полном отсутствии первичного церебрального повреждения (Saxena et al., 2021; Ganesan et al., 2025; Tyrtyshnaia et al., 2019). Установлено, что воспалительное микроокружение, независимо от этиологии исходного стимула, снижает выживаемость новообразованных нейронов в зубчатой извилине, тогда как фармакологическое подавление воспалительного ответа нормализует нейрогенез (Monje, Toda, Palmer, 2003). Именно поэтому системный воспалительный ответ, развивающийся после ТСМ, находит в гиппокампе преимущественную мишень. Экспериментальные модели ТСМ также демонстрируют достоверное сокращение популяции незрелых нейронов в зубчатой извилине на фоне персистирующей активации микроглии (Jure et al., 2022). Кроме того, фиксируется

оксидативное повреждение митохондриального аппарата гиппокампальных нейронов, что в хроническом периоде манифестирует упрощением дендритного ветвления и снижением плотности постсинаптических уплотнений (Hu et al., 2022).

Клиническая и функциональная значимость описанных морфологических сдвигов становится вполне очевидной при учете центральной роли гиппокампа не только в процессах мнестической деятельности, но и в пространственной организации движения. Со времени идентификации так называемых клеток места, чья разрядная активность строго коррелирует с локацией субъекта в пространстве, а также последующего описания решетчатых нейронов энторинальной коры, сформировалось устойчивое представление о том, что гиппокампальная формация конструирует внутреннюю когнитивную карту окружающей среды (Moser, Rowland, Moser, 2015). Фундаментальной особенностью данной карты служит ее непрерывное динамическое обновление посредством сигналов, генерируемых в процессе локомоции. Механизм интегрирования в данном контексте основывается на трех базовых информационных потоках, а именно на проприоцептивных и вестибулярных сигналах, дополненных эфферентной копией моторных команд (McNaughton et al., 2006). Гиппокампальный тета-ритм обнаруживает жесткую физиологическую привязку к локомоторной активности, поскольку его частотные и амплитудные параметры возрастают прямо пропорционально скорости перемещения. Восходящие проекции от медиального рострального отдела варолиева моста запускают процесс шагания и одновременно генерируют тета-колебания, что предопределяет статус септо-гиппокампальной системы как центрального узла сенсомоторной интеграции (Nuñez, Buño, 2021; Lu et al., 2020). Наличие специализированных нейронов скорости в медиальной энторинальной коре, разрядная частота которых отражает актуальную скорость перемещения вне зависимости от внешних визуальных ориентиров, доказывает, что локомоторные сигналы выступают неотъемлемым структурным компонентом системы пространственного кодирования в гиппокампе (Kropff et al., 2015). Обратная закономерность была наглядно продемонстрирована в ходе экспериментов с пассивным перемещением животных. При искусственном устранении активного локомоторного и проприоцептивного компонентов наблюдается выраженная дезорганизация полей места наряду с резким снижением пространственной избирательности нейрональных разрядов. Аналогичный дестабилизирующий эффект фиксируется и при блокаде вестибулярного афферентного входа (Stackman, Clark, Taube, 2002; Terrazas et al., 2005).

Из этого следует, что ТСМ нарушает функциональную петлю «локомоция –

обновление пространственной карты» одновременно по двум направлениям. С одной стороны, утрата восходящей проприоцептивной афферентации от денервированных конечностей в сочетании с резким сокращением объема двигательной активности лишает гиппокампальную сеть основного источника сигналов о движении, которые калибруют пространственную карту. С другой стороны, системное нейровоспаление поражает наиболее уязвимое звено этой сети, подавляя нейрогенез в зубчатой извилине и синаптическую пластичность в полях CA1 и CA3 гиппокампа.

Дополнительный вклад вносит утрата самой двигательной активности как трофического фактора, так как локомоция служит мощным физиологическим стимулом нейрогенеза и экспрессии BDNF в гиппокампе, а ее ограничение после травмы означает потерю этого протективного механизма (Kempermann et al., 2010; Kobilo et al., 2011). Такое двойное воздействие означает, что нарушения пространственного научения после ТСМ не сводятся только к моторному дефициту, а отражают деградацию самой системы формирования пространственной памяти. Таким образом, можно предположить, что локомоторная реабилитация действует не только на спинальные центры, но и через восстановление афферентации и трофики она затрагивает и супраспинальный уровень, прежде всего гиппокамп. Это позволяет рассматривать гиппокамп как самостоятельную мишень патогенетической терапии ТСМ, а его нейровоспалительный статус может служить показателем системной тяжести травмы.

1.1.5 Современные терапевтические стратегии после ТСМ

Терапия острой фазы ТСМ направлена на минимизацию протекания первичного острого повреждения и предотвращение вторичных осложнений и включает в себя, в первую очередь, обеспечение работы дыхательной и кровеносной системы, а также стабилизацию позвоночника, позволяющую исключить последующую деформацию других тканей (Quinones et al., 2024). Хирургическая помощь в основном ограничивается только проведением хирургической декомпрессии. Доклинические данные поддерживают раннюю декомпрессию, но сроки варьируют (от 8 до 72 часов), хотя известно, что операция в течение 24 часов увеличивает в 3 раза шансы улучшения неврологических функций и снижает риск возникновения вторичных осложнений, тогда как сверхранняя декомпрессия (до 8–12 часов) в отдельных случаях может быть полезна, но доказательства ограничены (Kalanchiam et al., 2025). На этом этапе терапия преимущественно направлена на лечение респираторных

проблем и профилактику вторичных осложнений. Для дальнейшего ведения пациентов как в острый, так и в хронический период после ТСМ большое значение имеет реабилитация, направленная на улучшение двигательной функции и минимизацию вторичных повреждений (Alvi et al., 2024). Наиболее перспективными нейрореабилитационными подходами являются фармакотерапия, физические упражнения и использование эпидуральной электростимуляции.

Фармакологические подходы включают нейропротекцию с помощью препаратов, которые могут быть разделены на различные подгруппы в зависимости от механизма действия. Подгруппы включают агонисты и антагонисты рецепторов нейротрансмиттеров, блокаторы ионных каналов, антиоксидантные и антиапоптотические средства (Anjum et al., 2020).

Отдельное направление фармакотерапии ТСМ нацелено не на нейропротекцию, а на стимуляцию аксональной регенерации за счет устранения молекулярных барьеров, формирующихся в области глиального рубца. Ферментативная деградация хондроитинсульфатпротеогликанов с помощью хондроитиназы ABC способствует прорастанию аксонов через рубцовую ткань и восстановлению локомоторной функции у животных (Kim et al., 2006), а фармакологическое ингибирование внутриклеточного пути Rho/ROCK, активируемого миелин-ассоциированными ингибиторами роста и хондроитинсульфатпротеогликанами, снижает коллапс конуса роста аксона и способствует его регенерации (Fujita, Yamashita, 2014). Наиболее передовым подходом этой группы являются антитела к Nogo-A, миелин-ассоциированному белку, ограничивающему рост и пластичность аксонов. В ходе 6-месячного наблюдения у пациентов, получавших рекомбинантное антитело NG101, по сравнению с плацебо наблюдалось более быстрое уменьшение объема поражения тканей СМ и замедленное снижение площади поперечного сечения СМ (Farner et al., 2026).

Клеточные технологии представляют собой одно из наиболее интенсивно развивающихся направлений терапии ТСМ, нацеленное не только на нейропротекцию, но и на замещение утраченных клеточных популяций и стимуляцию эндогенной регенерации (Bach, Van Giang, Nguyen, 2026). В рамках современных клинических и экспериментальных изысканий детально рассматривается применение самых различных клеточных популяций. К числу наиболее изучаемых относятся мезенхимальные стромальные клетки, нейральные стволовые и прогениторные элементы, а также клетки предшественники, полученные путем дифференцировки индуцированных плюрипотентных стволовых линий. Помимо этого,

активное внимание уделяется шванновским и обонятельным глиальным клеткам. Каждая из упомянутых популяций характеризуется уникальным набором предполагаемых механизмов терапевтического воздействия. Спектр их биологического действия оказывается предельно широк и охватывает как паракринную иммуномодуляцию с нейротрофической поддержкой, так и непосредственное восстановление миелиновой оболочки в очаге травматического повреждения (Arsentiev et al., 2024). Несмотря на то что клеточная терапия ТСМ изучается в клинике уже более двух десятилетий и совокупный анализ опубликованных исследований демонстрирует статистически значимое улучшение у значительной части пролеченных пациентов, систематический анализ данных литературы указывает на то, что ни одна из клеточных технологий на сегодняшний день не располагает воспроизводимыми доказательствами клинической эффективности, а имеющиеся испытания ограничены малым размером выборок, низкой статистической мощностью и неоднородностью протоколов трансплантации (Davoudi-Monfared et al., 2024). Клеточные технологии остаются перспективным, но не валидированным подходом, который развивается в сторону комбинирования с биоматериалами, факторами роста и модуляцией глиального рубца.

Продемонстрирована эффективность реабилитационных физических упражнений как на животных моделях, так и в клинической практике. Было показано, что у мышей после латеральной гемисекции СМ число аксонов в пределах 100 мкм от поражения было больше у тренированных на беговой дорожке животных (Flynn et al., 2013). У крыс с перерезанным СМ тренировки на беговой дорожке с нагрузкой на задние конечности и оптимизированным уровнем поддержки массы тела приводили к улучшению локомоторной активности (Timoszyk et al., 2005).

Также перспективно использование электрической стимуляции (ЭС), которая, как было показано в многочисленных современных исследованиях, обеспечивает функциональное восстановление и даже предотвращает многие осложнения после ТСМ (Doherty et al., 2019; Kreydin et al., 2020; Moshonkina et al., 2016; Phillips et al., 2018). Электрическая стимуляция поясничного отдела позвоночника может восстановить двигательную активность у крыс с ТСМ (Courtine et al., 2009).

1.1.6 Экспериментальные модели ТСМ и методы оценки восстановления

Выбор адекватной экспериментальной модели является одним из ключевых факторов,

определяющим интерпретацию результатов доклинических исследований ТСМ возможность их последующей трансляции в клиническую практику. Согласно результатам систематического обзора, большинство исследований по моделированию ТСМ проводится на крысах (72,4 %), в то время как на мышах около 6 %, а на крупных животных, в том числе приматах в совокупности менее 3 %. Моделирование чаще всего проводится на грудном отделе СМ (81 %); среди экспериментальных моделей преобладают модели контузионного повреждения (41 %), за которыми следуют модели перерезания (32,5 %) и компрессии (19,4 %) (Sharif-Alhoseini et al., 2017). Экспериментальные модели обычно классифицируются в зависимости от типа травмы, которую они воспроизводят: ушиб, сдавление, растяжение, вывих, модели с полным или частичным перерезанием, а также модели, вызванные химическим повреждением (Cheriyan et al., 2014).

Контузионные модели воспроизводят ударное механическое воздействие с дальнейшей компрессией тканей СМ, что является наиболее приближенной моделью к реально получаемым травмам. Исторически данные модели основаны на методике Аллена, предложенной в 1911 году и основанной на свободном падении груза заданной массы с определенной высоты на обнаженный спинной мозг. Современные модификации этого подхода используют компьютеризированные электромагнитные или пневматические установки, позволяющие с высокой точностью контролировать силу и скорость воздействия и получать воспроизводимые, градуированные по тяжести повреждения (Scheff et al., 2003). Компрессионные модели, в которых травмирующим фактором выступает не удар, а дозированное в течение длительного времени сдавление тканей СМ, более точно воспроизводят биомеханику травм, связанных с переломо-вывихами позвонков (смещается тело позвонка и одновременно ломается его костная структура) и стенозом позвоночного канала (Poon et al., 2007; Rivlin, Tator, 1978).

Также существуют экспериментальные модели с полной или частичной трансекцией СМ. Такие модели позволяют сделать строго анатомически локализованное и высоковоспроизводимое поражение конкретных проводящих трактов. Данное обстоятельство делает их ценным методическим инструментом при оценке процессов аксональной регенерации. Такие модели часто используются при клеточной трансплантации. Тем не менее подобные модели не способны в полной мере имитировать типичные для клинической травмы события, к числу которых относятся геморрагические изменения и прогредиентное разрастание границ вторичного повреждения (Cheriyan et al., 2014).

Несмотря на указанное ограничение, модель латеральной гемисекции обладает рядом

методических преимуществ, благодаря которым она широко применяется в различных экспериментальных задачах (Sharif-Alhoseini et al., 2017). Сохранение интактной контралатеральной половины СМ обеспечивает собственный внутренний контроль в пределах одного животного. Прямое сравнение ипсилатеральной (поврежденной) и контралатеральной (интактной) сторон позволяет существенно снизить вклад межиндивидуальной вариабельности. Также латеральная гемисекция воспроизводит клиническую картину синдрома Броун–Секара, наблюдаемого у части пациентов с несимметричным повреждением СМ. Для этого состояния характерна диссоциация нарушений, когда присутствует ипсилатеральный двигательный дефицит и контралатеральные сенсорные нарушения (Filli et al., 2011). Поскольку повреждение наносится под визуальным контролем, гемисекция обеспечивает высокую воспроизводимость локализации и протяженности повреждения между животными, превосходя в этом отношении различные контузионные модели, где итоговый объем повреждения в большей степени определяется индивидуальными биомеханическими свойствами тканей и многими другими физическими факторами нанесения травмы. Также сохранение части восходящих и нисходящих проводящих путей позволяет изучать не только процессы дегенерации, но и механизмы компенсаторной нейропластичности, в том числе аксональный спраутинг (Leszczyńska et al., 2015). Наконец, латеральная гемисекция в меньшей степени, чем полная перерезка, нарушает вегетативные функции, что облегчает послеоперационный уход за животными. Совокупность перечисленных преимуществ определила выбор латеральной гемисекции СМ в качестве модели ТСМ для настоящего исследования.

Наряду с выбором способа моделирования травмы принципиальное значение имеет стандартизация оценки функционального исхода. Одним из наиболее широко используемых инструментов для интегральной оценки локомоторного восстановления у крыс остается 21-балльная шкала Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) (Basso, Beattie, Bresnahan, 1995). В настоящее время BBB считается достаточно грубой шкалой, которая хорошо отражает только общую тяжесть локомоторного дефицита, но плохо разделяет вклад отдельных компонентов локомоции (координации, силы, точности постановки конечности и параметров постуральных характеристик). В связи с этим современные исследователи применяют батарею более специфичных и чувствительных тестов, каждый из которых нацелен на отдельные аспекты движения. Комплексная оценка сенсомоторного дефицита после ТСМ строится на сочетании поведенческих, кинематических и электрофизиологических методов,

что позволяет всесторонне охарактеризовать как грубые, так и тонкие двигательные нарушения, и особенности восстановления.

Базовые поведенческие тесты позволяют вывести количественную оценку различных аспектов сенсомоторного восстановления. Тесты «суживающаяся балка» и «горизонтальная лесенка» используются для оценки точности постановки конечностей и координации шага по числу ошибок и соскальзываний относительно общего числа сделанных шагов (Metz, Whishaw, 2009; Pinosanu et al., 2024). Тест «суживающаяся балка» дополнительно характеризует способность удерживать равновесие. Дополнительная балльная оценка мышечного тонуса и произвольных движений задних конечностей позволяет отслеживать динамику рефлекторной и произвольной моторики уже на ранних сроках после травмы.

Применение дополнительных функциональных тестов необходимо для детекции минимальных нарушений. Такой подход важен для изучения локомоции на животных со спонтанным восстановлением, когда стандартные шкалы оценки теряют свою чувствительность, особенно при различении похожих групп. К таким методам относятся тестирование ходьбы по сетчатой решетке, тест с подъемом по наклонной лесенке или по канату и общая оценка локомоции при ходьбе по наклонной поверхности. Последний тест позволяет оценить общую мышечную силу и способности координации при анализе максимального угла удержания позы до момента соскальзывания животного (Rivlin, Tator, 1977). С учетом локомоторных особенностей мышей для них была разработана специализированная 10-балльная шкала оценки, известная как Basso Mouse Scale (BMS) (Basso et al., 2006).

Количественный кинематический анализ дает возможность вывести пространственные и временные параметры локомоции, охарактеризовать параметры постуральной позы, а также изучить межконечностную и внутриконечностную координацию. В качестве одной из наиболее востребованных автоматизированных систем выступает комплекс для автоматизированного анализа походки CatWalk. Эта система считывает отпечатки лап при контакте с поверхностью во время движения животного по стеклянной дорожке и далее в автоматическом режиме вычисляет множество параметров (площадь опоры, длину и ширину шага и другие) (Batka et al., 2014; Hamers, Koopmans, Joosten, 2006). Формирование более детальной трехмерной кинематической модели локомоции реализуется посредством автоматизированной системы MotoRater. Данная установка может формировать синхронную регистрацию передвижения животного с трех ракурсов (снизу и с обеих боковых сторон), отслеживая траектории не только конечностей,

но и суставов, таза, хвоста и головы. Такой подход позволяет анализировать тонкие нарушения позы и координации, которые остаются невидимыми при анализе исключительно подошвенных отпечатков (Zörner et al., 2010).

Электрофизиологические методики, в том числе регистрация суммарного мышечного ответа при электростимуляции периферических нервов или непосредственно спинальных структур, обеспечивают объективную оценку функциональной сохранности проводящих трактов. В основном эти данные служат важнейшим дополнением к результатам поведенческого и кинематического тестирования (Gad et al., 2015; Yu et al., 2001).

Интеграция унифицированных и верифицированных моделей повреждения СМ с комплексом высокочувствительных и взаимодополняющих методов функционального тестирования представляет собой важное методологическое требование для изучения особенностей восстановления локомоции после травмы, так как гарантирует высокую степень воспроизводимости экспериментов и корректную сопоставимость данных в рамках различных исследований.

1.2 Морфо-функциональные изменения микроокружения в зоне травмы

1.2.1 Активация микроглии и астроцитов в острой и хронической фазах после ТСМ

Концепция поляризации микроглии является фундаментальной идеей в нейроиммунологии. Согласно ей активированная микроглия способна обретать разные функциональные профили. К первому профилю относят классический провоспалительный вариант (М1). Ко второму профилю относят альтернативный противовоспалительный вариант (М2). При этом профиль М1 неразрывно связан с выработкой провоспалительных цитокинов (ИЛ-1β, TNF-α и ИЛ-6). Кроме того, он сопряжен с генерацией активных форм кислорода и азота, что ведет к разрушению нейронов и олигодендроцитов. Профиль М2 отличается синтезом противовоспалительных цитокинов (ИЛ-10 и TGF-β), а также факторов роста, которые обеспечивают нейропротекцию и стимулируют регенерацию (Cherry, Olschowka, O’Banion, 2014). Исторически такая классическая модель поляризации микроглии и макрофагов на провоспалительный (М1) и альтернативно активированный (М2) фенотипы, заимствованная из иммунологии Т-хелперного ответа, получила первое экспериментальное подтверждение именно на модели ТСМ. Анализ экспрессии генов после контузионной ТСМ показал, что М1-подобный фенотип микроглии формируется уже в

ранние сроки после повреждения и сохраняется на протяжении всего периода наблюдения, тогда как М2-подобный ответ носит непостоянный характер и выражен слабее, вследствие чего воспалительная среда остается смещенной в сторону преобладания М1-подобного фенотипа (Kigerl et al., 2009). Практическая ценность такого дисбаланса была подтверждена в ходе экспериментов. Авторы показали, что макрофаги с фенотипом М1 оказывают сильное токсическое влияние на нейроны в культуре. А клетки с профилем М2 активно стимулируют отрастание нейритов у сенсорных нейронов даже в условиях присутствия веществ, блокирующих аксональный рост (хондроитинсульфатпротеогликаны и миелин). Эти данные доказывают, что баланс между популяциями М1 и М2 выступает одним из главных факторов, предопределяющих итог вторичного повреждения (Kigerl et al., 2009).

Тем не менее в последние годы классическая бинарная модель М1 и М2 все чаще подвергается аргументированной критике. Результаты транскриптомного анализа единичных клеток микроглиоцитов ясно показывают, что активированная микроглия и макрофаги ЦНС в естественных условиях крайне редко соответствуют строгим фенотипам М1 или М2, которые обычно описывают в лабораторных условиях. Вместо этого они формируют широкий спектр смешанных фенотипов, которые находятся в прямой зависимости от стадии повреждения, характеристик локального микроокружения, а также клеточного происхождения (резидентная микроглия ЦНС или мигрировавшие моноциты) (Ransohoff, 2016, David, Kroner, 2011). Это делает морфологическую и иммуногистохимическую классификацию М1/М2 недостаточной для описания реального функционального состояния микроглии в хронической фазе ТСМ и обосновывает необходимость поиска дополнительных, более чувствительных маркеров дисфункционального состояния клеток.

В физиологических условиях микроглия выполняет функции иммунного надзора, непрерывно сканируя микроокружение и поддерживая тканевый гомеостаз, однако в ответ на травматическое повреждение она быстро активируется, меняя свою морфологию от разветвленной (рамифицированной) к амебоидной и приобретая способность к пролиферации, миграции и фагоцитозу (Loane, Kumar, 2016). Активация микроглии при ТСМ носит двухфазный характер: в острой фазе она направлена на элиминацию клеточного детрита и потенциальных патогенов, но при хронической активации микроглия может становиться источником длительно персистирующего повреждения за счет избыточной продукции провоспалительных медиаторов (Xu et al., 2022). В первые дни после ТСМ в очаге травмы преобладает в основном микроглия/макрофаги М2 фенотипа, однако по мере

прогрессирования хронической стадии происходит сдвиг в сторону преобладания пула M1 фенотипа, что создает провоспалительную среду, которая препятствует восстановлению и способствует вторичному повреждению (Gensel, Zhang, 2015). Этот процесс является хроническим нейровоспалением и рассматривается как одна из главных причин отсутствия эффективной регенерации после травмы, поскольку длительно персистирующая микроглия M1 фенотипа выделяет цитокины, токсичные для олигодендроцитов, что приводит к демиелинизации сохранных аксонов даже спустя годы после травмы (Hellenbrand et al., 2021). Помимо микроглии, в зону повреждения приходят и периферические макрофаги, моноциты и нейтрофилы, которые проникают через поврежденный гематоспинномозговой барьер (ГСМБ). Эти клетки вносят вклад в локальный воспалительный ответ, причем их дифференцировка также зависит от микроокружения и может активироваться сигналами от самой микроглии (Schwartz, Baruch, 2014).

Важным звеном патогенеза на этом этапе является влияние микроглии на астроциты. Активированная микроглия высвобождает медиаторы (IL-1α, TNF-α и C1q), которые далее активируют нейротоксический фенотип астроцитов (A1). A1-фенотип теряет способность поддерживать нейроны (Liddelow et al., 2017). Такой сигналинг формирует порочный круг, в котором микроглия и астроциты взаимно усиливают провоспалительный ответ и создают неблагоприятное для нейропластичности и регенерации окружение. Активация микроглии на молекулярном уровне опосредуется большим количеством сигнальных каскадов, в которых ключевую роль играют Toll-подобные рецепторы (TLR). TLR распознают патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (PAMPs) и молекулярные паттерны повреждения (DAMPs). К последним относятся молекулы АТФ, белки теплового шока (HSP) и фрагменты внеклеточного матрикса, которые образуются после разрушения тканей (Gadani et al., 2015; Gaudet, Popovich, 2014; Hellenbrand et al., 2021). Особое значение имеет сигнальный путь, который инициируется активацией внеклеточным АТФ рецепторов P2X7. Этот путь далее запускает сборку инфламмасомы NLRP3, секрецию активного ИЛ-1β, который является сильным провоспалительным медиатором (De Rivero Vaccari et al., 2009). Исследования, направленные на терапевтическую модуляцию активности микроглии в последние годы, представляют собой особый интерес. В особенности экспериментальные работы, в которых представлены стратегии переключения провоспалительного фенотипа микроглиоцитов на репаративный. Среди таких подходов можно выделить применение фармакологических агентов (например миноциклин), факторов роста, а также трансплантацию регуляторных иммунных клеток (Kobashi et al., 2020). Тем не менее клиническая трансляция таких методов

все еще остается ограниченной, что обусловлено высокой сложностью и гетерогенностью микроглиального ответа, а также дефицитом специфических маркеров, которые позволяют селективно изменять отдельные клеточные функции. Таким образом, нейровоспаление и микроглия реализуют двойственную роль в патогенезе ТСМ. С одной стороны, нейровоспаление критически необходимо для клиренса клеточного детрита и запуска репаративных процессов, но с другой стороны, хронизация воспаления становится ключевым звеном вторичного повреждения и барьером для регенерации. Именно поэтому воздействие на микроглию является одной из наиболее перспективных стратегий терапии.

Астроциты представляют собой наиболее многочисленную популяцию глиальных клеток ЦНС. Они также играют двойственную роль в патогенезе ТСМ. В острой фазе травмы они локализуются в очаге воспаления, но в хроническом периоде их реактивная перестройка и формирование глиального рубца создают главное препятствие для аксональной регенерации (Burda, Sofroniew, 2014). В физиологических условиях астроциты обеспечивают широкий спектр гомеостатических процессов, среди которых можно выделить поддержание ионного баланса (регуляция внеклеточной концентрации калия, захват и метаболизм глутамата при эксайтотоксичности), обеспечение энергетического метаболизма нейронов. Кроме того, астроциты участвуют в формировании и поддержании ГЭБ (Sofroniew, Vinters, 2010; Verkhratsky, Nedergaard, 2018). В ответ на травматическое повреждение астроциты подвергаются реактивному астроглиозу, который является сложным процессом фенотипической трансформации. Описываемый процесс сопровождается выраженным укрупнением перикариона, а также удлинением и утолщением цитоплазматических выростов. Помимо структурной перестройки, регистрируется высокая пролиферативная активность и нарастание синтеза промежуточных нитей, прежде всего глиального фибриллярного кислого белка (GFAP), виментина (VIM), а также белка S100β (Pekny et al., 2016). Реактивный астроглиоз характеризуется выраженной пространственной и временной неоднородностью. В перифокальной зоне некроза астроциты формируют плотный глиальный рубец, разграничивающий очаг повреждения и интактную нервную ткань. В то же время в дистальных отделах регистрируется диффузный реактивный астроглиоз, не сопровождающийся образованием структурного барьера (Wanner et al., 2013).

На протяжении длительного периода глиальный рубец интерпретировался преимущественно как механическое и молекулярное препятствие, лимитирующее аксональную регенерацию. Вместе с тем современные научные данные свидетельствуют о том, что в острой фазе травматического воздействия данный рубец реализует важнейшую

протективную функцию. Он ограничивает экспансию воспалительной реакции и зоны вторичного повреждения, способствуя сохранению витальной нервной паренхимы и реставрации барьерных свойств ГЭБ (Sofroniew, 2015). Данная концепция находит убедительное подтверждение в экспериментах, предусматривающих генетическую абляцию реактивных астроцитов. В указанных моделях нарушение процессов рубцевания сопровождалось экспансией зоны вторичного повреждения, интенсификацией инфильтрации нейтрофилов и моноцитов, выраженной демиелинизацией, а также ухудшением неврологического прогноза. Эти результаты объективно доказывают протективную роль астроглиоза на ранних этапах ТСМ (Faulkner et al., 2004). По мере прогрессирования хронической стадии глиальный рубец приобретает свойства устойчивого структурного и молекулярного барьера для регенерации. Зрелые астроциты в составе рубца секретируют ингибиторы аксонального роста хондроитинсульфатные протеогликаны (CSPG), которые связываются с рецепторами на ростовых конусах аксонов (в частности, с рецепторной протеинтирозинфосфатазой сигма PTPσ и Nogo-рецепторами), активируя внутриклеточные сигнальные каскады, приводящие к коллапсу ростового конуса и торможению аксонального роста (Bradbury, Burnside, 2019). Молекулярные механизмы ингибирующего действия CSPG включают активацию Rho/ROCK-сигнального пути в нейронах, что приводит к реорганизации актинового цитоскелета и подавлению роста нейритов. В связи с этим ингибирование данного пути рассматривается как одна из перспективных терапевтических стратегий повышения регенеративного потенциала поврежденного СМ (Monnier et al., 2003).

В последние годы активно изучается гетерогенность реактивных астроцитов, и предложена концепция поляризации астроглии по аналогии с микроглией. Выделяют нейротоксические A1-астроциты, индуцируемые активированной микроглией через цитокины ИЛ-1α, TNF-α и C1q, которые теряют нейропротективные свойства и приобретают способность вызывать гибель нейронов и олигодендроцитов, а также нейропротективные A2-астроциты, активирующиеся при ишемии и экспрессирующие факторы роста и трофические факторы, поддерживающие выживание нейронов и синаптогенез (Liddelow et al., 2017). Во время острой фазы ТСМ присутствуют как A1, так и A2 астроциты, но по мере перехода процесса в хроническую стадию происходит устойчивое преобладание нейротоксичного A1-фенотипа, что поддерживает персистирующее нейровоспаление и препятствует репарации (Li et al., 2024, 2023; Hou et al., 2022). Важным аспектом патогенеза является также нарушение гомеостатических функций астроцитов после травмы. После

травмы происходит снижение экспрессии глутаматных транспортеров, что в свою очередь ведет к накоплению уровня внеклеточного глутамата и развитию эксайтотоксической гибели нейронов. Нарушение регуляции водного баланса через аквапорины способствует развитию посттравматического отека, а дисфункция периваскулярных отростков астроцитов приводит к дисфункции ГЭБ и хроническому отеку (Michinaga, Koyama, 2021). Астроциты формируют сложную сигнальную сеть взаимодействуя с микроглией, олигодендроцитами, эндотелиальными клетками и нейронами. Данная сеть регулирует развитие воспалительного ответа, моделирует процессы нейропластичности. Поэтому астроциты являются ключевым интегратором межклеточного сигналинга и регуляции тканевого гомеостаза в ЦНС (Liddelow et al., 2017; Tiwari et al., 2025). Главным препятствием для аксональной регенерации служит глиальный рубец, чья ингибирующая активность во многом обусловлена CSPG. В связи с этим терапевтический подход нередко сводится к их ферментативной нейтрализации. Например, путем локального введения хондроитиназы ABC, что позволяет временно снизить плотность рубцовой ткани (Bradbury et al., 2002), либо с помощью фармакологической блокады Rho-сигналинга (Fehlings et al., 2018). Другим перспективным направлением является селективная регуляция сигнальных путей, которые контролируют поляризацию астроцитов в A2-фенотип (Li et al., 2024; Ma et al., 2020).

В отличие от острой фазы ТСМ, детерминируемой первичным механическим разрушением и геморрагическими явлениями, хронический период характеризуется развертыванием сложного динамического каскада патологических процессов. Именно эти механизмы определяют стойкий неврологический дефицит и качество жизни пациентов. Глубокое понимание данной патофизиологии выступает необходимым условием для разработки эффективных стратегий нейропротекции и нейрорегенерации. Хроническая фаза манифестирует спустя недели или месяцы после повреждения и персистирует на протяжении всей жизни пострадавшего. Ключевыми патогенетическими звеньями этого этапа являются формирование посттравматической кисты, созревание глиального рубца, персистирующее нейровоспаление и прогрессирующая валлеровская дегенерация.

Посттравматическая сирингомиелия (кистозная дегенерация)

Формирование посттравматической сирингомиелической кисты выступает одним из наиболее тяжелых вторичных осложнений хронического периода. Данный процесс характеризуется прогрессирующим расширением центрального канала СМ с аккумуляцией цереброспинальной жидкости проксимальнее и дистальнее зоны первичного повреждения (Schwartz et al., 1999). Патогенез сирингомиелии ассоциирован с нарушением

ликвородинамики в субарахноидальном пространстве на фоне рубцово-спаечных деформаций. По мере увеличения объема кисты нарастает компрессия проводящих трактов, усугубляются нарушения микроциркуляции и вторичное повреждение прилежащей нервной паренхимы. Клинически посттравматическая сирингомиелия манифестирует отсроченным прогрессированием неврологического дефицита, интенсификацией болевого синдрома и усугублением вегетативных расстройств, регистрируемых спустя годы после травмы (Brodbelt, Stoodley, 2003).

Глиальный рубец

Центральным фактором, который останавливает аксональную регенерацию в хронической фазе, является формирование глиального рубца. В отличие от острой стадии, характеризующейся первичной пролиферацией астроцитов, хронический рубец приобретает достаточно плотную структуру, которая образуется переплетением отростков реактивных астроцитов с компонентами внеклеточного матрикса (Bradbury, Burnside, 2019).

Этот барьер функционирует не только как механическое, но и как биохимическое препятствие для роста аксонов, так как поддерживается непрерывной секрецией провоспалительных цитокинов, включая ИЛ-1β, TNF-α, ИЛ-6. Подобная воспалительная среда провоцирует пролонгированную гибель олигодендроцитов и прогрессирующую демиелинизацию аксонов, что ведет к вторичному повреждению спустя длительное время после получения травмы (Sterner, Sterner, 2023; Li, Luo, Li, 2024).

Валлеровская дегенерация и демиелинизация

Хронический период травматического повреждения СМ сопровождается пролонгированной валлеровской дегенерацией, инициируемой в первые часы после травмы. В восходящих и нисходящих проводящих трактах аксоны, утратившие связь с телом нейрона, подвергаются постепенному распаду. Это приводит к прогрессирующей атрофии белого вещества как краниальнее, так и каудальнее уровня повреждения (Tran, Warren, Silver, 2018). Ключевым сопутствующим процессом выступает хроническая демиелинизация. Олигодендроциты, ответственные за формирование миелиновой оболочки, обладают экстремальной чувствительностью к эксайтотоксичности, окислительному стрессу и провоспалительному микроокружению. Вследствие этого их гибель персистирует на протяжении длительного времени. Утрата миелина нарушает сальтаторное проведение нервного импульса и критически снижает эффективность передачи сигнала даже по морфологически интактным аксонам, что существенно лимитирует возможности функционального восстановления (Benarroch, 2009).

Сосудистая перестройка и ишемия

При переходе патологического процесса в хроническую стадию механизмы восстановления тканей меняются, и реваскуляризация (образование новых кровеносных сосудов) становится несовершенной. Несмотря на усиленный неоангиогенез в зоне травмы, новообразованные микрососуды часто структурно-функционально незрелые, что препятствует полноценному восстановлению гематоспинального барьера. Патологическая сосудистая перестройка приводит к развитию длительной гипоперфузии в тканях, которые находятся близко к области кистозных образований или глиального рубцевания. Долгая ишемия поддерживает окислительный стресс и митохондриальную дисфункцию в нейронах, что закономерно инициирует апоптоз (Yao, Cao, Yu, 2021). Данный процесс вызывает кистозную дегенерацию тканей, созревание глиального рубца, системное нейровоспаление, прогрессирующую демиелинизацию и эндотелиальную дисфункцию.

Совокупность указанных изменений формирует патологический замкнутый цикл, который блокирует механизмы спонтанной регенерации и существенно лимитирует эффективность терапии.

1.2.2 Метаболические перестройки в микроглии

Одним из наиболее ранних и наиболее метаболически затратных процессов, развивающихся после ТСМ, является фагоцитоз миелина, образующегося вследствие гибели олигодендроцитов и валлеровской дегенерации демиелинизированных аксонов. Поскольку миелин примерно на 70–80% состоит из липидов (холестерина, гликосфинголипидов и фосфолипидов), его интенсивный фагоцитоз создает для микроглии значительную метаболическую нагрузку на системы клеточного липидного обмена. Липиды, которые не могут быть своевременно метаболизированы или экспортированы, накапливаются в цитоплазме в виде липидных капель (lipid droplets) – динамичных органелл, окруженных фосфолипидным монослоем и содержащих ядро из нейтральных липидов (Marschallinger et al., 2020). Первоначально накопление липидных капель было детально описано для стареющего мозга. Было показано, что микроглия, нагруженная липидными каплями (lipid-droplet-accumulating microglia, LDAM), демонстрирует выраженный функциональный дефицит – сниженную способность к фагоцитозу, повышенную продукцию активных форм кислорода и усиленную секрецию провоспалительных цитокинов, то есть представляет собой не защитный, а дисфункциональный и провоспалительный клеточный фенотип

(Marschallinger et al., 2020). Принципиально, что этот фенотип формируется независимо от классической M1/M2 поляризации и, по-видимому, отражает более фундаментальное состояние клеточного дистресса, связанное с перегрузкой систем липидного обмена и аутофагии.

Аналогичный феномен впоследствии был подтвержден и на моделях ТСМ. С помощью электронной и конфокальной микроскопии показано, что фагоцитоз миелина микроглией в очаге ТСМ сопровождается прогрессирующим накоплением липидных капель, степень которого нарастает по мере увеличения срока после травмы (Ou et al., 2024). При этом транскриптомный анализ на уровне единичных клеток выявил в очаге повреждения отдельную субпопуляцию PLIN2-позитивной микроглии с накоплением липидных капель, (Luo et al., 2025). Таким образом, накопление липидных включений в микроглии после ТСМ представляет собой не побочное следствие фагоцитоза миелина, а самостоятельный патогенетический механизм, ассоциированный с нарушением аутофагии и лизосомальной деградации, развитием окислительного стресса и усилением провоспалительной секреции, что делает липидный статус микроглии потенциальным биомаркером и перспективной терапевтической мишенью при ТСМ.

Функциональные последствия накопления липидных капель в микроглии выходят далеко за рамки простого маркера клеточного стресса и напрямую способствуют прогрессированию вторичного повреждения при ТСМ. Во-первых, дисфункция липид-нагруженной микроглии, включающая сниженную фагоцитарную активность, формирует самоподдерживающийся патологический цикл. Перегруженная не выведенными липидами микроглия менее эффективно удаляет продолжающий поступать миелиновый детрит, что способствует его накоплению во внеклеточном пространстве, где он сам по себе выступает мощным провоспалительным стимулом и ингибитором дифференцировки предшественников олигодендроцитов, необходимых для последующей ремиелинизации сохранных аксонов. Во-вторых, повышенная продукция активных форм кислорода и провоспалительных цитокинов липид-нагруженной микроглией поддерживает локальный окислительный стресс и хроническое нейровоспаление в очаге повреждения, что дополнительно провоцирует гибель олигодендроцитов и также препятствует демиелинизации уже сохранных, функционально значимых для проведения импульса аксонов (Shao et al., 2026; Xing, McKenzie, Hu, 2025).

Роль нарушений липидного метаболизма микроглии в развитии посттравматических изменений подтверждается экспериментами, направленными на фармакологическую и

молекулярную коррекцию соответствующих метаболических путей. Было показано, что активация сигнального пути PPARG агонистом аторвастатином снижала накопление липидных капель в микроглии, ослабляла провоспалительную активацию клеток и достоверно улучшала функциональное восстановление после экспериментальной ТСМ (Luo et al., 2025). Аналогичные данные были получены для микроРНК-223 (miR-223). Усиление экспрессии белка ABCA1 (способствует выведению холестерина из клеток) и ускорение клиренса липидов за счет miR-223 сопровождалось сниженным количеством липидов в очаге травмы (Ou et al., 2024). В совокупности эти данные показывают, что липид-нагруженная микроглия не пассивный побочный продукт фагоцитоза миелина, а активный участник патогенеза вторичного повреждения. Такая микроглия способна вносить вклад в хронизацию последствий травмы через поддержание хронического нейровоспаления, торможение ремиелинизации и создание неблагоприятного микроокружения.

1.3 Серотонинергическая система как модулятор функций ЦНС

1.3.1 Биосинтез 5-НТ, роль фермента ТРН2

Серотонин выступает фундаментальным нейромедиатором ЦНС, который обеспечивает тонкую регуляцию обширного спектра физиологических и поведенческих реакций. В сферу его непосредственного влияния входят формирование эмоционального фона, уровень тревожности, агрессивные проявления, пищевое поведение, поддержание циркадных ритмов, терморегуляция, когнитивная деятельность и двигательный контроль. Нарушение баланса в функционировании серотонинергических структур рассматривается как ключевой патогенетический механизм при развитии целого ряда психических и неврологических заболеваний. К числу таких состояний традиционно относят депрессивные расстройства, тревожные синдромы, шизофрению, болезнь Паркинсона, а также комплекс осложнений, возникающих после травматического поражения структур центральной нервной системы (Zhang et al., 2025).

Биосинтез 5-НТ представляет собой двухэтапный ферментативный процесс. Незаменимая аминокислота триптофан поступает в организм с пищей и транспортируется через ГЭБ посредством системы транспорта крупных нейтральных аминокислот. Причем первая стадия этого процесса катализируется триптофан-гидроксилазой (ТГ), которая осуществляет гидроксилирование триптофана с образованием 5-гидрокситриптофана (5-НТР) с использованием молекулярного кислорода и тетрагидробиоптерина (BH4) в качестве кофактора, после чего 5-НТР подвергается декарбоксилированию под действием декарбоксилазы ароматических L-аминокислот (DDC) с образованием конечного продукта – 5-НТ (Kanova, Kohout, 2021). Критически важным для понимания регуляции серотонинергической системы является тот факт, что триптофан-гидроксилаза существует в двух изоформах, кодируемых разными генами и имеющих различную тканевую локализацию и функциональное значение: триптофан-гидроксилаза 1 (ТРН1, ген *Tph1*) экспрессируется преимущественно в периферических тканях, особенно в энтерохромаффинных клетках желудочно-кишечного тракта, а также в шишковидной железе и некоторых других периферических органах, тогда как триптофан-гидроксилаза 2 (ТРН2, ген *Tph2*) является только нейрональной изоформой, которая осуществляет биосинтез 5-НТ в нейронах ядер шва ствола мозга, которые представляют собой основной источник

серотонинергической иннервации ГМ и СМ.

Открытие TPH2 в 2003 году кардинально изменило представления о регуляции серотонинергической системы в ЦНС, поскольку позволило установить независимость центрального и периферического синтеза 5-НТ и определить TPH2 как одну из главных молекулярных мишеней для терапевтических вмешательств, направленных на модуляцию серотонинергической нейротрансмиссии в ГМ и СМ (Walther, Bader, 2003). Структурно TPH2 относится к семейству гидроксилаз ароматических аминокислот, включающему также тирозин-гидроксилазу и фенилаланин-гидроксилазу. Данный фермент состоит из N-концевого регуляторного домена, каталитического домена, содержащего сайты связывания железа и субстрата, а также С-концевого домена, участвующего в олигомеризации (Vedel et al., 2023). Транскрипционный контроль гена *Tph2* осуществляется рядом регуляторных факторов (CREB, глюкокортикоидные рецепторы). Такая многокомпонентная система регулирует точную модуляцию экспрессии фермента в ответ на различные эндогенные сигналы в различных популяциях серотонинергических нейронов (Clark et al., 2008; Nawa et al., 2025).

Нисходящие серотонинергические проекции, исходящие из ядер шва, играют ключевую роль в модуляции локомоторной активности. Эта функция реализуется посредством активации ЦГП, регуляции мышечного тонуса и контроля афферентной сенсорной информации. В посттравматическом периоде происходит обширная перестройка серотонинергической системы. Этот процесс охватывает дегенерацию нисходящих трактов, формирование гиперчувствительности спинальных рецепторов, а также существенные изменения ферментативной активности фермента TPH2 в сохранившихся популяциях нейронов (Flaive et al., 2020; Sysoev et al., 2025).

1.3.2 Серотониновые рецепторы

Серотонин осуществляет свои многообразные физиологические эффекты посредством активации обширного семейства мембранных рецепторов, которые по структурным, функциональным и фармакологическим характеристикам подразделяются на семь основных типов (5-HT1 – 5-HT7) и включают не менее 14 молекулярно различных подтипов, что делает серотониновую рецепторную систему одной из наиболее сложных и плейотропных среди всех нейромедиаторных систем (Wang et al., 2019). Рецептор 5-HT3 является единственным из семейства, относящимся к ионотропным рецепторам. Все

остальные относятся к суперсемейству рецепторов, сопряженных с G-белками (GPCR), и реализуют свои эффекты через активацию различных внутриклеточных сигнальных каскадов, что определяет их разнообразное влияние на нейрональную возбудимость, синаптическую пластичность, выживание нейронов и генную экспрессию (Marin et al., 2020; Ye et al., 2026).

Семейство 5-HT1-рецепторов включает подтипы 5-HT1A, 5-HT1B, 5-HT1D, 5-HT1E и 5-HT1F. Все они преимущественно сопряжены с Gi/o-белками и при активации ингибируют аденилатциклазу, снижая внутриклеточный уровень цАМФ, а также модулируют активность калиевых и кальциевых каналов, что в целом приводит к торможению нейрональной активности (Lin et al., 2002). Наибольшее внимание среди этого семейства приковано к 5-HT1A-рецепторам, которые экспрессируются как на телах и дендритах серотонинергических нейронов ядер шва (соматодендритные ауторецепторы), где они тормозят активность серотонинергических нейронов и снижают синтез и высвобождение 5-HT, так и в различных проекционных областях (постсинаптические гетерорецепторы), особенно в лимбических структурах, где они модулируют эмоциональные реакции и тревожность (Savitz, Lucki, Drevets, 2009). Рецепторы типа 5-HT1B располагаются в основном пресинаптически на терминалях аксонов, где функционируют как гетерорецепторы, ингибируя высвобождение различных нейромедиаторов, включая сам 5-HT, глутамат, ГАМК и дофамин, тем самым обеспечивая тонкую настройку синаптической передачи в различных нейрональных сетях (Tiger et al., 2018).

Семейство 5-HT2-рецепторов включает подтипы 5-HT2A, 5-HT2B и 5-HT2C, которые сопряжены с Gq/11-белками и активируют фосфолипазу C. Это приводит к гидролизу фосфатидилинозитолдифосфата с образованием инозитолтрифосфата (IP3) и диацилглицерола (DAG), мобилизации внутриклеточного кальция и активации протеинкиназы C, что в целом оказывает возбуждающее действие на постсинаптические нейроны (Wong et al., 2023). 5-HT2A-рецепторы широко экспрессируются в коре головного мозга, базальных ганглиях и многих других областях и играют ключевую роль в регуляции когнитивных функций, восприятии и модуляции дофаминовой нейротрансмиссии, а также являются основной мишенью для действия галлюциногенных препаратов и ряда атипичных антипсихотиков (Zhang, Stackman, 2015). 5-HT2C-рецепторы, экспрессирующиеся преимущественно в хориоидном сплетении, гиппокампе, коре и базальных ганглиях, участвуют в регуляции аппетита, тревожности и дофаминовой нейротрансмиссии в мезолимбическом пути, что делает их важной мишенью для терапии ожирения и

психических расстройств (Chagraoui et al., 2016; He et al., 2022; Pasqualetti et al., 1999). 5-HT3-рецепторы экспрессируются преимущественно в периферической нервной системе и в определенных областях ЦНС, включая ствол мозга, гиппокамп и кору, где они участвуют в регуляции рвотного рефлекса, ноцицепции, тревожности и когнитивных процессов, и являются мишенью для противорвотных препаратов (ондансетрон) и некоторых анксиолитиков (Ye et al., 2026).

Рецепторы 5-HT4, 5-HT6 и 5-HT7 сопряжены с Gs-белками и при активации стимулируют аденилатциклазу, повышают уровень цАМФ с активацией протеинкиназы А, что модулирует нейрональную возбудимость, синаптическую пластичность и нейропротекцию (Guseva, Wirth, Ponimaskin, 2014; King, Marsden, Fone, 2008; Mitroshina, Marasanova, Vedunova, 2025; Yaakob et al., 2015). 5-HT4 экспрессируются в ЖКТ, сердце и ЦНС (гиппокамп, стриатум), участвуя в регуляции когнитивных функций, памяти, тревожности и стимулируя высвобождение ацетилхолина и дофамина (King, Marsden, Fone, 2008; Yaakob et al., 2015). 5-HT6 экспрессируются преимущественно в ЦНС (стриатум, обонятельный бугорок, кора), регулируют когнитивные функции и поведение, модулируют холинергическую и дофаминергическую передачу, что перспективно для терапии когнитивных нарушений при шизофрении и болезни Альцгеймера (Khoury et al., 2018). 5-HT7 широко представлены в ЦНС (таламус, гиппокамп, кора) и на периферии (ЖКТ, сосуды) и участвуют в регуляции циркадных ритмов, терморегуляции, сна и памяти (Guseva, Wirth, Ponimaskin, 2014; Hedlund, 2009; Voronova, 2021).

В контексте ТСМ особое значение имеет распределение и функциональная роль серотониновых рецепторов в спинальных нейронных сетях. Нисходящие серотонинергические проекции из ядер шва модулируют активность мотонейронов, центральных генераторов паттернов (ЦГП) и сенсорных афферентов (Fauss, Hudson, Grau, 2022; Perrin, Noristani, 2019). В спинном мозге экспрессируются различные подтипы рецепторов (5-HT1A, 5-HT1B, 5-HT2A, 5-HT2C, 5-HT3 и 5-HT7), активация которых может оказывать разнонаправленные эффекты. В частности, рецепторы 5-HT2, которые находятся на мотонейронах, могут повышать их возбудимость и способствовать генерации локомоторной активности, тогда как рецепторы 5-HT1 часто опосредуют торможение сенсорного входа на пресинапсе (Henderson et al., 2024; Perrin, Noristani, 2019). В развитии спастичности после ТСМ особую роль играют рецепторы 5-HT2. При денервационной гиперчувствительности наблюдается существенное возрастание экспрессии и функциональной активности данных рецепторов на мембранах мотонейронов, которые

располагаются каудальнее уровня травмы, что приводит к формированию мышечного гипертонуса (D'Amico et al., 2013). Фармакологическая блокада данных рецепторов или модуляция их активности является перспективной терапией для купирования спастичности (Gong et al., 2025).

В противовес механизмам, инициирующим развитие спастичности, стимуляция 5-HT1A/7 и 5-HT2A/2C рецепторов способна индуцировать активацию спинальных ЦГП. Это способствует улучшению локомоторных функций, особенно при условии комбинированного применения с реабилитационными мероприятиями. Подобная двойственность эффектов обусловливает высокую терапевтическую ценность серотониновых рецепторов как мишеней для фармакологической модуляции процессов посттравматического восстановления (Sławińska, Miazga, Jordan, 2014b).

Резюмируя изложенное, рецепторы 5-HT формируют сложную и гетерогенную систему, опосредующую широкий спектр физиологических и патофизиологических эффектов данного нейромедиатора как в центральной нервной системе, так и на периферии. Глубокое понимание их молекулярных характеристик, топографии распределения и функциональной роли, в особенности в контексте функционирования спинальных нейронных сетей, выступает фундаментальным условием для разработки патогенетически обоснованных методов терапии последствий ТСМ.

1.3.3 5-HT иннервация СМ

После открытия анатомической локализации путей 5-HT в мозге крыс (Fuxe, 1965) было обнаружено, что серотонинергические нейроны в основном сконцентрированы в ядрах шва (*raphe nuclei*) продолговатого мозга (Рисунок 1.2). Ядра шва представляют собой скопления нейронов, не имеют четких цитоархитектонических границ и располагаются по бокам срединной линии вдоль ростракаудального продолжения ствола мозга (Hornung, 2003). Кластеры серотонинергических нейронов можно разделить, исходя из их распределения и основных проекций, на две группы: ростральную группу с основными проекциями в передний мозг, и каудальную группу с основными проекциями в ствол мозга и тремя параллельными проекциями на дорсальный, промежуточный и вентральный столбы СМ (Pollak Dorocic et al., 2014). Каудальная группа включает в себя три ядра (*nucleus raphe obscurus* – темное ядро шва, *nucleus raphes magnus* – большое ядро шва, *nucleus raphes pallidus* – бледное ядро шва), а также одну популяцию нейронов в латеральной ретикулярной

формации (Hornung, 2003). Серотонинергические отростки, иннервирующие задние рога, преимущественно исходят через дорсолатеральный канатик, который также имеет редкие отростки в вентральных рогах. Нейроны бледного и темного ядра шва проецируются в вентролатеральное белое вещество, а также оканчиваются на мотонейронах в вентральных рогах и в промежуточном сером веществе через вентральные и вентролатеральные канатики соответственно. Серотонинергические аксоны разветвляются на больших участках, при этом вентральные и промежуточные проекции образуют синапсы с мотонейронами, а дорсальные проекции опосредуют иннервацию путем паракринной или объемной передачи сигнала (Motor Neurobiology of the Spinal Cord, 2001). Серотонинергические аксоны проецируются во все области серого вещества СМ, но особенно плотно распределены в поверхностных дорсальных рогах, области спаек и вентральных рогах. Нейротрансмиссия 5-НТ в спинном мозге модулирует сенсорные, моторные и вегетативные функции, при этом коллатерали аксонов от одного нейрона способны иннервировать как сенсорные, так и моторные ядра вегетативной системы на разных уровнях СМ (Motor Neurobiology of the Spinal Cord, 2001).

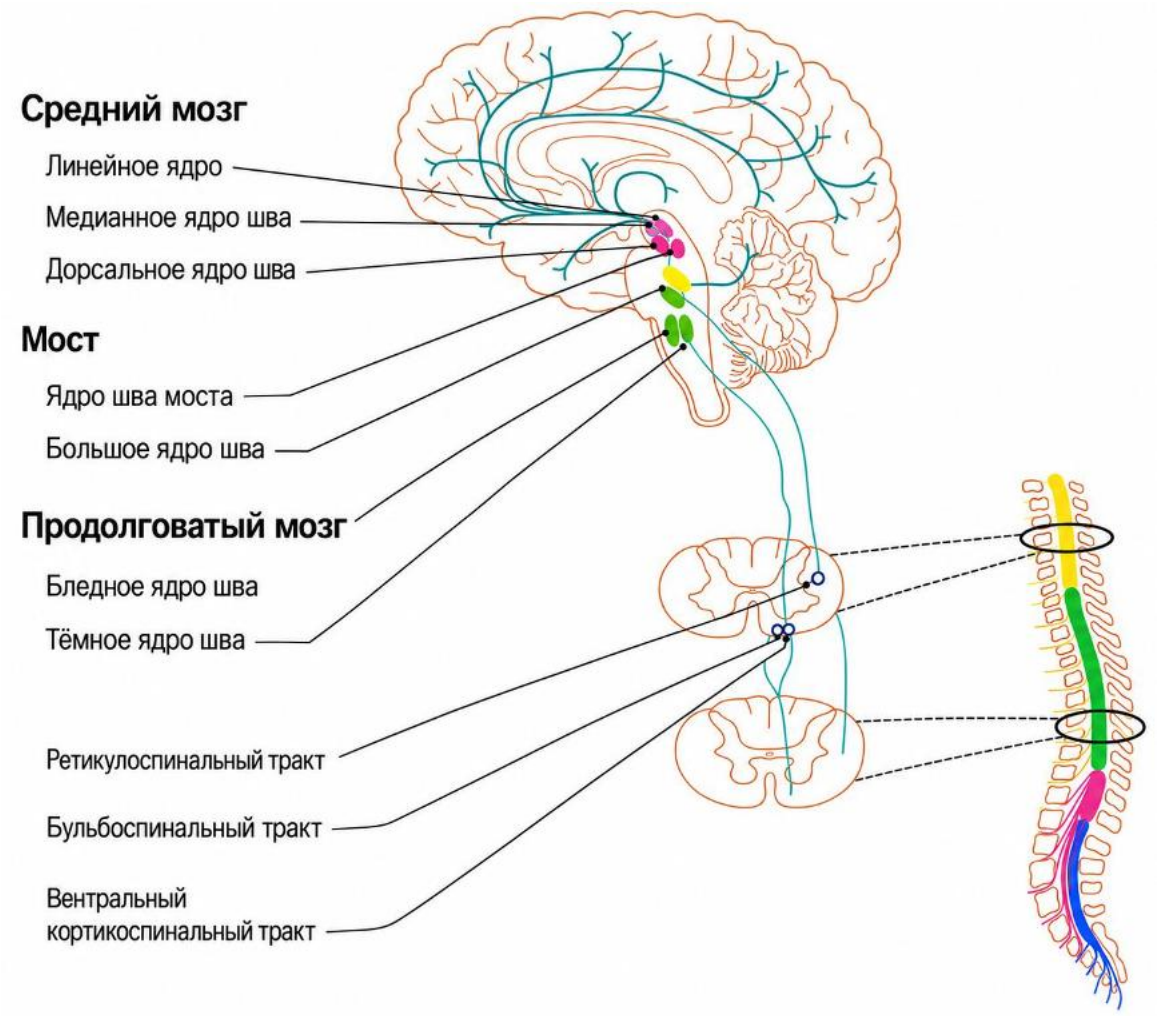


Рисунок 1.2 — Основные серотонинергические ядра ствола мозга
и их проекции в спинной мозг

1.4 Роль серотонинергической системы в патогенезе и восстановлении при ТСМ

1.4.1 Изменения серотонинергической системы после ТСМ

Известно, что серотонинергические нейроны обладают повышенной способностью к регенерации или прорастанию после повреждения ЦНС, в том числе и после ТСМ. Через три месяца после ТСМ наблюдается значительное снижение числа аксонов серотониновых нейронов каудально от тяжелой контузии и больше сохранных нейронов каудально от контузии средней тяжести. При этом иммуногистохимическое окрашивание на серотониновый транспортер (SERT) показало, что травма вызывала даже большую пропорциональную потерю SERT, чем самих серотонинергических аксонов (Hayashi et al., 2010). Эти данные могут свидетельствовать о функциональной перестройке сохранившихся

аксонов и снижении экспрессии транспортера в ответ на повреждение, а не только об их структурной утрате. На модели грудной гемисекции у крыс было показано, что плотность серотонинергических волокон как в промежуточной зоне, так и в области мотонейронов вентральных рогов была резко снижена на стороне повреждения спустя 60 суток после повреждения. После контузии и дорсальной гемисекции наиболее выраженной дегенерации подвергаются дорсальные серотонинергические проекции, в то время как вентральные проекции сохраняются (Hayashi et al., 2010; Holmes et al., 2005). Полученные данные указывают на пластические изменения, которые могут происходить в спинном мозге с частичным повреждением, что может иметь как благоприятное, так и негативное воздействие на двигательную функцию после ТСМ. Хотя пластические изменения могут привести к адаптивной компенсации утраченных трансмиттеров и, таким образом, способствовать восстановлению двигательных функций, они также могут привести к множеству неадаптивных последствий, таких как спастичность.

Важный вопрос касается внутриклеточных и молекулярных механизмов, которые позволяют серотонинергическим аксонам не только выживать в ингибирующей среде, но также активно прорастать и регенерировать после поражений ЦНС. Как уже было отмечено ранее, одними из самых повреждающих компонентов внеклеточного матрикса после травмы являются CSPG. Было показано, что аксоны 5-НТ демонстрируют сниженное ингибирование в присутствии CSPG. По литературным данным эта повышенная способность серотонинергических нейронов к росту в условиях высокого содержания CSPG может быть частично связана с более высокой экспрессией ассоциированного с ростом белка GAP-43 и β1-интегрина по сравнению с кортикальными нейронами (Hawthorne et al., 2011; Kisucká et al., 2026). В литературе также обсуждается возможность того, что серотонинергические аксоны экспрессируют высокие уровни протеаз, которые разрушают CSPG, что может способствовать их выживанию и прорастанию в условиях повреждения (Donovan et al., 2002; Tran et al., 2018). На способность серотонинергических аксонов к прорастанию после ТСМ влияние оказывают миелин-ассоциированные ингибиторы роста, прежде всего Nogo-A, олигодендроцитарный миелиновый гликопротеин (OMgp) и миелин-ассоциированный гликопротеин (MAG) (Geoffroy, Zheng, 2014; Li, Strittmatter, 2003; Mehta et al., 2010). Данные антирегенеративные белки связываются с рецептором Nogo-66, который экспрессируется в том числе 5-НТ-нейронами и может предотвращать их прорастание и возможную регенерацию после ТСМ (Li et al., 2005).

Другие исследовательские группы сосредоточили внимание на способности

ароматической L-аминокислотной декарбоксилазы (AADC) обеспечивать локальный синтез 5-HT в спинном мозге после ТСМ. Было показано, что после полного пересечения СМ AADC-позитивные клетки, расположенные каудальнее уровня повреждения, приобретают способность эффективно декарбоксилировать экзогенный 5-HTP с образованием 5-HT вследствие утраты нисходящего серотонинергического торможения (Li et al., 2014; Wienecke et al., 2014).

Кроме того, публикуются данные, свидетельствующие о том, что другая возможность, которая может лежать в основе прорастания и регенерации аксонов 5-HT после повреждения ЦНС, заключается в отсутствии у них классических синаптических контактов. Нейротрансмиссия 5-HT преимущественно происходит посредством объемной нейротрансмиссии, которая включает диффузию через внеклеточное пространство (Miner et al., 2000). Предполагается, что такая организация серотонинергической нейротрансмиссии снижает зависимость функциональной активности серотонинергических волокон от точного восстановления специализированных синаптических контактов после повреждения и тем самым может способствовать более эффективной структурной перестройке нисходящих серотонинергических проекций.

1.4.2 Влияние 5-HT на восстановление двигательных функций

Утрата нисходящего серотонинергического контроля после ТСМ приводит не только к первоначальному параличу, но и запускает длительный процесс адаптивной перестройки возбудимости спинальных мотонейронов, определяющий как степень последующего восстановления локомоции, так и развитие спастичности. В физиологических условиях серотонин, высвобождаемый терминалями нисходящих путей из ядер шва, поддерживает возбудимость мотонейронов за счет модуляции устойчивых входящих кальциевых токов, которые лежат в основе способности мотонейрона к длительной, самоподдерживающейся импульсной активности, необходимой для поддержания мышечного тонуса и генерации движения (Ghosh, Pearse, 2015; Fauss, Hudson, Grau, 2022).

После тяжелой ТСМ, сопровождающейся практически полной утратой серотонинергических терминалей ниже уровня повреждения, мотонейроны на протяжении нескольких месяцев претерпевают компенсаторную перестройку. За счет изменения посттранскрипционного редактирования мРНК рецептора 5-HT2C происходит накопление его конститутивно активных изоформ, способных сигнализировать в отсутствие лиганда.

Благодаря этому частично восстанавливаются устойчивые входящие токи и способность мотонейронов поддерживать продолжительную импульсную активность (Gong et al., 2025). Этот же механизм лежит в основе частичного спонтанного восстановления локомоторной функции после ТСМ. Было показано, что улучшение локомоции коррелирует не с остаточным содержанием 5-НТ в спинном мозге, а именно с уровнем конститутивной активности 5-НТ2-рецепторов, которая может быть заблокирована обратными агонистами независимо от наличия эндогенного лиганда (Sławińska, Miazga, Jordan, 2014a; Murray et al., 2010).

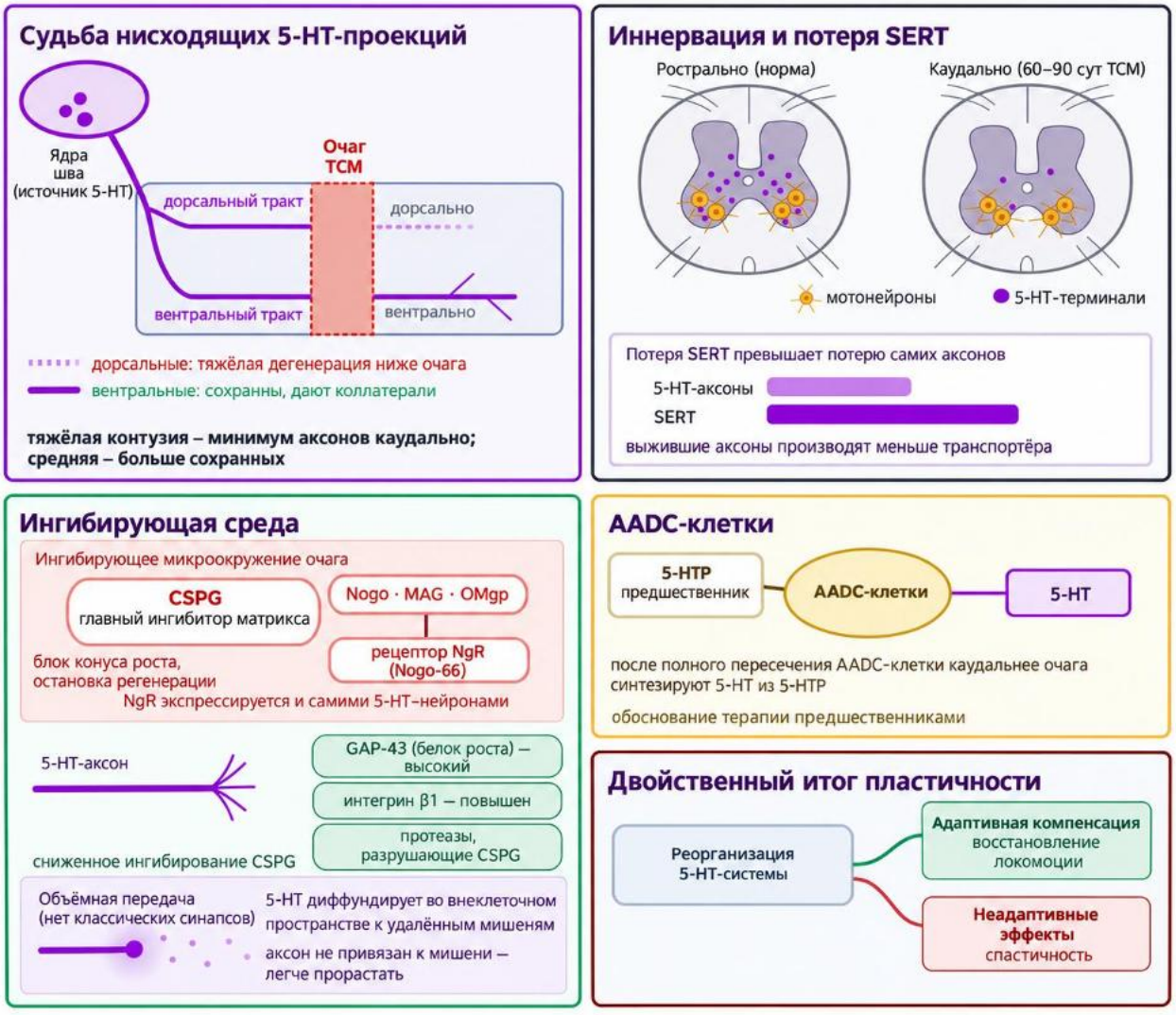


Рисунок 1.3 — Посттравматическая перестройка серотонинергической системы после ТСМ и ее значение для восстановления двигательных функций

Однако та же конститутивная рецепторная активность, которая способствует восстановлению возбудимости мотонейронов и двигательной функции, при отсутствии

супраспинального контроля становится источником патологической гипервозбудимости мотонейронов и клинически значимой спастичности. Показано, что после неполной ТСМ генерация мышечных спазмов опосредуется главным образом конститутивной активностью 5-НТ2С-рецепторов, а ее блокада обратными агонистами избирательно устраняет спазмы, не влияя на локомоцию как таковую (Tysseling et al., 2017). У людей с хронической ТСМ показано, что сходный механизм (конститутивная активность 5-НТ2/α1-рецепторов на мотонейронах) способствует развитию длительных рефлекторных ответов (спазмов). При этом обратный агонист ципрогептадин, блокирующий и лиганд-зависимую, и конститутивную активность рецепторов, уменьшал выраженность спазмов, тогда как нейтральный антагонист хлорпромазин, действующий только на лиганд-зависимую активность, эффекта не давал (D'Amico et al., 2013).

Таким образом, влияние 5-НТ на восстановление двигательных функций после ТСМ носит двойственный характер. С одной стороны, серотонинергическая (и норадренергическая) конститутивная рецепторная активность мотонейронов является необходимым условием восстановления способности к продолжительным мышечным сокращениям и локомоции, с другой – при отсутствии надсегментарного контроля этот же механизм способствует формированию спастичности и патологической реорганизации рефлекторных дуг, что необходимо учитывать при разработке серотонинергических терапевтических стратегий.

1.4.3 Роль 5-НТ в регуляции нейропластичности и нейрогенеза

5-НТ выступает не только как классический нейромедиатор, модулирующий нейрональную возбудимость и синаптическую передачу, но и как ключевой модулятор нейропластичности и нейрогенеза – процессов, лежащих в основе адаптационных и репаративных возможностей центральной нервной системы, что придает серотонинергической системе фундаментальное значение для поддержания структурной и функциональной целостности мозга на протяжении всей жизни (Kraus et al., 2017; Zhang et al., 2025). Нейропластичность, понимаемая как способность нейронных сетей изменять свою структурно-функциональную организацию в ответ на опыт, обучение или повреждение, реализуется на множестве уровней – от молекулярно-синаптических изменений до реорганизации целых нейрональных ансамблей, и серотонин участвует в регуляции практически всех этих процессов через активацию разнообразных подтипов рецепторов и

запуск внутриклеточных сигнальных каскадов, модулирующих экспрессию генов, синтез белков и морфологическую пластичность нейронов (Liu et al., 2017; Kraus et al., 2017). На синаптическом уровне серотонин модулирует долговременную потенциацию (LTP) и долговременную депрессию (LTD) – ключевые формы синаптической пластичности, лежащие в основе обучения и памяти, причем характер этого влияния зависит от активируемого рецепторного подтипа и регионарной специфичности. В гиппокампе активация рецепторов 5-HT4 способствует индукции LTP и улучшению когнитивных функций, тогда как активация 5-HT1A может оказывать противоположное действие, подавляя LTP и усиливая LTD (Chang et al., 2026; Wawra et al., 2014). Ключевое значение в модуляции синаптической пластичности играют рецепторы типа 5-HT2A и 5-HT2C. Посредством активации фосфолипазы С и протеинкиназы С данные рецепторы регулируют функциональную активность глутаматных рецепторов AMPA и NMDA, что определяет порог индукции пластических перестроек и общую эффективность синаптической трансмиссии (Higa et al., 2024). На структурном уровне 5-HT контролирует морфологическую пластичность нейронов через рост нейритов, формирование дендритных шипиков и синаптогенез. Данные процессы реализуются через инициацию сигнальных каскадов, которые отвечают за перестройку цитоскелета. Фундаментальную роль в данном процессе играет Rho-киназный путь и малые G-белки семейства Rho, которые регулируют полимеризацию актиновых филаментов и динамическую перестройку микротрубочек (Ghosh, Pearse, 2022). Эксперименты на нейрональных культурах подтверждают, что стимуляция рецепторов 5-HT1A инициирует рост нейритов и ветвление дендритов. В то же время рецепторы 5-HT2A модулируют плотность дендритных шипиков. Данные эффекты опосредуются активацией тропомиозин-рецепторных киназ (Trk) и транскрипционных факторов CREB, что критически необходимо для реализации нейропластичности (Rojas, Fiedler, 2016; Ilchibaeva et al., 2022). Также ключевое значение в регуляции пластичности играет взаимодействие 5-HT с нейротрофическими факторами (прежде всего с BDNF). BDNF является главным медиатором эффектов 5-HT на выживание нейронов и синаптическую пластичность. Активация серотониновых рецепторов (особенно 5-HT2A, 5-HT4) стимулирует экспрессию и высвобождение BDNF, а также активирует его рецептор TrkB, который далее запускает каскады, ведущие к усилению синаптической передачи и приводят к нейропротекции. С другой стороны, BDNF регулирует экспрессию фермента TPH2 и опосредует перестройки между фенотипами серотонинергических нейронов (Homberg et al., 2014; Martinowich, Lu, 2008).

Помимо модуляции пластичности зрелых нейронов, серотонин играет критическую роль в регуляции нейрогенеза – процесса образования новых нейронов из нейрональных стволовых клеток и клеток-предшественников, который во взрослом мозге млекопитающих сохраняется преимущественно в двух нишах: субгранулярной зоне (SGZ) зубчатой извилины гиппокампа и субвентрикулярной зоне (SVZ) боковых желудочков (Alenina, Klempin, 2015; Berg et al., 2013). Серотонинергическая иннервация этих нейрогенных ниш исходит из ядер шва, и серотонин выступает как мощный позитивный регулятор всех этапов взрослого нейрогенеза, включая пролиферацию нейрональных стволовых клеток и предшественников, их выживание, миграцию, дифференцировку в зрелые нейроны и интеграцию в существующие нейронные сети (Alenina, Klempin, 2015). Экспериментальная деплеция 5-НТ с помощью нейротоксинов или фармакологических агентов приводит к значительному снижению пролиферации клеток в гиппокампе и уменьшению числа новообразованных нейронов, тогда как повышение серотонинергической передачи, например, с помощью антидепрессантов группы селективных ингибиторов обратного захвата серотонина (СИОЗС), стимулирует нейрогенез и улучшает когнитивные и эмоциональные функции (Dale et al., 2016). Молекулярные механизмы серотонин-индуцированного нейрогенеза включают активацию различных рецепторных подтипов, экспрессирующихся на нейральных стволовых клетках и клетках-предшественниках, причем наибольшее значение имеют 5-HT1A, 5-HT2A, 5-HT2C и 5-HT4-рецепторы, которые через активацию соответствующих G-белков запускают сигнальные каскады, регулирующие клеточный цикл и дифференцировку (Higuchi, Arakawa, 2023). Существенное значение имеет также стимулируемое серотонином высвобождение нейротрофических факторов, в частности мозгового нейротрофического фактора (BDNF) и инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1). Указанные молекулы формируют трофическое микроокружение, обеспечивающее выживаемость и последующую дифференцировку новообразованных нейронов (Mattson, Maudsley, Martin, 2004).

В контексте ТСМ оценка вклада 5-НТ в регуляцию нейропластичности и нейрогенеза приобретает критическую актуальность. После нанесения травмы происходит массивная дегенерация нисходящих серотонинергических трактов, что лишает спинальные нейронные сети ключевого модулятора пластичности и формирует микроокружение, неблагоприятное для репаративных процессов (Perrin, Noristani, 2019). Утрата серотонинергической иннервации каудальнее уровня повреждения провоцирует развитие вторичных дегенеративных изменений и нарушает синаптическую пластичность в спинальных цепях. Более того, это приводит к подавлению эндогенных восстановительных механизмов. К их

числу относится потенциальный нейрогенез в СМ, существование и значение которого у взрослых млекопитающих остается научно не доказанным. Тем не менее, существуют данные, которые указывают на наличие нейрогенных ниш в СМ и возможность их активации в посттравматическом периоде (Rodríguez-Barrera et al., 2021).

Таким образом, серотонин функционирует как фундаментальный интегративный регулятор нейропластичности и нейрогенеза, который обеспечивает связь между синаптической активностью и долговременными структурно-функциональными перестройками в ЦНС.

1.4.4 Модуляция нейровоспаления серотонином

Серотонин, традиционно рассматриваемый как ключевой нейромедиатор, регулирующий настроение, поведение и когнитивные функции, в последние десятилетия все более признается как важный модулятор иммунных процессов и нейровоспаления, причем его влияние на воспалительные реакции в центральной нервной системе реализуется через сложную сеть механизмов, включающих как прямые эффекты на иммунные клетки, экспрессирующие серотониновые рецепторы, так и опосредованную регуляцию через нейрональные и глиальные взаимодействия (Zheng, Xu, 2025). Нейровоспаление представляет собой комплексный ответ ЦНС на повреждение, инфекцию или нейродегенеративные процессы, в котором ключевую роль играют резидентные иммунные клетки – микроглия и астроциты, а также инфильтрирующие периферические иммунные клетки, и серотонин способен модулировать активность всех этих клеточных популяций, влияя на продукцию провоспалительных и противовоспалительных медиаторов, фагоцитоз, пролиферацию и миграцию (Sălcudean et al., 2025).

Многочисленные исследования убедительно доказали экспрессию разнообразных подтипов серотониновых рецепторов на иммунокомпетентных клетках. Микроглия преимущественно экспрессирует 5-HT2A, 5-HT2C, 5-HT5A и 5-HT7-рецепторы, в то время как астроциты характеризуются наличием 5-HT1A, 5-HT2A, 5-HT2B, 5-HT4 и 5-HT7. Инфильтрирующие макрофаги и лимфоциты также несут различные подтипы данных рецепторов, что формирует молекулярный базис для прямого модулирующего воздействия 5-HT на иммунные реакции в центральной нервной системе. Функциональные последствия влияния 5-HT на микроглию, выступающую ключевым эффектором нейровоспалительного ответа, носят контекст-зависимый характер. Они могут варьировать от провоспалительных

до противовоспалительных, что детерминируется спецификой активируемого подтипа рецепторов, свойствами локального микроокружения и фазой развития воспалительного процесса (Zheng, Xu, 2025). Стимуляция 5-HT2A-рецепторов на поверхности микроглии, сопряженных с Gq/11-белками и инициирующих мобилизацию внутриклеточного кальция, традиционно коррелирует с усилением провоспалительного фенотипа. Активация данных рецепторов потенцирует синтез провоспалительных цитокинов, включая ИЛ-1β, ИЛ-6 и TNF-α, а также повышает экспрессию маркеров M1-поляризации (CD86, iNOS). Подобные сдвиги способны провоцировать хронизацию воспаления и усугублять вторичное повреждение нейрональных структур (Li et al., 2025; Liu, Hong, 2003). Напротив, активация 5-HT7-рецепторов, сопряженных с Gs-белками и стимулирующих аденилатциклазу, реализует преимущественно противовоспалительный эффект. Она подавляет продукцию провоспалительных цитокинов и способствует поляризации микроглии в сторону нейропротективного M2-фенотипа, который характеризуется повышенной экспрессией аргиназы-1, ИЛ-10 и трансформирующего фактора роста-бета (TGF-β) (Zheng, Xu, 2025; Quintero-Villegas, Valdés-Ferrer, 2020). Эксперименты на культурах микроглии свидетельствуют о том, что предварительная инкубация с серотонином модифицирует клеточный ответ на классические провоспалительные стимулы, в частности липополисахарид (LPS). В зависимости от дозировки и продолжительности экспозиции серотонин способен как потенцировать, так и ингибировать LPS-индуцированный синтез провоспалительных медиаторов. Данный факт отражает высокую сложность рецептор-опосредованной регуляции и критическую важность баланса между альтернативными сигнальными каскадами (Turkin, Tuchina, Klempin, 2021; Zheng, Xu, 2025).

В астроцитах, выступающих значимым компонентом нейровоспалительного каскада, серотонин также осуществляет модуляцию функционального фенотипа. Стимуляция 5-HT2B-рецепторов на астроцитах индуцирует пролиферацию и синтез провоспалительных медиаторов. В то же время активация рецепторов 5-HT1A может реализовывать противоположный эффект, при котором происходит лимитирующее развитие астроглиоза и снижение продукции воспалительных цитокинов (Hertz et al., 2015; Wan et al., 2020; Miyazaki, Asanuma, 2016).

Особый научный интерес вызывает взаимодействие 5-HT с сигнальным путем NF-κB, контролирующим экспрессию главных генов воспаления. Серотонин модулирует активность NF-κB посредством различных механизмов, включая активацию протеинкиназ, фосфорилирование ингибиторной субъединицы IκB и прямое взаимодействие с

компонентами сигнального каскада. При этом степень выраженности эффекта зависит от подтипа активируемого серотонинового рецептора (Sobocki et al., 2007; Yu et al., 2008). Серотонинергическая сигнализация способна регулировать функциональные характеристики церебрального эндотелия и проницаемость ГЭБ. В экспериментальных моделях продемонстрирована экспрессия рецепторов 5-HT4 в эндотелиальных клетках микрососудов мозга. Фармакологическая активация сопровождается повышением проницаемости ГЭБ и снижением экспрессии белков плотных контактов посредством сигналинга Src/ERK1/2 (Becker et al., 2021).

При ТСМ модуляция нейровоспаления с помощью серотонина приобретает важное значение. После травмы происходит массивная дегенерация нисходящих серотонинергических трактов, что ведет к резкому падению концентрации 5-HT в эпицентре травмы и каудальнее (Perrin, Noristani, 2019). Подобное снижение серотонинергической иннервации способно провоцировать хронизацию нейровоспаления и доминирование провоспалительных фенотипов микроглии/макрофагов, что блокирует репаративные процессы и усугубляет вторичное повреждение. Экспериментальные исследования на животных моделях ТСМ свидетельствуют о том, что фармакологическое повышение уровня 5-HT или целенаправленная стимуляция специфических серотониновых рецепторов, например 5-HT7 и 5-HT1A, способна модулировать нейровоспалительный ответ. Это выражается в снижении продукции провоспалительных цитокинов, уменьшении инфильтрации нейтрофилов и поляризации микроглии в сторону регенеративного фенотипа, что коррелирует с улучшением функционального восстановления (Konovalova et al., 2024; Lin et al., 2024). Но с другой стороны, избыточная или неадекватная стимуляция отдельных рецепторов, таких как 5-HT2A, может приводить к воспалению. Данный факт подчеркивает критическую важность рецептор-специфичного подхода при разработке терапии после ТСМ (Nichols, 2009; Parga et al., 2007).

Существенное значение имеет также взаимодействие 5-HT с кинурениновым путем метаболизма триптофана. Данный путь активируется при нейровоспалении и приводит к образованию нейроактивных метаболитов, включая нейротоксичную хинолиновую кислоту и нейропротективную кинуреновую кислоту. Серотонин и его производные способны влиять на активность ключевых ферментов этого каскада (Holeček, 2026; Mithaiwala et al., 2021).

Дополнительно серотонин принимает участие в регуляции функций регуляторных Т-клеток (Treg), которые играют ключевую роль в формировании адаптивного иммунного ответа. Установлено, что на Т-лимфоцитах преимущественно экспрессируются 5-HT7

рецепторы, плотность которых возрастает после активации клеток. После активации 5-HT7 рецепторов серотонин индуцирует фосфорилирование ERK1/2 и IκB, активацию NF-κB, представляющих собой сигнальные пути, вовлеченные в ранние этапы активации Т-клеток. Также ингибирование эндогенного синтеза 5-HT приводит к снижению экспрессии CD25 и пролиферации Т-лимфоцитов, тогда как экзогенное введение 5-HT или агониста рецепторов 5-HT7 приводило к восстановлению нормального уровня их пролиферативной активности. Указанные данные свидетельствуют о роли 5-HT как аутокринного сигнала, который может активировать и увеличивать пролиферацию Т-лимфоцитов (León-Ponte, Ahern, O'Connell, 2007).

Серотонин выступает как плейотропный иммуномодулятор нейровоспаления, который может влиять практически на все ключевые клеточные и молекулярные компоненты воспалительного ответа в ЦНС: от поляризации микроглии и астроцитов до регуляции проницаемости ГЭБ и влияния на функциональную активность регуляторных иммунных клеток. При изучении патогенеза ТСМ понимание этих механизмов открывает новые перспективы для терапии нейровоспалительного ответа путем фармакологической модуляции определенных подтипов серотониновых рецепторов (особенно 5-HT7 и 5-HT1A) или нормализации серотонинергической иннервации, что может способствовать созданию микроокружения, которое будет более благоприятным для нейропротекции, нейропластичности и регенерации.

1.5 Экспериментальные модели для изучения роли 5-HT в восстановлении после ТСМ

1.5.1 Фармакологические подходы

Изучение роли серотонинергической системы в патогенезе и восстановлении после ТСМ требует использования адекватных экспериментальных моделей, позволяющих манипулировать различными компонентами этой системы и оценивать функциональные исходы. Современные подходы включают фармакологические методы, генетические модели и парабиотические/трансплантационные техники, каждая из которых имеет свои преимущества и ограничения в изучении серотонин-опосредованных механизмов нейропластичности и нейровоспаления (Murray et al., 2010; Papastefanaki et al., 2007; Sahly et al., 2007; Sysoev et al., 2025). Выбор конкретной модели определяется исследовательскими

задачами: изучение роли отдельных рецепторных подтипов требует применения селективных агонистов и антагонистов, исследование долгосрочных эффектов серотонинергической денервации возможно с использованием нейротоксинов, а понимание молекулярных механизмов достигается с помощью генетически модифицированных животных с нокаутом или нокдауном ключевых генов серотониновой системы. Комбинирование этих подходов позволяет создать целостную картину участия 5-НТ в регуляции посттравматических процессов в спинном мозге и разработать патогенетически обоснованные стратегии терапии.

Фармакологические подходы представляют собой наиболее доступный и широко используемый метод изучения роли 5-НТ в восстановлении после ТСМ, основанный на применении различных классов соединений, модулирующих серотонинергическую передачу: предшественников 5-НТ, ингибиторов обратного захвата, агонистов и антагонистов отдельных рецепторных подтипов, а также нейротоксинов для избирательной деплеции серотонинергических нейронов. Использование предшественников синтеза 5-НТ, таких как 5-НТР, который является непосредственным метаболическим предшественником 5-НТ, образующимся под действием триптофан-гидроксилазы и превращающимся в серотонин под действием декарбоксилазы ароматических L-аминокислот, позволяет повышать содержание 5-НТ в ЦНС и изучать влияние усиления серотонинергической передачи на функциональное восстановление после ТСМ (Wienecke et al., 2014). Эксперименты на грызунах с контузионной ТСМ демонстрируют, что хроническое введение 5-НТР улучшает локомоторные функции по шкале BBB и усиливает активность спинальных центральных генераторов паттернов, однако эффекты могут быть ограничены развитием толерантности и неселективностью воздействия на все рецепторные подтипы (Hayashi et al., 2010).

Более клинически релевантным подходом является применение СИОЗС, таких как флуоксетин, циталопрам, сертралин и пароксетин, которые блокируют SERT и повышают внеклеточную концентрацию 5-НТ за счет ингибирования его обратного захвата в пресинаптических окончаниях (Fassler et al., 2022; Nemeroff, Owens, 2004; Scali et al., 2013). В экспериментальных моделях ТСМ показано, что хроническое введение СИОЗС улучшает функциональное восстановление, усиливает нейропластичность, снижает нейровоспаление и оказывает нейропротективное действие, причем эти эффекты опосредуются через активацию различных постсинаптических рецепторов в спинном мозге. Например, флуоксетин способствует функциональному восстановлению у крыс с моделью повреждения шейного

отдела СМ. В частности, было выявлено, что длительное введение флуоксетина в питьевую воду улучшает моторные функции по сравнению с контрольными группами, стимулирует прорастание неповрежденных кортикоспинальных волокон и изменяет баланс возбуждения и торможения в моторной коре и спинном мозге, что указывает на потенциал применения флуоксетина как неинвазивной терапевтической стратегии при патологиях, связанных с ТСМ (Scali et al., 2013). Однако интерпретация результатов с СИОЗС осложняется тем, что повышение внеклеточной концентрации 5-НТ не является рецептор-специфическим и может изменять сигнализацию через несколько подтипов 5-НТ-рецепторов одновременно. Для преодоления этого ограничения используются селективные агонисты и антагонисты отдельных подтипов серотониновых рецепторов, позволяющие разграничить вклад отдельных рецепторных подтипов в наблюдаемые эффекты.

Наибольшее внимание в контексте ТСМ уделяется 5-НТ2-рецепторам, играющим ключевую роль в регуляции мотонейрональной возбудимости и развитии спастичности. Показано, что длительная фармакологическая стимуляция 5-НТ2-рецепторов агонистом квипазином способствует улучшению локомоторной функции у крыс после полной перерезки СМ (Antri, Orsal, Barthe, 2002). В то же время после ТСМ повышение конститутивной активности 5-НТ2С-рецепторов способствует восстановлению возбудимости мотонейронов и локомоторной функции, но одновременно участвует в формировании мышечных спазмов, тогда как ее фармакологическое подавление обратным агонистом SB206553 снижает соответствующие эффекты (Fouad et al., 2010; Murray et al., 2010). Роль этого механизма в развитии спастичности подтверждена и у пациентов с хронической ТСМ, у которых конститутивная активность 5-НТ2/α1-рецепторов способствует поддержанию длительных рефлекторных ответов и мышечных спазмов, тогда как применение обратного агониста ципрогептадина снижает их выраженность (D’Amico et al., 2013).

Агонисты 5-НТ1А рецепторов, такие как 8-ОН-DPAT и буспирон, также используются для фармакологической модуляции. Показано, что введение 8-ОН-DPAT после полной перерезки СМ у мышей индуцирует локомотороподобные движения задних конечностей, причем данный эффект опосредуется совместным участием рецепторов 5-НТ1А и 5-НТ7 (Landry et al., 2006). Буспирон также способствует активации локомоторных спинальных сетей после ТСМ, увеличивая число шагов, улучшая межконечностную координацию и постановку лапы (Jeffrey-Gauthier et al., 2018). Активация рецепторов 5-НТ1А также участвует в модуляции спинальной рефлекторной возбудимости, что подтверждается

изменениями Н-рефлекса после введения буспирона животным с перерезкой СМ (Develle, Leblond, 2020). Вместе с влиянием на нейрональную возбудимость, для активации рецепторов 5-НТ1А описаны нейропротективные эффекты в других экспериментальных моделях повреждения ЦНС. Было показано, что добавление 8-ОН-DPAT приводило к снижению окислительного стресса и каспаза-3-зависимую гибель нейронов коры в культуре (Lee et al., 2005). Также введение 8-ОН-DPAT приводило к уменьшению апоптоза после диффузного аксонального повреждения ГМ у крыс (Zhenli et al., 2013).

Особый интерес представляют агонисты 5-НТ7-рецепторов, для которых показано влияние на процессы нейропластичности и нейропротекции. В частности, активация 5-НТ7-рецепторов агонистами AS-19 и LP-211 стимулирует рост нейритов и ремоделирование дендритной морфологии, причем эффекты LP-211 связаны с активацией ERK- и Cdk5-зависимых сигнальных путей. Для других агонистов 5-НТ7-рецепторов также описано нейропротективное действие, в том числе при NMDA-индуцированной нейротоксичности (Di Pilato et al., 2014). Однако данные о влиянии активации 5-НТ7-рецепторов непосредственно на восстановление после ТСМ остаются ограниченными.

Другим важным классом фармакологических агентов являются нейротоксины для избирательной деплеции серотонинергических нейронов, прежде всего 5,7-дигидрокситриптамин (5,7-ДГТ), который вводится интратекально или интрацеребрально и захватывается серотонинергическими терминалями через серотониновый транспортер, вызывая их дегенерацию за счет образования свободных радикалов и окислительного стресса (Capela et al., 2008). Интратекальное введение 5,7-ДГТ позволяет значительно снижать серотонинергическую иннервацию СМ и используется для исследования роли нисходящей 5-НТ-системы в регуляции сенсорных и моторных функций. После нейротоксической денервации СМ также развиваются компенсаторные изменения серотонинергической системы, включая повышение чувствительности к 5-НТ и увеличение связывания 5-НТ1А- и 5-НТ1В-рецепторов (Brown et al., 1989; Tremblay et al., 1985).

Интеграция фармакологических интервенций с методами электрофизиологической регистрации, иммуногистохимического анализа и поведенческого тестирования обеспечивает комплексное изучение механизмов модуляции 5-НТ на различных этапах посттравматического периода. Клиническая трансляция серотонинергических препаратов для стимуляции репаративных процессов после ТСМ очень ограничена. Необходимы разработки протоколов комбинированного применения подобной фармакотерапии с реабилитационными мероприятиями с учетом генетических полиморфизмов, которые

объясняли бы индивидуальный терапевтический ответ (Ghosh, Pearse, 2015).

Таким образом, фармакологические подходы выступают фундаментальным инструментом верификации роли серотонинергической системы в посттравматическом периоде. Данные методики обеспечивают возможность целенаправленной модуляции отдельных звеньев серотониновой передачи с последующей оценкой их вклада в процессы нейропластичности и функциональной реабилитации.

1.5.2 Генетические модели

Фармакологические подходы к изучению серотонинергической системы при ТСМ ограничены селективностью используемых лигандов и сложностью однозначного отнесения наблюдаемого эффекта к определенному рецепторному подтипу или клеточной популяции. Генетические модели позволяют частично преодолеть эти ограничения за счет направленной инактивации отдельных компонентов серотонинергической системы (рецепторов, транспортера или ферментов биосинтеза) и оценки вклада каждого из них в физиологические и посттравматические процессы. Рассматривать такие модели целесообразно в направлении от рецепторного звена серотонинергической сигнализации к источнику 5-НТ.

Нокаут отдельных подтипов 5-НТ-рецепторов позволяет исследовать их функциональную роль и разграничивать эффекты, которые трудно однозначно интерпретировать при использовании фармакологических лигандов с перекрывающимся рецепторным профилем.

Одной из генетических моделей серотонинергической системы выступают мыши с делецией гена рецептора 5-НТ1А. Для данных особей характерны выраженные поведенческие девиации, в частности повышенная тревожность (Ramboz et al., 1998; Toth, 2003). В исследованиях травматического повреждения СМ научная ценность рецепторспецифичных генетических моделей определяется возможностью дифференцировать вклад отдельных подтипов рецепторов 5-НТ в функционирование спинальных нейронных сетей. Например, агонист 8-OH-DPAT, который как было показано способствует улучшению локомоции хронически спинализированных животных, проявляет агонистическую активность в отношении рецепторов 5-НТ1А и 5-НТ7, что затрудняет однозначную идентификацию вклада каждого подтипа исключительно посредством фармакологического подхода (Sławińska, Miazga, Jordan, 2014b). Необходимо анализировать специфическую функциональность каждого типа рецептора, так как они могут опосредовать

как адаптивные, так и патологические перестройки нейронных сетей после травмы. Например изменение профиля редактирования матричной РНК рецептора 5-HT2C в хроническом периоде после травмы приводит как к сохранению способности к функционированию в условиях дефицита 5-НТ, так и вызывает спастичность (Murray et al., 2010).

Таким образом, генетическая инактивация отдельных рецепторных подтипов представляет собой потенциально ценный инструмент для установления их специфического вклада в функциональную перестройку спинальных сетей после ТСМ. Вместе с тем интерпретация результатов нокаутных моделей требует осторожности, поскольку отсутствие рецептора на протяжении развития организма может сопровождаться компенсаторными изменениями других компонентов серотонинергической и смежных нейромедиаторных систем.

Особи с делецией гена переносчика 5-НТ (SERT−/−) служат моделью хронической гиперконцентрации внеклеточного 5-НТ. Однако их фенотип не полностью воспроизводит эффекты фармакологической блокады данного транспортера ввиду формирования компенсаторных перестроек рецепторного аппарата (Murphy, Lesch, 2008). Поскольку конститутивные нокауты не позволяют дифференцировать дефицит нейромедиатора у взрослой особи от последствий нарушений онтогенеза, в рамках которых серотонин выполняет функцию трофического фактора (Gaspar, Cases, Maroteaux, 2003), были созданы условные и индуцибельные модели на базе системы Cre/loxP. Указанные подходы обеспечивают возможность инициировать делецию гена исключительно у половозрелых животных. В частности, трансгенная линия TPH2-CreERT2 гарантирует индуцибельную рекомбинацию преимущественно в серотонинергических нейронах, что позволяет исследовать функции конкретных генов независимо от их влияния на ранних стадиях эмбриогенеза (Weber, 2009). Тем не менее все перечисленные стратегии предполагают априорное понимание того, какой именно компонент серотонинергической системы является критическим, и в этом смысле носят производный характер по отношению к моделям тотального дефицита нейромедиатора.

Особую научную ценность представляют модели, направленные на нарушение биосинтеза 5-НТ. Периферическая изоформа триптофангидроксилазы TPH1 обеспечивает синтез медиатора в энтерохромаффинных клетках и пинеальной железе. В то же время изоформа TPH2 экспрессируется преимущественно в нейронах ядер шва (Walther et al., 2003). Вследствие этого инактивация гена *Tph2* приводит к элиминации подавляющей части

центрального пула 5-НТ при полном сохранении его периферического синтеза. Подобная специфичность позволяет создать наиболее валидную модель изолированного центрального дефицита, лишенную системных артефактов, характерных для фармакологического истощения запасов медиатора или методов нейротоксической деструкции.

1.5.3 TPH2-KO

Животные с нокаутом гена *Tph2* является точной моделью для изучения роли 5-НТ в регуляции широкого спектра физиологических и поведенческих особенностей, в том числе для анализа влияния серотонинового дефицита на сенсомоторные функции. Полный нокаут *Tph2* (*Tph2–/–)* приводит к системному и пожизненному дефициту центрального 5-НТ и вызывает компенсаторные изменения, что принципиально отличает данную модель от моделей острого фармакологического вмешательства. Особую ценность эта модель представляет при исследований восстановления после ТСМ. Серотонинергические проекции из ствола мозга играют важную роль в восстановлении локомоции после повреждения СМ, через воздействия на возбудимость спинальных нейронных сетей и работу ЦГП (Gackière, Vinay, 2014). С помощью крыс линии TPH2-KO можно оценить вклад серотонинергической системы на процессы спонтанного восстановления сенсомоторных функций после ТСМ, так как сохранность базовых сенсомоторных функций у крыс линии TPH2-KO позволяет провести анализ посттравматических изменений без выраженного фонового моторного дефицита.

У крыс линии Dark Agouti с нокаутом гена *Tph2* таргетированная делеция экзона 7 полностью устраняет работу фермента триптофангидроксилазы 2 типа (TPH) при сохранении работы фермента декарбоксилазы ароматических аминокислот (DDC). У этих животных присутствуют сами серотонинергические нейроны, но они полностью не способны синтезировать серотонин (Kaplan et al., 2016). Периферический серотонин, синтезируемый ферментом TPH1 на периферии, не зависит от TPH2 и остается на нормальном уровне, что подтверждает функциональную независимость двух ферментативных систем и невозможность проникновения периферического 5-НТ через ГЭБ (Kaplan et al., 2016).

Одним из наиболее выраженных фенотипических проявлений полного нокаута по гену *Tph2* является высокая постнатальная смертность. У мышей TPH2-KO в первые 4 недели жизни смертность достигает 50 %. После возвратного скрещивания с чистой линией мышей выживаемость составляет 88,6 % (Alenina et al., 2009). У крыс TPH2-KO также наблюдается

около 50 % смертности, при этом выявляются две критические фазы смертности: сразу после рождения (P1–P3) и в преотлучительный период (P10–P17) (Kaplan et al., 2016). Также у этих животных наблюдается задержка роста. Мыши TPH2-KO визуально мельче и слабее уже через 3 дня после рождения, что не позволяет отлучать их от матери в обычные сроки (Alenina et al., 2009).

Дефицит мозгового 5-HT также оказывает выраженное влияние на дыхательный контроль, особенно в критический период развития. У крыс TPH2-KO на P1–P2 наблюдается нерегулярное дыхание с апноэ, а на P10–P17 регистрируется значительное снижение минутной вентиляции, частоты дыхания и дыхательного объема; к 21-му дню дыхательные параметры нормализуются, а у взрослых животных базальное дыхание и хеморефлексы не отличаются от контроля, что указывает на возраст-зависимую компенсацию (Kaplan et al., 2016). Введение 5-HTP, способного проходить через ГЭБ, крысятам P12–P16 частично восстанавливает уровень 5-HT в мозге через сохранные DDC+ нейроны и увеличивает минутную вентиляцию. Сходным образом у крыс TPH2-KO выявлены нарушения терморегуляции в возрасте P13–P22, тогда как у взрослых животных способность поддерживать температуру тела при пониженной окружающей температуре сохранена (Kaplan et al., 2016). Телеметрический мониторинг мышей TPH2-KO дополнительно выявил увеличение продолжительности дневного сна, угнетение дыхания и снижение артериального давления и частоты сердечных сокращений в ночное время (Alenina et al., 2009).

У крыс линии TPH2-KO в тесте ПКЛ было показано снижение тревожности, а также резкое увеличение агрессивного и копулятивно-подобного поведения у самцов в социальных тестах. Данные изменения сопровождаются усилением экспрессии рецепторов окситоцина в инфралимбической и прелимбической коре, паравентрикулярном ядре, дорсальном ядре нейронов шва и ряде субрегионов гиппокампа (Peeters et al., 2019).

У самок мышей линии TPH2-KO при сохранении нормальной фертильности регистрируются выраженные девиации материнского поведения. Значительная часть особей женского пола оказывается неспособной собрать разбросанных детенышей в течение отведенного времени, в то время как контрольные животные успешно выполняют это действие за несколько минут. Дополнительно у мутантных мышей были выявлены эпизоды инфантицида и каннибализма. Показатели выживаемости потомства критически снижаются уже на 2–3 сутки после родов. Такое поведение у матерей наблюдается как при выращивании собственного потомства, так и при перекрестном вскармливании (Wang et al., 2024). Также у TPH2-KO выявлены нарушения, которые похожи на триаду симптомов расстройств

аутистического спектра. У этих животных зафиксировано изменение социального поведения и вокализации, а также признаки когнитивной ригидности в тесте переключения внимания у самцов, а у самок зафиксирована повышенная склонность к закапыванию шариков (компульсивноподобное поведение) (Golebiowska et al., 2025).

Наивные самки мышей с нокаутом *Tph2*, сохраняя базовую способность к хеморецепции, утрачивают возможность дифференцировать обонятельные сигналы, кодирующие информацию о поле, степени родства и социальном статусе особи. Приобретение репродуктивного опыта, включающего копуляцию, гестацию, родоразрешение и лактацию, полностью нивелирует данный дефицит, возвращая поведенческие реакции к уровню особей дикого типа. Этот феномен сопровождается возрастанием экспрессии альфа-рецепторов эстрогена и окситоциновых рецепторов в миндалевидном теле. Примечательно, что комбинированное введение агонистов указанных рецепторов, но не их раздельное применение, частично восстанавливает обонятельные предпочтения и у наивных самок. Данный факт свидетельствует о функциональном синергизме эстрогеновой и окситоциновой систем в условиях дефицита 5-НТ (Huo et al., 2018).

В ходе собственных исследований нашей группой были количественно определены уровни 5-НТ и его основного метаболита, 5-гидроксииндолуксусной кислоты, в шейном, грудном и поясничном отделах СМ. У крыс линии *Tph2*−/− концентрация обоих соединений во всех анализируемых сегментах оказалась критически низкой. Этот результат объективно подтверждает наличие выраженного дефицита 5-НТ в спинальных структурах на фоне инактивации гена *Tph2* (Sysoev et al., 2025).

Таким образом, серотонинергическая система принимает непосредственное участие в регуляции фундаментальных процессов, детерминирующих течение и исход после ТСМ. К их числу относятся модуляция возбудимости и пластичности спинальных нейронных сетей, а также контроль нейровоспалительного ответа. Вместе с тем последствия изолированного дефицита центрального 5-НТ для процессов посттравматической регенерации изучены недостаточно полно. В современной литературе отсутствует комплексное представление о взаимосвязи между локомоторными нарушениями, нейровоспалением и нейропластическими перестройками в условиях серотониновой недостаточности. Кроме того, остаются слабо охарактеризованными половые различия в ответе на травму и специфические метаболические трансформации микроглии в эпицентре повреждения.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Характеристика экспериментального материала

Все процедуры проводили в соответствии с рекомендациями Совета Европейского сообщества (Директива 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г.) и Правилами надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств (Решение ЕврАзЭС от 03.11.2016 года №81), а протоколы исследований с использованием животных были одобрены Комитетом по этике Санкт-Петербургского государственного университета (Санкт-Петербург, Россия) (заключение №131-03-4 от 03.04.2023). Животных содержали в условиях стандартного вивария при контролируемой температуре (22 °C) и 12-часовом световом цикле (свет с 8:00 до 20:00). Животные имели свободный доступ к корму и воде (ad libitum). Исследование было выполнено на крысах линии Dark Agouti возрастом 12–16 месяцев и массой 150–250 г. В экспериментах на самцах было 12 крыс с нокаутом гена *Tph2* (TPH2-KO) и 9 WT (WT), а на самках – 11 крыс TPH2-KO и 15 WT. Пилотное исследование было выполнено на 20 самцах крыс линии Wistar.

Генотипирование

Для генотипирования животных выполняли ПЦР с использованием прямого праймера 5′-ACCTGAGCCCAAGAGACTTCC-3′ и обратного праймера 5′-GCTACGCTATCAAAGGCCCG-3′. Ампликоны подвергали рестрикции с использованием эндонуклеазы Mln1 с последующим анализом продуктов расщепления.

Моделирование ТСМ

Для выполнения левосторонней латеральной гемисекции СМ крысам внутримышечно вводили комбинацию золазепама/тилетамина (Золетил 100, 60 мг/кг) и ксилазина (Ксила, 2 мг/кг). Затем выполняли срединный разрез кожи в области между лопатками и каудальнее их, тупо разделяя мышцы позвоночного столба для обеспечения доступа к позвоночнику. Позвонки Т7 и Т9 очищали от мягких тканей и мышц с латеральных сторон и фиксировали с помощью позвоночных зажимов в спинальном стереотаксисе, чтобы спинной мозг находился строго горизонтально. После резекции дуги 8-го грудного позвонка металлический направитель, изготовленный из половины иглы 21G, вертикально вводили в спинной мозг по его средней линии. С помощью направителя в центральную часть СМ вводили одноразовый микроскальпель, а затем выполняли латеральный разрез. Незначительное кровотечение после пересечения останавливали, прикладывая стерильный ватный тампон на 1–2 минуты. Затем мышцы спины ушивали непрерывным швом с использованием рассасывающегося

шовного материала Vicryl 4-0, а кожу зашивали узловыми швами с использованием нерассасывающегося шовного материала Ethilon 4-0. В пилотном исследовании на крысах Wistar дополнительно использовали ложнооперированную группу (SHAM), которой выполняли ламинэктомию без повреждения СМ для контроля влияния хирургического вмешательства. Все хирургические манипуляции выполняли в асептических условиях; инструменты предварительно стерилизовали в сухожаровом стерилизаторе. После операции животных помещали в чистые клетки и наблюдали до полного выхода из наркоза. Для облегчения послеоперационной боли каждые 12 ч в течение 48 ч вводили анальгетик (кеторолак, 1 мг/кг, подкожно). Для профилактики инфекций мочевыводящих путей ежедневно в течение 7 дней вводили антибиотик (энрофлоксацин, 5 мг/кг, подкожно). В первые дни после операции контролировали потребление воды и, при необходимости, проводили подкожные инъекции физиологического раствора в объеме 3–5 мл. Мочевой пузырь опорожняли вручную один раз в день до восстановления произвольного мочеиспускания.

2.2 Физиологические методы исследования

Кинематический анализ локомоции

Экспериментальные животные и схема проведения эксперимента изображены на рисунке 2.1. Кинематику ходьбы регистрировали с помощью системы MotoRater (TSE Systems, Германия) в двух проекциях (сбоку и снизу), что позволяло одновременно оценивать пространственно-временные параметры (длина шага, фазы цикла) и кинематические характеристики движений в суставах. Программное обеспечение системы автоматически анализировало видеозаписи с маркерами, используя покадровый поиск паттернов, а положение коленного сустава определяли методом триангуляции для минимизации ошибок, связанных с накожной маркировкой.

Перед проведением кинематического тестирования животных в течение 3 суток адаптировали к установке, используя затемненное укрытие на конце дорожки в качестве мотивирующего стимула. Контрастные маркеры наносили на костные ориентиры и суставные сочленения, включая тазобедренный, голеностопный и плюснефаланговый суставы, подвздошный гребень и дистальную фалангу пятого пальца. Процедуру маркировки выполняли однократно в условиях седации (в/м медетомидин в дозе 0,4 мг на 1 кг). Видеорегистрацию осуществляли с частотой 100 кадров в секунду. Для последующего

анализа отбирали по 15 последовательных локомоторных циклов от каждой особи, исключая записи с эпизодами остановки и нарушениями цикличности движения.

Анализу подвергали угловые характеристики, угловые скорости и ускорения в суставных сочленениях в фазах опоры, флексии и экстензии, высоту подъема стопы, положение тазового пояса и кончика хвоста, длительность фаз опоры и переноса, показатели ретракции и протракции конечностей, коэффициенты корреляции, а также длину и ширину шага и скорость локомоции. Расчет угловых параметров осуществляли в автоматическом режиме с использованием программного обеспечения MotoRater. Фазовую структуру шагового цикла определяли по ключевым точкам, а именно контакту пальцев с опорной поверхностью в точке E1, отрыву пальцев в точке E3 и моменту максимальной флексии в середине фазы переноса в точке F. Показатели ретракции и протракции вычисляли как расстояние по горизонтальной оси между проекциями подвздошного гребня и плюснефалангового сустава в точках E3 и E1 соответственно. Коэффициенты корреляции между высотными позициями суставных точек в пределах одной конечности рассчитывали раздельно для каждой фазы шагового цикла. Полный перечень анализируемых параметров представлен в таблице 2.1.

Таблица 2.1 — Анализируемые кинематические параметры локомоции

№	Параметр	Уточнение
1–3	Угол в тазобедренном суставе	E3, F, E1
4–6	Угол в коленном суставе	E3, F, E1
7–9	Угол в голеностопном суставе	E3, F, E1
10–12	Угол в плюснефаланговом суставе (МТФ)	E3, F, E1
13–16	Максимальная угловая скорость	ТБС, Кол, Гол, МТФ
17–20	Максимальное угловое ускорение	ТБС, Кол, Гол, МТФ
21	Высота шага	–
22	Высота подвздошного гребня (ПГ)	–
23	Высота тазобедренного сустава	–
24–25	Высота кончика хвоста	максимум, минимум
26	Ретракция (отведение конечности назад)	–
27	Протракция (вынос конечности вперед)	–
28–31	Длительность фазы переноса	LH, RH, LF, RF
32–35	Длительность фазы опоры	LH, RH, LF, RF
36–39	Длительность шагового цикла	LH, RH, LF, RF
40–43	Относительная длительность переноса, %	LH, RH, LF, RF
44–47	Относительная длительность опоры, %	LH, RH, LF, RF
48–51	Длина шага (stride length)	LH, RH, LF, RF
52–53	Лево-правая координация (coupling)	HL, FL
54–55	Расстояние «передняя-задняя» (FL-HL)	LF / RH, RF / LH
56–57	Ширина постановки конечностей	HL, FL
58	Скорость локомоции	–
59–68	Корреляция суставов: переход E3 → F	ПГ – ТБС; ПГ – Кол; ПГ – Гол; ПГ – МТФ; ТБС – Кол; ТБС – Гол; ТБС – МТФ; Кол – Гол; Кол – МТФ; Гол – МТФ
69–78	Корреляция суставов: переход F → E1	ПГ – ТБС; ПГ – Кол; ПГ – Гол; ПГ – МТФ; ТБС – Кол; ТБС – Гол; ТБС – МТФ; Кол – Гол; Кол – МТФ; Гол – МТФ
79–88	Корреляция суставов: переход E1 → E3	ПГ – ТБС; ПГ – Кол; ПГ – Гол; ПГ – МТФ; ТБС – Кол; ТБС – Гол; ТБС – МТФ; Кол – Гол; Кол – МТФ; Гол – МТФ

Примечание — Условные обозначения: ПГ — подвздошный гребень; ТБС — тазобедренный сустав; Кол — коленный сустав; Гол — голеностопный сустав; МТФ — метатарзофаланговый (плюснефаланговый) сустав; E3, F, E1 — фазы шагового; LH / RH — левая / правая задняя конечность, LF / RF — левая / правая передняя конечность; HL — задние конечности, FL — передние конечности.

Анализ моторно-координационной функции в тесте «Горизонтальная лесенка»

Как и для анализа кинематики локомоции, моторно-координационную функцию

передних и задних конечностей оценивали в автоматизированной системе MotoRater. В данной конфигурации вместо ровной дорожки применяли горизонтальную лесенку с перекладинами, расстояние между которыми было равно 1 см (длина лесенки – 170 см). Для оценки сенсомоторного дефицита в этом тесте регистрировали общее количество шагов, количество ошибок (промахи при постановке конечности на перекладину) и соскальзываний с перекладин.

Для каждой крысы рассчитывали степень сенсомоторного дефицита (SD) по формуле 2.1:

$$SD\ (\%)\ =\ \frac{N\ \text{ошибок}\ +\ 0{,}5\ \times\ N\ \text{промахов}}{\text{Общее число шагов}} \times 100\% \qquad (2.1)$$

Горячая/холодная пластина

Для оценки сенсорной функции (температурной чувствительности) проводили тест холодная/горячая пластина (ХГП) с использованием установки Cold/Hot Plate (Bioseb, Шавиль, Франция). Тестирование проводилось после завершения всех локомоторных тестов. Животных помещали на пластину, нагретую до +48 °С (Горячая пластина) или охлажденную до +4 °С (Холодная пластина), и в течение 60 секунд фиксировали время от момента касания задними лапами пластины до выраженной поведенческой реакции (рефлекторного одергивания или вылизывания конечности), что свидетельствовало о возникновении болевого ощущения.

Сила хвата

Определение силы хвата проводили на динамометре GripStrengthMeter 303500 (TSE Systems, Германия). Передние конечности животных помещали на Т-образную перекладину и фиксировали максимальное показание прибора при оттягивании крысы от перекладины. Силу хвата измеряли отдельно как для левой и правой, так и для обеих передних конечностей.

Балльная оценка восстановления

В качестве первичного теста для оценки восстановления функций задних конечностей и состояния мочеполовой системы использовали балльную шкалу, учитывающую тонус мышц, способность к произвольным движениям и качество мочи и наполненность мочевого пузыря.

Оценивались следующие параметры:

Реакция на пассивное сгибание/разгибание: 5 баллов – выраженный ответ, 4 – хороший, 3 – умеренный, 2 – слабый, 1 – отсутствие реакции.

Произвольные движения: 1 – присутствуют, 0 – отсутствуют.

Состояние мочевого пузыря: 0 – полный, 1 – наполовину опорожнен, 2 – пустой.

Характер мочи: 0 – гематурия (примесь крови), 1 – пиурия (примесь гноя), 2 – норма.

Тестирование выполняли ежедневно в период с 10:00 до 12:00, начиная с первых суток после операции и до завершения эксперимента (28 дней).

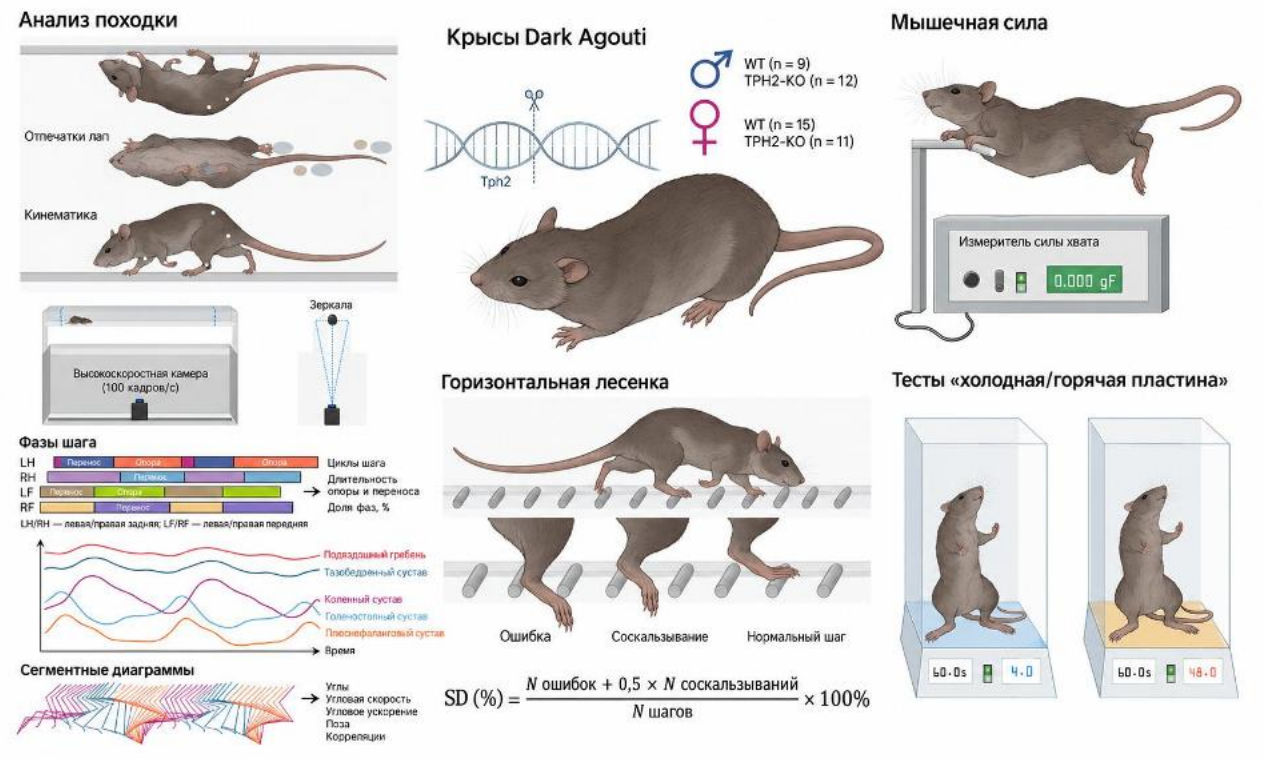


Рисунок 2.1 — Экспериментальные животные и схема проведения эксперимента
Примечание — Слева направо, сверху вниз представлены: изображение проходки крысы в установке MotoRater; экспериментальные животные – крысы с нокаутом гена триптофан-гидроксилазы второго типа (TPH2-KO); схема теста для оценки силы хвата; схема установки MotoRater и этапов обработки данных в программном обеспечении системы, включая анализ фаз шага и построение линейных топологических схем (stick diagrams) проходок; схема теста «Горизонтальная лесенка» с иллюстрацией возможного положения лап крысы и формулой расчета сенсомоторного дефицита (SD); схема тестов «Холодная пластина» и «Горячая пластина»

2.3 Иммуногистохимические методы исследования

Метод in vivo мечения пролиферирующих клеток с использованием 5-бром-2'-дезоксиуридина (BrdU)

Для *in vivo*-мечения пролиферирующих клеток в гиппокампе использовали 5-бром-2'-дезоксиуридин (BrdU) (аналог тимидина, который включается в синтезируемую ДНК в ходе репликации). Препарат вводили внутрибрюшинно в дозе 50 мг/кг (в 0,008 N NaOH) в течение 3 дней после операции.

Забор и фиксация ткани

Эвтаназию крыс проводили путем введения летальной дозы Золетила 100 и Ксилазина. Далее через левый желудочек сердца выполняли перфузию 150 мл охлажденного (+4 °C) физиологического раствора и 200 мл 4% раствора параформальдегида на 0,1 М фосфатном буфере. Образцы СМ и ГМ постфиксировали в 4% растворе параформальдегида минимально в течение 12 ч при +4 °C, затем трижды промывали в 0,1 М фосфатном буфере по 2 часа перед окрашиванием.

Парафиновая проводка (спинной мозг)

Ткань обезвоживали в изопропаноле возрастающей концентрации (50% – 1 ч, 70% – 30 мин, 80% – 30 мин, 96% – 1 ч, 100% – 30 мин), проводили через ксилол (смесь 1:1 со спиртом – 30 мин, чистый ксилол – 2×30 мин) и пропитывали парафином при 56 °C (смесь парафин–ксилол 1:1 – 30 мин, чистый парафин – 2×1 ч). Образцы заливали в парафин. Поперечные срезы толщиной 10 мкм получали на роторном микротоме Leica RM 2235, расправляли на водяной бане при 38 °C и переносили на стекла с поли-L-лизином.

Криопроводка и получение срезов (спинной мозг)

Для оценки общей архитектоники тканей, идентификации зоны гемисекции и постановки иммуногистохимических реакций готовили поперечные криосрезы толщиной 10–20 мкм. Ткань после фиксации (4 % PFA) выдерживали в 15–30 % сахарозе (криопротекция) до осаждения, заливали в среду OCT (Tissue-Tek) и замораживали в парах жидкого азота. Срезы изготавливали на криостате (Leica CM 1950) при температуре камеры −25 °C с одноразовыми лезвиями, монтировали на адгезивные стекла Superfrost Plus (Thermo Fisher Scientific) и подсушивали при комнатной температуре 60 мин. Стекла хранили при −20 °C до использования.

Вибратомные срезы (головной мозг)

После удаления обонятельных луковиц и мозжечка коронарные срезы толщиной 50 мкм готовили на вибратоме Leica VT 1000S в охлажденном (4 °C) 0,01 М PBS с максимальной

частотой колебаний и скоростью движения лезвия 7,0. Свободно плавающие срезы собирали в 24-луночные планшеты с криопротектором (0,1 М фосфатный буфер, этиленгликоль, глицерин) и далее хранили при –20 °С.

Окрашивание по Нисслю (спинной мозг)

Для гистологической оценки степени повреждения срезы СМ окрашивали толуидиновым синим по Нисслю (0,1–0,5% раствор в 0,1 М ацетатном буфере, pH 4,0–4,5; 3–10 мин при комнатной температуре), дифференцировали в 96% этаноле (до четкого контраста серого и белого вещества), обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации (70%, 80%, 96%, 100%) и заключали в синтетическую среду Витрогель.

Окрашивание Нильским красным (спинной мозг)

Для визуализации миелина и липидных структур криосрезы спинного мозга (толщиной 10–20 мкм) отмывали в 0,01 М PBS (pH 7,4) и инкубировали с рабочим раствором Нильского красного (20 мкМ в PBS или физиологическом растворе; готовился из стока 5 мМ в DMSO) в течение 15 минут при комнатной температуре в защищенном от света месте. После быстрой отмывки в PBS срезы заключали в водную среду и сразу анализировали методом флуоресцентной микроскопии (возбуждение ~550 нм, эмиссия ~600–640 нм).

Иммуногистохимия

Демаскировку антигенов проводили в цитратном буфере (pH 6,0) при 85 °С в течение 45 минут. Блокировали эндогенную пероксидазу 3% H_2O_2 в течение 10 минут (для флуоресценции пропускали). Неспецифическое связывание блокировали 2% БСА и 0,2% Triton X-100 в PBS в течение 1 часа. Первичные антитела наносили в блокирующем буфере непосредственно на стекла и инкубировали минимально 12 часов при +4 °С.

Иммуногистохимическое окрашивание BrdU-позитивных клеток в субгранулярной зоне зубчатой извилины выполняли с использованием первичных антител к BrdU по аналогичному протоколу, но с дополнительными этапами в виде денатурации ДНК в 2 N HCl при 37 °С в течение 45 минут и последующей нейтрализации кислоты в 0,1 М боратном буфере (pH 8,5, 30 мин). Используемые антитела приведены в таблице 2.2.

Все работы с флуоресцентными антителами выполняли в условиях минимальной освещенности. После окончательной промывки в фосфатном буфере срезы заключали в водорастворимую среду для флуоресцентной микроскопии, содержащую ядерный краситель DAPI, и накрывали покровными стеклами по всей длине предметного стекла.

Таблица 2.2 — Антитела и системы детекции, использованные в работе

Мишень	Первичные антитела	Разведение	Вторичные антитела / детекция	Разведение
Флуоресцентная иммуногистохимия				
GFAP	Курица, поликл.; PA1-10004	1:2500	Антитела осла против IgY курицы (H+L), высокоочищенные (перекрестно адсорбированные), Alexa Fluor Plus 488; A78948	1:2000
Iba-1	Кролик, поликл.; 019-19741	1:1500	Антитела осла против IgG кролика (H+L), Alexa Fluor 647; A-31573 F(ab)-фрагменты антител козы против Fc-фрагмента IgG кролика, Alexa Fluor 555; A66786	1:2000 1:300
CD68	Кролик, моноклон. (EPR23917-164); ab283654	1:500	Антитела осла против IgG кролика (H+L), Alexa Fluor 647; A-31573	1:2000
TNF-α	Кролик, поликл.; AMC3012	1:100	Антитела козы против IgG кролика (H+L), Alexa Fluor 555; A-21428	1:2000
iNOS	Кролик, поликл.; PA1-036	1:250	Антитела козы против IgG кролика (H+L), Alexa Fluor 555; A-21428	1:2000
S100B	Кролик; ab52642	1:1000	F(ab)-фрагменты антител козы против Fc-фрагмента IgG кролика, меченные Alexa Fluor 555; A66786	1:300
Ферментативная иммуногистохимия (DAB)				
GFAP	Мышь ; 14-9892-82	1:1500	Двухстадийная полимерная система детекции (поликонъюгат вторичных антител к IgG мыши и кролика с полимерной пероксидазой хрена, HRP; субстрат – 3,3'-диаминобензидин, DAB) согласно инструкции производителя	
Iba-1	Кролик, поликл.; 019-19741	1:1500		
S100B	Кролик; ab52642	1:1000		
BrdU	Мышь; 555627	1:1000		

Обработка и анализ микрофотографий

Визуализацию световых препаратов получали на микроскопе ZeissAxioScope A1, оснащенном матрицей AxioCam 503 с объективами 5x/0,12; 10x/0,25.

Визуализацию флуоресцентных препаратов осуществляли с применением конфокального лазерного сканирующего микроскопа ZEISS LSM 980 Airyscan (Carl Zeiss, Германия), оснащенного объективами с увеличением 10x, 20x и 63x. Оптическая система комплектовалась многоспектральными детекторами и набором специализированных фильтров, обеспечивающих регистрацию сигналов от флуорофоров зеленого и желтого спектров излучения, в частности Alexa Fluor 488, оранжевого и красного спектров, а именно Alexa Fluor 555, дальнего красного спектра, включая Alexa Fluor 647, а также ядерного красителя DAPI. Для минимизации перекрестных помех между каналами применяли последовательное поэтапное сканирование с индивидуальной оптимизацией параметров для каждого спектрального канала. Интенсивность излучения каждого лазера калибровали отдельно для каждого флуорофора. Время экспозиции варьировало в диапазоне от 20 до 100 миллисекунд в зависимости от интенсивности сигнала. Диаметр пинхольной диафрагмы устанавливали в пределах от 1 до 1,5 единиц Эйри (Airy Unit). Усиление детектора настраивали для обеспечения максимального соотношения сигнал и шум при сохранении линейности регистрации флуоресценции.

Все полученные изображения подвергали первичной обработке в программном обеспечении ZEN 3.5 (Blue edition) (Carl Zeiss, Германия), включавшей фоновое вычитание, компенсацию спектрального перекрытия, оптимизацию контраста и яркости.

Количественный анализ микрофотографий выполняли в программе Fiji (США) для отдельных областей гиппокампа (CA1, CA3 и DG). Изображения конвертировали в 8-битный формат, корректировали фон и контраст, после чего области специфического окрашивания выделяли с помощью инструмента Threshold (Изображение → Настройки → Порог). Долю окрашенной площади определяли как отношение площади позитивного сигнала к общей площади исследуемого региона. Для статистической обработки данных количественные показатели, полученные при анализе всех изображений с одного маркера в пределах одного стекла, были усреднены. Все процедуры измерения и сбора количественных данных проводил оператор, не осведомленный о группах образцов.

Iba-1-позитивные клетки микроглии сегментировали, после чего морфометрические параметры извлекали с помощью плагина MicrogliaMorphometry для Fiji. Для характеристики формы клеток и структурной гетерогенности были выбраны показатели округлости

(Roundness) и лакунарности (Lacunarity) соответственно.

2.4 Статистическая обработка данных

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием программного обеспечения Python (библиотеки SciPy, statsmodels) и GraphPad Prism 10. Анализ дооперационных показателей: two-way ANOVA, для апостериорных попарных сравнений применяли пост-хок тест Сидака. Анализ динамики в посттравматическом периоде: линейная смешанная модель (LMM). Валидация тяжести и латерализации повреждения, анализ иммуногистохимических и гистохимических показателей: U-критерий Манна–Уитни. Параметры морфометрического анализа стандартизовали по z-оценке и подвергали совместной кластеризации клеток WT и TPH2-KO методом K-средних (k = 2, random_state = 42, n_init = 100). Полученные доли сравнивали между генотипами с помощью двустороннего U-критерия Манна–Уитни с поправкой Холма на множественные сравнения.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1. Сенсомоторное фенотипирование самцов и самок крыс TPH2-KO в норме

3.1.1 Анализ кинематических параметров у животных без экспериментального воздействия

Метод главных компонент показал, что 29,6 % дисперсии данных объясняется компонентой PC1, которая формировалась пространственно-временными характеристиками локомоции (длительность фаз опоры и переноса, средняя скорость, каплинг) и длиной шага. Значения компоненты PC2 (20,1 % дисперсии) определялись величинами межсуставных корреляций, характеризующих внутриконечностную координацию. PC3 (13,6 %) формировалась величиной угла тазобедренного сустава в фазах E3, F и E1, углом плюснефалангового сустава в фазе F, угловыми скоростями и ускорениями коленного и плюснефалангового суставов, а также корреляцией между тазобедренным и коленным суставами при разгибании конечности. На PC4 (6,9 %) влияли угол коленного сустава при максимальном сгибании и разгибании, угол плюснефалангового сустава в момент касания, высота тазобедренного сустава и подвздошного гребня, а также ретракция/протракция. Количественный вклад каждого кинематического параметра в формирование каждой главной компоненты выражали значениями факторных нагрузок (Рисунок 3.1).

PC1 формировалась преимущественно параметрами, коррелирующими со средней скоростью локомоции (рисунки 3.1, 3.2). Двухфакторный ANOVA выявил значимое влияние генотипа ($F(1,34) = 18,64$, $p = 0,001$) и пола ($F(1,34) = 15,17$, $p = 0,004$) при отсутствии взаимодействия «генотип × пол». По результатам post hoc анализа значения PC1 были значимо выше у самок WT, чем у самцов WT и самок TPH2-KO ($p < 0,01$ и $p < 0,0001$ соответственно). Статистически значимое увеличение средней скорости локомоции обнаружено у самцов WT и самок TPH2-KO по сравнению с самками WT ($p < 0,001$ и $p < 0,0001$ соответственно, тест множественных сравнений Сидака). Кроме того, у самцов TPH2-KO этот показатель был повышен как по сравнению с самцами WT, так и по сравнению с самками TPH2-KO ($p < 0,01$, тест множественных сравнений Сидака) (рисунки 3.1, 3.2). Показано увеличение длительности локомоторного цикла у самок WT по сравнению с самками TPH2-KO ($p < 0,0001$, тест множественных сравнений Сидака), а также увеличение длительности фазы опоры ($p < 0,0001$, тест множественных сравнений Сидака). При этом

длительность фазы переноса у самок WT была статистически значимо выше по сравнению с самцами WT ($p < 0,05$, тест множественных сравнений Сидака), но не по сравнению с самками TPH2-KO. Значения всех вышеописанных параметров у самцов WT находились на том же уровне, что и у крыс из других исследуемых групп. Распределение значений между группами для описанных параметров сходно с таковым для PC1 и указывает на обратную зависимость между ее величиной и средней скоростью локомоции.

PC2 (20,1 % дисперсии данных) формировалась преимущественно коэффициентами корреляции между высотами суставов в фазах опоры и переноса (фаза переноса была разделена на две подфазы – сгибание и разгибание, корреляции рассчитывались для каждой отдельно) (рисунок 3.1, В). Мы обнаружили значимое влияние генотипа ($F(1,34) = 21,96$, $p < 0,0001$) и взаимодействия генотип × пол ($F(1,34) = 6,30$, $p = 0,0170$) без влияния пола. Снижение величины этой компоненты показано у самцов WT по сравнению с самцами TPH2-KO и самками WT ($p < 0,001$ и $p < 0,05$, тест множественных сравнений Сидака). Статистически значимое снижение коэффициента корреляции между подвздошным гребнем и голеностопным суставом в фазе разгибания показано у самцов WT по сравнению с самцами TPH2-KO, а также с самками WT ($p < 0,001$ и $p < 0,01$ соответственно, тест множественных сравнений Сидака) (рисунок 3.2, Д–З). Полностью аналогичная картина наблюдалась для коэффициента корреляции между высотами коленного и голеностопного суставов в фазе разгибания ($p < 0,01$ и $p < 0,05$ соответственно, тест множественных сравнений Сидака). Снижение корреляции между коленным и плюснефаланговым суставами в фазе разгибания также обнаружено у самцов WT по сравнению с теми же группами ($p < 0,05$, тест множественных сравнений Сидака). При этом коэффициент корреляции между коленным и плюснефаланговым суставами в фазе опоры был статистически значимо ниже у самцов WT только по сравнению с самцами TPH2-KO ($p < 0,01$).

Основной вклад в значения PC3 (13,6 % дисперсии данных) вносили отдельные параметры суставных углов, угловых скоростей и угловых ускорений (рисунок 3.1, Г). Мы обнаружили значимую роль пола ($F(1,34) = 14,93$, $p < 0,0005$) при отсутствии влияния генотипа и взаимодействия «генотип × пол». Статистически значимое снижение этого параметра показано у самок WT по сравнению с самцами WT ($p < 0,05$, тест множественных сравнений Сидака). Для отдельных параметров, вносящих вклад в эту компоненту (рисунок 3.2, И–М), среди четырех исследуемых групп выявлены следующие статистически значимые различия: угол тазобедренного сустава в точке E3 был статистически значимо больше у самок TPH2-KO по сравнению с самцами TPH2-KO ($p < 0,05$, тест множественных сравнений

Сидака); в точке F угол этого сустава также был статистически значимо больше у самок TPH2-KO по сравнению с самцами TPH2-KO ($p < 0,01$, тест множественных сравнений Сидака); в точке E1 этот угол был статистически значимо больше у самок обеих групп по сравнению с самцами того же генотипа ($p < 0,05$ для WT и $p < 0,05$ для TPH2-KO, тест множественных сравнений Сидака). При этом для максимального углового ускорения коленного сустава, также вносившего существенный вклад в формирование PC3, различий между группами не обнаружено.

PC4 (6,9 % дисперсии данных) формировалась преимущественно постуральными параметрами (рисунок 3.1, Д). Двухфакторный ANOVA показал значимое влияние пола ($F(1,34) = 11,39$, $p = 0,0019$) без влияния генотипа и взаимодействия «генотип × пол». Эта компонента была статистически значимо ниже у самок TPH2-KO по сравнению с самцами TPH2-KO ($p < 0,01$, тест множественных сравнений Сидака). Индивидуальные графики (рисунок 3.2, H–P) показывают, что высота подвздошного гребня, определенная как максимальная в пределах одного локомоторного цикла, была статистически значимо больше у самцов TPH2-KO по сравнению с самками TPH2-KO ($p < 0,05$, тест множественных сравнений Сидака). Высота тазобедренного сустава, определенная тем же образом, была ниже как у самок WT, так и у самок TPH2-KO по сравнению с самцами WT и самцами TPH2-KO соответственно ($p < 0,01$ и $p < 0,001$ для TPH2-KO, тест множественных сравнений Сидака). Снижение ретракции обнаружено у самок WT по сравнению с самцами WT ($p < 0,0001$, тест множественных сравнений Сидака) и у самок TPH2-KO по сравнению с самцами TPH2-KO ($p < 0,0001$, тест множественных сравнений Сидака). Для протракции статистически значимых различий между группами не выявлено. При этом у самцов TPH2-KO присутствовали несколько отрицательных значений, что довольно нетипично для протракции у здоровых животных и, вероятно, связано с их высокой скоростью локомоции.

Двухфакторный ANOVA показал значимое влияние пола животных на массу тела ($F(1,32) = 402,4$, $p < 0,0001$), тогда как влияния генотипа или взаимодействия «генотип × пол» на этот параметр не наблюдалось (рисунок А.6, А). Масса тела самок WT была статистически значимо ниже, чем у самцов WT ($p < 0,0001$, пост-хок тест Сидака). Масса тела самок TPH2-KO также была значимо ниже, чем у самцов того же генотипа ($p < 0,0001$, пост-хок тест Сидака). Полные данные по каждому показателю представлены в приложении А.

Было выдвинуто предположение, что масса и размеры животных могут влиять и на другие характеристики локомоции, такие как величины суставных углов или постуральные параметры. Дополнительно для каждой крысы рассчитывали длины костей левой задней

конечности, определяемые как средние длины рычагов, полученные по расположению кинематических маркеров на животных. Для расчета этой группы параметров использовали кадры, содержавшие кинематический скелет и включенные в обработку основного набора параметров. Определяли следующие условные длины: длину тазовой кости (от подвздошного гребня до тазобедренного сустава), длину бедра (от тазобедренного до коленного сустава), длину голени (от коленного до голеностопного сустава), длину стопы (от голеностопного до плюснефалангового сустава, без учета пальцев) и длину пальцев (от плюснефалангового сустава до дистальной фаланги). Эта группа параметров отражает индивидуальные размеры животных, лежащие в основе рассчитанных и описанных выше характеристик локомоции.

Двухфакторный ANOVA выявил значимое основное влияние пола на длину таза ($F(1,34) = 38,07$, $p < 0,0001$) (Рисунок А.6). У самок WT таз был короче, чем у самцов WT ($p < 0,01$, тест Сидака), а у самок TPH2-KO длина таза была снижена по сравнению с самцами обоих генотипов ($p < 0,01$ vs самцы WT и $p < 0,05$ vs самцы TPH2-KO). Для длины бедра ANOVA продемонстрировал высокозначимое влияние пола ($F(1,34) = 130,4$, $p < 0,0001$). Длина бедра у самок WT была меньше, чем у самцов WT ($p < 0,01$) и у самцов TPH2-KO ($p < 0,05$); та же картина отмечалась у самок TPH2-KO, у которых бедро было короче, чем у самцов любого генотипа ($p < 0,01$ для обоих сравнений). Анализ длины голени выявил значимое влияние пола ($F(1,34) = 110,2$, $p < 0,0001$) и генотипа ($F(1,34) = 6,807$, $p = 0,0134$). Анализ морфометрических параметров выявил, что у самок дикого типа длина голени статистически значимо уступала аналогичному показателю у самцов данного генотипа при уровне значимости $p < 0,05$. У особей женского пола линии TPH2-KO указанные различия носили более выраженный характер. Длина голени у самок с делецией гена достоверно снижалась по сравнению как с самцами дикого типа ($p < 0,001$), так и с самцами исследуемой нокаутной линии ($p < 0,01$). При оценке площади подошвенной поверхности стопы без учета длины пальцев двухфакторный дисперсионный анализ продемонстрировал достоверное влияние фактора пола ($F(1,34) = 23,77$, $p < 0,0001$) и генотипа ($F(1,34) = 5,568$, $p = 0,0242$). Площадь стопы у самок дикого типа не имела достоверных отличий от показателей самцов соответствующей линии. В то же время у самок линии TPH2-KO данный параметр оказался статистически значимо ниже по сравнению с самцами обеих генетических групп ($p < 0,001$ при сравнении с самцами дикого типа и $p < 0,05$ при сравнении с самцами линии TPH2-KO). Расчетная длина пальцев оказалась сопоставимой у самцов и самок обеих генетических групп. Подобная однородность данных, вероятно, обусловлена малой абсолютной величиной

измеряемого параметра, что повышает вероятность методической погрешности, связанной с ограниченной разрешающей способностью видеозаписи.

На рисунке 3.6 показаны траектории левой задней конечности в пространстве XY на протяжении двух локомоторных циклов с кривыми смещения для каждой анатомической структуры и стик-диаграммами в критических локомоторных точках, разделяющих полный цикл на три фазы. Полученные данные легли в основу расчета внутриконечностной координации. Кривые, формируемые смещениями суставов, демонстрируют различные паттерны и отличаются у всех четырех репрезентативных крыс. При том что различия между крысами WT обоего пола минимальны, у животных TPH2-KO в обоих случаях можно выделить сходный паттерн: наклон кривой, отражающей голеностопный сустав, в фазе разгибания (конец локомоторного цикла) визуально меньше как у самцов, так и у самок TPH2-KO по сравнению с крысами WT, что является прямым следствием возросшей скорости локомоции. Другие различия в представленных паттернах могут быть связаны с индивидуальными локомоторными особенностями каждого репрезентативного животного.

Повышенная скорость локомоции является одной из ключевых фенотипических характеристик крыс TPH2-KO. Для оценки вклада скорости в наблюдаемые кинематические различия мы выполнили ковариационный анализ (ANCOVA) со скоростью локомоции в качестве ковариаты. Результаты ANCOVA показали, что после поправки на скорость статистически значимые различия между животными TPH2-KO и WT исчезали для следующих параметров: длительность фаз переноса и опоры, углы тазобедренного сустава в точках E3, F и E1, величина ретракции, высота тазобедренного сустава и подвздошного гребня, а также ряд показателей внутриконечностной координации. Единственным параметром, для которого статистически значимое различие между генотипами сохранялось после поправки на скорость, была корреляция между траекториями подвздошного гребня и голеностопного сустава в фазе разгибания (Corr Iliac Crest vs Ankle E) у самцов. Двухфакторный ANOVA по скорректированным на скорость значениям выявил значимое влияние генотипа ($F(1,34) = 8{,}196$, $p < 0{,}01$), так как у самцов TPH2-KO этот параметр был выше, чем у самцов WT. У самок различий по этому параметру не обнаружено.

Был проведен корреляционный анализ взаимосвязей между массой тела животных и длинами костных сегментов левой задней конечности, а также между массой и значениями главных компонент PC1–PC4, извлеченных из основного массива локомоторных данных (Приложение А). Установлена высокая степень статистически достоверной сопряженности между расчетными длинами тазовой кости ($R = 0{,}7749$), бедра ($R = 0{,}8381$) и голени ($R =$

0,859) с показателями массы тела при $p < 0,0001$. Длина стопы демонстрировала несколько меньшую, но все же высокодостоверную корреляцию с массой животных ($R = 0,5800$, $p = 0,0001$). Полученные данные подтверждают корректность размещения кинематических маркеров на теле экспериментальных животных и объективно отражают прямую пропорциональную зависимость между размерами кинематического скелета и индивидуальными характеристиками крыс. Анализ сопряженности массы тела с четырьмя главными компонентами выявил статистически значимую корреляцию PC1 с массой животных ($R = 0,5346$, $p < 0,0005$). Высокая степень сопряженности зарегистрирована и для PC4 ($R = 0,5175$, $p = 0,0009$). Третья главная компонента, хотя и в существенно меньшей степени, также демонстрировала достоверную связь с массой тела ($R = 0,3721$, $p = 0,0214$). В то же время корреляция между PC2, отражающей параметры внутриконечностной координации, и массой животных не достигала порога статистической значимости ($R = 0,2728$, $p = 0,0975$). Отсутствие достоверной сопряженности в последнем случае, вероятнее всего, обусловлено тем, что расчетные показатели внутриконечностной координации не зависят от абсолютных размеров тела животного. Этот параметр отражает только пространственно-временное соотношение траекторий смещения суставных точек по вертикальной оси относительно фазовой структуры локомоторного цикла, поэтому он не зависит от индивидуальных характеристик животного.

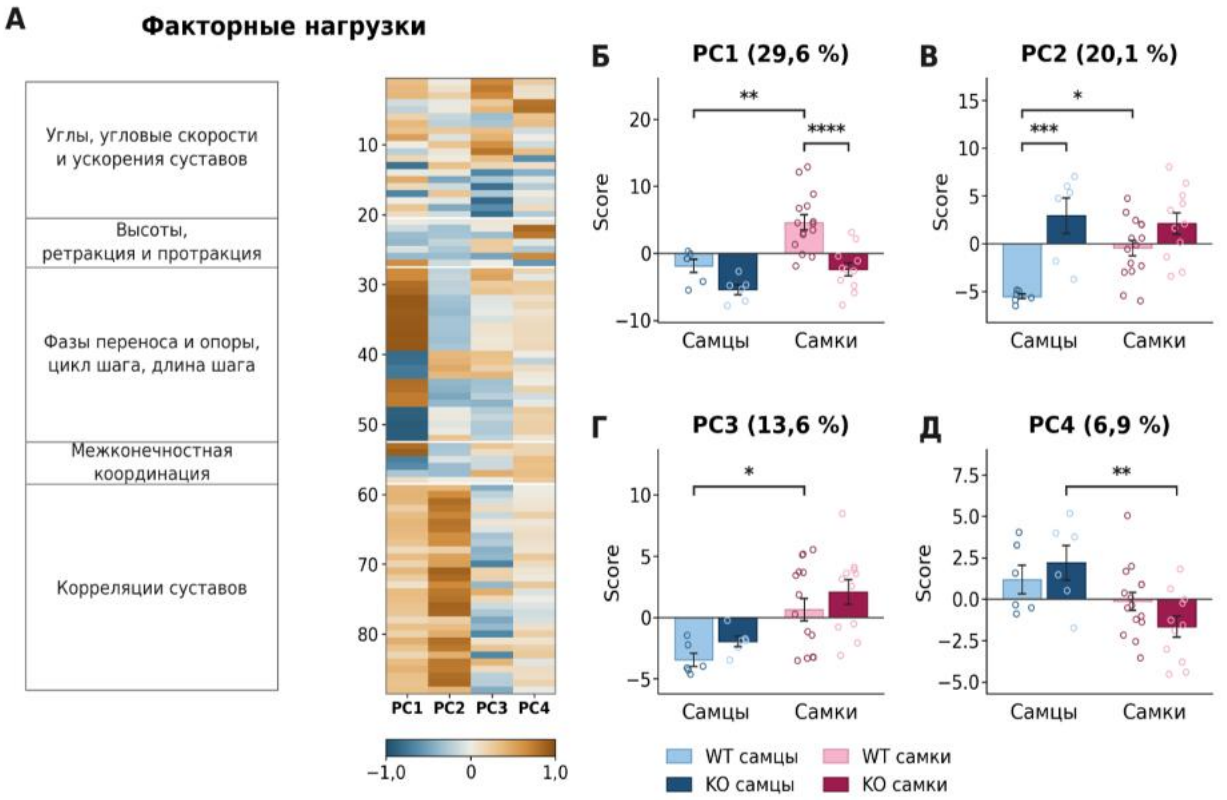


Рисунок 3.1 — Метод главных компонент для кинематических характеристик локомоции крыс до операции. (А) Тепловая карта факторных нагрузок 88 кинематических показателей на первые четыре главные компоненты (PC1–PC4). Показатели сгруппированы по функциональным блокам, указанным слева; нумерация строк соответствует порядку показателей внутри блоков. Цвет отражает величину и знак факторной нагрузки. (Б–Д) Значения главных компонент PC1 (Б), PC2 (В), PC3 (Г) и PC4 (Д) у самцов и самок WT (WT) и с нокаутом *Tph2* (KO)

Примечание — Доля объясненной дисперсии указана в заголовке каждой панели. Данные: среднее ± SEM, точки – индивидуальные значения. *n*: WT ♂ = 6,TPH2-KO ♂ = 6, WT ♀ = 15,TPH2-KO ♀ = 11. Двухфакторный ANOVA (генотип × пол) + пост-хок тест Сидака, * $p < 0{,}05$; ** $p < 0{,}01$; *** $p < 0{,}001$; **** $p < 0{,}0001$.

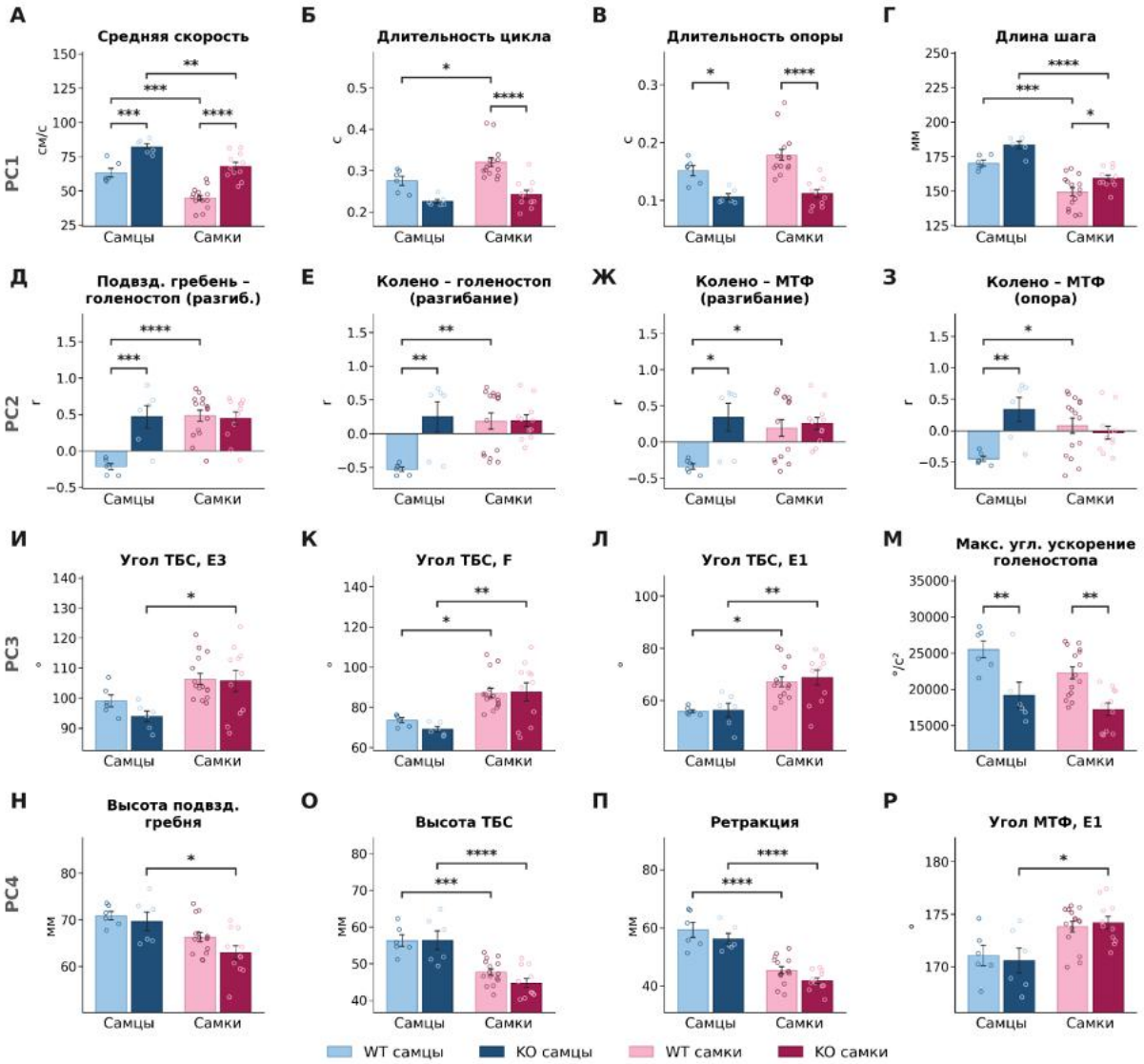


Рисунок 3.2 — Отдельные кинематические показатели, вносящие наибольший вклад в формирование главных компонент, у интактных крыс до операции. Панели А–Г – показатели с наибольшими факторными нагрузками на PC1: средняя скорость локомоции (А), длительность цикла шага (Б), длительность фазы опоры (В) и длина шага (Г). Панели Д–З – коэффициенты межсуставных корреляций, формирующие PC2: подвздошный гребень – голеностопный сустав (Д), коленный – голеностопный сустав (Е) и коленный – плюснефаланговый сустав (Ж) в фазу экстензии, коленный – плюснефаланговый сустав в фазу опоры (З). Панели (И–М) – показатели, формирующие PC3: угол тазобедренного сустава в точках E3 (И), F (К) и E1 (Л), максимальное угловое ускорение голеностопного сустава (М). Панели Н–Р – постуральные показатели, формирующие PC4: высота подвздошного гребня (Н), высота тазобедренного сустава (О), ретракция (П) и угол плюснефалангового сустава в точке E1 (Р)

Примечание — Данные: среднее ± SEM, *n*: WT♂ = 6,TPH2-KO ♂ = 6, WT ♀ = 15,TPH2-KO ♀ = 11. Двухфакторный ANOVA (генотип × пол) + пост-хок тест Сидака, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$.

3.1.2 Моторная координация в тесте «Горизонтальная лесенка»

Двухфакторный дисперсионный анализ выявил статистически значимое влияние фактора генотипа на выраженность сенсомоторного дефицита передних конечностей в тесте с горизонтальной лестницей при значениях F(1,43) = 10,30 и p = 0,0025. При этом основной эффект полового фактора и взаимодействие переменных генотипа и пола не достигали порога достоверности. Не было зафиксировало достоверных межгенотипических различий между особями линии TPH2-KO и животными WT (Рисунок 3.3). Тем не менее в когорте крыс TPH2-KO регистрировались единичные значения, выходящие за пределы нормального диапазона показателей сенсомоторного дефицита. Подобная вариабельность, вероятно, обусловлена повышенной скоростью локомоции у данных животных, что закономерно увеличивает частоту ошибок при прохождении лесенки.

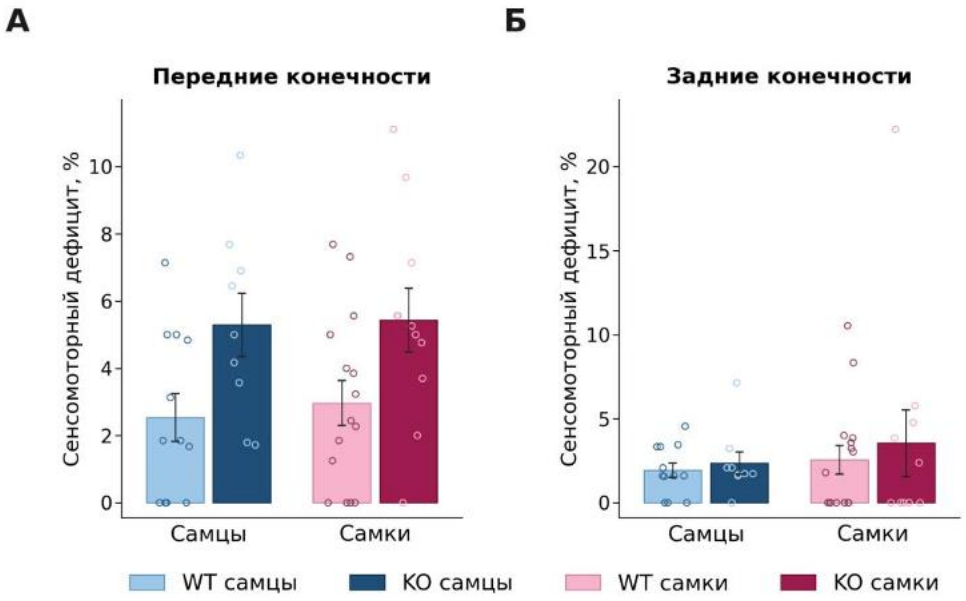


Рисунок 3.3 — Сенсомоторный дефицит в тесте «горизонтальная лестница» у интактных крыс до операции. (А) Сенсомоторный дефицит передних конечностей. (Б) Сенсомоторный дефицит задних конечностей

Примечание — Данные: среднее ± SEM, n: WT♂ = 6, TPH2-KO ♂ = 6, WT♀ = 15,TPH2-KO ♀ = 11. Двухфакторный ANOVA (генотип × пол) + пост-хок Сидака, * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001; **** p < 0,0001.

3.1.3 Сенсорная чувствительность в тесте ХГП в норме

Двухфакторный дисперсионный анализ выявил статистически значимое влияние полового фактора на латентный период болевой реакции в тесте горячей пластины (F(1,42)

= 7,100, p = 0,0109). При этом основной эффект генотипа, равно как и взаимодействие факторов генотипа и пола, не достигали порога достоверности. Количественная оценка ноцицептивной чувствительности к температурным стимулам не выявила статистически значимых межгенотипических различий ни для высоких, ни для низких температурных режимов по результатам апостериорного теста Сидака. Крысы линии TPH2-KO демонстрировали поведенческие признаки болевого ответа в виде отдергивания или облизывания конечности в те же временные интервалы от начала тестирования, что и контрольные животные дикого типа (Рисунок 3.4).

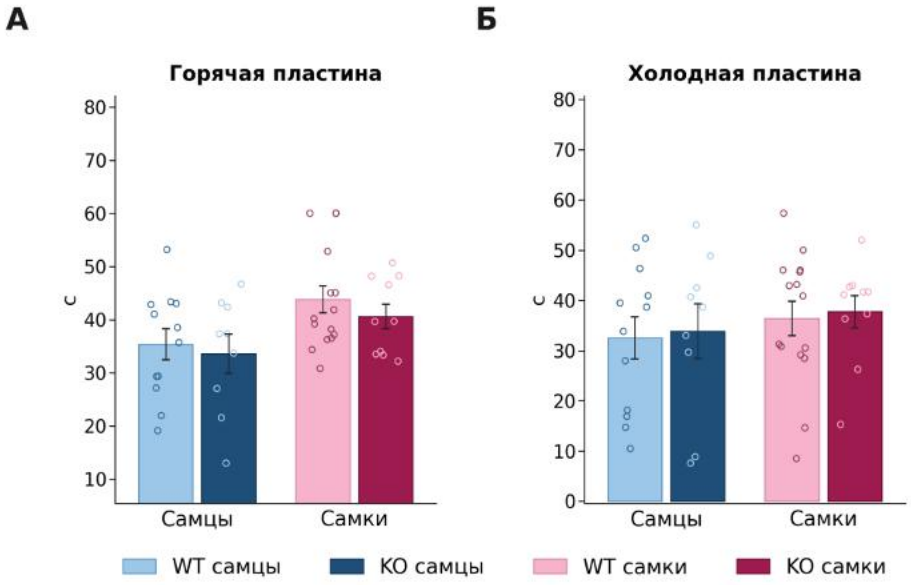


Рисунок 3.4 — Ноцицептивная чувствительность интактных крыс до операции. (А) Латентность реакции в тесте Горячая пластина. (Б) Латентность реакции в тесте Холодная пластина

Примечание — Данные: среднее ± SEM, точки – индивидуальные значения. n: WT♂ = 6,TPH2-KO♂ = 6, WT♀ = 15,TPH2-KO♀ = 11. Двухфакторный ANOVA (генотип × пол) + пост-тест Сидака, * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001; **** p < 0,0001.

3.1.4 Сила хвата передних конечностей в норме

Статистический анализ показателей мышечной силы не выявил достоверных межгенотипических различий внутри каждой группы и у самок, и у самцов, несмотря на наличие выраженного полового диморфизма по всем исследуемым параметрам (Рисунок 3.5). Двухфакторный дисперсионный анализ данных по правой передней конечности подтвердил статистически значимое основное влияние пола при $F(1,20) = 26,57$ и p < 0,0001,

тогда как эффект генотипа отсутствовал. Сила хвата правой лапы не имела достоверных различий как между самцами группы WT и TPH2-KO, так и между самками. В то же время самцы группы WT демонстрировали статистически более высокие показатели по сравнению с самками WT при $p < 0,01$ и самками TPH2-KO ($p < 0,05$). Аналогичные результаты были зафиксированы у самцов с нокаутом. TPH2-KO самцы превосходили по силе хвата как самок WT ($p < 0,01$), так и самок TPH2-KO ($p < 0,05$).

Сравнение мышечной силы левой передней конечности также показало доминирующее влияние фактора пола ($F(1,20) = 50,62$; $p < 0,0001$) на фоне отсутствия разницы между линиями. Данные показатели у самцов линии WT статистически значимо превышали значения у самок группы WT ($p < 0,01$) и самок группы TPH2-KO ($p < 0,01$). Самцы TPH2-KO также показали более высокую силу хвата по сравнению с самками WT и самками TPH2-KO ($p < 0,0001$).

При анализе билатеральной силы хвата двухфакторный дисперсионный анализ зафиксировал высокодостоверное основное влияние пола ($F(1,20) = 83,02$; $p < 0,0001$), а также статистически значимый эффект генотипа ($F(1,20) = 6,172$; $p = 0,0220$). Несмотря на наличие общего различия между генотипами, внутриполовые межгенотипические различия не были достоверно значимы. Суммарная сила хвата обеих передних конечностей была статистически значимо выше у самцов обеих линий по сравнению с самками соответствующих генотипов ($p < 0,01$ до $p < 0,0001$).

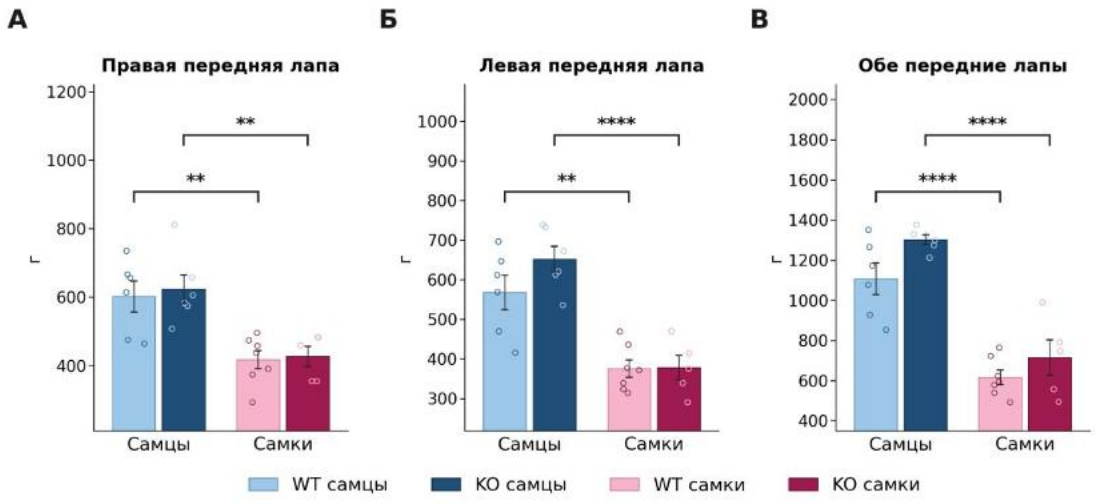


Рисунок 3.5 — Сила хвата передних конечностей у интактных крыс до операции. (А) Правая передняя лапа. (Б) Левая передняя лапа. (В) Обе передние лапы
Примечание – Данные: среднее ± SEM, точки – индивидуальные значения. n: WT♂ = 6, TPH2-KO ♂ = 6, WT ♀ = 15, TPH2-KO ♀ = 11. Двухфакторный ANOVA (генотип × пол) + Пост-хок тест Сидака, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$.

3.2. Оценка степени повреждения СМ и валидация модели травмы

Каждый исследуемый участок СМ подразделялся на 8 квадрантов (Рисунок 3.6). Морфологическая степень повреждения в каждом квадранте классифицировалась по 4-балльной шкале. 0 баллов ставили при полной сохранности ткани и полном отсутствии признаков повреждения. 1 балл отражал выраженную воспалительную реакцию с активацией глиальных и инфильтрирующих клеток. 2 балла соответствовали интенсивному астроглиозу. 3 балла выставляли при визуализации признаков глиального или соединительнотканного рубцевания.

Анализ латерализации повреждений продемонстрировал, что показатели на стороне травматического воздействия статистически значимо превосходили значения на противоположной стороне в обеих генетических группах. У крыс WT разница составила 11,0 по сравнению с 1,0 ($p = 0,004$), а у животных TPH2-KO данный показатель равнялся 8,0 по сравнению с 2,0 при $p = 0,016$. Указанный эффект регистрировался у всех исследуемых животных без исключения и сохранялся при детальном анализе каждой анатомической зоны при $p < 0,005$. Подобная стабильность позволяет рассматривать контралатеральную сторону в качестве надежного внутреннего контроля.

Рассчитанный индекс латерализации не выявил достоверных межгрупповых различий ($p = 0,121$). Тяжесть травматического воздействия оказалась сопоставимой у особей группы WT и группы TPH2-KO. Статистически значимые различия отсутствовали как по ипсилатеральным и контралатеральным баллам, так и по общему суммарному показателю шкалы ($p > 0,4$).

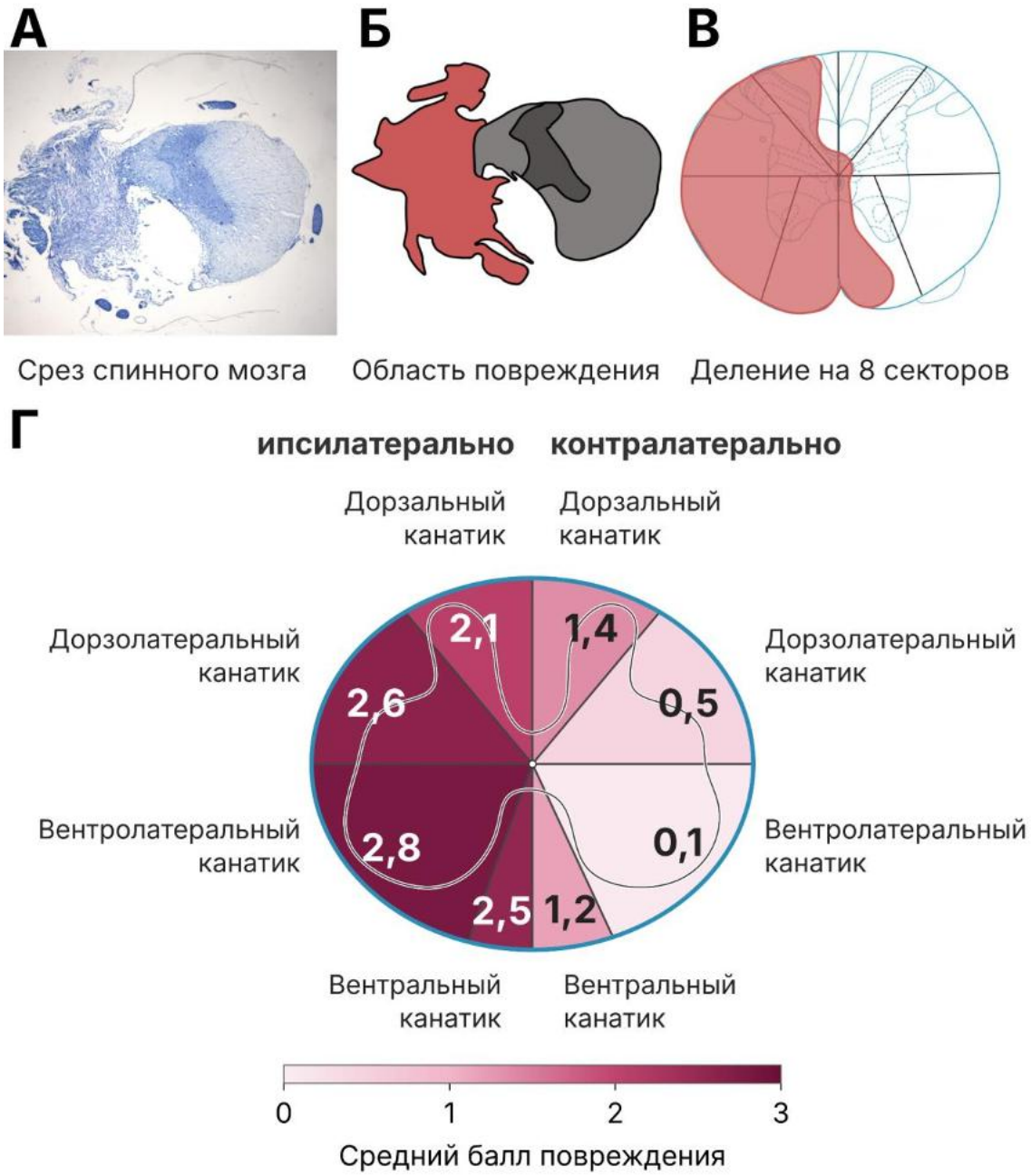


Рисунок 3.6 — Оценка степени повреждения спинного мозга по квадрантам. А — репрезентативный срез спинного мозга в области повреждения, окраска толуидиновым синим по Нисслю; Б — контуры очага повреждения (красный) и сохранной ткани (серый); В — схема поперечного среза, разделенного на 8 квадрантов, с наложением области повреждения; Г — средний балл повреждения в каждом квадранте на ипсилатеральной (левой) и контралатеральной сторонах. Степень повреждения оценивали по шкале от 0 до 3 баллов: 0 — повреждения отсутствуют, 1 — повреждена меньшая часть зоны, 2 — большая часть зоны, 3 — вся зона; интенсивность окраски соответствует среднему баллу

3.3. Оценка восстановления тонуса и спонтанных движений задними лапами после латеральной гемисекции

Было показано, что левосторонняя гемисекция приводила к потере тонуса и движений задних левой и правой лап у обеих групп с постепенным неполным восстановлением в течение 4 недель после операции (Рисунок 3.7). Достоверных различий между группами ни по восстановлению тонуса, ни по скорости восстановления произвольных движений получено не было.

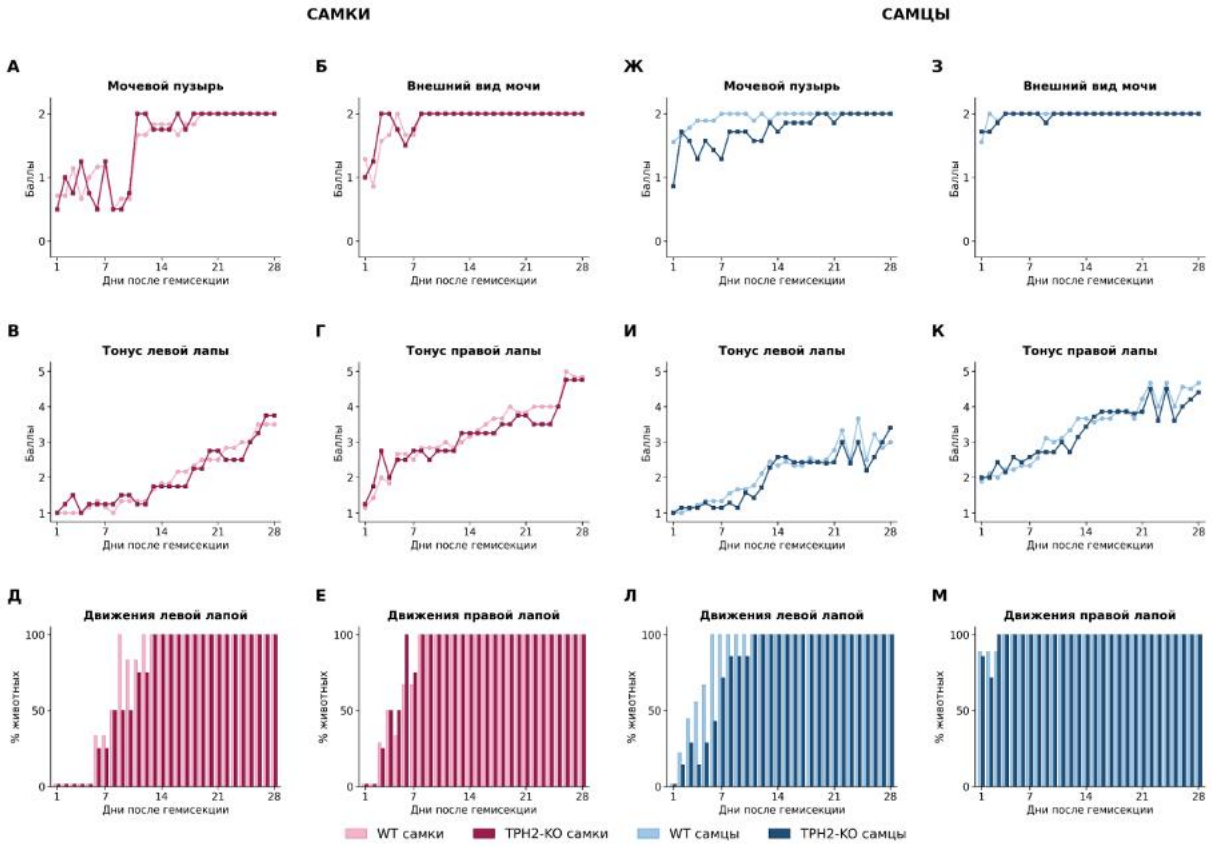


Рисунок 3.7 — Динамика восстановления в течение 28 дней после гемисекции

3.4. Оценка локомоторной и сенсомоторной функции у крыс после латеральной гемисекции

Схема проведения исследований отображена на рисунке 3.8.

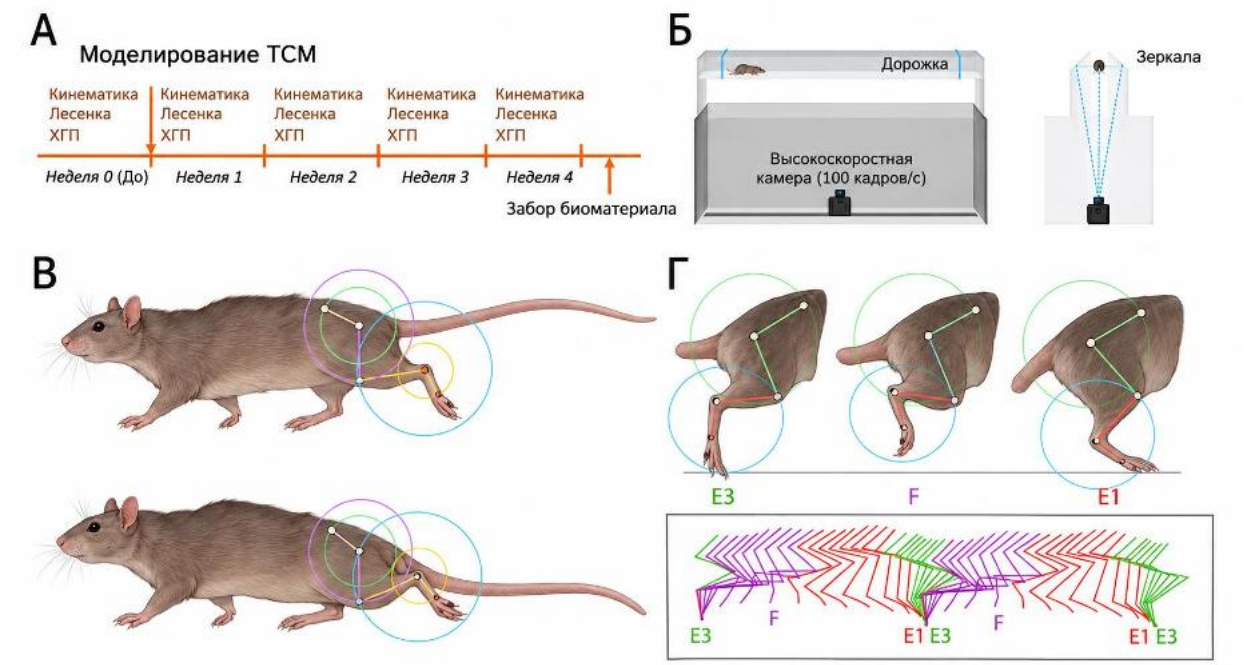


Рисунок 3.8 — Схема проведения эксперимента. ХГП – холодная/горячая пластина; Б – система кинематического анализа Motorater (TSE Systems, Германия), включающая высокоскоростную камеру (100 кадров/секунду), дорожку с прозрачным дном и зеркала; В – репрезентативное изображение походки крысы до травмы (сверху) и через 2 недели после (снизу); Г – локомоторные фазы (точки) E3, F и E1 (сверху) и стик-диаграмма, включающая два локомоторных цикла (снизу): зеленым – фаза опоры; фиолетовым – фаза переноса до точки F (флексия); красным – фаза переноса до точки E1 (экстензия)

3.4.1 Анализ кинематических параметров у животных после латеральной гемисекции

В отличие от анализа дооперационных данных, для анализа восстановления после травмы МГК рассчитывали заново по всем данным всех временных точек отдельно для каждого пола, поскольку после травмы структура ковариаций кинематических показателей изменилась (Рисунок 3.9).

У самок PC1 показала пространственно-временные характеристики локомоции (Рисунок 3.9, 3.10, 3.11). Максимальный вклад в нее вносила длина шага передних конечностей, а также относительные длительности фаз опоры и переноса. PC2 была

представлена коэффициентами межсуставной корреляции, отражающими внутриконечностную координацию. PC3 определялась угловыми параметрами плюснефалангового сустава в фазах F и E3. Дополнительное влияние на данную компоненту оказывали высота подвздошного гребня, высота тазобедренного сустава и максимальная угловая скорость плюснефалангового сустава. PC4 зависела от ретракции конечности, углов коленного и голеностопного суставов в точке E3, а также от высоты кончика хвоста.

У самцов PC1 также состояла из пространственно-временных параметров движения, однако дополнительно включала среднюю скорость локомоции. PC2 у самцов определялась межсуставными корреляционными связями, проявляющимися преимущественно в фазы опоры и разгибания. PC3 формировалась корреляциями, характерными для фазы сгибания, в частности между тазобедренным и коленным суставами. Дополнительное влияние на эту компоненту оказывал угол коленного сустава в фазе F. PC4 зависела от протракции конечности, угловых значений коленного и тазобедренного суставов в точке E3, а также от максимальной угловой скорости голеностопного сустава.

Статистический анализ PC1 у самок выявил достоверное влияние фактора генотипа ($F(1; 23{,}1) = 13{,}34$, $p = 0{,}0013$) и высокозначимый эффект фактора времени, то есть недели наблюдения ($F(4; 61{,}3) = 32{,}04$, $p < 0{,}0001$). Взаимодействие между указанными факторами отсутствовало. Значения PC1 превышали дооперационный базовый уровень на всех сроках посттравматического наблюдения у животных обоих генотипов. У самок группы WT данное повышение было высокозначимым на всех неделях ($p < 0{,}0001$), а у самок TPH2-KO уровни значимости варьировали от $p = 0{,}0013$ до $p = 0{,}0005$. При этом у самок линии TPH2-KO рассматриваемый показатель оставался достоверно ниже, чем у особей WT, на 2–4 неделях ($p = 0{,}010$, $p = 0{,}021$ и $p = 0{,}009$ соответственно). В отношении PC2 также установлено достоверное влияние генотипа ($F(1; 22{,}6) = 9{,}58$, $p = 0{,}0052$) и значимое влияние фактора времени ($F(4; 60{,}9) = 2{,}86$, $p = 0{,}031$). Кроме того, в отличие от PC1, здесь выявлено статистически значимое взаимодействие генотипа и времени наблюдения ($F(4; 60{,}9) = 3{,}13$, $p = 0{,}021$). У самок группы WT значения PC2 на протяжении всего периода наблюдения не демонстрировали достоверных отклонений от дооперационного уровня, тогда как у самок TPH2-KO зафиксировано значимое повышение данного показателя на 3 и 4 неделях ($p = 0{,}0034$; $p = 0{,}0024$). Межгрупповые различия между самками двух генотипов проявились на тех же сроках ($p = 0{,}0001$; $p = 0{,}0017$).

При анализе PC3 статистически значимыми оказались влияние фактора времени ($F(4; 60{,}3) = 13{,}24$, $p < 0{,}0001$) и взаимодействие генотипа с временем ($F(4; 60{,}3) = 2{,}94$, $p = 0{,}027$).

Основное влияние фактора генотипа не достигло порога значимости (p = 0,085). На первой неделе послеоперационного периода наблюдалось резкое повышение значений третьей компоненты у животных обоих генотипов. У самок WT это повышение было высокодостоверным (p < 0,0001), а у самок линии TPH2-KO значимость составила p = 0,0070. Начиная со второй недели, у самок TPH2-KO значения оставались устойчиво повышенными по сравнению с особями WT. Межгрупповые различия на второй, третьей и четвертой неделях составляли p = 0,033, p = 0,019 и p = 0,0033 соответственно. Для PC4 было обнаружено только влияние фактора недели (F(4; 60,4) = 7,68, p < 0,0001), тогда как влияние генотипа и взаимодействие факторов не достигали статистически значимого уровня.

Анализ PC1 у самцов выявил статистически значимое влияние фактора генотипа (F(1; 15,4) = 6,14, p = 0,025) и фактора недели (F(4; 47,2) = 12,26, p < 0,0001) при отсутствии их взаимодействия (Рисунок 3.9, 3.10, 3.12). Повышение значений PC1 относительно дооперационного базового уровня было выражено у самцов WT на всех сроках наблюдения (p < 0,0001 – p = 0,0003). У самцов линии TPH2-KO данное повышение носило менее устойчивый характер и достигало статистической значимости на первой, второй и четвертой неделях (p = 0,015, p = 0,050 и p = 0,013). При этом на первой неделе значения у самцов TPH2-KO были достоверно ниже, чем у особей WT (p = 0,0041). Для PC2 обнаружено выраженное влияние генотипа (F(1; 15,6) = 16,00, p = 0,0011) и значимый эффект фактора недели (F(4; 48,2) = 3,87, p = 0,0084) при отсутствии взаимодействия. Значения PC2 были выше у самцов TPH2-KO по сравнению с самцами WT как до операции (p = 0,0012), так и на второй, третьей и четвертой неделях посттравматического периода (p = 0,0059, p = 0,0070 и p = 0,0006). У самцов WT зафиксировано снижение значений PC2 относительно дооперационного уровня на первой и второй неделях (p = 0,0001 и p = 0,021). Для PC3 статистически значимым оказалось только влияние фактора недели (F(4; 48,5) = 3,95, p = 0,0075). Изменения относительно дооперационного уровня зарегистрированы исключительно у самцов WT (p = 0,0002 – p = 0,012), а межгрупповые различия проявились на третьей и четвертой неделях (p = 0,031 и p = 0,020). Анализ PC4 выявил влияние фактора недели (F(4; 50,4) = 6,43, p = 0,0003). Значимые изменения относительно исходного дооперационного уровня отмечались только у самцов линии TPH2-KO на первой, второй и третьей неделях (p = 0,0005, p = 0,0001 и p = 0,0007).

При рассмотрении отдельных кинематических параметров анализ выявил существенное влияние недели послеоперационного периода на большое число показателей. У самок данный эффект обнаружен для 69 параметров, у самцов для 58 параметров. Наиболее

высокие значения критерия F у самок были зарегистрированы для таких показателей, как высоты подъема стопы (F = 49,39; $p < 0,0001$), максимальной угловой скорости коленного сустава (F = 39,42) и длины шага передних конечностей (F = 39,03). У самцов максимальные значения F отмечались для показателей: угла голеностопного сустава в точке максимального разгибания (F = 23,95), ширины постановки задних лап (F = 19,58) и длины шага передних конечностей (F = 19,16). Влияние фактора генотипа оказалось значимым для 34 показателей у самок и для 37 показателей у самцов. У самок наибольший вклад между генотипами (WT и KO) внесли длительность локомоторного цикла (F = 24,94, $p < 0,0001$), длительность фазы опоры (F = 24,66) и средняя скорость локомоции (F = 24,03). У самцов наиболее выраженное влияние генотипа наблюдалось для длительности фазы переноса (F = 25,58), длительности цикла (F = 23,84) и коэффициента корреляции между коленным и плюснефаланговым суставами в фазу опоры (F = 18,44; $p < 0,001$). Взаимодействие факторов генотипа и времени обнаружено для 11 показателей у самок и для 18 показателей у самцов. У самок наибольшие значения данного эффекта получены для показателя максимальной угловой скорости голеностопного сустава (F = 8,31; $p < 0,0001$) и коэффициента корреляции между голеностопным и плюснефаланговым суставами в фазу опоры (F = 5,50; $p < 0,001$). У самцов наиболее сильное взаимодействие зафиксировано для максимального углового ускорения коленного сустава (F = 5,44; $p = 0,0011$) и корреляции между тазобедренным и голеностопным суставами в фазу разгибания (F = 4,06; $p = 0,0065$).

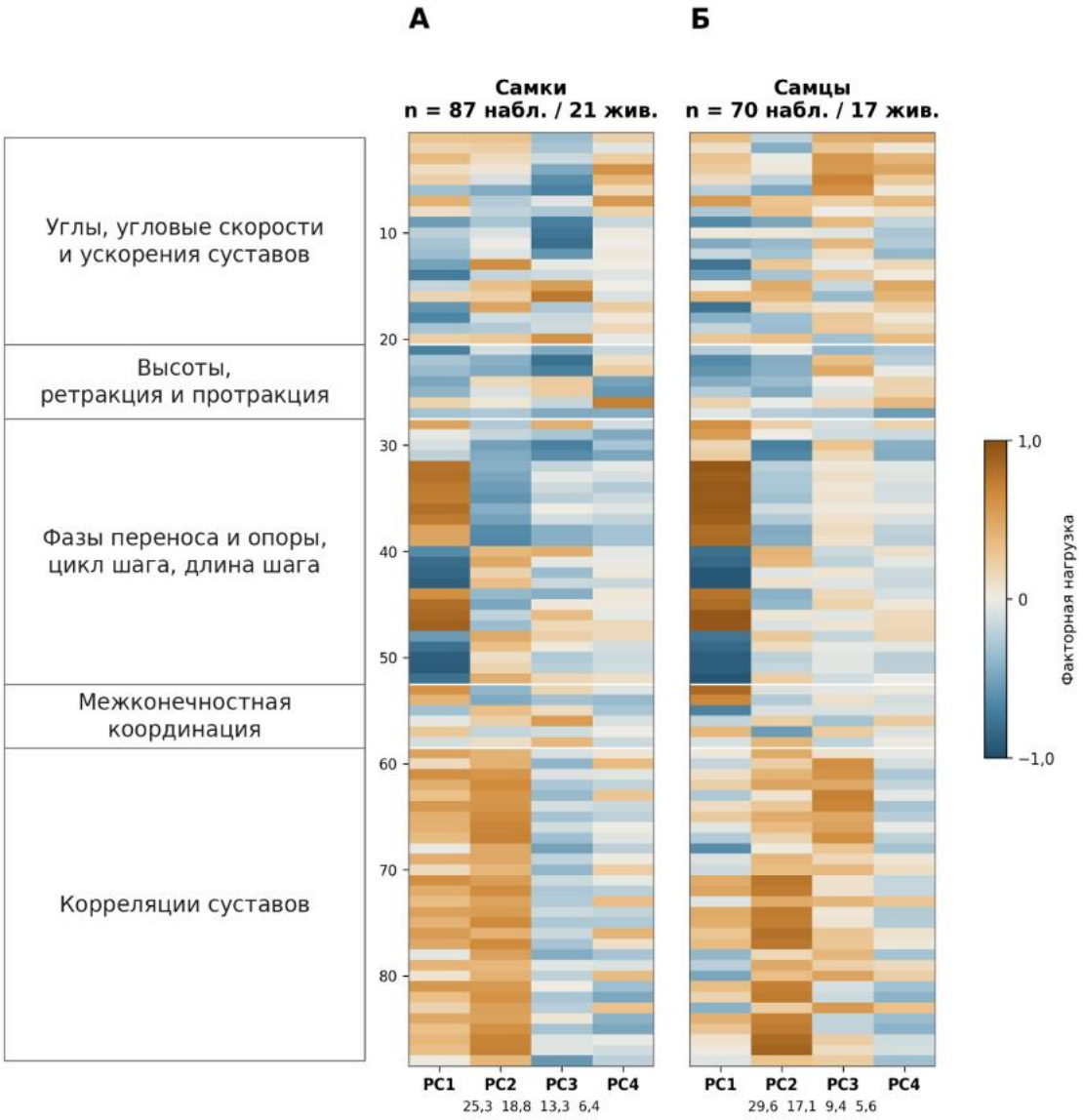


Рисунок 3.9 — Метод главных компонент для кинематических характеристик локомоции крыс после операции. (А) Тепловая карта факторных нагрузок 88 кинематических показателей на первые четыре главные компоненты (PC1–PC4) для самок. (Б) Тепловая карта факторных нагрузок 88 кинематических показателей на первые четыре главные компоненты (PC1–PC4) для самцов

Примечание — Показатели сгруппированы по функциональным блокам, указанным слева; нумерация строк соответствует порядку показателей внутри блоков. Цвет отражает величину и знак факторной нагрузки. Доля объясненной дисперсии указана под каждой панелью.

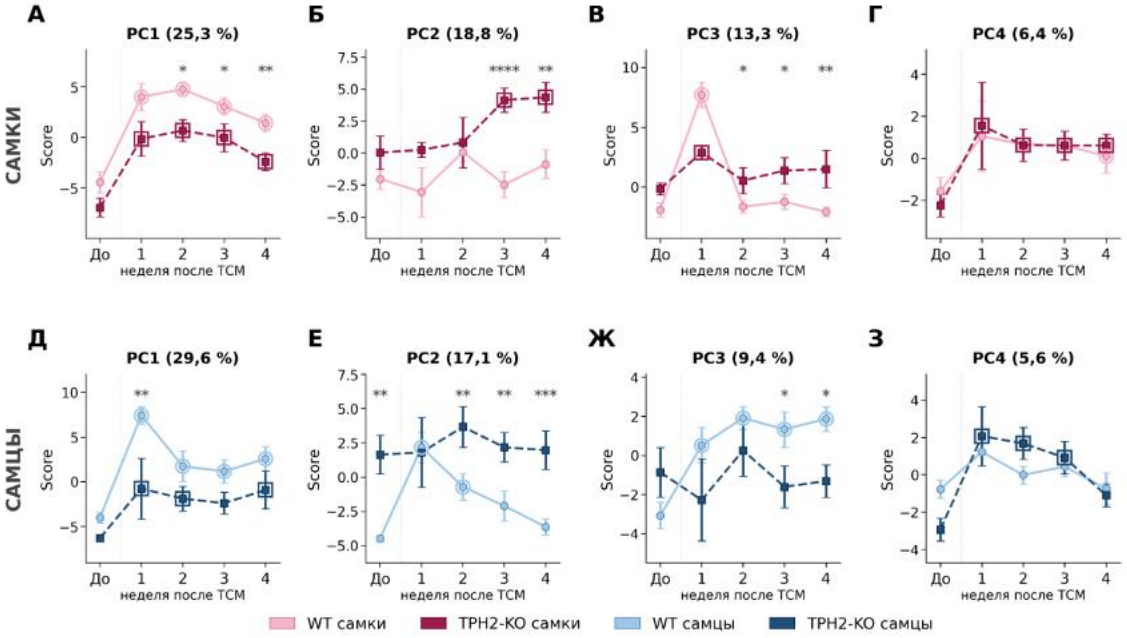


Рисунок 3.10 — Динамика значений главных компонент локомоции после травмы СМ у самок (А–Г) и самцов (Д–З); (А, Д) PC1; (Б, Е) PC2; (В, Ж) PC3; (Г, З) PC4
Примечание — Главные компоненты рассчитаны отдельно для каждого пола по совокупности всех временных точек; доля объясненной дисперсии указана в заголовке каждой панели. Различия оценивали двухфакторным дисперсионным анализом с повторными измерениями (генотип × неделя) в виде смешанной модели с поправкой степеней свободы по Кенворду–Роджеру. n: WT♂ = 9,TPH2-KO♂ = 8, WT♀ = 12,TPH2-KO♀ = 9. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$.

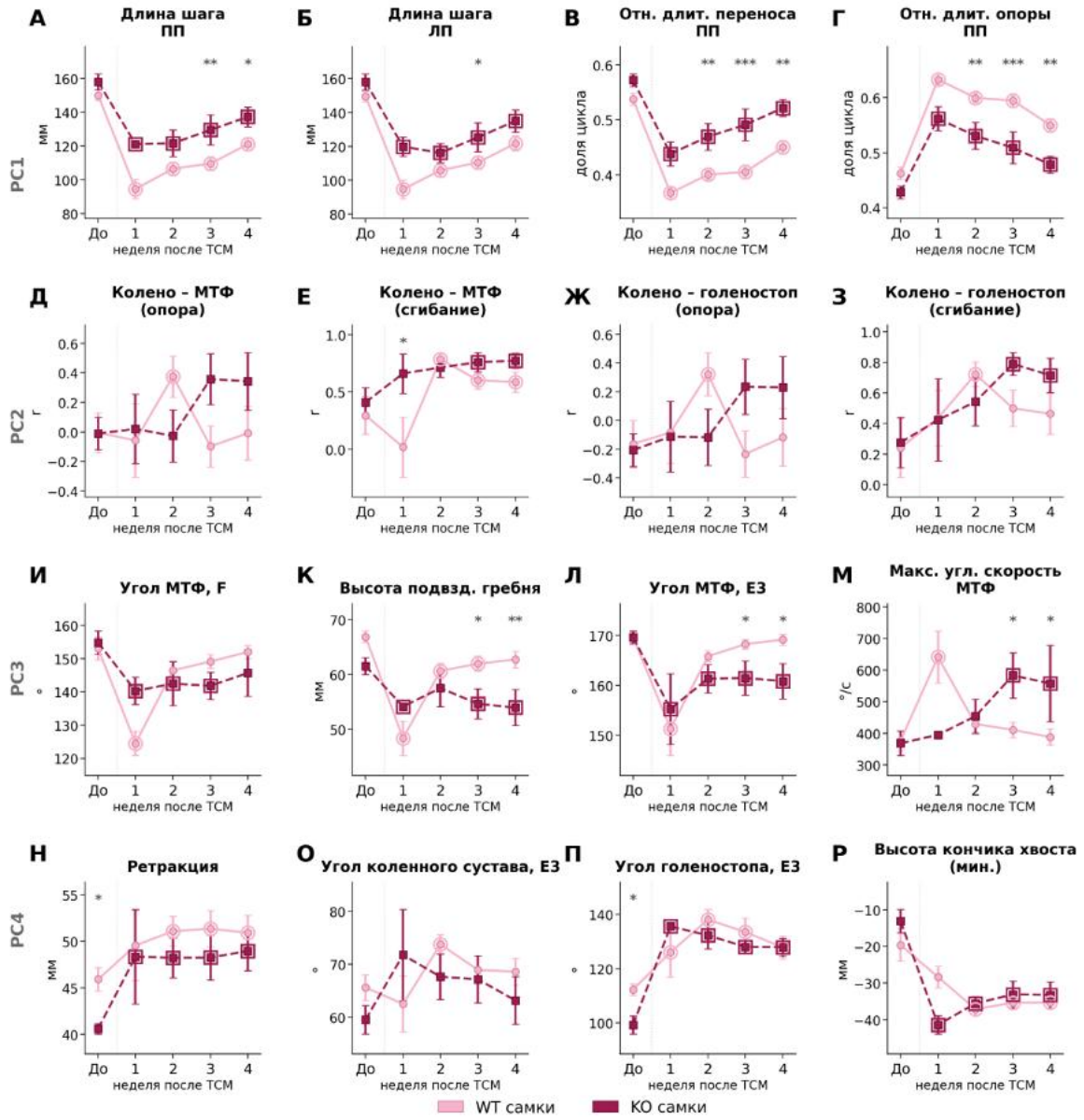


Рисунок 3.11 — Динамика кинематических показателей с наибольшим вкладом в главные компоненты у самок после ТСМ. (А–Г) PC1: длина шага правой (А) и левой (Б) передней конечности, относительная длительность фазы переноса (В) и фазы опоры (Г) правой передней конечности. (Д–З) PC2: коэффициенты корреляции между коленным и плюснефаланговым суставами в фазу опоры (Д) и сгибания (Е), между коленным и голеностопным суставами в фазу опоры (Ж) и сгибания (З). (И–М) PC3: угол плюснефалангового сустава в точках F (И) и E3 (Л), высота подвздошного гребня (К), максимальная угловая скорость плюснефалангового сустава (М). (Н–Р) PC4: ретракция (Н), угол коленного (О) и голеностопного (П) суставов в точке E3, минимальная высота кончика хвоста (Р)

Примечание — Различия оценивали двухфакторным дисперсионным анализом с повторными измерениями (генотип × неделя) в виде смешанной модели с поправкой степеней свободы по Кенворду – Роджеру. *n*: WT♂ = 9,TPH2-KO♂ = 8, WT♀ = 12,TPH2-KO♀ = 9. * $p < 0{,}05$; ** $p < 0{,}01$; *** $p < 0{,}001$; **** $p < 0{,}0001$.

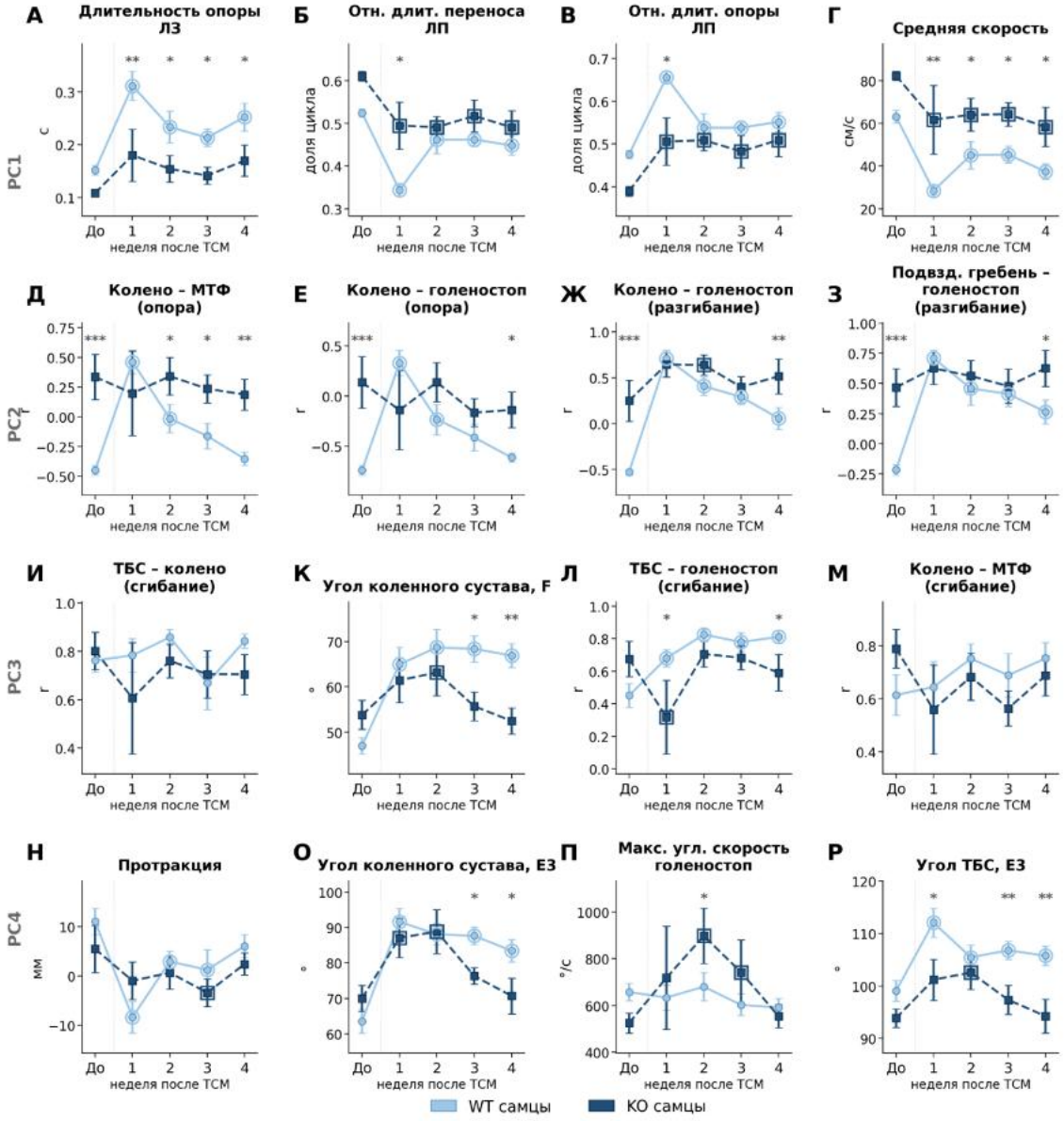


Рисунок 3.12 — Динамика кинематических показателей с наибольшим вкладом в главные компоненты у самцов после ТСМ PC1: (А) длительность опоры ЛЗ; (Б) относительная длительность переноса ЛП; (В) относительная длительность опоры ЛП; (Г) средняя скорость. PC2: (Д) корреляция колено – МТФ (опора); (Е) корреляция колено – голеностоп (опора); (Ж) корреляция колено – голеностоп (разгибание); (З) корреляция подвздошный гребень – голеностоп (разгибание). PC3: (И) корреляция ТБС – колено (сгибание); (К) угол коленного сустава, F; (Л) корреляция ТБС – голеностоп (сгибание); (М) корреляция колено – МТФ (сгибание). PC4: (Н) протракция; (О) угол коленного сустава, E3; (П) максимальная угловая скорость голеностопа; (Р) угол ТБС, E3

Примечание — Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего. «До» — исходный уровень до ТСМ; пунктирная вертикаль отделяет его от недель после ТСМ. n: WT♂ = 9, TPH2-KO♂ = 8. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$.

3.4.2 Оценка моторно-координационной функции в тесте «Горизонтальная лесенка» после ТСМ

Оценка сенсомоторного дефицита осуществлялась раздельно для левой поврежденной и правой интактной задних конечностей в динамике до хирургического вмешательства и на 1–4 неделях после гемисекции СМ (Рисунок 3.13).

При анализе состояния поврежденной конечности у самок статистическая обработка выявила достоверное влияние фактора генотипа ($F(1; 17,4) = 6,46$, $p = 0,0208$), временного интервала наблюдения ($F(4; 65,1) = 40,10$, $p < 0,0001$), а также значимое взаимодействие данных факторов ($F(4; 65,1) = 3,56$, $p = 0,0109$). До операции признаки сенсомоторного дефицита в обеих группах отсутствовали. На 1 неделе после ТСМ наблюдался резкий сенсомоторный дефицит, причем его выраженность была сопоставима у особей обоих генотипов. У самок WT данный показатель был на уровне (71,0 ± 5,4) %, а у самок группы TPH2-KO составлял (64,2 ± 6,50 %). Межгрупповые различия статистически не подтверждались на 1 неделе.

У самок группы WT было показано последовательное снижение дефицита до 36,2 %, 26,6 % и 21,9 % на 2-4 неделях соответственно. В то же время у самок TPH2-KO регенерация функций протекала существенно медленнее (60,3 %, 50,3 % и 47,1 % в аналогичные сроки). Статистически значимые межгенотипические различия сохранялись во всех трех указанных временных точках ($p < 0,01$ для каждого срока).

В группах самцов, напротив, достоверным оказалось исключительно влияние фактора времени ($F(4; 51,6) = 22,02$; $p < 0,0001$). Влияние генотипа ($p = 0,234$) и взаимодействие исследуемых факторов ($p = 0,308$) статистической значимости не достигли. Нарастание дефицита на первой неделе происходило идентично у животных обоих генотипов (WT 41,3 ± 12,8 %; TPH2-KO 41,2 ± 6,9 %). К 4 неделе показатели снижались по сходной траектории, достигая 7,3 % у особей WT и 12,0 % у линии TPH2-KO, при этом значимые межгрупповые расхождения на любом из этапов наблюдения отсутствовали.

Анализ состояния интактной конечности у самок выявил влияние фактора времени ($F(4;67,2) = 13,88$; $p < 0,0001$). Влияние генотипа ($p = 0,412$) и взаимодействие переменных ($p = 0,460$) оказались недостоверными. Сенсомоторный дефицит присутствует на 1 неделе в обеих группах с последующей постепенной нормализацией на последующих неделях. Аналогичная картина наблюдалась и у самцов, где статистически значимым также было

лишь влияние срока наблюдения (F(4; 51,5) = 4,08; p = 0,0060). Влияние генотипа (p = 0,797) и взаимодействие факторов (p = 0,977) не были достоверны.

Полученные данные показывают, что постоянный дефицит центрального 5-НТ негативно влияет на восстановление моторной функции поврежденной конечности. Примечательно, что данный эффект хорошо различим только у самок. У самцов же сенсомоторное восстановление проходит по похожей схеме вне зависимости от генотипа. Такая закономерность вероятно указывает на наличие выраженного полового диморфизма в механизмах посттравматической нейропластичности, которые находятся в зависимости от серотонинергической модуляции.

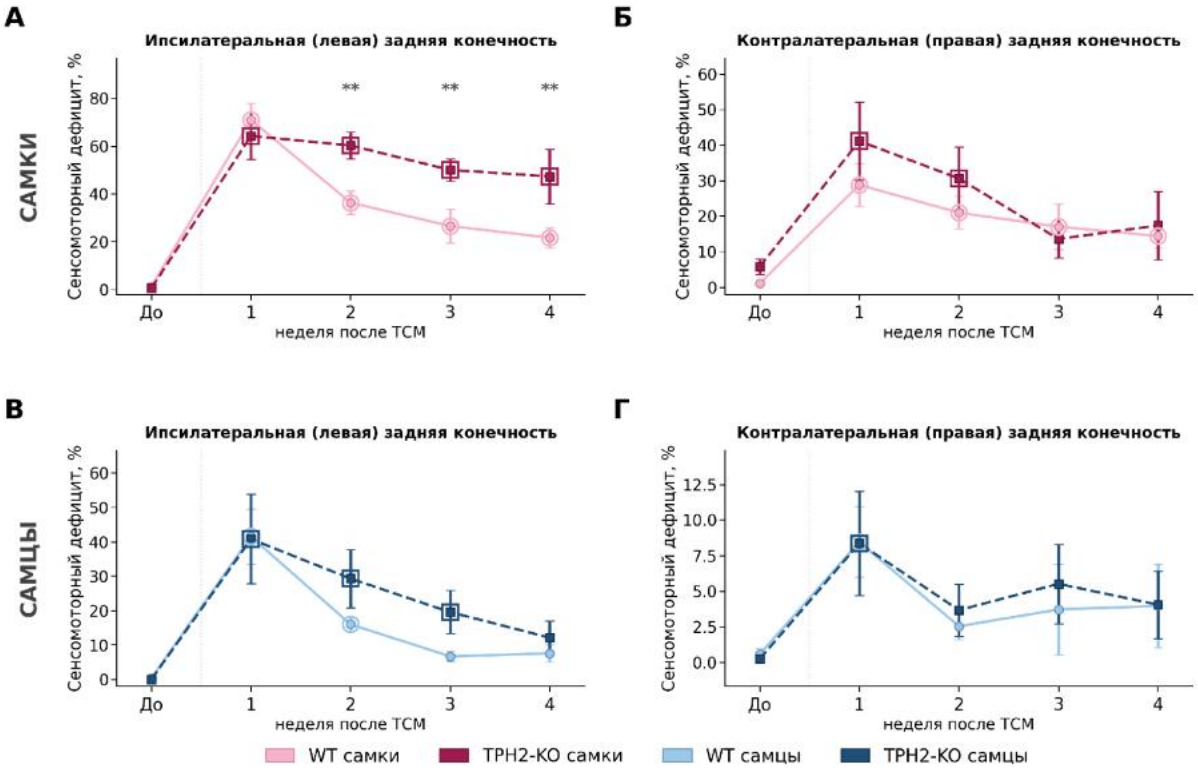


Рисунок 3.13 — Динамика сенсомоторного дефицита в тесте «горизонтальная лесенка» после ТСМ у самок (А, Б) и самцов (В, Г). (А, В) Поврежденная (левая) задняя конечность. (Б, Г) Интактная (правая) задняя конечность. Степень сенсомоторного дефицита (SD) рассчитывали по формуле: SD (%) = (N ошибок + 0,5 × N соскальзываний) / N шагов × 100. Данные представлены как среднее ± SEM. Самки: WT n = 11, ТРН2-КО n = 8; самцы: WT n = 9, ТРН2-КО n = 8

3.4.3 Динамика температурной чувствительности в тесте «ХГП» после ТСМ

При оценке ноцицептивной чувствительности в тесте с холодной пластиной у самок

было зафиксировано достоверное временное различие после операции на исследуемый показатель латентного времени отдергивания правой лапы ($F(4; 44,0) = 24,18$; $p < 0,0001$) (Рисунок 3.14). Влияние генотипа оказалось при этом статистически незначимым ($p = 0,336$), тогда как взаимодействие факторов генотипа и срока наблюдения демонстрировало лишь тенденцию к достоверности ($p = 0,098$). На 1 неделе после ТСМ латентный период возрастал как у особей WT (52,7 ± 2,3 с), так и KO (42,0 ± 3,0 с), что свидетельствует о снижении болевой чувствительности в острой фазе повреждения. На 3 неделе было зафиксировано резкое снижение латентного периода ниже дооперационного уровня (9,1 ± 3,1 с у WT и 16,0 ± 3,4 с у TPH2-KO), после чего к 4 неделе происходила нормализация данного показателя.

В тесте горячей пластины у самок были зафиксированы аналогичные результаты. Было выявлено достоверное влияние исключительно фактора времени ($F(4; 44,0) = 21,49$; $p < 0,0001$) при отсутствии основного эффекта генотипа ($p = 0,853$). Взаимодействие исследуемых факторов проявилось лишь на уровне статистической тенденции ($p = 0,069$). Латентность возрастала на 2 неделе (42,7 ± 3,3 с у особей WT и 53,9 ± 2,6 с у линии TPH2-KO), а затем снижалась к 3 неделе (17,9 ± 5,1 с и 21,3 ± 4,2 с соответственно). Данная динамика полностью соответствует показателям на холодной пластине.

У самцов в тесте с холодной пластиной статистически значимым оказалось исключительно влияние срока наблюдения ($F(4; 60,0) = 3,26$; $p = 0,017$). Влияние генотипа ($p = 0,798$) и взаимодействие факторов ($p = 0,821$) не были достоверны. В отличие от самок, динамика показателей у самцов носила более сглаженный характер. Латентный период колебался в относительно узком диапазоне от 26 до 41 секунды на протяжении всего периода наблюдения. Отсутствие характерного резкого пика на первой неделе свидетельствует о менее выраженной реакции на травматическое воздействие у самцов в условиях холодового ноцицептивного тестирования.

У самцов в тесте с горячей пластиной наблюдаемая картина отличалась от результатов холодной. Помимо значимого влияния срока наблюдения ($F(4; 60,0) = 2,94$, $p = 0,028$), было обнаружено достоверное взаимодействие факторов генотипа и недель наблюдения ($F(4; 60,0) = 2,69$, $p = 0,040$). Но основное влияние генотипа отсутствовало ($p = 0,518$). Межгенотипические различия не были устойчивы. На различных сроках наблюдения группы WT и TPH2-KO поочередно демонстрировали то более высокие, то более низкие значения латентности без формирования однонаправленной тенденции на протяжении всего эксперимента.

Дефицит 5-НТ не оказывал влияния на ноцицептивную чувствительность интактной

конечности после травматического повреждения СМ ни у одной из групп. Общей закономерностью для особей обоих полов и обоих тестов выступало значимое влияние срока наблюдения. Латентное время отдергивания возрастало в течение первой недели после травмы, что отражало снижение болевой чувствительности в острую фазу. Впоследствии регистрировали падение показателя ниже дооперационного уровня к третьей неделе, причем данный феномен был наиболее выражен у самок. Подобная динамика типична для состояния спинального шока с последующим развитием гиперчувствительности каудальнее уровня повреждения и не зависела от генотипа животных.

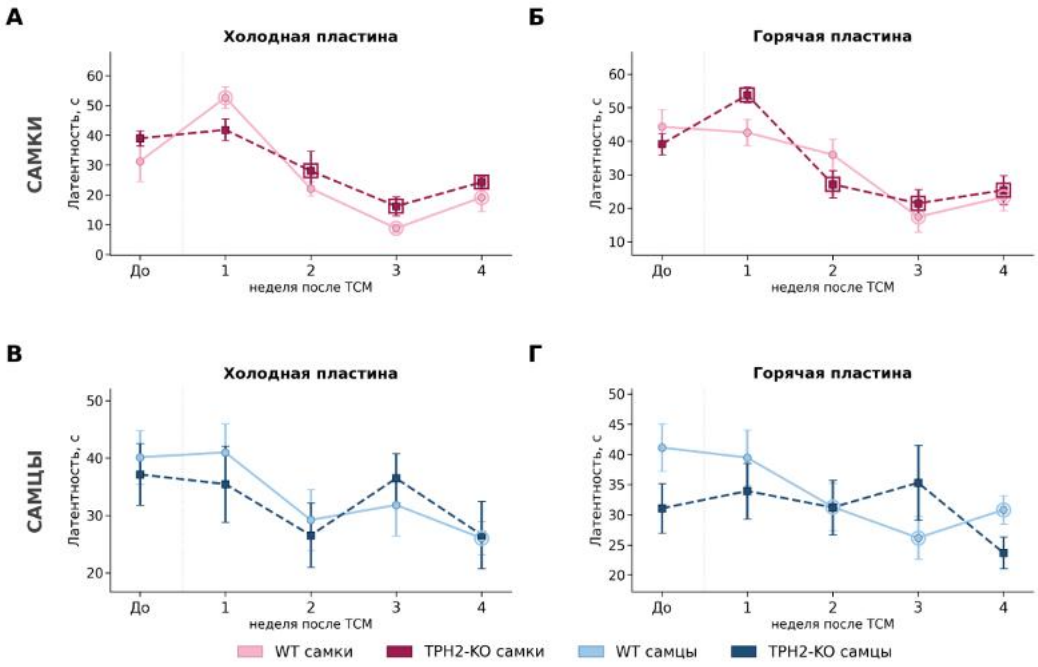


Рисунок 3.14 — Оценка ноцицептивной чувствительности в тестах «горячая» и «холодная пластина» после ТСМ. Среднее ± SEM. Самки: WT n = 11, TPH2-KO n = 8; самцы: WT n = 9, TPH2-KO n = 8

3.5. Иммуногистохимическая характеристика очага повреждения СМ

3.5.1 Реактивный астроглиоз и микроглиоз в очаге травмы

С помощью иммуногистохимического анализа тканей в области повреждения удалось подробно описать, как клеточный и молекулярный ответ различается в зависимости от генотипа. При этом главные различия касались не количества глиальных клеток, а того, как качественно меняется их функциональная активность. Данные самок и самцов анализировали отдельно. Сначала оценивали общие маркеры глиоза: Iba-1 (отражает пул

микроглиальных клеток и инфильтрирующих макрофагов) и GFAP (характеризует реактивный астроглиоз). У самок WT площадь, занятая Iba-1-позитивными клетками, составила 6,57 ± 0,64 %, у самок TPH2-KO — 8,01 ± 0,75 % (p = 0,165); у самцов — 7,89 ± 0,85 % и 7,51 ± 0,54 % соответственно (p = 0,711). Для GFAP значения у самок оказались равны 18,21 ± 1,25 % и 22,56 ± 2,36 % (p = 0,132), у самцов — 21,26 ± 1,87 % и 21,54 ± 4,25 % (p = 0,953) (Рисунки 3.15, 3.20). То есть статистически значимых межгенотипических различий по этим двум базовым показателям не нашли ни у самок, ни у самцов. У самок TPH2-KO намечалась лишь тенденция к более высоким значениям обоих маркеров (в среднем на 22 % для Iba-1 и на 24 % для GFAP). У самцов такой направленности не было.

Совсем другая картина складывается при анализе маркеров функциональной активации, а не просто структурного присутствия клеток. Экспрессия лизосомального антигена CD68, который служит надежным индикатором фагоцитарной активности микроглии и макрофагов, оказалась выше у нокаутных крыс обоего пола по сравнению с контролем: у самок в 1,5 раза (7,34 ± 0,45 % против 4,92 ± 0,48 %; p = 0,002), у самцов в 2,2 раза (8,54 ± 0,74 % против 3,85 ± 1,21 %; p = 0,005) (Рисунки 3.16, 3.17, 3.20). Поскольку общая площадь, занятая Iba-1-позитивными клетками, при этом не менялась, логично заключить, что рост CD68 отражает не пролиферацию или усиленную миграцию микроглии, а именно интенсификацию ее эффекторных функций — захват и переработку клеточного детрита, воспалительных агрегатов и поврежденных компонентов экстрацеллюлярного матрикса. Иными словами, нокаутный генотип связан с переходом микроглии в состояние усиленной фагоцитарной активности, что у самок на фоне тенденции к астроглиозу создает предпосылки для формирования устойчивого воспалительного микроокружения. Накопление липидных включений (краситель Nile Red) также было выше у нокаутных крыс обоего пола: у самок 1,81 ± 0,17 % против 0,69 ± 0,19 % (p < 0,001), у самцов 2,54 ± 0,24 % против 1,02 ± 0,25 % (p < 0,001) (Рисунки 3.16, 3.17, 3.20).

Похожим образом интерпретируется и экспрессия фактора некроза опухоли α (TNF-α) — одного из ключевых цитокинов-инициаторов воспалительного каскада, который повышает проницаемость гематоэнцефалического барьера, привлекает периферические иммунные клетки и усиливает продукцию других воспалительных молекул. Доля площади, занятой TNF-α, у нокаутных крыс оказалась выше, чем у WT, у обоих полов: у самок в 1,5 раза (6,01 ± 0,39 % против 4,00 ± 0,30 %; p = 0,001), у самцов в 1,9 раза (7,24 ± 1,24 % против 3,85 ± 0,25 %; p = 0,029) (Рисунки 3.18, 3.20).

Еще более убедительные различия выявились при оценке провоспалительных

медиаторов, которые напрямую реализуют вторичное повреждение и определяют тяжесть нейровоспалительного ответа. Прежде всего обращает на себя внимание экспрессия индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS) — фермента, ответственного за продукцию высокотоксичного радикала оксида азота, который участвует в окислительном стрессе, нарушении митохондриального дыхания и индукции апоптоза нейронов. У нокаутных животных доля площади, занятой iNOS-позитивными структурами, возросла по сравнению с крысами WT: у самок более чем вдвое (10,88 ± 0,54 % против 5,10 ± 0,48 %; $p < 0,001$), у самцов почти вдвое (12,45 ± 1,24 % против 6,58 ± 1,23 %; $p = 0,004$) Рисунки 3.18, 3.19).

Таким образом, в очаге повреждения направление изменений у самок и самцов совпадало: доля площади, занятой Iba-1- и GFAP-позитивными клетками, между генотипами не различалась, тогда как CD68, липидные включения, iNOS и TNF-α были повышены у TPH2-KO обоих полов. Особенностью самок была лишь не достигшая значимости тенденция к более высоким Iba-1 и GFAP у TPH2-KO (на 22 и 24 %).

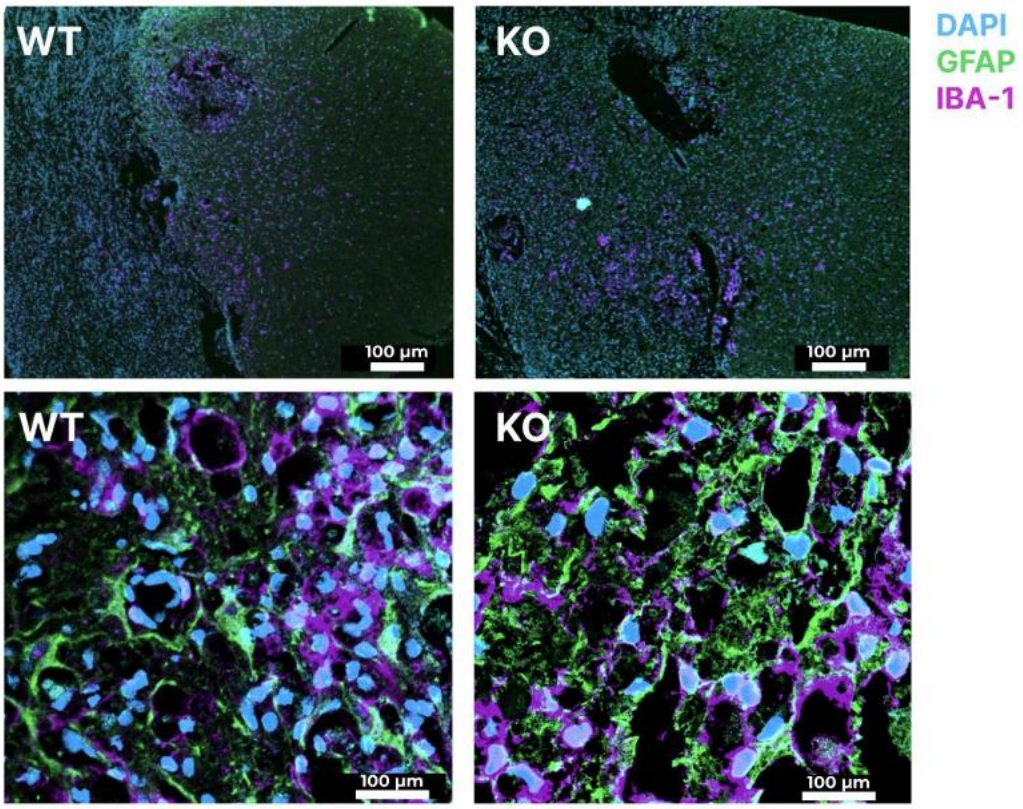


Рисунок 3.15 — Репрезентативные фотографии комбинированного окрашивания срезов СМ на маркер астроглии GFAP, микроглии Iba-1. Масштабная линейка 100 мкм, WT– дикий тип, TPH2-KO – нокаутные животные

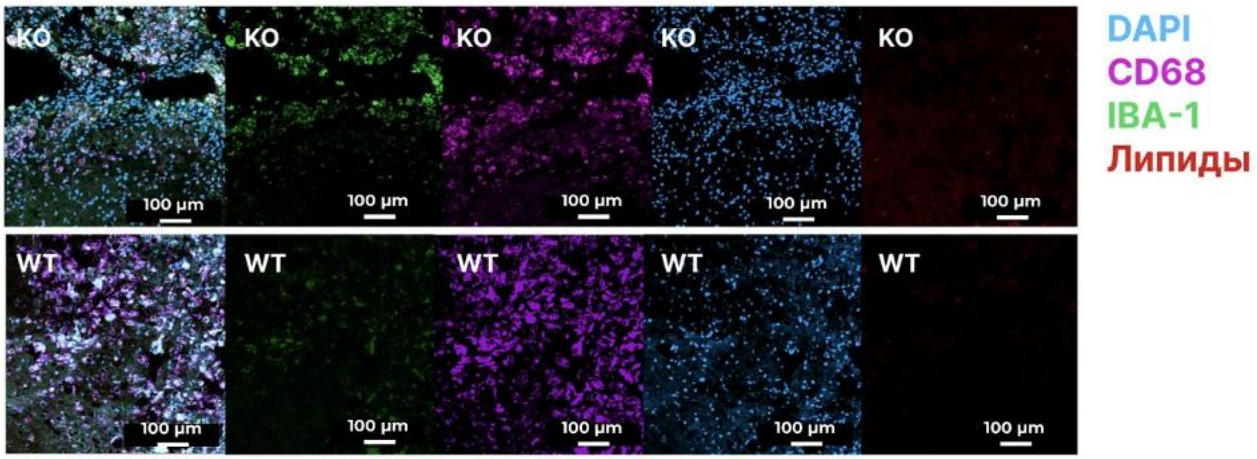


Рисунок 3.16 — Репрезентативные фотографии комбинированного окрашивания срезов СМ на маркер астроглии GFAP, микроглии Iba-1 и CD68 и краситель липидных включений Нильский красный. Масштабная линейка 100 мкм, WT– дикий тип, TPH2-KO – нокаутные животные

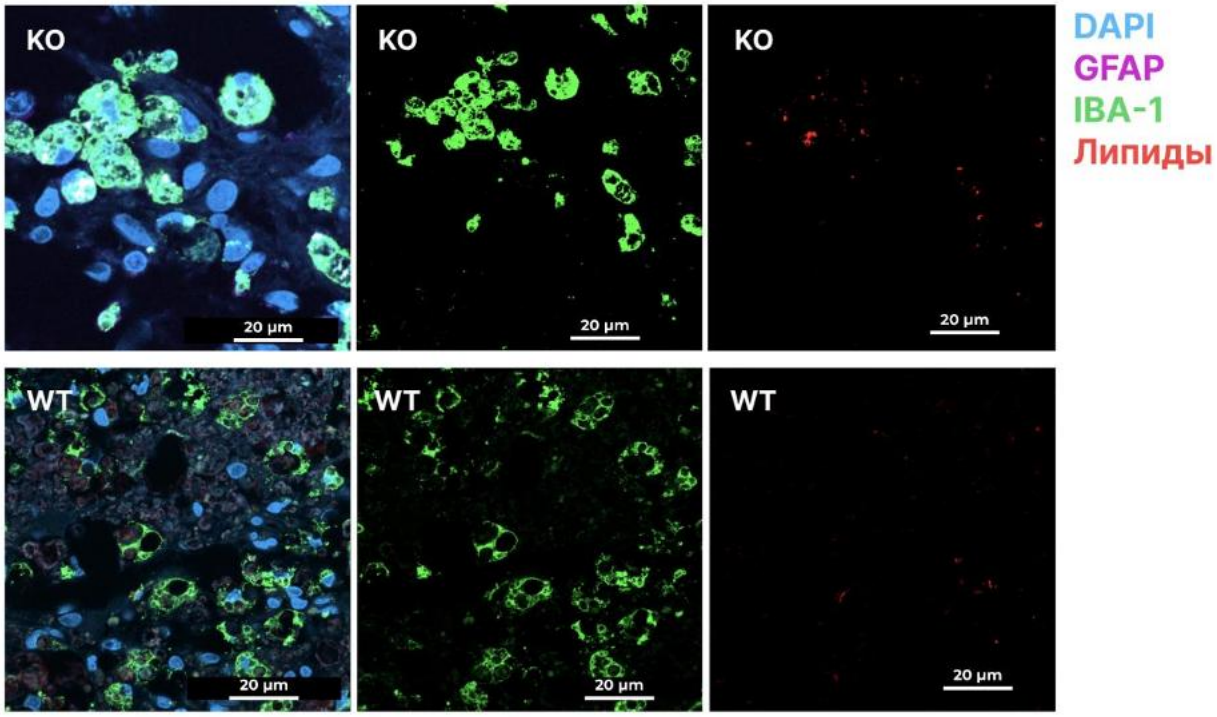


Рисунок 3.17 — Репрезентативные фотографии комбинированного окрашивания срезов СМ на маркер астроглии GFAP, микроглии Iba-1 и CD68 и краситель липидных включений Нильский красный. Масштабная линейка 100 мкм, WT– дикий тип, TPH2-KO – нокаутные животные

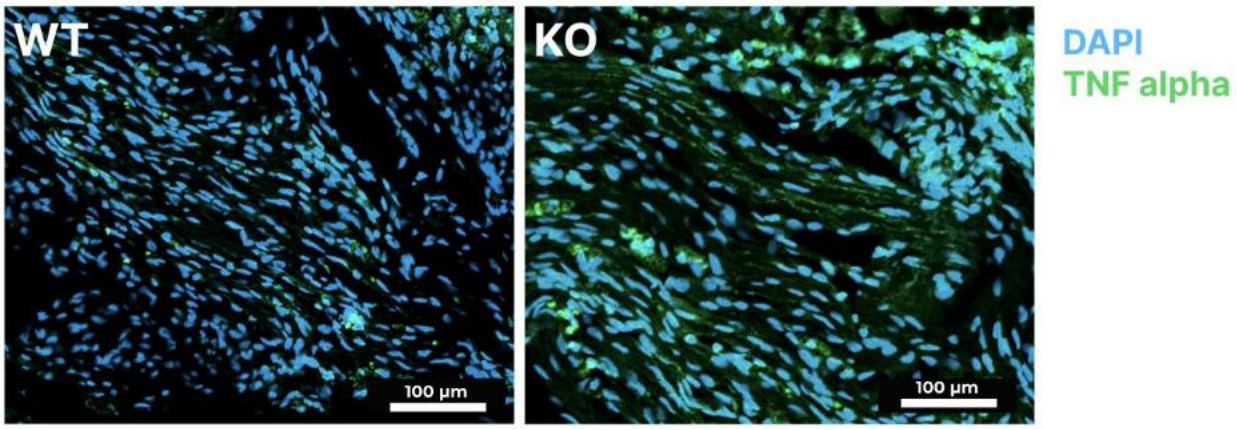


Рисунок 3.18 — Репрезентативные фотографии комбинированного окрашивания срезов СМ на маркер TNF-α. Масштабная линейка 100 мкм, WT– дикий тип, TPH2-KO – нокаутные животные

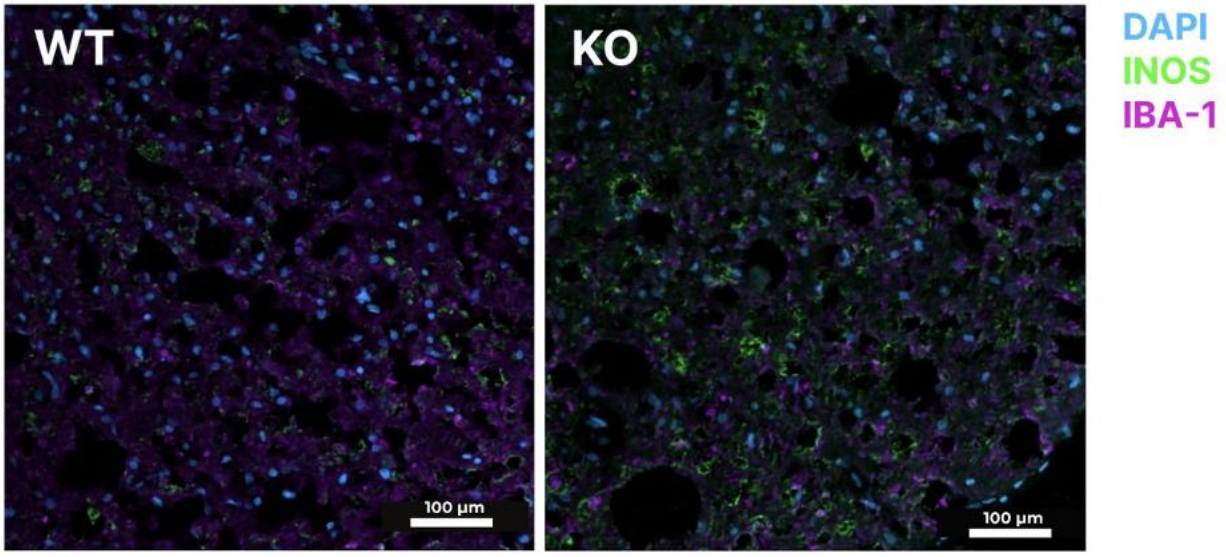


Рисунок 3.19 — Репрезентативные фотографии комбинированного окрашивания срезов СМ на маркер iNOS. Масштабная линейка 100 мкм, WT– дикий тип, TPH2-KO – нокаутные животные

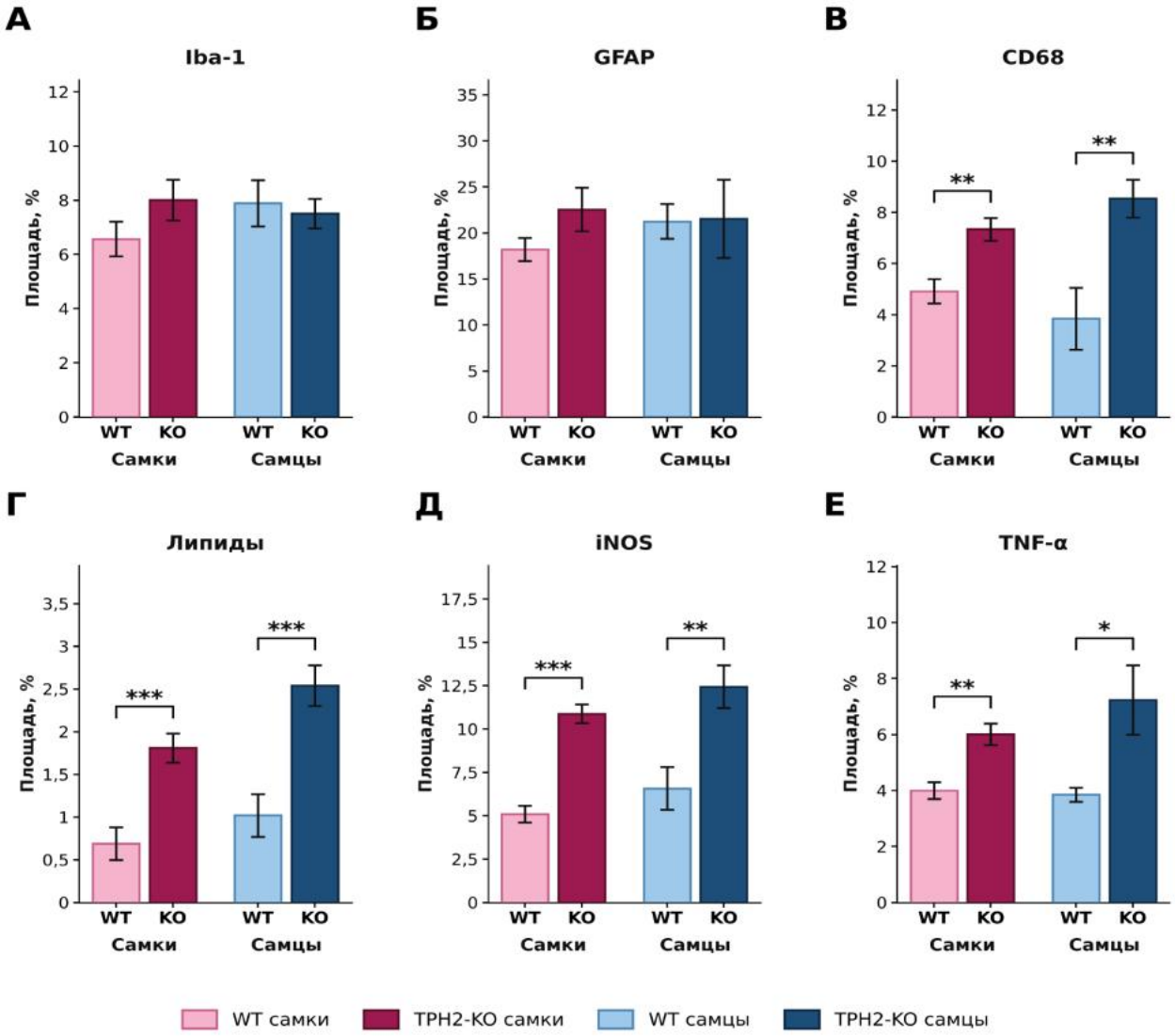
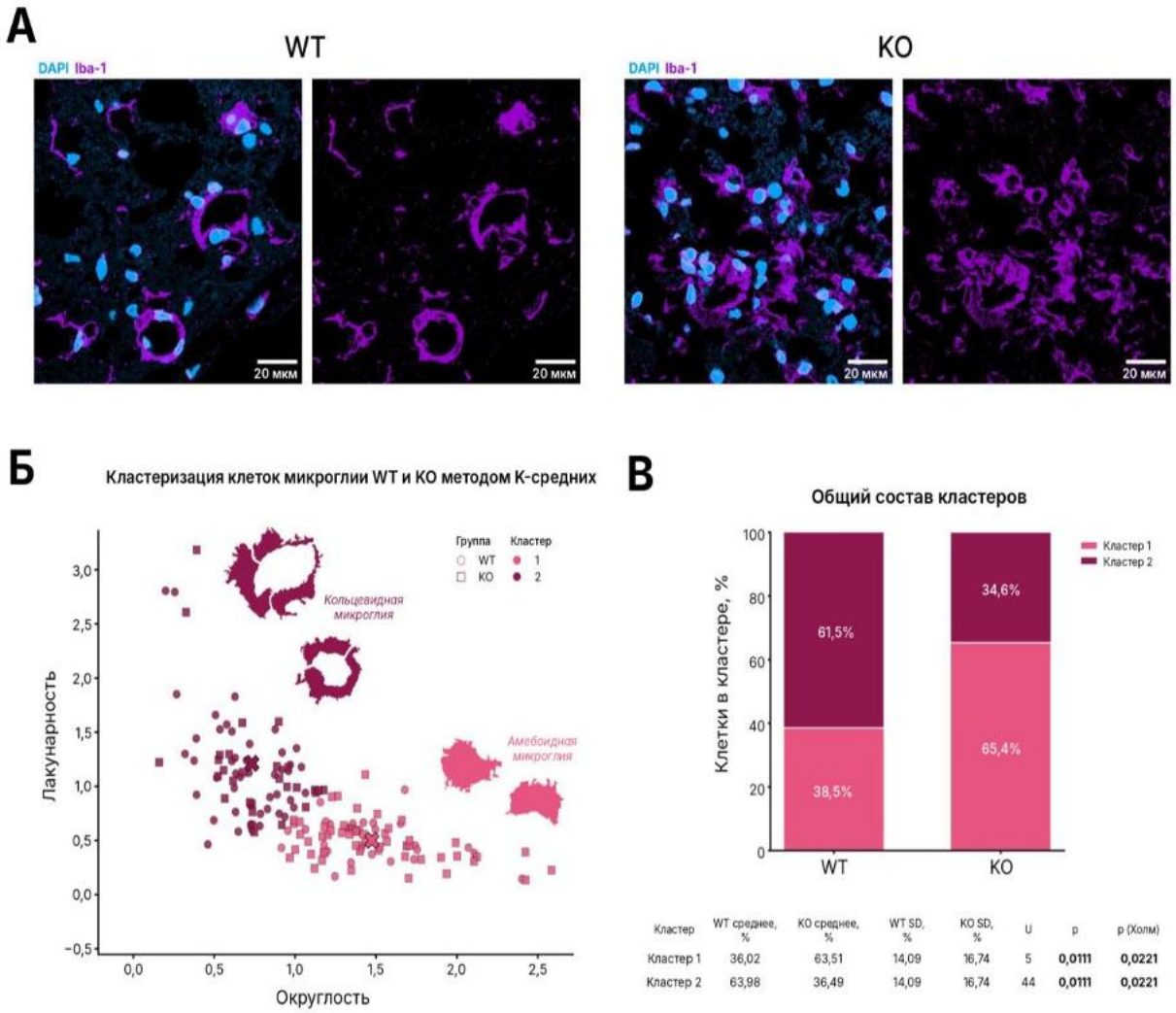


Рисунок 3.20 — Иммуногистохимическая оценка маркеров нейровоспаления и липидных включений у животных WT (WT) и нокаутов (KO). Показана площадь иммунопозитивного материала (Area, %) для маркеров Iba-1, GFAP, CD68, липидных включений, iNOS и TNF-α. Столбцы – среднее арифметическое, усы – стандартная ошибка среднего (M ± SEM). Межгрупповые различия оценивали с помощью U-критерия Манна–Уитни; *** – $p < 0{,}001$

3.5.2 Морфометрия микроглии/макрофагов в очаге травмы

Для характеристики морфологии микроглии в очаге травмы отдельные Iba-1-позитивные клетки животных WT и TPH2-KO (Рисунок 3.21, А) подвергали морфометрическому анализу по показателям округлости и лакунарности. Совместная кластеризация методом K-средних выявила две преобладающие морфометрические группы, что указывает на гетерогенность формы и структурной организации микроглиальных клеток в зоне повреждения у обоих генотипов.



Кластер	WT среднее, %	KO среднее, %	WT SD, %	KO SD, %	U	p	p (Холм)
Кластер 1	36,02	63,51	14,09	16,74	5	**0,0111**	**0,0221**
Кластер 2	63,98	36,49	14,09	16,74	44	**0,0111**	**0,0221**

Рисунок 3.21 — Морфометрическая кластеризация выявляет два преобладающих фенотипа микроглии в очаге ТСМ у крыс WT и TPH2-KO. (А) Репрезентативные иммунофлуоресцентные изображения микроглии, меченной Iba-1 (пурпурный), с докрашиванием ядер DAPI (синий) у животных WT и TPH2-KO. Масштабная линейка 20 мкм. (Б) Кластеризация отдельных клеток микроглии методом K-средних по показателям округлости и лакунарности: выделены два морфометрических фенотипа, соответствующих амебоидной и кольцевидной микроглии. Крестами обозначены центроиды кластеров. (В)

Общий состав кластеров в группах WT и TPH2-KO. Доля кластера 1 была выше у животных TPH2-KO, а кластера 2 – у животных WT. Сравнение долей кластеров на уровне изображений U-критерием Манна–Уитни выявило значимые межгрупповые различия для обоих кластеров (p с поправкой Холма = 0,0221, n = 7)

Два кластера характеризовались различной морфологической конфигурацией, которая визуально соответствовала амебоидной и кольцевидной микроглии (Рисунок 3.21, Б). Оба морфотипа были представлены у животных WT и TPH2-KO, однако их соотношение различалось между группами. У животных WT преобладал кластер 2, на который приходилось 61,5 % всех проанализированных клеток, тогда как на кластер 1 – 38,5 %. У животных TPH2-KO распределение было смещено в сторону кластера 1, составившего 65,4 % проанализированных клеток, при этом на кластер 2 приходилось 34,6 % (Рисунок 3.21, В).

Сравнение долей кластеров на уровне изображений подтвердило значимые различия между генотипами. Средняя доля кластера 1 составила 36,02 ± 14,09 % у животных WT и 63,51 ± 16,74 % у животных TPH2-KO. Соответственно, средняя доля кластера 2 составила 63,98 ± 14,09 % у WT и 36,49 ± 16,74 % у TPH2-KO. Обе разницы оставались статистически значимыми после поправки Холма (U-критерий Манна–Уитни, скорректированное $p = 0,0221$ для каждого кластера).

Таким образом, у крыс обоих генотипов в очаге повреждения СМ присутствуют два преобладающих морфотипа микроглии, при этом дефицит серотонина сопровождается смещением их соотношения в сторону кластера 1. Эти результаты позволяют предположить, что дефицит серотонина может быть связан с изменением морфологической организации микроглии после травмы СМ. Вместе с тем морфометрические различия сами по себе не позволяют установить, соответствует ли тот или иной морфотип определенному функциональному или воспалительному состоянию.

3.6. Структурные нейровоспалительные изменения и нейрогенез в гиппокампе после ТСМ

3.6.1 Структурно-функциональные нейровоспалительные и нейропластические изменения в гиппокампе после ТСМ

В отдельной пилотной серии на самцах крыс линии Wistar оценивали изменения в гиппокампе после повреждения спинного мозга. Через четыре недели после операции

сопоставили животных, перенёсших левостороннюю латеральную гемисекцию, с ложнооперированными животными той же линии (SHAM), которым выполняли ламинэктомию без повреждения спинного мозга. Это сравнение характеризует ответ на травму у самцов Wistar.

Иммуногистохимическое исследование с маркером Iba-1 выявило достоверные региональные различия в активации микроглии в гиппокампе после травмы спинного мозга при $p < 0,05$. Наиболее выраженные изменения наблюдались в поле CA3, где отмечалось значимое увеличение числа Iba-1-позитивных клеток по сравнению с контрольной группой (SHAM: 12,30 ± 3,73 % против ТСМ: 17,38 ± 5,38 %; $p < 0,01$). Клетки микроглии в этой области демонстрировали характерные признаки активации: увеличение размеров тел клеток, утолщение и укорочение отростков, а также изменение их пространственного распределения. В отличие от зоны CA3, в области CA1 статистически значимого увеличения плотности Iba-1-позитивных клеток обнаружено не было (SHAM: 11,42 ± 4,03 % против ТСМ: 11,47 ± 6,92 %; $p > 0,05$). Микроглия в данной области сохраняла преимущественно покоящуюся морфологию с тонкими, хорошо разветвленными отростками, что свидетельствует о селективной уязвимости различных областей гиппокампа к системным эффектам спинальной травмы. Примечательно, что значимые изменения были выявлены в зубчатой извилине, где также зарегистрировано достоверное увеличение количества активированных клеток микроглии (SHAM: 11,14 ± 4,24 % против ТСМ: 15,39 ± 5,34 %; $p < 0,05$). Количественные данные и репрезентативные фотографии окрашивания представлены на рисунке 3.22.

Через четыре недели после операции у самцов Wistar доля площади GFAP-позитивного окрашивания в молекулярном слое зубчатой извилины и хилусе была выше после гемисекции, чем после ложной операции ($p < 0,05$ для каждого сравнения). В хилусе наблюдали очаговые скопления гипертрофированных астроцитов в периваскулярных зонах. Количественные данные и примеры окрашивания представлены на рисунке 3.23.

Плотность BrdU-позитивных клеток оценивали в двух группах: SHAM и ТСМ. Статистический анализ (критерий Манна–Уитни) выявил достоверное снижение числа BrdU-позитивных клеток в гиппокампе после ТСМ ($p < 0,001$). Средняя плотность клеток составило 55 173 ± 18 808 клеток/мм³ (SHAM) против 35 014 ± 22 781 клеток/мм³ (ТСМ). После травмы в гиппокампе самцов Wistar обнаружено меньше клеток с меткой BrdU на единицу объёма, чем после ложной операции. Количественные данные и репрезентативные фотографии окрашивания представлены на рисунке 3.24.

До хирургического вмешательства обе группы демонстрировали сопоставимые результаты в тесте распознавания нового объекта (Novel Object Recognition, NOR), оцениваемые по индексу дискриминации (ИД): группа «SHAM» — 0,37 ± 0,17, группа «ТСМ» — 0,40 ± 0,15 ($p > 0,05$). Однако в послеоперационном периоде между группами были отмечены достоверные различия. В группе без травмы значения оставались стабильными (0,49 ± 0,24), тогда как у животных с латеральной гемисекцией через четыре недели после травмы наблюдалось выраженное снижение до 0,14 ± 0,14 ($p < 0,05$ по сравнению с исходными значениями и $p < 0,001$ по сравнению с группой SHAM). Данные представлены на рисунке 3.25.

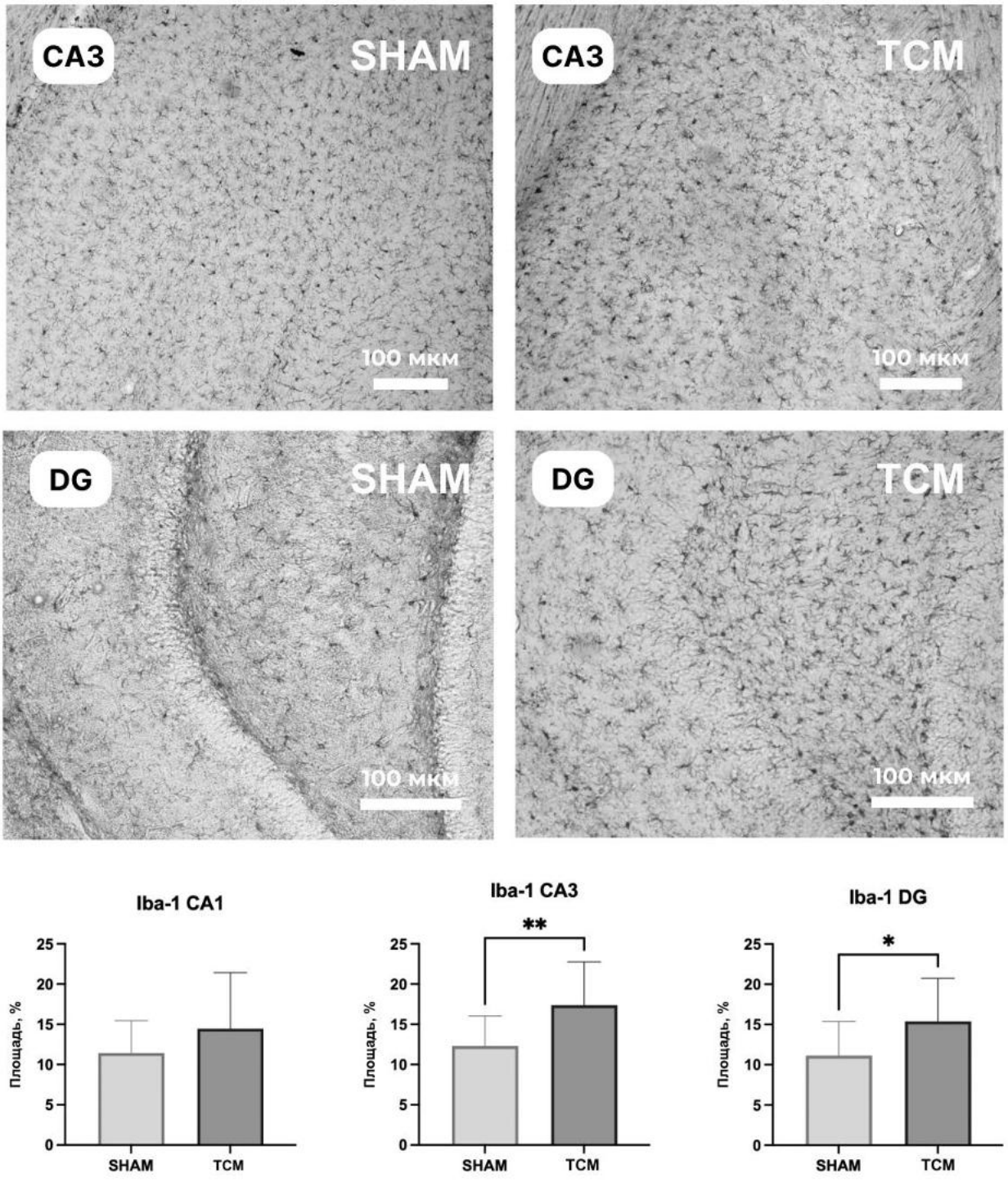


Рисунок 3.22 — Примеры репрезентативных изображений, полученных при иммуногистохимическом окрашивании гиппокампа на маркер микроглии Iba-1. Сравнение плотности Iba-1-позитивных клеток в областях гиппокампа (CA1, CA3, DG) между крысами групп SHAM и TCM, среднее ± SD, (**) $p < 0,01$, (*) $p < 0,05$. Масштабный отрезок: 100 мкм

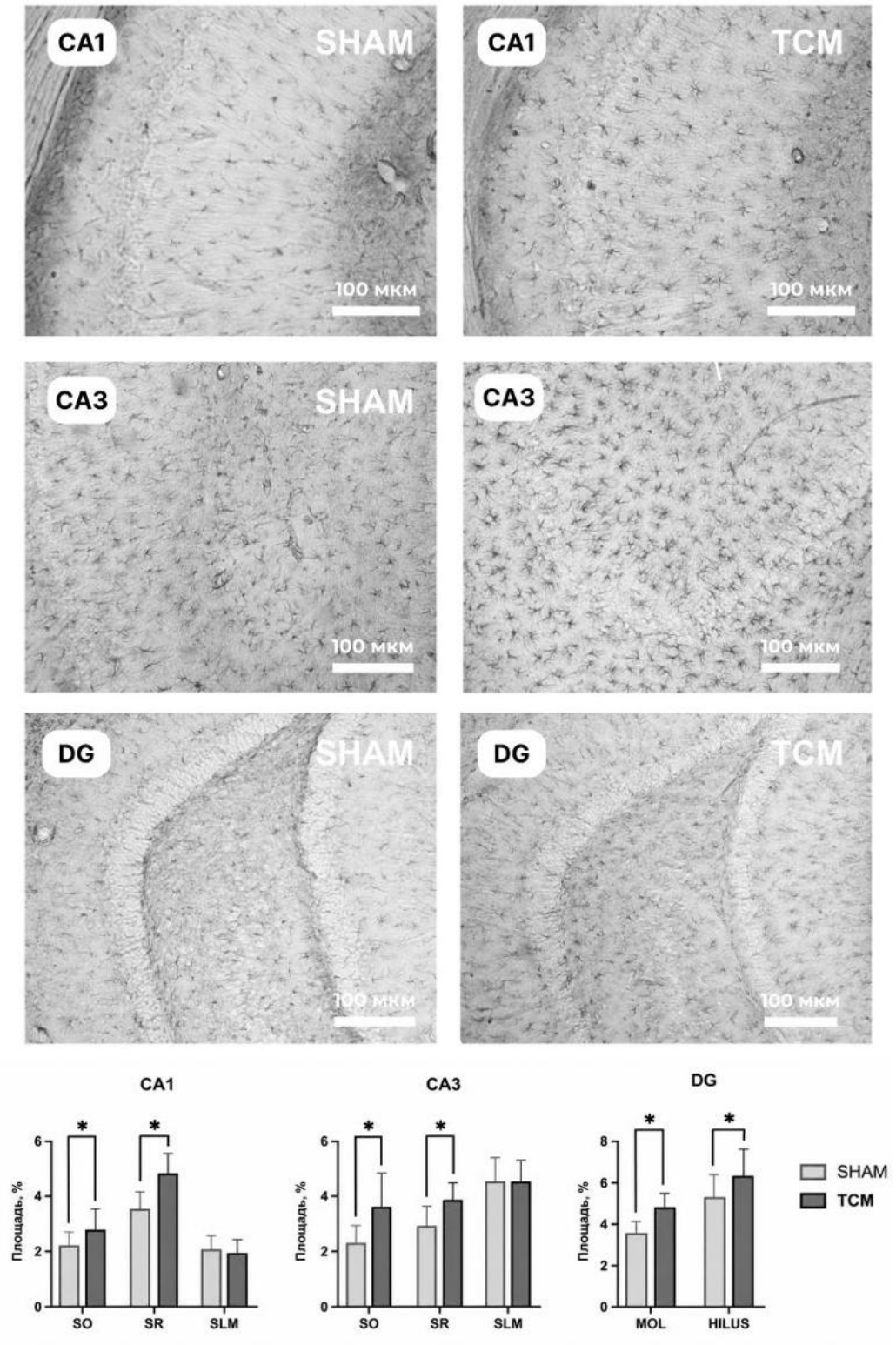


Рисунок 3.23 — Влияние травмы спинного мозга на активность астроглии в гиппокампе. Примеры репрезентативных изображений, полученных при иммуногистохимическом окрашивании гиппокампа на маркер астроглии GFAP. SO — stratum oriens; SR — stratum radiatum; SLM — stratum lacunosum-moleculare. B. Доля площади, занятой GFAP-иммунопозитивным окрашиванием, в областях гиппокампа через 4 недели после операции, среднее ± SD, (*) $p < 0,05$. Масштабный отрезок: 100 мкм

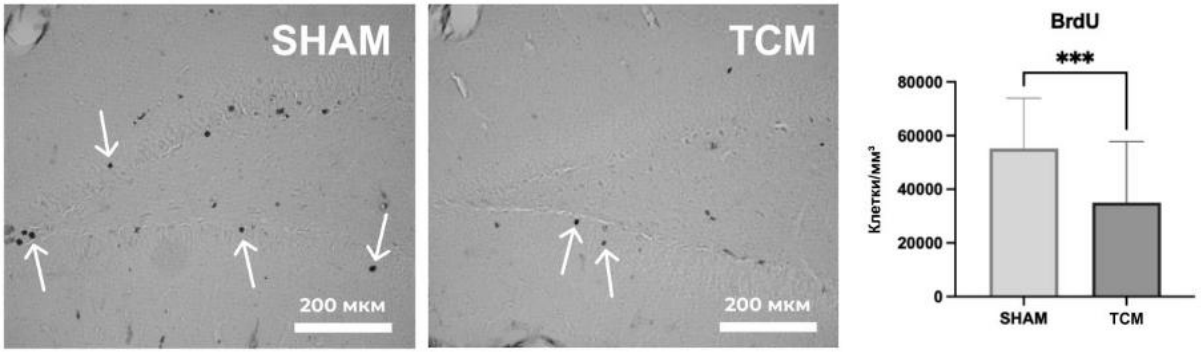


Рисунок 3.24 — Влияние травмы спинного мозга на нейрогенез в гиппокампе. Репрезентативные микрофотографии BrdU-иммуноокрашивания в группах SHAM и TCM. Количественный анализ BrdU-позитивных клеток в гиппокампе, данные представлены как среднее ± SD, (***) $p < 0{,}001$. Масштабный отрезок: 200 мкм

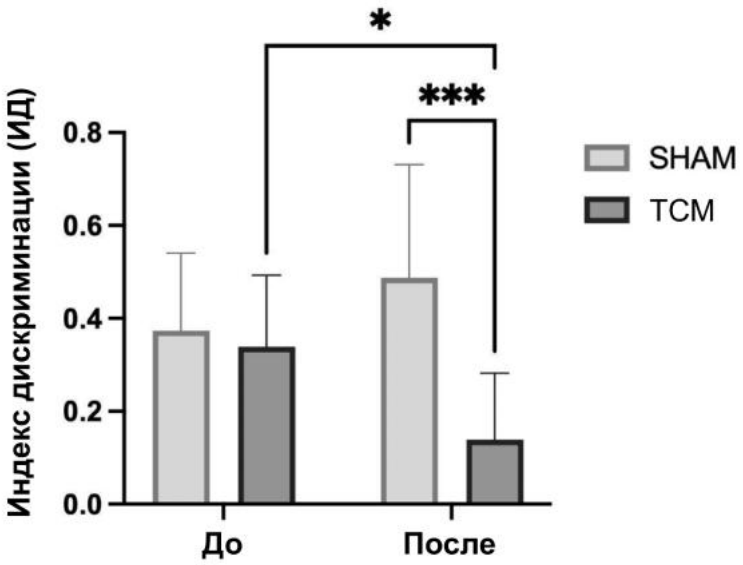


Рисунок 3.25 — Сравнение результатов теста распознавания нового объекта у крыс групп SHAM и TCM до и после операции. Данные представлены как среднее ± SD, (***) $p < 0{,}001$, (*) $p < 0{,}05$

3.6.2 Нейровоспалительные изменения в гиппокампе крыс TPH2-KO после ТСМ

Данные самок и самцов анализировали раздельно. Количественный анализ иммунореактивности не выявил достоверных различий в экспрессии микроглиального маркера Iba-1 в поле CA1 гиппокампа ни у самок, ни у самцов (Рисунок 3.26). У самок площадь иммунопозитивного окрашивания составила 8,87 ± 1,23 % в группе TPH2-KO и 9,85 ± 1,25 % в группе WT (p = 0,584), у самцов – 10,25 ± 0,98 % и 9,08 ± 2,36 % соответственно (p = 0,655). Следовательно, в поле CA1 конституциональная недостаточность центрального 5-НТ не сопровождалась изменением площади Iba-1-позитивного материала. Указанная структура выступает одной из ключевых выходных зон гиппокампа и критически важна для консолидации мнестических следов и пространственного обучения.

Анализ зоны CA3 выявил межгенотипические различия в плотности клеток, экспрессирующих Iba-1, у самок (Рисунок 3.27). Средний уровень иммунореактивности у самок TPH2-KO достигал 9,85 ± 1,24 %, в то время как у самок WT данный показатель был ниже и составлял 5,52 ± 1,24 % (p = 0,025). Таким образом, плотность активированной микроглии в зоне CA3 у нокаутных самок оказалась выше в 1,8 раза по сравнению с контролем. У самцов значения составили 11,21 ± 2,65 % у TPH2-KO и 4,98 ± 2,54 % у WT; при кратной разнице средних (2,3 раза) различия не достигли уровня значимости (p = 0,110) на фоне высокой вариабельности показателей в обеих группах. Анатомо-функциональная организация поля CA3 характеризуется наличием разветвленной сети рекуррентных коллатералей и исключительной степенью синаптической пластичности, что предопределяет высокую уязвимость данной структуры к любым воспалительным воздействиям. Рост плотности микроглии у самок в этом поле отражает не только усиление местного нейровоспаления, но и, возможно, нарушение синаптической модуляции, которую в норме обеспечивает серотонин: именно он контролирует возбудимость пирамидных нейронов поля CA3.

Исследование зубчатой извилины выявило статистически значимое возрастание экспрессии маркера Iba-1 у животных TPH2-KO по сравнению с особями WT как у самок, так и у самцов (Рисунок 3.28). У самок среднее значение площади иммунопозитивного материала в нокаутной группе составило 12,85 ± 0,25 %, тогда как в контрольной группе – 7,89 ± 1,25 % (p = 0,003); у самцов – 15,85 ± 1,24 % и 8,74 ± 2,24 % соответственно (p = 0,015). Указанное увеличение (в 1,6 раза у самок и в 1,8 раза у самцов) подтверждает факт активации микроглии именно в зубчатой извилине. Данная структура относится к числу немногих

регионов зрелого мозга, в которых сохраняется способность к нейрогенезу. Активация микроглиальных элементов в зубчатой извилине способна оказывать прямое модулирующее влияние на пролиферативную активность и выживаемость нейральных стволовых клеток, а также на процессы интеграции вновь образованных нейронов в существующие синаптические сети. Усиление микроглиальной реакции у нокаутных животных в этой зоне позволяет выдвинуть предположение о том, что серотониновая недостаточность формирует неблагоприятное клеточное микроокружение для нейрогенных процессов. Подобные сдвиги потенциально усугубляют нейропластические дефекты, развивающиеся в ответ на травматическое повреждение.

Количественный анализ микрофотографий не выявил статистически значимых межгрупповых различий в уровне экспрессии маркеров астроглии, а именно GFAP и S100β, ни у самок, ни у самцов (Рисунок 3.29). Площадь GFAP у самок составила 20,87 ± 3,54 % в группе TPH2-KO и 18,87 ± 2,23 % в группе WT (p = 0,641), у самцов – 19,87 ± 2,87 % и 19,87 ± 1,98 % (p = 1,000); площадь S100β у самок – 7,02 ± 2,36 % и 5,78 ± 1,25 % (p = 0,652), у самцов – 7,54 ± 1,98 % и 6,24 ± 1,78 % (p = 0,632). Вместе с тем при визуальной оценке препаратов астроциты были реактивно перестроены: тела клеток гипертрофированы, отростки утолщены, суммарная занимаемая ими площадь увеличена. Эти изменения встречались одинаково часто у всех прооперированных животных, независимо от генотипа.

Таким образом, в зубчатой извилине повышение площади Iba-1 выявлено у обоих полов, в поле CA3 – значимо только у самок (у самцов в 2,3 раза, p = 0,110), в поле CA1 и по маркерам астроглии (GFAP, S100β) различий нет ни у одного пола.

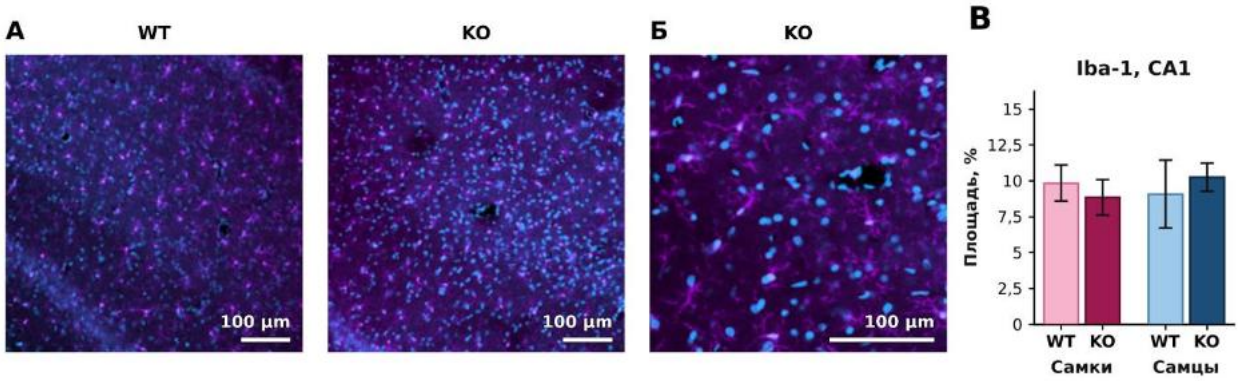


Рисунок 3.26 — Иммуногистохимическое окрашивание на маркер микроглии Iba-1 в поле CA1 гиппокампа. А — репрезентативные микрофотографии животных WT и TPH2-KO, увеличение 10×; Б — репрезентативная микрофотография животного TPH2-KO, увеличение 20×; В — уровень экспрессии маркера Iba-1 в поле CA1 гиппокампа. Данные представлены как среднее значение ± SD. Масштабные линейки — 100 мкм. WT — дикий тип; KO — животные с нокаутом гена *Tph2*

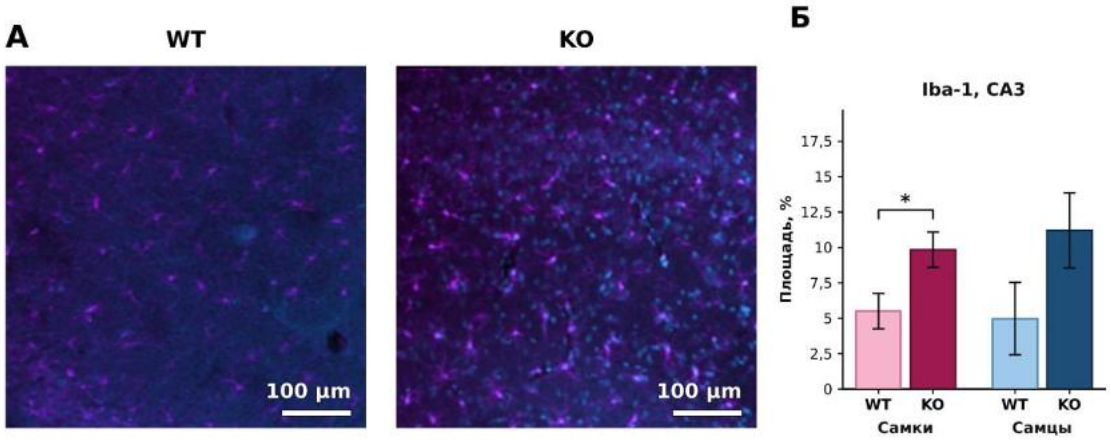


Рисунок 3.27 — Иммуногистохимическое окрашивание на маркер микроглии Iba-1 в поле CA3 гиппокампа. А — репрезентативные микрофотографии животных WT и TPH2-KO, увеличение 10×; Б — уровень экспрессии маркера Iba-1 в поле CA3 гиппокампа. Данные представлены как среднее значение ± SD. Масштабные линейки — 100 мкм. WT — дикий тип; KO — животные с нокаутом гена *Tph2*

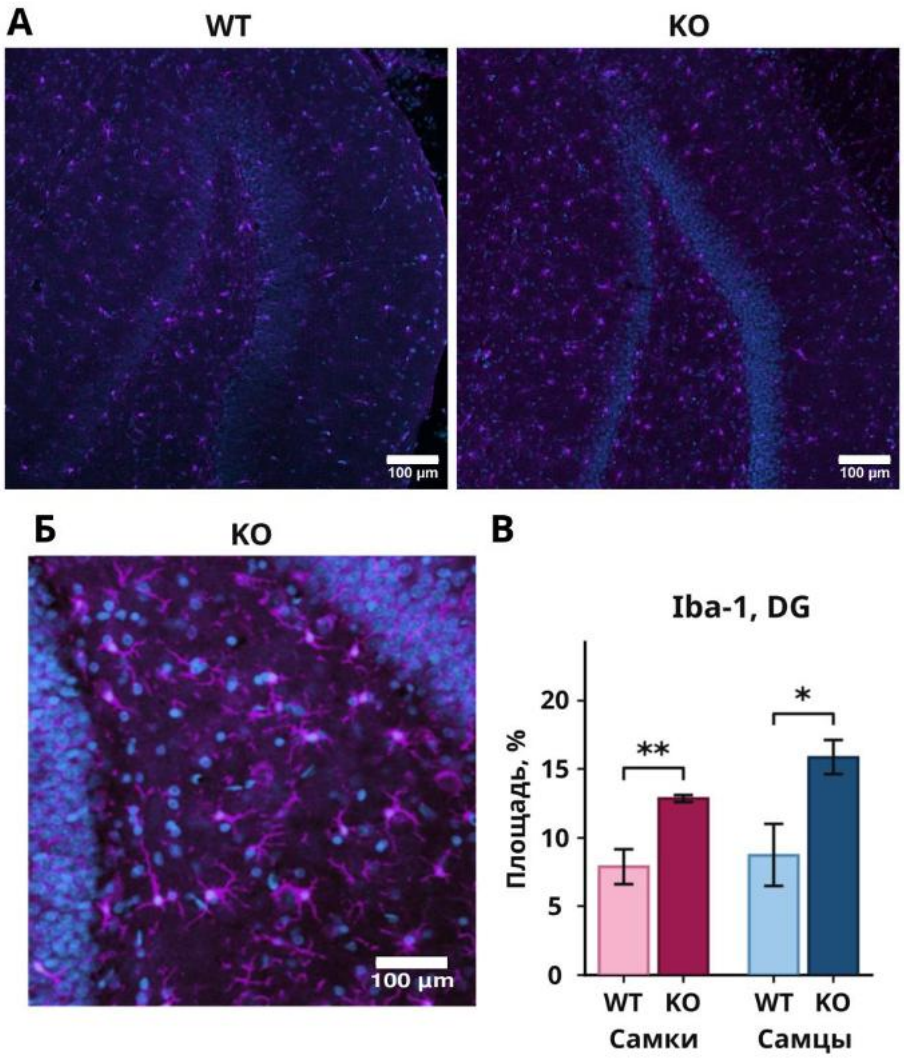


Рисунок 3.28 — Иммуногистохимическое окрашивание на маркер микроглии Iba-1 в зубчатой извилине гиппокампа. А — репрезентативные микрофотографии животных WT и TPH2-KO, увеличение 10×; Б — репрезентативная микрофотография животного TPH2-KO, увеличение 20×; В — уровень экспрессии маркера Iba-1 в зубчатой извилине гиппокампа. Данные представлены как среднее значение ± SD. Масштабные линейки — 100 мкм. WT — дикий тип; KO — животные с нокаутом гена *Tph2*

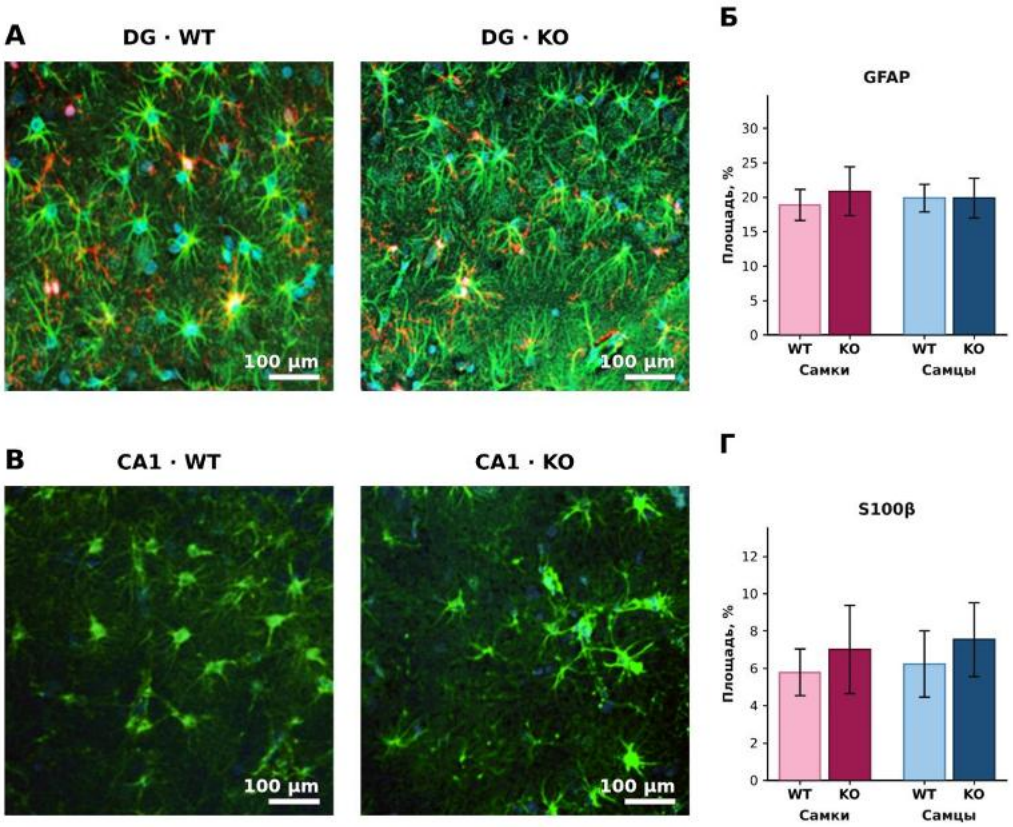


Рисунок 3.29 — Иммуногистохимическое окрашивание на маркеры астроглии GFAP и S100β в гиппокампе животных WT и TPH2-KO. А — репрезентативные микрофотографии зубчатой извилины (DG); Б — уровень экспрессии маркера GFAP в гиппокампе; В — репрезентативные микрофотографии поля CA1; Г — уровень экспрессии маркера S100β в гиппокампе. Зеленый цвет — GFAP, красный — S100β. Данные представлены как среднее значение ± SD. Масштабные линейки — 100 мкм. WT — дикий тип; KO — животные с нокаутом гена *Tph2*

3.6.3 Нейрогенез в гиппокампе самцов крыс TPH2-KO после ТСМ

Через четыре недели после травмы спинного мозга у самцов с нокаутом гена Tph2 и самцов дикого типа сравнили плотность BrdU-меченых клеток в субгранулярной зоне зубчатой извилины. BrdU вводили в течение первых трёх дней после операции. Дооперационную плотность меченых клеток в этой серии не определяли. У самцов с нокаутом гена Tph2 плотность меченых клеток составила 11 179 ± 2 329 клеток/мм³, у самцов дикого типа - 32 063 ± 5 635 клеток/мм³ ($U = 132{,}0$, $p < 0{,}001$, рисунок 3.30). Таким образом, после травмы плотность клеток с меткой у нокаутных самцов была примерно в 2,9 раза ниже.

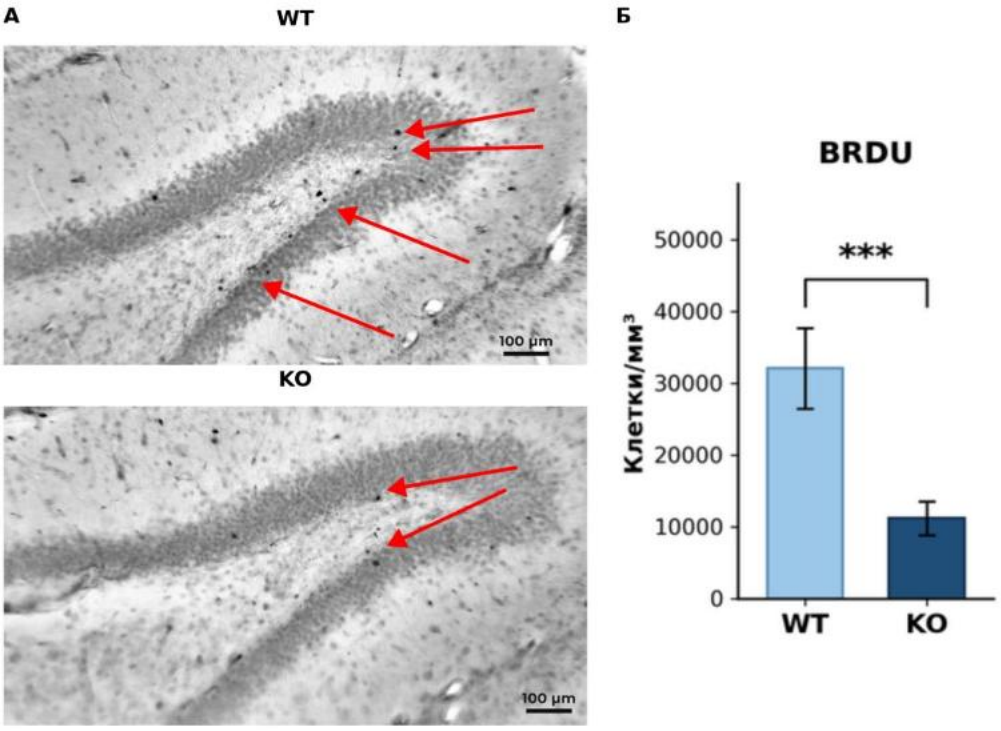


Рисунок 3.30 — Количественный анализ BrdU-меченых клеток в субгранулярной зоне. А: количественная оценка BrdU-меченых клеток в субгранулярной зоне зубчатой извилины гиппокампа. Межгрупповые различия оценивали с помощью U-критерия Манна-Уитни. В: Репрезентативные микрофотографии BrdU-меченых клеток в субгранулярной зоне зубчатой извилины гиппокампа

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее анализ поведенческого фенотипа крыс TPH2-KO концентрировался только на выявлении аффективных, тревожных и мнестических нарушений. Вместе с тем указанные модельные организмы обладают высоким потенциалом для изучения сенсомоторных функций (Alonso et al., 2024; Meng et al., 2022). Обоснованность таких исследований базируется на фундаментальном значении 5-HT в нейрорегуляции локомоции (Ghosh, Pearse, 2015), а также на выраженных поведенческих изменениях, наблюдаемых у TPH2-KO (Meng et al., 2022). Недостаточность 5-HT в ЦНС с рождения может вызвать комплексное нарушение онтогенеза и реорганизацию функционирования сенсомоторных сетей. Такие изменения могут быть объяснены природой 5-HT, который в эмбриогенезе действует как важнейший трофический фактор (Pino et al., 2004), а во взрослом возрасте работает как важный нейромодулятор (Kawashima, 2018).

Результаты настоящей работы объективно подтверждают модификацию целого ряда

кинематических параметров локомоции у крыс TPH2-KO. Наиболее выраженные изменения включают уменьшение длительности фаз цикла переноса и опоры левой задней конечности по сравнению с контрольными животными WT. В целом наблюдаемое увеличение скорости локомоции у крыс TPH2-KO указывает на нарушение регуляции моторного ритма, подчеркивая роль 5-HT как регулятора динамических параметров движения. Известно, что серотонинергическая система модулирует моторный контроль через сложные взаимодействия с ключевыми структурами (базальные ганглии, мозжечок, спинной мозг), причем ее эффекты разнонаправлены и зависят от типа рецепторов, концентрации нейромедиатора, временных паттернов активности, а также поведенческого контекста (Kawashima, 2018; Lesch et al., 1996). Эта система интегрирует разнородную информацию и, по-видимому, использует общие вычислительные принципы (например, накопление данных об активности) для модуляции как движений, так и других функций. Известно, что блокада серотониновых рецепторов или любое ингибирование синтеза 5-HT у грызунов часто приводит к нарушениям походки. В исследовании на мышах с нокаутом *Tph2* было показано, что дефицит 5-HT специфически нарушает тормозный контроль действий, не вызывая общей гиперактивности (Angoa-Pérez et al., 2012). Это проявлялось у животных в виде появления патологических моторных стереотипий (компульсивное закапывание знакомых и незнакомых объектов) и моторной импульсивности, отражающейся в неспособности подавлять реакции в условиях потенциальной угрозы (тест подавления пищевого поведения новизной и тест выхода из темного отсека в светлый). По-видимому, в норме серотонинергические проекции к спинальным сетям оказывают модулирующее, часто тормозное влияние, а хронический дефицит приводит к снижению тормозного контроля и повышению возбудимости моторных сетей. Это согласуется с литературными данными, так как было показано, что после повреждения ядер шва у животных повышалась спонтанная двигательная активность (Sachenko, Khorevin, 2001), а у мышей TPH2-KO фиксировалась гиперлокомоция, вызванная введением амфетамина (Carli et al., 2015). Кроме того, нарушения серотонинергической системы связывают со специфическими сенсорными и моторными фенотипами при СДВГ (импульсивность и моторное беспокойство) (Oades, 2008) и аутизме (стереотипии и сенсорная гиперчувствительность или гипочувствительность) (Muller, Anacker, Veenstra-VanderWeele, 2016).

На рисунке 4.1. изображены траектории перемещения левой задней конечности животных в XY-пространстве в течение двух локомоторных циклов с отображением кривых перемещения каждой анатомической структуры и стик-диаграмм в критических

локомоторных точках, которые разделяют полный цикл на три фазы. Полученные подобным образом данные легли в основу расчета внутриконечностной координации. Видно, что кривые, сформированные перемещением суставов, имеют разный паттерн, и отличаются у всех четырех представленных крыс. Если различия между дикими крысами обоих полов минимальные, то у нокаутных животных в обоих случаях можно выделить схожую закономерность - наклон кривой, представляющей голеностопный сустав, как у самцов, так и у самок TPH2-KO в фазу экстензии (конец локомоторного цикла), визуально меньше, чем у крыс дикого типа, что является прямым следствием повышенной скорости передвижения. Другие отличия в представленных паттернах могут быть связаны с индивидуальными особенностями локомоции каждого репрезентативного животного.

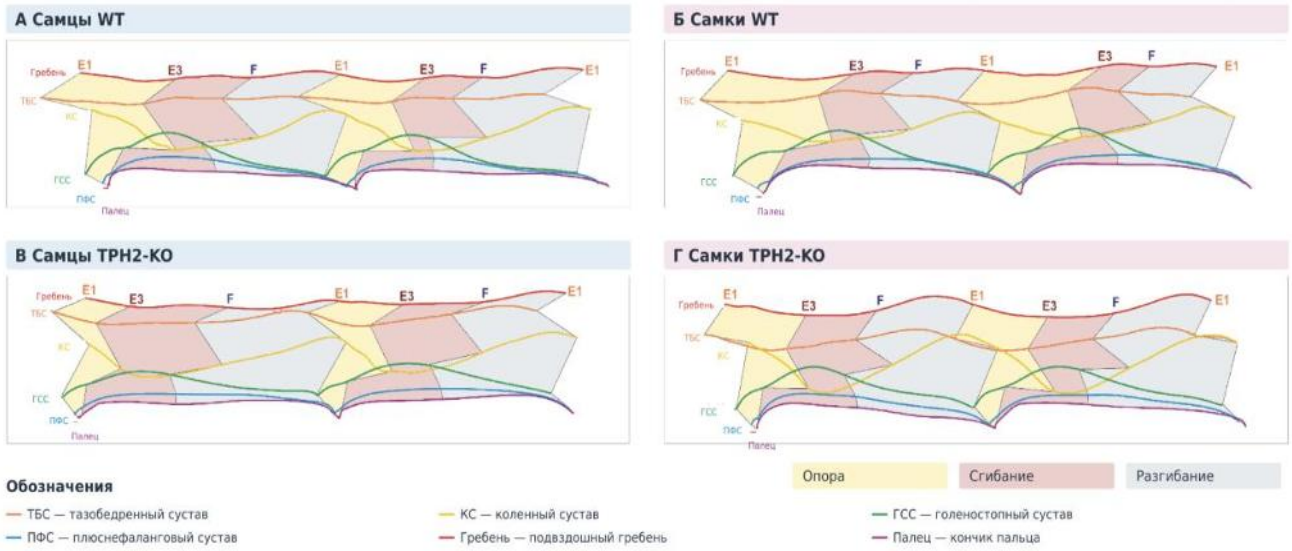


Рисунок 4.1 — Пространственные траектории суставных точек и анатомических ориентиров задней конечности в течение двух последовательных шаговых циклов у интактных крыс WT и TPH2-KO. А — самцы WT; Б — самки WT; В — самцы TPH2-KO; Г — самки TPH2-KO. Цветовая заливка обозначает фазу опоры, сгибание и разгибание в фазе переноса. Представлены типичные примеры для каждой группы
Примечание — Подвздошный гребень обозначен красным цветом, тазобедренный сустав оранжевым, коленный сустав желтым, голеностопный сустав зеленым, плюснефаланговый сустав синим, а дистальная фаланга пятого пальца фиолетовым, фаза опоры выделена желтым цветом, фаза сгибания красным, фаза разгибания синим.

Принципиально важно, что между крысами TPH2-KO и животными WT не было различий по параметрам внутриконечностной координации (составляющим PC2), параметрам межконечностной координации и постуральной функции. Это свидетельствует о структурной и функциональной сохранности базовых спинальных и супраспинальных трактов, ответственных за генерацию и координацию локомоторных паттернов. Данные, полученные в ходе тестирования температурной чувствительности на установках горячей и

холодной пластин, а также оценки силы хвата, выступают дополнительным подтверждением целостности сенсомоторной системы у животных TPH2-KO. Несмотря на это, общеизвестно, что конституциональная недостаточность центрального 5-HT оказывает существенное влияние на онтогенез нервных структур и функциональных систем, обеспечивающих сенсомоторный контроль. Выступая в роли важнейшего регулятора развития, серотонин модулирует процессы нейрогенеза, синаптогенеза и дендритогенеза, а также принимает непосредственное участие в созревании церебральных структур, ответственных за сенсомоторную интеграцию (Sodhi, Sanders-Bush, 2004). Задержка соматического роста и дисфункция соматосенсорных рефлексов, регистрируемые у особей с дефицитом *Tph2* в раннем онтогенезе, дополнительно верифицируют критическую роль данного нейромедиатора в процессах формирования двигательных функций (Wang et al., 2026).

В то же время врожденная недостаточность 5-HT, вероятно, инициирует запуск выраженных компенсаторно-адаптивных механизмов в период становления нервной системы. Выявленные на этом фоне модификации кинематических характеристик локомоции свидетельствуют о глубокой реорганизации центральных механизмов моторного контроля, происходящей в условиях хронического дефицита 5-HT. Данная гипотеза находит подтверждение в данных о гипериннервации отдельных церебральных структур, включая гиппокамп и прилежащее ядро, а также о повышенной экспрессии BDNF у мышей TPH2-KO. Было показано, что несмотря на выраженные трудности с ростом и выживаемостью, грубые макроскопические анатомические изменения в головном мозге таких животных не регистрируются (Migliarini et al., 2013).

Представленные результаты анализа главных компонент (PC3 и PC4) выявляют сложные и статистически значимые различия кинематики походки между самками и самцами. Эти различия затрагивают как динамические параметры движения (углы, скорости, ускорения), так и постуральные характеристики. PC3 отражает главным образом особенности угловой динамики суставов, в частности тазобедренного. Были показаны статистически значимо более низкие значения компоненты PC3 у самок (WT и TPH2-KO) по сравнению с самцами WT, что указывает на принципиальное различие в стратегии движения, связанное с полом или размером животного. Угол тазобедренного сустава в фазах шага E3 и F систематически больше у самок по сравнению с самцами (особенно выраженно при сравнении с самцами группы TPH2-KO), что может свидетельствовать о более выраженном разгибании бедра у самок в конце фазы опоры и в начале фазы переноса.

PC4 отражает главным образом постуральные характеристики. Статистически

достоверное уменьшение значений этой компоненты было показано у самок с нокаутом TPH2 при сопоставлении с самцами той же группы. Подобный факт свидетельствует о том, что недостаток 5-НТ оказывает разнонаправленное влияние на позу во время локомоции у крыс разного пола.

Самки, независимо от генотипа, показывают меньшую высоту расположения тазобедренного сустава при ходьбе в сравнении с самцами WT. Данная особенность может выступать прямым следствием как анатомических различий, так и специфических адаптаций походки, служащих для увеличения устойчивости тела. Кроме того, у самок обеих групп фиксируется уменьшенная ретракция конечности относительно самцов (в фазе завершения толчка нога у них отводится назад в меньшей степени). Указанная кинематическая деталь вероятным образом коррелирует с уменьшением общей длины шага. Прямых сопоставлений по этим кинематическим показателям в литературе почти нет: подавляющее большинство работ выполнено на самцах, поэтому о локомоции самок известно значительно меньше. В сложившихся условиях полученные нами данные вносят существенный вклад в характеристику нормальных физиологических паттернов движения у самок лабораторных крыс. Наиболее очевидным и логичным объяснением зафиксированных кинематических различий служат анатомические предпосылки, среди которых ключевую роль играет половой диморфизм тазового пояса. Характерная для самок особенность строения таза, которая объясняется репродуктивной функцией, окончательно складывается в постнатальном онтогенезе под воздействием гормональных факторов (Berdnikovs et al., 2007). Кроме этого, современные исследования указывают на то, что особи разных полов могут задействовать различные нейробиологические стратегии для организации внешне сходной локомоции. Формирование указанных диморфных различий происходит в структурах ЦНС под модулирующим воздействием половых гормонов в течение критических периодов онтогенеза (Field, Pellis, 2008). Координационные паттерны, демонстрирующие половую специфичность и не требующие сознательного контроля, закладываются рано в онтогенезе под воздействием половых гормонов. Механизм этих процессов опосредуется, в частности, регуляцией активности дофаминергической системы базальных ганглиев, которая играет фундаментальную роль в процессах автоматизации движения (Colzato, Hommel, 2014; Kompoliti, 1999).

Примечательно, что у части самцов TPH2-KO регистрировались отрицательные значения протракции. Указанный параметр характеризует пространственную локализацию лапы каудальнее проекции подвздошного гребня в момент инициации фазы опоры и

демонстрирует выраженное отклонение от показателей, типичных для WT. Такая постановка конечности при контакте с поверхностью может быть обусловлена специфической локомоторной стратегией, при которой животные размещают задние лапы на большом расстоянии каудальнее оси тела в момент касания, что характерно для высокой скорости перемещения животного (Neckel, 2015). Такие особенности движения обеспечивают более устойчивую опору тела при быстром движении. Следует подчеркнуть, что склонность к быстрой ходьбе по-видимому является конституциональной особенностью исследуемой генетической линии TPH2-KO, причем данная особенность передвижения наиболее отчетливо наблюдается у самцов.

Анализ главных компонент, сформированных раздельно для каждого пола на базе полного массива кинематических данных, обеспечил возможность не только охарактеризовать тонкие особенности локомоции, но и разделить эффекты серотониновой недостаточности на две различные категории: различия, которые присутствовали до травматического повреждения СМ, и изменения, которые сформировались исключительно в ходе процесса восстановления после травмы. PC1 у животных обоих полов состоял из одинаковых параметров, включающих длительность фаз опоры и переноса шагового цикла, а также длину шага, но у самцов дополнительно учитывалась средняя скорость локомоции. Несмотря на такое сходство по данному показателю, характер нарушений у самок и самцов носил принципиально различный характер. У самок WT и самок линии TPH2-KO расхождение по этому показателю не фиксировалось непосредственно после травмы, однако манифестировало по мере прогрессирования восстановительного периода и стабильно сохранялось на второй, третьей и четвертой неделях наблюдения. Данный факт свидетельствует о стойком и неполном дефиците скоростно-временных характеристик локомоции у самок с серотониновой недостаточностью. У самцов, напротив, межгенотипические различия ограничивались исключительно острым периодом травмы, а именно первой неделей после повреждения, и полностью нивелировались к середине периода наблюдения. Это указывает на транзиторный характер нарушения без отдаленных последствий для восстановления указанного аспекта двигательной функции. PC2, отражающая внутриконечностную координацию и формируемая коэффициентами корреляции между угловыми характеристиками коленного, голеностопного и плюснефалангового суставов, продемонстрировала наиболее выраженную половую диссоциацию в характере влияния генотипа. У самцов различие между генотипами регистрировалось уже в дооперационном периоде и оставалось неизменным на протяжении

всего последующего наблюдения. Это позволяет интерпретировать данное расхождение как конституциональную особенность организации внутриконечностной координации, присущую самцам нокаутам независимо от факта травматизации. У самок, напротив, генотипы были неразличимы по этому показателю до операции. Статистически значимое взаимодействие факторов генотипа и недели наблюдения указывало на то, что расхождение формировалось непосредственно в процессе восстановления, становясь выраженным начиная с третьей недели после травмы. Следовательно, если у самцов дефицит 5-НТ определяет исходные особенности координации, не зависящие от повреждения, то у самок аналогичный дефицит нарушает саму пластичность при регенерации. PC3 у самок и самцов формировалась гетерогенными наборами показателей. У самок она определялась преимущественно углами плюснефалангового сустава и постуральными характеристиками, такими как высота таза, тогда как у самцов она зависела от коэффициентов корреляции тазобедренного сустава с коленным и голеностопным в фазу сгибания. Подобная гетерогенность не позволяет рассматривать данную компоненту как единый межполовой конструкт и диктует необходимость ее раздельной интерпретации. У самок для PC3 было характерно значимое взаимодействие генотипа и недели наблюдения с той же временной динамикой, что и для второй компоненты, а именно отсутствие различий до операции и их появление начиная со второй недели восстановительного периода. Это подтверждает общую закономерность, согласно которой у самок дефицит 5-НТ преимущественно нарушает динамику восстановления, а не исходные особенности. У самцов эффект генотипа по данной компоненте не достигал уровня статистической значимости и не коррелировал с определенным периодом наблюдения. PC4, которая отражает ретракцию и протракцию конечности, а также дистальные угловые характеристики, не обнаружила влияния генотипа ни у одного из полов ни в один из периодов наблюдения. Значимым оставался исключительно эффект времени, отражающий закономерную динамику восстановления, общую для обеих экспериментальных групп. Совокупность полученных данных позволяет говорить об общей закономерности, которая характеризует половые особенности влияния серотониновой недостаточности на процессы восстановления локомоции после ТСМ. У самок различия между генотипами до операции были выражены минимально, однако дефицит 5-НТ после травмы избирательно нарушил процессы восстановления. Различия между генотипами по параметрам внутриконечностной координации и постурально-угловым характеристикам, были сформированы исключительно в ходе восстановления и не обнаруживались исходно до операции. У самцов дефицит 5-НТ проявляется

преимущественно как особенность исходной реорганизации по параметру внутриконечностной координации. Данное изменение присутствует независимо от травмы и не прослеживается в процессе восстановления, тогда как нарушение скоростно-временных характеристик было ограничено только периодом острой фазы после ТСМ.

Тепловая и холодовая гиперчувствительность развивалась в течение первого месяца после травмы и полностью отсутствовала у ложнооперированных животных, то есть воспроизводила картину центральной нейропатической боли. Снижение порогов чувствительности ниже уровня повреждения при контузионной травме грудного отдела описаны как в работах на крысах (Gaudet et al., 2017), так и в исследованиях на мышах (Yoon et al., 2004). Время возникновения ответов также совпадает с литературными данными. Было показано, что холодовая аллодиния после контузии развивается достаточно медленно и достигает максимальной выраженности лишь через несколько недель (Yoon et al., 2004). В данной работе холодная пластина также давала значимый эффект, начиная только со второй недели с максимальным ответом на третьей неделе. При этом стоит учитывать, что реакция отдергивания конечностью требует моторного ответа, а в ранние сроки после травмы животное физически не способно реализовать его полностью даже на контралатеральной конечности. Обнаруженное преобладание гиперчувствительности у самок согласуется с наиболее полным на сегодняшний день преклиническим исследованием этого вопроса. На большой когорте мышей показали, что контузия в области 9 грудного позвонка вызывает механическую и тепловую гиперчувствительность у обоих полов, но у самок она была выражена сильнее, причем различие по тепловой чувствительности проявлялось преимущественно к отдаленному сроку, а именно к 27 суткам (Lee et al., 2023). Это совпадает с временным окном, которое в настоящей работе соответствует поздней фазе, что указывает на временную локализацию эффекта. Вместе с тем исследования при контузионной травме у мышей не выявили влияния пола на нейропатическую боль (McFarlane et al., 2020), а другие авторы обнаружили половой диморфизм по размеру очага повреждения и сенсомоторным показателям (Osimanjiang et al., 2022), что поднимает вопрос о вкладе различий в тяжести самого поражения. Различие во времени развития гиперчувствительности хорошо согласуется с представлением о разных клеточных механизмах болевой сенситизации у самцов и самок. Было показано, что гиперчувствительность на механический стимул у самцов мышей требует участия микроглии, тогда как у самок сопоставимый ответ сопровождается увеличением концентрации клеток адаптивного иммунитета, в основном Т-лимфоцитов (Sorge et al., 2015). Поскольку врожденный микроглиальный ответ

развертывается быстрее адаптивного, различие в кинетике, а именно раннее плато у самцов и продолжающееся ухудшение у самок, представляется ожидаемым следствием данных процессов.

В отношении генотипа мы не получили подтверждения тому, что врожденный дефицит центрального 5-НТ сильно изменяет развитие посттравматической термической гиперчувствительности. Ключевое наблюдение состоит в том, что различие между генотипами присутствовало до операции в виде более низкого латентного периода на горячей пластине у TPH2-KO, что согласуется с данными у мышей с двойным нокаутом, но исчезало после нее (Savelieva et al., 2008). ТСМ прерывает нисходящие серотонинергические проекции, и функционально животное WT ниже уровня повреждения оказывается в состоянии, сходном с конституциональным дефицитом 5-НТ. Утрата нисходящих серотонинергических волокон снимает тормозной контроль, нивелируя исходное преимущество особей WT, как это описывают в своих обзорах исследователи (Fauss, Hudson, Grau, 2022). Существенное методическое предостережение касается терморегуляции. Авторы, охарактеризовавшие ту же линию, показали нарушение терморегуляции и снижение температуры тела у этих животных, поэтому часть исходного различия может иметь терморегуляторную, а не ноцицептивную природу (Kaplan et al., 2016). Для корректного разделения компонентов в дальнейшем целесообразно контролировать температуру кожи либо дополнить протокол тестом, не связанным с термической стимуляцией. Также нельзя исключать взаимодействие с полом, так как было показано, что дефицит у крыс изменяет нейропластические механизмы полоспецифично (Brivio et al., 2018), однако в нашем анализе взаимодействие пола и генотипа не достигло значимости. Корреляция индивидуальных значений при обеих температурах указывает на то, что тепловая и холодовая гиперчувствительность после травмы развиваются сопряженно. Это согласуется с представлением об общем механизме центральной сенситизации на уровне заднего рога СМ, а не о раздельном поражении афферентных путей. Сходная сопряженность была описана при полной перерезке СМ у крыс (M’Dahoma et al., 2014).

Отсутствие значимых расхождений по общим маркерам глиоза, включая Iba-1 (отражающий пул микроглиальных клеток и инфильтрирующих макрофагов), а также GFAP (реактивный астроглиоз), подтверждает универсальный характер структурного глиального ответа. Данный ответ не зависит напрямую от серотонинергической передачи. Принципиально иная картина наблюдается при анализе маркеров функциональной активации глии. Экспрессия лизосомального антигена CD68, служащего индикатором

фагоцитарной активности микроглии и макрофагов, оказалась существенно выше у нокаутных крыс по сравнению с контрольной группой. Поскольку общая площадь, занимаемая Iba-1-позитивными клетками, при этом не изменялась, увеличение уровня CD68 отражает не пролиферацию или усиленную миграцию микроглии, а интенсификацию ее эффекторных функций. Речь идет о захвате и переработке клеточного детрита, воспалительных агрегатов и поврежденных компонентов внеклеточного матрикса. Подобное разграничение хорошо согласуется с концепцией континуума поляризации микроглии и макрофагов между провоспалительным фенотипом M1 и репаративным фенотипом M2. В поврежденном спинном мозге макрофаги закрепляются в детриментальном состоянии M1 под действием TNF-α и накопления железа. При этом именно TNF-α блокирует опосредованную фагоцитозом конверсию фенотипа M1 в M2 (Kroner et al., 2014). Следовательно, исследуемый нокаутный генотип детерминирует переход микроглиальных элементов в состояние повышенного фагоцитоза и клиренса продуктов распада. На фоне сопутствующей тенденции к астроглиозу указанные сдвиги формируют предпосылки для стабилизации провоспалительного микроокружения. Полученные данные согласуются с представлением о микроглии как о наиболее чувствительном индикаторе изменений серотониной модуляции. При этом в зоне непосредственного повреждения описанный эффект реализуется не посредством количественного изменения клеточной популяции, а за счет качественной модификации ее функционального фенотипа.

Отдельного обсуждения заслуживает выявленное значительное накопление липидных включений в микроглиальных клетках эпицентра травмы у животных TPH2-KO. Указанная морфологическая картина позволяет классифицировать данную клеточную популяцию как микроглию, нагруженную липидами, или пенистую микроглию. Подобный фенотип традиционно связывают с хроническим нейровоспалением, возрастными нейродегенеративными процессами и демиелинизирующими патологиями. Чрезмерный фагоцитоз миелиновых липидов инициирует генерацию пенистых макрофагов, которые долгое время находятся в эпицентре повреждения и усиливают вторичное повреждение (Kopper, Gensel, 2018). Было показано, что накопление липидного детрита в макрофагах через рецептор MSR1 способствует провоспалительной поляризации и усиливает нейрональный апоптоз, тогда как нокаут рецептора MSR1, напротив, улучшает функциональное восстановление после травмы (Kong et al., 2020). Накопление липидов в цитоплазме микроглиальных клеток отражает дисбаланс между интенсивным фагоцитозом миелиновых оболочек и фрагментов разрушенных мембран с одной стороны и ограниченной

способностью клеток к окислению и оттоку липидов с другой. Миелиновые остатки, богатые холестерином и жирными кислотами, служат активаторами Toll-подобных рецепторов, в частности TLR2 и TLR4, что запускает каскад провоспалительных сигналов и поддерживает хроническую активацию микроглии в аутостимулирующем цикле. У нокаутных животных, лишенных тонического противовоспалительного влияния 5-НТ, этот процесс, по всей видимости, приобретает особую выраженность: серотонин непосредственно смещает поляризацию макрофагов в сторону М2 через рецепторы 5-НТ2В и 5-НТ7, подавляя высвобождение провоспалительных цитокинов и повышая экспрессию генов, ассоциированных с М2 фенотипом (De Las Casas-Engel et al., 2013). Элиминация указанного сигнального пути у линий TPH2-KO приводит к снижению порога активации микроглиальных элементов и, по всей видимости, десинхронизирует механизмы отрицательной обратной связи, лимитирующие избыточный фагоцитоз. Формирование липидонагруженного фенотипа микроглии сопряжено с фундаментальной перестройкой клеточного метаболизма. В данных условиях усиление продукции провоспалительных цитокинов сочетается с активацией внутриклеточных каскадов, подавляющих аутофагическую деградацию липидных агрегатов. Одновременно экспансия внутриклеточного липидного пула генерирует дополнительный субстрат для синтеза активных форм кислорода. Возникающий окислительный стресс оказывает цитотоксическое воздействие как на нейрональные элементы, так и на сами глиальные клетки. Прямая корреляция между липидной перегрузкой микроглиальных клеток и повышением экспрессии маркера CD68 обусловлена тем, что лизосомальный аппарат выступает главным компартментом для внутриклеточной утилизации захваченных липидов. Следовательно, возрастание уровня CD68 отражает не только интенсификацию фагоцитоза, но и предельное функциональное напряжение лизосомальной и аутофагической сети, способной истощаться при избыточном поступлении липидного субстрата. Указанный факт позволяет объяснить кажущееся парадоксальным сочетание усиленного фагоцитарного фенотипа с относительно стабильным общим количеством Iba-1 позитивных клеток. Микроглиальная популяция не расширяется количественно, однако каждая отдельная клетка испытывает выраженную метаболическую перегрузку, что качественно модифицирует ее функциональный профиль.

Наиболее достоверные различия между группами были зарегистрированы при анализе провоспалительных медиаторов, которые являются непосредственными медиаторами вторичного повреждения и определяют выраженность нейровоспалительной реакции. Уровень экспрессии маркера iNOS (ферментативного белка, обеспечивающего

синтез цитотоксического радикала оксида азота и участвующего в развитии окислительного стресса и запуске апоптоза нейронов) у животных TPH2-KO превышал показатели контрольной группы более чем в два раза. Аналогично изменился и уровень экспрессии цитокина TNF-α (увеличивает проницаемость гематоэнцефалического барьера и усиливает синтез прочих воспалительных молекул). Концентрация TNF-α у нокаутов оказалась существенно выше по сравнению с группой WT. Липидная перегрузка и гиперэкспрессия факторов iNOS и TNF-α у животных TPH2-KO образуют два звена единого патологического каскада. В рамках данного каскада избыточный фагоцитоз мембранных липидов формирует метаболический фундамент для усиленного ответа цитокинов, что дополнительно может вызывать дальнейшее разрушение миелиновых оболочек.

Таким образом, серотонин выполняет функцию эндогенного противовоспалительного модулятора, который может обратить провоспалительную поляризацию в микроглиальных клетках. Утрата этого контроля у крыс TPH2-KO сопровождается гиперпродукцией цитотоксических молекул и накоплением липидных метаболитов, что создает условия для усиления вторичного повреждения тканей ЦНС и потенциально объясняет более медленное восстановление двигательных функций у животных с дефицитом 5-HT (разделы 3.1 и 3.4) при отсутствии значимых различий в объеме первичного повреждения. Следует обратить внимание на разнонаправленность изменений: тенденция к снижению общей площади Iba-1 позитивных клеток у нокаутов сочетается с одновременным увеличением CD68, липидных включений, iNOS и TNF-α. Такая диссоциация между количеством клеток и их функциональной активностью указывает на то, что серотонин влияет не столько на рекрутирование микроглии к месту повреждения, сколько на внутриклеточные сигнальные каскады, определяющие ее поляризацию и метаболический профиль. Отсутствие значимых различий по GFAP в зоне повреждения, в свою очередь, укрепляет вывод об универсальности астроглиального ответа, который запускается по механизмам, в значительной степени независимым от серотонинергической регуляции, и определяется преимущественно степенью локального тканевого стресса. Выявленная тенденция к усилению астроглиоза у нокаутных животных при этом может отражать косвенное паракринное влияние гиперэкспрессированных провоспалительных цитокинов и липидных медиаторов, продуцируемых активированной микроглией, хотя этот эффект, по всей видимости, недостаточно выражен, чтобы достичь статистической значимости в рамках использованного дизайна исследования.

Травматическое повреждение СМ не ограничивается локальными изменениями в зоне

непосредственного механического повреждения, а закономерно сопровождается реорганизацией в супраспинальных центрах, включая гиппокамп. После экспериментальной ТСМ нейрогенез в зубчатой извилине оказывается очень чувствительным показателем, так как даже при умеренной травме подавление нейрогенеза регистрируется без сопутствующего изменения плотности микроглии и астроцитов в той же зоне (Jure et al., 2017). ТСМ вызывает хроническую микроглиальную активацию гиппокампа с преобладанием М1 фенотипа, сопровождающуюся когнитивным и эмоциональным дефицитом (Wu et al., 2014b). Серотонин является критическим модулятором нейрогенеза как при эмбриональном развитии, так и во взрослом мозге. Фармакологическая депривация 5-НТ снижает нейрогенез в зубчатой извилине гиппокампа и субвентрикулярной зоне боковых желудочков взрослых крыс (Brezun, Daszuta, 1999), а вклад отдельных подтипов серотониновых рецепторов (5-НТ1А и 5-НТ2С) в регуляцию пролиферации предшественников в тех же зонах картирован отдельно (Banasr et al., 2004). Модель ТРН2-КО представляет собой не транзиторную фармакологическую депривацию, а пожизненное отсутствие 5-НТ, что, вероятно, объясняет выраженность наблюдаемого эффекта: снижение плотности BrdU+ клеток почти на 50 % на фоне отсутствия острой травмы гиппокампа как таковой. Учитывая, что при ТСМ повреждаются нисходящие серотонинергические пути из ядер шва, а системное нейровоспаление способно дополнительно ограничивать доступность 5-НТ через активацию ферментов, переключающих метаболизм триптофана на альтернативные пути, у нокаутных животных, по всей видимости, реализуется двойное негативное воздействие на нейрогенез. С одной стороны, усиленное нейровоспаление, зарегистрированное в зоне спинального повреждения и, предположительно, распространяющееся дистантно, оказывает прямое неблагоприятное влияние на клетки-предшественники. С другой стороны, обусловленный этим воспалением и исходным генотипом дефицит серотонинергической сигнализации лишает нейральные стволовые клетки критического пронейрогенного сигнала, который в норме поддерживает их деление и выживание. Эти два фактора действуют, по-видимому, синергично, что и отражается в существенном снижении плотности BrdU+ клеток у нокаутных крыс по сравнению с животными WT.

Вместе с тем важно отметить, что BrdU+ клетки в целом присутствуют и в группе нокаутов, хотя и в значительно меньшем количестве, что указывает на сохранение частичной пролиферативной активности в условиях двойного негативного давления. Возможными объяснениями этого феномена служат участие альтернативных нейротрофических сигнальных систем, не находящихся под прямым контролем 5-НТ, а также наличие

компенсаторной рецепторной пластичности в виде повышения плотности или аффинности рецепторов 5-HT1A на клетках предшественниках при хроническом снижении серотонинового тонуса. При этом нельзя игнорировать противоречивость опубликованных сведений. Влияние недостатка 5-НТ на пролиферативную активность в зубчатой извилине гиппокампа в ряде работ оказывается тесно связано с генетической линией грызунов, их полом и временными точками наблюдения. Более того, в части исследований подобный эффект и вовсе не регистрируется. Это ограничивает прямой перенос выявленных механизмов и требует отдельной проверки на линии с нокаутом гена *Tph2* (Huang, Herbert, 2005).

Для интерпретации результатов, полученных на крысах TPH2-KO, мы сопоставили их с данными пилотной серии на крысах линии Wistar, в которой оценивали региональную реакцию гиппокампа на спинальную травму. Через месяц после односторонней латеральной гемисекции спинного мозга на уровне Th8 в гиппокампе выявили изменения, выраженность которых зависела от субполя и анализируемого показателя. Плотность Iba-1-позитивных клеток достоверно увеличивалась в поле CA3 и зубчатой извилине. В поле CA1 значимых изменений плотности этих клеток не выявили, а микроглия сохраняла преимущественно разветвлённую морфологию. Астроглиальный ответ охватывал оба поля аммонова рога и зубчатую извилину. Площадь GFAP-иммунопозитивного сигнала достоверно увеличивалась в слоях stratum oriens и stratum radiatum полей CA1 и CA3, а также в зубчатой извилине. В изменённых участках наблюдались очаговые скопления гипертрофированных астроцитов.

Различия в распределении микроглиального и астроглиального ответа особенно отчётливо проявлялись в поле CA1, где увеличение площади GFAP-иммунопозитивного сигнала выявлялось при стабильной плотности Iba-1-позитивных клеток. Такая региональная и слоевая избирательность согласуется с литературными данными о неоднородном ответе гиппокампа на травму спинного мозга (ТСМ). В зубчатой извилине описаны изменения нейрогенной ниши, а в полях CA1 и CA3 обсуждается возможный вклад воспалительных процессов, нарушений перфузии и синаптической передачи (Abroumand Gholami et al., 2026).

В зубчатой извилине крыс Wistar глиальные изменения сопровождались снижением плотности BrdU-позитивных клеток в субгранулярной зоне. Этот результат согласуется с данными о снижении показателей взрослого гиппокампального нейрогенеза после ТСМ, выраженность которого зависит от тяжести повреждения и срока наблюдения (Abroumand Gholami et al., 2026; Jure et al., 2022). Одним из возможных механизмов считают изменение микроокружения нейрогенной ниши при длительной глиальной реакции,

сопровождающейся повышением уровней IL-1β, TNF-α и IL-18. Такое микроокружение может влиять на выживание и созревание новообразованных клеток (Jure et al., 2022; Wu et al., 2014b). Вместе с тем в отдельных исследованиях после полной перерезки спинного мозга наблюдали транзиторное усиление нейрогенеза, что подчёркивает зависимость направления изменений от модели травмы и момента оценки (Abroumand Gholami et al., 2026).

На фоне изменений в гиппокампе у крыс после гемисекции достоверно снижался индекс дискриминации в тесте распознавания нового объекта. В группе ламинэктомии индекс сохранялся на исходном уровне, а по остальным изученным показателям значимых изменений также не выявили. Сочетание нарушений распознавания и изменений в гиппокампе указывает на возможный вклад этой структуры в когнитивные последствия ТСМ. Такой вклад согласуется с результатами других экспериментальных работ, в которых нарушения памяти после ТСМ были связаны с нейровоспалительными изменениями (Maldonado-Bouchard et al., 2016; Soltani Zangbar et al., 2020; Kalkhoran et al., 2022). В клинических исследованиях также описаны метаболические изменения гиппокампа, ассоциированные с ухудшением памяти и выявляемые при МР-спектроскопии у пациентов с ТСМ (Abroumand Gholami et al., 2026).

Совокупность сенсомоторных и гистологических изменений у TPH2-KO в сравнении с WT обобщена на рисунке 4.2.

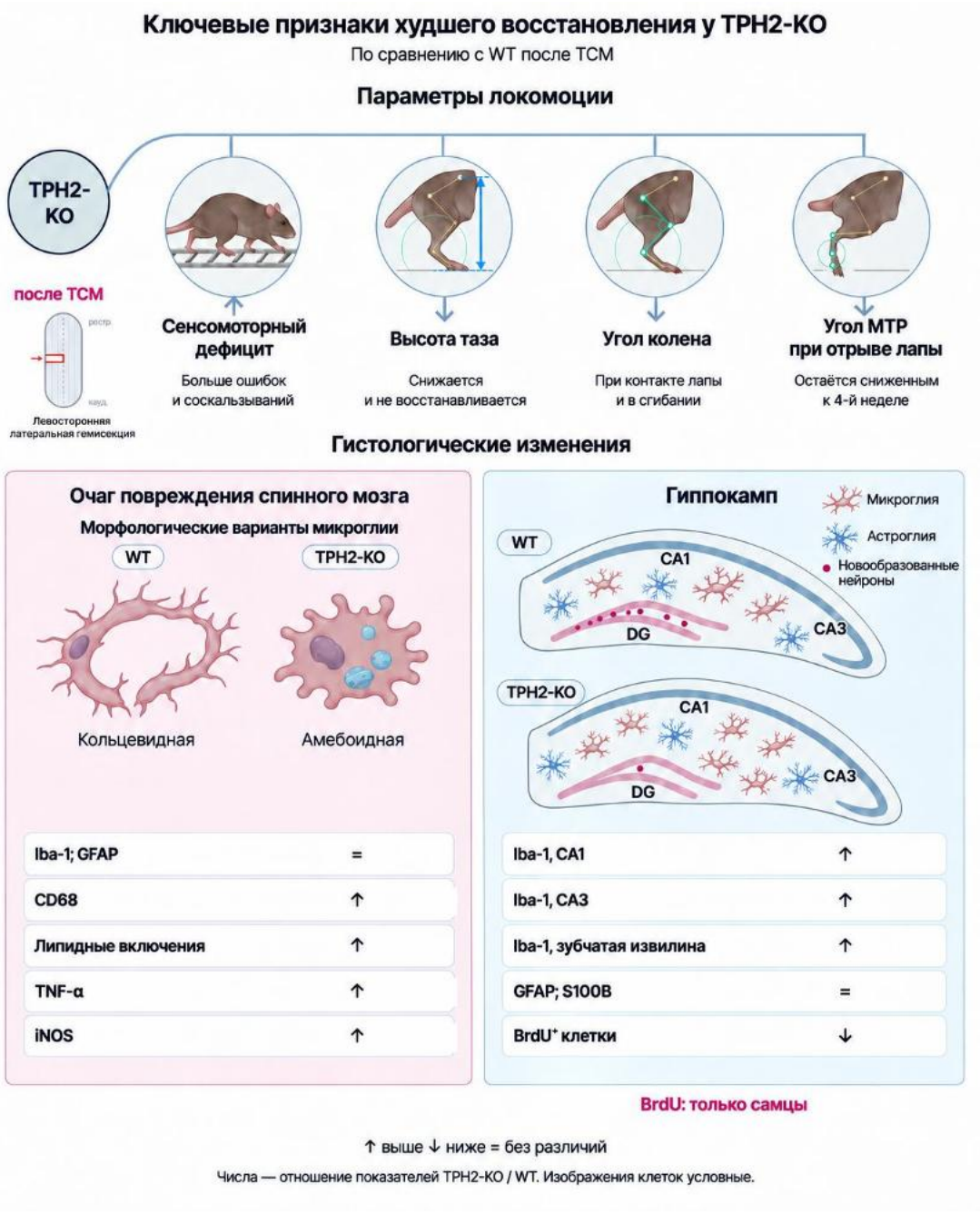


Рисунок 4.2 — Обобщенная схема сенсомоторных и гистологических изменений при дефиците TPH2 (сопоставление TPH2-KO и WT) после ТСМ

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе на крысах линии Dark Agouti с нокаутом гена *Tph2* (TPH2-KO) и животных дикого типа (WT) обоего пола изучено, как врожденный дефицит центрального серотонина (5-HT) влияет на сенсомоторный фенотип в норме, на восстановление локомоции после левосторонней латеральной гемисекции спинного мозга (СМ), на нейровоспаление и нейрогенез. Использовали количественный кинематический анализ (88 показателей, система MotoRater; метод главных компонент: PC1 – пространственно-временные параметры, PC2 – внутриконечностная координация, PC3 – углы суставов, угловые скорости и ускорения, PC4 – постуральные параметры), тесты «Горизонтальная лесенка», «Горячая пластина» и «Холодная пластина», оценку силы хвата, балльную оценку восстановления и иммуногистохимию.

У интактных крыс нокаут *Tph2* не вызывает грубых нарушений локомоции, но изменяет показатели, связанные со скоростью ходьбы. Повышена средняя скорость локомоции и сокращены длительности цикла шага и фазы опоры (PC1, 29,8 % дисперсии; эффект генотипа $p = 0{,}001$): у самок TPH2-KO цикл и фаза опоры короче, чем у WT ($p < 0{,}0001$), у самцов TPH2-KO скорость выше, чем у самцов WT ($p < 0{,}01$). Различия между генотипами по длительности фаз переноса и опоры, углам тазобедренного сустава в точках E3, F и E1, ретракции конечности, высоте тазобедренного сустава и подвздошного гребня и ряду коэффициентов внутриконечностной координации после поправки на скорость (ANCOVA) исчезают, то есть, вероятно, обусловлены более быстрой ходьбой, а не нарушением структуры движения. Единственным показателем, различие по которому сохранилось после поправки, оказалась корреляция траекторий подвздошного гребня и голеностопного сустава в фазе разгибания у самцов (выше у TPH2-KO, $p < 0{,}01$). Внутриконечностная координация в целом (PC2) выше у самцов TPH2-KO ($p < 0{,}001$), у самок генотипы по ней не различаются; углы суставов (PC3) и поза (PC4) от генотипа не зависят. Чувствительность в тестах «Горячая пластина» и «Холодная пластина» и сила хвата внутри каждого пола не изменены; в тесте «Горизонтальная лесенка» отмечен только общий эффект генотипа для передних конечностей ($p = 0{,}0025$) без значимых попарных различий. Независимо от генотипа самки и самцы различаются по массе тела, длине таза и бедра, силе хвата ($p < 0{,}0001$), высоте тазобедренного сустава и ретракции конечности, а также по компонентам PC1, PC3 и PC4; при этом генотип проявляется по-разному: у самок – в скоростно-временных параметрах, у самцов – в координации (PC2).

Тяжесть повреждения и балльная оценка тонуса и произвольных движений в группах не различались ($p > 0{,}4$), поэтому различия в восстановлении нельзя объяснить разной степенью травмы. У самок нокаут замедляет восстановление. Так, сенсомоторный дефицит поврежденной задней конечности в тесте «Горизонтальная лесенка» к 4-й неделе снизился до 21,9 % у WT и только до 47,1 % у TPH2-KO (на 1-й неделе 71,0 % и 64,2 %; различия на 2–4-й неделях значимы, $p < 0{,}01$). В кинематике изменились три компоненты: PC1 (длина шага передних конечностей, относительные длительности фаз опоры и переноса) отличалась от WT на 2–4-й неделях (p = 0,010; 0,021; 0,009); PC2 (корреляции колена с плюснефаланговым и голеностопным суставами в фазах опоры и сгибания) у TPH2-KO отклонилась от исходного уровня на 3–4-й неделях (p = 0,0034; 0,0024) и отличалась от WT (p = 0,0001; 0,0017), тогда как у WT не менялась; PC3 (угол плюснефалангового сустава в точках F и E3, высота подвздошного гребня и тазобедренного сустава) была выше, чем у WT, со 2-й по 4-ю неделю (p = 0,033; 0,019; 0,0033). Эффект генотипа оказался значимым для 34 из 88 показателей, причем сильнее всего он проявился для длительности цикла, длительности фазы опоры и скорости (F = 24,9; 24,7; 24,0 соответственно). Наибольшее взаимодействие с фактором времени было выявлено для максимальной угловой скорости голеностопного сустава и корреляции между голеностопным и плюснефаланговым суставами в фазе опоры. У самцов восстановление по «Лесенке» от генотипа не зависит (к 4-й неделе 7,3 % у WT и 12,0 % у TPH2-KO), PC1 различалась только на 1-й неделе (p = 0,0041), а PC2 (корреляции суставов в фазах опоры и разгибания) была выше у TPH2-KO уже до операции (p = 0,0012) и оставалась выше на 2–4-й неделях (p = 0,0059; 0,0070; 0,0006). Эффект генотипа значим для 37 показателей, наибольший – для длительности фазы переноса, длительности цикла и корреляции коленного и плюснефалангового суставов в фазе опоры; взаимодействие с временем наибольшее для максимального углового ускорения коленного сустава и корреляции тазобедренного и голеностопного суставов в фазе разгибания. Таким образом, по полученным в исследовании данным, у самок дефицит 5-НТ проявляется в ходе восстановления (у WT PC2 не отклонялась от исходного уровня, у TPH2-KO выросла на 3–4-й неделях), а у самцов определяет исходную организацию координации и мало влияет на динамику восстановления. Ноцицептивная чувствительность после травмы зависит от срока наблюдения (повышение латентности в острой фазе, снижение ниже исходного уровня к 3-й неделе), но не генотипом.

В очаге повреждения спинного мозга у крыс TPH2-KO уровень экспрессии маркеров микроглии/макрофагов (Iba-1: 6,00 % против 6,57 %) и астроглии (GFAP: 20,23 % против

18,13 %) не изменялся, однако были увеличены площади CD68 (в 1,5 раза), TNF-α (в 1,7 раза) и iNOS (в 2,1 раза), во всех случаях $p < 0{,}001$; кроме того, в микроглии/макрофагах в центре очага повреждения накапливаются липидные включения. Таким образом, изменяется функциональное состояние микроглии, а не число клеток, что согласуется с представлением о более сильной активации микроглии и худшей переработке продуктов распада миелина при дефиците серотонина.

В гиппокампе у TPH2-KO площадь Iba-1 выше, чем у WT, в CA1 (в 1,5 раза), CA3 (в 1,6 раза) и зубчатой извилине (в 1,4 раза) при отсутствии различий по GFAP и S100β, а плотность BrdU+ клеток в субгранулярной зоне ниже в 2,9 раза (11 179 против 32 063 клеток/мм³; $p < 0{,}001$).

Полученные данные показывают, что серотониновая система участвует в регуляции восстановления после повреждения СМ, влияя на нейровоспаление и нейрогенез, причем этот эффект зависит от пола. Эти результаты обосновывают необходимость учета пола при планировании терапии, направленной на серотониновую систему, и делают перспективным изучение воздействия на серотониновые рецепторы микроглии.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что нокаут гена *Tph2* не приводит к нарушению базовой моторной функции, температурной чувствительности конечностей и мышечной силы. При этом, локомоторное поведение TPH2-KO крыс по сравнению с животными WT отличается особенностями координации движения у самцов и более высокой скоростью передвижения у самок.

2. На модели TPH2-KO крыс установлено, что дефицит 5-HT влияет на восстановительную динамику после спинальной травмы: на 8–9-е сутки после латеральной гемисекции восстановление двигательной функции значимо выше в группе WT по сравнению с TPH2-KO преимущественно у самок.

3. Одним из ключевых механизмов худшего восстановления животных TPH2-KO обоего пола является нарушение элиминации продуктов распада миелина в очаге повреждения спинного мозга, признаком чего является преобладание в популяции микроглии липид-нагруженных клеток.

4. В очаге повреждения спинного мозга у нокаутных крыс обоего пола иммунореактивность по индуцибельной синтазе оксида азота и фактору некроза опухоли альфа была выше, чем у крыс дикого типа, что указывает на более выраженный провоспалительный ответ.

5. При иммуногистохимическом исследовании гиппокампа после травмы спинного мозга обнаружено, что нокаутные крысы обоего пола имеют более выраженную микроглиальную реакцию по сравнению с животными WT. Это подтверждает системный характер нейровоспалительной реакции, распространяющейся в удаленные от очага поражения отделы нервной системы.

6. Отличий в реакции астроцитов в спинном мозге и гиппокампе у крыс TPH2-KO и крыс дикого типа обоего пола не было обнаружено, что указывает на избирательное влияние дефицита серотонина на микроглиальное звено нейровоспаления.

7. Системное нейровоспаление при серотониновом дефиците сопровождается сниженным нейрогенезом в гиппокампе, что в комплексе свидетельствует о важнейшей роли центрального 5-HT в механизмах пластичности после повреждения спинного мозга.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АТФ – аденозинтрифосфат

БСА – бычий сывороточный альбумин

ГАМК – гамма-аминомасляная кислота

ГЭБ – гематоэнцефалический барьер

МГК – метод главных компонент

СДВГ – синдром дефицита внимания и гиперактивности

СИОЗС – селективные ингибиторы обратного захвата серотонина

СМ – спинной мозг

ТГ – триптофан-гидроксилаза

ТСМ – травма спинного мозга

ХГП – холодная/горячая пластина

ЦГП – центральный генератор паттернов

ЦНС – центральная нервная система

ЭС – электрическая стимуляция

5-ГИУК – 5-гидроксииндолуксусная кислота

5-НТ – 5-гидрокситриптамин, серотонин

5-НТР – 5-гидрокситриптофан

5,7-ДГТ – 5,7-дигидрокситриптамин

AADC – ароматическая L-аминокислотная декарбоксилаза (aromatic L-amino acid decarboxylase)

ABCA1 – АТФ-связывающий кассетный транспортер A1 (ATP-binding cassette transporter A1)

ANCOVA – ковариационный анализ (analysis of covariance)

ANOVA – дисперсионный анализ (analysis of variance)

BBB – шкала Basso–Beattie–Bresnahan для оценки локомоции

BDNF – нейротрофический фактор головного мозга (brain-derived neurotrophic factor)

BrdU – 5-бром-2'-дезоксиуридин

C1q – компонент комплемента 1q

CA1, CA3 – поля гиппокампа (cornu Ammonis 1, 3)

CD68 – маркер фагоцитарной активности макрофагов и микроглии

CREB – белок, связывающий цАМФ-зависимый элемент ответа (cAMP response element-binding protein)

CSPG – хондроитинсульфатпротеогликаны (chondroitin sulfate proteoglycans)

DAPI – 4',6-диамидино-2-фенилиндол

DDC – декарбоксилаза ароматических L-аминокислот (decarboxylase of aromatic L-amino acids)

DFn, DFd – число степеней свободы числителя и знаменателя (degrees of freedom numerator, denominator)

E1, E3 – фазы разгибания шагового цикла

ERK1/2 – киназы, регулируемые внеклеточными сигналами (extracellular signal-regulated kinases 1/2)

F – фаза сгибания шагового цикла

FL – передняя конечность (forelimb)

GFAP – глиальный фибриллярный кислый белок (glial fibrillary acidic protein)

HL – задняя конечность (hindlimb)

Hv1 – потенциал-зависимый протонный канал 1 (voltage-gated proton channel 1)

Iba-1 – ионизированный кальций-связывающий адаптерный белок 1 (ionized calcium-binding adapter molecule 1)

IC – начальный контакт конечности с опорой (initial contact)

ИЛ-1α, ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-10 – интерлейкин-1α, -1β, -6, -10

KO – нокаут (knockout)

LDAM – микроглия с накоплением липидных капель (lipid-droplet-accumulating microglia)

LF – левая передняя конечность (left forelimb)

LH – левая задняя конечность (left hindlimb)

LP-211 – селективный агонист 5-HT7-рецепторов

LPS – липополисахарид (lipopolysaccharide)

LTD – долговременная депрессия (long-term depression)

LTP – долговременная потенциация (long-term potentiation)

M1, M2 – провоспалительный и противовоспалительный фенотипы микроглии

MSR1 – макрофагальный рецептор-мусорщик 1 (macrophage scavenger receptor 1)

MTP – плюснефаланговый сустав (metatarsophalangeal joint)

NF-κB – ядерный фактор κB (nuclear factor kappa B)

NMDA – N-метил-D-аспартат

Nogo-A – миелин-ассоциированный ингибитор роста аксонов

NT-3 – нейротрофин-3 (neurotrophin-3)

8-OH-DPAT – 8-гидрокси-2-(ди-н-пропиламино)тетралин, агонист 5-HT1A-рецепторов

OTR – рецептор окситоцина (oxytocin receptor)

PBS – фосфатно-солевой буфер (phosphate-buffered saline)

PC1–PC4 – главные компоненты 1–4 (principal components)

PPARG – рецептор, активируемый пролифераторами пероксисом, гамма (peroxisome proliferator-activated receptor gamma)

RF – правая передняя конечность (right forelimb)

RH – правая задняя конечность (right hindlimb)

Rho/ROCK – сигнальный путь Rho-киназы (Rho-associated protein kinase)

S100β – кальций-связывающий белок B, маркер астроглии

SD – степень сенсомоторного дефицита (sensorimotor deficit)

SEM – стандартная ошибка среднего (standard error of the mean)

SERT – транспортер серотонина (serotonin transporter)

TGF-β – трансформирующий фактор роста бета (transforming growth factor beta)

TNF-α – фактор некроза опухоли альфа (tumor necrosis factor alpha)

TPH1 – триптофан-гидроксилаза 1 типа (tryptophan hydroxylase 1)

TPH2 – триптофан-гидроксилаза 2 типа (tryptophan hydroxylase 2)

Tph1, Tph2 – гены триптофан-гидроксилазы 1 и 2 типа

TPH2-KO – животные с нокаутом гена *Tph2*

WT – дикий тип (wild type)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. 5,7-Dihydroxitryptamine toxicity to serotonergic neurons in serum free raphe cultures / J. P. Capela [et al.] // European Journal of Pharmacology. – 2008. – Vol. 588. – № 2–3. – P. 232–238.

2. 5-HT precursor loading, but not 5-HT receptor agonists, increases motor function after spinal cord contusion in adult rats / Y. Hayashi [et al.] // Experimental Neurology. – 2010. – Vol. 221. – № 1. – P. 68–78.

3. 5-HT1A-iCre, a new transgenic mouse line for genetic analyses of the serotonergic pathway / I. Sahly [et al.] // Molecular and Cellular Neuroscience. – 2007. – Vol. 36. – № 1. – P. 27–35.

4. 5-HT2C receptors in psychiatric disorders: A review / A. Chagraoui [et al.] // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. – 2016. – Vol. 66. – P. 120–135.

5. 5-HT4-Receptors Modulate Induction of Long-Term Depression but Not Potentiation at Hippocampal Output Synapses in Acute Rat Brain Slices / M. Wawra [et al.] // PLoS ONE. – 2014. – Vol. 9. – № 2. – Art. e88085.

6. 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin intervenes with neural cell apoptosis following diffuse axonal injury / Z. Mao [et al.] // Neural Regeneration Research. – 2013. – Vol. 8. – № 2. – P. 133–142.

7. A potential entanglement between the spinal cord and hippocampus: Theta rhythm correlates with neurogenesis deficiency following spinal cord injury in male rats / H. Soltani Zangbar [et al.] // Journal of Neuroscience Research. – 2020. – Vol. 98. – № 12. – P. 2451–2467.

8. A Urodynamic Comparison of Neural Targets for Transcutaneous Electrical Stimulation to Acutely Suppress Detrusor Contractions Following Spinal Cord Injury / S. Doherty [et al.] // Frontiers in Neuroscience. – 2019. – Vol. 13. – Art. 1360.

9. ABCA1-mediated lipid efflux restrains oxidative stress and neuroinflammation after spinal cord injury / Y. Shao [et al.] // Journal of Neuroinflammation. – 2026. – Vol. 23. – № 1. – Art. 239.

10. Acute Spinal Cord Injury, Part I: Pathophysiologic Mechanisms / R. J. Dumont [et al.] // Clinical Neuropharmacology. – 2001. – Vol. 24. – № 5. – P. 254–264.

11. Advances and Challenges in Spinal Cord Injury Treatments / M. A. Alvi [et al.] // Journal of Clinical Medicine. – 2024. – Vol. 13. – № 14. – Art. 4101.

12. Advances in the research of the role of macrophage/microglia polarization-mediated inflammatory response in spinal cord injury / S.-P. Fu [et al.] // Frontiers in Immunology. – 2022. – Vol. 13. – Art. 1014013.

13. Adverse events of cell therapy clinical trials in human chronic spinal cord injury, a systematic review and meta-analysis / E. Davoudi-Monfared [et al.] // Regenerative Therapy. –

2024. – Vol. 27. – P. 381–397.

14. Alenina, N. The role of serotonin in adult hippocampal neurogenesis / N. Alenina, F. Klempin // Behavioural Brain Research. – 2015. – Vol. 277. – P. 49–57.

15. Alizadeh, A. Traumatic Spinal Cord Injury: An Overview of Pathophysiology, Models and Acute Injury Mechanisms / A. Alizadeh, S. M. Dyck, S. Karimi-Abdolrezaee // Frontiers in Neurology. – 2019. – Vol. 10. – Art. 282.

16. Alterations in serotonin binding sites after 5,7-dihydroxytryptamine treatment in the rat spinal cord / L. M. Brown [et al.] // Neuroscience Letters. – 1989. – Vol. 102. – № 1. – P. 103–107.

17. Álvarez Pérez, M. J. Current Etiological Profile of the Spinal Cord Injury / M. J. Álvarez Pérez // Paraplegia – New Insights / ed. S. Mansoor Rayegani. – IntechOpen, 2023. – DOI: 10.5772/intechopen.108397.

18. An Autonomic Neuroprosthesis: Noninvasive Electrical Spinal Cord Stimulation Restores Autonomic Cardiovascular Function in Individuals with Spinal Cord Injury / A. A. Phillips [et al.] // Journal of Neurotrauma. – 2018. – Vol. 35. – № 3. – P. 446–451.

19. An overlooked connection: serotonergic mediation of estrogen-related physiology and pathology / L. A. Rybaczyk [et al.] // BMC Women's Health. – 2005. – Vol. 5. – № 1. – Art. 12.

20. Animal models of spinal cord injury: a systematic review / M. Sharif-Alhoseini [et al.] // Spinal Cord. – 2017. – Vol. 55. – № 8. – P. 714–721.

21. Anti-Nogo-A NG101 treatment induces changes in spinal cord micro- and macrostructure following spinal cord injury / L. Farner [et al.] // Nature Communications. – 2026. – Vol. 17. – № 1. – Art. 4197.

22. Antri, M. Locomotor recovery in the chronic spinal rat: effects of long-term treatment with a 5-HT2 agonist / M. Antri, D. Orsal, J.-Y. Barthe // European Journal of Neuroscience. – 2002. – Vol. 16. – № 3. – P. 467–476.

23. Anwar, M. A. Inflammogenesis of Secondary Spinal Cord Injury / M. A. Anwar, T. S. Al Shehabi, A. H. Eid // Frontiers in Cellular Neuroscience. – 2016. – Vol. 10. – Art. 98.

24. Anxiety and Depression in Patients with Traumatic Spinal Cord Injury: A Nationwide Population-Based Cohort Study / S.-W. Lim [et al.] // PLOS ONE. – 2017. – Vol. 12. – № 1. – Art. e0169623.

25. Approach to Small Animal Neurorehabilitation by Locomotor Training: An Update / D. Gouveia [et al.] // Animals. – 2022. – Vol. 12. – № 24. – Art. 3582.

26. Assessment of the relationship between Val66Met BDNF polymorphism and the effectiveness of gait rehabilitation in children and adolescents with cerebral palsy / B. Bagrowski [et al.] // Acta Neurobiologiae Experimentalis. – 2022. – Vol. 82. – № 1. – P. 1–11.

27. Association of Anxiety-Related Traits with a Polymorphism in the Serotonin Transporter Gene Regulatory Region / K.-P. Lesch [et al.] // Science. – 1996. – Vol. 274. – № 5292. – P. 1527–1531.

28. Astrocytes: a central element in neurological diseases / M. Pekny [et al.] // Acta Neuropathologica. – 2016. – Vol. 131. – № 3. – P. 323–345.

29. Azargoonjahromi, A. Serotonin enhances neurogenesis biomarkers, hippocampal volumes, and cognitive functions in Alzheimer's disease / A. Azargoonjahromi // Molecular Brain. – 2024. – Vol. 17. – № 1. – Art. 93.

30. Bach, D.-H. Cell Therapy for Spinal Cord Injury: Mechanistic Insights and Translational Challenges / D.-H. Bach, B. Van Giang, T. L. Nguyen // Cellular and Molecular Neurobiology. – 2026. – Vol. 46. – № 1. – Art. 91.

31. Basso, D. M. A Sensitive and Reliable Locomotor Rating Scale for Open Field Testing in Rats / D. M. Basso, M. S. Beattie, J. C. Bresnahan // Journal of Neurotrauma. – 1995. – Vol. 12. – № 1. – P. 1–21.

32. Basso Mouse Scale for Locomotion Detects Differences in Recovery after Spinal Cord Injury in Five Common Mouse Strains / D. M. Basso [et al.] // Journal of Neurotrauma. – 2006. – Vol. 23. – № 5. – P. 635–659.

33. Beam narrowing test: a motor index of post-stroke motor evaluation in an aged rat model of cerebral ischemia / L. R. Pinosanu [et al.] // Journal of Neural Transmission. – 2024. – Vol. 131. – № 7. – P. 763–771.

34. Benarroch, E. E. Oligodendrocytes: Susceptibility to injury and involvement in neurologic disease / E. E. Benarroch // Neurology. – 2009. – Vol. 72. – № 20. – P. 1779–1785.

35. Blood-Brain Barrier Permeability: Is 5-Hydroxytryptamine Receptor Type 4 a Game Changer? / G. Becker [et al.] // Pharmaceutics. – 2021. – Vol. 13. – № 11. – Art. 1856.

36. Bradbury, E. J. Moving beyond the glial scar for spinal cord repair / E. J. Bradbury, E. R. Burnside // Nature Communications. – 2019. – Vol. 10. – № 1. – Art. 3879.

37. Brezun, J. M. Depletion in serotonin decreases neurogenesis in the dentate gyrus and the subventricular zone of adult rats / J. M. Brezun, A. Daszuta // Neuroscience. – 1999. – Vol. 89. – № 4. – P. 999–1002.

38. Brodbelt, A. R. Post-traumatic syringomyelia: a review / A. R. Brodbelt, M. A. Stoodley // Journal of Clinical Neuroscience. – 2003. – Vol. 10. – № 4. – P. 401–408.

39. Brown, A. The dark side of neuroplasticity / A. Brown, L. C. Weaver // Experimental Neurology. – 2012. – Vol. 235. – № 1. – P. 133–141.

40. Burda, J. E. Reactive Gliosis and the Multicellular Response to CNS Damage and Disease / J. E. Burda, M. V. Sofroniew // Neuron. – 2014. – Vol. 81. – № 2. – P. 229–248.

41. cAMP-Response Element (CRE)-Mediated Transcription by CRE-Binding Protein (CREB) Is Essential for Human Tryptophan Hydroxylase 2 Gene Expression / Y. Nawa [et al.] // Journal of Neurochemistry. – 2025. – Vol. 169. – № 6. – Art. e70138.

42. Cell Therapy and Biomaterials: Modern Approaches in the Treatment of Spinal Cord Injury / K. A. Arsentiev [et al.] // Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology. – 2024. – Vol. 60. – № S1. – P. S23–S49.

43. Central Serotonin Deficiency Impairs Recovery of Sensorimotor Abilities After Spinal Cord Injury in Rats / Y. I. Sysoev [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2025. – Vol. 26. – № 6. – Art. 2761.

44. Cherry, J. D. Neuroinflammation and M2 microglia: the good, the bad, and the inflamed / J. D. Cherry, J. A. Olschowka, M. K. O'Banion // Journal of Neuroinflammation. – 2014. – Vol. 11. – № 1. – Art. 98.

45. Chondroitinase ABC promotes functional recovery after spinal cord injury / E. J. Bradbury [et al.] // Nature. – 2002. – Vol. 416. – № 6881. – P. 636–640.

46. Chronic central serotonin depletion attenuates ventilation and body temperature in young but not adult Tph2 knockout rats / K. Kaplan [et al.] // Journal of Applied Physiology. – 2016. – Vol. 120. – № 9. – P. 1070–1081.

47. Chronic SSRI stimulation of astrocytic 5-HT2B receptors change multiple gene expressions/editings and metabolism of glutamate, glucose and glycogen: a potential paradigm shift / L. Hertz [et al.] // Frontiers in Behavioral Neuroscience. – 2015. – Vol. 9. – Art. 25.

48. Classification and signaling characteristics of 5-HT receptors: toward the concept of 5-HT receptosomes / P. Marin [et al.] // Handbook of the Behavioral Neurobiology of Serotonin. – Elsevier, 2020. – Vol. 31. – P. 91–120. – (Handbook of Behavioral Neuroscience).

49. Clinical Assessment and Management of Acute Spinal Cord Injury / C. Quinones [et al.] // Journal of Clinical Medicine. – 2024. – Vol. 13. – № 19. – Art. 5719.

50. Clip Compression Model Is Useful for Thoracic Spinal Cord Injuries: Histologic and Functional Correlates / P. C. Poon [et al.] // Spine. – 2007. – Vol. 32. – № 25. – P. 2853–2859.

51. Colzato, L. S. Effects of estrogen on higher-order cognitive functions in unstressed human females may depend on individual variation in dopamine baseline levels / L. S. Colzato, B. Hommel // Frontiers in Neuroscience. – 2014. – Vol. 8. – Art. 65.

52. Constitutive activity of 5-HT2C receptors is present after incomplete spinal cord injury but is not modified after chronic SSRI or baclofen treatment / V. M. Tysseling [et al.] // Journal of Neurophysiology. – 2017. – Vol. 118. – № 5. – P. 2944–2952.

53. Constitutively active 5-HT2/α1 receptors facilitate muscle spasms after human spinal cord injury / J. M. D'Amico [et al.] // Journal of Neurophysiology. – 2013. – Vol. 109. – № 6. – P. 1473–1484.

54. Contribution of spinal 5-HT1A and 5-HT7 receptors to locomotor-like movement induced by 8-OH-DPAT in spinal cord-transected mice / E. S. Landry [et al.] // European Journal of Neuroscience. – 2006. – Vol. 24. – № 2. – P. 535–546.

55. Control of locomotor speed, arousal, and hippocampal theta rhythms by the nucleus incertus / L. Lu [et al.] // Nature Communications. – 2020. – Vol. 11. – № 1. – Art. 262.

56. Cortico-reticulo-spinal circuit reorganization enables functional recovery after severe spinal cord contusion / L. Asboth [et al.] // Nature Neuroscience. – 2018. – Vol. 21. – № 4. – P. 576–588.

57. Current Knowledge of Microglia in Traumatic Spinal Cord Injury / L. Xu [et al.]

// Frontiers in Neurology. – 2022. – Vol. 12. – Art. 796704.

58. David, S. Inflammation and Secondary Damage after Spinal Cord Injury / S. David, A. Kroner // Neural Regeneration. – Elsevier, 2015. – P. 245–261.

59. David, S. Repertoire of microglial and macrophage responses after spinal cord injury / S. David, A. Kroner // Nature Reviews Neuroscience. – 2011. – Vol. 12. – № 7. – P. 388–399.

60. Dealing with Danger in the CNS: The Response of the Immune System to Injury / S. P. Gadani [et al.] // Neuron. – 2015. – Vol. 87. – № 1. – P. 47–62.

61. Degradation of chondroitin sulfate proteoglycans potentiates transplant-mediated axonal remodeling and functional recovery after spinal cord injury in adult rats / B. G. Kim [et al.] // The Journal of Comparative Neurology. – 2006. – Vol. 497. – № 2. – P. 182–198.

62. Denervation supersensitivity to 5-hydroxytryptamine in the rat spinal cord is not due to the absence of 5-hydroxytryptamine / L. E. Tremblay [et al.] // Brain Research. – 1985. – Vol. 330. – № 1. – P. 174–177.

63. Develle, Y. Biphasic Effect of Buspirone on the H-Reflex in Acute Spinal Decerebrated Mice / Y. Develle, H. Leblond // Frontiers in Cellular Neuroscience. – 2020. – Vol. 13. – Art. 573.

64. Different immune cells mediate mechanical pain hypersensitivity in male and female mice / R. E. Sorge [et al.] // Nature Neuroscience. – 2015. – Vol. 18. – № 8. – P. 1081–1083.

65. Differential coupling of 5-HT1 receptors to G proteins of the Gi family / S. L. Lin [et al.] // British Journal of Pharmacology. – 2002. – Vol. 136. – № 7. – P. 1072–1078.

66. Disability, atrophy and cortical reorganization following spinal cord injury / P. Freund [et al.] // Brain. – 2011. – Vol. 134. – № 6. – P. 1610–1622.

67. Distribution and cellular localization of the serotonin type 2C receptor messenger RNA in human brain / M. Pasqualetti [et al.] // Neuroscience. – 1999. – Vol. 92. – № 2. – P. 601–611.

68. Distribution of 5-HT3, 5-HT4, and 5-HT7 Receptors Along the Human Colon / N. S. Yaakob [et al.] // Journal of Neurogastroenterology and Motility. – 2015. – Vol. 21. – № 3. – P. 361–369.

69. Edgerton, V. R. A new age for rehabilitation / V. R. Edgerton, R. R. Roy // European Journal of Physical and Rehabilitation Medicine. – 2012. – Vol. 48. – № 1. – P. 99–109.

70. Effect of Combination of Non-Invasive Spinal Cord Electrical Stimulation and Serotonin Receptor Activation in Patients with Chronic Spinal Cord Lesion / T. R. Moshonkina [et al.] // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2016. – Vol. 161. – № 6. – P. 749–754.

71. Effect of Sex on Motor Function, Lesion Size, and Neuropathic Pain after Contusion Spinal Cord Injury in Mice / K. McFarlane [et al.] // Journal of Neurotrauma. – 2020. – Vol. 37. – № 18. – P. 1983–1990.

72. Effects of serotonin in the hippocampus: how SSRIs and multimodal

antidepressants might regulate pyramidal cell function / E. Dale [et al.] // CNS Spectrums. – 2016. – Vol. 21. – № 2. – P. 143–161.

73. Electrophysiological biomarkers of neuromodulatory strategies to recover motor function after spinal cord injury / P. Gad [et al.] // Journal of Neurophysiology. – 2015. – Vol. 113. – № 9. – P. 3386–3396.

74. Enhanced aggressive phenotype of Tph2 knockout rats is associated with diminished 5-HT1A receptor sensitivity / D. G. A. Peeters [et al.] // Neuropharmacology. – 2019. – Vol. 153. – P. 134–141.

75. Epidemiology of Spinal Cord Injuries and Risk Factors for Complete Injuries in Guangdong, China: A Retrospective Study / R. Yang [et al.] // PLoS ONE. – 2014. – Vol. 9. – № 1. – Art. e84733.

76. Excitatory drive to spinal motoneurones is necessary for serotonin to modulate motoneurone excitability via 5-HT2 receptors in humans / T. T. Henderson [et al.] // European Journal of Neuroscience. – 2024. – Vol. 59. – № 1. – P. 17–35.

77. Exercise Training after Spinal Cord Injury Selectively Alters Synaptic Properties in Neurons in Adult Mouse Spinal Cord / J. R. Flynn [et al.] // Journal of Neurotrauma. – 2013. – Vol. 30. – № 10. – P. 891–896.

78. Experimental Modeling of Spinal Cord Injury: Characterization of a Force-Defined Injury Device / S. W. Scheff [et al.] // Journal of Neurotrauma. – 2003. – Vol. 20. – № 2. – P. 179–193.

79. Exploring acute-to-chronic neuropathic pain in rats after contusion spinal cord injury / A. D. Gaudet [et al.] // Experimental Neurology. – 2017. – Vol. 295. – P. 46–54.

80. Facilitation of Locomotor Spinal Networks Activity by Buspirone after a Complete Spinal Cord Lesion in Mice / R. Jeffrey-Gauthier [et al.] // Journal of Neurotrauma. – 2018. – Vol. 35. – № 18. – P. 2208–2221.

81. Fauss, G. N. K. Role of Descending Serotonergic Fibers in the Development of Pathophysiology after Spinal Cord Injury (SCI): Contribution to Chronic Pain, Spasticity, and Autonomic Dysreflexia / G. N. K. Fauss, K. E. Hudson, J. W. Grau // Biology. – 2022. – Vol. 11. – № 2. – Art. 234.

82. Field, E. F. The Brain as the Engine of Sex Differences in the Organization of Movement in Rats / E. F. Field, S. M. Pellis // Archives of Sexual Behavior. – 2008. – Vol. 37. – № 1. – P. 30–42.

83. Fluoxetine treatment promotes functional recovery in a rat model of cervical spinal cord injury / M. Scali [et al.] // Scientific Reports. – 2013. – Vol. 3. – № 1. – Art. 2217.

84. From Serotonin to Neuroplasticity: Evolvement of Theories for Major Depressive Disorder / B. Liu [et al.] // Frontiers in Cellular Neuroscience. – 2017. – Vol. 11. – Art. 305.

85. Fujita, Y. Axon growth inhibition by RhoA/ROCK in the central nervous system / Y. Fujita, T. Yamashita // Frontiers in Neuroscience. – 2014. – Vol. 8. – Art. 338.

86. Functional brain reorganization after spinal cord injury: Systematic review of

animal and human studies / R. Nardone [et al.] // Brain Research. – 2013. – Vol. 1504. – P. 58–73.

87. Fuxe, K. Evidence for the existence of monoamine neurons in the central nervous system: III. The monoamine nerve terminal / K. Fuxe // Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie. – 1965. – Vol. 65. – № 4. – P. 573–596.

88. G protein-coupled receptors in neurodegenerative diseases and psychiatric disorders / T.-S. Wong [et al.] // Signal Transduction and Targeted Therapy. – 2023. – Vol. 8. – № 1. – Art. 177.

89. Gackière, F. Serotonergic modulation of post-synaptic inhibition and locomotor alternating pattern in the spinal cord / F. Gackière, L. Vinay // Frontiers in Neural Circuits. – 2014. – Vol. 8. – Art. 102.

90. GAP-43 Is Critical for Normal Development of the Serotonergic Innervation in Forebrain / S. L. Donovan [et al.] // The Journal of Neuroscience. – 2002. – Vol. 22. – № 9. – P. 3543–3552.

91. Gaspar, P. The developmental role of serotonin: news from mouse molecular genetics / P. Gaspar, O. Cases, L. Maroteaux // Nature Reviews Neuroscience. – 2003. – Vol. 4. – № 12. – P. 1002–1012.

92. Gaudet, A. D. Extracellular matrix regulation of inflammation in the healthy and injured spinal cord / A. D. Gaudet, P. G. Popovich // Experimental Neurology. – 2014. – Vol. 258. – P. 24–34.

93. Genetic depletion of brain 5HT reveals a common molecular pathway mediating compulsivity and impulsivity / M. Angoa-Pérez [et al.] // Journal of Neurochemistry. – 2012. – Vol. 121. – № 6. – P. 974–984.

94. Genetic Disruption of Both Tryptophan Hydroxylase Genes Dramatically Reduces Serotonin and Affects Behavior in Models Sensitive to Antidepressants / K. V. Savelieva [et al.] // PLoS ONE. – 2008. – Vol. 3. – № 10. – Art. e3301.

95. Genetic Factors Affecting Neuroplasticity / Z. Maritska [et al.] // Sriwijaya Journal of Medicine. – 2023. – Vol. 6. – № 2. – P. 39–47.

96. Gensel, J. C. Macrophage activation and its role in repair and pathology after spinal cord injury / J. C. Gensel, B. Zhang // Brain Research. – 2015. – Vol. 1619. – P. 1–11.

97. Geoffroy, C. G. Myelin-associated inhibitors in axonal growth after CNS injury / C. G. Geoffroy, B. Zheng // Current Opinion in Neurobiology. – 2014. – Vol. 27. – P. 31–38.

98. Ghosh, M. Spinal cord injury and plasticity / M. Ghosh, D. D. Pearse // The Neuroscience of Spinal Cord Injury. – Elsevier, Academic Press, 2022. – P. 257–265.

99. Ghosh, M. The role of the serotonergic system in locomotor recovery after spinal cord injury / M. Ghosh, D. D. Pearse // Frontiers in Neural Circuits. – 2015. – Vol. 8. – Art. 151.

100. Glial Scar Borders Are Formed by Newly Proliferated, Elongated Astrocytes That Interact to Corral Inflammatory and Fibrotic Cells via STAT3-Dependent Mechanisms after Spinal Cord Injury / I. B. Wanner [et al.] // Journal of Neuroscience. – 2013. – Vol. 33. – № 31. – P. 12870–12886.

101. Global prevalence and incidence of traumatic spinal cord injury / A. Singh [et al.] // Clinical Epidemiology. – 2014. – Vol. 6. – P. 309–331.

102. Glucocorticoid modulation of tryptophan hydroxylase-2 protein in raphe nuclei and 5-hydroxytryptophan concentrations in frontal cortex of C57/Bl6 mice / J. A. Clark [et al.] // Molecular Psychiatry. – 2008. – Vol. 13. – № 5. – P. 498–506.

103. Grafts of Schwann cells engineered to express PSA-NCAM promote functional recovery after spinal cord injury / F. Papastefanaki [et al.] // Brain. – 2007. – Vol. 130. – № 8. – P. 2159–2174.

104. Growth retardation and altered autonomic control in mice lacking brain serotonin / N. Alenina [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2009. – Vol. 106. – № 25. – P. 10332–10337.

105. Guseva, D. Cellular mechanisms of the 5-HT7 receptor-mediated signaling / D. Guseva, A. Wirth, E. Ponimaskin // Frontiers in Behavioral Neuroscience. – 2014. – Vol. 8. – Art. 306.

106. Gut-Spinal Cord Axis in Spinal Cord Injury: Bidirectional Inflammatory Mechanisms and Microbiota-Targeted Therapeutic Strategies / J. Dong [et al.] // Journal of Inflammation Research. – 2025. – Vol. 18. – P. 12549–12573.

107. Hamers, F. P. T. CatWalk-Assisted Gait Analysis in the Assessment of Spinal Cord Injury / F. P. T. Hamers, G. C. Koopmans, E. A. J. Joosten // Journal of Neurotrauma. – 2006. – Vol. 23. – № 3–4. – P. 537–548.

108. Harkema, S. Historical development and contemporary use of neuromodulation in human spinal cord injury / S. Harkema, C. Angeli, Y. Gerasimenko // Current Opinion in Neurology. – 2022. – Vol. 35. – № 4. – P. 536–543.

109. Hedlund, P. B. The 5-HT7 receptor and disorders of the nervous system: an overview / P. B. Hedlund // Psychopharmacology. – 2009. – Vol. 206. – № 3. – P. 345–354.

110. Heterogeneity analysis of astrocytes following spinal cord injury at single-cell resolution / J. Hou [et al.] // The FASEB Journal. – 2022. – Vol. 36. – № 8. – Art. e22442.

111. Higuchi, Y. Serotonergic mediation of the brain-wide neurogenesis: Region-dependent and receptor-type specific roles on neurogenic cellular transformation / Y. Higuchi, H. Arakawa // Current Research in Neurobiology. – 2023. – Vol. 5. – Art. 100102.

112. Hindlimb loading determines stepping quantity and quality following spinal cord transection / W. K. Timoszyk [et al.] // Brain Research. – 2005. – Vol. 1050. – № 1–2. – P. 180–189.

113. Hippocampal Mitochondrial Abnormalities Induced the Dendritic Complexity Reduction and Cognitive Decline in a Rat Model of Spinal Cord Injury / X. Hu [et al.] // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2022. – Vol. 2022. – Art. 9253916.

114. Hippocampal Neuroinflammation, Functional Connectivity, and Depressive Symptoms in Multiple Sclerosis / A. Colasanti [et al.] // Biological Psychiatry. – 2016. – Vol. 80. – № 1. – P. 62–72.

115. Hippocampal neuroinflammation induced by lipopolysaccharide causes sex-specific disruptions in action selection, food approach memories, and neuronal activation / K. Ganesan [et al.] // Brain, Behavior, and Immunity. – 2025. – Vol. 124. – P. 9–27.

116. Holeček, M. Serotonin, Kynurenine, and Indole Pathways of Tryptophan Metabolism in Humans in Health and Disease / M. Holeček // Nutrients. – 2026. – Vol. 18. – № 3. – Art. 507.

117. Hollis, E. R. Axon Guidance Molecules and Neural Circuit Remodeling After Spinal Cord Injury / E. R. Hollis // Neurotherapeutics. – 2016. – Vol. 13. – № 2. – P. 360–369.

118. Hornung, J.-P. The human raphe nuclei and the serotonergic system / J.-P. Hornung // Journal of Chemical Neuroanatomy. – 2003. – Vol. 26. – № 4. – P. 331–343.

119. Huang, G.-J. The role of 5-HT1A receptors in the proliferation and survival of progenitor cells in the dentate gyrus of the adult hippocampus and their regulation by corticoids / G.-J. Huang, J. Herbert // Neuroscience. – 2005. – Vol. 135. – № 3. – P. 803–813.

120. Human loss-of-function variants in the serotonin 2C receptor associated with obesity and maladaptive behavior / Y. He [et al.] // Nature Medicine. – 2022. – Vol. 28. – № 12. – P. 2537–2546.

121. Identification of Two Distinct Macrophage Subsets with Divergent Effects Causing either Neurotoxicity or Regeneration in the Injured Mouse Spinal Cord / K. A. Kigerl [et al.] // The Journal of Neuroscience. – 2009. – Vol. 29. – № 43. – P. 13435–13444.

122. In vivo imaging in mouse spinal cord reveals that microglia prevent degeneration of injured axons / W. Wu [et al.] // Nature Communications. – 2024. – Vol. 15. – № 1. – Art. 8837.

123. Incidence of Spinal Cord Injury Worldwide: A Systematic Review / M. E. L. Van Den Berg [et al.] // Neuroepidemiology. – 2010. – Vol. 34. – № 3. – P. 184–192.

124. Incidence of traumatic spinal cord injury worldwide: A systematic review, data integration, and update / S. B. Jazayeri [et al.] // World Neurosurgery: X. – 2023. – Vol. 18. – Art. 100171.

125. Inducible gene manipulations in serotonergic neurons / T. Weber [et al.] // Frontiers in Molecular Neuroscience. – 2009. – Vol. 2. – Art. 24.

126. Inflammation after spinal cord injury: a review of the critical timeline of signaling cues and cellular infiltration / D. J. Hellenbrand [et al.] // Journal of Neuroinflammation. – 2021. – Vol. 18. – № 1. – Art. 284.

127. Inflammation is increased with anxiety- and depression-like signs in a rat model of spinal cord injury / S. Maldonado-Bouchard [et al.] // Brain, Behavior, and Immunity. – 2016. – Vol. 51. – P. 176–195.

128. Intersection of hippocampus and spinal cord: a focus on the hippocampal alpha-synuclein accumulation, dopaminergic receptors, neurogenesis, and cognitive function following spinal cord injury in male rats / A. K. Kalkhoran [et al.] // BMC Neuroscience. – 2022. – Vol. 23. – № 1. – Art. 44.

129. Isolated spinal cord contusion in rats induces chronic brain neuroinflammation,

neurodegeneration, and cognitive impairment: Involvement of cell cycle activation / J. Wu [et al.] // Cell Cycle. – 2014a. – Vol. 13. – № 15. – P. 2446–2458.

130. Kanova, M. Serotonin – Its Synthesis and Roles in the Healthy and the Critically Ill / M. Kanova, P. Kohout // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22. – № 9. – Art. 4837.

131. Kawashima, T. The role of the serotonergic system in motor control / T. Kawashima // Neuroscience Research. – 2018. – Vol. 129. – P. 32–39.

132. Keefe, K. Targeting Neurotrophins to Specific Populations of Neurons: NGF, BDNF, and NT-3 and Their Relevance for Treatment of Spinal Cord Injury / K. Keefe, I. Sheikh, G. Smith // International Journal of Molecular Sciences. – 2017. – Vol. 18. – № 3. – Art. 548.

133. Kennedy, P. Self-harm and suicide before and after spinal cord injury: a systematic review / P. Kennedy, L. Garmon-Jones // Spinal Cord. – 2017. – Vol. 55. – № 1. – P. 2–7.

134. King, M. A role for the 5-HT1A, 5-HT4 and 5-HT6 receptors in learning and memory / M. King, C. Marsden, K. Fone // Trends in Pharmacological Sciences. – 2008. – Vol. 29. – № 9. – P. 482–492.

135. Knockout of microglial Hv1 proton channel reduces neurotoxic A1 astrocytes and neuronal damage via the ROS/STAT3 pathway after spinal cord injury / Y. Li [et al.] // Glia. – 2023. – Vol. 71. – № 10. – P. 2418–2436.

136. Kompoliti, K. Estrogen and movement disorders / K. Kompoliti // Clinical Neuropharmacology. – 1999. – Vol. 22. – № 6. – P. 318–326.

137. Kopper, T. J. Myelin as an inflammatory mediator: Myelin interactions with complement, macrophages, and microglia in spinal cord injury / T. J. Kopper, J. C. Gensel // Journal of Neuroscience Research. – 2018. – Vol. 96. – № 6. – P. 969–977.

138. Lack of brain serotonin affects postnatal development and serotonergic neuronal circuitry formation / S. Migliarini [et al.] // Molecular Psychiatry. – 2013. – Vol. 18. – № 10. – P. 1106–1118.

139. León-Ponte, M. Serotonin provides an accessory signal to enhance T-cell activation by signaling through the 5-HT7 receptor / M. León-Ponte, G. P. Ahern, P. J. O'Connell // Blood. – 2007. – Vol. 109. – № 8. – P. 3139–3146.

140. Li, C. The roles of neural stem cells in myelin regeneration and repair therapy after spinal cord injury / C. Li, Y. Luo, S. Li // Stem Cell Research & Therapy. – 2024. – Vol. 15. – № 1. – Art. 204.

141. Li, S. Delayed Systemic Nogo-66 Receptor Antagonist Promotes Recovery from Spinal Cord Injury / S. Li, S. M. Strittmatter // The Journal of Neuroscience. – 2003. – Vol. 23. – № 10. – P. 4219–4227.

142. Lipid Droplet-Accumulating Microglia as a Therapeutic Node in Neurodegenerative Disease / S. Guo [et al.] // ACS Chemical Neuroscience. – 2026. – Vol. 17. – № 12. – P. 2302–2318.

143. Lipid-droplet-accumulating microglia represent a dysfunctional and proinflammatory state in the aging brain / J. Marschallinger [et al.] // Nature Neuroscience. – 2020. – Vol. 23. – № 2. – P. 194–208.

144. Liu, B. Role of Microglia in Inflammation-Mediated Neurodegenerative Diseases: Mechanisms and Strategies for Therapeutic Intervention / B. Liu, J.-S. Hong // The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 2003. – Vol. 304. – № 1. – P. 1–7.

145. Loane, D. J. Microglia in the TBI brain: The good, the bad, and the dysregulated / D. J. Loane, A. Kumar // Experimental Neurology. – 2016. – Vol. 275. – P. 316–327.

146. Locomotion After Spinal Cord Injury Depends on Constitutive Activity in Serotonin Receptors / K. Fouad [et al.] // Journal of Neurophysiology. – 2010. – Vol. 104. – № 6. – P. 2975–2984.

147. Long-Term 5-HT1A Receptor Agonist NLX-112 Treatment Improves Functional Recovery After Spinal Cord Injury / C.-Y. Lin [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2024. – Vol. 26. – № 1. – Art. 239.

148. Long-Term Training with a Brain-Machine Interface-Based Gait Protocol Induces Partial Neurological Recovery in Paraplegic Patients / A. R. C. Donati [et al.] // Scientific Reports. – 2016. – Vol. 6. – № 1. – Art. 30383.

149. Loss of 5-HT2C receptor function alters motor behavior in male and female mice with and without spinal cord injury / M. I. Sim [et al.] // Frontiers in Neural Circuits. – 2025. – Vol. 19. – Art. 1681120.

150. Macrophage MSR1 promotes the formation of foamy macrophage and neuronal apoptosis after spinal cord injury / F.-Q. Kong [et al.] // Journal of Neuroinflammation. – 2020. – Vol. 17. – № 1. – Art. 62.

151. Margetis, K. Spinal Cord Injuries / K. Margetis, J. M. Das, P. D. Emmady // StatPearls. – Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing, 2026.

152. Martinowich, K. Interaction between BDNF and Serotonin: Role in Mood Disorders / K. Martinowich, B. Lu // Neuropsychopharmacology. – 2008. – Vol. 33. – № 1. – P. 73–83.

153. Mattson, M. P. A neural signaling triumvirate that influences ageing and age-related disease: insulin/IGF-1, BDNF and serotonin / M. P. Mattson, S. Maudsley, B. Martin // Ageing Research Reviews. – 2004. – Vol. 3. – № 4. – P. 445–464.

154. Mechanical and cold allodynia in a rat spinal cord contusion model / Y. W. Yoon [et al.] // Somatosensory & Motor Research. – 2004. – Vol. 21. – № 1. – P. 25–31.

155. Metz, G. A. The Ladder Rung Walking Task: A Scoring System and its Practical Application / G. A. Metz, I. Q. Whishaw // Journal of Visualized Experiments. – 2009. – № 28. – Art. 1204.

156. Michinaga, S. Pathophysiological Responses and Roles of Astrocytes in Traumatic Brain Injury / S. Michinaga, Y. Koyama // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22. – № 12. – Art. 6418.

157. Microglia states and nomenclature: A field at its crossroads / R. C. Paolicelli [et al.] // Neuron. – 2022. – Vol. 110. – № 21. – P. 3458–3483.

158. miR-223 accelerates lipid droplets clearance in microglia following spinal cord injury by upregulating ABCA1 / Z. Ou [et al.] // Journal of Translational Medicine. – 2024. – Vol. 22. – № 1. – Art. 659.

159. Mitroshina, E. V. Impact of 5-HT4 Receptors on Neuron-Glial Network Activity In Vitro / E. V. Mitroshina, E. A. Marasanova, M. V. Vedunova // International Journal of Molecular Sciences. – 2025. – Vol. 26. – № 16. – Art. 7718.

160. Miyazaki, I. Serotonin 1A Receptors on Astrocytes as a Potential Target for the Treatment of Parkinson's Disease / I. Miyazaki, M. Asanuma // Current Medicinal Chemistry. – 2016. – Vol. 23. – № 7. – P. 686–700.

161. Modulation of Receptor Protein Tyrosine Phosphatase Sigma Increases Chondroitin Sulfate Proteoglycan Degradation through Cathepsin B Secretion to Enhance Axon Outgrowth / A. P. Tran [et al.] // The Journal of Neuroscience. – 2018. – Vol. 38. – № 23. – P. 5399–5414.

162. Molecular Changes in CSPG and Glial Scar Markers in Response to Subpial Chondroitinase ABC Treatment Following Spinal Cord Injury / A. Kisucká [et al.] // European Journal of Neuroscience. – 2026. – Vol. 63. – № 1. – Art. e70389.

163. Monje, M. L. Inflammatory Blockade Restores Adult Hippocampal Neurogenesis / M. L. Monje, H. Toda, T. D. Palmer // Science. – 2003. – Vol. 302. – № 5651. – P. 1760–1765.

164. Moser, M.-B. Place Cells, Grid Cells, and Memory / M.-B. Moser, D. C. Rowland, E. I. Moser // Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. – 2015. – Vol. 7. – № 2. – Art. a021808.

165. Motor deficits and recovery in rats with unilateral spinal cord hemisection mimic the Brown-Séquard syndrome / L. Filli [et al.] // Brain. – 2011. – Vol. 134. – № 8. – P. 2261–2273.

166. Motor Neurobiology of the Spinal Cord / ed. T. C. Cope. – Boca Raton : CRC Press, 2001. – 360 p. – (Frontiers in Neuroscience).

167. MRI investigation of the sensorimotor cortex and the corticospinal tract after acute spinal cord injury: a prospective longitudinal study / P. Freund [et al.] // The Lancet Neurology. – 2013. – Vol. 12. – № 9. – P. 873–881.

168. Muller, C. L. The serotonin system in autism spectrum disorder: From biomarker to animal models / C. L. Muller, A. M. J. Anacker, J. Veenstra-VanderWeele // Neuroscience. – 2016. – Vol. 321. – P. 24–41.

169. Murphy, D. L. Targeting the murine serotonin transporter: insights into human neurobiology / D. L. Murphy, K.-P. Lesch // Nature Reviews Neuroscience. – 2008. – Vol. 9. – № 2. – P. 85–96.

170. Myelin-Associated Glycoprotein (MAG) Protects Neurons from Acute Toxicity Using a Ganglioside-Dependent Mechanism / N. R. Mehta [et al.] // ACS Chemical Neuroscience. – 2010. – Vol. 1. – № 3. – P. 215–222.

171. National Spinal Cord Injury Statistical Center. Traumatic Spinal Cord Injury Facts

and Figures at a Glance / National Spinal Cord Injury Statistical Center. – Birmingham, AL : University of Alabama at Birmingham, 2022.

172. Neckel, N. D. Methods to quantify the velocity dependence of common gait measurements from automated rodent gait analysis devices / N. D. Neckel // Journal of Neuroscience Methods. – 2015. – Vol. 253. – P. 244–253.

173. Nemeroff, C. B. Pharmacologic Differences Among the SSRIs: Focus on Monoamine Transporters and the HPA Axis / C. B. Nemeroff, M. J. Owens // CNS Spectrums. – 2004. – Vol. 9. – № S4. – P. 23–31.

174. Neurogenesis after Spinal Cord Injury: State of the Art / R. Rodríguez-Barrera [et al.] // Cells. – 2021. – Vol. 10. – № 6. – Art. 1499.

175. Neuroinflammation – A Crucial Factor in the Pathophysiology of Depression – A Comprehensive Review / A. Sălcudean [et al.] // Biomolecules. – 2025. – Vol. 15. – № 4. – Art. 502.

176. Neuroinflammation and the Kynurenine Pathway in CNS Disease: Molecular Mechanisms and Therapeutic Implications / M. N. Mithaiwala [et al.] // Cells. – 2021. – Vol. 10. – № 6. – Art. 1548.

177. Neuropathic Pain Causes a Decrease in the Dendritic Tree Complexity of Hippocampal CA3 Pyramidal Neurons / A. A. Tyrtyshnaia [et al.] // Cells Tissues Organs. – 2019. – Vol. 208. – № 3–4. – P. 89–100.

178. Neurophysiological evidence of spared upper motor conduction fibers in clinically complete spinal cord injury: discomplete SCI in rats / K. Yu [et al.] // Journal of the Neurological Sciences. – 2001. – Vol. 189. – № 1–2. – P. 23–36.

179. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia / S. A. Liddelow [et al.] // Nature. – 2017. – Vol. 541. – № 7638. – P. 481–487.

180. Neurotransmitter-mediated control of neurogenesis in the adult vertebrate brain / D. A. Berg [et al.] // Development. – 2013. – Vol. 140. – № 12. – P. 2548–2561.

181. Neurotransmitters and Immunity: Molecular Mechanisms, Biological Functions, Diseases, and Potential Therapeutic Targets / G. Li [et al.] // MedComm. – 2025. – Vol. 6. – № 12. – Art. e70556.

182. Nichols, C. D. Serotonin 5-HT2A Receptor Function as a Contributing Factor to Both Neuropsychiatric and Cardiovascular Diseases / C. D. Nichols // Cardiovascular Psychiatry and Neurology. – 2009. – Vol. 2009. – P. 1–8.

183. Nuñez, A. The Theta Rhythm of the Hippocampus: From Neuronal and Circuit Mechanisms to Behavior / A. Nuñez, W. Buño // Frontiers in Cellular Neuroscience. – 2021. – Vol. 15. – Art. 649262.

184. Oades, R. Dopamine-serotonin interactions in attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD) / R. Oades // Progress in Brain Research. – Elsevier, 2008. – Vol. 172. – P. 543–565.

185. Outcomes of post-spinal cord injury marriages / M. J. DeVivo [et al.] // Archives

of Physical Medicine and Rehabilitation. – 1995. – Vol. 76. – № 2. – P. 130–138.

186. Path integration and the neural basis of the "cognitive map" / B. L. McNaughton [et al.] // Nature Reviews Neuroscience. – 2006. – Vol. 7. – № 8. – P. 663–678.

187. Pelvic growth: Ontogeny of size and shape sexual dimorphism in rat pelves / S. Berdnikovs [et al.] // Journal of Morphology. – 2007. – Vol. 268. – № 1. – P. 12–22.

188. Perrin, F. E. Serotonergic mechanisms in spinal cord injury / F. E. Perrin, H. N. Noristani // Experimental Neurology. – 2019. – Vol. 318. – P. 174–191.

189. Plasticity induced by non-invasive transcranial brain stimulation: A position paper / Y.-Z. Huang [et al.] // Clinical Neurophysiology. – 2017. – Vol. 128. – № 11. – P. 2318–2329.

190. PLIN2-PGAM5-regulated lipid droplet-mitochondria contacts drive microglial neuroinflammation after spinal cord injury via fatty acid metabolic reprogramming / D. Huang [et al.] // Cell Death & Differentiation. – 2026. – DOI: 10.1038/s41418-026-01815-5.

191. Poor Decision Making and Sociability Impairment Following Central Serotonin Reduction in Inducible TPH2-Knockdown Rats / L. Alonso [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2024. – Vol. 25. – № 9. – Art. 5003.

192. Posttraumatic syringomyelia: pathogenesis, imaging, and treatment / E. D. Schwartz [et al.] // American Journal of Roentgenology. – 1999. – Vol. 173. – № 2. – P. 487–492.

193. Profiling locomotor recovery: comprehensive quantification of impairments after CNS damage in rodents / B. Zörner [et al.] // Nature Methods. – 2010. – Vol. 7. – № 9. – P. 701–708.

194. Quality of life instruments and definitions in individuals with spinal cord injury: a systematic review / M. R. Hill [et al.] // Spinal Cord. – 2010. – Vol. 48. – № 6. – P. 438–450.

195. Quintero-Villegas, A. Role of 5-HT7 receptors in the immune system in health and disease / A. Quintero-Villegas, S. I. Valdés-Ferrer // Molecular Medicine. – 2020. – Vol. 26. – № 1. – Art. 2.

196. Ransohoff, R. M. A polarizing question: do M1 and M2 microglia exist? / R. M. Ransohoff // Nature Neuroscience. – 2016. – Vol. 19. – № 8. – P. 987–991.

197. Reactive Astrocytes Protect Tissue and Preserve Function after Spinal Cord Injury / J. R. Faulkner [et al.] // The Journal of Neuroscience. – 2004. – Vol. 24. – № 9. – P. 2143–2155.

198. Recovery of motoneuron and locomotor function after spinal cord injury depends on constitutive activity in 5-HT2C receptors / K. C. Murray [et al.] // Nature Medicine. – 2010. – Vol. 16. – № 6. – P. 694–700.

199. Regulating PPARG Reduces Lipid Accumulation in Microglia and Promotes Functional Recovery After Spinal Cord Injury / M. Luo [et al.] // Advanced Science. – 2025. – Vol. 12. – № 43. – Art. e06313.

200. Rho Inhibitor VX-210 in Acute Traumatic Subaxial Cervical Spinal Cord Injury: Design of the SPinal Cord Injury Rho INhibition InvestiGation (SPRING) Clinical Trial / M. G. Fehlings [et al.] // Journal of Neurotrauma. – 2018. – Vol. 35. – № 9. – P. 1049–1056.

201. Rivlin, A. S. Effect of duration of acute spinal cord compression in a new acute cord injury model in the rat / A. S. Rivlin, C. H. Tator // Surgical Neurology. – 1978. – Vol. 10. – № 1. – P. 38–43.

202. Rivlin, A. S. Objective clinical assessment of motor function after experimental spinal cord injury in the rat / A. S. Rivlin, C. H. Tator // Journal of Neurosurgery. – 1977. – Vol. 47. – № 4. – P. 577–581.

203. Rojas, P. S. What Do We Really Know About 5-HT1A Receptor Signaling in Neuronal Cells? / P. S. Rojas, J. L. Fiedler // Frontiers in Cellular Neuroscience. – 2016. – Vol. 10. – Art. 272.

204. Role of the Serotonergic System in Functional Recovery after Spinal Cord Injury / S. P. Konovalova [et al.] // Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology. – 2024. – Vol. 60. – № 5. – P. 1943–1959. – DOI: 10.1134/S0022093024050235.

205. Roles for Serotonin in Neurodevelopment: More than just Neural Transmission / G. Pino [et al.] // Current Neuropharmacology. – 2004. – Vol. 2. – № 4. – P. 403–417.

206. Roles of Prokineticin 2 in Subarachnoid Hemorrhage-Induced Early Brain Injury via Regulation of Phenotype Polarization in Astrocytes / M. Ma [et al.] // Molecular Neurobiology. – 2020. – Vol. 57. – № 9. – P. 3744–3758.

207. Running is the neurogenic and neurotrophic stimulus in environmental enrichment / T. Kobilo [et al.] // Learning & Memory. – 2011. – Vol. 18. – № 9. – P. 605–609.

208. Sachenko, V. V. Serotonin and Central Mechanisms Underlying Motor Control / V. V. Sachenko, V. I. Khorevin // Neurophysiology. – 2001. – Vol. 33. – № 3. – P. 180–196.

209. Savitz, J. 5-HT1A receptor function in major depressive disorder / J. Savitz, I. Lucki, W. C. Drevets // Progress in Neurobiology. – 2009. – Vol. 88. – № 1. – P. 17–31.

210. Schwartz, M. The resolution of neuroinflammation in neurodegeneration: leukocyte recruitment via the choroid plexus / M. Schwartz, K. Baruch // The EMBO Journal. – 2014. – Vol. 33. – № 1. – P. 7–20.

211. SCIRE. Incidence and Prevalence of SCI by Continent and Country [Электронный ресурс] : Epidemiology of Traumatic Spinal Cord Injury / SCIRE. – URL: https://scireproject.com/evidence/epidemiology-of-traumatic-sci/incidence-and-prevalence-of-sci-by-continent-and-country/ (дата обращения: 08.07.2026).

212. Selective agonists for serotonin 7 (5-HT7) receptor and their applications in preclinical models: an overview / P. Di Pilato [et al.] // Reviews in the Neurosciences. – 2014. – Vol. 25. – № 3. – P. 401–415.

213. Self-Motion and the Hippocampal Spatial Metric / A. Terrazas [et al.] // The Journal of Neuroscience. – 2005. – Vol. 25. – № 35. – P. 8085–8096.

214. Serotonergic fiber sprouting to external anal sphincter motoneurons after spinal cord contusion / G. M. Holmes [et al.] // Experimental Neurology. – 2005. – Vol. 193. – № 1. – P. 29–42.

215. Serotonergic modulation of excitatory synapse development and plasticity / V. N.

Chang [et al.] // Molecules and Cells. – 2026. – Vol. 49. – № 5. – Art. 100346.

216. Serotonergic Modulation of Locomotor Activity From Basal Vertebrates to Mammals / A. Flaive [et al.] // Frontiers in Neural Circuits. – 2020. – Vol. 14. – Art. 590299.

217. Serotonergic neuromodulation of synaptic plasticity / G. S. V. Higa [et al.] // Neuropharmacology. – 2024. – Vol. 257. – Art. 110036.

218. Serotonin 1A receptor coupling to NF-κB studied using inducible receptor expression in hippocampal neuron-derived cells / T. Sobocki [et al.] // Signal Transduction. – 2007. – Vol. 7. – № 3. – P. 260–269.

219. Serotonin (5-Hydroxytryptamine): Metabolism, Signaling, Biological Functions, Diseases, and Emerging Therapeutic Opportunities / Y. Zhang [et al.] // MedComm. – 2025. – Vol. 6. – № 9. – Art. e70383.

220. Serotonin 5-Hydroxytryptamine2A Receptor Activation Suppresses Tumor Necrosis Factor-α-Induced Inflammation with Extraordinary Potency / B. Yu [et al.] // The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 2008. – Vol. 327. – № 2. – P. 316–323.

221. Serotonin and neuroplasticity – Links between molecular, functional and structural pathophysiology in depression / C. Kraus [et al.] // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. – 2017. – Vol. 77. – P. 317–326.

222. Serotonin decreases generation of dopaminergic neurons from mesencephalic precursors via serotonin type 7 and type 4 receptors / J. Parga [et al.] // Developmental Neurobiology. – 2007. – Vol. 67. – № 1. – P. 10–22.

223. Serotonin-Induced Increases in Adult Cell Proliferation and Neurogenesis are Mediated Through Different and Common 5-HT Receptor Subtypes in the Dentate Gyrus and the Subventricular Zone / M. Banasr [et al.] // Neuropsychopharmacology. – 2004. – Vol. 29. – № 3. – P. 450–460.

224. Serotonin: A Potent Immune Cell Modulator in Autoimmune Diseases / M. Wan [et al.] // Frontiers in Immunology. – 2020. – Vol. 11. – Art. 186.

225. Serotonin receptor 1A knockout: An animal model of anxiety-related disorder / S. Ramboz [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1998. – Vol. 95. – № 24. – P. 14476–14481.

226. Serotonin Receptor 5-HT2A Regulates TrkB Receptor Function in Heteroreceptor Complexes / T. Ilchibaeva [et al.] // Cells. – 2022. – Vol. 11. – № 15. – Art. 2384.

227. Serotonin Skews Human Macrophage Polarization through HTR2B and HTR7 / M. De Las Casas-Engel [et al.] // The Journal of Immunology. – 2013. – Vol. 190. – № 5. – P. 2301–2310.

228. Sex Differences in Pain: Spinal Cord Injury in Female and Male Mice Elicits Behaviors Related to Neuropathic Pain / S. E. Lee [et al.] // Journal of Neurotrauma. – 2023. – Vol. 40. – № 9–10. – P. 833–844.

229. Sexual Dimorphism in Lesion Size and Sensorimotor Responses Following Spinal Cord Injury / W. Osimanjiang [et al.] // Frontiers in Neurology. – 2022. – Vol. 13. – Art. 925797.

230. Sławińska, U. 5-HT2 and 5-HT7 receptor agonists facilitate plantar stepping in chronic spinal rats through actions on different populations of spinal neurons / U. Sławińska, K. Miazga, L. M. Jordan // Frontiers in Neural Circuits. – 2014b. – Vol. 8. – Art. 95.

231. Sławińska, U. The role of serotonin in the control of locomotor movements and strategies for restoring locomotion after spinal cord injury / U. Sławińska, K. Miazga, L. Jordan // Acta Neurobiologiae Experimentalis. – 2014a. – Vol. 74. – № 2. – P. 172–187.

232. Smith, A. C. A Review on Locomotor Training after Spinal Cord Injury: Reorganization of Spinal Neuronal Circuits and Recovery of Motor Function / A. C. Smith, M. Knikou // Neural Plasticity. – 2016. – Vol. 2016. – P. 1–20.

233. Socio-affective communication in Tph2-deficient rat pups: communal nesting aggravates growth retardation despite ameliorating maternal affiliation deficits / T. Wang [et al.] // Molecular Autism. – 2024. – Vol. 15. – № 1. – Art. 50.

234. Sodhi, M. S. K. Serotonin and brain development / M. S. K. Sodhi, E. Sanders-Bush // International Review of Neurobiology. – Elsevier, 2004. – Vol. 59. – P. 111–174.

235. Sofroniew, M. V. Astrocyte barriers to neurotoxic inflammation / M. V. Sofroniew // Nature Reviews Neuroscience. – 2015. – Vol. 16. – № 5. – P. 249–263.

236. Sofroniew, M. V. Astrocytes: biology and pathology / M. V. Sofroniew, H. V. Vinters // Acta Neuropathologica. – 2010. – Vol. 119. – № 1. – P. 7–35.

237. Speed cells in the medial entorhinal cortex / E. Kropff [et al.] // Nature. – 2015. – Vol. 523. – № 7561. – P. 419–424.

238. Spinal cord injury as a window into hippocampal dysfunction: Linking inflammation, neurogenesis, and network oscillations to cognitive decline / A. Abroumand Gholami [et al.] // Experimental Neurology. – 2026. – Vol. 403. – Art. 115837.

239. Spinal Cord Injury Causes Brain Inflammation Associated with Cognitive and Affective Changes: Role of Cell Cycle Pathways / J. Wu [et al.] // Journal of Neuroscience. – 2014b. – Vol. 34. – № 33. – P. 10989–11006.

240. Spinal Cord Injury Enables Aromatic L-Amino Acid Decarboxylase Cells to Synthesize Monoamines / J. Wienecke [et al.] // The Journal of Neuroscience. – 2014. – Vol. 34. – № 36. – P. 11984–12000.

241. Spinal Cord Injury Impairs Neurogenesis and Induces Glial Reactivity in the Hippocampus / I. Jure [et al.] // Neurochemical Research. – 2017. – Vol. 42. – № 8. – P. 2178–2190.

242. Spinal cord injury induces transient activation of hepatic stellate cells in rat liver / I. Fernandez-Canadas [et al.] // Scientific Reports. – 2025. – Vol. 15. – № 1. – Art. 2826.

243. Spinal Cord Injury Leads to Hippocampal Glial Alterations and Neural Stem Cell Inactivation / I. Jure [et al.] // Cellular and Molecular Neurobiology. – 2022. – Vol. 42. – № 1. – P. 197–215.

244. Spinal cord injury models: a review / T. Cheriyan [et al.] // Spinal Cord. – 2014. – Vol. 52. – № 8. – P. 588–595.

245. Spinal Cord Injury: Pathophysiology, Multimolecular Interactions, and Underlying Recovery Mechanisms / A. Anjum [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – Vol. 21. – № 20. – Art. 7533.

246. Spinal Cord Transection-Induced Allodynia in Rats – Behavioral, Physiopathological and Pharmacological Characterization / S. M'Dahoma [et al.] // PLoS ONE. – 2014. – Vol. 9. – № 7. – Art. e102027.

247. Squier, M. V. Post-traumatic syringomyelia / M. V. Squier, R. P. Lehr // Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry. – 1994. – Vol. 57. – № 9. – P. 1095–1098.

248. Stackman, R. W. Hippocampal spatial representations require vestibular input / R. W. Stackman, A. S. Clark, J. S. Taube // Hippocampus. – 2002. – Vol. 12. – № 3. – P. 291–303.

249. State and trait serotonin variations interact to shape the intrinsic connectivity and gradient architecture of the brain – a combined TPH2 genetics and tryptophan depletion study in men / L. Wang [et al.] // Psychopharmacology. – 2026. – Vol. 243. – № 11. – P. 2613–2625.

250. Sterner, R. C. Immune response following traumatic spinal cord injury: Pathophysiology and therapies / R. C. Sterner, R. M. Sterner // Frontiers in Immunology. – 2023. – Vol. 13. – Art. 1084101.

251. Stimulation of 5-HT1A receptor with 8-OH-DPAT inhibits hydrogen peroxide-induced neurotoxicity in cultured rat cortical cells / H. J. Lee [et al.] // Pharmacological Research. – 2005. – Vol. 51. – № 3. – P. 261–268.

252. Structural characterization of human tryptophan hydroxylase 2 reveals that L-Phe is superior to L-Trp as the regulatory domain ligand / I. M. Vedel [et al.] // Structure. – 2023. – Vol. 31. – № 6. – P. 689–699.e6.

253. Structural insight into the serotonin (5-HT) receptor family by molecular docking, molecular dynamics simulation and systems pharmacology analysis / Y. Wang [et al.] // Acta Pharmacologica Sinica. – 2019. – Vol. 40. – № 9. – P. 1138–1156.

254. Surgical Timing After Spinal Cord Injury: A Narrative Review of Current Evidence and Perspectives / G. P. Kalanchiam [et al.] // Korean Journal of Neurotrauma. – 2025. – Vol. 21. – № 4. – P. 255.

255. Synthesis of Serotonin by a Second Tryptophan Hydroxylase Isoform / D. J. Walther [et al.] // Science. – 2003. – Vol. 299. – № 5603. – P. 76.

256. Synthesis, transport, and metabolism of serotonin formed from exogenously applied 5-HTP after spinal cord injury in rats / Y. Li [et al.] // Journal of Neurophysiology. – 2014. – Vol. 111. – № 1. – P. 145–163.

257. Targeting astrocytes polarization after spinal cord injury: a promising direction / H. Li [et al.] // Frontiers in Cellular Neuroscience. – 2024. – Vol. 18. – Art. 1478741.

258. The 5-HT1B receptor – a potential target for antidepressant treatment / M. Tiger [et al.] // Psychopharmacology. – 2018. – Vol. 235. – № 5. – P. 1317–1334.

259. The Dual Role of Astrocytes in CNS Homeostasis and Dysfunction / A. Tiwari [et al.] // Neuroglia. – 2025. – Vol. 6. – № 4. – Art. 38.

260. The economic burden of traumatic spinal cord injury in Canada / H. Krueger [et al.] // Chronic Diseases and Injuries in Canada. – 2013. – Vol. 33. – № 3. – P. 113–122.

261. The injured spinal cord spontaneously forms a new intraspinal circuit in adult rats / F. M. Bareyre [et al.] // Nature Neuroscience. – 2004. – Vol. 7. – № 3. – P. 269–277.

262. The Need for Speed in Rodent Locomotion Analyses / R. J. Batka [et al.] // The Anatomical Record. – 2014. – Vol. 297. – № 10. – P. 1839–1864.

263. The Rho/ROCK pathway mediates neurite growth-inhibitory activity associated with the chondroitin sulfate proteoglycans of the CNS glial scar / P. P. Monnier [et al.] // Molecular and Cellular Neuroscience. – 2003. – Vol. 22. – № 3. – P. 319–330.

264. The role of 5-HT6-receptor antagonists in Alzheimer's disease: an update / R. Khoury [et al.] // Expert Opinion on Investigational Drugs. – 2018. – Vol. 27. – № 6. – P. 523–533.

265. The Role of Microglia in Perioperative Neuroinflammation and Neurocognitive Disorders / S. Saxena [et al.] // Frontiers in Aging Neuroscience. – 2021. – Vol. 13. – Art. 671499.

266. The serotonin-BDNF duo: Developmental implications for the vulnerability to psychopathology / J. R. Homberg [et al.] // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. – 2014. – Vol. 43. – P. 35–47.

267. The serotonin-gated 5-HT3 receptor: a tale of functions and structures of a prototypical pentameric ligand-gated ion channel / Z. Ye [et al.] // Acta Pharmacologica Sinica. – 2026. – Vol. 47. – № 7. – P. 1718–1732.

268. The Unusual Response of Serotonergic Neurons after CNS Injury: Lack of Axonal Dieback and Enhanced Sprouting within the Inhibitory Environment of the Glial Scar / A. L. Hawthorne [et al.] // The Journal of Neuroscience. – 2011. – Vol. 31. – № 15. – P. 5605–5616.

269. Therapeutic Neutralization of the NLRP1 Inflammasome Reduces the Innate Immune Response and Improves Histopathology after Traumatic Brain Injury / J. P. De Rivero Vaccari [et al.] // Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism. – 2009. – Vol. 29. – № 7. – P. 1251–1261.

270. Therapeutic potential of 5-HT2CR in alleviating spasticity and pain via modulation of motor neurons and interneurons in spinal cord injury / H. Gong [et al.] // iScience. – 2025. – Vol. 28. – № 10. – Art. 113489.

271. Thoracic Hemisection in Rats Results in Initial Recovery Followed by a Late Decrement in Locomotor Movements, with Changes in Coordination Correlated with Serotonergic Innervation of the Ventral Horn / A. N. Leszczyńska [et al.] // PLOS ONE. – 2015. – Vol. 10. – № 11. – Art. e0143602.

272. TNF and Increased Intracellular Iron Alter Macrophage Polarization to a Detrimental M1 Phenotype in the Injured Spinal Cord / A. Kroner [et al.] // Neuron. – 2014. – Vol. 83. – № 5. – P. 1098–1116.

273. Toth, M. 5-HT1A receptor knockout mouse as a genetic model of anxiety / M. Toth // European Journal of Pharmacology. – 2003. – Vol. 463. – № 1–3. – P. 177–184.

274. TPH2 Deficiency Influences Neuroplastic Mechanisms and Alters the Response

to an Acute Stress in a Sex Specific Manner / P. Brivio [et al.] // Frontiers in Molecular Neuroscience. – 2018. – Vol. 11. – Art. 389.

275. Tph2−/− female mice restore socio-sexual recognition through upregulating ERα and OTR genes in the amygdala / Y. Huo [et al.] // PLOS ONE. – 2018. – Vol. 13. – № 2. – Art. e0193395.

276. Tph2 gene deletion enhances amphetamine-induced hypermotility: effect of 5-HT restoration and role of striatal noradrenaline release / M. Carli [et al.] // Journal of Neurochemistry. – 2015. – Vol. 135. – № 4. – P. 674–685.

277. Tran, A. P. The Biology of Regeneration Failure and Success After Spinal Cord Injury / A. P. Tran, P. M. Warren, J. Silver // Physiological Reviews. – 2018. – Vol. 98. – № 2. – P. 881–917.

278. Transcutaneous Electrical Spinal Cord Neuromodulator (TESCoN) Improves Symptoms of Overactive Bladder / E. Kreydin [et al.] // Frontiers in Systems Neuroscience. – 2020. – Vol. 14. – Art. 1.

279. Transformation of nonfunctional spinal circuits into functional states after the loss of brain input / G. Courtine [et al.] // Nature Neuroscience. – 2009. – Vol. 12. – № 10. – P. 1333–1342.

280. Transgenic inhibition of Nogo-66 receptor function allows axonal sprouting and improved locomotion after spinal injury / S. Li [et al.] // Molecular and Cellular Neuroscience. – 2005. – Vol. 29. – № 1. – P. 26–39.

281. Transplantation of M2-Deviated Microglia Promotes Recovery of Motor Function after Spinal Cord Injury in Mice / S. Kobashi [et al.] // Molecular Therapy. – 2020. – Vol. 28. – № 1. – P. 254–265.

282. Traumatic Spinal Cord Injury in the United States, 1993-2012 / N. B. Jain [et al.] // JAMA. – 2015. – Vol. 313. – № 22. – P. 2236–2243.

283. Traumatic Spinal Injury: Global Epidemiology and Worldwide Volume / R. Kumar [et al.] // World Neurosurgery. – 2018. – Vol. 113. – P. e345–e363.

284. Tryptophan hydroxylase 2 deficiency alters autism-related behavioural phenotypes in rats / J. Golebiowska [et al.] // Scientific Reports. – 2025. – Vol. 15. – № 1. – Art. 20522.

285. Tryptophan Hydroxylase 2 Knockout Male Rats Exhibit a Strengthened Oxytocin System, Are Aggressive, and Are Less Anxious / X. Meng [et al.] // ACS Chemical Neuroscience. – 2022. – Vol. 13. – № 20. – P. 2974–2981.

286. Turkin, A. Microglia Function on Precursor Cells in the Adult Hippocampus and Their Responsiveness to Serotonin Signaling / A. Turkin, O. Tuchina, F. Klempin // Frontiers in Cell and Developmental Biology. – 2021. – Vol. 9. – Art. 665739.

287. Ultrastructural localization of the serotonin transporter in superficial and deep layers of the rat prelimbic prefrontal cortex and its spatial relationship to dopamine terminals / L. H. Miner [et al.] // The Journal of Comparative Neurology. – 2000. – Vol. 427. – № 2. – P. 220–234.

288. Understanding of the Serotonin Transporter Mechanism-Targeting Drug Therapy / A. Fassler [et al.] // The FASEB Journal. – 2022. – Vol. 36. – № S1. – Art. fasebj.2022.36.S1.R4465.

289. Verkhratsky, A. Physiology of Astroglia / A. Verkhratsky, M. Nedergaard // Physiological Reviews. – 2018. – Vol. 98. – № 1. – P. 239–389.

290. Voronova, I. P. 5-HT Receptors and Temperature Homeostasis / I. P. Voronova // Biomolecules. – 2021. – Vol. 11. – № 12. – Art. 1914.

291. Walther, D. J. A unique central tryptophan hydroxylase isoform / D. J. Walther, M. Bader // Biochemical Pharmacology. – 2003. – Vol. 66. – № 9. – P. 1673–1680.

292. Wang, J. A richer and more diverse future for microglia phenotypes / J. Wang, W. He, J. Zhang // Heliyon. – 2023. – Vol. 9. – № 4. – Art. e14713.

293. Why and How Physical Activity Promotes Experience-Induced Brain Plasticity / G. Kempermann [et al.] // Frontiers in Neuroscience. – 2010. – Vol. 4. – Art. 189.

294. Wolpaw, J. R. The negotiated equilibrium model of spinal cord function / J. R. Wolpaw // The Journal of Physiology. – 2018. – Vol. 596. – № 16. – P. 3469–3491.

295. World Health Organization. Spinal cord injury [Электронный ресурс] / World Health Organization. – URL: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/spinal-cord-injury (дата обращения: 05.05.2026).

296. Wyndaele, M. Incidence, prevalence and epidemiology of spinal cord injury: what learns a worldwide literature survey? / M. Wyndaele, J. J. Wyndaele // Spinal Cord. – 2006. – Vol. 44. – № 9. – P. 523–529.

297. Xing, J. Lipid-Laden Microglia: Characterization and Roles in Diseases / J. Xing, T. McKenzie, J. Hu // Cells. – 2025. – Vol. 14. – № 16. – Art. 1281.

298. Yao, C. Revascularization After Traumatic Spinal Cord Injury / C. Yao, X. Cao, B. Yu // Frontiers in Physiology. – 2021. – Vol. 12. – Art. 631500.

299. Yezierski, R. P. Spinal cord injury pain: spinal and supraspinal mechanisms / R. P. Yezierski // Journal of Rehabilitation Research and Development. – 2009. – Vol. 46. – № 1. – P. 95–107.

300. Young, A. E. Employment status after spinal cord injury (1992-2005): a review with implications for interpretation, evaluation, further research, and clinical practice / A. E. Young, G. C. Murphy // International Journal of Rehabilitation Research. – 2009. – Vol. 32. – № 1. – P. 1–11.

301. Zeng, W. Regulatory effect of inflammatory mediators in spinal cord injury / W. Zeng, F. Zeng // Frontiers in Immunology. – 2025. – Vol. 16. – Art. 1619337.

302. Zhang, G. The role of serotonin 5-HT2A receptors in memory and cognition / G. Zhang, R. W. Stackman Jr. // Frontiers in Pharmacology. – 2015. – Vol. 6. – Art. 225.

303. Zheng, Y. Bidirectional crosstalk between microglia and serotonin signaling in neuroinflammation and CNS disorders / Y. Zheng, L. Xu // Frontiers in Immunology. – 2025. – Vol.

16. – Art. 1646740.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Параметры локомоции до ТСМ

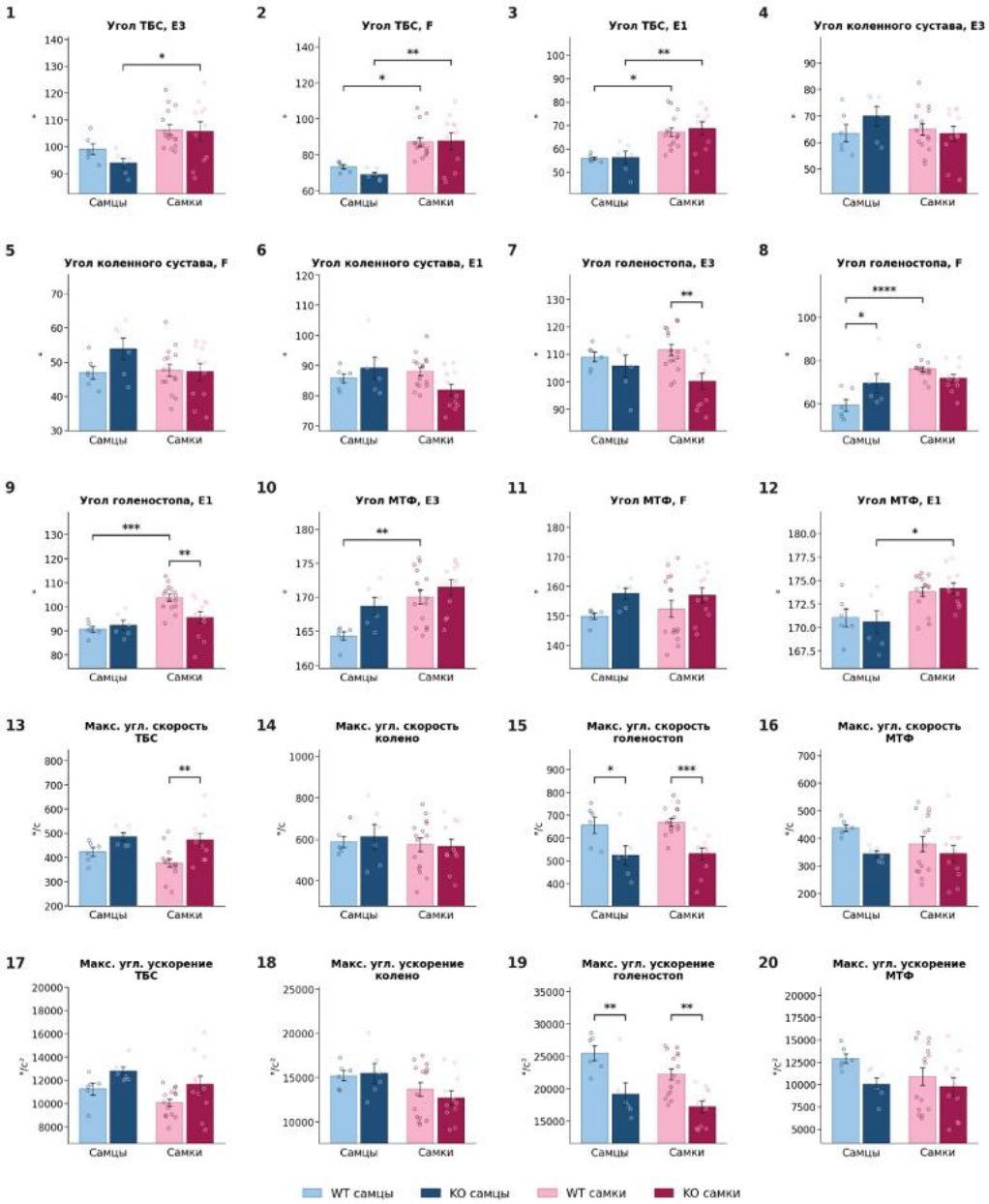


Рисунок А.1 — Угловые характеристики и угловые скорости/ускорения суставов задней конечности у интактных крыс до операции (панели 1–20)

Примечание — Данные: среднее ± SEM, точки – индивидуальные значения. *n*: WT♂ = 6, KO♂ = 6, WT♀ = 15,TPH2-KO♀ = 11. Двухфакторный ANOVA (генотип × пол) + пост-хок тест Сидака, * $p < 0{,}05$; ** $p < 0{,}01$; *** $p < 0{,}001$; **** $p < 0{,}0001$

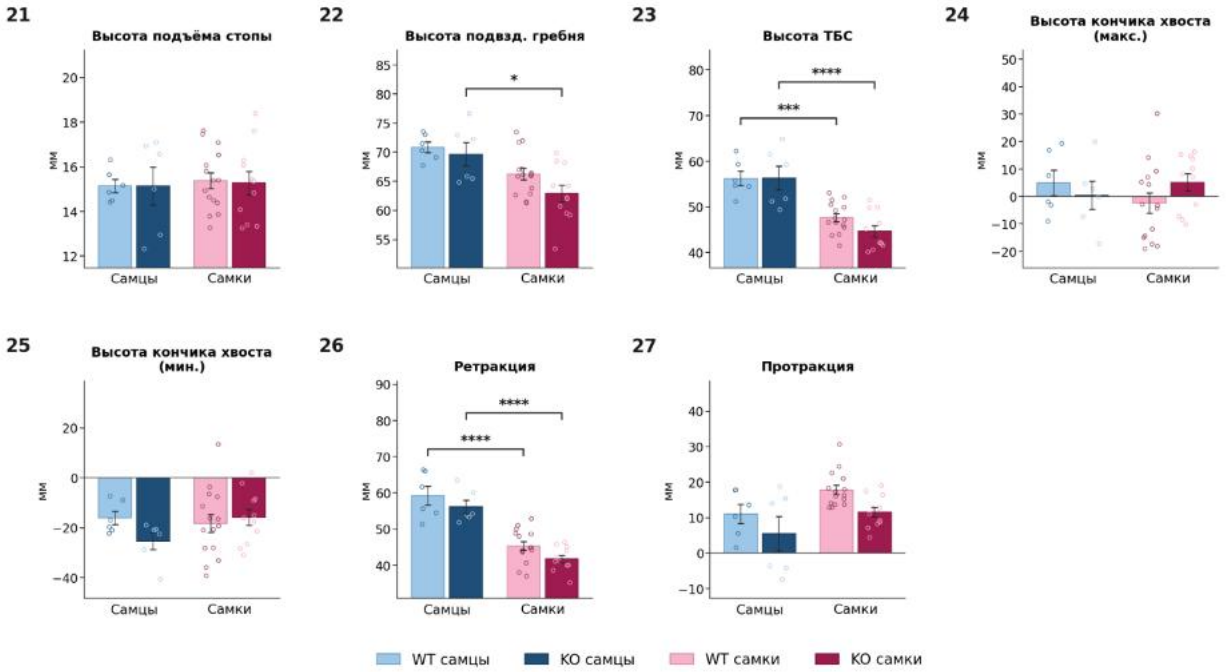


Рисунок А.2 — Высоты сегментов конечности, ретракция и протракция у интактных крыс до операции (панели 21–27).

Примечание — Данные: среднее ± SEM, точки – индивидуальные значения. *n*: WT♂ = 6,TPH2-KO♂ = 6, WT♀ = 15,TPH2-KO♀ = 11. Двухфакторный ANOVA (генотип × пол) + пост-тест Сидака, * $p < 0{,}05$; ** $p < 0{,}01$; *** $p < 0{,}001$; **** $p < 0{,}0001$

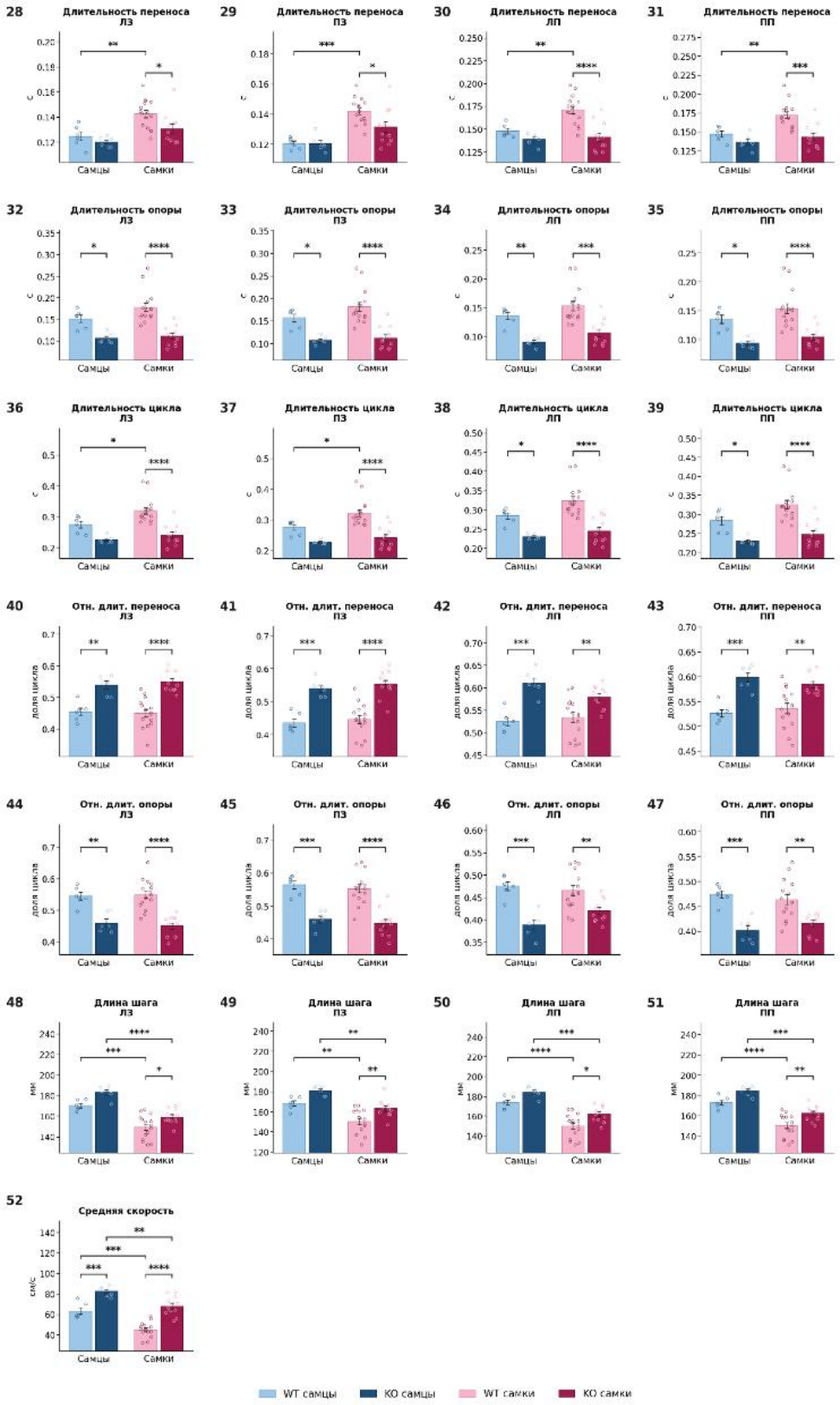


Рисунок А.3 — Временные характеристики шагового цикла (длительность фаз переноса и опоры, цикла шага, длина шага) у интактных крыс до операции (панели 28–52)
Примечание — Данные: среднее ± SEM, точки – индивидуальные значения. *n*: WT♂ = 6,TPH2-KO♂ = 6, WT♀ = 15,TPH2-KO♀ = 11. Двухфакторный ANOVA (генотип × пол) + пост-тест Сидака, * $p < 0{,}05$; ** $p < 0{,}01$; *** $p < 0{,}001$; **** $p < 0{,}0001$

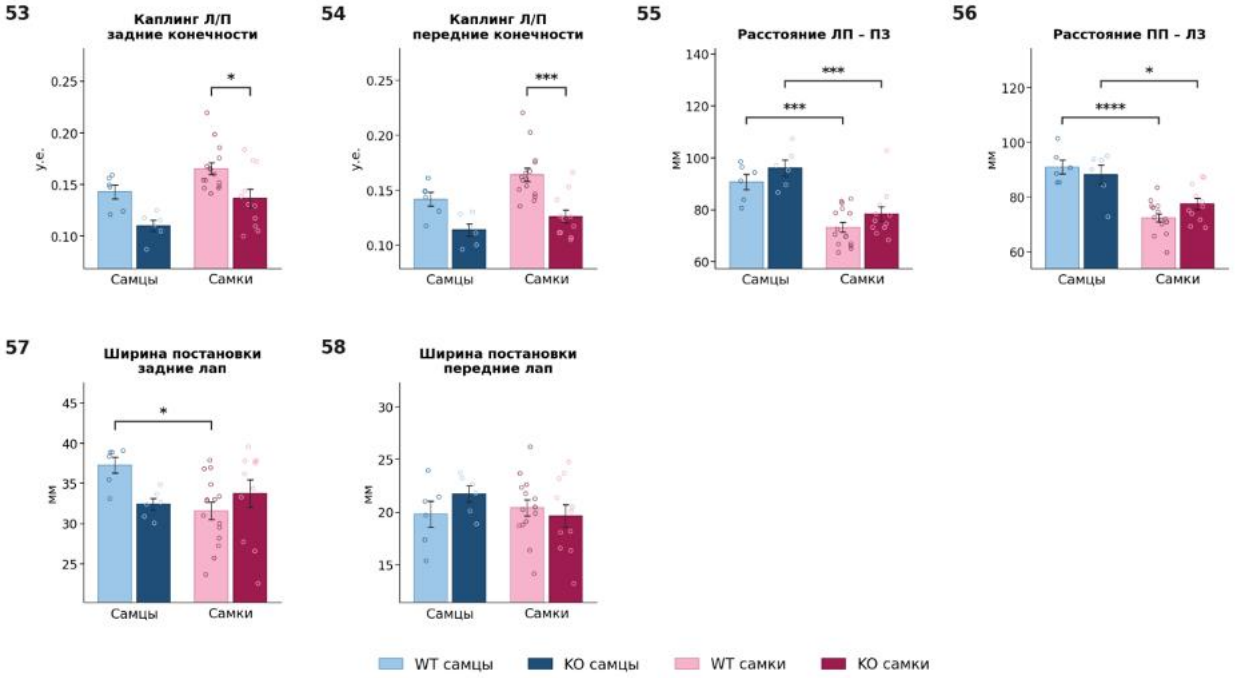


Рисунок А.4 — Межконечностная координация у интактных крыс до операции (панели 53–58)

Примечание — Данные: среднее ± SEM, точки – индивидуальные значения. *n*: WT♂ = 6,TPH2-KO♂ = 6, WT♀ = 15,TPH2-KO♀ = 11. Двухфакторный ANOVA (генотип × пол) + пост-тест Сидака, * $p < 0{,}05$; ** $p < 0{,}01$; *** $p < 0{,}001$; **** $p < 0{,}0001$

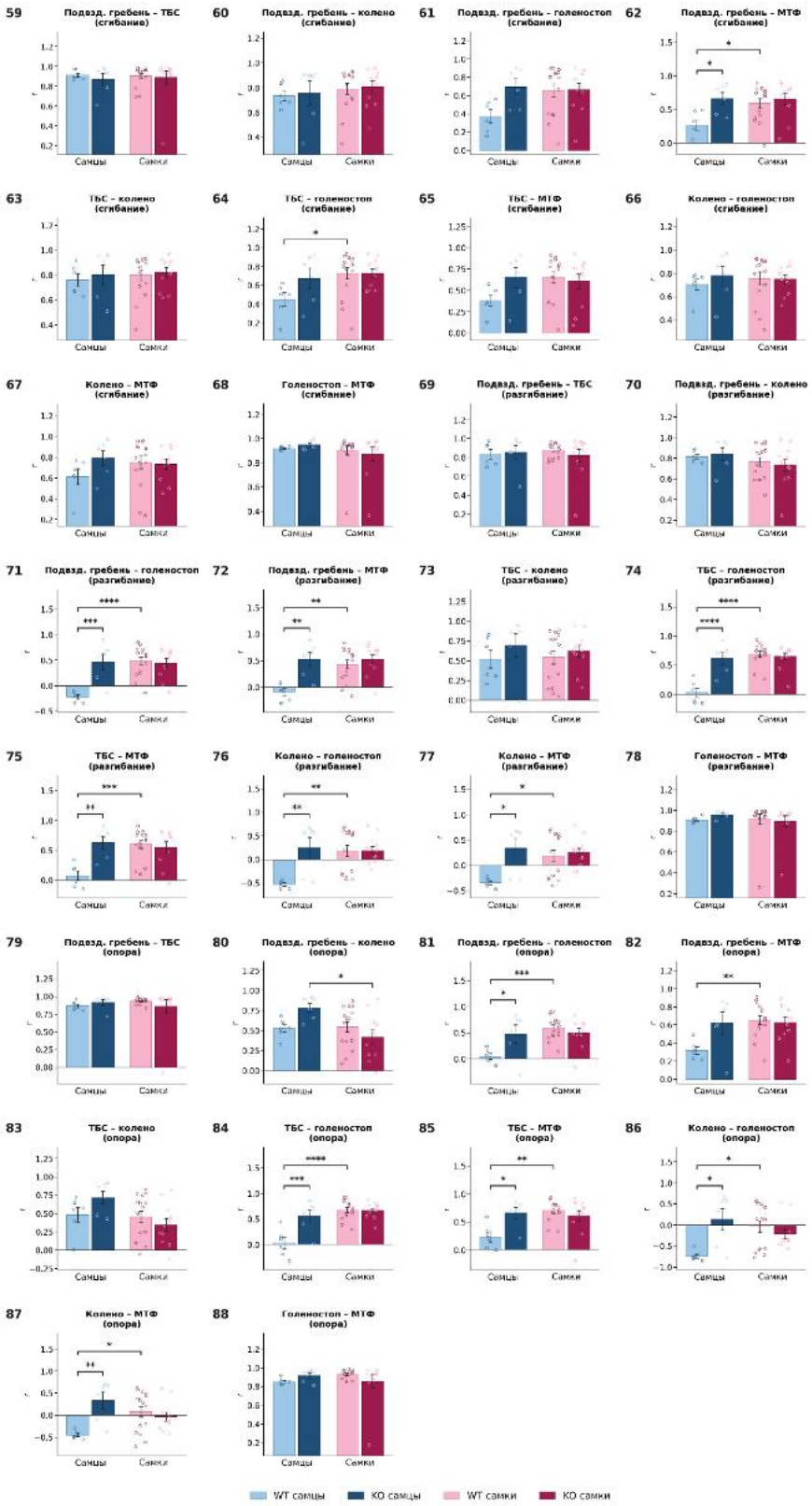


Рисунок А.5 — Коэффициенты корреляции между углами суставов задней конечности у интактных крыс до операции (панели 59–88)

Примечание — Данные: среднее ± SEM, точки – индивидуальные значения. *n*: WT♂ = 6,TPH2-KO♂ = 6, WT♀ = 15,TPH2-KO♀ = 11. Двухфакторный ANOVA (генотип × пол) + пост-тест Сидака, * $p < 0{,}05$; ** $p < 0{,}01$; *** $p < 0{,}001$; **** $p < 0{,}0001$

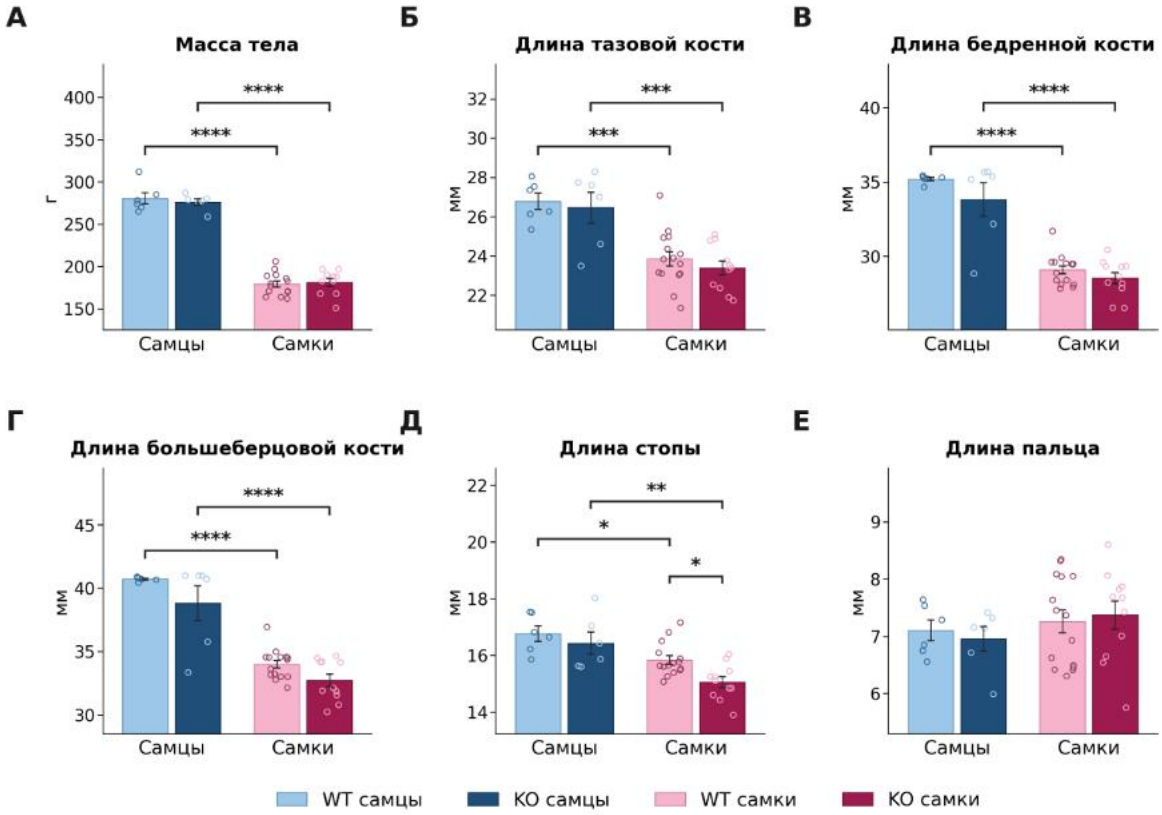


Рисунок А.6 — Масса тела и длины сегментов задней конечности у интактных крыс до операции: масса тела (А); длина тазовой кости (Б); длина бедренной кости (В); длина большеберцовой кости (Г); длина стопы (Д); длина пальца (Е)

Примечание — Данные: среднее ± SEM, точки – индивидуальные значения. *n*: WT♂ = 6,TPH2-KO♂ = 6, WT♀ = 15,TPH2-KO♀ = 11. Двухфакторный ANOVA (генотип × пол) + пост-тест Сидака, * $p < 0{,}05$; ** $p < 0{,}01$; *** $p < 0{,}001$; **** $p < 0{,}0001$

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Основные кинематические параметры до ТСМ

Таблица Б.1 — Результаты двухфакторного дисперсионного анализа (ANOVA) для основных кинематических параметров до ТСМ

Параметр	**Взаимодействие**		**Пол**		**Генотип**	
	F (DFn, DFd)	**P value**	**F (DFn, DFd)**	**P value**	**F (DFn, DFd)**	**P value**
1	F (1, 34) = 0,6154	P=0,4382	F (1, 34) = 10,99	**P=0,0022**	F (1, 34) = 1,040	P=0,3150
2	F (1, 34) = 0,4740	P=0,4958	F (1, 34) = 20,09	**P<0,0001**	F (1, 34) = 0,2994	P=0,5878
3	F (1, 34) = 0,04861	P=0,8268	F (1, 34) = 21,15	**P<0,0001**	F (1, 34) = 0,1461	P=0,7047
4	F (1, 34) = 1,738	P=0,1962	F (1, 34) = 0,7008	P=0,4084	F (1, 34) = 0,6106	P=0,4400
5	F (1, 34) = 2,152	P=0,1516	F (1, 34) = 1,465	P=0,2344	F (1, 34) = 1,647	P=0,2081
6	F (1, 34) = 4,904	**P=0,0336**	F (1, 34) = 1,367	P=0,2504	F (1, 34) = 0,3940	P=0,5344
7	F (1, 34) = 1,923	P=0,1746	F (1, 34) = 0,2736	P=0,6043	F (1, 34) = 6,304	P=0,0170
8	F (1, 34) = 9,850	**P=0,0035**	F (1, 34) = 16,41	**P=0,0003**	F (1, 34) = 1,623	P=0,2114
9	F (1, 34) = 5,521	**P=0,0247**	F (1, 34) = 14,76	**P=0,0005**	F (1, 34) = 2,383	P=0,1319
10	F (1, 34) = 1,441	P=0,2382	F (1, 34) = 12,00	**P=0,0015**	F (1, 34) = 5,524	**P=0,0247**
11	F (1, 34) = 0,2522	P=0,6188	F (1, 34) = 0,09344	P=0,7617	F (1, 34) = 4,130	**P=0,0500**
12	F (1, 34) = 0,2946	P=0,5908	F (1, 34) = 16,94	**P=0,0002**	F (1, 34) = 0,004329	P=0,9479
13	F (1, 34) = 0,4871	P=0,4900	F (1, 34) = 1,575	P=0,2180	F (1, 34) = 11,51	**P=0,0018**
14	F (1, 34) = 0,1763	P=0,6773	F (1, 34) = 0,5008	P=0,4840	F (1, 34) = 0,04462	P=0,8340

Продолжение таблицы Б.1

Параметр	**Взаимодействие**		**Пол**		**Генотип**	
	F (DFn, DFd)	**P value**	**F (DFn, DFd)**	**P value**	**F (DFn, DFd)**	**P value**
15	F (1, 34) = 0,005766	P=0,9399	F (1, 34) = 0,1169	P=0,7345	F (1, 34) = 22,16	**P<0,0001**
16	F (1, 34) = 0,9023	P=0,3489	F (1, 34) = 0,8018	P=0,3768	F (1, 34) = 4,308	**P=0,0456**
17	F (1, 34) = 0,001326	P=0,9712	F (1, 34) = 3,873	P=0,0573	F (1, 34) = 6,695	**P=0,0141**
18	F (1, 34) = 0,4661	P=0,4994	F (1, 34) = 5,399	**P=0,0263**	F (1, 34) = 0,1497	P=0,7012
19	F (1, 34) = 0,3165	P=0,5774	F (1, 34) = 4,984	**P=0,0323**	F (1, 34) = 23,84	**P<0,0001**
20	F (1, 34) = 0,6404	P=0,4291	F (1, 34) = 1,093	**P=0,3031**	F (1, 34) = 3,385	P=0,0745
21	F (1, 34) = 0,008513	P=0,9270	F (1, 34) = 0,1185	P=0,7328	F (1, 34) = 0,01096	P=0,9173
22	F (1, 34) = 0,5628	P=0,4583	F (1, 34) = 15,55	**P=0,0004**	F (1, 34) = 2,470	P=0,1253
23	F (1, 34) = 1,060	P=0,3105	F (1, 34) = 46,79	**P<0,0001**	F (1, 34) = 0,9690	P=0,3319
24	F (1, 34) = 1,892	P=0,1780	F (1, 34) = 0,09230	P=0,7631	F (1, 34) = 0,1240	P=0,7269
25	F (1, 34) = 2,218	P=0,1457	F (1, 34) = 0,8646	P=0,3590	F (1, 34) = 0,7555	P=0,3908
26	F (1, 34) = 0,02393	P=0,8780	F (1, 34) = 77,12	**P<0,0001**	F (1, 34) = 4,339	**P=0,0448**
27	F (1, 34) = 0,01981	P=0,8889	F (1, 34) = 7,655	**P=0,0091**	F (1, 34) = 6,582	**P=0,0149**
28	F (1, 34) = 0,7743	P=0,3851	F (1, 34) = 10,07	**P=0,0032**	F (1, 34) = 2,915	P=0,0969
29	F (1, 34) = 3,439	P=0,0724	F (1, 34) = 28,04	**P<0,0001**	F (1, 34) = 3,439	P=0,0724
30	F (1, 34) = 5,767	**P=0,0219**	F (1, 34) = 5,767	**P=0,0219**	F (1, 34) = 13,69	**P=0,0008**
31	F (1, 34) = 1,532	P=0,2243	F (1, 34) = 11,24	**P=0,0020**	F (1, 34) = 16,55	**P=0,0003**
32	F (1, 34) = 1,488	P=0,2310	F (1, 34) = 2,469	P=0,1254	F (1, 34) = 31,26	**P<0,0001**

Продолжение таблицы Б.1

Параметр	**Взаимодействие**		**Пол**		**Генотип**	
	F (DFn, DFd)	**P value**	**F (DFn, DFd)**	**P value**	**F (DFn, DFd)**	**P value**
33	F (1, 34) = 0,7574	P=0,3903	F (1, 34) = 2,066	P=0,1598	F (1, 34) = 30,78	**P<0,0001**
34	F (1, 34) = 0,04257	P=0,8378	F (1, 34) = 3,280	P=0,0790	F (1, 34) = 29,64	**P<0,0001**
35	F (1, 34) = 0,07408	P=0,7871	F (1, 34) = 2,393	P=0,1311	F (1, 34) = 27,03	**P<0,0001**
36	F (1, 34) = 1,340	P=0,2551	F (1, 34) = 5,918	**P=0,0204**	F (1, 34) = 28,78	**P<0,0001**
37	F (1, 34) = 1,842	P=0,1837	F (1, 34) = 5,999	**P=0,0196**	F (1, 34) = 26,38	**P<0,0001**
38	F (1, 34) = 1,355	P=0,2525	F (1, 34) = 5,609	**P=0,0237**	F (1, 34) = 34,51	**P<0,0001**
39	F (1, 34) = 1,003	P=0,3236	F (1, 34) = 5,590	**P=0,0239**	F (1, 34) = 27,14	**P<0,0001**
40	F (1, 34) = 0,2896	P=0,5940	F (1, 34) = 0,05224	P=0,8206	F (1, 34) = 46,06	**P<0,0001**
41	F (1, 34) = 0,004034	P=0,9497	F (1, 34) = 0,6788	P=0,4158	F (1, 34) = 54,62	**P<0,0001**
42	F (1, 34) = 2,919	P=0,0966	F (1, 34) = 0,8142	P=0,3732	F (1, 34) = 30,44	**P<0,0001**
43	F (1, 34) = 1,296	P=0,2629	F (1, 34) = 0,03951	P=0,8436	F (1, 34) = 31,78	**P<0,0001**
44	F (1, 34) = 0,2896	P=0,5940	F (1, 34) = 0,05224	P=0,8206	F (1, 34) = 46,06	**P<0,0001**
45	F (1, 34) = 0,004034	P=0,9497	F (1, 34) = 0,6788	P=0,4158	F (1, 34) = 54,62	**P<0,0001**
46	F (1, 34) = 2,919	P=0,0966	F (1, 34) = 0,8142	P=0,3732	F (1, 34) = 30,44	**P<0,0001**
47	F (1, 34) = 1,296	P=0,2629	F (1, 34) = 0,03951	P=0,8436	F (1, 34) = 31,78	**P<0,0001**
48	F (1, 34) = 0,2324	P=0,6329	F (1, 34) = 50,48	**P<0,0001**	F (1, 34) = 13,19	**P=0,0009**
49	F (1, 34) = 0,008286	P=0,9280	F (1, 34) = 26,19	**P<0,0001**	F (1, 34) = 13,23	**P=0,0009**
50	F (1, 34) = 0,06927	P=0,7940	F (1, 34) = 47,24	**P<0,0001**	F (1, 34) = 11,79	**P=0,0016**

Продолжение таблицы Б.1

Параметр	**Взаимодействие**		**Пол**		**Генотип**	
	F (DFn, DFd)	**P value**	**F (DFn, DFd)**	**P value**	**F (DFn, DFd)**	**P value**
51	F (1, 34) = 0,006769	P=0,9349	F (1, 34) = 49,89	**P<0,0001**	F (1, 34) = 13,77	**P=0,0007**
52	F (1, 34) = 0,03064	P=0,8621	F (1, 34) = 9,130	**P=0,0048**	F (1, 34) = 16,09	**P=0,0003**
53	F (1, 34) = 0,6027	P=0,4429	F (1, 34) = 6,516	**P=0,0154**	F (1, 34) = 21,49	**P<0,0001**
54	F (1, 34) = 0,0009706	P=0,9753	F (1, 34) = 39,86	**P<0,0001**	F (1, 34) = 3,453	P=0,0718
55	F (1, 34) = 2,937	P=0,0957	F (1, 34) = 40,11	**P<0,0001**	F (1, 34) = 0,2743	P=0,6039
56	F (1, 34) = 5,579	**P=0,0240**	F (1, 34) = 2,166	P=0,1503	F (1, 34) = 0,8383	P=0,3663
57	F (1, 34) = 1,653	P=0,2072	F (1, 34) = 0,5115	P=0,4794	F (1, 34) = 0,3069	P=0,5832
58	F (1, 34) = 0,5105	P=0,4798	F (1, 34) = 35,03	**P<0,0001**	F (1, 34) = 58,74	**P<0,0001**
59	F (1, 34) = 0,04710	P=0,8295	F (1, 34) = 0,01114	P=0,9165	F (1, 34) = 0,3258	P=0,5719
60	F (1, 34) = 0,0009141	P=0,9761	F (1, 34) = 0,8069	P=0,3753	F (1, 34) = 0,1211	P=0,7300
61	F (1, 34) = 3,449	P=0,0720	F (1, 34) = 2,167	P=0,1502	F (1, 34) = 3,751	P=0,0611
62	F (1, 34) = 3,705	P=0,0627	F (1, 34) = 3,236	P=0,0809	F (1, 34) = 6,839	**P=0,0132**
63	F (1, 34) = 0,02597	P=0,8729	F (1, 34) = 0,3130	P=0,5795	F (1, 34) = 0,3103	P=0,5811
64	F (1, 34) = 2,221	P=0,1454	F (1, 34) = 4,797	**P=0,0355**	F (1, 34) = 2,303	P=0,1384
65	F (1, 34) = 3,129	P=0,0859	F (1, 34) = 1,590	P=0,2159	F (1, 34) = 1,608	P=0,2134
66	F (1, 34) = 0,4716	P=0,4969	F (1, 34) = 0,04498	P=0,8333	F (1, 34) = 0,2931	P=0,5917
67	F (1, 34) = 1,887	P=0,1786	F (1, 34) = 0,3321	P=0,5682	F (1, 34) = 1,284	P=0,2652
68	F (1, 34) = 0,3883	P=0,5374	F (1, 34) = 0,9048	P=0,3482	F (1, 34) = 4,165e-006	P=0,9984

Продолжение таблицы Б.1

Параметр	**Взаимодействие**		**Пол**		**Генотип**	
	F (DFn, DFd)	**P value**	**F (DFn, DFd)**	**P value**	**F (DFn, DFd)**	**P value**
69	F (1, 34) = 0,4007	P=0,5310	F (1, 34) = 0,005017	P=0,9439	F (1, 34) = 0,1144	P=0,7373
70	F (1, 34) = 0,2678	P=0,6081	F (1, 34) = 1,802	P=0,1884	F (1, 34) = 0,0001986	P=0,9888
71	F (1, 34) = 12,44	**P=0,0012**	F (1, 34) = 11,32	**P=0,0019**	F (1, 34) = 10,35	**P=0,0028**
72	F (1, 34) = 6,355	**P=0,0166**	F (1, 34) = 6,342	**P=0,0167**	F (1, 34) = 12,05	**P=0,0014**
73	F (1, 34) = 0,1999	P=0,6577	F (1, 34) = 0,06870	P=0,7948	F (1, 34) = 1,422	P=0,2413
74	F (1, 34) = 19,84	**P<0,0001**	F (1, 34) = 24,90	**P<0,0001**	F (1, 34) = 15,06	**P=0,0005**
75	F (1, 34) = 10,80	**P=0,0024**	F (1, 34) = 6,151	**P=0,0182**	F (1, 34) = 7,661	**P=0,0091**
76	F (1, 34) = 7,666	**P=0,0090**	F (1, 34) = 5,502	**P=0,0250**	F (1, 34) = 7,908	**P=0,0081**
77	F (1, 34) = 5,575	**P=0,0241**	F (1, 34) = 2,932	P=0,0960	F (1, 34) = 8,096	**P=0,0075**
78	F (1, 34) = 0,4581	P=0,5031	F (1, 34) = 0,2950	P=0,5906	F (1, 34) = 0,06666	P=0,7978
79	F (1, 34) = 0,9805	P=0,3291	F (1, 34) = 0,004924	P=0,9445	F (1, 34) = 0,02989	P=0,8638
80	F (1, 34) = 5,209	**P=0,0288**	F (1, 34) = 4,315	**P=0,0454**	F (1, 34) = 0,6097	P=0,4403
81	F (1, 34) = 7,586	**P=0,0094**	F (1, 34) = 9,263	**P=0,0045**	F (1, 34) = 3,151	P=0,0848
82	F (1, 34) = 5,229	**P=0,0286**	F (1, 34) = 5,917	**P=0,0204**	F (1, 34) = 3,879	P=0,0571
83	F (1, 34) = 3,012	P=0,0917	F (1, 34) = 4,093	P=0,0510	F (1, 34) = 0,3972	P=0,5328
84	F (1, 34) = 12,93	**P=0,0010**	F (1, 34) = 26,18	**P<0,0001**	F (1, 34) = 11,97	**P=0,0015**
85	F (1, 34) = 9,417	**P=0,0042**	F (1, 34) = 5,833	**P=0,0213**	F (1, 34) = 3,743	P=0,0614
86	F (1, 34) = 10,33	**P=0,0029**	F (1, 34) = 1,161	P=0,2888	F (1, 34) = 4,385	**P=0,0438**

Продолжение таблицы Б.1

Параметр	**Взаимодействие**		**Пол**		**Генотип**	
	F (DFn, DFd)	**P value**	**F (DFn, DFd)**	**P value**	**F (DFn, DFd)**	**P value**
87	F (1, 34) = 10,63	**P=0,0025**	F (1, 34) = 0,3440	P=0,5614	F (1, 34) = 5,934	**P=0,0202**
88	F (1, 34) = 2,202	P=0,1471	F (1, 34) = 0,05863	P=0,8101	F (1, 34) = 0,01132	P=0,9159

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Параметры локомоции после ТСМ

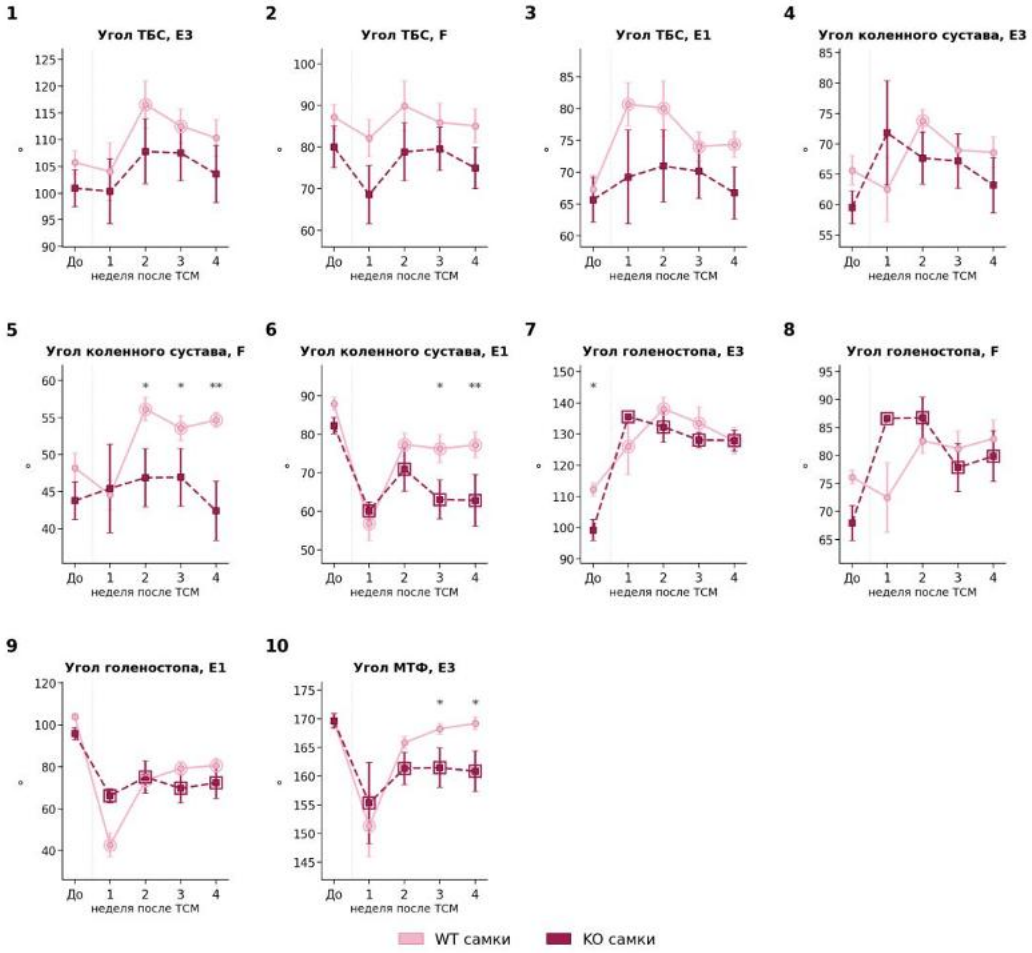


Рисунок В.1 — Динамика угловых характеристик ТБС и коленного сустава после ТСМ у самок (панели 1–10)

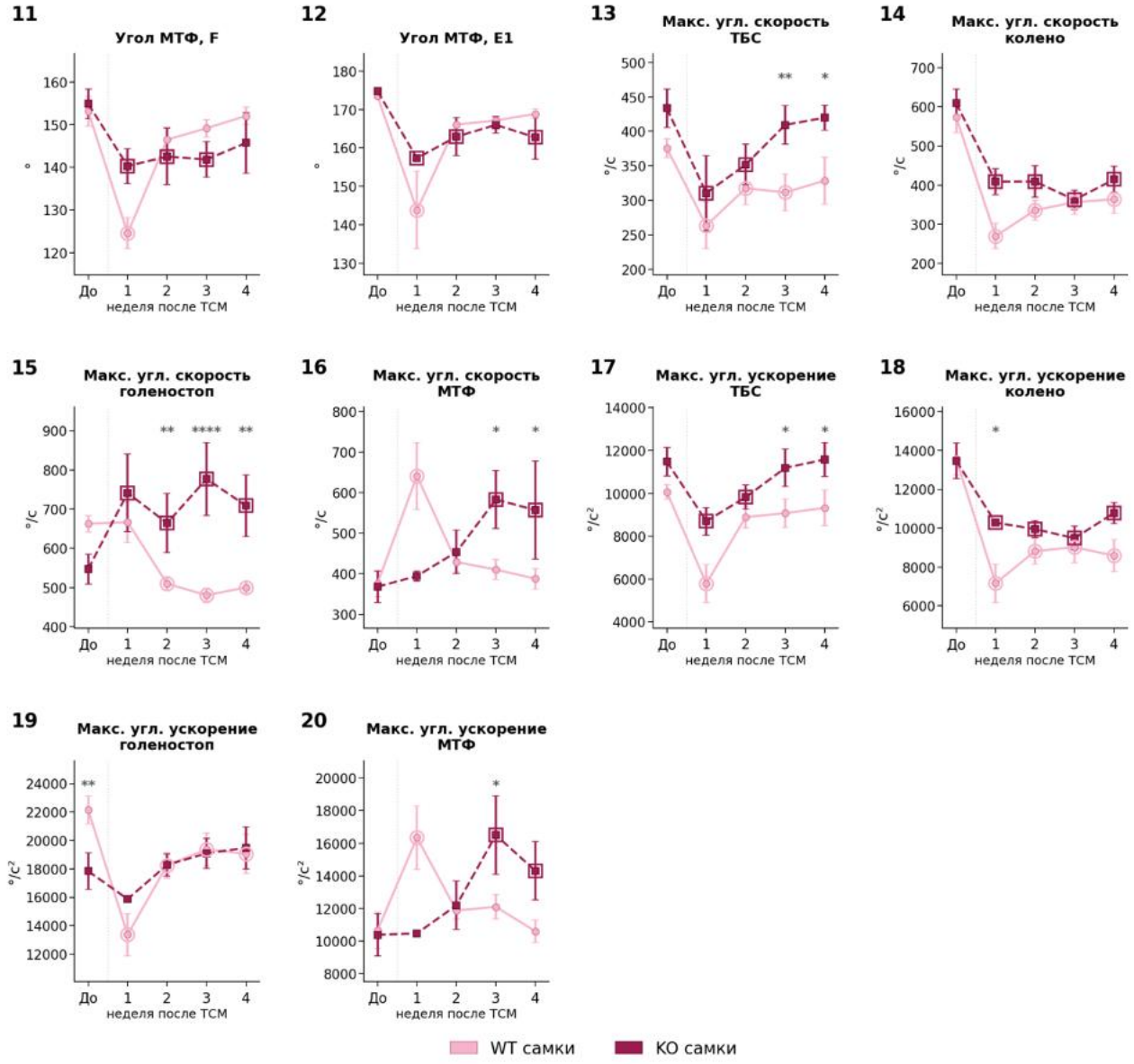


Рисунок В.2 — Динамика угловых характеристик голеностопа, МТФ и максимальных угловых скоростей/ускорений суставов после ТСМ у самок (панели 11–20)

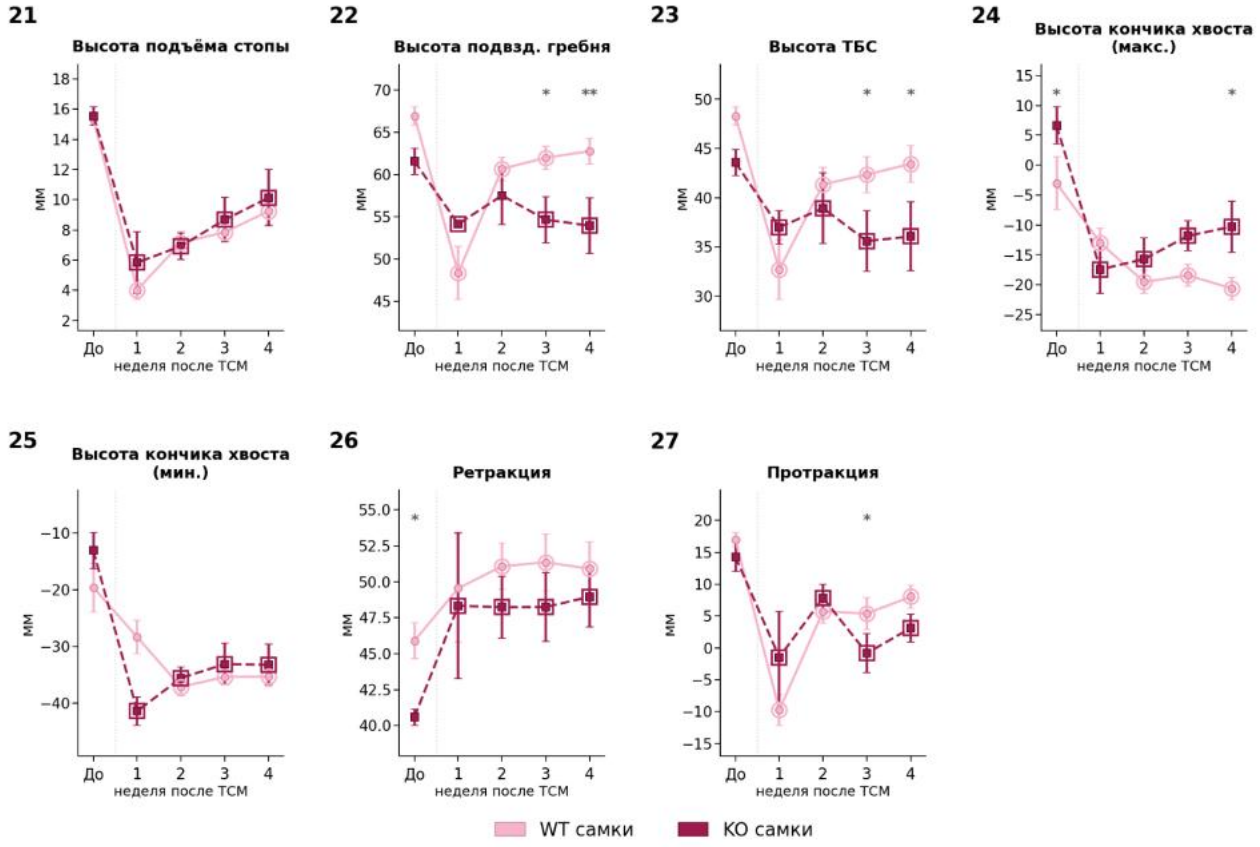


Рисунок В.3 — Динамика высот сегментов, ретракции и протракции после ТСМ у самок (панели 21–27)

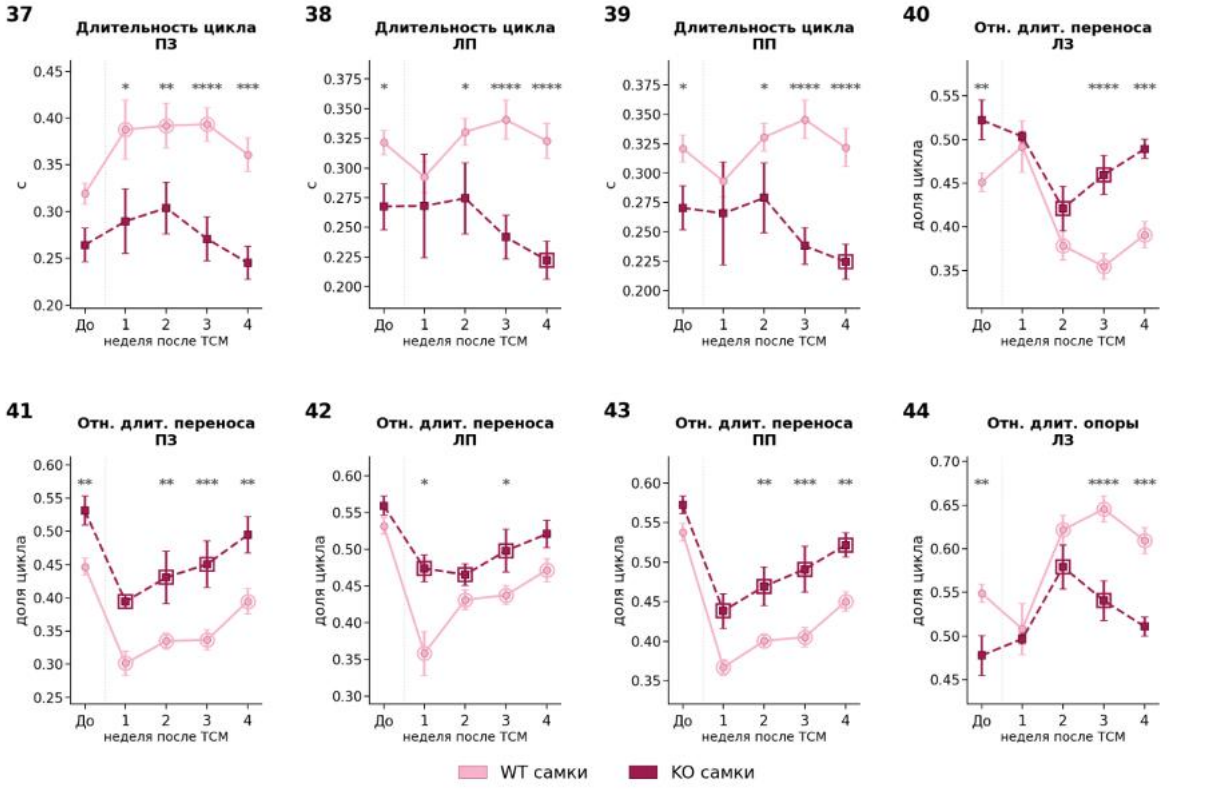


Рисунок В.4 — Динамика длительности цикла шага и относительной длительности фазы переноса после ТСМ у самок (панели 37–44)

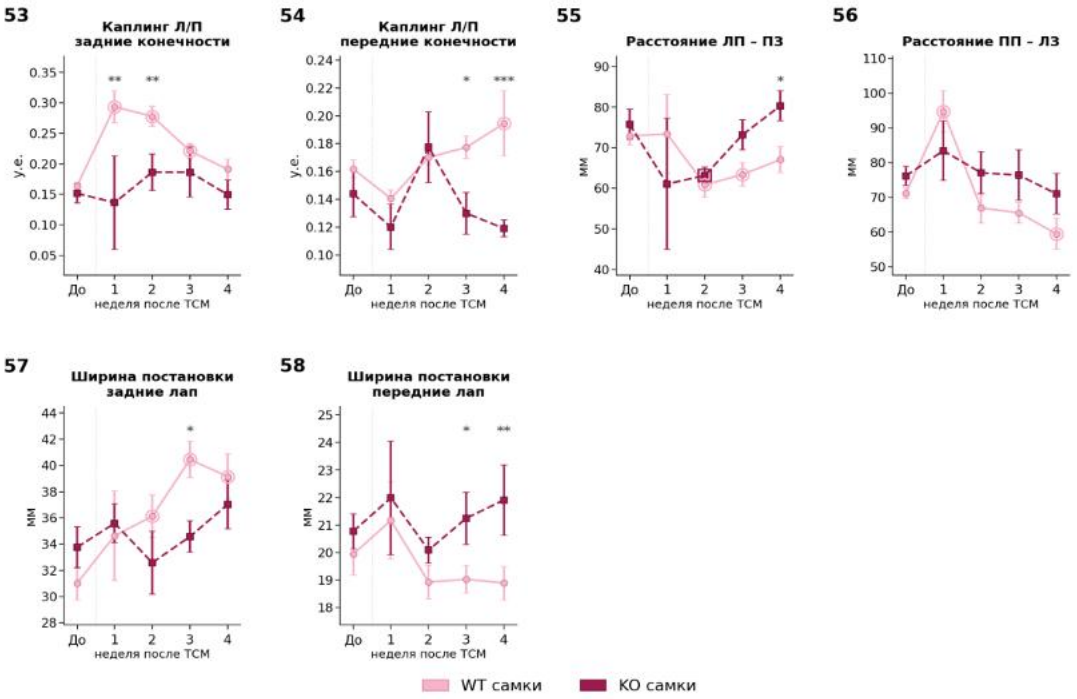


Рисунок В.5 — Динамика межконечностной координации после ТСМ у самок (панели 53–58)

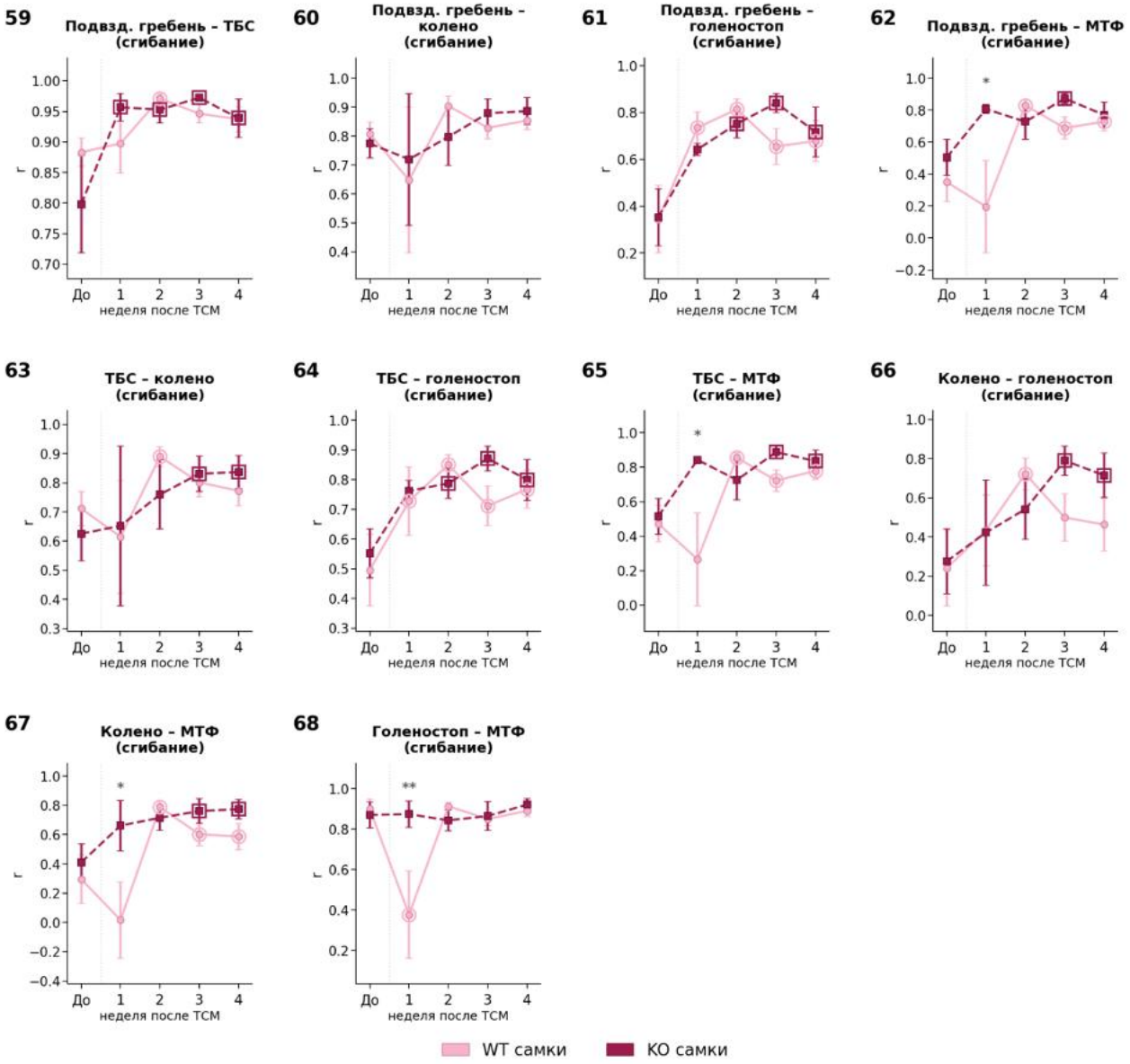


Рисунок В.6 — Динамика коэффициентов корреляции суставов в фазу сгибания после ТСМ у самок (панели 59–68)

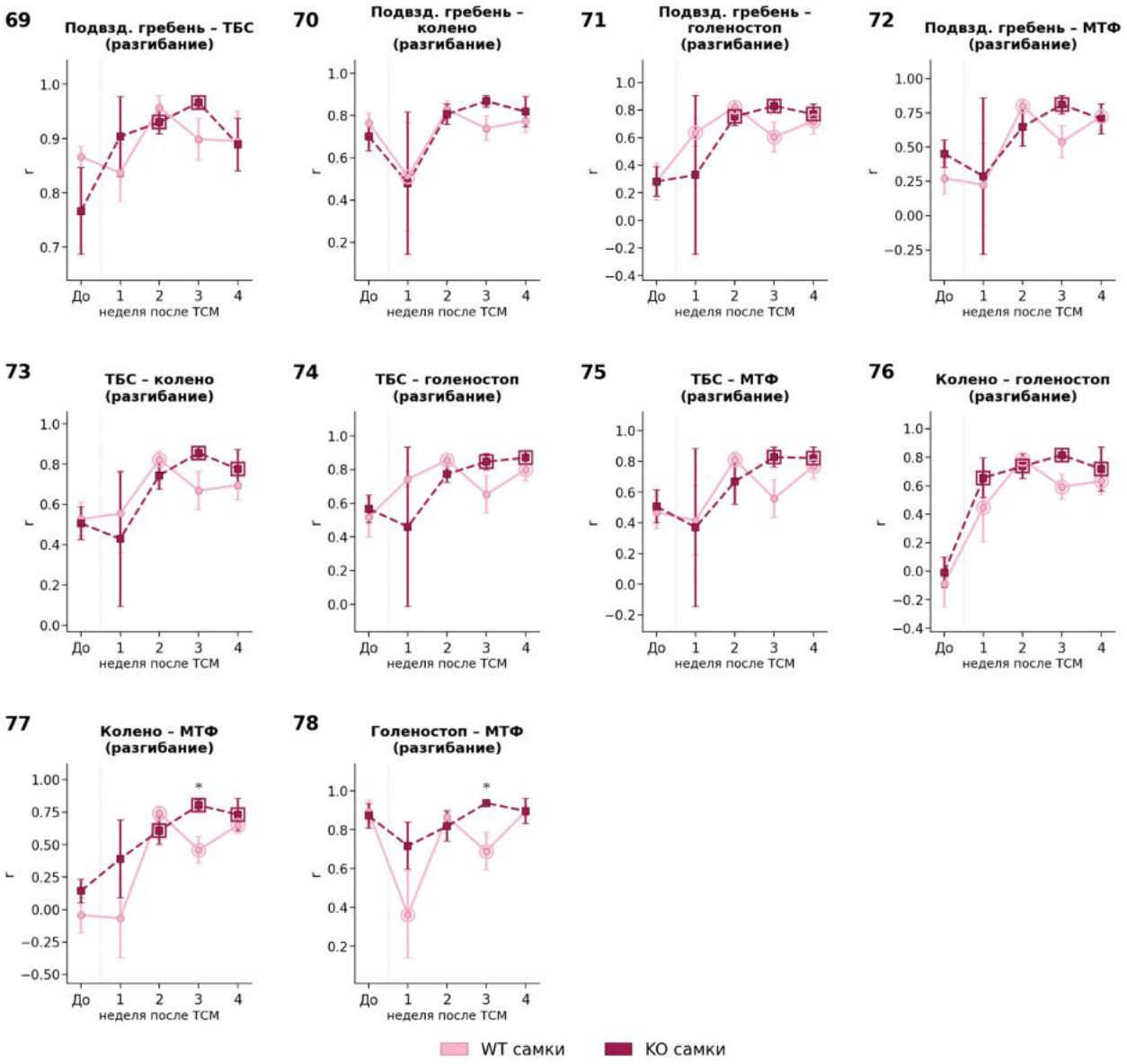


Рисунок В.7 — Динамика коэффициентов корреляции суставов в фазу разгибания после ТСМ у самок (панели 69–78)

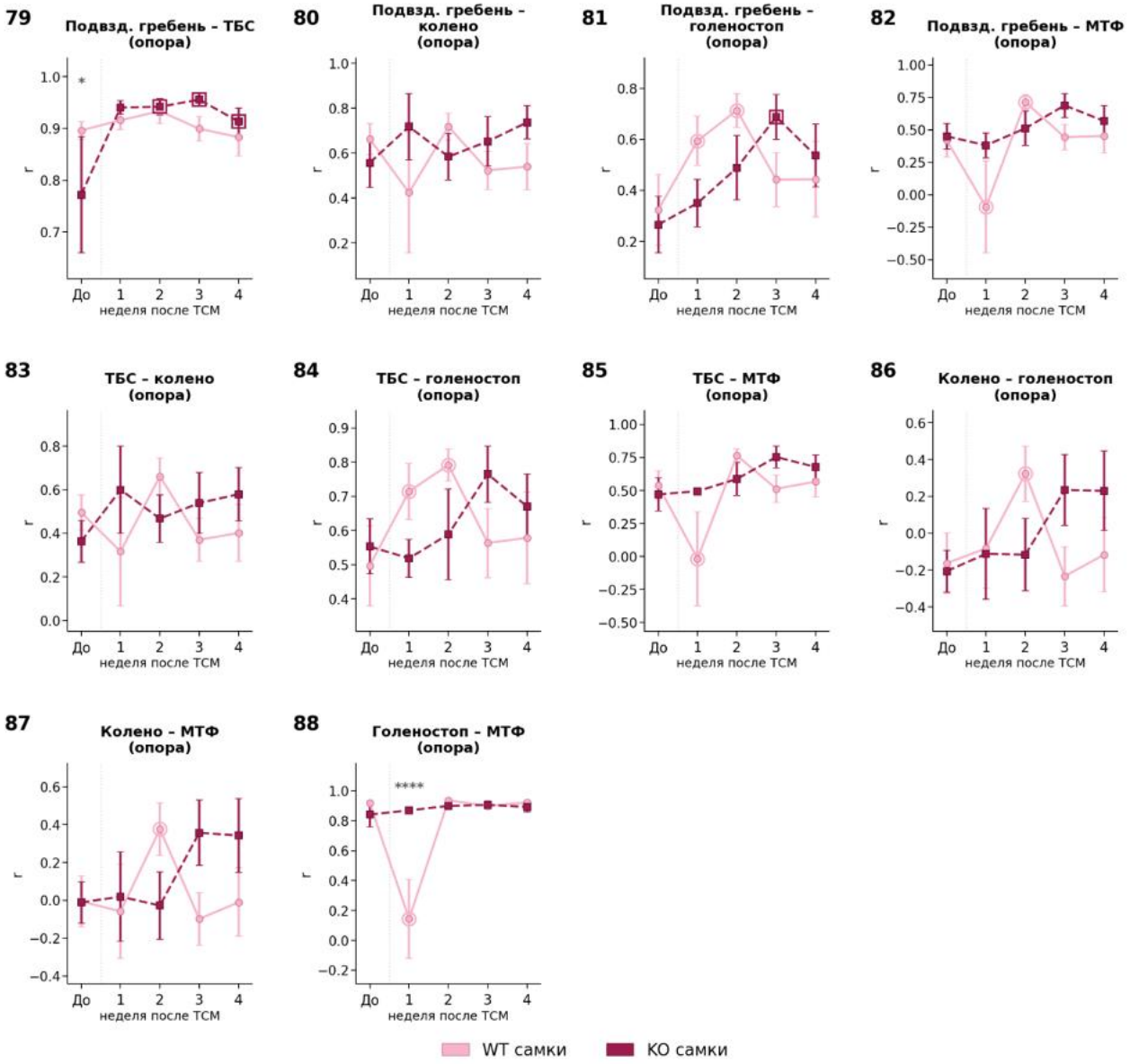


Рисунок В.8 — Динамика коэффициентов корреляции суставов в фазу опоры после ТСМ у самок (панели 79–88)

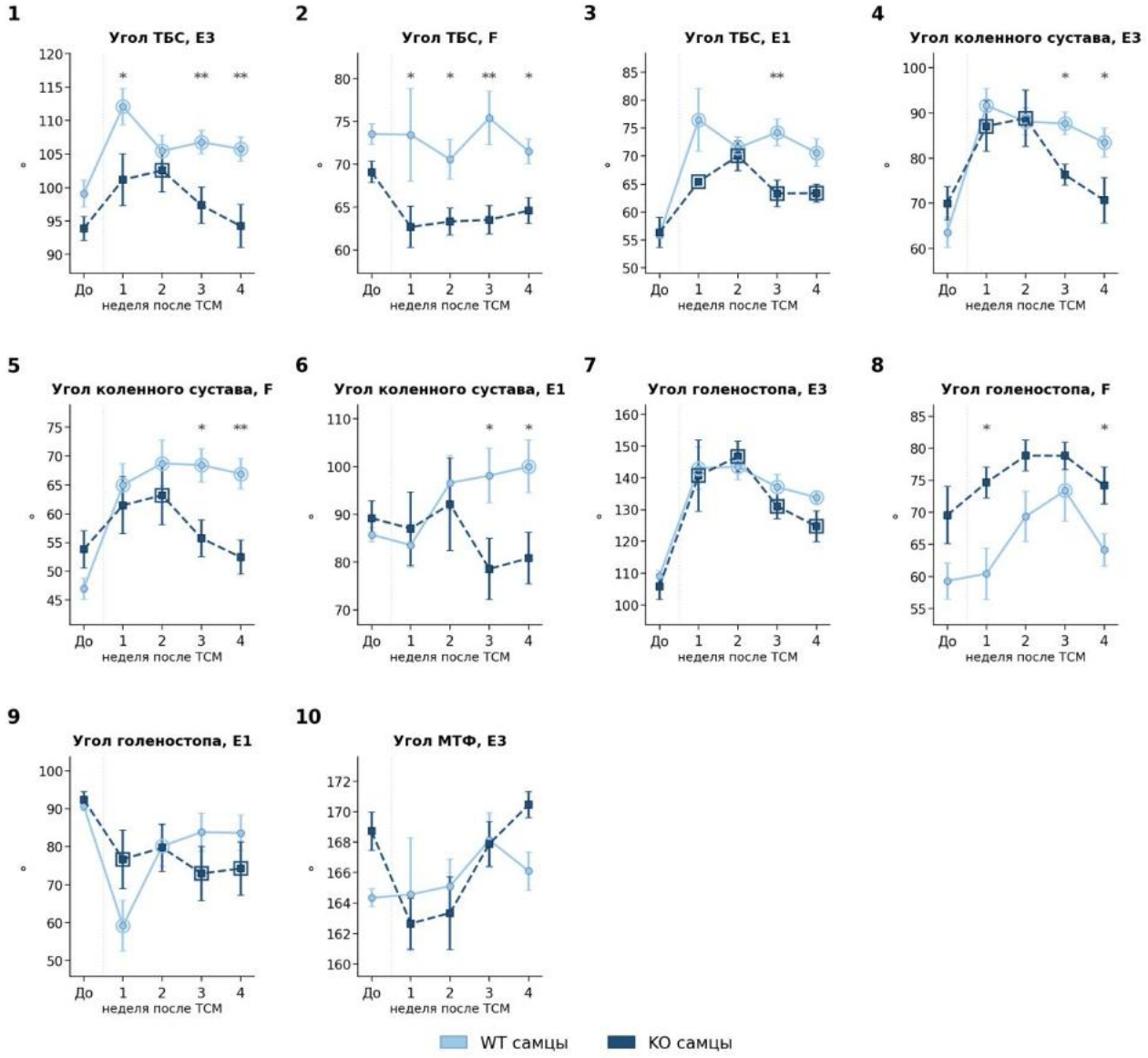


Рисунок В.9 — Динамика угловых характеристик ТБС и коленного сустава после ТСМ у самцов (панели 1–10)

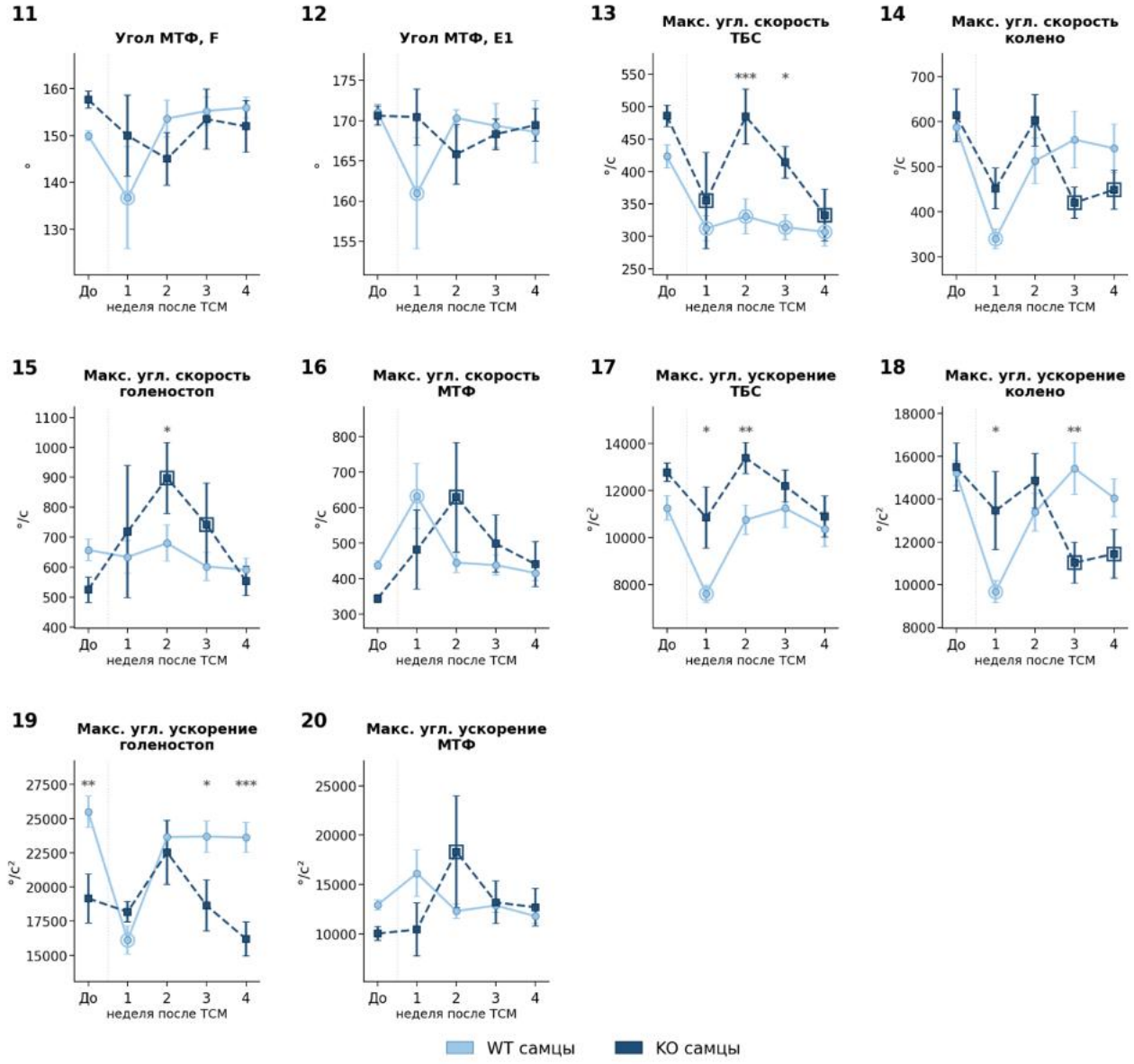


Рисунок В.10 — Динамика угловых характеристик голеностопа, МТФ и максимальных угловых скоростей/ускорений суставов после ТСМ у самцов (панели 11–20)

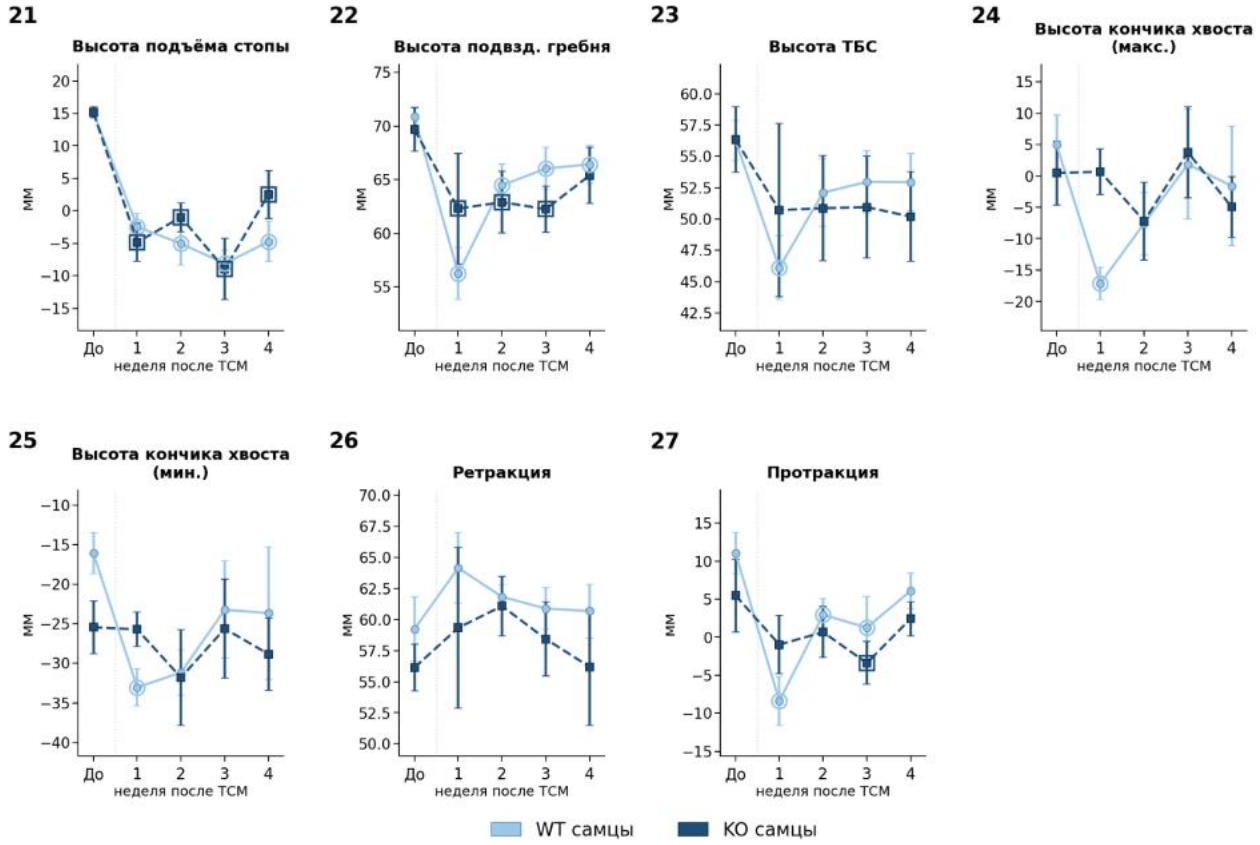


Рисунок В.11 — Динамика высот сегментов, ретракции и протракции после ТСМ у самцов (панели 21–27)

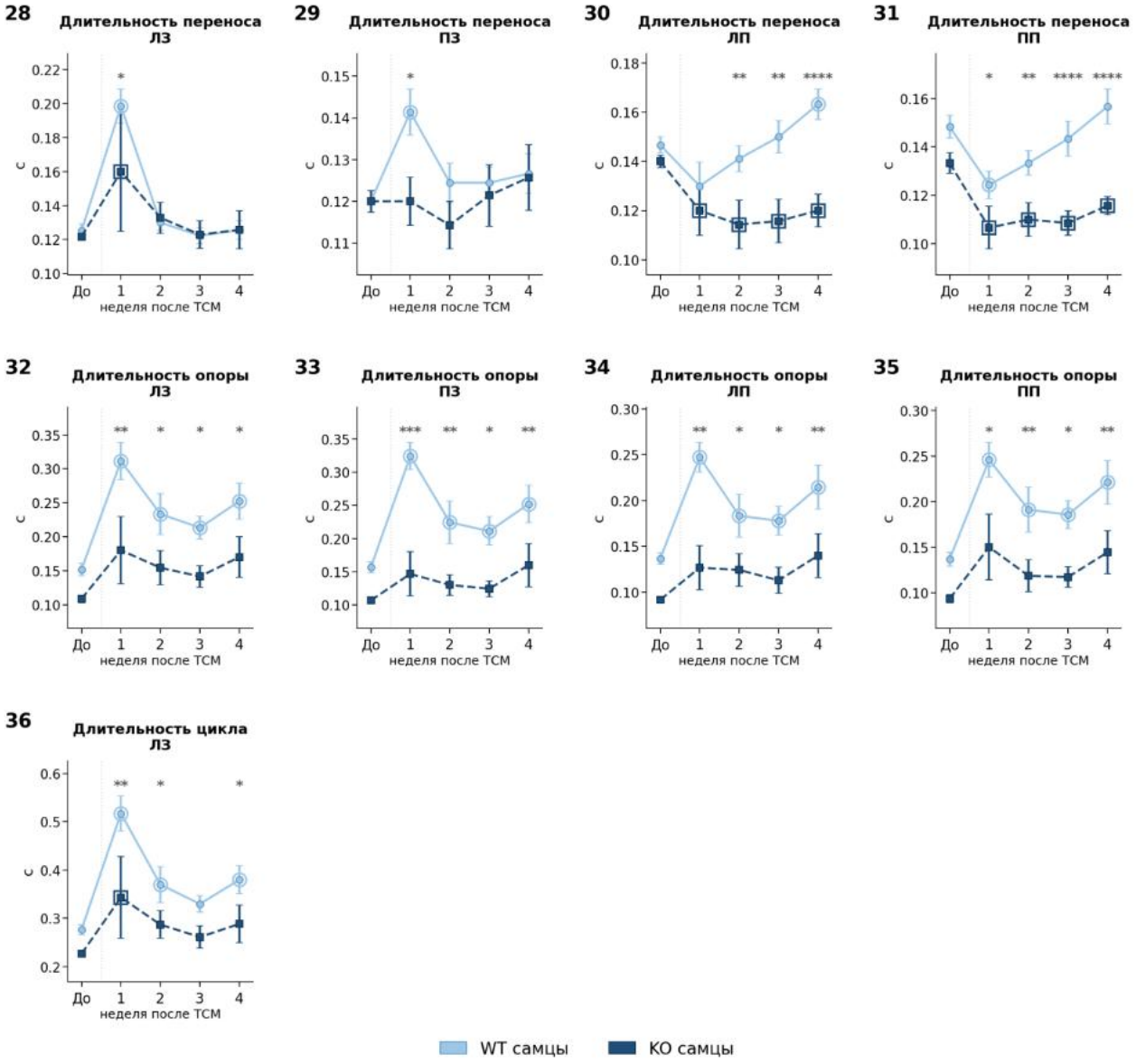


Рисунок В.12 — Динамика длительности фаз переноса и опоры шагового цикла после ТСМ у самцов (панели 28–36)

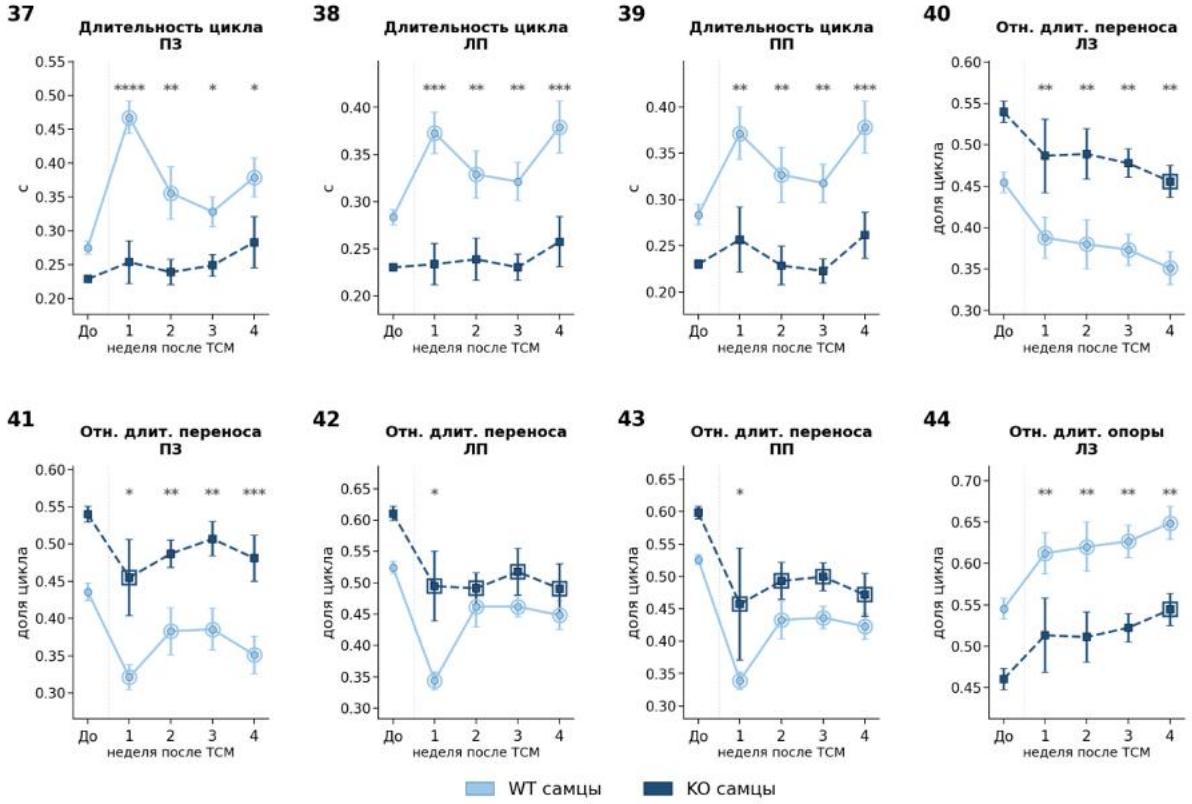


Рисунок В.13 — Динамика длительности цикла шага и относительной длительности фазы переноса после ТСМ у самцов (панели 37–44)

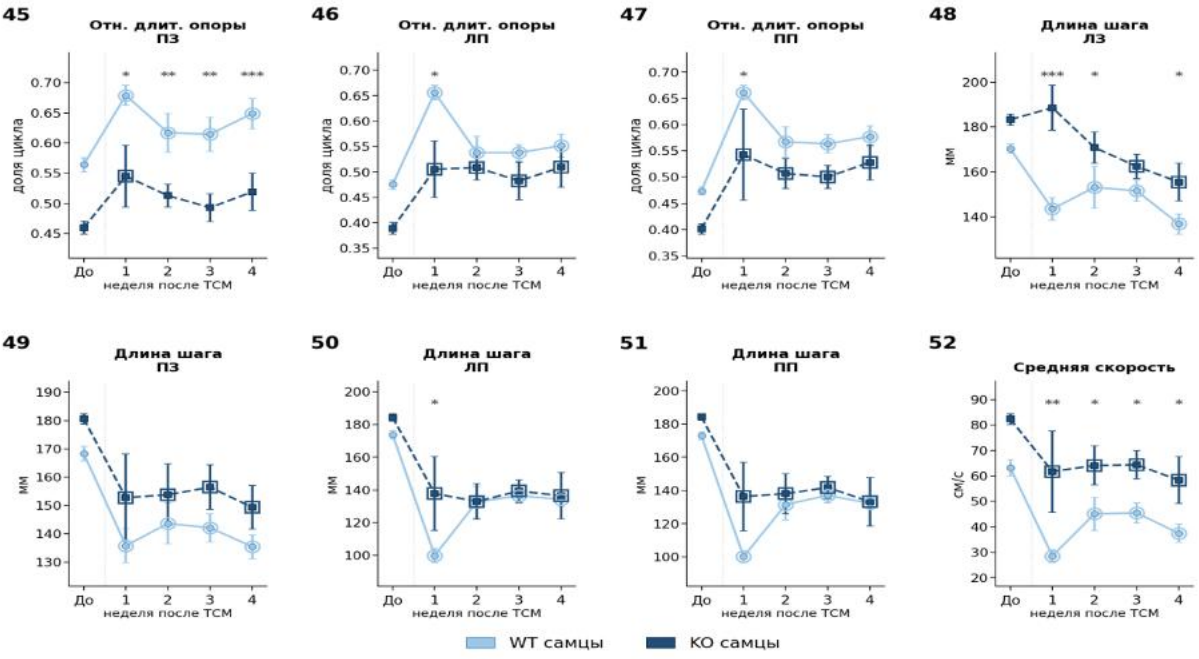


Рисунок В.14 — Динамика относительной длительности фазы опоры, длины шага и средней скорости после ТСМ у самцов (панели 45–52)

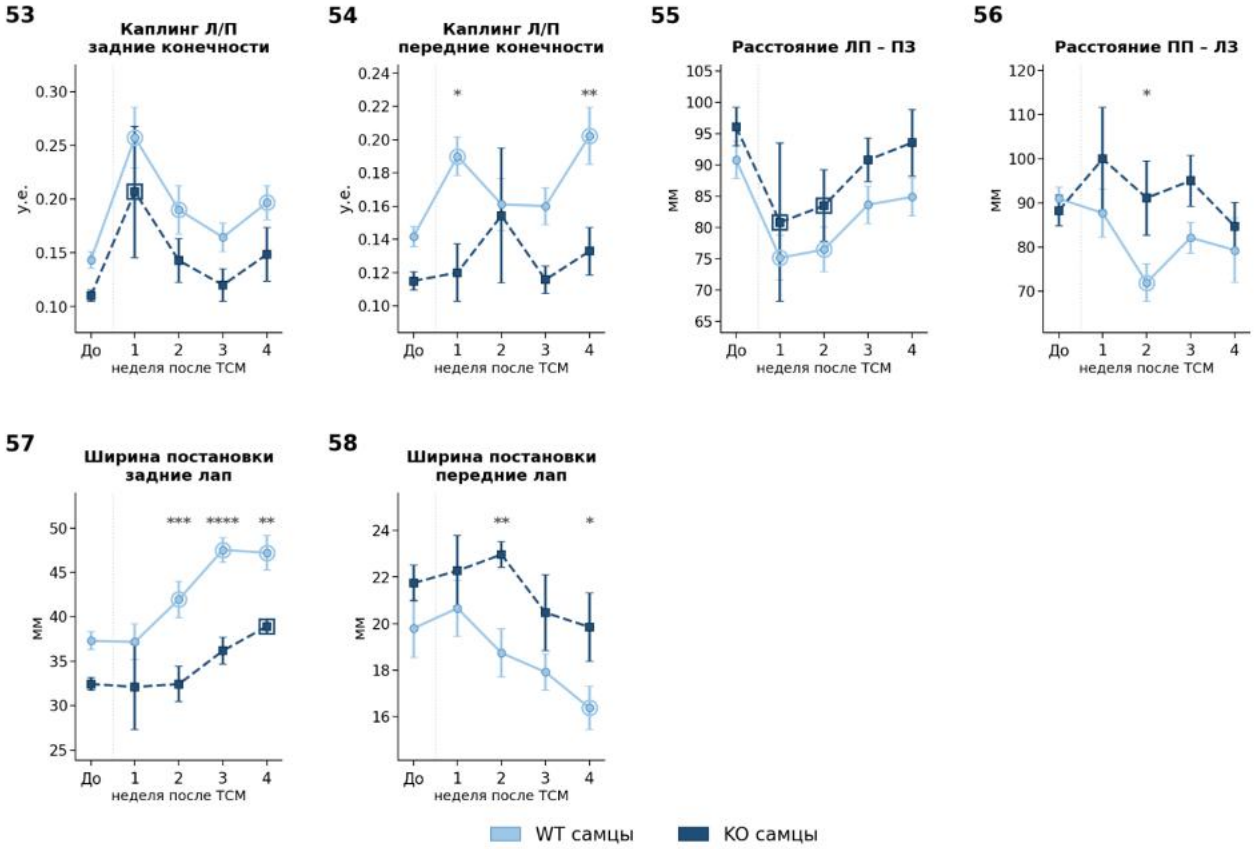


Рисунок В.15 — Динамика межконечностной координации после ТСМ у самцов (панели 53–58)

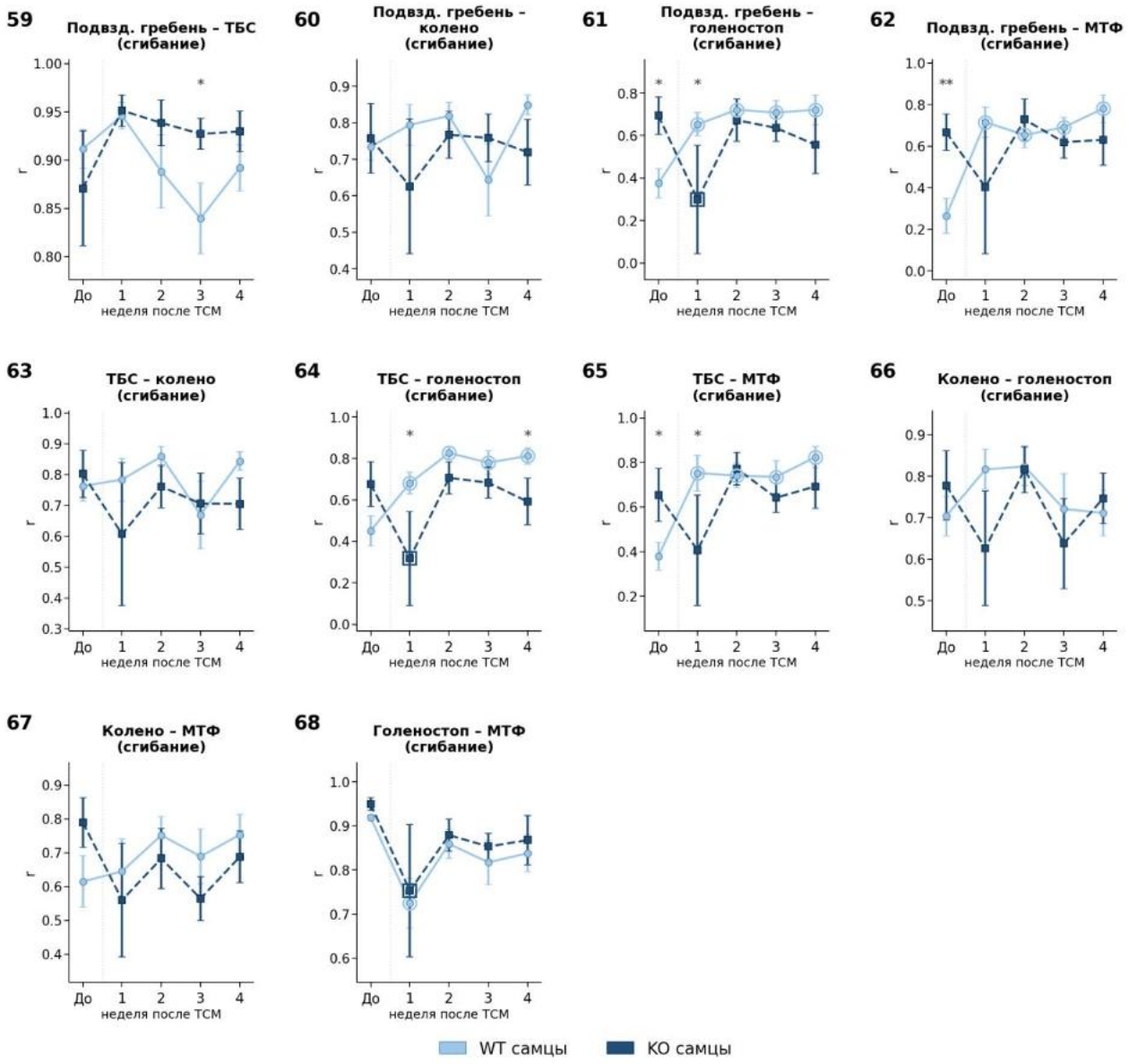


Рисунок В.16 — Динамика коэффициентов корреляции суставов в фазу сгибания после ТСМ у самцов (панели 59–68)

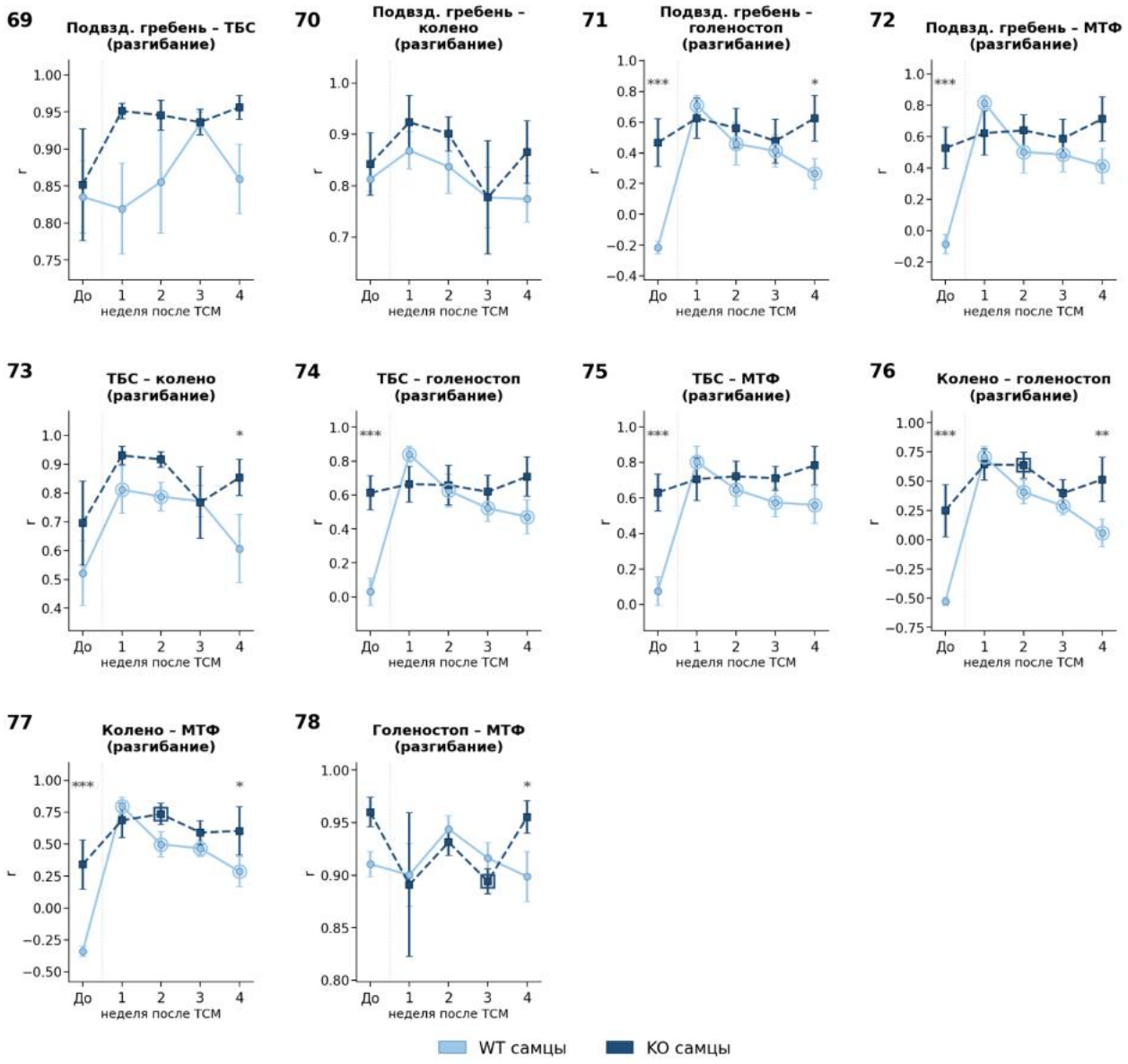


Рисунок В.17 — Динамика коэффициентов корреляции суставов в фазу разгибания после ТСМ у самцов (панели 69–78)

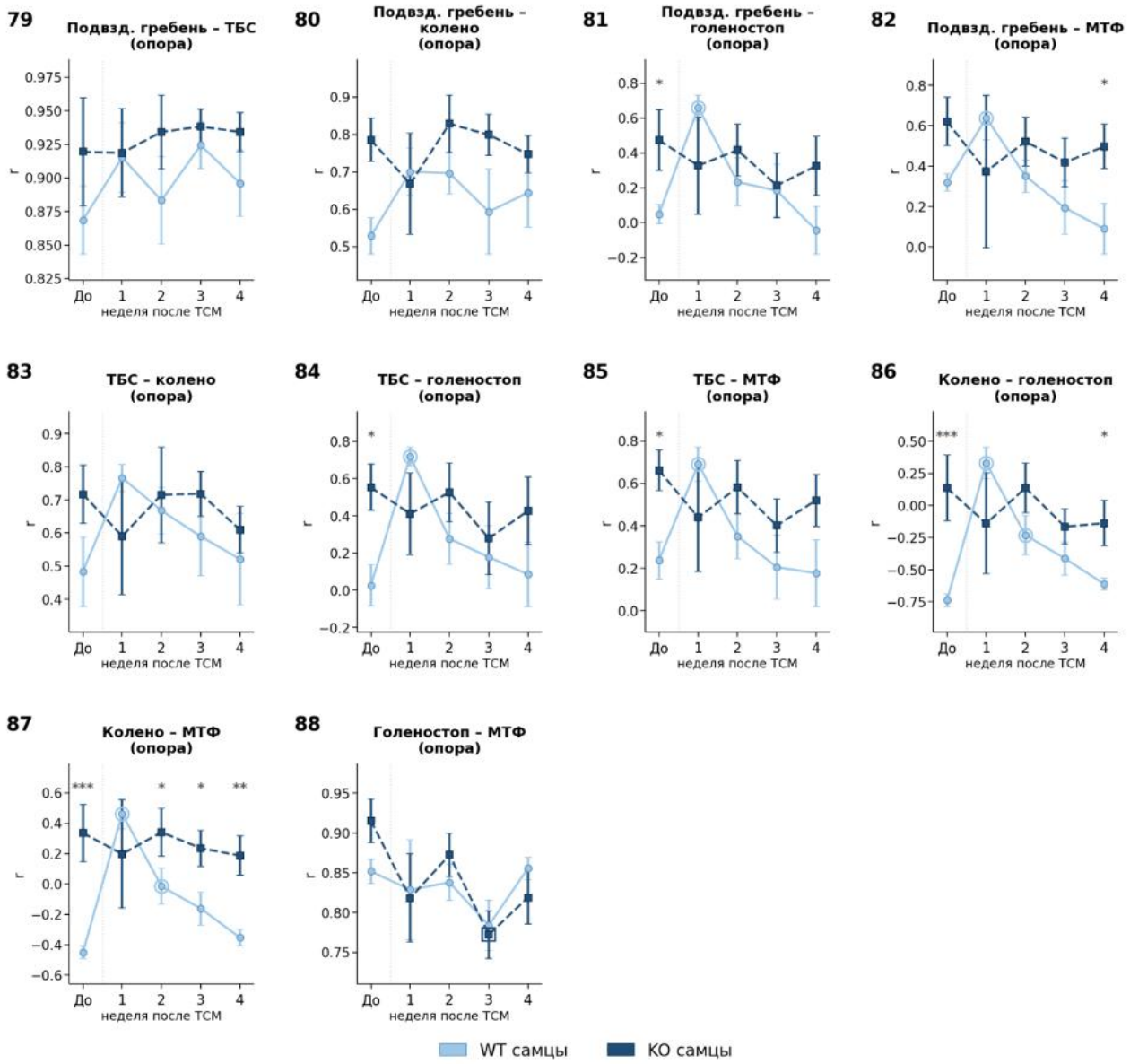


Рисунок В.18 — Динамика коэффициентов корреляции суставов в фазу опоры после ТСМ у самцов (панели 79–88)

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

Основные кинематические параметры после ТСМ

Таблица Г.1 — Результаты двухфакторного дисперсионного анализа (ANOVA) для основных кинематических параметров после ТСМ

№	Генотип		Неделя		Взаимодействие (Генотип × Неделя)	
	F (DFn, DFd)	P value	F (DFn, DFd)	P value	F (DFn, DFd)	P value
1	1.41 (1, 21.0)	0,2483	2.94 (4, 59.5)	0,0277	0.18 (4, 59.5)	0,9478
2	2.44 (1, 20.3)	0,1334	0.30 (4, 58.9)	0,8759	0.17 (4, 58.9)	0,9539
3	2.71 (1, 21.1)	0,1143	4.92 (4, 59.6)	0,0017	0.71 (4, 59.6)	0,5910
4	0.46 (1, 22.8)	0,5041	2.25 (4, 61.0)	0,0744	1.19 (4, 61.0)	0,3242
5	7.63 (1, 22.5)	0,0112	2.67 (4, 60.7)	0,0406	1.36 (4, 60.7)	0,2593
6	4.76 (1, 21.6)	0,0404	17.64 (4, 60.0)	< 0,0001	1.03 (4, 60.0)	0,3971
7	0.29 (1, 22.8)	0,5983	22.74 (4, 61.0)	< 0,0001	1.82 (4, 61.0)	0,1359
8	0.00 (1, 23.8)	0,9514	4.82 (4, 62.2)	0,0019	1.61 (4, 62.2)	0,1827
9	0.27 (1, 22.2)	0,6060	27.61 (4, 60.5)	< 0,0001	1.31 (4, 60.5)	0,2749
10	3.17 (1, 24.1)	0,0877	8.00 (4, 62.5)	< 0,0001	1.72 (4, 62.5)	0,1576
11	0.12 (1, 22.8)	0,7322	6.20 (4, 61.0)	0,0003	1.37 (4, 61.0)	0,2561
12	0.11 (1, 24.9)	0,7434	7.70 (4, 64.3)	< 0,0001	1.31 (4, 64.3)	0,2742

Продолжение таблицы Г.1

№	Генотип		Неделя		Взаимодействие (Генотип × Неделя)	
	F (DFn, DFd)	**P value**	**F (DFn, DFd)**	**P value**	**F (DFn, DFd)**	**P value**
13	6.31 (1, 22.3)	0,0198	4.55 (4, 60.5)	0,0028	0.79 (4, 60.5)	0,5336
14	2.39 (1, 21.3)	0,1369	39.42 (4, 59.7)	< 0,0001	0.77 (4, 59.7)	0,5470
15	10.92 (1,22.9)	0,0031	1.78 (4, 61.2)	0,1447	8.31 (4, 61.2)	< 0,0001
16	0.81 (1, 22.9)	0,3764	2.98 (4, 61.1)	0,0259	2.63 (4, 61.1)	0,0431
17	7.35 (1, 22.6)	0,0126	6.74 (4, 60.9)	0,0001	0.73 (4, 60.9)	0,5732
18	2.58 (1, 21.2)	0,1234	27.92 (4, 59.6)	< 0,0001	2.13 (4, 59.6)	0,0887
19	0.06 (1, 22.0)	0,8059	4.24 (4, 60.3)	0,0043	3.96 (4, 60.3)	0,0064
20	0.39 (1, 24.7)	0,5379	2.60 (4, 63.6)	0,0445	2.41 (4, 63.6)	0,0587
21	0.26 (1, 22.2)	0,6180	49.39 (4, 60.4)	< 0,0001	0.41 (4, 60.4)	0,8030
22	4.52 (1, 22.8)	0,0445	9.05 (4, 61.0)	< 0,0001	1.75 (4, 61.0)	0,1510
23	3.23 (1, 22.1)	0,0860	9.10 (4, 60.4)	< 0,0001	0.90 (4, 60.4)	0,4695
24	4.27 (1, 24.4)	0,0497	15.56 (4, 63.1)	< 0,0001	0.95 (4, 63.1)	0,4393
25	0.00 (1, 25.0)	0,9649	16.87 (4, 65.0)	< 0,0001	1.35 (4, 65.0)	0,2601
26	1.43 (1, 21.9)	0,2452	7.99 (4, 60.2)	< 0,0001	0.71 (4, 60.2)	0,5901

Продолжение таблицы Г.1

№	Генотип	Неделя	Взаимодействие (Генотип × Неделя)

	F (DFn, DFd)	**P value**	**F (DFn, DFd)**	**P value**	**F (DFn, DFd)**	**P value**
27	0.14 (1, 24.0)	0,7107	18.68 (4, 62.4)	< 0,0001	2.14 (4, 62.4)	0,0866
28	15.49 (1,22.8)	0,0007	13.27 (4, 61.0)	< 0,0001	2.57 (4, 61.0)	0,0466
29	2.60 (1, 21.5)	0,1217	7.98 (4, 59.9)	< 0,0001	1.87 (4, 59.9)	0,1276
30	7.14 (1, 21.0)	0,0143	15.07 (4, 59.5)	< 0,0001	1.88 (4, 59.5)	0,1255
31	8.34 (1, 21.1)	0,0088	35.78 (4, 59.6)	< 0,0001	2.19 (4, 59.6)	0,0804
32	20.67 (1,22.7)	0,0001	13.34 (4, 60.9)	< 0,0001	1.92 (4, 60.9)	0,1181
33	24.66 (1, 23.0)	< 0,0001	7.82 (4, 61.3)	< 0,0001	1.27 (4, 61.3)	0,2916
34	16.44(1, 22.2)	0,0005	5.12 (4, 60.5)	0,0013	1.81 (4, 60.5)	0,1377
35	18.83 (1, 22.4)	0,0003	5.91 (4, 60.7)	0,0004	2.56 (4, 60.7)	0,0474
36	24.94 (1, 22.4)	< 0,0001	15.32 (4, 60.6)	< 0,0001	1.68 (4, 60.6)	0,1674
37	22.44 (1, 22.8)	< 0,0001	3.83 (4, 61.0)	0,0077	1.37 (4, 61.0)	0,2541
38	15.64 (1, 21.4)	0,0007	1.55 (4, 59.8)	0,1991	2.13 (4, 59.8)	0,0877
39	16.66 (1, 21.5)	0,0005	1.67 (4, 59.9)	0,1685	2.67 (4, 59.9)	0,0404
40	12.40 (1, 22.6)	0,0019	13.79 (4, 60.8)	< 0,0001	2.23 (4, 60.8)	0,0766
41	17.02 (1, 21.9)	0,0004	17.00 (4, 60.2)	< 0,0001	0.25 (4, 60.2)	0,9101
42	7.93 (1, 22.3)	0,0100	21.44 (4, 60.5)	< 0,0001	0.99 (4, 60.5)	0,4209
43	18.84 (1, 23.3)	0,0002	31.07 (4, 61.5)	< 0,0001	1.09 (4, 61.5)	0,3716
44	12.40 (1, 22.6)	0,0019	13.79 (4, 60.8)	< 0,0001	2.23 (4, 60.8)	0,0766

Продолжение таблицы Г.1

№	Генотип		Неделя		Взаимодействие (Генотип × Неделя)	
	F (DFn, DFd)	**P value**	**F (DFn, DFd)**	**P value**	**F (DFn, DFd)**	**P value**
45	17.02 (1, 21.9)	0,0004	17.00 (4, 60.2)	< 0,0001	0.25 (4, 60.2)	0,9101
46	7.93 (1, 22.3)	0,0100	21.44 (4, 60.5)	< 0,0001	0.99 (4, 60.5)	0,4209
47	18.84 (1, 23.3)	0,0002	31.07 (4, 61.5)	< 0,0001	1.09 (4, 61.5)	0,3716
48	4.06 (1, 23.3)	0,0555	1.88 (4, 61.5)	0,1250	0.99 (4, 61.5)	0,4194
49	9.17 (1, 24.2)	0,0058	15.54 (4, 62.6)	< 0,0001	0.38 (4, 62.6)	0,8243
50	5.84 (1, 22.3)	0,0243	39.03 (4, 60.6)	< 0,0001	0.33 (4, 60.6)	0,8575
51	8.56 (1, 22.4)	0,0077	33.49 (4, 60.7)	< 0,0001	0.66 (4, 60.7)	0,6208
52	24.03 (1, 22.4)	< 0,0001	7.78 (4, 60.7)	< 0,0001	1.22 (4, 60.7)	0,3128
53	13.86 (1, 24.7)	0,0010	4.33 (4, 63.6)	0,0037	1.97 (4, 63.6)	0,1100
54	6.50 (1, 23.9)	0,0176	1.59 (4, 62.3)	0,1885	3.04 (4, 62.3)	0,0237
55	0.57 (1, 23.3)	0,4586	4.42 (4, 61.5)	0,0033	2.48 (4, 61.5)	0,0531
56	1.91 (1, 23.6)	0,1801	4.60 (4, 61.9)	0,0026	0.85 (4, 61.9)	0,4982
57	0.61 (1, 22.4)	0,4422	5.75 (4, 60.7)	0,0005	2.94 (4, 60.7)	0,0273

Продолжение таблицы Г.1

№	Генотип		Неделя		Взаимодействие (Генотип × Неделя)	
	F (DFn, DFd)	**P value**	**F (DFn, DFd)**	**P value**	**F (DFn, DFd)**	**P value**

58	4.41 (1, 21.9)	0,0476	0.69 (4, 60.2)	0,6020	1.09 (4, 60.2)	0,3714
59	0.02 (1, 25.0)	0,8933	5.00 (4, 65.1)	0,0014	1.09 (4, 65.1)	0,3710
60	0.00 (1, 25.0)	0,9571	1.10 (4, 65.1)	0,3625	0.43 (4, 65.1)	0,7845
61	0.01 (1, 24.0)	0,9409	8.86 (4, 62.3)	< 0,0001	0.64 (4, 62.3)	0,6372
62	3.52 (1, 24.2)	0,0726	5.98 (4, 62.7)	0,0004	1.63 (4, 62.7)	0,1778
63	0.10 (1, 24.4)	0,7503	2.35 (4, 63.0)	0,0637	0.65 (4, 63.0)	0,6285
64	0.26 (1, 24.5)	0,6119	5.68 (4, 63.2)	0,0006	0.58 (4, 63.2)	0,6766
65	2.82 (1, 24.6)	0,1058	5.63 (4, 63.3)	0,0006	1.80 (4, 63.3)	0,1402
66	0.29 (1, 22.2)	0,5939	4.81 (4, 60.5)	0,0020	1.16 (4, 60.5)	0,3376
67	3.29 (1, 23.3)	0,0827	6.02 (4, 61.6)	0,0004	1.34 (4, 61.6)	0,2654
68	2.79 (1, 24.8)	0,1077	2.82 (4, 63.8)	0,0323	2.64 (4, 63.8)	0,0416
69	0.00 (1, 25.0)	0,9966	2.90 (4, 65.1)	0,0284	1.18 (4, 65.1)	0,3297
70	0.04 (1, 25.0)	0,8470	2.44 (4, 65.1)	0,0553	0.49 (4, 65.1)	0,7438
71	0.08 (1, 25.0)	0,7860	9.10 (4, 65.1)	< 0,0001	1.08 (4, 65.1)	0,3746
72	0.35 (1, 24.7)	0,5622	4.73 (4, 63.6)	0,0021	1.00 (4, 63.6)	0,4126
73	0.02 (1, 25.0)	0,8989	4.06 (4, 65.1)	0,0053	0.84 (4, 65.1)	0,5047
74	0.04 (1, 24.9)	0,8350	4.49 (4, 64.1)	0,0029	1.37 (4, 64.1)	0,2553
75	0.07 (1, 24.7)	0,8001	3.53 (4, 63.6)	0,0116	1.00 (4, 63.6)	0,4117

Продолжение таблицы Г.1

№	Генотип		Неделя		Взаимодействие (Генотип × Неделя)	
	F (DFn, DFd)	**P value**	**F (DFn, DFd)**	**P value**	**F (DFn, DFd)**	**P value**
75	0.07 (1, 24.7)	0,8001	3.53 (4, 63.6)	0,0116	1.00 (4, 63.6)	0,4117
76	1.40 (1, 25.0)	0,2473	16.95 (4, 64.9)	< 0,0001	0.37 (4, 64.9)	0,8272
77	2.74 (1, 24.1)	0,1108	15.25 (4, 62.6)	< 0,0001	1.61 (4, 62.6)	0,1828
78	2.90 (1, 24.8)	0,1012	3.20 (4, 64.0)	0,0185	1.97 (4, 64.0)	0,1099
79	0.01 (1, 24.8)	0,9204	2.11 (4, 63.9)	0,0894	1.54 (4, 63.9)	0,2006
80	0.83 (1, 24.9)	0,3712	0.17 (4, 64.1)	0,9540	1.29 (4, 64.1)	0,2823
81	0.22 (1, 23.2)	0,6407	3.02 (4, 61.5)	0,0244	1.73 (4, 61.5)	0,1549
82	0.75 (1, 22.8)	0,3961	2.20 (4, 61.0)	0,0793	1.33 (4, 61.0)	0,2690
83	0.32 (1, 24.4)	0,5766	0.43 (4, 63.0)	0,7837	1.39 (4, 63.0)	0,2482
84	0.04 (1, 23.1)	0,8403	1.20 (4, 61.4)	0,3193	1.62 (4, 61.4)	0,1809
85	0.73 (1, 22.8)	0,4023	2.30 (4, 61.0)	0,0684	1.59 (4, 61.0)	0,1882
86	0.09 (1, 23.7)	0,7678	1.03 (4, 62.0)	0,3972	2.41 (4, 62.0)	0,0585
87	0.26 (1, 23.4)	0,6180	0.69 (4, 61.7)	0,6006	2.69 (4, 61.7)	0,0389
88	5.22 (1, 24.9)	0,0311	6.05 (4, 64.1)	0,0003	5.50 (4, 64.1)	0,0007