

**Міністерство охорони здоров'я України**  
**Запорізький державний медико-фармацевтичний університет**

Факультет : II медичний

УДК: 611.811.57: 612.65]-092.9

Ахмедової Ельміри Ельманівні

Група 3 мл

**Морфофункціональні особливості сенсомоторної зони кори головного мозку шурів в ранньому постнатальному онтогенезі в умовах пренатальної гіпоксії**

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА МАГІСТРА**

зі спеціальності

224 «Технології медичної діагностики та лікування»

Галузь знань 22 «Охорона здоров'я»

Освітня програма «Лабораторна діагностика»

**Науковий керівник:**

Завідувач кафедри гістології,

цитології та ембріології,

к.біол.н., доцент

Алієва Олена Геннадіївна

Запоріжжя 2024 р.

Міністерство охорони здоров'я України  
Запорізький державний медичний університет

Факультет II медичний

Кафедра гістології, цитології та ембріології

Галузь знань 22 «Охорони здоров'я»

Спеціальність 224 «Технології медичної діагностики та лікування»

Освітня програма «Лабораторна діагностика»

Освітня програма вищої освіти України Другий магістерський рівень

Кваліфікація освіти, що присвоюється Магістр

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**

на тему

**Морфофункціональні особливості сенсомоторної зони кори головного мозку щурів в ранньому постнатальному онтогенезі в умовах пренатальної гіпоксії**

Студентка

Ахмедова Ельміра Ельманівна



Група 3мл

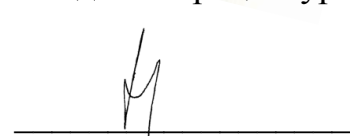
КЕРІВНИК РОБОТИ завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології,  
к.біол.н., доцент

Алієва Олена Геннадіївна



РЕЦЕНЗЕНТ завідувач кафедри фармакології та медичної рецептури з курсом  
нормальної фізіології, д.біол.н., професор

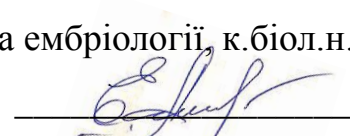
Беленічев Ігор Федорович



Робота розглянута на засіданні кафедри (протокол від «29» січня 2024 р.  
№ 6 ) і допущена до захисту.

ЗАВІДУВАЧ КАФЕДРИ гістології, цитології та ембріології, к.біол.н., доцент

Алієва Олена Геннадіївна



Запоріжжя 2024 р.

## РЕФЕРАТ

Магістерська робота: 56 с., 18 іл., 52 джерела.

**Актуальність роботи:** Внутрішньоутробний розвиток та період новонародженості визначає майбутнє здоров'я та якість життя людини. Пренатальна гіпоксія є основною причиною виникнення патологій центральної нервової системи та смертності новонароджених. Пошук нових методів фармакологічної корекції уражень нервової системи після впливу пренатальної гіпоксії є пріоритетним завданням науково-практичних досліджень у сучасній медицині та біології. Для цього необхідно розуміти механізми порушень у нервовій системі, що розвивається, та закономірності морфологічних змін у нервовій тканині, ураженій дією пренатальної гіпоксії.

**Мета роботи:** з'ясувати морфофункціональні особливості сенсомоторної кори щурів в ранньому постнатальному періоді онтогенезу після дії хронічної пренатальної гіпоксії.

### **Задачі роботи:**

1. Вивчити розвиток сенсомоторної кори щурів в ранньому постнатальному періоді онтогенезу.
2. Встановити особливості експресії Кі 67 і каспази 3 в сенсомоторній корі щурів у ранньому постнатальному періоді онтогенезу.
3. Виявити морфологічні особливості сенсомоторної кори в ранньому постнатальному періоді онтогенезу щурів, які перенесли пренатальний гіпоксичний вплив.
4. Встановити особливості експресії Кі 67 і каспази 3 в сенсомоторній корі щурів у ранньому постнатальному періоді онтогенезу після дії хронічної пренатальної гіпоксії.

**Методи дослідження:** гістологічні, гістохімічні, морфометричні, статистичні.

**Одержані результати та їх новизна:** Отримані в результаті дослідження дані про морфофункціональні зміни у сенсомоторній корі щурів

в ранньому постнатальному періоді онтогенезу після дії хронічної пренатальної гіпоксії., можуть розглядатися як морфологічна основа розуміння механізмів впливу гіпоксії на формування мозку у пренатальний період розвитку. Уточнено наявне уявлення, що тривалий гіпоксичний вплив, що збігається в часі з періодом активної проліферації та міграції клітин мозку, викликає значні зміни у складі та архітектоніці нервової тканини сенсомоторної кори щурів під час раннього постнатального онтогенезу. Вперше були виявлені особливості експресії Ki-67 та каспази-3 в сенсомоторній корі щурів у ранньому постнатальному онтогенезі, обтяженому пренатальним впливом хронічної гіпоксії.

**Результати досліджень можуть бути застосовані:** Отримані результати про морфофункціональні зміни в сенсомоторній корі головного мозку під час впливу пренатальної гіпоксії доповнюють уявлення про вплив негативних чинників на внутрішньоутробний розвиток, можуть бути використані в педіатрії та неонатології. та патологічній анатомії, можуть бути використані при діагностиці перинатального ураження і впливу гіпоксії на нервову систему плода. Результати дослідження також можуть бути корисними при розробці нових препаратів для фармакологічної корекції порушень нервової системи, що виникають в результаті пренатальної гіпоксії. Отримані факти можуть бути використані при викладанні курсів анатомії, гістології, цитології та ембріології, патологічної анатомії, неврології, нервових хвороб та в спеціалізованих лабораторіях науково-дослідних інститутів.

**Перелік ключових слів:** ГОЛОВНИЙ МОЗОК, СЕНСОМОТОРНА КОРА ГОЛОВНОГО МОЗКУ, НЕЙРОНИ, ПРЕНАТАЛЬНА ГІПОКСІЯ

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

CASP3		каспаза 3
HIF-1	–	hypoxia inducible factor – фактор індукований гіпоксією
HSF		heat shock factors – фактор теплового шоку
HSP	–	heat shock proteins – білки теплового шоку
Ki-67		антиген Kiel 67, маркер проліферації
ГАМК	–	гамааміномасляна кислота

## ЗМІСТ

Список умовних скорочень	5
Вступ	7
РОЗДІЛ 1. Сучасне уявлення про структурно-функціональні особливості сенсомоторної кори головного мозку	
1.1. Сучасний погляд на будову сенсомоторної кори головного мозку щурів	10
1.2. Особливості розвитку сенсомоторної кори головного мозку у щурів	15
1.3. Вплив гіпоксії на гістогенез сенсомоторної кори головного мозку	17
РОЗДІЛ 2. Матеріали та методи дослідження	21
РОЗДІЛ 3. Результати дослідження	
3.1. Розвиток сенсомоторної кори головного мозку щурів у ранньому постнатальному періоді онтогенезу	24
3.2. Морфофункціональні особливості змін у сенсомоторній корі головного мозку щурів у ранньому постнатальному періоді онтогенезу після пренатальної гіпоксії	30
РОЗДІЛ 4. Обговорення результатів дослідження	41
Висновки	49
Список використаної літератури	51

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Внутрішньоутробний розвиток та період новонародженості визначає майбутнє здоров'я та якість життя людини. Пренатальна гіпоксія є основною причиною виникнення патологій центральної нервової системи та смертності новонароджених [1,2].

У структурі смертності новонароджених гіпоксія посідає друге місце після недоношеності. Від 60 до 80% всіх захворювань центральної нервової системи дитячого віку пов'язані з пренатальною гіпоксією [3]. Згідно з літературою, приблизно 23% дитячої смертності по всьому світу (0,7-1,2 мільйона дітей на рік) є результатом пренатальної гіпоксії, що призводить до інвалідності у 0,5 мільйона дітей [1, 3, 4].

Гіпосичні порушення системи цереброваскулярного кровообігу та механізму ауторегуляції, метаболічна катастрофа, ініційована дефіцитом кисню лежать в основі гіпоксично-ішемічних уражень головного мозку новонароджених. В результаті дії гіпоксії відбувається накопичення продуктів спотвореного метаболізму, які безпосередньо завдають шкоди мозку [2, 5].

Пошук нових методів фармакологічної корекції уражень нервової системи після впливу пренатальної гіпоксії є пріоритетним завданням науково-практичних досліджень. Для цього необхідно розуміти механізми порушень у нервовій системі, що розвивається, та закономірності морфологічних змін у нервовій тканині, ураженій дією пренатальної гіпоксії.

Відомо, що відділи кінцевого мозку, які є центрами реалізації когнітивних функцій, є найбільш вразливими при патогенезі гіпоксичних порушень ембріонального розвитку. Не тільки вагомі порушення у розвитку, а навіть незначні негативні впливи в критичні моменти розвитку мозку, після народження, як правило, не компенсуються повністю. Морфофункціональні зміни нейронів кори головного мозку під час їх розвитку можуть привести до порушень процесів навчання та пам'яті. Багато питань, що стосуються факторів розвитку структур сенсомоторної кори, структурних і

функціональних змін у них під дією негативних чинників в пренатальний період онтогенезу, є дискутабельними. Відсутність у роботах єдиного погляду на генез структурно-функціональних перебудов в структурах мозку в ході онтогенетичного розвитку організму при впливі пренатальної гіпоксії свідчить про те, що це питання має потребу в ретельному вивченні і є актуальним як для теоретичної, так і для практичної біології і медицини.

**Мета роботи:** з'ясувати морфофункціональні особливості сенсомоторної кори щурів в ранньому постнатальному періоді онтогенезу після дії хронічної пренатальної гіпоксії.

**Задачі роботи:**

1. Вивчити розвиток сенсомоторної кори щурів ранньому постнатальному періоді онтогенезу.

2. Встановити особливості експресії Кі 67 і каспази 3 в сенсомоторній корі щурів у ранньому постнатальному періоді онтогенезу.

3. Виявити морфологічні особливості сенсомоторної кори в ранньому постнатальному періоді онтогенезу щурів, які перенесли пренатальний гіпоксичний вплив.

4. Встановити особливості експресії Кі 67 і каспази 3 в сенсомоторній корі щурів у ранньому постнатальному періоді онтогенезу після дії хронічної пренатальної гіпоксії.

**Методи дослідження:** гістологічні, гістохімічні, морфометричні, статистичні.

**Об'єкт дослідження:** закономірності будови сенсомоторної кори щурів у ранньому постнатальному періоді онтогенезу після дії хронічної пренатальної гіпоксії.

**Предмет дослідження:** адаптивна морфологія сенсомоторної кори у ранньому постнатальному періоді онтогенезу.

**Методи дослідження:**

- гістологічні – описова морфологія,



- імуногістохімічні – імуногістохімічне вивчення експресії Ki 67 і каспази 3,
- морфометричні - для визначення товщини шарів, площі нейронів гіпокампу,
- статистичні - методи варіаційної статистики.

**Одержані результати та їх новизна:** Отримані в результаті дослідження дані про морфофункціональні зміни у сенсомоторній корі щурів в ранньому постнатальному періоді онтогенезу після дії хронічної пренатальної гіпоксії., можуть розглядатися як морфологічна основа розуміння механізмів впливу гіпоксії на формування мозку у пренатальний період розвитку. Уточнено наявне уявлення, що тривалий гіпоксичний вплив, що збігається в часі з періодом активної проліферації та міграції клітин мозку, викликає значні зміни у складі та архітектоніці нервової тканини сенсомоторної кори щурів під час раннього постнатального онтогенезу. Вперше були виявлені особливості експресії Ki-67 та каспази-3 в сенсомоторній корі щурів у ранньому постнатальному онтогенезі, обтяженому пренатальним впливом хронічної гіпоксії.

**Результати досліджень можуть бути застосовані:** Отримані результати про морфофункціональні зміни в сенсомоторній корі головного мозку під час впливу пренатальної гіпоксії доповнюють уявлення про вплив негативних чинників на внутрішньоутробний розвиток, можуть бути використані в педіатрії та неонатології. та патологічній анатомії, можуть бути використані при діагностиці перинатального ураження і впливу гіпоксії на нервову систему плода. Результати дослідження також можуть бути корисними при розробці нових препаратів для фармакологічної корекції порушень нервової системи, що виникають в результаті пренатальної гіпоксії. Отримані факти можуть бути використані при викладанні курсів анатомії, гістології, цитології та ембріології, патологічної анатомії, неврології, нервових хвороб та в спеціалізованих лабораторіях науково-дослідних інститутів.

## РОЗДІЛ 1

### СУЧАСНЕ УЯВЛЕННЯ ПРО СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ СЕНСОМОТОРНОЇ КОРИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

#### 1.1. Сучасний погляд на будову сенсомоторної кори головного мозку щурів.

Сенсомоторна зона кори головного мозку щурів є об'єктом інтенсивного дослідження в таких галузях як нейрофізіологія і нейрохірургія [6-8]. Головний мозок щурів, аналогічно до людей, має кору, яка відповідає за сприйняття і регулювання рухової активності. Головні компоненти цієї кори включають сенсорну кору, яка приймає і аналізує сенсорні сигнали, і моторну кору, яка контролює виконання рухів тіла [9].

Сенсорна кора розділена на різні зони, кожна з яких спеціалізується на обробці конкретних типів сенсорних інформацій, таких як зорова, слухова та дотикова. Моторна кора, особливо предцентральна гірка, відповідає за ініціювання та контроль рухів. Ці структури мають складну організацію, і вчені постійно досліджують їхню точну будову та функціональні характеристики, використовуючи різані методи дослідження, такі як електрофізіологія та образне мозкове сканування [6-9]. Ці дослідження допомагають розширити розуміння того, як працює сенсомоторна кора у щурів і інших видів організмів.

Пошкодження сенсомоторної зони кори головного мозку у щурів може призвести до різних результатів, схожих на ті, що відзначаються у людей і інших тварин. Основним результатом може виступати втрата сенсорних здібностей через те, що йде втрата спроможності на сприйняття і обробку сенсорних сигналів. Це веде до втрати відчуттів, наприклад дотику або до болі чи температури [10]. Може бути парез (ослаблення м'язів) або параліч (втрата здатності до руху). Серед порушень, які викликані пошкодженням сенсомоторної зони кори головного мозку- порушення сприйняття простору

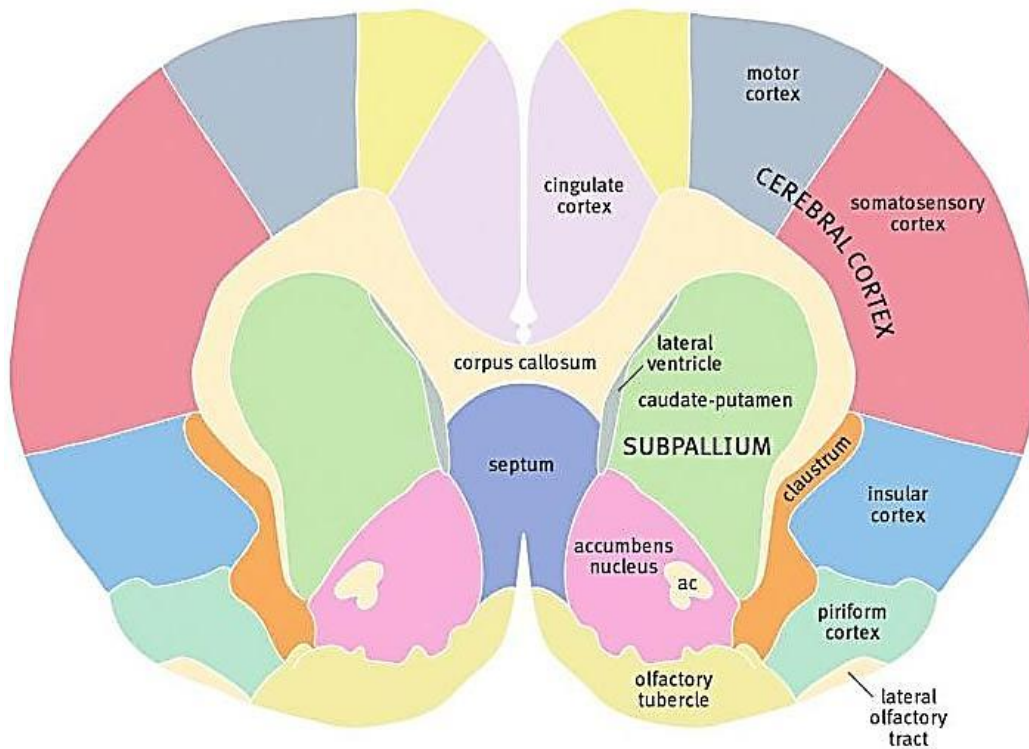
та координачії рухів. Постраждання кори може впливати і на когнітивні функції, такі як пам'ять, увага та прийняття рішень [11].

Лабораторний щур (*Rattus norvegicus* L.) належить до виду підродини Murinae сімейства Muridae підряду Myomorpha ряду Rodentia і є плацентарним ссавцем. У порівнянні з приматами, щури є незрілонароджуючими, тому формування їхнього головного мозку триває протягом раннього постнатального онтогенезу. У неволі тривалість життя щурів становить 2,5-3,5 років. Головний мозок дорослого щура важить близько 1,8 грама при масі тіла 250 грам. Вагітність у щурів триває приблизно 21-23 дні, і зазвичай розмір виводку коливається від 3 до 18 щурят. Новонароджені щурята важать приблизно 5-6 грамів. Їхні очі відкриваються на 10-14 день після народження, а слухові проходи формуються на 12-14 день. Волосяний покрив у щурят формується на 8-9 день життя, і вони починають самостійно харчуватися на 11-14 день. Статевозрілість настає на  $50 \pm 10$  день постнатального онтогенезу, але тварина вважається повністю дорослою близько кінця третього місяця життя [12].

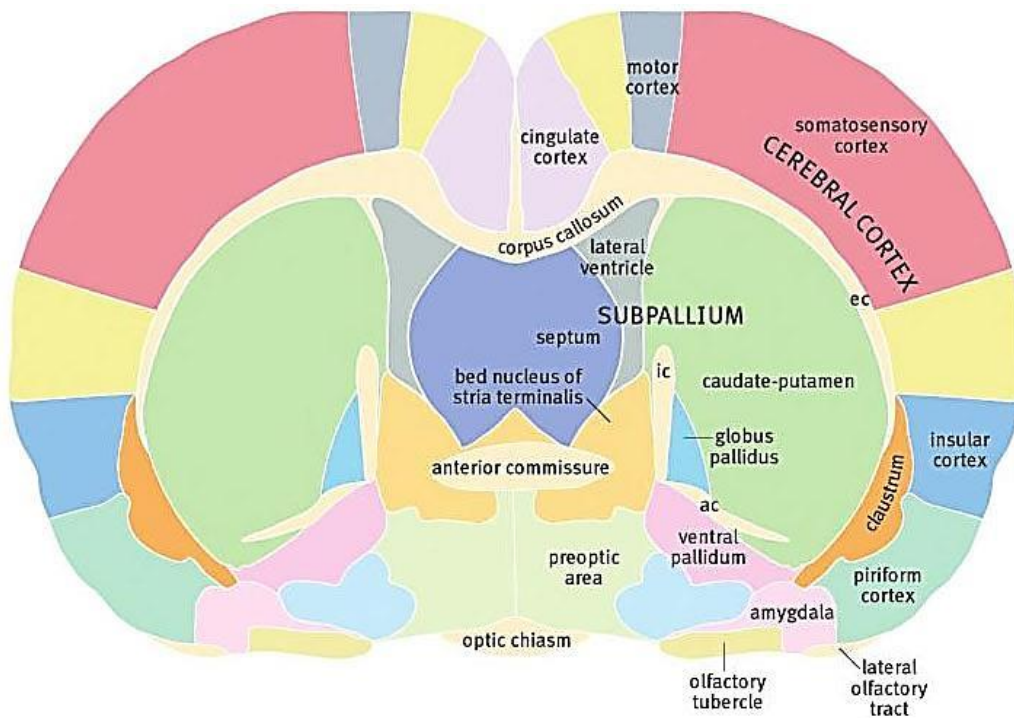
Кора головного мозку щурів має схожість із структурою кори мозку людини. Розміщена вона у щурів на поверхні мозку і конструюється із різних областей, відповідальних за різні функції. Це пояснюється тим, що багатий набір нейронів і синапсів, що відповідають за обробку інформації [11, 13] (Рис. 1.1.1).

Соматосенсорна кора займає значну частину передньої кори і отримує інформацію від соматичних аналізаторів. Відома пошарова організація кори, що складається з 6 шарів [14].

Перший молекулярний шар є мережею аксонних терміналей і розгалужень дендритів нижчих шарів, де формуються синаптичні контакти. Щільність синапсів у цьому шарі вища, ніж у нижчих шарах, і постнатальному онтогенезі у щурів клітини у цьому шарі зустрічаються рідко, а у дорослих тварин практично відсутні.



A



Б

Рис.1.1.1. Розташування сомато-сенсорної кори на схемі фронтальних зрізів головного мозку щура. А – на ростральному кінці мозолистого тіла, Б – на рівні передньої спайки (Paxinos G., 2007)

Зовнішній гранулярний (II-й шар) та зовнішній пірамідний (III-й) шари сенсомоторної кори щура важко розмежувати чітко, оскільки радіальні тяжі клітин, що проходять через шари II та III, безперервні. Обидва шари містять як малі пірамідні, так і непірамідні нейрони, причому перші переважають. У ранньому постнатальному онтогенезі II і III шари мають найвищу щільність клітин.

У IV шарі (внутрішній гранулярний) переважають непірамідні нейрони різних форм та розмірів. Проекційні та асоціативні ядра таламуса є основним джерелом аферентації цього шару. IV шар також характеризується високою щільністю синапсів, утворених переважно таламо-кортикальними волокнами.

У п'ятому шарі (внутрішній пірамідний) містяться великі, дрібні та середні пірамідні нейрони. Аксони великих пірамідних нейронів формують пірамідний руховий тракт, їх аксони можуть подовжуватися в різні відділи головного мозку.

Клітини поліморфного шару (VI шар) мають різноманітні форми і розміри, їхні аксони закінчуються у різних відділах мозку, включаючи ядра таламуса, беручи участь у зворотних зв'язках.

Шари II і III є "асоціативними", шар IV - "сенсорним", а шари V та VI - "моторними". Горизонтальна впорядкованість нової кори проявляється значно пізніше, ніж вертикальна організація, і процес "розшарування" кортикальної платівки у незрілих тварин може продовжуватись у ранньому постнатальному онтогенезі.

Соматосенсорна кора характеризується гранулярним типом будови, в якому добре розвинені II та IV шари. Вона включає первинну і вторинну соматосенсорну кору, і тісно асоційована з моторною корою. Відповідаючи за прийом та обробку сигналів від шкірних рецепторів, соматосенсорна кора реагує на зовнішні стимули, такі як дотик, температура та біль [10]. Згідно з літературними джерелами [7,11], I шар кори містять численні астроцити з широко розгалуженими відростками. Мієлоархітектоніка виявляє значне скупчення волокон у глибоких шарах (V і-VI шари), а перших трьох шарах

волокон істотно менше. У молекулярному, зовнішньому гранулярному та пірамідному шарах відзначається підвищена концентрація гліальних компонентів, а внутрішній гранулярний, гангліонарний та мультиформний шари характеризуються помірними значеннями цього показника.

Дослідження останніх років показують наявність нейронів, що мають вирішальне значення для генерації гамма-ритмів, розподілених за всіма рівнями та шарами первинної соматосенсорної кори. Найбільша їхня концентрація спостерігається в поліморфному шарі, де їх відростки сприяють формуванню дендро-дендритних контактів. Також було продемонстровано, що первинна соматосенсорна кора щурів передає сигнали в таламічні структури та спинний мозок, а дисгранулярна зона посиляє імпульси у стріатум [15].

Таким чином, соматосенсорна кора отримує сигнали від усієї поверхні шкіри через різні рецептори та бере участь у складних процесах структурних взаємодій між різними ділянками кори та підкірковими структурами.

## **1.2 Особливості розвитку кори головного мозку у щурів**

Мозок щура при народженні менш зрілий, ніж у приматів, і приймає швидкий розвиток протягом раннього періоду постнатального онтогенезу. За деякими авторами, рівень зрілості нервової тканини у мозку 10-денного щура схожий на рівень у новонароденої людини [12].

Тканина диференціація нейроектодерми у період ембріонального розвитку у наземних хребетних включає формування цієї тканини через різноманітні процеси. Починаючи з нейральної трубки, яка створює свою конфігурацію з нейральної пластини, клітини диференціюються у нейроепітелій. Цей нейроепітелій подальше перетворюється у нейральні і гліальні клітини через процеси нейрогенезу. Переходження цих клітин до їхніх призначених місць у формуванні нейральної тканини має вирішальний вплив на визначення структури мозку. Подальший розвиток передбачає

арборизацію вирослих аксонів та встановлення синапсів між нейронами, утворюючи складні нейронні мережі [8, 16].

За даними чисельних досліджень, нейрогенез в корі головного мозку щурів розпочинається приблизно на початку ембріонального періоду та триває протягом перших стадій розвитку ембріона, охоплюючи перші тижні та місяці ембріонального розвитку.

Mc Pwain (1962) базуючись на розподілі клітин кори, її товщини, об'єму та рівня мієлінізації виділив чотири періоди у розвитку в онтогенезі кори головного мозку щурів [14]:

I період відповідає антенатальному періоду розвитку. Він характеризується активною проліферацією клітинних елементів. В пренатальному періоді в основі кори утворюється вентрикулярна пластинка з неро- и гліобластами, що активно поділяються. Нові клітини мігрують в поверхневі шари майбутньої кори. До народження кора містить недиференційовані нейрони, немає чітких границь між шарами клітин і залишається вентрикулярна пластинка.

II період відбувається в перші 10 днів після народження. Цей період характеризується ростом клітин, появою в цитоплазмі нейронів хроматофінної субстанції, збільшенням кількості їхніх відростків, активними процесами диференціювання.

III період (з 11 по 20 добу життя). В цей період цитоархітектоніка кори стає більш чіткою, шари клітин набувають ознак дорослої будови. Суттєво зменшується щільність клітин в усіх шарах кори, ускладнюються міжнеуронні зв'язки за рахунок утворення нових дендритів, починається процес мієлінізації.

IV період (з 20 по 30 добу життя) характеризується уповільненням процесів збільшення товщини кори та маси мозку у цілому. Цей період відрізняється активними процесами мієлінізації.

Рост головного мозку щурів завершується до 90 доби, що відповідає характеристикам дорослої особини по фізіологічним показникам [17] (Рис. 1.2.1).

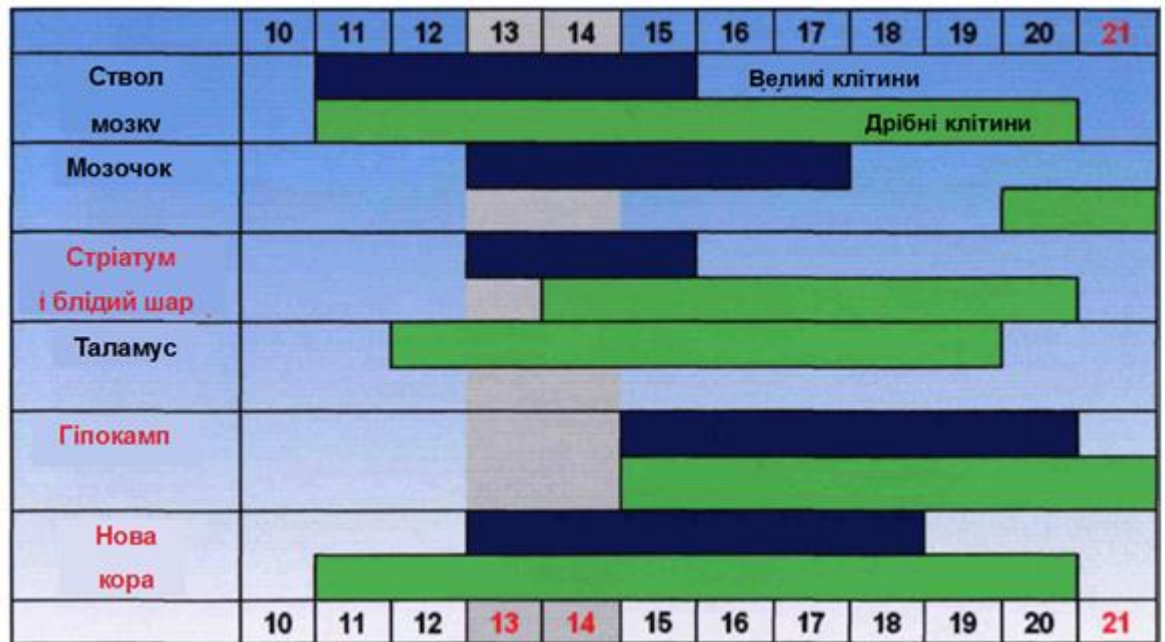


Рис. 1.2.1. Схема періодів інтенсивної проліферації та міграції нейробластів у різних відділах головного мозку у щурів у період ембріонального розвитку. Періоди утворення різних нейронних популяцій (синій - великі нейрони, зелений - дрібні) деяких відділах мозку не збігаються у часі. E21 – народження тварини (*Fentress et al., 2011*).

В усі періоди постнатального розвитку в корі відбуваються активні процеси синаптогенезу. Це перебіг у розвитку нервової системи, який включає утворення та утримання синапсів, або міжнейронних з'єднань, між нейронних з'єднань, між нейронами. Цей процес визначає ефективність передачі сигналів в нервовій системі і впливає на її структуру та функціональність. Під час синаптогенезу, зростаючі відростки (аксони) нейронів встановлюють контакт із зазначеними ділянками (дендритами). Цей контакт конструює міжнейронну контактну точку, яка складається з пресинаптичної кінцівки, шпори та постсинаптичної мембрани. Процес



містить в собі взаємодію різних молекул та сигнальних шляхів, щоб визначити місце стику та забезпечити точність передачі інформації [8, 15, 18, 19].

### **1.3 Вплив гіпоксії на гістогенез сенсомоторної кори головного мозку**

В останніх наукових дослідженнях увага приділяється впливу гіпоксії на кору головного мозку [4, 20, 21]. Докладні дані про вплив гіпоксії на розвиток клітин кори головного мозку є дуже обмеженими. Сучасні відомості підтверджують, що ключові фактори порушень при пренатальній гіпоксії включають ексайтотоксичність, окислювальний стрес та запалення.

Відомо про дефекти в генетичній програмі, а саме як впливає гіпоксія, викликаючи зміни в експресії генів. Ці гени, зі свого боку, відповідають за диференціацію клітин [22].

Феномен ексайтотоксичності виявляється надмірним виділенням ексайтаторних нейротрансмітерів, зокрема глутамату, спричинює шкідливий вплив на нейрони. А це у свою чергу призводить до їхнього ушкодження або відмирання [23].

На постсинаптичній мембрані є мембрани такі як NMDA (N-метил-D-аспартат) та non-NMDA (AMPA та кайнатні) рецептори, які призводяться до активації глутамат-залежних рецепторів глутаматом. NMDA рецептори є менш проникливими для кальцію, а non-NMDA-рецептори мають меншу схильність до блокування магнієм. Але їх функціонування також може бути регульоване іншими процесами. Підвищені рівні кальцію можуть запустити різноманітні сигнальні маршрути та каскади, включаючи включення ендогуклеаз, активацію протеаз та інших факторів, які сприяють клітинній смерті. Мітохондріальна дисфункція виникає у наслідок збільшення внутрішньоклітинного кальцію, що в результаті може викликати збільшену продукцію реактивних кисневих видів та до подальшого ушкодження клітинних компонентів [23, 24].

У результаті високого вмісту кальцію та утворення реактивних кисневих видів у клітині відбувається окислювальних процес. Це може мати посилювальний ефект на пошкодження структур клітини та сприяти їхньому відмиранню. Програмована клітинна смерть активується при збільшенні кальцію або навіть може дійти до некрозу [25].

Глутаматна ексайтотоксичність призводить до нітрозуючого стресу. Токсичні побічні продукти метаболізму оксиду азоту, що утворюється в клітинах за допомогою NO-синтетази, поряд з реактивними формами кисню, зв'язуються з важливими макромолекулами і ушкоджують клітини [26].

Окислювальний стрес викликається надмірним рівнем вільних радикалів, які виникають в результаті окислювальних реакцій, що відбуваються в організмі. Це призводить до перекисного окислення ліпідів мембран і, надалі, до загибелі клітини. Гіперпродукція активних форм кисню в процесі окисного метаболізму призводить і до модифікації ДНК, експресії і синтезу білків, в тому числі c-fos, які викликають апоптоз [27].

Запалення є основним компонентом ушкоджень нервової тканини при гіпоксії. Встановлено, що при гіпоксії клітини мікроглії активуються і мігрують в пошкоджені області. Вони виробляють запальні цитокіни, глутамат, оксид азоту і вільні радикали. В процесі запалення приймають участь і астроцити, знижуючи або порушуючи функції гематоенцефалічного бар'єру, що в підсумку призводить до пошкодження нейронів [28].

Молекулярні дослідження наслідків гіпоксії у новонароджених показали, що пошкодження мозку новонароджених докорінно відрізняються від пошкоджень нервової тканини в результаті ішемії у дорослих [22, 28].

Мозок новонародженого складається з клітин, які продовжують процес диференціювання і утворення міжнейронних зв'язків. У мозку новонароджених, що розвивається, ще присутня вентрикулярна гермінативна зона з проліферуючими нейробластами.

Молоді і недиференційовані клітини більш схильні до дії пошкоджуючих агентів, ніж зрілі клітини [29, 30].

У ряді робіт відзначені різні концентрації і дії сигнальних молекул в мозку, який розвивається, в тому числі caspase-3 і HIF-1.

Нервові клітини мають здатність адаптуватися до змін діючих на них хімічних і фізичних факторів. Ендогенна нейропротекція та нейропластичність містять в собі короткочасні і довготривалі реакції, що призводять до підвищення стійкості нервової тканини до пошкодження різної природи та відновлення функцій після порушень, викликаних будь-якими агентами [31].

Адаптація нейронів до гіпоксії на клітинному і субклітинному рівнях контролюється насамперед специфічним транскрипційним фактором, індукованим при гіпоксії у всіх тканинах (HIF-1 - hypoxia inducible factor). Кінцевим результатом активації HIF-1 є збільшення надходження O<sub>2</sub> в клітину [28,31].

Однією з первинних реакцій геному клітин у відповідь на гіпоксичний стрес є індукція білка теплового шоку - Heat shock proteins (Hsp). Вплив Hsp на стабілізацію індукуюваного гіпоксією фактора - Hypoxia-inducible factor (Hif-1 $\beta$ ) забезпечує активацію процесів проліферації, апоптозу, ангіогенезу в умовах ішемії [26,28,31].

Різноманітні хімічні субстрати взаємодіючих механізмів демонструють молекулярну складність пренатального пошкодження мозку після дії гіпоксії.

Зміни кількісних параметрів клітинного складу та структури головного мозку при гіпоксії можна умовно поділити на дві групи: макроскопічні та мікроскопічні характеристики. Відомо, що досить суттєва гіпоксична дія здатна викликати зменшення загальних розмірів відділів головного мозку, зменшення товщини шарів кортексу тварини після гіпоксичного впливу. Зміни кількісних характеристик клітин нервової тканини тварин, що зазнали гіпоксії, вивчалися неодноразово. Більшість авторів описують зниження щільності розташування клітин у гіпокампі, стріатумі та неокортексі, викликане загибеллю нейронів внаслідок дії гіпоксичного впливу [26, 28].

Гліальна реакція характеризується зростанням щільності розташування гліальних клітин у результаті активації астроцитів та мікроглії. Було показано, що у разі гіпоксичного впливу може відбуватися активація мітотичного поділу в субвентрикулярній зоні неокортексу і зубчастої звивини гіпокампа. Вважається, що ця проліферація може заповнювати елімінацію частини клітинного матеріалу кортикальних структур в результаті нейродегенеративних процесів [25]. Однак питання про достатність активації проліферації нечисельних клітин-попередників у сформованому мозку дорослої тварини для помітної компенсації як і раніше є відкритим.

Питання механізмів загибелі клітин після пренатального гіпоксичного впливу на даний момент не вирішено. Передбачається, що роль каспаз-залежного апоптозу може бути визначальною [26, 32].

Таким чином, механізми морфофункціональних змін нервової тканини після гіпоксичного впливу є надзвичайно складними, і, незважаючи на велику кількість накопиченого експериментального матеріалу, багато аспектів цієї проблеми (механізми та динаміка кількісних змін складу тканини, гліальні реакції, механізми загибелі клітин) залишаються дискутабельними.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.

Розвиток сенсомоторної кори щурів у ранньому постнатальному онтогенезі в нормі і при впливі пренатальної гіпоксії досліджувався в експерименті. Матеріалом для даного дослідження послужив головний мозок білих щурів лінії Вістар з 1-ї по 60-у доби життя.

Дослідження проведене на потомстві самиць білих лабораторних щурів, що були отримані із розплідника Об'єднання ветеринарної медицини ПП «Біомодельсервіс», м. Київ. Акліматизація (карантин) – 7 днів перед початком експерименту. Щури перебували у акрилових клітках, об'ємом 300 см<sup>3</sup>, не більше ніж 4-5 особин у клітці, при вільному доступі до води та їжі. Тварини перебували при температурі повітря 20-25 °С. Тривалість світлового дня становила з 7-00 до 19-00 години. При роботі із тваринами було з дотримано "Міжнародних рекомендацій для проведення медико-біологічних досліджень з використанням тварин". Також дотримувались основних положень «Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин», затверджених указом МОЗ України №753 від 12 серпня 1997 р., Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових задач (Страсбург, 18.03.1986), Указу МОЗ України № 281 від 01.11.2000 р. «Про заходи по подальшому удосконаленню організаційних норм роботи з використанням експериментальних тварин» і Закону України № 3447- IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (від 21.02.2006 № 3447-IV, редакція від 09.12.2015, підстава 766-19).

Самок та самців утримували у клітці у співвідношенні 4 : 1. Перший день вагітності підтверджували наявністю сперматозоїдів у піхвовому мазку самки. Самок, відібраних для експерименту, відсаджували окремо після 14-ої доби вагітності і надалі утримували в аналогічних умовах. Пологи наставали на 21-23-тю добу вагітності, протікали без особливостей. Кількість тварин у посліді від 3 до 8.

У роботі використали модель хронічної гемічної нітрит-індукованої пренатальної гіпоксії [33]. Моделювання гемічної гіпоксії здійснювали в пренатальному періоді розвитку шляхом введення внутрішньочеревно вагітним самкам щурів розчину нітриту натрію щодня з 16-го по 21-й день вагітності в дозі 50 мг/кг (доза, що викликає гіпоксію середньої тяжкості) [34]. Для контролю вагітним самкам вводили фізіологічний розчин у такому ж об'ємі.

Потомство було поділено на групи: I – здорові тварини, отримані від самок із нормальною фізіологічною вагітністю, яким вводили фізіологічний розчин; II- група щурів, після моделювання ПГ. Матеріал для гістологічного дослідження забирався на 1, 30 та 60 доби життя.

Для гістологічного, гістохімічного і цитохімічного досліджень мозок фіксували в рідині Буена чи 10% нейтральному формаліні. Фіксований матеріал збезводнювали в батареї висхідних спиртів, починаючи з 40%. Як проміжне середовище використовували хлороформ. Шматочки заливали в у парафін ( $t^{\circ}$  плавлення 52,5-53,5 $^{\circ}$  C). З блоків виготовлялися серійні зрізи товщиною 4-5 мкм за загальноприйнятою методикою Э. Пірса (1962). Для оглядового гістологічного і морфометричного досліджень використовували забарвлення: гематоксилін і еозин, толуїдиновий синій за Нісслем. Толуїдиновий синій є основним барвником, він неспецифічно забарвлює рибонуклеопроїди в цитоплазмі клітини, практично не забарвлюючи її відростків. Цей барвник забарвлює всі клітини, а тому дозволяє досліджувати зміни загальної кількості клітин. Крім того, даний метод фарбування дозволяє спостерігати внутрішньоклітинну структуру, зміну тургору, лізис та перерозподіл цитоплазматичних органел.

Імуногістохімічні методи дослідження.

Використовували первинні поліклональні антитіла anti-Ki-67 Polyclonal Antibody (Thermo Fisher Scientific, Rabbit / IgG розведення 1:100), поліклональні антитіла anti-caspase-3 (Caspase 3 Polyclonal Antibody (Thermo Fisher Scientific, Rabbit / IgG розведення 1:200) та вторинні поліклональні

антитіла (Goat anti-Rabbit IgG (H+L) Secondary Antibody, HRP (Thermo Fisher Scientific, розведення 1:1000) для виявлення у нейронах наступних специфічних білків: Ki-67 маркер проліферації нейронів, відсутній в G0 періоді інтерфази митозу (маркер, асоційований з транскрипцією p-PHK), білок CASP3 належить до цистеїнових протеаз, каскадна активація каспаз відіграє головну роль у механізмах клітинного апоптозу [35-37].

Мікроскопічні морфометричні дослідження проводили за допомогою мікроскопу „Primo Star iLED” з відеосистемою „AXIOLAB”, комп’ютерних програм ZEISS ZEN 3.5 (blue edition) (Carl Zeiss Microscopy), QuPath v0.5.0 [38].

Визначалися такі морфологічні показники:

1. Товщина всієї кори.
2. Товщина кожного шару кори.
3. Щільність розташування нейронів.
4. Площа перикаріона пірамідних нейронів V шару кори.
5. Кількість нейронів, що дегенерують (при фарбуванні по Нісслю).
6. Кількість мічених нейронів при імуногістохімічному виявленні Ki-67 та CASP3.

Обробка отриманих даних та аналіз результатів дослідження проводилися на персональному комп’ютері в операційному середовищі Windows 10 за допомогою програми Excel (Microsoft Office, USA), ліцензійного статистичного пакету «Statistica for Windows 6.0» (StatSoftInc., №AXXR712D833214FAN5). Для всіх показників оцінювали характер розподілу ознаки, розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M) і похибки арифметичної середньої (m) і стандартне квадратичне відхилення ( $\sigma$ ). При порівнянні даних при нормальному розподілі ознак використовували параметричний t-критерій Стьюдента ( $p < 0,05$ ), в інших випадках достовірність різниці визначали за допомогою U-критерію Мана-Уїтні. Для аналізу кореляції між параметрами використовувався кореляційний аналіз на основі коефіцієнта кореляції Пірсона або Спірмена [39].

## РОЗДІЛ 3

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 3.1. Розвиток сенсомоторної кори щурів у ранньому постнатальному періоді онтогенезу.

При дослідженні показників раннього постнатального розвитку щурят інтактної групи встановлено, що маса мозку у новонароджених тварин складає  $0,27 \pm 0,02$  г, а відносно до маси тіла  $41,15 \pm 0,44$  мг/г. Протягом першого місяця життя абсолютна маса мозку збільшується у 5,6 раза, а відносна зменшується у 2,7 раза. К кінцю другого місяця життя ріст маси мозку уповільнюється: абсолютна маса зростає на 14,6%, а відносна знижується у 2 раза. Наведена динаміка демонструє, що найбільш активні процеси росту мозку в постнатальному періоді відбуваються протягом першого місяця життя.

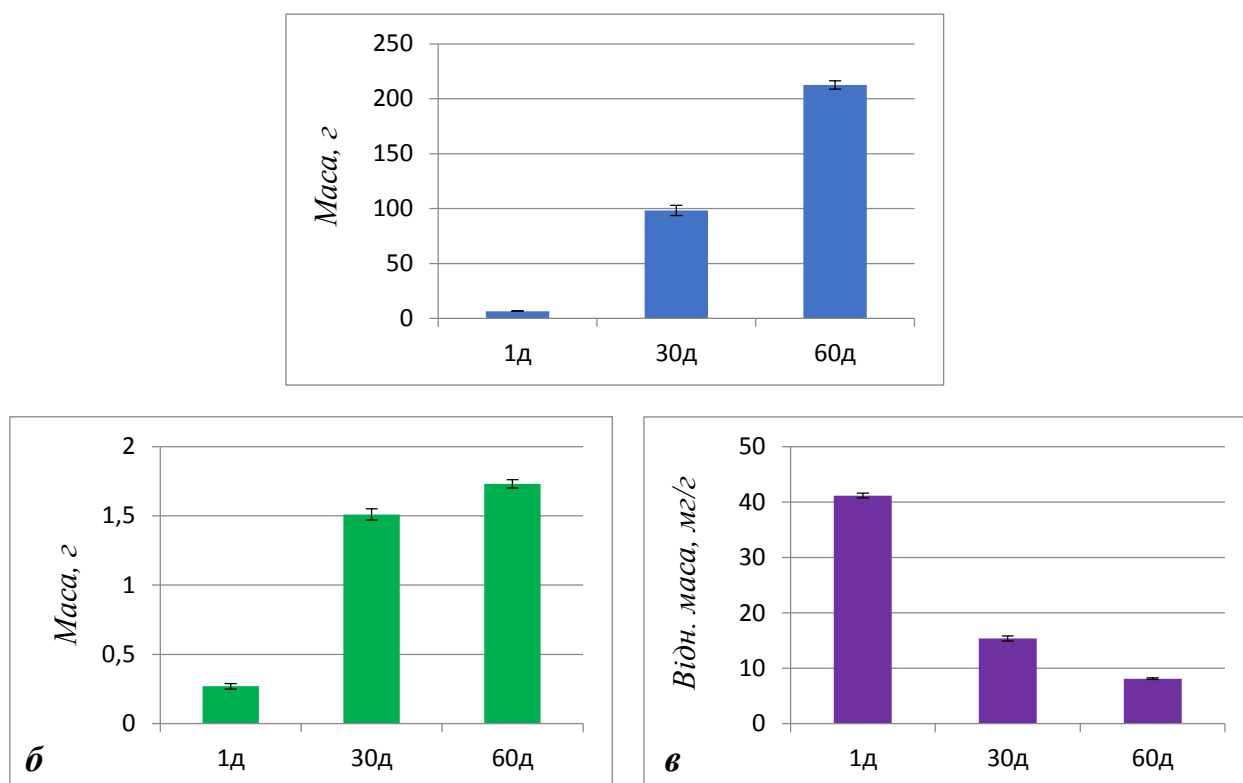


Рис. 3.1.1. Показники маси тіла (а), абсолютної (б) та відносної (в) маси мозку щурів у ранньому постнатальному онтогенезі .



Морфометричне вивчення динаміки товщини сенсомоторної кори щурят показує, що даний показник збільшується протягом першого місяця життя у 3,3 раза, після чого її ріст уповільнюється і до кінця другого місяця відбувається збільшення лише на 4,5%. У новонароджених щурят експериментальної групи товщина кори була на 12% менша у порівнянні з інтактною групою. В наступні періоди динаміка зростання в цілому повторювала характер збільшення товщини кори у інтактних тварин, майже наблизившись до інтактних значень на 30ту добу життя, але у двомісячних тварин різниця по цьому показнику залишалась на рівні 4%.

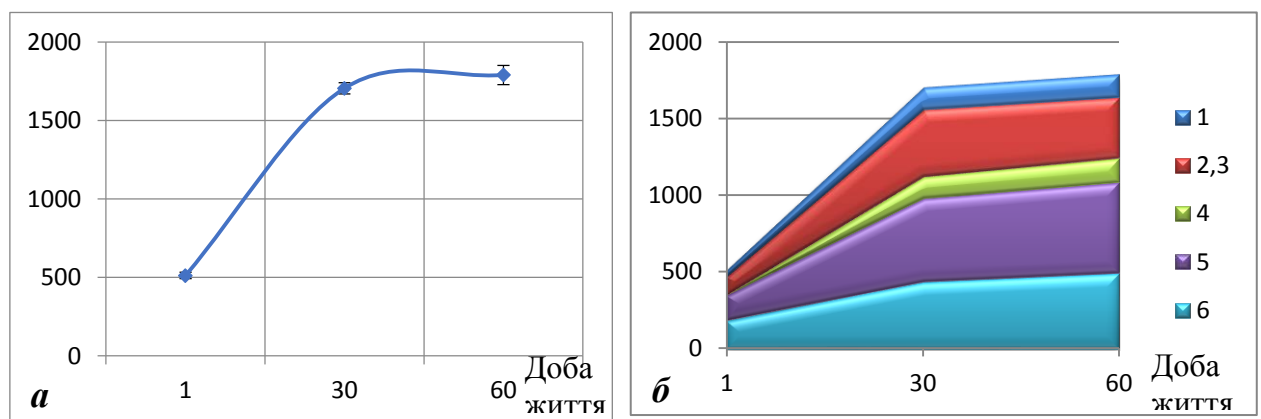


Рис. 3.1.2. Динаміка товщини сенсомоторної кори (а) головного мозку щурів та її шарів (б) у ранньому постнатальному онтогенезі (мкм).

У новонароджених тварин сенсомоторна кора ще не диференційована, що виражається у неповній стратифікації. В ній можна розрізнити I шар клітин (маргінальну зону), комплекс цитоархітектонічних II-V шарів і VI шар поліморфних клітин. Поверхневий I шар кори виділяється на препаратах як зона з мінімальною кількістю клітин, які розташовані на відстані одна від одної. Границя з наступним шаром чітко візуалізується. Кірковий комплекс II-V шарів в кори новонароджених щурят візуально не розрізняється на шари і має високу щільність клітин. Шари клітин в цьому комплексі можна умовно диференціювати тільки за розмірами і формою клітин. Безпосередньо під I-м молекулярним шаром розташовані клітини з площею 30-80 мкм, які

відповідають недиференційованому комплексу II-III шарів (зовнішні зернистий і пірамідний). Під ними у корі знаходяться нейрони більшого розміру (40-120 мкм), які відносяться до V-го шару (гангліонарного). Пірамідні нейрони ще слабо диференційовані, в них при оптичній мікроскопії можна побачити тільки центральні дендрити, а латеральні не візуалізуються. Під цим шаром спостерігаються дрібні і середні за розмірами клітини 30-90 мкм, які утворюють VI шар (поліморфний) і субпластинку. Нервові клітини кори мають великі світлі ядра, мають невеликі скупчення хроматофільної речовини. Більшість клітин мають нечіткі контури з випинаннями. Клітини поверхневих шарів характеризуються незначною кількістю цитоплазми, що на препаратах має вигляд поодиноких ядер. В Недиференційованому клітинному комплексі зустрічаються одиничні клітини з деструктивними змінами і клітини –тіні.

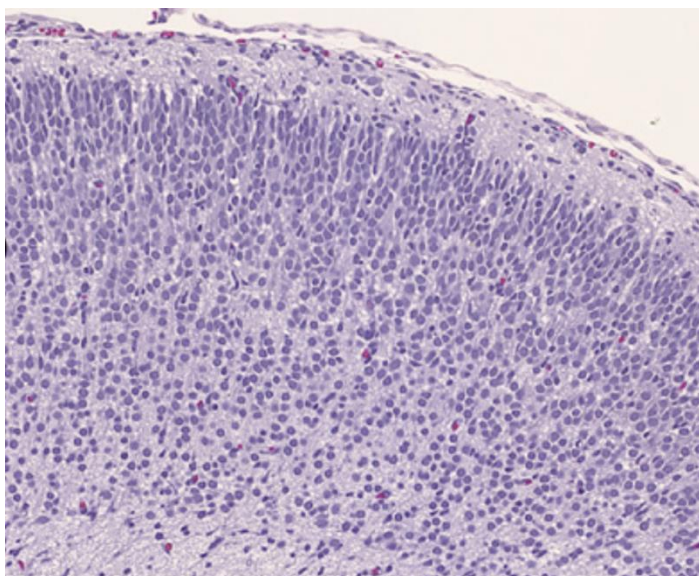


Рис. 3.1.3. Сенсомоторна кора головного мозку новонародженого щура. Гематоксилін і еозин. Зб. 200.

При морфологічному дослідженні шарів сенсомоторної кори щурят інтактною групи на 30ту добу встановлено, що сенсомоторна кора набуває ознак будови, як у дорослих тварин. В корі відбувається стратифікація і диференціюється IV шар клітин (внутрішній зернистий). Майже в 3 рази

зменшується щільність клітин (Рис. 3.1.4). Зі збільшенням товщини кори збільшується і товщина усіх шарів за рахунок росту тіл нейронів (більш ніж у 3,5 раза) і їхніх відростків, а також збільшення кількості гліальних клітин. В корі диференціюються помірно гіперхромні нейрони, а також нейрони з двома ядерцями. В цей період відбувається активна мієлінізація кори.

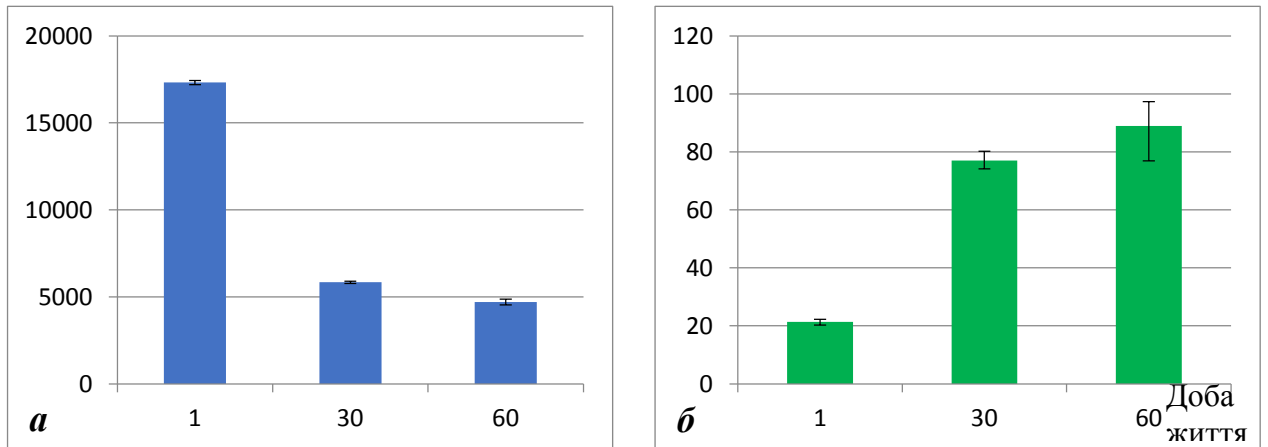


Рис. 3.1.4. Щільність розташування клітин (а) та площі нейронів V шару (б,  $\mu\text{m}^2$ ) у сенсомоторній корі щурів у ранньому постнатальному онтогенезі.

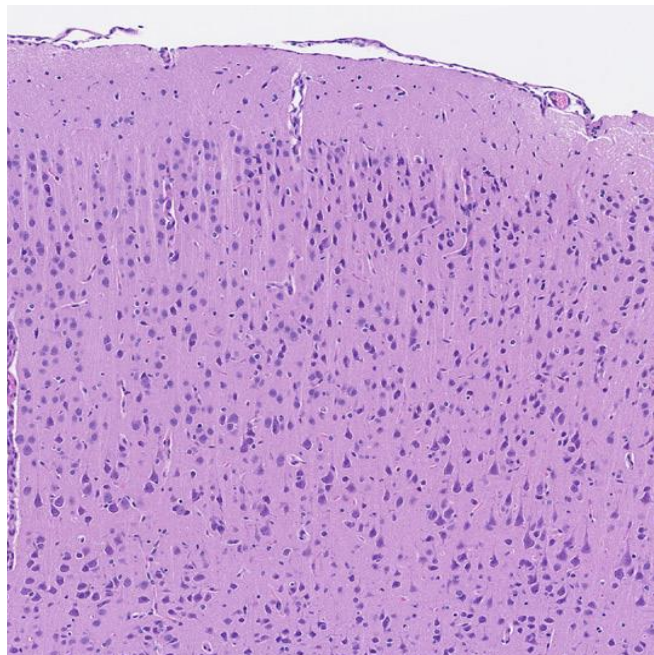
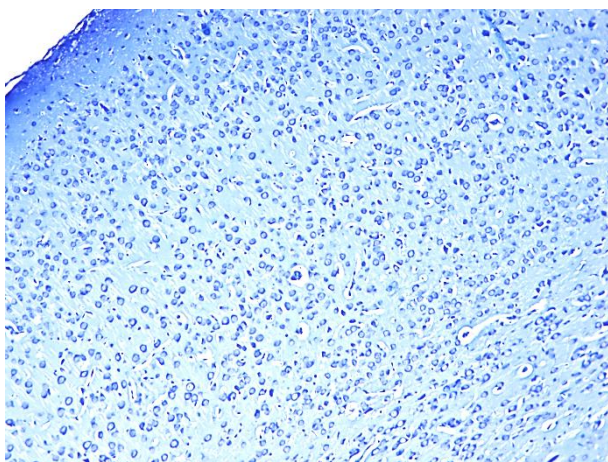
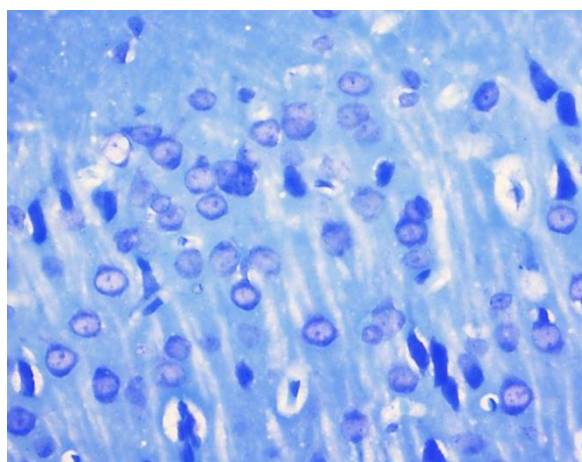


Рис. 3.1.5. Сенсомоторна кора головного мозку щура на 30-ту добу життя. Гематоксилін і еозин. Зб. 200.

Цитоархітектонічна будова сенсомоторної кори у тварин на 60ту добу життя має добре виражену горизонтальну і вертикальну упорядкованість у розташуванні нервових клітин. Уповільнюється збільшення товщини кори і її шарів. Щільність розташування клітин також продовжує знижуватися (на 20% у порівнянні з 30ю добою і у 3,7 раза у порівнянні з новонародженими). Ці зміни також відбуваються завдяки подальшому збільшенню розмірів нейронів, ускладненню нейропілю та формування гліального супроводу.



А



Б

Рис. 3.1.5. Сенсомоторна кора головного мозку щура на 60-ту добу життя. Забарвлення за Нісслем. А -Зб. 40. Б - Зб. 400.

При забарвленні тулоїдіновим синім у корі можна виділити нейрони, що відрізняються різним функціональним станом: нормохромні, гіпохромні (хромофобні) та гіперхромні (хромофільні). В ранньому постнатальному онтогенезі в сенсомоторній корі щурів переважають нормохромні нейрони. Одиначні гіперхромні зморщені клітини виявляються у новонароджених тварин, до 30 добі їх кількість зростає до 13%, а к кінцю другого місяця знижується до 7,73%. Також знижується до кінця 2го місяця кількість клітин-тіней.

Починаючи з 1-ї доби постнатального онтогенезу, у сенсомоторній тканині інтактних щурів були присутні дифузно розташовані нейрони, що дегенерують за типом хроматолізу. Такі клітини зустрічалися поодинокі, ознаки дегенерації спостерігалися у нейронів всіх класів рівною мірою.

Кількість таких клітин прогресивно збільшувалася на 30 добу постнатального онтогенезу, коли відзначалась їх максимальна кількість. На 60-у добу в молекулярному та поліморфному шарах хроматоліз практично був відсутній, а більшість дегенеруючих нейронів розташовувалася в пірамідному шарі (Рис. 3.1.6).

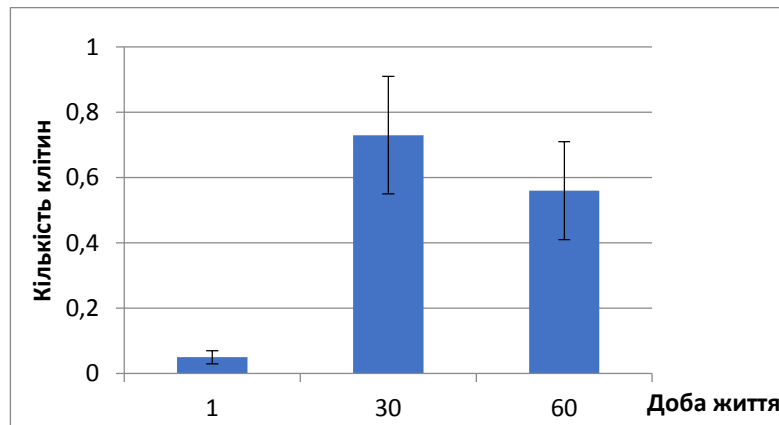


Рис. 3.1.6. Середня кількість дегенеруючих нейронів у сенсомоторній корі щурів у ранньому постнатальному онтогенезі (на площі 0,25 мм<sup>2</sup>).

У сенсомоторній корі інтактних тварин спостерігалися нечисленні дифузно розташовані клітини, що експресують каспазу-3. Частина з позитивних нейронів були великі пірамідні нейрони, що розташовані в V шарі, інша частина може бути віднесена до дрібних і середніх пірамідних клітин кортикального комплексу II-III шарів. Кількість каспаза-3-позитивних дрібних клітин, які імовірно є гліальними клітинами, було вкрай мало в порівнянні з кількістю великих каспаза-3-позитивних пірамідних нейронів.

Максимальна кількість клітин, що експресують каспазу-3 у контрольних тварин, спостерігалася на 1-шу добу. Потім відбувалося її поступове зниження і на кінець першого місяця постнатального онтогенезу

воно становило в середньому не більше 1% каспаза-3-позитивних клітин від загальної кількості всіх клітин. До кінця 2-місяця життя експресія каспази-3 залишалось на рівні попереднього строку (Рис. 3.1.7).

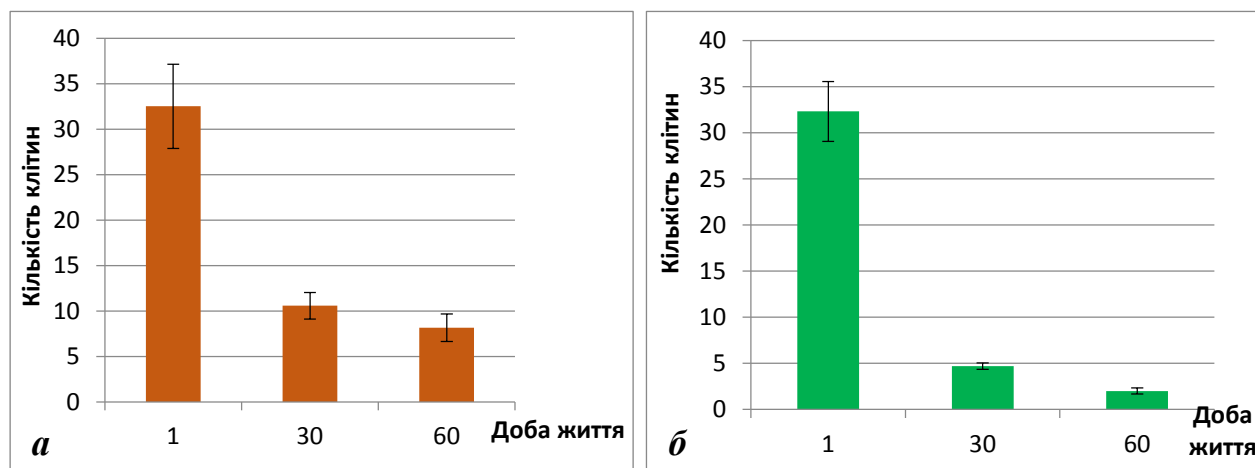


Рис. 3.1.7. Кількість caspase-3-позитивних клітин (а) і Ki-67-позитивних клітин у сенсомоторній корі щурів у ранньому постнатальному онтогенезі (на площі 0,25 мм<sup>2</sup>).

Клітини з Ki-67-позитивним ядром розподілялися в усіх шарах сенсомоторної кори, а найбільша їх кількість розташована у комплексі II-III шарів, гангліонарному, поліморфному шарах (Рис. 3.1.8).

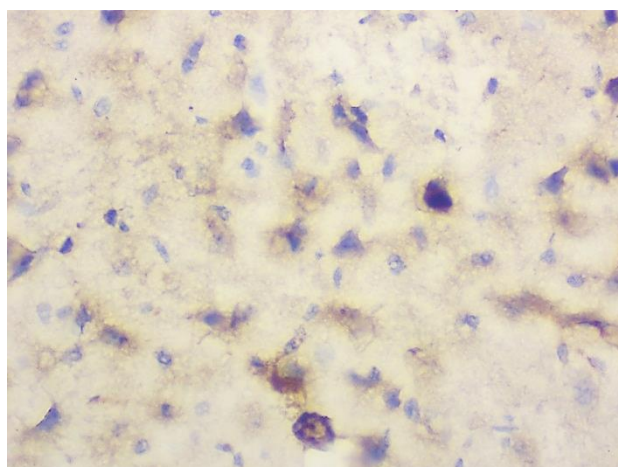


Рис. 3.1.8. Нейрони сенсомоторної кори новонародженого щура. Імуногістохімічне дослідження, антитіла проти Ki-67, дофарбування ядер гематоксиліном. Зб. 400.

За щільністю розподілу позитивного хроматину в ядрі можна виділити дві субпопуляції клітин: клітини, в ядрах яких гетерохроматин конденсований, і клітини з неконденсованим еухроматином в ядрах. У новонароджених тварин кількість Ki-67-позитивних нейронів складає  $32,51 \pm 4,64$ . До 30-ї доби кількість мічених клітин знижується майже у 3 рази, і ця тенденція зберігається до кінця 2-го місяця постнатального життя.

Постнатальний розвиток сенсомоторної кори щурів характеризується диференціюванням шарів кори, збільшенням загальної товщини кори, прогресивним потовщенням її шарів. У корі спостерігалось зниження щільності розташування нейронів, що пов'язано зі зростанням розмірів клітин (площі перикаріонів), формуванням їхніх відростків та розвитком гліального оточення. Протягом перших двох місяців життя хвилеподібно змінюється кількість апоптотичних клітин, експресуючих каспазу 3, з максимальними значеннями на 30ту добу. Проліферативна активність клітин у сенсомоторній корі знижується у 4 рази від новонародженості до 60ї доби.

### **3.2. Морфофункціональні особливості змін у сенсомоторній корі щурів у ранньому постнатальному періоді онтогенезу після пренатальної гіпоксії.**

Моделювання гіпоксії середньої тяжкості в пренатальному періоді онтогенезу призводить до збільшення кількості мертвнонароджених щурят та загибелі тварин у молочному віці протягом 2х тижнів постнатального життя. Смертність в приплодах самок експериментальної групи є в 10,4 рази більшою у порівнянні з контрольною групою, причому розвиток більшості щурят, які загинули у віці 9-12 діб, протягом першого тижня не відрізнявся від розвитку щурят, що залишились живими. Вони активно рухались, харчувались, додавали у вазі, а починаючи з 8-10 доби починали втрачати вагу, в них спостерігались ознаки зневоднення, зменшення рухової активності, іноді появи судом.

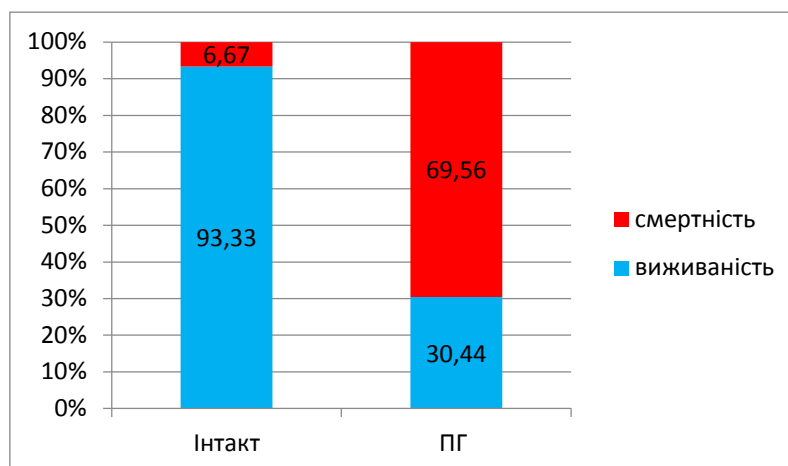


Рис. 3.2.1. Смертність/виживаність щурят у нормі та після пренатальної гіпоксії (%).

Аналіз раннього постнатального розвитку щурят інтактної та експериментальної груп показує, що щурята, які пренатально розвивалися в умовах гіпоксії, мали нижчу вагу тіла, у порівнянні з інтактною групою. Новонароджені щурята експериментальної групи мають вагу на 11% менше, ніж у щурят, що розвивалися за умов нормальної фізіологічної вагітності. В віці 1го місяця різниця між показниками ваги тіла зменшується і стає недостовірною, а в 2 місяці показники маси щурів після ПГ на 19% є нижчими, ніж в інтактні (Рис. 3.2.2).

Така сама тенденція простежується при аналізі абсолютної маси мозку щурят. Так, у новонароджених тварин експериментальної групи на 15% менша, ніж у інтактної групи. На 30ту добу життя різниця в масі мозку не є достовірною, а у кінці 2го місяця абсолютна маса мозку у тварин після ПГ на 5% нижча, ніж в інтактні. Аналіз відносної маси мозку (мг/г маси тіла), навпаки демонструє збільшення цього показника в експериментальній групі на 30ту добу життя на 14% і на 60ту добу на 18% в порівнянні з тваринами інтактної групи (Рис. 3.2.2).



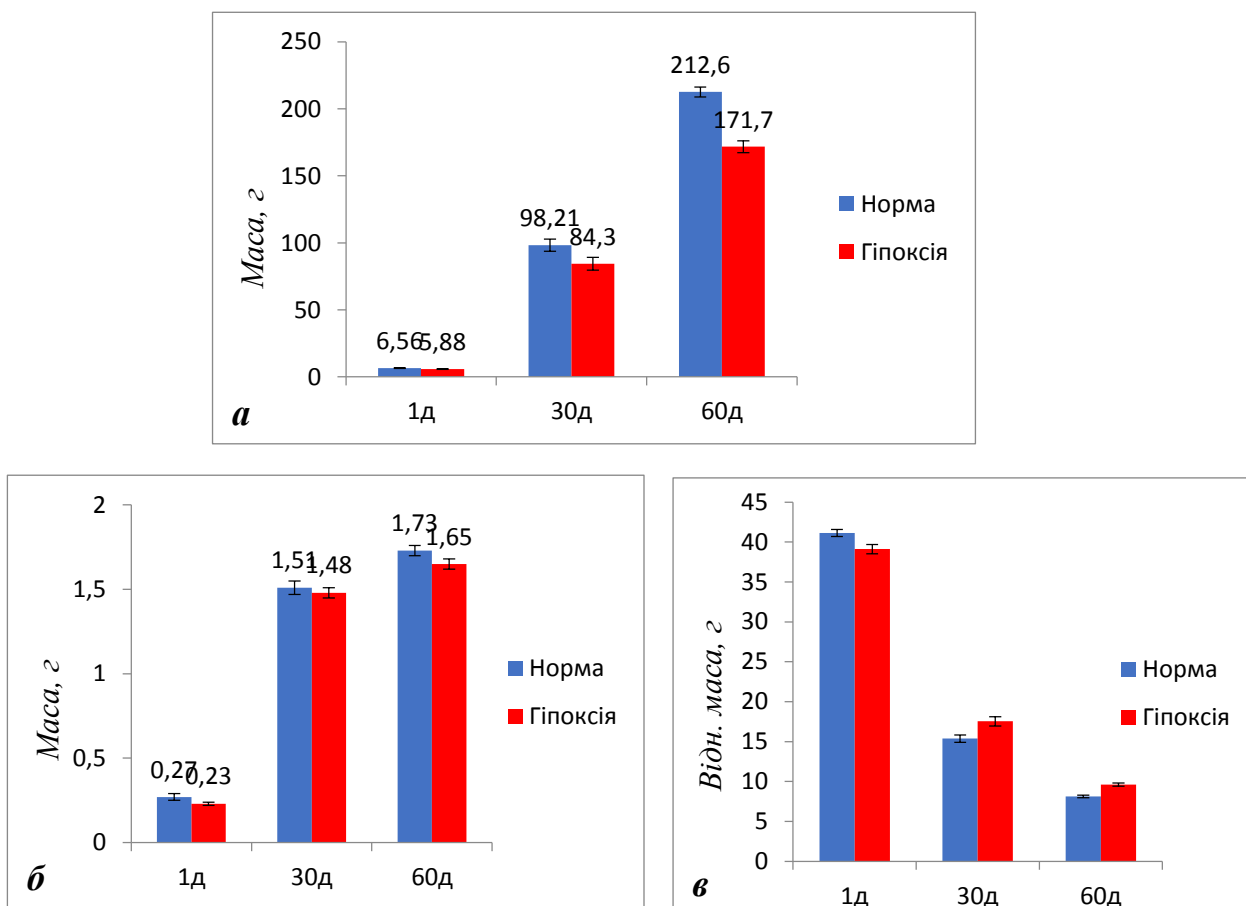


Рис. 3.2.2. Показники маси тіла (а), абсолютної (б) та відносної (в) маси мозку щурів у ранньому постнатальному онтогенезі у нормі та після пренатальної гіпоксії.

До кінця першого місяця життя у сенсомоторній корі експериментальних тварин відбуваються суттєві зміни усіх морфологічних показників. У 3,7 раза збільшується загальна товщина кори, і майже не відрізняється від контрольних значень. Розміри шарів, окрім молекулярного, також відповідають контрольним значенням. Молекулярний шар залишається тоншим за контроль на 17%. Щільність розташування клітин в сенсомоторній корі тварин після впливу ПГ була нижчою за контроль на 6,5%. Достовірно меншими були середні розміри нервових клітин (на 20%).

На 60ту добу життя загальна товщина сенсомоторної кори залишалася меншою, ніж у інтактній групі. Це пов'язано з меншими розмірами

молекулярного та V шарів кори, які менші за контрольні значення на 7,3% та 5% відповідно (Рис. 3.2.3, 3.2.4).

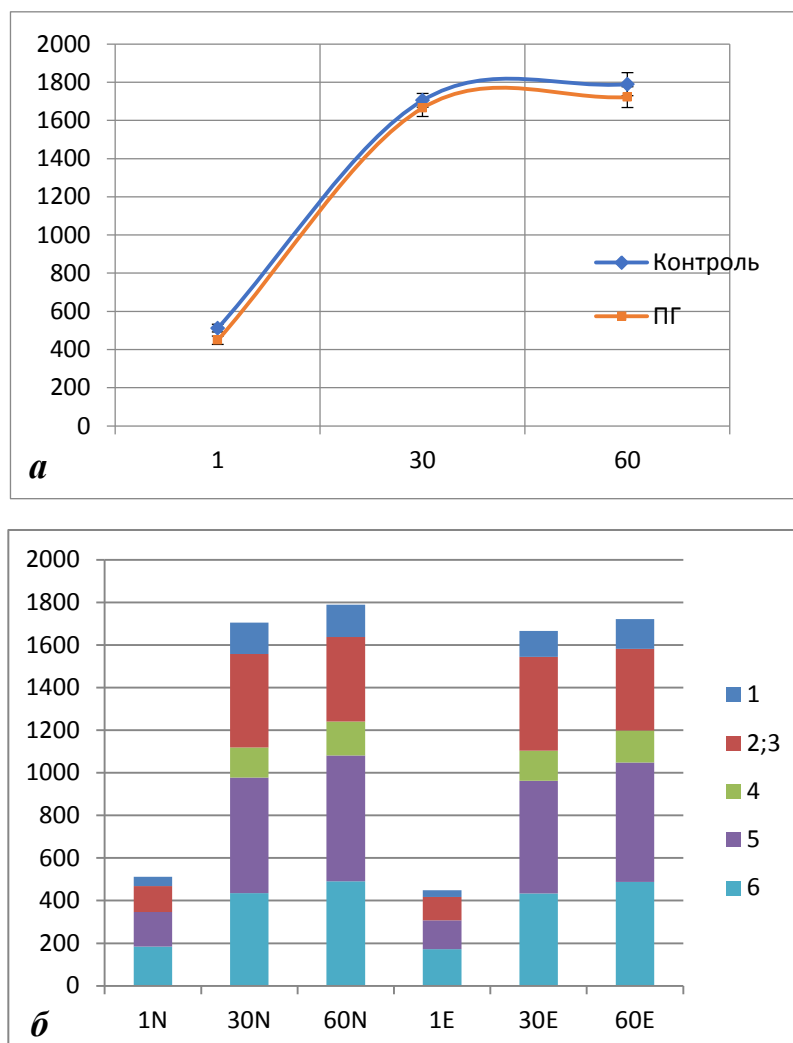


Рис.3.2.3. Динаміка товщини сенсомоторної кори (а) головного мозку щурів та її шарів (б) у ранньому постнатальному онтогенезі у нормі та після пренатальної гіпоксії (мкм).

Розміри інших шарів достовірно не відрізняються від контрольних значень. Щільність та розміри клітин у корі експериментальних тварин також залишалася нижчою у порівнянні з інтактною групою на 8% і 16% відповідно, але це не має достовірного характеру.

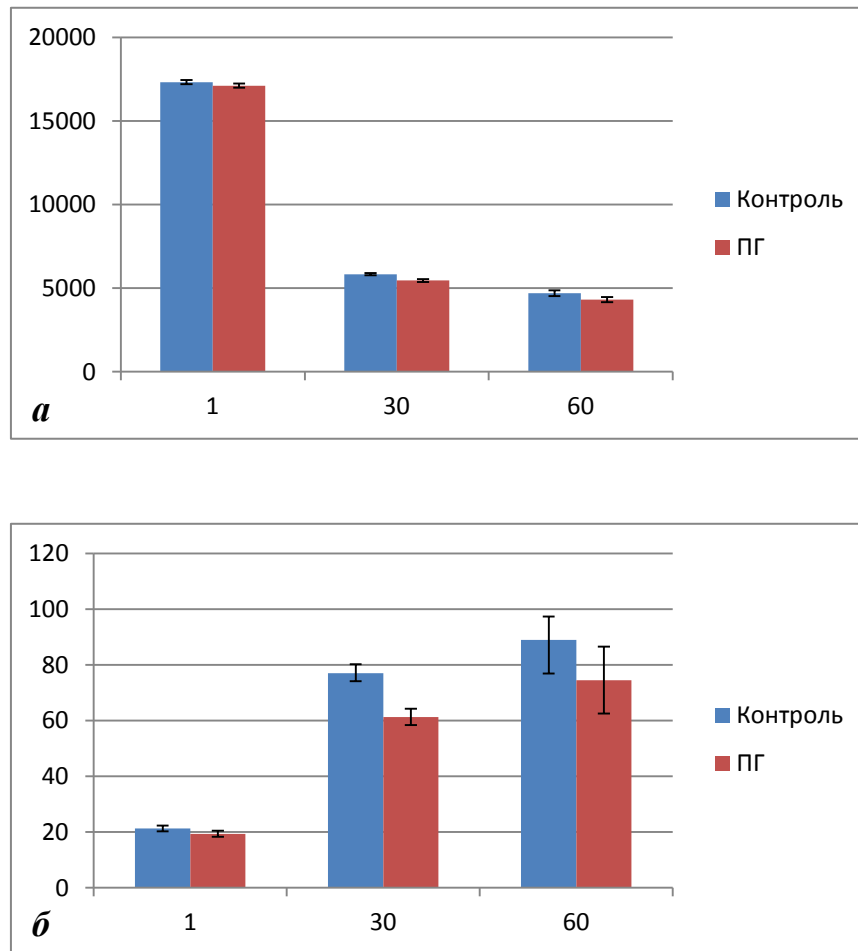


Рис. 3.2.4. Щільність розташування клітин (а) та площі нейронів V шару (б,  $\mu\text{м}^2$ ) у сенсомоторній корі щурів у ранньому постнатальному онтогенезі у нормі та після пренатальної гіпоксії.

У новонароджених щурів після дії ПГ спостерігається зниження загальної товщини сенсомоторної кори (на 12,3%) у порівнянні з інтактною групою. Найбільших змін у розмірах зазнали молекулярний та V шари кори. Щільність клітин кори та їхні розміри також були нижчими за контрольні значення, але це не носить достовірного характеру (Рис. 3.2.2).

У новонароджених тварин після пренатальної гіпоксії в усіх шарах сенсомоторної кори поодинокі виявлялись дифузно розташовані нейрони з ознаками хроматолізу у 4 рази частіше, ніж у контролі. Кількість таких клітин прогресивно збільшувалася на 30 добу постнатального онтогенезу і перевершувала контрольні значення у 2,25 рази. Після 30-ї доби відбувалося

їх зниження кількості дегенеруючих клітин, на кінець 2-го місяця життя хроматоліз у корі зустрічався на 37% рідше ніж на 30 добу, але у 2 рази частіше, ніж у інтактної групи (Рис. 3.2.5, 3.2.6).

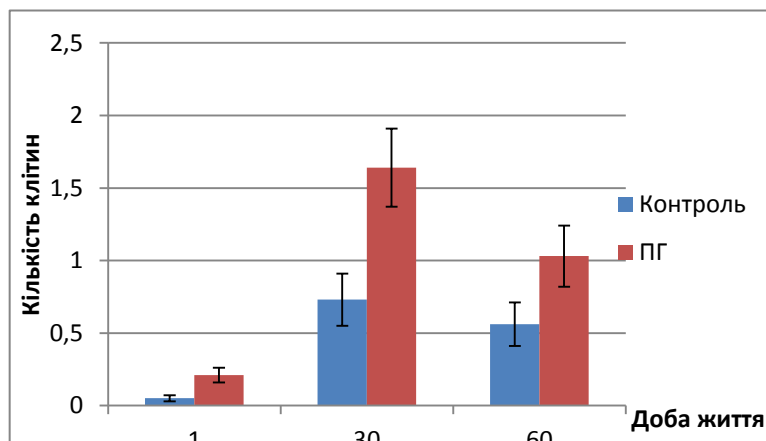


Рис. 3.2.5. Середня кількість дегенеруючих нейронів у сенсомоторній корі щурів у ранньому постнатальному онтогенезі у нормі та після пренатальної гіпоксії (на площі 0,25 мм<sup>2</sup>).

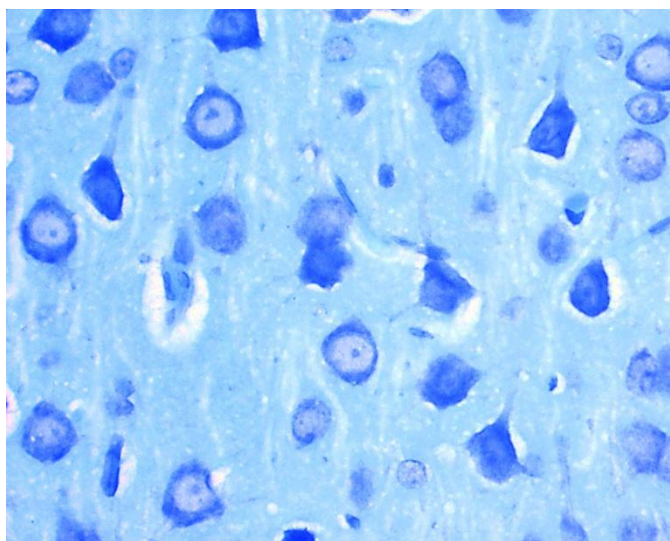


Рис.3.2.6. Сенсомоторна кора головного мозку щура після хронічної пренатальної гіпоксії на 30-ту добу життя. Забарвлення за Нісслем. Зб. 400.

Більшість дегенеруючих нейронів розташовувалась у пірамідному шарі. Найбільша кількість дегенеруючих клітин в пірамідному шарі спостерігалось на 30-ту добу після народження. У більшості випадків дегенеруючі пірамідні нейрони розташовувалися групами, часто поблизу кровоносних судин. У клітин, що дегенерують за механізмом хроматолізу, відбувалося набухання цитоплазми та відростків, зникнення глибок субстанції Ніссля. Клітини на пізніх стадіях хроматолізу мали збільшені розміри, округлу форму, цитоплазма без забарвлення займала центральну частину клітини, а забарвлена цитоплазма розташовувалась вузьким шаром.

Окрім явищ нейродегенерації в сенсомоторній корі тварин, що перенесли гіпоксію, спостерігалася дезінтеграція шару пірамідних нейронів. Морфологічно це виражалось в порушенні щільного розташування нейронів, збільшенні відстані між клітинами та зміні орієнтації в розташуванні деяких пірамідних нейронів. Починаючи з 30-ї доби постнатального онтогенезу, в корі відзначалося збільшення кількості гліальних клітин.

Механізми відстроченої загибелі нервових клітин після впливу гіпоксії дотепер залишаються нез'ясовані. Раніше вважалось, що в основі механізмів нейродегенерації за типом хроматолізу лежить некротична загибель клітини від гіпоксичних пошкоджень та реоксигенації. Однак складна вікова динаміка та вибіркового характеру дегенеративних процесів вказує на переважання механізму програмованої клітинної загибелі. З метою з'ясування того, що в нейродегенерації після пренатальної дії гіпоксії задіяний механізм каспаз-залежного апоптозу, було проведено порівняльне дослідження експресії каспази-3 в нервовій тканині сенсомоторної кори контрольних і експериментальних тварин.

Кількість каспази-3-позитивних клітин V шарі перевищувала кількість клітин сусідніх шарів, що експресують цей білок. На 30-ту добу постнатального онтогенезу в сенсомоторній корі тварин, які перенесли ПГ, кількість каспази-3-позитивних клітин статистично вище (в 1,3 раза) контрольного значення. До кінця 2-місяця рівень експресії каспази-3

знижується майже в 2 рази та наближається до контрольних значень (Рис. 3.2.7, 3.2.8).

Пренатальна гіпоксія негативно впливає на проліферативну активність клітин сенсомоторної кори. У новонароджених тварин кількість Ki-67-позитивних клітин на 22% менша у порівнянні з контролем. У місячних і 2-місячних тварин цей показник залишається зниженим, але статистично не достовірно (Рис. 3.2.7).

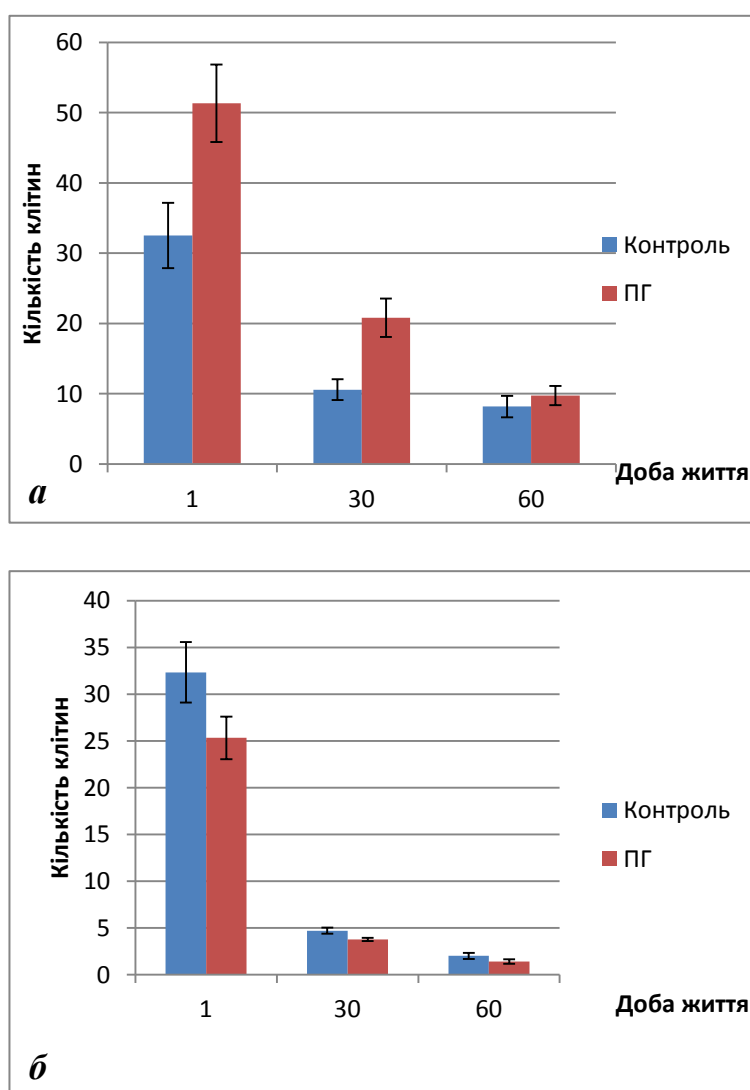


Рис. 3.2.7. Кількість caspase-3-позитивних клітин (а) і Ki-67-позитивних клітин (б) у сенсомоторній корі щурів у ранньому постнатальному онтогенезі у нормі та після пренатальної гіпоксії (на площі 0,25 мм<sup>2</sup>).

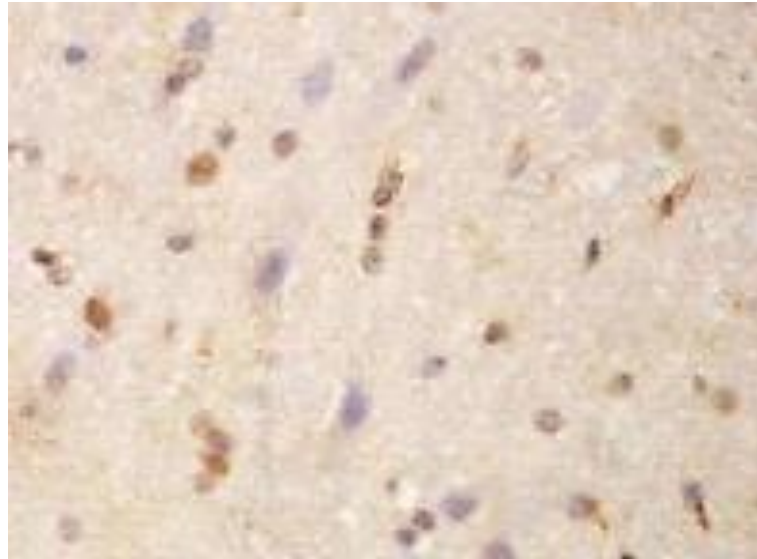


Рис. 3.2.8. Caspase-3-позитивні клітини у сенсомоторній корі щура після пренатальної гіпоксії на 1-у добу життя.

Таким чином, хронічна пренатальна гіпоксія призводить до зменшення товщини сенсомоторної кори, особливо молекулярного та гангліонарного шарів, щільності розташування нейронів, збільшенням процесів нейродегенерації і апоптозу, зниженню проліферативної активності.

Нейродегенерація, що спостерігається в сенсомоторній корі тварин, після дії пренатальної гіпоксії, супроводжувалася підвищенням кількості клітин, що експресують каспазу-3. Максимальна кількість нейронів і клітин, що дегенерують, в корі у щурів після гіпоксії спостерігалось на 30-шу добу після народження, що демонструє віддалену реакцію на дію негативного чинника.

Ступінь прояви дегенеративних змін і кількість нейронів, що гинуть за типом апоптозу в шарах сенсомоторної кори тварин після пренатальної гіпоксії, виявилось неоднаковими. Максимальна кількість каспаза-3 позитивних клітин виявлялась у новонароджених тварин, а максимальні процеси нейродегенерації спостерігалися на 30ту добу життя. На 60-ту добу постнатального онтогенезу у тварин, що зазнали пренатального гіпоксичного

впливу, більшість характеристик залишалася нижчою контрольних значень, що свідчить про структурний дефіцит у нервовій тканині, який залишається і не компенсується повною мірою постнатальним розвитком мозку.



## РОЗДІЛ 4

### ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.

Згідно з отриманими нами результатами в ході проведених досліджень, хронічна пренатальна гіпоксія викликає ряд морфофункціональних змін у формуванні сенсомоторної кори експериментальних щурів, як у ранніх, так і віддалених періодах онтогенезу.

Протягом останнього десятиліття більшість досліджень, присвячених пренатальній гіпоксії, акцентували увагу на процесах нейродегенерації та втраті нейронів, вважаючи, що компенсація порушень функції нервової тканини відбувається за рахунок формування додаткових міжнейронних зв'язків під час постнатального гістогенезу [40-43].

Отримані нами дані підтверджують, що значущі зміни в клітинному складі та щільності розташування клітин у нервовій тканині сенсомоторної кори тварин, які перенесли пренатальну гіпоксію, відбуваються протягом першого місяця постнатального онтогенезу. Важливо відзначити, що різниця між експериментальними та контрольними тваринами в більшості кількісних показників залишалася і у дорослих особин.

Динаміка розвитку нервової тканини сенсомоторної кори у онтогенезі контрольних щурів в цілому була аналогічна результатам інших дослідників [15]. Встановлена тенденція до зменшення загальної щільності розташування клітин у шарах сенсомоторної кори у ранньому постнатальному онтогенезі є результатом його зростання протягом постнатального періоду.

Відомо, що гіпоксичний вплив може викликати зменшення загальних розмірів головного мозку або його відділів, а також зменшення товщини шарів кори [21]. Багато авторів описують зниження щільності розташування клітин у сенсомоторній корі, яке виникає внаслідок гибелі нейронів внаслідок гіпоксичного впливу [8,15, 32].

У ході нашого дослідження ми також виявили зміни в товщині шарів сенсомоторної кори у експериментальних тварин. За допомогою морфометричного аналізу було підтверджено зниження загальної щільності

розташування клітин у нервовій тканині сенсомоторної кори у тварин, які перенесли гіпоксію, що відповідає даним літератури. Максимальне зниження щільності розташування клітин спостерігалось на 30-й день після народження, і до кінця другого місяця постнатального онтогенезу різниця між контрольними та експериментальними тваринами вже не була значущою. Можна припускати, що головною причиною зменшення кількості клітин у нервовій тканині сенсомоторної кори тварин, які перенесли пренатальну гіпоксію, є нейродегенерація та загибель клітин, спричинені гіпоксичним впливом, як про це свідчать багато джерел літератури [32, 44]. Однак загибель клітин безпосередньо від гіпоксії та наступної реоксигенації відбуваються досить швидко - протягом кількох годин. Явище відстроченої загибелі клітин після гіпоксичного впливу, що зафіксовано у експериментальних тварин у постнатальному онтогенезі, раніше описувалося в науковій літературі, однак механізми цього відстроченого реакції дотепер залишаються не цілком зрозумілими [45].

У роботі встановлено, що зміни в кількості клітин у нервовій тканині сенсомоторної кори тварин, які перенесли пренатальну гіпоксію, мали вибіркового характеру, що зафіксоване для кількісних параметрів нейронів, але не гліальних клітин (імовірно, через здатність клітин глії відновлювати свою чисельність за допомогою проліферації). Аналіз показав, що спостерігається зниження кількості переважно великих нейронів, тоді як кількість дрібних клітин мало змінюється. Таким чином, гіпоксична дія в період внутрішньоутробного розвитку призводить до зміни кількісного співвідношення клітин різних типів у постнатальному онтогенезі.

Сучасні літературні дані про прояв дегенеративних змін у різних груп нейронів після пренатального гіпоксичного впливу вкрай обмежені. Деякі роботи, присвячені дослідженню впливу пренатальної гіпоксії на головний мозок, свідчать про дегенерацію та загибель великих еферентних нейронів у кортикальних структурах [46].

Поясненням різних змін у нервових клітинах сенсомоторної кори може бути той факт, що великі та дрібні нейрони належать до різних клітинних популяцій, які формуються на різних етапах ембріогенезу і мають різних попередників.

Пренатальна гіпоксія може викликати загибель частини нейрогенних клітин, заважаючи утворенню нейробластів, і клітин нейроглії, спричиняючи порушення міграції, що призводить до зменшення кількості великих нейронів. Подібні порушення внаслідок гіпоксії були показані в ряді робіт [44-47].

Цікавим є той факт, що значну частину нейронних популяцій, які найбільше страждають від пренатального гіпоксичного впливу, за сучасними літературними даними, складають холінергічні нейрони, а система холінергічних нейронів головного мозку ссавців є найбільш чутливою до пренатальної гіпоксії [48].

Вибірковість та послідовність загибелі нейронів різних типів протягом раннього постнатального онтогенезу може свідчити про порушення формування нейронних структур у сенсомоторній корі. Можливо, загибель нервових клітин певного типу призводить до порушень у функціонуванні морфофункціонального модуля нейронів. Про це може свідчити присутність груп нейронів у сенсомоторній корі щурів, які перенесли пренатальну гіпоксію і характеризуються експресією каспази-3. Наявність скупчення клітин, які експресують каспазу-3, в сенсомоторній корі, свідчить про порушення функціонування нейронних зв'язків.

Отже, виявлені розбіжності у різних популяціях нейронів у зниженні кількості та загибелі клітин у тварин, які перенесли пренатальну гіпоксію, можуть бути зумовлені порушенням утворення та міграції певних груп нейробластів під час гіпоксичної дії.

Ступінь виразності кількісних змін та нейродегенерації в сенсомоторній корі тварин після пренатальної гіпоксії в обрані терміни була різноманітною. Найбільш значне зниження щільності розташування клітин та

інтенсивна нейродегенерація спостерігалася в сенсомоторній корі на 30-й день життя. Підвищення рівня каспази-3 в нервовій тканині сенсомоторної кори інтактних новонароджених щурів зафіксовано в попередніх дослідженнях, що свідчить про збільшену інтенсивність загибелі клітин кори в цей період під впливом стресових факторів [48].

У нашому дослідженні було виявлено, що зниження кількості клітин у сенсомоторній корі щурів, що перенесли пренатальну гіпоксію, та їх загибель через апоптоз спостерігалася також у новонароджених, а значення на 30-й день були вищими порівняно з контрольною групою. Раніше у літературі вже вказувалося на високу чутливість нервової тканини сенсомоторної кори до гіпоксичного впливу.

За сучасними даними щодо розвитку структур сенсомоторної кори, час гіпоксичного впливу співпадає з періодом інтенсивної проліферації та міграції нейробластів. Зміни, які відбуваються під впливом гіпоксії, до певного ступеня компенсуються процесами постнатального нейрогенезу [15].

Морфометричний аналіз вказав на зменшення загальної щільності розташування клітин та кількості великих нейронів у сенсомоторній корі тварин, що перенесли пренатальну гіпоксію, протягом першого місяця постнатального онтогенезу. У цей період спостерігалася також зниження експресії Ki-67, що вказує на знижену проліфераційну активність. Зменшення проліферації клітин головного мозку під час пренатальної гіпоксії може бути захисним механізмом від різноманітних патологічних станів, таких як блокада проліферації клітин, що піддавалися мутації під впливом оксидативного стресу [43].

Окрім нейродегенерації, основні відмінності в кількості клітин у тварин із нормальним і порушеним нейроембріогенезом можуть бути пов'язані з порушеннями проліферації та міграції нейробластів сенсомоторної кори під час гіпоксичної дії. Подібні порушення вже описані в роботах щодо кори великих півкуль, які були піддані іонізуючому опроміненню в період ембріонального розвитку. Не лише нейродегенерація,

але й порушення міграційних процесів під час ембріогенезу, незалежно від характеру впливу, може спричинити зниження щільності розташування клітин у постнатальному онтогенезі.

У сенсомоторній корі щурів, які були викладені пренатальній гіпоксії, спостерігалася максимальна зміна кількості клітин на 30-й день після народження. До завершення другого місяця постнатального онтогенезу показники експериментальної групи наблизилися до контрольних значень, хоча не повністю відновилися. Літературні джерела широко обговорюють можливості компенсації наслідків патологічного розвитку та деструктивних впливів в постнатальному онтогенезі, зокрема за допомогою синаптичної пластичності та проліферативної активності камбіальних елементів [47, 48].

За думкою деяких авторів, головною причиною порушення пам'яті у дорослих щурів, які перенесли пренатальну гіпоксію, є не тільки зміни в клітинному складі та структурі кінцевого мозку, але й зниження нейропластичності, що супроводжується розладами у формуванні нейрональних ансамблів [2, 15, 49].

Оскільки 16-та доба ембріогенезу характеризується інтенсивною проліферацією та міграцією нейробластів, вплив у цей період може викликати порушення формування нервової тканини кори, що виявляється у зміні її складу та структури в постнатальному онтогенезі.

Отже, наші результати підтверджують припущення, що прояви наслідків деструктивного впливу максимальні в той період, коли він співпадає з критичним періодом розвитку відділу головного мозку, наприклад, із періодом інтенсивної проліферації та міграції нейробластів.

Дослідження механізму загибелі клітин, які дегенерують, демонструють високий рівень дегенеративних процесів одразу після народження. Відомо, що дегенерація клітин типу хроматолізу може бути оборотною, але глибокі деструктивні зміни в структурі клітин свідчать про необоротність дегенеративних процесів. Наші результати імуногістохімічного аналізу розподілу маркера апоптозу каспази-3 в

сенсомоторній корі щурів, які перенесли гіпоксію, свідчать про наявність клітин, що пройшли програмовану загибель. В експериментальних тваринах виявлено зменшення щільності розташування клітин нервової тканини, дегенерацію окремих нейронів та збільшення кількості клітин з підвищеною експресією каспази-3.

Каспаза-3 є ключовим елементом у каскаді термінальної стадії апоптозу, а його присутність в окремих клітинах свідчить про неповоротну загибель клітини шляхом каспазозалежного апоптозу. Механізм каспазозалежного апоптозу є одним із можливих шляхів елімінації клітин у нервовій тканині тварин, які зазнали гіпоксичної дії. Важливо зауважити, що каспазозалежний апоптоз не є єдиним механізмом для загибелі нейронів, оскільки, крім апоптозу, елімінація клітин нервової тканини кори у експериментальних тваринах може відбуватися також за допомогою автофагії та некротичної загибелі [26].

Свідченням на користь гіпотези про загибель частини клітин нервової тканини кори за механізмом автофагії є наявність скопичених гліальних клітин навколо дегенеруючих нейронів, що було виявлено під час мікроскопічного аналізу. У літературі згадуються дані, які вказують на підвищення кількості гліальних клітин (відомо як "гліальна реакція") як одного з наслідків гіпоксії [44, 45, 49, 50]. Проте, у нашому дослідженні статистично значущого підвищення щільності розташування гліальних клітин у сенсомоторній корі мозку тварин не виявлено. Це може свідчити про те, що автофагія не виступає основним механізмом загибелі нейронів у нервовій тканині експериментальних тварин.

Хроматоліз є основним типом дегенерації нервових клітин мозку щурів, які були викладені гіпоксії. Клітини, що дегенерують за типом хроматолізу, проявляють морфологічні ознаки, які вважаються характерними для некротичної загибелі, такі як набухання тіла клітини (збільшення тургору), лізис органел цитоплазми та порушення цілісності цитолемі. Раніше вважалося, що клітини, що пройшли апоптоз, характеризуються

зниженням тургору, конденсацією хроматину та органел цитоплазми. Однак на кінцевих стадіях апоптозу морфологічно клітина може набувати ознак, характерних для некротичних клітин, що робить ускладненим визначення типу загибелі клітини за морфологічними ознаками [.

Можливість апоптотичних змін у клітинах може бути достовірно виявлена через імуногістохімічне дослідження експресії білків, асоційованих із апоптозом. Наразі не існує строго специфічного методу, який вказував би на некротичний характер цих змін. Питання про те, чи є загибель клітин у нервовій тканині тварин, які перенесли пренатальну гіпоксію, результатом некрозу чи апоптозу, залишається невирішеним. У нашому дослідженні ми зібрали достатньо даних, що свідчать про переважання механізму каспаз-залежного апоптозу в нервовій тканині сенсомоторної кори. Терміни постнатального онтогенезу, коли спостерігалися дегенеруючі клітини та ті, що експресують каспазу-3, співпадали. Серед нейронів, що дегенерують типово для хроматолізу та клітин, які виявляли підвищену експресію каспази-3, більша частина представлена великими пірамідними нейронами гангліонарного шару сенсомоторної кори.

Загибель клітин сенсомоторної кори у постнатальному онтогенезі експериментальних тварин відбулася з відсотковим відставанням від моменту проведення пренатального гіпоксичного впливу, що перевищує тривалість можливих прямих наслідків гіпоксії. Таким чином, пренатальна гіпоксія не може бути причиною некротичної загибелі клітин у постнатальному онтогенезі.

Однією з головних причин можливого некрозу клітин нервової тканини сенсомоторної кори у постнатальному онтогенезі експериментальних тварин можуть бути локальні порушення у системі мікроциркуляції, які виникають в результаті гіпоксичної дії [50]. Мікроскопічний аналіз показав розширені капіляри частіше в нервовій тканині кори щурів, що виносили гіпоксію, ніж в контрольних тваринах.

Отже, існують підстави вважати, що основним механізмом смерті нейронів у сенсомоторній корі після пренатальної гіпоксії є процес каспаз-залежного апоптозу [51]. Крім того, частина клітин вилучається за допомогою автофагії та некротичної загибелі. Серед можливих причин нейродегенерації та смерті нейронів, ймовірно, є порушення формування нейронних мереж у ранньому постнатальному онтогенезі, що виникають через пренатальний гіпоксичний вплив у період ембріогенезу.

Суттєві зміни спостерігалися на 1-й та на 30-й день життя, оскільки більшість морфофункціональних змін у нервовій тканині відбуваються протягом першого місяця постнатального онтогенезу. Відстрочена смерть та нейродегенерація нейронів у постнатальному онтогенезі тварин після пренатальної гіпоксії може бути обумовлена порушеннями формування клітинної організації нервової тканини, а не непрямою загибеллю нейронів під впливом гіпоксії [52].

Отже, результати морфологічного дослідження підтверджують комплексні порушення у формуванні нервової тканини сенсомоторної кори щурів після пренатальної гіпоксії, що проявляються у змінах розмірів та структури цієї тканини, а також у динаміці проліферативних та нейродегенеративних процесів.



## ВИСНОВКИ.

У магістерській роботі надано теоретичне обґрунтування й нове розв'язання актуальної проблеми сучасної морфології щодо з'ясування ролі впливу пренатальної гіпоксії на розвиток сенсомоторної кори у ранньому постнатальному періоді онтогенезу.

1. Розвиток сенсомоторної кори головного мозку щурів в ранньому постнатальному онтогенезі характеризується найбільш активними процесами збільшення морфометричних показників, стратифікації, проліферації і апоптозу нервових клітин у перший місяць життя. Цитоархітектоніка сенсомоторної кори до кінця 2-го місяця життя набуває ознаки, характерні для мозку дорослих тварин.

2. В сенсомоторній корі головного мозку щурів у ранньому постнатальному онтогенезі присутні клітини, що експресують каспазу-3 і Ki-67. Максимальна кількість каспаза-3- та Ki-67-позитивних клітин у контрольних тварин спостерігалася на 1-шу добу життя ( $32,51 \pm 4,64$  та  $32,30 \pm 3,13$  відповідно). Потім відбувалося її поступове зниження до  $10,58 \pm 1,47$  і  $4,73 \pm 0,37$  до 30-ї доби, і  $8,17 \pm 1,51$  та  $2,01 \pm 0,32$  до 60-ї доби життя.

3. Вплив хронічної пренатальної гіпоксії викликає значущі зміни у складі та структурі нервової тканини сенсомоторної кори в ранньому постнатальному онтогенезі, що виявляються в зменшення товщини пірамідного шару, значному зниженні щільності розташування нейронів, пригніченні проліферативної активності нейро- та гліобластів, збільшенні кількості дегенеруючих клітин. Максимальні зміни кількості клітин у сенсомоторній корі щурів після пренатальної гіпоксії спостерігалися на 30-ту добу життя.

4. Пренатальна гіпоксія призводить до зміни темпів і динаміки процесів проліферації й апоптозу у сенсомоторній корі головного мозку щурів в ранньому постнатальному онтогенезі. Встановлено збільшення каспаза-3- -

позитивних та зменшення Ki-67-позитивних клітин на 1-у та 30-ту доби життя.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Shevchenko A.O. Premature Childbirth: Fundamental and Clinical Aspects/ Shevchenko A.O., Belenichev I.F., Kyryliuk A.D. et al.// LAP LAMBERT Academic Publishing, 2022. - 308p.
2. Giannopoulou I. Perinatal hypoxia as a risk factor for psychopathology later in life: the role of dopamine and neurotrophins/ Giannopoulou I., Pagida M.A., Briana D.D. et al.// Hormones. – 2018. – V. 17. P. 25–32.
3. Wang B. Effects of Prenatal Hypoxia on Nervous System Development and Related Disease/. Wang B., Zeng H., Liu J. and Sun M. //Front. Neurosci. – 2021. – V.15. – P.755554.
4. Belenichev I.F. New targets for pharmacological correction of cognitive disorders in prenatal hypoxia action/ Belenichev I.F. Aliyeva E.G.// Pharmacology and Drug Toxicology. – 2019. – V.13 (4). – P. 235–248.
5. Silvestro S. Prenatal Hypoxia and Placental Oxidative Stress: Insights from Animal Models to Clinical Evidences/ Silvestro S., Calcaterra V., Pelizzo G. Et al.// Antioxidants (Basel). – 2020. – V.9 (5). P. 414.
6. Olsen G.M. Organization of Posterior Parietal–Frontal Connections in the Rat/ Olsen G.M., Hovde K., Kondo H. et al.// Front. Syst. Neurosci. – 2019. – V.13. P. 38.
7. Petersen, C.C.H. Sensorimotor processing in the rodent barrel cortex// Nat Rev Neurosci. - 2019. V. 20. P. 533–546.
8. Kaas J.H. The organization and evolution of dorsal stream multisensory motor pathways in primates/ Kaas J.H., Gharbawie O.A., Stepniewska I. //Front Neuroanat. – 2011. – V. 5. P. 34.
9. Coulter M.E. The neural basis of mental navigation in rats/ Coulter M.E., Kemere C.//Science. – 2023. – V.382. P.517-518.
10. Kim W. Functional and structural plasticity in the primary somatosensory cortex associated with chronic pain/ Kim, W., Kim, S.K., Nabekura J.// J. Neurochem. – 2019. – V. 141. P.499-506.

11. Vogt B.A. Cytoarchitecture of mouse and rat cingulate cortex with human homologies/ Vogt, B.A., Paxinos, G. //Brain Struct. Funct. -2014. – V. 219. P. 185–192.
12. Suckow M. A. The Laboratory Rat / M. A. Suckow, S. H. Weisbroth, C.L. Franklin // Elsevier, 2005. – p. 928.
13. Soma, S. Distinct laterality in forelimb-movement representations of rat primary and secondary motor cortical neurons with intratelencephalic and pyramidal tract projections// J. Neurosci. – 2017. – V.37. P. 10904–10916.
14. Zilles K. The Architecture of Somatosensory Cortex/ Zilles K., Palomero-Gallagher N.//In The Senses: A Comprehensive Reference (Second Edition). – 2020. –V. 4. – P. 225-260.
15. Palomero-Gallagher N. Cortical layers: Cyto-, myelo-, receptor- and synaptic architecture in human cortical areas/ Palomero-Gallagher N, Zilles K. //Neuroimage. – 2019. – V. 197. \_P.716-741.
16. Okoro S.U. Organization of Cortical and Thalamic Input to Inhibitory Neurons in Mouse Motor Cortex/ OkoroS.U., Goz M.U., Njeri B/W/ et al.// Journal of Neuroscience. – 2022. – V. 42 (43). P. 8095-8112.
17. Pedrosa L.R.R. Time Window of the Critical Period for Neuroplasticity in S1, V1, and A1 Sensory Areas of Small Rodents: A Systematic Review/ Pedrosa L.R.R., Coimbra Gd.S., Corrêa M.G.// Front. Neuroanat. – 2022. – V. 16. P. 763245.
18. Melbaum, S. Conserved structures of neural activity in sensorimotor cortex of freely moving rats allow cross-subject decoding/ Melbaum S., Russo E., et al.// Nat Commun. -2022. – v. 13. P. 7420 -2022.
19. Russo, A. A. Neural trajectories in the supplementary motor area and motor cortex exhibit distinct geometries, compatible with different classes of computation// Neuron. – 2020. – V. 107. P. 745–758.
20. Wood C.E. Current paradigms and new perspectives on fetal hypoxia: implications for fetal brain development in late gestation/ Wood C.E., Keller-

Wood M. // *Am J Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2019. - V. 317(1). – P. R1-R13.

21. Wilson E.N. Gestational hypoxia in late pregnancy differentially programs subcortical brain maturation in male and female rat offspring / Wilson E.N., Mabry S., Bradshaw J.L. et al. // *Biol. Sex. Differ.* – 2022. – V.13(1). – P. 54.

22. Wang B. Effects of Prenatal Hypoxia on Nervous System Development and Related Diseases / B. Wang, H. Zeng, J. Liu, M. Sun // *Front Neurosci.* ,2021. - V. 15. – P. 1-13.

23. Беленічев І.Ф., Литвиненко Є.С. Нейропротективна активність модуляторів тіол-дисульфідної системи в умовах моделювання глутаматної ексайтотоксичності *in vitro* // *Фармакологія та лікарська токсикологія.* - 2017. - № 4-5 (55). - С. 20-26.

24. Беленичев И.Ф. Цитокинова терапія в комплексному лікуванні цереброваскулярних захворювань: стан, перспективи досліджень / Беленичев И.Ф., Супрун Є.В., Чекман І.С., Бурлака Б.С., Горчакова Н.О. // *Раціональна фармакотерапія.*-2017.– №1(42).– С.19-31

25. Anju, T. R. Decreased cholinergic function in the cerebral cortex of hypoxic neonatal rats: role of glucose, oxygen and epinephrine resuscitation/ Anju, T. R., Smijin, S., Chinthu, R., et al.//*Respir. Physiol. Neurobiol.* -2016. -180, P. 8–13.

26. Belenichev I.F. Involvement of heat shock proteins HSP70 in the mechanisms of endogenous neuroprotection: the prospect of using HSP70 modulators. Belenichev I.F., Aliyeva O.G., Popazova O.O., Bukhtiyarova N.V. *Front. Cell. Neurosci.* - 2023. – V.17. – P.1131683.

27. Zhao M. Oxidative Stress in Hypoxic-Ischemic Encephalopathy: Molecular Mechanisms and Therapeutic Strategies / Zhao M., Zhu P., Fujino M. et al.//*nt. J. Mol. Sci.* – 2016. – V.17(12). – P. 2078.

28. Millar L.J. Neonatal Hypoxia Ischaemia: Mechanisms, Models, and Therapeutic Challenges / L.J. Millar, Lei Shi, A.H.-Suabedissen, Z. Molnár // *Front. Cell. Neurosci* – 2017. - Vol.8. P. 1-36.

29. Зідрашко Г.А. Морфофункціональні зміни стану сенсомоторної зони неокортексу щурят після стимуляції тіотриазоліна. //Зідрашко Г.А., Євтушенко В.М., Алієва О.Г.// Зб. статей учасників сорок сьомої всеукраїнської практично-пізнавальної конференції «Наукова думка сучасності і майбутнього» (18 - 27 грудня 2021) Дніпро, 2022.-С.31-34.

30. Hassell KJ, Ezzati M, Alonso-Alconada D, et al. New horizons for newborn brain protection: enhancing endogenous neuroprotection. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. – 2015. - Vol. 100(6). - P. 541–552.

31. Беленічев І.Ф. Характер експресії мРНК, HIF-1 $\alpha$  і HIF-3 $\alpha$ , рівень нітротирозину, цГМФ та інтерлейкіну в гомогенаті мозку монгольських піщанок з гострим порушенням мозкового кровотоку та на фоні терапії модуляторами системи глутатіону / Беленічев І.Ф., Литвиненко Е.С. А.М. // Вісник проблем біології та медицини. – 2018. – т.1, №1(42). - С.12-23.

32. Orzeł A. Molecular Pathways of Altered Brain Development in Fetuses Exposed to Hypoxia. /Orzeł A., Unrug-Bielawska K., Filipecka-Tyczka D. et al.// Int. J. Mol. Sci., 2023; 24: 10401.

33. Petruk N.S. Influence of chronic prenatal hypoxia on the specialized contact apparatus of rat heart ventricles during ontogeny //Pathologia. – 2014. – V. 2(31). – P. 30-33.

34. Popazova O. Altered Blood Molecular Markers of Cardiovascular Function in Rats after Intrauterine Hypoxia and Drug Therapy/ Popazova O., Belenichev I., Yadlovskiy O. et al.// Curr. Issues Mol. Biol. – 2023. –V. 45(11). – P. 8704-8715.

35. <https://www.thermofisher.com/antibody/product/Ki-67-Antibody-Polyclonal/PA5-16446>

36. <https://www.thermofisher.com/antibody/product/Caspase-3-Antibody-Polyclonal/PA5-96077>

37. <https://www.thermofisher.com/antibody/product/Goat-anti-Rabbit-IgG-H-L-Secondary-Antibody-Polyclonal/31466>

38. Bankhead, P. QuPath: Open source software for digital pathology image analysis/ Bankhead, P., Loughrey, M.B., et al.// *Sci. Rep.* – 2017. –V.7. –P. 16878.
39. Ю.І. Прилуцький. Статистичні методи в біології./ Ю.І. Прилуцький, О.В. Ільченко, О.В. Цимбалюк, С.О. Костерін. // *Наукова думка*, 2018. – С.216.
40. Aliyeva O. Modulation of Hsp70 in the Pharmacological Correction of Nervous System Disorders after Prenatal Hypoxia/ Aliyeva O., Belenichev I., Popazova O. // *Med. Sci. Forum.* – 2023. –V. 21(1). P. 39.
41. Беленічев І.Ф. Молекулярно-біохімічні механізми HSP70 – опосередованої цитопротекції в умовах патології ішемічного генезу / Беленічев І.Ф., Павлов С.В., Горбачева С.В. // *Вісник проблем біології і медицини.*-2017.-Вип.3,т.1(137) 61-67.
42. Belenichev I.F. Expression of HSP70 in the brain of rats during experimental cerebral ischemia modeling and on the background of neuroprotection / Belenichev I.F., Pavlov S.V., Buhtijarova N.V., Samura I.B., Egorov A.N., Semenov D.M. // *Biological Markers and Guide Therapy.*-2017.- Vol.4, №1.- P. 105-111
43. Wilson E.N. Gestational hypoxia in late pregnancy differentially programs subcortical brain maturation in male and female rat offspring/ Wilson E.N., Mabry S., Bradshaw J.L. et al.// *Biol. Sex. Differ.* – 2022. – V. 13(1). – P. 54.
44. Lee W.L. A. Hypoxic-Ischaemic Encephalopathy and the Blood-Brain Barrier in Neonates / W.L. A. Lee, A.T. Michael-Titus, D.K. Shah // *Dev. Neurosci.*, 2017. - V.39 (1-4). – P. 49-58. DOI: 10.1159/000467392
45. Herrera E.A. Gestational Hypoxia and Blood-Brain Barrier Permeability: Early Origins of Cerebrovascular Dysfunction Induced by Epigenetic Mechanisms/ E. A. Herrera , A. G.-Candia // *Front. Physiol.*, 2021. – V. 12. – P. 1-8. DOI: 10.3389/fphys.2021.717550.

46. Wan Xing Hong. The Role of Hypoxia-Inducible Factor in Wound Healing// Wan Xing Hong, Michael S. Hu, Mikaela Esquivel, Grace Y. Liang, Robert C. Rennert, Adrian McArdle, Kevin J. Paik, Dominik Duscher, Geoffrey C. Gurtner, H. Peter Lorenz, and Michael T. Longaker / *Advances in Wound Care.* – 2014. - V. 3, №. 5. P. 390–399.

47. Mukandala G. The Effects of Hypoxia and Inflammation on Synaptic Signaling in the CNS / G. Mukandala, R. Tynan, S. Lanigan, J.J. O'Connor // *Brain Sci.* – 2016. - V.6, №1. – P. 1-14.

48. Moorthi P. Pathological changes in hippocampal neuronal circuits underlie age-associated neurodegeneration and memory loss: positive clue toward SAD / P. Moorthi, P. Premkumar, R. Priyanka, K. S. Jayachandran, M. Anusuyadevi // *Neuroscience.* – 2015. – Vol. 301. – P. 90–105.

49. Rogan M. Hypoxia alters posterior cingulate cortex metabolism during a memory task: A 1H fMRS study/ Rogan M., Friend A.T., Rossetti G.M., *Neuroimage.* -202. –V. 15. - P. 260:119397.

50. Lucassen P. J. Neuropathology of stress / P. J. Lucassen, J. Pruessner, N. Sousa, et al. // *Acta Neuropathol.* – 2014. – Vol. 127. – P. 109–135.

51. Lawrence K.M. Chronic intrauterine hypoxia alters neurodevelopment in fetal sheep. Lawrence K.M., McGovern P.E. et al/// *Mejaddam J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2019. – V.157(5). – P.1982-1991.

52. Kremsky I. Fetal hypoxia results in sex- and cell type-specific alterations in neonatal transcription in rat oligodendrocyte precursor cells, microglia, neurons, and oligodendrocytes/ Kremsky I., Ma Q., Li B. et al/// *Cell Biosci/* - 2023. – V. 13. – P. 58.