

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

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

КОЗЛОВА ЮЛІЯ ВАСИЛІВНА

УДК 616.831-001-092:623.565(043.3/.5)

ДИСЕРТАЦІЯ

**ПАТОГЕНЕТИЧНІ МЕХАНІЗМИ УШКОДЖЕННЯ ГОЛОВНОГО
МОЗКУ ЗА УМОВ ДІЇ ВИБУХОВОЇ ХВИЛІ**

14.03.04 - патологічна фізіологія

22 Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук
Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ Ю.В. Козлова

Запоріжжя 2025

АНОТАЦІЯ

Козлова Ю.В. Патогенетичні механізми ушкодження головного мозку за умов дії вибухової хвилі. - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 - патологічна фізіологія (22 «Охорона здоров'я»). - Дніпровський державний медичний університет МОЗ України, Дніпро, 2025.

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2025.

У дисертаційній роботі доповнено і розширено патогенез вибухо-індукованої травми головного мозку на основі експериментального дослідження.

Експериментальні дослідження проведені на статевозрілих 345 щурах самцях лінії Wistar масою 220-270 г, що утримувались в стандартних умовах віварію Дніпровського державного медичного університету (ДДМУ). У приміщенні з щурами підтримувалась стала температура повітря в межах 20-25 °С, вологість в межах 50-60 %. Добовий цикл світло : темрява був 12:12 годин. Їжу та воду надавали *ad libidum* Усіх тварин годували комерційними кукурудзяними та пшеничними гранулами, що були однаковими за складом та кількістю. Для пиття використовували воду з під крану. Відповідно до задач дослідження тварин розподіляли на такі групи експериментальну (Експ) n=136, яким після наркотизації галотаном (Halothan Hoechst AG, Німеччина) та м'якої фіксації відтворювали експериментальну ВІТГМ, контрольну (Контр) n=123, тварин якої піддавали лише впливу наркозу та м'якій фіксації, та 5 інтактну (Інт) n=86, тварин якої не піддавали жодному впливу патологічних факторів. Моделювання ВІТГМ, дослідження поведінки та пам'яті, морфологічні дослідження проведені у лабораторіях кафедри Патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології ДДМУ,

біохімічні дослідження проведено на кафедрі біохімії та медичної хімії ДДМУ, дослідження біометалів головного мозку проведено у лабораторії судово-медичної експертизи КЗ «ДОБСМЕ» м. Дніпро.

За результатами проведеного дослідження у тесті «Відкрите поле» у травмованих щурів встановлені ознаки тривожності, про що свідчили підвищення горизонтальної (на 35%, $p < 0,0001$) та вертикальної рухової активності (у 4 рази, $p < 0,0001$) і зменшення кількості обстежених нірок на 47% ($p < 0,0001$) у 1-у добу, а надалі ці показники зменшувались.

Також у «Відкритому полі» встановили підвищення емоційності за змінами грумінгу, кількості актів та болюсів дефекацій, уринацій, що були особливо інтенсивні з 1-у до 7-ї доби з епізодом втрати страху у 14-у добу й подальшим переходом у стан, подібний до депресії, на що вказувало пригнічення цих рефлексів.

Подібні зміни поведінки прослідковуються й у піднесеному хрестоподібному лабіринті, де у 1-у добу встановили тривожність через скорочення часу перебування у відкритих рукавах на 33% ($p < 0,01$) та зменшення ВРА на 20% ($p < 0,001$). Також у ПХЛ спостерігали порушення адаптації та зростання емоційності, про що свідчило превалювання неповного грумінгу над повним та збільшення актів і болюсів дефекацій, уринацій.

Сприйняття болю, як показник вищої нервової діяльності, оцінювали за реакцією вокалізації щурів. Встановлено ознаки змін больового сприйняття центрального генезу, про що свідчило зменшення сили току на 26% ($p < 0,0001$), необхідної для реакції вокалізації Експ тварин, що відновлюється лише на 28-у добу і також є наслідком травми, при чому знеболювального ефекту галотану у Експ щурів не було, на відміну від тварин Контр групи.

Отримані в дослідженні дані у лабіринті Барнса чітко вказують на порушення просторової пам'яті у травмованих щурів, про це свідчить подовження латентного часу з 1-ї (на 39%, $p < 0,0001$) до 28-ї (на 53%,

$p < 0,0001$) доби. У 3-ю та 7-у добу спостерігались максимальні значення даного показника, що ймовірно пов'язано з перебігом патобіохімічних реакцій. Тварини експериментальної групи обстежували більшу кількість «фальшивих» притулків, пересувались більш хаотично по майданчику лабіринту.

Під час дослідження здатності до просторового навчання у Ж-подібному лабіринті встановили порушення цього процесу, на що вказує хаотичне пересування по лабіринту та подовження латентного часу пошуку годівнички у експериментальних щурів, при цьому вони добре запам'ятали про харчове підкріплення, проявляли високу орієнтовну-дослідницьку діяльність (підвищення ВРА) з порушенням грумінгової поведінки.

Прогресивне порушення асоціативної пам'яті, стан якої оцінювали за умовною реакцією пасивного уникнення, установили у травмованих щурів у 3-ю (на 28%, $p > 0,05$) та 21-у добу (на 79%, $p > 0,05$), проте статистично значущу відмінність від показників Контр та Інт виявили на 28-у добу (96%, $p < 0,05$).

В ході аналізу біометалів встановлено хвилеподібні зміни з поступовим збільшенням масової частки у відсотках міді, збільшення з 1-ї до 7-ї доби та зменшення у 14-у добу заліза та збільшення у 7-у, 14-у та 28-у добу цинку у мозочку Експ щурів. Енергодисперсійний рентгенофлуоресцентний аналіз переднього мозку показав збільшення як самих біометалів, так і їх співвідношень, що є результатом накопичення заліза внаслідок порушення гематоенцефалічного бар'єра. Зміни балансу міді, заліза та цинку вказують на метаболічні порушення і є вторинними факторами у патогенезі ушкодження мозку внаслідок первинного впливу вибухової хвилі. Отримані значущі зміни біометалів у передньому мозку порівняно з мозочком свідчать про важливість урахування напрямку вибухової хвилі щодо положення тіла до неї.

Оцінка активності ензимів антиоксидантної системи на етапах посттравматичного періоду показала зміни з 1-ї до 7-ї доби, зокрема активність каталази зменшувалась у 1-у добу на 35% ($p < 0,0001$), порівняно з інтактними тваринами, що вказує на її залучення до нейтралізації пероксидів. В цей же період рівень глутатіонредуктази крові Експ щурів була вище на 74% ($p < 0,0001$), що вказує на активацію цього ферменту задля відновлення глутатіону у відповідь на оксидативний стрес.

Активність глутатіонпероксидази також була значно вище у експериментальних щурів порівняно з інтактними (на 31%, $p < 0,0001$). Отримані результати свідчать про розвиток оксидативного стресу з 1-ї доби, що триває до 7-ї.

Підвищення вмісту нейротрофічного фактору у період з 1-ї (на 54%, $p < 0,0001$) до 14-ї доби (на 5%, $p < 0,05$) посттравматичного періоду підтверджує його нейропротекторні властивості.

На електронних мікрофотографіях гіпокампа та фронтальної кори щурів Контр групи візуалізуються цілісні однакової товщини та з чіткими контурами структури (гемокапіляр, ядра, мітохондрії, віростки та синапси), набряк відсутній. В той час, як у взірцях Експ щурів вже через 1-у годину після впливу вибухової хвилі визначалися гострі реактивні зміни в нейропілі мозкової тканини (ущільнення нуклео- та цитоплазми), значний набряк усіх структур зі збереженою цілісністю мембран клітин, «скелетування» стінки гемокапіляру, мозаїчні структурні порушення мітохондрій без змін цілісності їх мембран, потовщення міжсинаптичної щілини, зменшення кількості синаптичних пухирців.

На гістопрепаратах різних ділянок головного мозку щурів Контр групи не виявлено жодного крововиливу, порушень судинної стінки, набряку та будь-яких ознак запалення. При дослідженні гістологічних препаратів різних ділянок головного мозку Експ щурів встановлено паретичне розширення судин, наявність розривів капілярів різного діаметра та десквамації

судинного ендотелію, екстравазальну агрегація незмінених еритроцитів, що мали дифузний характер.

Серед змін, які виникали в судинах мозку після впливу вибухової хвилі, провідне значення мали фокальні порушення цілісності судинної стінки в кортикальних та гіпокампальних гемокапілярах, венулярній ланці підоболонкових судин, зміни морфології ендотелію обмінних судин, нерівномірне їх кровонаповнення, що фіксувалися до 28-ї доби посттравматичного періоду.

Візуальне порівняння отриманих результатів показало значну експресію eNOS в судинах головного мозку травмованих щурів у 1-у та 3-ю добу. Форма судин мала гофроподібний вигляд, шар ендотелію та базальна мембрана потовщені за рахунок набряку, частина судин була паретично розширена або колапсована. В динаміці подальшого перебігу, експресія eNOS у судинах головного мозку Експ щурів поступово зменшувалася і на 21-28-у добу майже не відрізнялася від взірців щурів Контр групи. Проте збільшення діаметра судин все ще зберігалось.

Оцінка MMP-2 показала, що у експериментальних щурів інтенсивність і площа експресії як у корі головного мозку, так і в гіпокампі суттєво перевищує показники контрольних тварин. В корі головного мозку в ранньому посттравматичному періоді зафіксовані найбільші показники ділянок експресії, найменші – на 7-у та 14-у добу. Аналогічні тенденції спостерігалися й у гіпокампі. Отримані результати свідчать про те, що MMP-2 має розповсюджену експресію у головному мозку та, вочевидь, залучається до ушкодження ГЕБ.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше було виконано комплексне дослідження поведінки та пам'яті у гострому та ранньому періодах легкої вибухо-індукованої травми головного мозку.

Вперше показано, що поведінка травмованих щурів має періоди збудження та тривожності, які змінюються анксиолітичним станом з переходом у стан, подібний до депресії.

Вперше досліджено динаміку змін вмісту біометалів Cu, Fe та Zn та їх співвідношень у передньому мозку та мозочку у тварин з легкою вибухо-індукованою травмою головного мозку, яка супроводжувалась хвилеподібними змінами з 1-ї до 28-ї доби та вказувала на метаболічні порушення.

Вперше встановлено, що eNOS залучена у патогенез вазодилатації в гострому періоді, тоді як до патогенезу вазодилатації у ранньому періоді вибухо-індукованої травми головного мозку залучена MMP-2, про що свідчило збільшення відносної площі її експресії.

Вперше встановлені ультраструктурні зміни гіпокампа та кори головного мозку через 1-у годину після опромінення вибуховою хвилею та показано розвиток набряку нейронів, їх органел та відростків, ушкодження мітохондрій, а також підтверджено ушкодження гемокapілярів.

Вперше встановлено та обґрунтовано причинно-наслідкові зв'язки між поведінково-когнітивними показниками та змінами біометалів, біохімічних і патоморфологічних ознак в динаміці легкої вибухо-індукованої травми головного мозку.

Встановлено, що в динаміці вибухо-індукованої травми головного мозку відбувається прогресивне порушення асоціативної пам'яті, просторового навчання та просторової пам'яті зі збереженням пам'яті про харчове підкріплення.

Доведено, що в результаті однократного впливу вибухової хвилі легкого ступеня на головний мозок розвивається оксидативний стрес зі змінами активності каталази, глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази крові експериментальних щурів.

Доведено, що наслідком впливу вибухової хвилі є дифузне ушкодження тканини головного мозку й судин гемато-енцефалічного бар'єра без масивних крововиливів з тривалою вазодилатацією.

Доповнені дані щодо зниження больового порогу у щурів через вибухо-індуковану травму головного мозку, які безпосередньо пов'язані з його ушкодженням.

Підтверджено нейропротекторні властивості нейротрофічного фактору BDNF, активність якого підвищилась після впливу вибухової хвилі.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані результати доповнюють і розширюють патогенез вибухо-індукованої травми головного мозку, що дає можливість розробити патогенетично обґрунтовані шляхи фармакологічної корекції залежно від особливостей перебігу гострого та раннього посттравматичного періоду, а також для розробки шляхів профілактики ускладнень.

Виявлені зміни активності каталази, глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази можливо застосовувати як біомаркери для прижиттєвої діагностики оксидативного стресу при вибухо-індукованій травмі головного мозку. Та за рівнями BDNF можливо простежити перебіг компенсаторних реакцій.

Встановлені зміни біометалів, а також ультраструктурні та патоморфологічні ознаки вибухо-індукованої травми можна застосовувати для постмортальної діагностики вибухо-індукованої травми головного мозку.

Публікації. За результатами дисертації опубліковано 40 наукових робіт, з них 21 основна стаття (5 - одноосібно): 13 - у вітчизняних періодичних виданнях категорії Б; 6 - у виданнях, що індексуються у Scopus (з них 1 - в іноземному виданні); 2 - у виданнях, що індексуються у Web of Science. Додатково - 3 статті у фахових виданнях; 1 патент на корисну модель України. 15 публікацій у матеріалах наукових конференцій України.

Обсяг статей є достатнім для презентацій результатів дисертаційного дослідження.

Ключові слова: вибухова травма, експериментальна модель, щур, головний мозок, когнітивна функція, рухова активність, орієнтовно-дослідницька діяльність, емоційний стан, електрошкірна стимуляція, біометали, оксидативний стрес, нейротрофічний фактор, ультраструктура, цифрова морфометрія, матриксна металопротеїназа-2.

ANNOTATION

Kozlova Yu.V. Pathogenetic mechanisms of brain damage under blast wave action. - On the rights of the manuscript.

Thesis for the degree of Doctor of Medical Science (M.D.) in specialty 14.03.04 - Pathological Physiology (22 «Health Care»). - Dnipro State Medical University of MHU, Dnipro, 2025.

Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University of MHU, Zaporizhzhia, 2025.

The pathogenesis of blast-induced brain injury has been supplemented and expanded on the basis of an experimental study.

Experimental studies were carried out on sexually mature 345 male Wistar rats weighing 220-270 g, which were kept in standard conditions of the Dnipro State Medical University (DSMU) vivarium. The room with the rats was kept at a constant air temperature of 20-25 °C and humidity of 50-60%. The daily light-dark cycle was 12:12 hours. Food and water were provided ad libitum. All animals were fed commercial corn and wheat pellets of the same composition and quantity. Tap water was used for drinking. In accordance with the objectives of the study, animals were divided into the following groups: experimental (Exp) n=136, which after anesthesia with halothane (Halothan Hoechst AG, Germany) and soft fixation were subjected to experimental blast-induced traumatic brain injury (bTBI), sham (Sh) n=123, which were subjected only to anesthesia and soft fixation, and 5 intact (Int) n=86, which were not exposed to any pathological factors. The simulation of bTBI, behavioral and memory studies, morphological studies were conducted in the laboratories of the Pathological Anatomy, Forensic Medicine and Pathological Physiology Department of DSMU, biochemical studies were conducted at the Biochemistry and Medical Chemistry Department of DSMU, and the study of brain biometals was conducted in the laboratory of forensic medicine of the

Dnipropetrovsk Regional Bureau of Forensic Medical Expertise of the Dnipropetrovsk Regional Council, Dnipro.

According to the results of the study, signs of anxiety were found in the 'Open field' test in injured rats, as evidenced by an increase in horizontal (by 35%, $p < 0,0001$) and vertical motor activity (4 times, $p < 0,0001$) and a decrease in the number of examined kidneys by 47% ($p < 0,0001$) on day 1st, and these indicators decreased further.

Also, an increase in emotionality was found in the «Open Field», based on changes in grooming, the number of defecation acts and boluses, and urination, which were especially intense from 1st to 7th days, with an episode of fear loss on day 14th and a subsequent transition to a depression-like state, as indicated by the suppression of these reflexes.

Similar behavioural changes were observed in the elevated cruciform maze, where anxiety was diagnosed on 1st day due to a 33% reduction in the time spent in the open arms ($p < 0,01$) and a 20% reduction in the vertical motor activity ($p < 0,001$). In addition, adaptation disorders and increased emotionality were observed in elevated plus maze, as evidenced by the prevalence of incomplete grooming over complete grooming and an increase in acts and boluses of defecation and urination.

Pain perception, as an indicator of higher nervous activity, was assessed by the rats vocalization response. Signs of pain perception changes on central genesis were found, as evidenced by a 26% ($p < 0.0001$) decrease in the current strength required for the vocalization response of the Exp animals, which was restored only on day 28th and was also a consequence of trauma, and there was no analgetic effect of halothane in the Exp rats, unlike the animals of the Sham group.

Our data obtained in the Barnes maze clearly indicate a violation of spatial memory in injured rats, as evidenced by the prolongation of latent time from 1st (by 39%, $p < 0.0001$) to 28th (by 53%, $p < 0.0001$) days. On the 3rd and 7th days, the maximum values of this indicator were observed, which is probably due to the

course of pathobiochemical reactions. Animals of the Exp group examined a larger number of «fake» shelters, moved more chaotically around the maze area.

During the study of the ability to spatial learning in the complex maze, a violation of this process was found, as indicated by chaotic movement through the maze and prolongation of the latent time of searching for a feeder in Exp rats, while they remembered food reinforcement well, showed high orientational/research activity (increased vertical movement activity) with impaired grooming behavior.

Progressive impairment of associative memory, which was assessed by the conditioned passive avoidance response, was found in injured rats on 3rd day (by 28%, $p>0.05$) and 21st day (by 79%, $p>0.05$), but a statistically significant difference between Exp and the Sh/Int values was found on 28th day (96%, $p<0.05$).

The analysis of biometals revealed wavelike changes with a gradual increase in the mass fraction of copper, an increase from 1st to day 7th day and a decrease in 14th day of iron and an increase on 7th, 14th and 28th days of zinc in the cerebellum of the Exp rats. The accumulation of iron in the cerebellum on 1st and 3rd days leads to an imbalance of copper and zinc on 7th day and triggers a vicious circle of neuronal damage, as evidenced by an increase in their ratios against the background of iron reduction by 28th day. Energy dispersive X-ray fluorescence analysis of the forebrain showed an increase both - biometals and their ratios, which is the result of iron accumulation due to a breakdown of the blood-brain barrier. Changes in the balance of copper, iron, and zinc indicate metabolic disorders and are secondary factors in the pathogenesis of brain damage due to the primary impact of the blast wave. The obtained significant changes in biometals in the forebrain compared to the cerebellum indicate the importance of taking into account the direction of the blast wave relative to the position of the body towards it.

Assessment of the antioxidant system enzymes activity at the stages of the posttraumatic period showed changes from 1st to 7th day, in particular, catalase activity decreased on 1th day by 35% ($p<0,0001$) compared to Int animals, indicating its involvement in the neutralization of peroxides. During the same period, the level of glutathione reductase in the blood of the Exp rats was 74% higher ($p<0,0001$), indicating the activation of this enzyme to restore glutathione in response to oxidative stress.

The activity of glutathione peroxidase was also significantly higher in experimental rats compared to intact rats (by 31%, $p<0,0001$). The results obtained indicate the development of oxidative stress from 1st day, which lasts up to 7th day.

Increase the content of neurotrophic factor in the period from the 1st (54%, $p<0.0001$) to the 14th day (5%, $p<0.05$) of the posttraumatic period confirms its neuroprotective properties.

The electron micrographs of the hippocampus and frontal cortex of the Sh rats show whole structures of equal thickness and with clear contours (hemocapillary, nuclei, mitochondria, spines and synapses), no edema. While in the samples of Exp rats already 1 hour after exposure to the blast wave, acute reactive changes in the neuropil of the brain tissue (nucleoplasmic and cytoplasmic compaction), significant edema of all structures with preserved integrity of cell membranes were detected, «skeletonization» of the hemocapillary wall, mosaic structural disorders of mitochondria without changes in the integrity of their membranes, thickening of the intersynaptic gap, and a decrease in the number of synaptic vesicles.

The histological preparations of different brain parts of the Sh rats did not reveal any hemorrhage, vascular wall disorders, edema, or any signs of inflammation. In the study of histological preparations of different brain parts of the Exp rats paretic vasodilation, the presence of different diameters capillary

ruptures and vascular endothelial desquamation, extravasal aggregation of unchanged red blood cells were found. These changes were diffuse.

Among the changes that occurred in the brain vessels after exposure to the blast wave, the most important were focal violations of the vascular wall integrity in cortical and hippocampal hemocapillaries, the venular link of the submembrane vessels, changes in the morphology of the endothelium of metabolic vessels, uneven blood filling, which were recorded up to 28th day of the posttraumatic period.

Visual comparison of the obtained results showed significant expression of eNOS in the cerebral vessels of injured rats on 1st and 3rd days. The shape of the vessels was corrugated, the endothelial layer and basement membrane were thickened due to edema, and some vessels were paretic dilated or collapsed. In the dynamics of the further course, the expression of eNOS in the brain vessels of the Exp rats gradually decreased and by 21-28th day was almost no different from the samples of the Sh group. However, an increase in vessel diameter was still observed.

Evaluation of MMP-2 showed that in Exp rats, the intensity and area of expression in both the cerebral cortex and hippocampus significantly exceeded that of Sham animals. In the cerebral cortex in the early post-traumatic period, the highest expression areas were recorded, the lowest - on 7th and 14th days. Similar trends were observed in the hippocampus. These results indicate that MMP-2 is widely expressed in the brain and is apparently involved in blood-brain barrier damage.

Scientific novelty of the obtained results. For the first time, a comprehensive study of behaviour and memory in the acute and early periods of mild blast-induced traumatic brain injury was performed.

For the first time, it was shown that the behaviour of traumatised rats has periods of excitement and anxiety, which are followed by anxiolytic state with a transition to a depression-like state.

The dynamics of changes in the content of biometals Cu, Fe and Zn and their ratios in the forebrain and cerebellum in animals with blast-induced traumatic brain injury, which was accompanied by wave-like changes from 1st to 28th day and indicated metabolic disorders, was studied for the first time.

For the first time, it was found that eNOS is involved in the pathogenesis of vasodilation in the acute period, whereas MMP-2 is involved in the pathogenesis of vasodilation in the early period of blast-induced traumatic brain injury, as evidenced by an increase in the relative area of its expression.

For the first time, ultrastructural changes in the hippocampus and cerebral cortex were identified 1 hour after blast wave exposure and the development of neuronal edema, their organelles and processes, mitochondrial damage, and haemocapillary damage were shown.

For the first time, the cause-and-effect relationships between behavioural and cognitive indicators and changes in biometals, biochemical and pathological features in the dynamics of mild blast-induced traumatic brain injury were established and substantiated.

It has been established that in the dynamics of blast-induced traumatic brain injury, there is a progressive impairment of associative memory, spatial learning and spatial memory with preservation of the memory of food reinforcement.

It has been proven that a single exposure to a mild blast wave on the brain causes oxidative stress with changes in the activity of catalase, glutathione peroxidase and glutathione reductase in the blood of experimental rats.

It was proved that the blast wave caused diffuse damage to the brain tissue and blood-brain barrier vessels without massive haemorrhages with prolonged vasodilation.

The data on the reduction of pain threshold in rats due to blast-induced traumatic brain injury, which are directly related to its damage, have been supplemented.

The neuroprotective properties of the neurotrophic factor BDNF, whose activity increased after exposure to a blast wave, were confirmed.

Practical significance of the obtained results. The results obtained complement and expand the pathogenesis of blast-induced traumatic brain injury, which makes it possible to develop pathogenetically based ways of pharmacological correction depending on the characteristics of the course of the acute and early post-traumatic period, as well as to develop ways to prevent complications.

The detected changes in the activity of catalase, glutathione peroxidase and glutathione reductase can be used as biomarkers for the *in vivo* diagnosis of oxidative stress in blast-induced brain injury. And BDNF levels can be used to trace the course of compensatory reactions.

The established changes in biometals, as well as ultrastructural and pathological signs of blast-induced trauma, can be used for postmortem diagnosis of blast-induced traumatic brain injury.

Publications. Based on the results of the dissertation, 40 scientific works have been published, of which 21 are represented by main articles in professional journals (5 - mono-authored): 13 - in the Ukrainian of category B; 6 - in journals indexed by Scopus (1 of which - in the foreign journal); 2 - in journals indexed by Web of Science. Additionally - 3 articles in professional journals; 1 patent for a utility model of Ukraine. 15 publications in the materials of scientific conferences of Ukraine. The number of publications is sufficient for presentation of the results of the dissertation research.

Keywords: *blast-induced injury, experimental model, rat, brain, cognitive function, motor activity, orientational/research activity, emotional state, electrocutaneous stimulation, biometals, oxidative stress, neurotrophic factor, ultrastructure, digital morphometry, matrix metalloproteinase-2.*

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковано основні наукові результати дисертації:

1. Козлов СВ, Мішалов ВД, Сулоєв КМ, Козлова ЮВ. Патоморфологічні маркери вибухо-індукованої травми головного мозку. Морфологія. 2021;15(3):96–100. <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2021.3.96-100>

(Козлова Ю.В. аналіз літератури, аналіз та узагальнення результатів, редагування та підготовка до друку, Козлов С.В. написання статті, Мішалов В.Д. аналіз епідеміологічних даних, Сулоєв К.М. аналіз гістологічних препаратів).

2. Козлова ЮВ, Колдунов ВВ, Алексеєнко ОА, Козлова КС, Гончаренко СО. Вибухо-індукована нейротравма (патофізіологічні та патоморфологічні особливості). Український Журнал Медицини, Біології та Спорту. 2021;6(5):83-88. <https://doi.org/10.26693/jmbs06.05.083>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, статистична обробка та аналіз отриманих результатів, написання статті, Колдунов В.В. остаточне затвердження статті, Алексеєнко О.А. аналіз гістологічних препаратів, Козлова К.С. аналіз літератури, Гончаренко С.О. підготовка до друку).

3. Козлова ЮВ, Демченко ОМ, Козлов СВ, Родинський ОГ, Трясак НС. Оцінка компонентів поведінки в піднесеному хрестоподібному лабіринті після дії зовнішніх та внутрішніх чинників. Експериментальна і Клінічна Медицина. 2022;91(1):5-12. <https://doi.org/10.35339/ekm.2022.91.1.kmk>

(Козлова Ю.В. концептуалізація статті, планування та проведення експериментального дослідження у щурів з вибухо-індукованою травмою головного мозку, статистична обробка, аналіз та узагальнення отриманих результатів, аналіз літератури, написання статті, Демченко О.М.

планування та проведення експериментального дослідження у щурів з експериментальним гіпертиреозом, статистична обробка та аналіз отриманих результатів, написання статті, Козлов С.В. остаточне затвердження статті, Родинський О.Г. остаточне затвердження статті, Трясак Н.С. підготовка до друку).

4. Kozlova YuV, Kozlova KS. The impact of blast-induced traumatic brain injury on passive avoidance response. *Клінічна Анатомія та Оперативна Хірургія*. 2022;21(1,77):15-19. <https://doi.org/10.24061/1727-0847.21.1.2022.03>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, статистична обробка, аналіз та узагальнення отриманих результатів, написання та остаточне затвердження статті, Козлова К.С. аналіз літератури, підготовка статті до друку).

5. Kozlova YuV, Maslak HS, Abraimova OE, Koldunov VV, Khudyakov OE. State of spatial memory and antioxidant system activity of rats in the dynamics of development of Blast-induced traumatic brain injury. *Медичні Перспективи*. 2022;27(3):27-32. **(SCOPUS)** <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.3.265769>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, статистична обробка, аналіз та узагальнення отриманих результатів, написання статті, Маслак Г.С. остаточне затвердження статті, Абраїмова О.Є. проведення біохімічного дослідження, Колдунов В.В. редагування статті, Худяков О.Є. аналіз літератури).

6. Kozlova YuV, Tryasak NS, Klopotskyi GA, Kozlova KS. Morphological characteristics of the blood-brain barrier in 1 day of experimental blast-induced traumatic brain injury. *Морфологія*. 2022;16(3):148-152. <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2022.3.148-152>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, аналіз гістологічних препаратів, узагальнення отриманих результатів, написання статті, Трясак Н.С. редагування статті,

Клопоцький Г.А. остаточне затвердження статті, Козлова К.С. аналіз літератури, підготовка до друку).

7. Kozlova YuV, Tryasak NS, Zakharova DO, Kozlova KS. Learning ability and spatial memory status in rats during the acute period of mild blast-induced traumatic brain injury. *Експериментальна і Клінічна Медицина*. 2023;92(1):6-12. <https://doi.org/10.35339/ekm.2023.92.1.ktz>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, статистична обробка, аналіз та узагальнення отриманих результатів, написання та остаточне затвердження статті, Трясак Н.С. редагування статті, Захарова Д.О. підготовка до друку, Козлова К.С. аналіз літератури).

8. Kozlova YuV, Kozlov SV. Changes of trace elements in cerebellum and their influence on the rats behavior in elevated plus maze in the acute period of mild blast-induced brain injury. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2023;78(127189):1-6. **(SCOPUS)**
<https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2023.127189>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, аналіз літератури, статистична обробка, узагальнення отриманих результатів, написання та підготовка статті до друку, Козлов С.В. Енергодисперсійний рентгенофлуоресцентний аналіз, остаточне затвердження статті).

9. Kozlova YuV. Trace elements changes in forebrain and their influence on the rats behavior in elevated plus maze in acute period of mild blast traumatic brain injury. *Медичні Перспективи*. 2023;28(2):10-20. **(SCOPUS)**
<https://doi.org/10.26641/2307-0404.2023.2.283151>

10. Kozlova YuV, Koldunov VV, Klopotskyi GA. Method and device for shock wave modeling (literature review). *Одеський Медичний Журнал*. 2023;2(183):108-110. **(SCOPUS)** <https://doi.org/10.54229/2226-2008-2023-2-20>

(Козлова Ю.В. відбір, аналіз та узагальнення літератури, написання статті, Колдунов В.В. остаточне затвердження статті, Клопоцький Г.А. підготовка статті до друку).

11 Kozlova YuV. Changes of biometals in the rat forebrain in the early period of blast-induced traumatic brain injury. *Актуальні Проблеми Сучасної Медицини: Вісник Української Медичної Стоматологічної Академії*. 2023;23(3):94-98. <https://doi.org/10.31718/2077-1096.23.3.94>

12. Козлова ЮВ, Бондаренко МО, Сутирін ДО. Статеві відмінності у поведінці щурів у ранньому періоді легкої вибухо-індукованої травми головного мозку. *Перспективи та Інновації Науки*. 2024;1(35):946-956. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-16\(34\)](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-16(34))

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, статистична обробка, аналіз та узагальнення отриманих результатів, написання статті, Бондаренко М.О. підготовка до друку, Сутирін Д.О. аналіз літератури).

13. Kozlova YuV, Maslak YS, Netronina OV, Abraimova OYe, Kozlov SV. The state of antioxidant system end emotional status in rats with mild blast-induced traumatic brain injury. *Запорізький Медичний Журнал*. 2024;26(1):53-58. **(WEB OF SCIENCE)** <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2024.1.291777>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, статистична обробка, аналіз та узагальнення отриманих результатів, написання статті, Маслак Г.С. остаточне затвердження статті, Нетроніна О.В. статистична обробка результатів біохімічного дослідження, Абраїмова О.Є. біохімічне дослідження, Козлов С.В. підготовка статті до друку).

14. Kozlova YuV, Kozlov SV, Maslak HS, Bondarenko OO, Dunaev OV, Oberemok MH. Changes of rat`s brain vessels after air shock wave exposure. *Вісник Морфології*. 2024;30(1):55-60. **(SCOPUS)** [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(1\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(1)-07)

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, аналіз та узагальнення отриманих результатів, написання статті, Козлов С.В. редагування статті, Маслак Г.С. остаточне затвердження статті, Бондаренко О.О. аналіз гістологічних препаратів, Дунаєв О.В. аналіз літератури, підготовка статті до друку, Оберемок М.Г. підготовка гістонпрепаратів головного мозку щурів).

15. Козлова ЮВ. Рухова активність щурів із вибухо-індукованою травмою головного мозку в Ж-подібному лабіринті. Буковинський Медичний Вісник. 2024;28(1,109):35-40. <https://doi.org/10.24061/2413-0737.28.1.109.2024.6>

16. Kozlova YuV. Influence of trace elements changes in cerebellum on rat's behavior in elevated plus maze in the early period of mild blast-induced traumatic brain injury. Патологія. 2024;21(1):28-33. **(WEB OF SCIENCE)** <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2024.1.296887>

17. Козлова ЮВ. Дослідницька діяльність щурів у гострому періоді легкої вибухо-індукованої травми головного мозку. Актуальні Проблеми Сучасної Медицини: Вісник Української Медичної Стоматологічної Академії. 2024;24(1):89-93. <https://doi.org/10.31718/2077-1096.24.1.89>

18. Kozlov SV, Kozlova YuV, Bondarenko NS, Bondarenko OO. Histopathological and ultrastructural changes in the rats brain after air shock wave impact. Медичні Перспективи. 2024;29(1):16-26. **(SCOPUS)** <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2024.1.300497>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, аналіз та узагальнення отриманих результатів, написання та підготовка до друку статті, Козлов С.В. редагування та остаточне затвердження статті, Бондаренко Н.С. проведення електронної мікроскопії, Бондаренко О.О. підготовка гістонпрепаратів головного мозку щурів).

19. Козлова ЮВ, Козлов СВ, Маслак ГС, Нетроніна ОВ, Абраїмова ОЄ. Оцінка експресії MMP2 в структурах головного мозку щурів в динаміці посттравматичного періоду після впливу ударної повітряної хвилі. Перспективи та Інновації Науки. 2024;4(38):1293-1302. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-4\(38\)](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-4(38))

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, статистична обробка, аналіз за допомогою програми ImageJ, узагальнення отриманих результатів, написання статті, Козлов С.В. редагування статті, Маслак Г.С. остаточне затвердження статті, Нетроніна О.В. аналіз літератури, Абраїмова О.Є. підготовка статті до друку).

20. Козлова ЮВ, Маслак ГС, Нетроніна ОВ, Абраїмова ОЄ. Експресія BDNF у щурів в динаміці вибухо-індукованої травми головного мозку. Перспективи та Інновації Науки. 2024;8(42):1075-1084. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-8\(42\)](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-8(42))

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, статистична обробка, аналіз та узагальнення результатів, написання статті, підготовка до друку, Маслак Г.С. остаточне затвердження статті, Нетроніна О.В. аналіз літератури, Абраїмова О.Є. біохімічне дослідження).

21. Козлова ЮВ, Корзаченко МА, Агарков СФ, Радіонов ВК, Башта ІГ. Механізми первинного і вторинного пошкодження головного мозку в умовах впливу вибухової хвилі (огляд літератури). Перспективи та Інновації Науки. 2024;7(41): 1059-1073. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-7\(41\)](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-7(41))

(Козлова Ю.В. відбір, аналіз та узагальнення літератури, написання статті, Корзаченко М.А. остаточне затвердження статті, Агарков С.Ф. оформлення списку літератури, Радіонов В.К. редагування статті, Башта І.Г. підготовка статті до друку).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

22. Козлов СВ, Козлова ЮВ. Наук.-практ. конф. Патоморфологічні маркери дії вибухової хвилі на мозок людини. Прикладні аспекти морфології. 21-22 вересня 2017 р. Вінниця, 2017:96-97. Доступно з: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.vnmu.edu.ua/downloads/pdf/konf_asp_morf_20170426-110013.pdf

(Козлова Ю.В. аналіз літератури, узагальнення результатів, редагування та підготовка тез до публікації, Козлов С.В. затвердження тез).

23. Ніколайчик АМ, Козлова ЮВ. VII Пленум Українського наук. товариства патофізіологів та наук.-практ. конф., присвячених 110-річчю з дня народж. чл.-кор. АМН СРСР, проф. Зайка М.Н. Ударна хвиля як сучасний фактор ураження ЦНС. 11 жовтня 2018 р. Полтава, 2018:64-65. Доступно з: <https://repo.dma.dp.ua/id/eprint/4694>

(Козлова Ю.В. аналіз літератури, узагальнення результатів, затвердження тез, Ніколайчик А.М. написання та підготовка тез до публікації)

24. Сбітнєв ІВ, Козлова КС, Козлова ЮВ, Колдунов ВВ. І наук.-практ. конф. студентів і молодих вчених з міжнар. уч. Зміни емоційного стану щурів у тесті «Відкрите поле» на тлі вибухо-індукованої нейротравми легкого ступеня важкості. Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації, 15 травня 2019 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2019:159-160. Доступно з: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://pat.nuph.edu.ua/pdf/zbirn_t_ez.pdf

(Козлова Ю.В. планування та проведення експерименту, аналіз та узагальнення результатів, написання тез, Сбітнєв І.В. аналіз літератури, Козлова К.С. статистична обробка результатів, Колдунов В.В. затвердження тез).

25. Козлова ЮВ, Козлов СВ, Трясак НС, Кістриця ДВ. Наук.-практ. конф. Спонтанна індивідуальна поведінкова активність щурів у тесті «Відкрите поле» за умов ударно-хвильового ураження головного мозку легкого ступеня важкості. XVIII–і читання В.В. Підвисоцького, 21–22 травня 2019 р. Одеса : УкрНДІ медицини транспорту, 2019:96-97. Доступно з: <https://www.researchgate.net/profile/Yuliia-Kozlova>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експерименту, аналіз та узагальнення результатів, написання тез, Козлов С.В. затвердження тез, Трясак Н.С. підготовка тез до публікації, Кістриця Д.В. аналіз літератури).

26. Козлова ЮВ, Козлов СВ. XII Всеукр. наук.-практ. конф. Стан просторової пам'яті щурів у гострому та ранньому періодах легкої баротравми головного мозку. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», присвяченої Ювілейним датам засновників кафедри патофізіології ТДМІ 110-річчю проф. Бергера Е.Н. і 90-річчю проф. Маркової О.О., 29–30 жовтня 2020 р. Тернопіль, 2020:55-56. Доступно з: <https://www.researchgate.net/profile/Yuliia-Kozlova>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експерименту, аналіз та узагальнення результатів, написання та підготовка тез, Козлов С.В. аналіз літератури, затвердження тез).

27. Козлова ЮВ. III наук.-практ. internet-конф. з міжнар. уч. Зміни орієнтовно-дослідницької активності щурів з експериментальною вибухо-індукованою нейротравмою в піднятому хрестоподібному лабіринті. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція, 19 листопада 2020 р. Харків : Вид-во НФау, 2020:130. Доступно з: <https://pat.nuph.edu.ua/iii-naukovo-praktychna-internet-konferentsiia-z/>

28. Сбітнєв ІВ, Логвінова ТО, Козлова ЮВ. Всеукр. студ. наук.-практ. конф. Стан просторової пам'яті щурів у гострому та ранньому періодах легкої вибухо-індукованої нейротравми. Теоретичні та прикладні аспекти фундаментальних медико-біологічних наук, 20 травня 2021 р. Львів : Вид-во

Львівської політехніки, 2021:156-158. Доступно з:
<https://www.researchgate.net/profile/Yuliia-Kozlova>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експерименту, аналіз та узагальнення результатів, затвердження тез, Сбітнєв І.В. написання та підготовка тез, Логвінова Т.О. аналіз літератури,).

29. Зейналова АМ, Козлова ЮВ. XXI конф. студ. та мол. учених. Загальні клінічні ознаки легкої вибухо-індукованої нейротравми. Новини і перспективи медичної науки. Дніпро; 2021:59. Доступно з:
<https://drive.google.com/file/d/1attk8qlH3nfVqusHUNyb8VfKBwdPvIaM/view>

(Козлова Ю.В. аналіз та узагальнення літератури, затвердження тез, Зейналова А.М. написання та підготовка тез до друку).

30. Козлова ЮВ, Худяков ОЄ, Колдунов ВВ, Клопоцький ГА. VIII Національний конгрес патофізіологів України. Емоційний стан щурів з експериментальною легкою вибухо-індукованою нейротравмою. Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України» присвячений 120-річчю Одеської патофізіологічної школи, 6-8 жовтня 2021 р. Одеса, 2021:113-114. Доступно з: <https://www.researchgate.net/profile/Yuliia-Kozlova>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, аналіз літератури, написання тез, Худяков О.Є. підготовка тез до публікації, Колдунов В.В. затвердження тез, Клопоцький Г.А. узагальнення результатів).

31. Козлова ЮВ. V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнарод. участю Патоморфологічні зміни головного мозку щурів у гострому періоді легкої вибухо-індукованої нейротравми. Теорія та практика сучасної морфології, 20-22 жовтня 2021 р. Дніпро, 2021:59-60. Достуно з: <https://repo.dma.dp.ua/7262/>

32. Khan SMA, Kozlova YuV, Koldunov VV. XXII наук. конф. студ. та молодих учених. Changes of Cu/Fe ratio in the cerebellum in first day after experimental blast-induced traumatic brain injury. Новини і перспективи

медичної науки. Дніпро, 2022:36. Доступно з:
<https://drive.google.com/file/d/1hguap1qwTXecAJVOX7e2nyCGPV0l6Le7/view>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, аналіз та узагальнення літератури, написання тез, Кхан С.М.А. підготовка тез до публікації, Колдунов В.В. затвердження тез).

33. Kozlova YuV, Kozlov SV. Всеукр. конф. з нейронаук м. Київ, присвячена 90 річчю від дня народження академіка Володимира Скока. Changes in the pain threshold in rats in 1-week development of experimental blast traumatic brain injury, 25-27 липня 2022 р. Київ, 2022:31-32. Доступно з:
<https://fz.kiev.ua/index.php?list1=147>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, аналіз та узагальнення результатів, написання та підготовка тез до публікації, Козлов С.В. затвердження тез).

34. Kozlova YuV, Kozlova KS. Наук.-практ. конф. Catalase activity of rats in the 1 week of blast-induced traumatic brain injury. XXI читання ім. В.В. Підвисоцького, 23-24 червня 2022 р. Одеса : УкрНДІ медицини транспорту, 2022:7-8. Доступно з: <https://www.researchgate.net/profile/Yuliia-Kozlova>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, аналіз та узагальнення результатів, написання та підготовка тез до публікації, Козлова К.С. затвердження тез).

35. Козлова ЮВ, Колдунов ВВ, Клопоцький ГА. Наук.-практ. конф. Вплив вибухо-індукованої травми головного мозку на здатність до навчання в Ж-подібному лабіринті. XXII читання ім. В.В. Підвисоцького, 18–19 травня 2023 р. Одеса : УкрНДІ медицини транспорту, 2023:89-90. Доступно з:
<https://www.researchgate.net/profile/Yuliia-Kozlova>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, аналіз літератури, написання підготовка тез до публікації, Колдунов В.В. затвердження тез, Клопоцький ГА. узагальнення результатів).

36. Козлова ЮВ, Маслак ГС, Нетроніна ОВ, Абраїмова ОЄ. Міжнарод. конф. з нейронаук та Наукових читань, присвячених вісцеральній фізіології та патофізіології. Глутатіонредуктаза - маркер оксидативного стресу при вибухо-індукованій травмі головного мозку, 19-21 листопада 2024 р. Київ : ВД «Академперіодика» НАН України, 2024:46-47. Доступно з: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://fz.kiev.ua/journals/2024_V.70/5S/Fzh-5S_2024.pdf

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, аналіз літератури, написання тез, Маслак Г.С. затвердження тез, Нетроніна О.В. узагальнення результатів, Абраїмова О.Є. підготовка тез до публікації,).

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

37. Мамедов ШМ, Ткаченко ОВ, Козлов СВ, Видиш КП, Козлова ЮВ, Лисиця О. Патоморфологічні аспекти вибухової травми (порівняльна характеристика ушкоджень, спричинених протипіхотними уламковими мінами ОЗМ-72 та МОН-50). Судово-медична експертиза. 2017;1:102–106. <https://doi.org/10.24061/2707-8728.1.2017.25>

(Козлова Ю.В. аналіз літератури, узагальнення результатів, редагування та підготовка статті до публікації, Мамедов Ш.М. судово-медичне дослідження тіл загиблих, Ткаченко О.В. судово-медичне дослідження тіл загиблих, Козлов С.В. написання статті, Видиш К.П. дослідження ушкоджень шкіри).

38. Козлова ЮВ, Абдул-Огли ЛВ, Кошарний АВ, Китова ІВ, Корзаченко МА. Пристрій для дослідження дії на організм ударної хвилі вибуху. – Патент на корисну модель;146858 У. бюл.12:24.03.2021. Доступно з: <https://sis.nipo.gov.ua/uk/search/detail/1584578/>.

(Козлова Ю.В. аналіз вітчизняної та міжнародної бази патентів, огляд літератури, концептуалізація шляхів удосконалення та розробка пристрою, Абдул-Огли Л.В. аналіз літератури, Кошарний А.В. апробація пристрою, Китова М.А. оформлення супровідної документації, Корзаченко М.А. підготовка документації для подання)

39. Kozlova YuV Behavior of rats in the open field within the early period after light-degree blast-induced neurotrauma. Neurophysiology. 2022;53(2):101-108. <https://doi.org/10.1007/s11062-022-09921-z>

40. Kozlova YuV, Demchenko OM. Excitability of the nociceptive system in rats after blast-induced traumatic brain injury. Neurophysiology. 2022;54(3-4):136-142. <https://doi.org/10.1007/s11062-024-09945-7>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, аналіз літератури, статистична обробка, узагальнення отриманих результатів, написання та підготовка статті до друку, Демченко О.М. остаточне затвердження статті).

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ І СКОРОЧЕНЬ	33
ВСТУП	34
РОЗДІЛ 1 ЕПІДЕМІОЛОГІЯ, ПАТОГЕНЕЗ І МАРКЕРИ ВИБУХО-ІНДУКОВАНОЇ ТРАВМИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ. ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ МОДЕЛЕЙ (огляд літератури)	43
1.1 Епідеміологія вибухо-індукованої травми головного мозку	43
1.2 Особливості патогенезу вибухо-індукованої травми головного мозку	48
1.3 Основні маркери вибухо-індукованої травми головного мозку	61
1.4 Ретроспективний аналіз і сучасний стан експериментального моделювання вибухо-індукованої травми головного мозку	76
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	85
2.1 Вибір об'єкта дослідження	85
2.2 Характеристика груп дослідження	86
2.3 Моделювання вибухо-індукованої травми головного мозку	88
2.4 Дослідження поведінки щурів	90
2.4.1 Дослідження поведінкової активності щурів у тесті «Відкрите поле»	90
2.4.2 Дослідження поведінки щурів у піднесеному хрестоподібному лабіринті	91
2.4.3 Дослідження больової чутливості	92
2.5 Дослідження когнітивного профілю щурів	93
2.5.1 Дослідження просторової пам'яті щурів в лабіринті Барнса	93
2.5.2 Дослідження здатності щурів до навчання в Ж-подібному лабіринті	94
2.5.3 Дослідження умовної реакції пасивного уникнення	96
2.6 Дослідження змін біометалів головного мозку щурів	97

2.7	Визначення біохімічних показників крові щурів	98
2.7.1	Дослідження змін рівня каталази в крові щурів	99
2.7.2	Визначення змін активності глутатіонредуктази еритроцитів щурів	100
2.7.3	Дослідження змін активності глутатіонпероксидази еритроцитів щурів	101
2.7.4	Визначення рівня нейротрофічного фактору Brain Derived Neurotrophic Factor у крові щурів	102
2.8	Дослідження патоморфологічних особливостей головного мозку щурів	103
2.8.1	Трансмісійна електронна мікроскопія	104
2.8.2	Світлова мікроскопія	105
2.8.3	Імуногістохімічні методи	106
2.9	Статистична обробка отриманих результатів	109
2.10	Біоетика та евтаназія експериментальних щурів	110
РОЗДІЛ 3 ЗМІНИ ПОВЕДІНКИ ЩУРІВ В ДИНАМІЦІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ВИБУХО-ІНДУКОВАНОЇ ТРАВМИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ		111
3.1	Поведінкова активність щурів в тесті «Відкрите поле» в динаміці розвитку експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку	111
3.2	Емоційний стан щурів у піднесеному хрестоподібному лабіринті в динаміці розвитку експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку	127
3.3	Дослідження больової чутливості у динаміці розвитку експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку	145
РОЗДІЛ 4 ЗМІНИ КОГНІТИВНОГО ПРОФІЛЮ В ДИНАМІЦІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ВИБУХО-ІНДУКОВАНОЇ ТРАВМИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ		150

4.1 Просторова пам'ять щурів у лабіринті Барнса в динаміці розвитку експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку	150
4.2 Формування здатності до навчання щурів у Ж-подібному лабіринті в динаміці розвитку експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку	163
4.3 Дослідження умовної реакції пасивного уникнення в щурів у динаміці розвитку експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку	179
РОЗДІЛ 5 ДОСЛІДЖЕННЯ РІВНЯ БІОМЕТАЛІВ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ТА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КРОВІ ЩУРІВ В ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ВИБУХО-ІНДУКОВАНОЇ ТРАВМИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ	184
5.1 Кількісна характеристика біометалів у мозочку щурів в динаміці розвитку експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку	184
5.2 Кількісна характеристика біометалів у передньому мозку в динаміці розвитку експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку	195
5.3 Особливості активності каталази крові щурів в динаміці розвитку експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку	205
5.4 Стан активності глутатіонредуктази еритроцитів щурів в динаміці розвитку експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку	207
5.5 Дослідження активності глутатіонпероксидази еритроцитів крові щурів в динаміці розвитку експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку	209
5.6 Дослідження змін нейротрофічного фактору BDNF у крові щурів в динаміці розвитку експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку	211

РОЗДІЛ 6 ДИНАМІКА ПАТОМОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ З ВИБУХО-ІНДУКОВАНОЮ ТРАВМОЮ	215
6.1 Дослідження ультраструктурних змін головного мозку щурів з експериментальною вибухо-індукованою травмою головного мозку	215
6.2 Патоморфологічне дослідження головного мозку щурів в динаміці розвитку експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку	225
6.3 Аналіз експресії імуногістохімічних маркерів ушкодження головного мозку	237
РОЗДІЛ 7 СТАТИСТИЧНИЙ АНАЛІЗ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ	251
РОЗДІЛ 8 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	278
ВИСНОВКИ	311
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	315
ДОДАТКИ	373

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ І СКОРОЧЕНЬ

ЧМТ	Черепно-мозкова травма
ВІТГМ	Вибухо-індукована травма головного мозку
ВХ	Вибухова хвиля
ГЕБ	Гемато-енцефалічний бар'єр
BDNF	Brain derived neurotrophic factor (нейротрофічний фактор)
eNOS	endothelial nitric oxide synthase (ендотеліальна синтаза оксиду азота)
MMP-2	Matrix metalloproteinase-2 (матриксна металопротеїназа-2)
АФК	Активні форми кисню
ПТСР	Посттравматичний стресовий розлад
ЦНС	Центральна нервова система
ПХЛ	Піднесений хрестоподібний лабіринт
УРПУ	Умовна реакція пасивного уникнення
Експ	Експериментальна група
Контр	Контрольна група
Інт	Інтактна група
ЛЧ	Латентний час
ГРА	Горизонтальна рухова активність
ВРА	Вертикальна рухова активність
АД	Акти дефекацій
БД	Болюси дефекацій
ТЕМ	Трансмісійна електронна мікроскопія
ЕР	Ендоплазматичний ретикулум
CG	Комплекс Гольджі

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Черепно-мозкова травма (ЧМТ) є поширеною серед населення не залежно від гендерних показників та суттєво погіршує якість життя через поведінково-когнітивний дефіцит [1]. Різновидом ЧМТ є вибухо-індукована травма головного мозку (ВІТГМ), що часто зустрічається під час воєнних конфліктів [2], в тому числі й у наш час в Україні через повномасштабне вторгнення Росії. Висока частота вибухового травматизму може стати причиною зниження працездатності й соціалізації великої кількості військових та цивільних людей на багато років у майбутньому, що стане значною суспільною і економічною проблемою [3].

Привертає увагу патогенез первинного ушкодження та вторинних змін у головному мозку при вибухо-індукованій травмі, що значно відрізняються від класичної ЧМТ. Клінічні прояви дещо збігаються з такими при ЧМТ. В обох випадках спостерігаються тривалі порушення емоційного компонента поведінки, когнітивні зміни, а саме дефіцит пам'яті. А у віддаленому періоді розвиваються нейродегенеративні захворювання [4]. Визначено, що клініка ЧМТ і рівень летальності, який зазвичай високий, залежить від локалізації первинного місця зіткнення черепа з тупим предметом або поверхнею, масивністю крововиливу та швидкістю надання медичної допомоги [5].

На сьогодні доведено, що ВІТГМ виникає внаслідок впливу вибухової хвилі (ВХ), яка діє на весь головний мозок дифузно та впливає на усі його структури [6]. Встановлено, що чутливість до впливу ВХ різних структур головного мозку суттєво відрізняється, що є вирішальним для клінічних проявів [7]. Доведено, що більш чутливими до дії ВХ є структури головного мозку, які входять до складу лімбічної системи - гіпокамп, базолатеральна мигдалина, паравентрикулярне ядро таламуса, через що у постраждалих від вибуху, навіть при легкій ВІТГМ, спостерігаються нейроповедінкові зміни у вигляді тривоги, страху, депресії [8]. Важливо розуміти, що саме легка

ВІТГМ є небезпечною через прихований перебіг без крововиливів і зовнішніх травм, але має негативні наслідки для поведінково-когнітивної сфери [9, 10].

Варто зауважити, що в патогенезі ВІТГМ важливими є структурні та функціональні ушкодження судин гематоенцефалічного бар'єра (ГЕБ) [11]. Доведено, що в основі порушення ГЕБ головним є первинний вплив ВХ, який запускає зміни гомеостазу та нервово-гуморальної регуляції тонуусу і проникності судин [11]. В гострому періоді ВІТГМ порушується кровообіг головного мозку - гіперперфузія через дилатацію судин, та транспорт речовин - збільшення або зменшення проникності судин на різних етапах розвитку ВІТГМ [12]. Прослідковується ішемія головного мозку, метаболічні зміни, розвиток окисного стресу та запалення [12-14].

З цим пов'язані актуальні напрямки дослідження патогенезу ВІТГМ: патоморфологічні та патобіохімічні, розкриття яких є важливим для розробки діагностичних, лікувальних і прогностичних методів. Для розкриття цих питань необхідним є розробка уніфікованої експериментальної моделі, що відповідатиме реальним умовам вибуху, буде безпечною, легкою та ефективною у використанні в лабораторних умовах [15, 16].

На цей час у вивченні патогенезу легкої ВІТГМ досягнуто великого прогресу, розроблено деякі симптоматичні, патоморфологічні та біохімічні маркери. Проте, вони ґрунтуються на окремих встановлених фактах, що збігаються за умов різних експериментальних моделей. Це не створює цілісного уявлення про загальний патогенез як гострих порушень, так і віддалених наслідків. Тому актуальним залишається дослідження динаміки патогенезу легкої ВІТГМ, результати якого розкриють більш тонкі механізми. Це сприятиме розробці та впровадженню у клінічну практику нових маркерів ВІТГМ, вдосконаленню діагностики, покращенню медичної допомоги у ранній посттравматичний період та зниженню ризиків нейродегенеративних ускладнень у віддаленому періоді.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Робота виконана в рамках планової ініціативної науково-дослідної теми кафедри патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології Дніпровського державного медичного університету «Механізми формування змін у центральній нервовій системі після впливу екстремальних факторів», № державної реєстрації 0120U105394, термін виконання 2021-2024 рр. Дисертантка була відповідальною виконавицею зазначеної теми.

Мета дослідження — встановити нові ланки патогенезу експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку шляхом дослідження поведінково-когнітивних профілів, ультраструктурних та гістопатологічних змін кори головного мозку, гіпокампу, мозочку, порушення гомеостазу біометалів та біохімічних констант.

Завдання дослідження:

1. Вивчити зміни поведінки в динаміці розвитку легкої вибухо-індукованої травми головного мозку.
2. Дослідити особливості больової чутливості в динаміці розвитку легкої вибухо-індукованої травми головного мозку.
3. Дослідити стан просторової та асоціативної пам'яті в динаміці розвитку легкої вибухо-індукованої травми головного мозку.
3. Визначити особливості складу біометалів головного мозку щурів в динаміці розвитку легкої вибухо-індукованої травми головного мозку.
4. Дослідити динаміку змін Cu, Fe та Zn та їх співвідношень у передньому мозку та мозочку в динаміці розвитку легкої вибухо-індукованої травми головного мозку.
5. З'ясувати зміни біохімічних показників антиоксидантної системи у плазмі крові щурів у динаміці легкої вибухо-індукованої травми головного мозку (каталаза, глутатіонредуктаза, глутатіонпероксидаза).
6. Встановити зміни вмісту активності нейротрофічного фактору у плазмі крові щурів з легкою вибухо-індукованої травми головного мозку.

7. Визначити патоморфологічні ознаки легкої вибухо-індукованої травми головного мозку на ультраструктурному та мікроскопічному рівнях.

8. Дослідити ступінь експресії ендотеліальної NO-синтази в судинах головного, як маркеру розширення судин на тлі легкої вибухо-індукованої травми головного мозку.

9. З'ясувати динаміку експресії матриксної металопротеїнази-2 в головному мозку, як маркеру ушкодження судин на тлі легкої вибухо-індукованої травми головного мозку.

10. Встановити зв'язки між поведінково-когнітивними порушеннями та змінами біометалів і біохімічних показників, що виникають після впливу вибухової хвилі в динаміці посттравматичного періоду.

11. Встановити та обґрунтувати причинно-наслідкові зв'язки між поведінково-когнітивними показниками та змінами біометалів, біохімічних і патоморфологічних ознак в динаміці легкої ВІТГМ.

Об'єкт дослідження: патогенез поведінкових і когнітивних порушень у щурів з вибухо-індукованою травмою головного мозку.

Предмет дослідження: експериментальна вибухо-індукована травма, головний мозок, поведінково-когнітивні зміни, біометали: залізо, мідь, цинк; показники біохімічного профілю: каталаза, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза, нейротрофічний фактор BDNF, патоморфологічні та імуногістохімічні (ендотеліальна синтаза оксиду азоту - eNOS, матриксна металопротеїназа-2 - MMP-2) зміни головного мозку.

Методи дослідження: патофізіологічні (експериментальне моделювання вибухо-індукованої травми головного мозку), фізіологічні (дослідження поведінково-когнітивного профілю), біофізичний (дослідження рівня біометалів головного мозку), біохімічні (визначення змін показників оксидативного стресу та нейротрофічного фактору), патоморфологічні (ультраструктурні та мікроскопічні зміни головного мозку),

імуногістохімічні (eNOS, MMP-2 - визначення механізмів ушкодження судин), математико-статистичні (обробка одержаних результатів).

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше було виконано комплексне дослідження поведінки та пам'яті у гострому та ранньому періодах легкої вибухо-індукованої травми головного мозку.

Вперше показано, що поведінка травмованих щурів має періоди збудження та тривожності, які змінюються анксіолітичним станом з переходом у стан, подібний до депресії.

Вперше досліджено динаміку змін вмісту біометалів Cu, Fe та Zn та їх співвідношень у передньому мозку та мозочку у тварин з легкою вибухо-індукованою травмою головного мозку, яка супроводжувалась хвилеподібними змінами з 1-ї до 28-ї доби та вказувала на метаболічні порушення.

Вперше встановлено, що eNOS залучена у патогенез вазодилатації в гострому періоді, тоді як до патогенезу вазодилатації у ранньому періоді вибухо-індукованої травми головного мозку залучена MMP-2, про що свідчило збільшення відносної площі її експресії.

Вперше встановлені ультраструктурні зміни гіпокампа та кори головного мозку через 1-у годину після опромінення вибуховою хвилею та показано розвиток набряку нейронів, їх органел та відростків, ушкодження мітохондрій, а також підтверджено ушкодження гемокапілярів.

Вперше встановлено та обґрунтовано причинно-наслідкові зв'язки між поведінково-когнітивними показниками та змінами біометалів, біохімічних і патоморфологічних ознак в динаміці легкої вибухо-індукованої травми головного мозку.

Встановлено, що в динаміці вибухо-індукованої травми головного мозку відбувається прогресивне порушення асоціативної пам'яті, просторового навчання та просторової пам'яті зі збереженням пам'яті про харчове підкріплення.

Доведено, що в результаті однократного впливу вибухової хвилі легкого ступеня на головний мозок розвивається оксидативний стрес зі змінами активності каталази, глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази крові експериментальних щурів.

Доведено, що наслідком впливу вибухової хвилі є дифузне ушкодження тканини головного мозку й судин гемато-енцефалічного бар'єра без масивних крововиливів з тривалою вазодилатацією.

Доповнені дані щодо зниження больового порогу у щурів через вибухо-індуковану травму головного мозку, які безпосередньо пов'язані з його ушкодженням.

Підтверджено нейропротекторні властивості нейротрофічного фактору BDNF, активність якого підвищилась після впливу вибухової хвилі.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані результати доповнюють і розширюють патогенез вибухо-індукованої травми головного мозку, що дає можливість розробити патогенетично обґрунтовані шляхи фармакологічної корекції залежно від особливостей перебігу гострого та раннього посттравматичного періоду, а також для розробки шляхів профілактики ускладнень.

Виявлені зміни активності каталази, глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази можливо застосовувати як біомаркери для прижиттєвої діагностики оксидативного стресу при вибухо-індукованій травмі головного мозку. Та за рівнями BDNF можливо простежити перебіг компенсаторних реакцій.

Встановлені зміни біометалів, а також ультраструктурні та патоморфологічні ознаки вибухо-індукованої травми можна застосовувати для постмортальної діагностики вибухо-індукованої травми головного мозку.

Отримані результати впроваджено у навчальний процес і науково-дослідну роботу на кафедрах патологічної фізіології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, Одеського

національного медичного університету МОЗ України, Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця, Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського, Запорізького державного медико-фармацевтичного університету, Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького, Дніпровського державного медичного університету, Буковинського державного медичного університету, кафедри фізіології Дніпровського державного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Дисертанткою самостійно проведено інформаційно-патентний пошук, вибір та обґрунтування методів, термінів та груп дослідження. Авторка особисто визначила необхідний тиск вибухової хвилі, що призводив до легкої травми та самостійно здійснила експериментальне відтворення вибухо-індукованої травми головного мозку на щурах. Особисто провела поведінково-когнітивні дослідження, забір головного мозку для біофізичних, патоморфологічних та імуногістохімічних досліджень, а також взяла кров для біохімічного дослідження. Самостійно провела аналіз та узагальнення отриманих результатів, сформулювала основні положення та висновки. Авторка написала й оформила всі розділи дисертації. У всіх наукових працях використано матеріал, який авторка одержала в результаті самостійно проведених досліджень, а співавторство колег полягало у консультативній допомозі. Конфлікт інтересів відсутній.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертації оприлюднені на: науково-практичній конференції «Прикладні аспекти морфології» (Вінниця, 2017); VII Пленумі Українського наукового товариства патофізіологів та науково-практичній конференції, присвячених 110-річчю з дня народження члена-кореспондента АМН СРСР, професора Зайка М.Н. (Полтава, 2018); I науково-практичній конференції студентів і молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (Харків, 2019); науково-практичній конференції «XVIII–і читання В.В. Підвисоцького»

(Одеса, 2019); XII Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», присвяченої Ювілейним датам засновників кафедри патофізіології ТДМУ 110-річчю проф. Бергера Е.Н. і 90-річчю проф. Маркової О.О.» (Тернопіль, 2020); III науково-практичній internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (Харків, 2020); Всеукраїнській студентській науково-практичній конференції «Теоретичні та прикладні аспекти фундаментальних медико-біологічних наук» (Львів, 2021); XXI конференції студентів та молодих учених «Новини і перспективи медичної науки» (Дніпро, 2021); VIII Національному конгресі патофізіологів України «Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України» присвячений 120-річчю Одеської патофізіологічної школи» (Одеса, 2021), V Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології» (Дніпро, 2021); XXII наукової конференції студентів та молодих учених «Новини і перспективи медичної науки» (Дніпро, 2022); Всеукр. конф. з нейронаук м. Київ, присвяченої 90 річчю від дня народження академіка Володимира Скока (Київ, 2022); науково-практичній конференції «XXI читання ім. В.В. Підвисоцького» (Одеса, 2022), науково-практичній конференції «XXII читання ім. В.В. Підвисоцького» (Одеса, 2023), Міжнарод. конф. з нейронаук та Наукових читань, присвячених вісцеральній фізіології та патофізіології (Київ, 2024).

Публікації. За результатами дисертації опубліковано 40 наукових робіт, з них 21 основна стаття (5 - одноосібно): 13 - у вітчизняних періодичних виданнях категорії Б; 6 - у виданнях, що індексуються у Scopus (з них 1 - в іноземному виданні); 2 - у виданнях, що індексуються у Web of Science. Додатково - 3 статті у фахових виданнях; 1 патент на корисну модель України. 15 публікацій у матеріалах наукових конференцій України.

Обсяг статей є достатнім для презентацій результатів дисертаційного дослідження.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 395 сторінках комп'ютерного тексту і складається з анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, 5 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел, що містить 421 найменувань (з яких 47 кирилицею і 347 латиницею), та додатків. Дисертація ілюстрована 43 таблицями та 76 рисунками. Список використаних джерел викладено на 58 сторінках.

РОЗДІЛ 1
ЕПІДЕМІОЛОГІЯ, ПАТОГЕНЕЗ І МАРКЕРИ ВИБУХО-
ІНДУКОВАНОЇ ТРАВМИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ.
ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ МОДЕЛЕЙ
(огляд літератури)

1.1 Епідеміологія вибухо-індукованої травми головного мозку

Вибухова травма становить суттєву проблему вже багато століть з моменту розробки вибухових речовин, творцями яких вважаються китайські монахи, що ще у 9 столітті нашої ери випадково, в результаті поєднання селітри, сірки та деревного вугілля, винайшли порох і почали застосовувати його у війнах [17 - 21]. Ця технологія дуже швидко розповсюдилась по всьому світу і порох почали використовувати й на виробництвах. Завдяки науково-технічному прогресу відбувалось розроблення та удосконалення вибухових пристроїв. Зокрема, Альфред Нобель розробив нітрогліцерин і у 1867 році запатентував динаміт. Водночас, Йозеф Вільбранд винайшов тротил, який був менш небезпечним, ніж динаміт, через що його застосовували на кораблях німецьких та британських збройних сил [22]. Найбільшого застосування вибухові пристрої набули у Другій світовій війні та у подальших війнах, в тому числі й з 2014 року в Україні. З тих часів спостерігається неймовірний прогрес у різновидах вибухової зброї, що призводить як до ушкодження техніки, так і до травматизації та смерті людей [23]. Це спричинило зростання уваги з боку медиків та інтенсивності досліджень серед науковців, які вивчають вибухові травми різних органів та їхню тяжкість, з метою розробки сучасних ефективних методів діагностики й лікування пацієнтів. До роботи долучилися також фахівці з інших галузей для впровадження засобів індивідуального захисту [19, 20].

Відомо, що вибух виникає через надшвидку екзотермічну реакцію при руйнації хімічних зв'язків після впливу екзогенного подразника, в результаті чого утворюються світло, газ, які дуже швидко розширюються і виділяють надлишок енергії руху, стиснення і нагрівання навколишнього осередку [24]. Такий ефект сприяє утворенню надзвукової ВХ, що має руйнівну силу [25, 26]. Науковці довели, що чим більше теплота, яка утворюється в результаті хімічної реакції, і чим швидше вона поширюється, тим сильніше відбувається руйнація в результаті вибуху. До вибухових речовин, що застосовують у зброї, належать тротил ($C_7H_5N_3O_6$), гексоген ($C_3H_6N_6O_6$), С4 (пластична вибухова речовина, що містить гексоген, поліізобутилен, диоктилсебацінат, моторна олива), семтекс (пластифікований тетранітропентаеритрит та гексоген), нітрогліцерин ($C_3H_5(ONO_2)_3$), динаміт (бризантні вибухові суміші, базою для яких є нітрогліцерин) та різні їх модифікації [25, 27].

Окремими видами є вибухи внаслідок фізичних, а не хімічних змін, зокрема вибух парового котла, балонів для перевезення газів та рідин, електричні, які відбуваються через зміну тиску внутрішнього вмісту. При цьому тиск ВХ визначається початковим тиском речовини, а руйнування навколишнього середовища частіше відбувається через ушкодження уламками [26].

Попри розвиток і різноманітність вибухівок, основним первинним біомеханічним патогенним фактором вибуху завжди є ВХ, безпосередній вплив якої призводить як мінімум до легкої вибухо-індукованої травми [28, 29]. Завдяки своїм характеристикам вибухова хвиля поширюється в середовищі, де стався вибух, і при зіткненні з твердими об'єктами переходить у більш щільний стан. Фізичні властивості вибухової хвилі змінюються надзвичайно швидко, а при виникненні повторної хвилі відбувається їх сумування [26]. Головною передумовою вибуху із застосуванням вибухового пристрою необхідна детонація. Власне детонація є процесом, набагато вище

звукового, згоряння сумішей газоподібних, твердих та рідких речовин з окисниками після первинного не сильного вибуху, що передається з пускового пристрою або при зіткненні з твердою поверхнею, яке призводить до загоряння вибухової речовини та до зміни тиску всередині вибухового пристрою, що вивільняється назовні [26].

Підтверджено, що в організмі людини окремі органи мають різну чутливість до дії ВХ. Серед найбільш вразливих є легені, барабанна перетинка вуха, шлунково-кишковий тракт, сечовий міхур [30 - 33].

В результаті впливу ВХ на легені розвивається їх забій, проте фактично дана патологія спостерігається при будь-якій травмі грудної клітки (дорожньо-транспортні пригоди, вплив великої ваги на грудну клітку) і може бути випадково діагностованим, адже має негативні, залежно від ступеня тяжкості, наслідки для здоров'я і життя людини. З огляду на багатоетіологічність забою легень, це не виносить вибухову травму легень в окрему нозологію [34].

Вагомим фактором, що суттєво знижує якість життя й у більшості випадків є невиліковним — це сенсоневральне ушкодження слуху в результаті впливу ВХ, яке супроводжується частковою чи повною втратою слуху або гіперакузією, через ушкодження барабанної перетинки. Доведено, що саме барабанна перетинка є вкрай чутливою до ВХ, адже вона розділяє зовнішнє повітряне середовище й внутрішнє тканинне, в результаті зміни тиску між якими відбувається її розрив. Окрім цього дослідження вказують, що в результаті впливу надлишкового тиску травмується не тільки барабанна перетинка, а й кісточки середнього вуха, органи внутрішнього вуха, зокрема раулік і центральні слухові шляхи [35].

Серед чутливих до вибуху органів черевної порожнини є печінка внаслідок великої кількості судин, наповнених кров'ю, що через зміну тиску легко розриваються [36]. Також вибух може призводити до ушкодження або навіть розриву кишківника залежно від тиску ВХ без впливу додаткових

факторів (уламків тощо), що призводять до порушення мікробіоти кишківника, мальабсорбції та навіть летального результату через крововтрату та інфекційні ускладнення [37].

Клінічні спостереження за вибухо-індукованими травмами показали, що ушкодження нирок, сечового міхура, сечовивідних шляхів та статевих органів складають близько 5-8% від усіх травм, спричинених дією тільки ВХ [38]. Такі травми також суттєво впливають на здоров'я людини, адже призводять до зміни розташування цих органів, порушення сечовипускання та появу інфекційних ускладнень [32].

Але, з урахуванням наслідків для життя, що частіше є довготривалими та прогресують, перше місце посідає головний мозок, вибухове ушкодження якого виділено в окрему нозологічну форму - вибухо-індукована травма головного мозку, що входить у загальне поняття черепно-мозкової травми, проте за механізмом розвитку суттєво відрізняється від класичної. Адже етіологією класичної ЧМТ є пряма дія тупого предмета, що не проникає, та призводить до локального ушкодження і, через це, має інші наслідки [2].

В цілому, ЧМТ залишається однією з провідних причин смертності та інвалідизації серед людей працездатного віку. Про це свідчать дані аналізу всесвітньої епідеміологічної статистики щодо показників розповсюдженості (від 83 до 580 на 100 тисяч населення) та смертності населення (від 6,3 до 40,8 на 100 тисяч населення) від ЧМТ. Причому в Україні частота ЧМТ коливається від 400-420 випадків на 100 тисяч населення в рік, а показник смертності складає 24 на 100 тисяч населення в рік. В структурі зовнішніх причин ЧМТ, за даними світової статистики, перше місце посідають дорожньо-транспортні пригоди та побутові травми (60-90%) в умовах мирного часу. В осіб молодше 50 років ЧМТ є однією з основних причин когнітивних порушень, в патогенезі яких лежать атрофічні зміни в структурах головного мозку [40].

Епідеміологія військових травм у випадках ЧМТ є ключовою для розробки відповідного обладнання та екіпіровки, а також для організації навчальних і науково-дослідних заходів з метою зменшення людських втрат та зменшення рівня непрацездатності.

При розгортанні військових операцій структура причин ЧМТ змінюється. Бойова патологія, в особливості, мінно-вибухова травма та ВІТГМ стають основними причинами військових втрат [41, 42]. Частота ВІТГМ під час війни може варіювати залежно від конкретного конфлікту, тактики бойових дій і зброї, що застосовується. Однак, за деякими даними, ВІТГМ є однією з найпоширеніших травм серед військовослужбовців. Наприклад, під час війни в Іраку та Афганістані, ВІТГМ становили приблизно 15-22% від загальної кількості бойових поранень [43, 44]. Це пов'язано з широким використанням саморобних вибухових пристроїв, мін, артилерійських обстрілів, ракетних ударів та ін. Важливо зазначити, що в багатьох випадках ВІТГМ можуть залишатися непоміченими або недіагностованими, особливо якщо вони мають легкий ступінь тяжкості. Тому точна частота цих травм може бути вищою за офіційні дані.

В цей час точних даних про частоту ВІТГМ серед військовослужбовців і цивільних під час війни в Україні немає. Зважаючи на характер бойових дій на сході України з 2014 року і повномасштабне вторгнення Росії у 2022 році, можна очікувати значну кількість випадків ВІТГМ серед військових і цивільних. З урахуванням відомостей про негайні та довгострокові наслідки ВІТГМ, вивчення клітинних та молекулярних механізмів, які лежать в основі вибухових макро- та мікроструктурних ушкоджень головного мозку, є однією зі складників у патогенезі вибухо-індукованої нейротравми. До цього часу не з'ясовані механізми ушкодження різних структур головного мозку, виникнення яких залежить від багатьох факторів, зокрема, від величини та тривалості надлишкового тиску під час вибуху, відстані й положення тіла та

ін. Актуальним залишається й пошук стандартизованої доклінічної моделі ВІТГМ.

1.2 Особливості патогенезу вибухо-індукованої травми головного мозку

Головний мозок – це відділ ЦНС, який представляє складну просторову систему нервових, гліальних клітин, синапсів, нервових волокон, які знаходяться в єдиній сітці з численними комунікаціями як на рівні однієї клітини, так і на рівні різних структурно-функціональних об'єднань. Така будова забезпечує регуляцію та координацію всіх фізіологічних процесів в організмі, збереження інформації, трансформацію сигналів внутрішнього та зовнішнього середовищ, керування руховою та когнітивною діяльністю тощо. Для захисту і збереження своєї функціональної активності головний мозок має відому систему пасивного захисту, яка містить череп та оболонки, а також систему живлення у вигляді двох пар магістральних артеріальних судин (система внутрішніх сонних та хребтових артерій), що поєднані між собою надійними анастомозами [45].

З даних клінічних спостережень і експериментальних досліджень на сьогодні є декілька наукових припущень, які пояснюють патогенез первинного ушкодження головного мозку в результаті впливу ВХ. Сучасні дослідження вказують на те, що ВХ є хвилею надлишкового тиску, яка розповсюджується з надзвуковою швидкістю. Це можливо при імпульсному розширенні газів вибуху та стиску повітря, що оточує. Характер та тяжкість ушкоджень залежить від величини надлишкового тиску на фронті ВХ. Закриті контузійні ушкодження головного мозку з'являються при ВХ з надлишковим тиском в 0,2-0,3 кгс/м² (20-30 кПа).

Поруч із цим, науковці розглядають ВХ навколишнього середовища як стрибок ущільнення (тонка перехідна межа з періодом хвилі 10-100 нм), в

якому відбувається зміна тиску, щільності, температури та швидкості речовин, що поширюється з надзвуковою швидкістю та призводить до безпосереднього ушкодження головного мозку через посередництво енергії, що передається через великі судини грудної клітки до самого мозку. До факторів, які впливають на ступінь виразності дії ВХ відносять акустичний імпеданс тканин головного мозку, геометричні особливості черепа, фізичні ефекти взаємодії хвиль з клітинами головного мозку [46]. Також відомо, що первинне ушкодження ВХ полягає у швидкому зміщенні з прискоренням голови, деформації тканин черепа, шкіри та м'язів голови, в результаті чого виникає хвиля напруги стиснення/розтягу. Потім ця хвиля перетворюється у хвилю зсуву, що призводить до затримки руху голови. Це, своєю чергою, призводить до обертання та удару мозку об кістки черепа - струсу мозку [29]. Проникнення повітря зі зміненим тиском крізь отвори черепа у комплексі призводить до зміни тиску поза- та внутрішньоклітинних рідин та розвитку кавітації й впливу електромагнітних імпульсів, які ведуть до ушкодження нейронів та судин [29, 47, 48].

Достеменно, в умовах лабораторії чи на відкритому просторі, фізику ВХ можна дослідити в експерименті на мишах або щурах. Дослідження на відкритому просторі описують ВХ низької інтенсивності у формі хвилі Фрідлендера, тобто являє собою нетривалий високоамплітудний пік надлишкового тиску з наступним тривалим періодом зниження, від характеристик яких залежить ймовірність виникнення травми. До того ж на відкритому просторі підвищується тиск ВХ при відбитті від землі. На відміну від цих ефектів, у закритому просторі після фази надлишкового тиску спостерігається формування так званого «квазістатичного» надлишкового тиску без утворення вакууму, що збільшує фактичний тиск ВХ і тим самим підвищує здатність до ушкодження [28, 49].

Одним із вагомих ефектів ВХ на головний мозок є кавітація, що вже згадувалась, дослідження якої суттєво змінили погляд на патогенез ВІТГМ,

хоча й не розкрили його до кінця. Як фізичне явище, кавітація - це місцеве утворення з рідини в ділянках низького тиску парогазових бульбашок з наступним їх руйнуванням при потраплянні в ділянку з підвищеним тиском. Причому руйнація бульбашок викликає місцеві гідравлічні мікроудари надвисокої частоти та тиску. Такі різкі перепади тиску характерні для вибухової хвилі з початковим високим тиском та подальшим різким його зниженням, що призводить до кавітаційного ефекту як в системі шлуночків головного мозку, так і поза ними, зокрема в кровоносних судинах. Разом з тим вважається, що через різну щільність і йонний склад кавітація має відмінності в різних рідинах [50 - 52]. Окрім хвилі Фрідлендера, зміна черепа під дією ВХ також сприяє утворенню кавітаційних бульбашок внаслідок зміни внутрішньочерепного тиску. В ході дослідження [53] показали, що під впливом вибухової хвилі оболонка черепа деформувалася до 0,18 мм протягом 2,5 мс. Піковий поверхневий надлишковий тиск, виміряний датчиком, розміщеним на лобі, становив 0,55 МПа. Пізніше було показано, що в результаті закиду голови також відбувається кавітація через негативне відбиття тиску між різними тканинами та рідинами головного мозку [54]. Незалежно від причин запуску кавітації, бульбашки, що утворилися, розриваються, збільшують тиск рідини, що призводить до гідроудару. Це, своєю чергою, призводить до ушкодження і розриву тканин, синапсів та клітин головного мозку, що обумовлює унікальну і специфічну морфологічну картину, характерну для ВІТГМ [55, 56].

Доказом цього була експериментальна робота [57], в ході якої в ділянку гіпокампа були штучно додані бульбашки, під час вибуху яких науковці зафіксували гідроудар. Ба більше, є роботи, які доводять, що тиск в результаті вибуху кавітаційних бульбашок як мінімум у 5 разів більше за тиск 400 кПа власне ВХ [51]. Збільшує ушкодження клітин головного мозку й тепло, що також утворюється в результаті руйнації бульбашок [58]. Окрім фізичних ефектів кавітації, були розкриті деякі аспекти біологічних, зокрема

метаболических змін в результаті розриву бульбашок. Зокрема, насильницьке проникнення макромолекул і води через порушення ліпідного шару і йонних каналів мембрани клітин [59, 60].

Науковці наразі активно досліджують ефекти розколювання, імплзії та сили інерції [50]. Є праці, які показують фрагментацію великих субстанцій на маленькі в результаті впливу ВХ, що призводить до так званих «відколів» головного мозку. Проте більшість джерел свідчать про те, що це явище виражене в органах, наповнених газом, таких як легені або кишківник.

Теорія імплзії була запропонована завдяки активному дослідженню кавітації, що вказує на їх взаємозв'язок і на те, що утворюються нанобульбашки, які також розриваються [61].

Наступне фізичне явище — сили інерції, діють між середовищами різної щільності, які присутні у головному мозку, і також здатні до ушкодження [50].

Крім ВХ, додатковими факторами вибуху, що ускладнюють стан постраждалої людини, є поранення уламками (шрапнеллю), вплив теплової хвилі, дія токсичних хімічних речовин [23]. У зв'язку із цим ушкодження, які виникають внаслідок вибуху, розмежовують на 4 або 5 категорій [62 - 64]. Поранення, які напряду пов'язані з ВХ, відносяться до первинних. Травматизація тіла людини внаслідок ураження уламками або готовими елементами вибухових пристроїв, що вражають, відносяться до вторинних. Під час вибуху також спостерігається «вибуховий вітер», який може збити або підняти тіло, що призведе надалі до утворення травм внаслідок падіння або ударі об поверхні, які оточують, — третинні ушкодження. Четвертинні ушкодження охоплюють комбінацію зовнішніх чинників, які не входять до попередніх груп, а саме дія полум'я, розпечених газів, кіптяви, токсичних речовин. До п'ятої категорії чинників відносять наслідки впливу біологічних, хімічних, радіоактивних речовин, які утворюються внаслідок вибуху. На тяжкість ушкодження також впливають дистанція від епіцентру вибуху до

об'єкта, потужність вибуху, наявність перешкод, особливості положення тіла, наявність захисного спорядження [65].

У доповнення до впливу ВХ, що призводить до дифузної травми головного мозку, важливим є розуміння взаємозв'язків між первинними і вторинними факторами ушкодження, вчасне медикаментозне попередження або обмеження яких сприятимуть зменшенню запалення і, відповідно, неврологічних симптомів та покращення стану пацієнта і запобігати відтермінованим ускладненням [2]. Більшість досліджень, присвячених ВІТГМ, вказують на те що в результаті дії ВХ відбувається дифузне аксональне ушкодження з розшаруванням мієліну і порушенням зв'язку з олігодендроцитами. Поряд з цим, в результаті зміни тиску в цитоплазмі аксонів, порушується й структура мікротрубочок, функція яких полягає у транспорті речовин. Важливим компонентом цитоплазми аксонів є тау-білки, які створюють і регулюють простір між мікротрубочками. А при порушенні аксонів тау-білки вивільняються, фосфоризуються і накопичуються в нейронах, що призводить до хронічної посттравматичної нейродегенерації з тау-патією — накопиченням тау-нейрофібрилярних клубків у обмежувальній глії та тканинах, прилеглих до судин [66 - 69].

Завдяки експериментальним дослідженням було встановлено, що зменшення кількості тау-білків не здійснює суттєвого впливу на функцію мікротрубочок. В той час, як саме зміна будови мікротрубочок призводить до порушення структури нейронів, аксонального і синаптичного транспорту і, що очевидно, до зміни у функціонуванні головного мозку [70]. Також не кількісні, а якісні зміни тау-білків, зокрема фосфорилування, що сприяє зменшенню спорідненості з мікротрубочками, в результаті чого відбувається порушення цитоскелета нейронів. Це трапляється через те, що фосфорилування тау-білків сприяє порушенню, деградації й само накопиченню, неправильному його відбору через аксони. Все перераховане, в результаті, призводить до синаптичної дисфункції. Також фосфорильовані

тау не можуть взаємодіяти з мембраною нейронів та ДНК, що призводить до переривання сигнальних шляхів. Науковці [71] показали, що фосфорильований тау-білок накопичується саме навколо венули, утворює олігомери та нейрофібрилярні клубки. Ці дослідники зазначили, що стрес ендоплазматичного ретикулуму призводить до накопичення тау-білків, збільшення проникності мембрани клітини та активації надходження заліза усередину і накопичення його, що надалі спричинює ушкодження плазматичної мембрани й фосфорилування тау [71].

Поза тим, тау-білки є тригерами вторинних біохімічних реакцій, в тому числі активації каспази з наступним апоптозом нейронів, активації кінази за кальцієвим шляхом і порушення синаптичної передачі [72]. Поступовий процес накопичення тау-білка призводить до активації мікроглії, системи фагоцитозу та імунної відповіді [73]. Серед відомих на сьогодні варіантів змін тау-білка, є його ацетилювання, нітрування, метилювання та ін., що також погіршують синаптичну передачу, порушують цитоскелет і підвищують активність самого процесу фосфорилування [73].

Поряд з аксональним ушкодженням, серед важливих ланок патогенезу легкої ВІТГМ виділяють порушення гемато-енцефалічного бар'єра [11]. Як відомо, головний мозок отримує найбільше кровопостачання порівняно з іншими органами. Це пов'язано з високою функціональною активністю, що вимагає кисню, глюкози та інших метаболітів у поєднанні з адекватним виведенням токсичних продуктів обміну речовин [74]. Регуляція цих потреб здійснюється на рівні ГЕБ, який науковці розглядають на прикладі нервово-судинної одиниці, що представлена комплексом внутрішньопросвітного глікокаліксу, ендотеліальних клітин, периваскулярних астроцитів, мікроглії, перицитів, гладком'язових клітин і периваскулярних нервів [74]. Внутрішня і зовнішня базальні мембрани судин ГЕБ пов'язані з переліченими структурами. Окремо внутрішня базальна мембрана пов'язана з ендотеліоцитами та відокремлена від перицитів, в той час, як зовнішня

базальна мембрана оточена перицитами та пронизана лапками астроцитів [75]. Глікокалікс, що розташований у просвіті судин, у поєднанні з іншими структурами, чітко регулює проникність і скоротливість ГЕБ [76]. Відмінністю судин ГЕБ є й те, що в ендотелії немає фенестрацій, а натомість є щільні з'єднання між клітинами, які суворо регулюють проникність рідини й розчинених в ній речовин шляхом активного транспорту [77]. Відомо, що в результаті впливу ВХ на судини головного мозку відбувається зміна їх архітекτονіки та безпосередньої функції щільних з'єднань ендотелію судин ГЕБ. Це реалізується через порушення структури специфічних білків, з яких вони складаються, зокрема окклюдинів та клаудину-5, а також кадгерину - білку спайки ендотеліальних судин [78, 79]. Водночас є дослідження, що демонструють роль грудної провідності під час вибуху, який впливає на увесь організм. В цілому локальне ушкодження можна відтворити лише в експерименті. Тож, під час вибуху хвиля підвищеного тиску проходить крізь організм та спричиняє збільшення тиску у периферичних судинах і підвищення внутрішньочерепного тиску та ушкодження ГЕБ [80].

На судини ГЕБ впливають й фактори запалення, що також змінюють його проникність [81]. Підвищення проникності ГЕБ призводить до виходу з судин різних компонентів крові, від низькомолекулярних білків до еритроцитів [82]. Завдяки останнім дослідженням було розкрито роль порушення ГЕБ після впливу ВХ у розвитку нейрозапалення, астрогліозу, в основі яких лежать дисфункція перицитів, гліальних клітин та судинної ультраструктури [83, 84]. Ніжки астроцитів у своїй структурі мають білки каркаса, якірні канали, різноманітні транспортні системи, рецептори та ензими. Вони щільно огортають поверхню судини та здійснюють не тільки регуляцію речовин, що надходять, а й залучені до «глімфатичного очищення», тобто беруть участь у зворотному потоку продуктів метаболізму [85].

Враховуючи те, що астроцити регулюють проникність судин ГЕБ шляхом збільшення параендотеліального транспорту шляхом секреції біологічно активних речовин, таких як фактору росту судинного ендотелію, оксиду азоту, ендотелінів, матричних металопротеїназ, можна говорити про те, що астрогліоз вторинно збільшує проникність і запускає «зачароване» коло [86]. В ніжках астроцитів ГЕБу знаходиться аквапорин-4, білок, який, внаслідок своєї гіперполяризації, є водним каналом клітин головного мозку, а астрогліоз активує експресію цього білку, ефектом чого є розвиток вазогенного набряку і підвищення позаклітинного гідростатичного тиску [43, 87]. Ендотелін-1, ще один нейропептид, який активується в першу чергу астроцитами й опосередковано матриксною металопротеїназою 9, підвищує проникність ГЕБ і сприяє прогресуванню набряку головного мозку [88]. В літературі описано роль легкого ланцюга міозину щодо збільшення проникності ГЕБ шляхом порушення організації та деградації білків щільних контактів [89]. Перицити, унікальна популяція клітин, які вбудовані в судинну стінку і залучені до регуляції проникності судин, обмежують нейрозапалення та потрапляння аутоантитіл до головного мозку [90].

Численні дослідження ЧМТ вказують на роль порушення балансу між внутрішньо- та позаклітинних Na^+ , K^+ та Cl^- у розвитку набряку клітин головного мозку. Вважається, що набряк нейроцитів є прогностично несприятливим, а в основі його розвитку лежить збільшення функції Na-K-Cl транспортеру, який в нормі забезпечує рух цих йонів крізь плазматичну мембрану. При чому здійснюється це через активацію сигнального каскаду мітоген-активованої протеїнкінази (МАРК) [91].

Важливо розуміти, що окрім набряку, через ушкодження ГЕБ як у головний мозок, так і у судинне русло назад потрапляють патогенні агенти, от як мікроорганізми, загиблі клітини та біологічно активні речовини, що ініціюють запалення [80]. Одним з механізмів розвитку запалення, після навіть легкого впливу ВХ, є секреція запальних медіаторів нейронами та

активація мікроглії. Мікрогліоцити мають розгалужену структуру круглої форми. Добре відомо, що саме мікроглія, яка є окремим видом гліальних клітин, виконує функцію імунного захисту нервової системи та продукує медіатори запалення, зокрема цитокіни (інтерлейкіни - IL-1 β , IL-2, IL-6, фактор некрозу пухлин - TNF- α) [92-94]. Дослідження [93] показали, не тільки роль мікроглії Cx3CR1+ у розвитку хронічного запалення, а й те, що збільшенню популяції макрофагів через 4 тижні після ВІТГМ сприяли інфільтровані моноцити CCR2+. Також ці науковці припустили, що інфільтрація моноцитів частково залежить від хемокіну CCL2-CCR2 та через порушення проникності ГЕБ [93]. Вивчення особливостей реакції мікроглії на дію ВХ показало наявні зміни її структури, вона може перетворюватися на активовану, гіпертрофовану, що втрачає більшу частину гілочок [95].

Також [95] зазначили, що при ВІТГМ активується імунна відповідь печінки, яка синтезує цитохром Р450 та кількісно встановили вміст різних цитокінів у крові. За висновками цього дослідження відомо, що ВІТГМ призводить до зниження прояву мРНК печінкових цитохромів у гострий посттравматичний період та до активації їх з другої доби. Такі зміни мРНК та цитохрому Р450 й інших показників відповідали змінам цитокінів сироватки крові (IL-1 β , IL-6 та TNF- α , але не IL-2), що підтверджує залучення печінки до імунної відповіді та нейрозапалення при ВІТГМ [94].

Через деполяризацію нейронів, спричиненою первинним ушкодженням, спостерігаються зміни в русі йонів. Так, відкриття Ca²⁺ каналів стимулює виділення великої кількості глутамату й ушкодження нейронів ексайтотоксичним шляхом, тобто призводить до надмірної нейрональної стимуляції. Достеменно відомо, що глутамат — це амінокислота, яка активно метаболізується між нейронами та астроцитами через енергозалежний окисний глутамат-глутаміновий цикл і має багато функцій у головному мозку, зокрема є основним нейромедіатором, що відповідає за збудження, регулює метаболізм глюкози з амінокислотами,

коштом чого реалізується синаптична передача. Глутамат вивільняється екзоцитозом та активує постсинаптичні глутаматні рецептори, що власне призводить до передачі збудження. Він діє через 2 основних класи рецепторів — йонотропні (iGluR) і метаботропні, зв'язані з G білком рецептори (mGluR) [96]. Активація різних підтипів цих рецепторів забезпечує нейропластичність та інші молекулярні механізми регуляції, що є основою у процесах формування і зберігання пам'яті [97].

Зі свого боку ексайтотоксичність глутамату визначається кількістю позаклітинного Ca^{2+} через специфічні рецептори N-метил-D-аспартату (NMDAr), що призводить до ще більшого вивільнення Ca^{2+} з клітин і, відповідно, це збільшує позаклітинну цитозольну концентрацію цього йону [98]. Підвищення кількості цитозольного Ca^{2+} активує ензими, зокрема протеазу кальпаїн, яка протеолізує білки мембрани та цитоскелету, мієлін, білок p53 [99, 100]. Протеоліз білків мембран і цитоскелету, а також мієліну призводить до порушення аксонів та передачі імпульсу [101]. Інактивація білка p53 в результаті протеолізу супроводжується порушенням основних його функцій, що полягають у репарації ДНК при її порушенні, у випадках оксидативного стресу, регуляції поділу клітин та запуску апоптозу [102].

Експериментально доведено, що, як після первинного впливу ВХ, так і в результаті вторинних патобіохімічних каскадів, відбувається ушкодження органел навіть без руйнації нейронів [103]. Вкрай чутливими є функціонально активні мітохондрії, що утворюють дуже необхідну для життя людини енергію у вигляді молекули аденозинтрифосфату (АТФ), беруть участь у регуляції Ca^{2+} і тим самим впливають на передачу нервових імпульсів, регулюють кількість активних форм кисню і запускають антиоксидантну систему, залучені до регуляції поділу клітин та їх апоптозу [6]. З урахуванням таких функцій мітохондрій, їх порушення призводить до дезорганізації окисно-відновних процесів, енергодефіциту, вивільнення цитохрому С, що запускає оксидативний стрес і запалення [6]. В той самий

час, активні форми кисню (АФК) можуть окиснювати білки, ліпіди та ДНК самих мітохондрій [104]. В роботах, присвячених дослідженню нейродегенеративних хвороб, ішемічного ушкодження мозку та ЧМТ є докази участі окисного стресу у пошкодженні нейронів [105 - 107]. З огляду на ішемічну стадію в результаті порушення ГЕБ, зрозуміло, що й при ВІТГМ має місце ішемія нейрона. Дослідження механізмів функції ішемічного, та зрозуміло — гіпоксичного, ушкодження нейрона показують реакцію мітохондрій, що полягає у порушенні продукції АТФ, утворення АФК та розвитку окисного стресу, порушення балансу йонів і кислотно-лужної рівноваги [108]. При окисному стресі за умов ВІТГМ спостерігається утворення великої кількості АФК, зокрема супероксид ($O_2^{\cdot-}$), гідроксильний радикал ($HO\cdot$), перекис водню (H_2O_2), оксид (NO) та діоксид (NO_2) азоту. У відповідь на це відбувається активація ферментів антиоксидантної системи, перш за все НАДФН-оксидази [109].

Одним з антиоксидантів, що підвищує активність ферментів антиоксидантної системи - супероксиддисмутази та каталази, і зменшує рівні продуктів окиснення, таких як 8-ізо-простагландин $F_{2\alpha}$ та малондіальдегід є сірководень (H_2S) [110]. Хоча утворення АФК більшою мірою вважається патологічним, важливо й те, що вони мають позитивні ефекти. За нормальних умов АФК, що є продуктом метаболічних реакцій, виступають у якості сигнальних молекул нейронної диференціації, дозрівання [111]. Енергодефіцит призводить до метаболічних ускладнень, через що порушується синтез глутамату та інших нейромедіаторів, до чого найчутливіший гіпокамп [112]. Підвищення синтезу глутамату призводить до токсичної активності NMDA рецепторів, що викликає загибель нейронів [108]. В дослідженні [6] показали фрагментарні зміни структури мітохондрій та астроцитів після впливу ВХ, що пов'язано з фосфорилуванням динаміну (Drip1). Форма мітохондрій мінлива через постійні поділи та злиття. Ці властивості забезпечують адаптацію та відновлення після впливу руйнівних

чинників [113]. Нові дослідження довели, що при порушенні функції мітохондрій морфологічно визначаються ознаки активації поділу через порушення сигналізації гуанозинтрифосфату, пов'язаного з головним активатором мітохондріального поділу — Drp1, який фосфоризується при ВІТГМ вже на 7 добу посттравматичного періоду [114]. Також, через ушкодження мітохондрій, аеробний шлях утворення АТФ замінюється на анаеробний, в ході якого піруват забирає 2 електрони від НАДН і перетворюється на лактат.

В сукупності, Ca^{2+} ексайтотоксичність, оксидативний стрес та підвищення проникності ГЕБ є факторами неупорядкованої деімінації білків (гліальний фібрилярний кислий білок, віментин), що призводить до запуску аутоімунної відповіді через утворення антигенних епітопів. Дані попередніх досліджень ВІТГМ показують, що наявні аутоантитіла впливають на епітопи інших білків [115].

Вагому роль у вторинному нейрозапаленні відіграє активація біологічно активними речовинами неспецифічних рецепторів розпізнавання окремих структур клітин та мікроорганізмів і активують імунну відповідь. Зокрема, Toll-подібних рецепторів (Toll-like receptors, TLR), які є важливими компонентами імунної системи та відповідають за розпізнавання патогенів та ініціацію вродженої імунної відповіді. Вони розпізнають консервативні молекулярні структури, властиві мікроорганізмам (такі як ліпополісахариди бактерій, вірусні нуклеїнові кислоти тощо) і запускають сигнальні шляхи, які призводять до активації імунних клітин, продукції цитокінів і розвитку запалення. Такі властивості забезпечують швидку реакцію організму на інфекцію та допомагають у формуванні адаптивної імунної відповіді [116]. Отже, ініціація Toll-подібних рецепторів веде до активації запальних генів і секреції цитокінів, що характерно для ВІТГМ. Цей процес має дифузний характер і включає різні транскрипти Toll-подібних рецепторів. Вплив цих

рецепторів слід також враховувати при розробці нових лікувальних стратегій [117].

З'ясовано, що у відповідь на запалення та оксидативний стрес при ВІТГМ спостерігається гіперактивація кінуренінового шляху з подальшим формуванням нейротоксичних речовин [106]. Адже відомо, що продукція нікотинамідаденіндинуклеотиду (НАД⁺), який є джерелом внутрішньоклітинної енергії, з триптофану відбувається через активацію кінуренінового шляху із залученням нейроактивних проміжних субстратів. Цей шлях надмірно активується при нейрозапаленні через те, що імунні клітини головного мозку (макрофаги, мікроглії) при ушкодженні потребують більшої кількості енергії та синтезують ферменти, зокрема індоламін-2,3-діоксигеназу, а також запальні цитокіни, які запускають саме кінуреніновий шлях [118, 119]. Вагомим є й те, що цитокіни активують ензим кінуренін-3-монооксигеназу, який перетворює кінуренін у вільний радикал — гідроксикінуренін. А також генерується потужний нейротоксин — хінолінова кислота, які негативно впливають на рецептор NMDA і запускають ексайтотоксичність. Окремими ефектами хінолінової кислоти є підтримання окисного стресу, руйнація ГЕБ, фосфорилування тау-білків ще до того, як перетвориться в НАД⁺ [119].

Цікавим для розуміння патогенезу вторинної альтерації у постраждалих від вибуху є врахування ролі акролеїну і α - та β - ненасиченого альдегіду. Підтверджено, що ці речовини є й продуктами та водночас й тими, що запускають перекисне окиснення ліпідів та запалення [120]. Окремо акролеїн, що утворюється в результаті перекисного окиснення ліпідів, є високоактивним ненасиченим альдегідом, поява якого призводить до окисного стресу з утворенням АФК і, знову таки, до мітохондріальної дисфункції, запалення, стресу ендоплазматичного ретикулуму та ушкодження ДНК й, у підсумку, до нейродегенерації - хвороб Альцгеймера та Паркінсона [121, 122].

В дослідженні [13] показано порушення метаболізму і розвиток оксидативного стресу у головному мозку після впливу ВХ через порушення структури амінокислот, що залучені до нейротрансмісії. Зокрема, було встановлено, що аргінін каталізується синтазами оксиду азоту і викликає утворення оксиду азоту та l-цитруліну. Це збільшує кількість активних форм кисню і сприяє роз'єднанню синтаз оксиду азоту та активує прозапальні каскади [13].

Сучасні експериментальні роботи, зокрема [123], вказують на провідну роль NOD-подібних рецепторів та інфламасом, що містять у собі домен 3 (NLRP3), у розвитку нейрозапалення. На сьогодні визначено, що через підвищену проникність мембран нейронів відбувається вихід K^+ з клітин через канал $MaxiK$ та, як наслідок, активуються інфламасоми NLRP3 [123]. Також показано роль активації NLRP3 у регулюванні дозрівання та вивільнення $IL-1\beta$, а пригнічення NLRP3 зменшує ушкодження судин головного мозку і нейронів [124].

1.3 Основні маркери вибухо-індукованої травми головного мозку

Для успішної діагностики та вчасного лікування легкої ВІТГМ досліджуються і розробляються клінічні та біологічні маркери. Це має велике значення, адже саме легка ВІТГМ є майже «невидимою», через те, що травма викликана лише впливом ВХ без уламків та термічного ушкодження. В першу чергу необхідно визначити особливості порушення поведінково-когнітивних функцій головного мозку.

Отже, первинна ВІТГМ (надмірний тиск при ураженні центральної нервової системи), супроводжується втратою, але необов'язково, притомності, дезорієнтацією, болем голови, шумом у вухах, запамороченням, тремором, підвищеною реактивністю до подразників та інколи підвищенням внутрішньочерепного тиску. Кровотеча можлива з багатьох отворів — вух,

носа і рота. Інколи, навпаки, пацієнт, травмований унаслідок вибуху, може взагалі не мати зовнішніх ознак ушкодження, крім симптомів когнітивних дисфункцій (тривога, зміни концентрації уваги чи часу реагування на подразник, депресія, агресія, параноя, зловживання алкоголем та психоактивними речовинами) та порушення рівноваги, а надалі формується посттравматичний стресовий розлад (ПТСР) та хронічна травматична енцефалопатія через акумуляцію тау-білку [125, 126].

Поняття «тривога» охоплює відчуття страху у відповідь на стресову подію, що загрожує життю [127]. В свою чергу, тривога, що виникла, має сильний вплив на увесь організм. Дослідження показують, що тривога, як риса характеру, більш притаманна для жінок, а як патологічний стан залежить від первинної патології, але у будь-якому разі значно погіршує перебіг первинного захворювання, наприклад такого, як цукровий діабет, підвищує рівень стресу та артеріального тиску, пригнічує імунітет та навіть збільшує больову чутливість [128, 129]. Надмірна тривожність вважається тригером депресії та сприяє зловживанню алкоголем і впливає на соціальні відносини [129, 130]. Також сприяє погіршенню мнестичних процесів, знижує робочу пам'ять, загальмовує відтворення попередніх знань та пошук рішень для виконання завдань [130].

Погіршення концентрації уваги та часу реагування на подразник, а також погіршення пам'яті вважають великими симптомами депресії [131]. Психіатри повідомляють, що пацієнти з депресією зосереджені на своєму негативному стані або події, мають низьку мотивацію до соціалізації та уникають приємних подій і частіше не можуть справитися з негативними думками [131]. Аналіз даних показав, що серед військових з легкою ВІТГМ депресія виникає більш ніж у 3 рази порівняно з людьми без ЧМТ [132].

Також у гострому періоді клінічно у військових спостерігаються антероградна амнезія та дефіцит виконавчої функції, що пов'язують з ушкодженням гіпокампа [133, 134].

Ці симптоми є поширеними для будь-якого виду ЧМТ і не вважаються високоспецифічними, але при урахуванні факту вибуху, ці симптоми вказують на наявність ВІТГМ. При чому раніше такі емоційно-поведінкові розлади пов'язували з маніпуляцією постраждалих, що сподівалися отримати фінансову компенсацію, проте ці симптоми не зникали, були неконтрольованими після досягнення мети, що призвело до підвищення зацікавленості лікарів та науковців до ВІТГМ [135]. Незалежно від високого спектра симптомів ВІТГМ, найбільш поширеними є тривожний та депресивний розлади у людей з різними психотипами, що можуть регресувати протягом п'яти років, при цьому чіткої залежності від тяжкості травми не встановлено [136]. Це розглядається на прикладі ПТСР. Відомо, що ПТСР є емоційно травматичним і характеризується повторним переживанням сильних травматичних подій і залежних від них когнітивних симптомів. Раніше думка про те, що ПТСР пов'язаний тільки з емоційними переживаннями та погіршує перебіг ЧМТ, а втрата свідомості та амнезія є захисними від ПТСР була поширеною. Сучасні дослідження показали появу ПТСР через ЧМТ, проте встановлено, що в результаті легкої ЧМТ ризик розвитку ПТСР вище порівняно з середньою та важкою ЧМТ. Це підтверджує гіпотезу протекційного значення амнезії, але є суперечливим [137, 138]. Важливо враховувати, що такі важкі когнітивно-поведінкові зміни можуть призводити до суїцидальної поведінки як у військових, так і у цивільних людей з ВІТГМ [139].

Із застосуванням різних поведінкових тестів (реакції пасивного та активного уникнення, водний лабіринт Морріса, тест «Відкрите поле», піднесений хрестоподібний лабіринт, лабіринт Барнса та інші) було встановлено та неодноразово підтверджено, що у тварин з ВІТГМ навіть легкого ступеня спостерігається тривожність та стан, подібний до депресії, агресивність або апатія, порушення пам'яті, що збігається з клінічними даними [126].

Для встановлення наявності та динаміки тривожного стану у щурів використовують піднесений хрестоподібний лабіринт та Y-подібний лабіринт. Як біомаркер ВІТГМ [140] запропонували «індекс тривожності» із використанням модифікованого апарату променевої ходьби, який зазвичай використовують для одночасного дослідження захисних рівнів тривоги та координації рухів.

Водночас із застосуванням тестів, що дозволяють визначити стан пам'яті, встановили порушення різних її видів, особливо просторової пам'яті, в гострому і підгострому посттравматичних періодах [126]. Експериментальні дослідження показали, що порушення пам'яті є проявом ушкоджень у префронтальній корі та гіпокампі [141]. Також, як вже згадувалось в описі патофізіології перебігу ВІТГМ, моделювання на щурах даного виду ЧМТ дозволило встановити підвищену реакцію астроцитів, первинне і вторинне ушкодження ГЕБ, а ключовим та найбільш чутливим до ВХ є гіпокамп.

На тлі ВІТГМ експериментатори встановили зниження нейропластичності, порушення синаптичної передачі у зоні СА зубчастої звивини та дендритну дисфункцію даної структури головного мозку. А враховуючи, що гіпокамп входить до лімбічної системи та функціонально відповідає як за емоційність, так і за формування, зберігання та реалізацію пам'яті, ушкодження його проявляється у когнітивно-поведінкових порушеннях [142]. Експериментально і клінічно було показано, що ушкодження моторної кори також призводить до когнітивних розладів [143, 144]. Це пов'язують з порушенням метаболізму дофаміну після фізичного впливу ВХ у системі підкірково-кіркового моторного контуру та серотоніну, глутамату, ГАМКу базальних гангліїв і таламусу. При цьому відбувається зміна функціонування моторної кори. Відзначається надмірна активація чутливих центрів, а загальне збудження соматосенсорної кори призводить до підвищення збудливості клітин моторної кори. Тож дисбаланс між цими

системами клінічно проявляється у вигляді депресії та навіть може призводити до більш складних психіатричних порушень, таких як шизофренія та біполярний розлад [144].

У віддаленому періоді ВІТГМ повідомляється про розвиток і прогресування нейродегенерації та травматичної енцефалопатії, що клінічно визначаються у когнітивному дефіциті [71]. При розтині трупів військових визначалися великі зони гліозу в місцях з'єднання сірої та білої речовини та біля судин головного мозку [145]. А в експериментальних роботах показано взаємозв'язок між накопиченням тау-білків та депресивною й імпульсивною поведінкою [71].

Існують повідомлення про втрату зору у постраждалих від вибуху, при чому це залежить не тільки від ушкодження ока ВХ, а і є симптомом ушкодження головного мозку. Дослідники [146] виявили, що втрата зору може бути пов'язана з дегенерацією аксонів зорового нерва та сітківки, аномальною активністю порушення навчання та пам'яті, порушення рухів та координації.

Зафіксовано, що вже на 5 тижень посттравматичного періоду аксони сітківки та зорового нерва гинуть за умов одночасного пригнічення активності мікро- та макроглії, а нейродегенеративні процеси у зоровому нерві прогресували та поступово призводили до необоротної втрати зору [147].

Завдяки інструментальним методам також можна діагностувати ВІТГМ, але здебільшого середнього та важкого ступеня. Проте, на сьогодні запропоновано нові методи візуалізації *in vivo*, що розкривають динаміку навіть легкої ВІТГМ. До таких відносяться дифузійна тензорна візуалізація та протонна магнітно-резонансна спекторметрія, з використанням яких можна встановити невлонні біофізичні та біохімічні зрушення після впливу ВХ [148]. Дифузійна тензорна візуалізація дозволяє виміряти середню дифузію води в тканині й фракційну відмінність властивостей (анізотропію)

певної ділянки середовища (вокселя). Порушення дифузії води у певній ділянці оцінюють за показником вокселя, чим він більший, тим вище процес дифузії води у певному напрямку [148]. Результати дифузійної тензорної візуалізації свідчать про набряк головного мозку у ранньому посттравматичному періоді легкої ВІТГМ, на що вказують зменшення середньої дифузії та зниження фракційної анізотропії, тобто відбувалося зменшення позаклітинного простору. А через 6 місяців після травми спостерігали підвищення середньої дифузії й зменшення фракційної анізотропії, що свідчить про нарощування позаклітинного набряку через посилення проникності судин і явища запалення [148].

Як клінічні, так і експериментальні дослідження ВІТГМ з використанням методу дифузної тензорної візуалізації є суперечливими, що пояснюють різною реакцією на ВХ окремих ділянок головного мозку. Суттєвий набряк клітин встановлено в гіпокампі й таламусі, на відміну від кори та білої речовини. Біла і сіра речовини головного мозку мають рівномірний розподіл води, порівняно з гіпокампом, і тому цей метод не є високоінформативним в цих зонах [148]. Для розв'язання цієї проблеми застосовують більш досконалий метод зображення дифузійного ексцесу, що описує гаусівську та негаусівську дифузію води, яку пов'язують з реактивним астроцитозом [148]. Протонна магнітно-резонансна спекторметрія є додатковим методом візуалізації метаболічних порушень, які відповідають ступеню тяжкості травми [148, 149].

Одним з нових методів ранньої діагностики ВІТГМ є терагерцова спекторметрія, за допомогою якої визначають відмінності у сироватці крові та спинномозковій рідині [150, 151]. Терагерцова спекторметрія — методика, яка проводиться із генерацією електромагнітної хвилі з частотою 0,1-10 ТГц. Саме до таких частот чутливі білки та ДНК, що циркулюють у зазначених рідинах та потрапляють у них з головного мозку. Цей метод має певні недоліки, пов'язані з поглинанням хвилі полярними речовинами. Проте це

було вирішено шляхом застосування режиму ослабленого повного відбиття, що зробило цей метод високочутливим для аналізу біологічних рідин без додаткових тривалих і коштовних маніпуляцій [151]. За результатами терагерцевої спектроскопії в експерименті встановлено, що у щурів навіть з легкою ВІТГМ коефіцієнт поглинання сироватки крові і спинномозкової рідини був значно вище порівняно з контрольними тваринами вже після 3 години після дії ВХ. А більш чутливою у разі легкої травми виявилась сироватка крові [151].

Для посмертної діагностики ВІТГМ широко використовують патоморфологічні дослідження. При макроскопічному обстеженні головного мозку військових, що померли в результаті вибуху не тільки від поранень уламками, але й через високий тиск ВХ, визначали крововиливи різного ступеня та локалізації (під оболонки та в речовину). А під час мікроскопічного аналізу привертала увагу порушення судин різного діаметра з відокремленням стінки судин від нейроглії, її фрагментацією та формуванням навколосудинного простору. При дослідженні крові спостерігали вихід еритроцитів у порожнини, що утворилися, та їх гемоліз. До того ж мікроскопічно дифузно визначалися зруйновані нейрони, набряк головного мозку, ушкодження нейронів та гліальних клітин. Отримані зміни вважаються маркерами ВІТГМ [32].

Аналіз літератури показав, що найбільш поширеними ознаками ВІТГМ, в тому числі легкої тяжкості, є дифузні, різного ступеня порушення судин ГЕБ, що включають не тільки фізичний їх розрив (для легкої ВІТГМ характерне ушкодження мікросудин), а й порушення їх скоротливості й проникності. Найбільш характерними для середньої та важкої ВІТГМ є точкові крововиливи у підкіркову зону, дифузні осередки лептоменінгеальних крововиливів, мультифокальні крововиливи у білу речовину. Також встановлені спазм судин та набряк [12]. В той самий час [152] у своїй експериментальній роботі перевірили гіпотезу щодо механізмів

порушення реактивності судин головного мозку при ВІТГМ та дослідили наявність та ступінь виразності реакції міогенної дилатації, яка призводить до зниження внутрішньосудинного тиску. Результати даного дослідження показали, що у щурів з ВІТГМ міогенні вазодилаторні реакції середньої церебральної артерії на знижений тиск були набагато гірші у порівнянні з контрольними щурами. Це сприяє розвитку мозкової гіперперфузії та ішемії [152]. Попереднє дослідження [153] показало значне зниження відносної церебральної перфузії та підвищення опору судин ГЕБ вже через 5 хвилин після опромінення ВХ, що відповідало легкій ВІТГМ, і тривало до двох годин. Проте, значення артеріальної та венозної перфузії не були меншими за критичні, що не призводило до некрозу нейронів. Але такі зміни сприяли вибіркового нелетального їх ушкодженню через метаболічні та нейромедіаторні системи, які або інгібуються, або активізуються [153]. Порушення будь-якої ланки ГЕБ також призводить до гіпоксії [12].

Актуальні результати експериментів підтверджують, що саме порушення ГЕБ лежить в основі розповсюдження астроцитозу і запуску апоптозу нейронів, що мають класичні патоморфологічні та імуногістохімічні ознаки [154]. Для розуміння важливості астроцитозу, який неодноразово згадується у представленому огляді, необхідно розуміти, що власне астроцитоз - це патологічний процес, який характеризується активізацією розмноження астроцитів через запалення у відповідь на ушкодження головного мозку. Власне астроцити є найбільш поширеним видом клітин головного мозку і становлять 20-40% від загальної маси, які мають вкрай важливі функції, що полягають у відокремленні та захисті нейронів від зовнішніх чинників [155]. Виділяють два основних типи астроцитів, що відрізняються морфологічно: волокнисті та протоплазматичні, а також специфічні, які визначаються в інших структурах, наприклад, астроцити мозочка називаються клітини Бергмана та у сітківці ока — клітини Мюлера [156, 157]. Більшість видів астроцитів розрізняються довжиною і

розміром відростків, проте є окремий вид клітин, що, як відомо на сьогодні, існують тільки у людини та характеризуються відносно невеликою кількістю (до п'яти) нерозгалужених і довгих відростків. Такі клітини мають назву «астроцити варикозної проєкції», а те, що вони є тільки у людей пов'язують з розвитком інтелекту [158]. Астрогліоз, як патологічне явище, притаманний для великої кількості захворювань головного мозку, в тому числі й травматичного генезу, що вимагає встановлення специфічних морфологічних маркерів-прекурсорів астроцитозу, а при наявності такого — особливих для кожної патології маркерів [158]. На сьогодні загальними морфологічними маркерами астроцитозу є розширення і зміна форми тіла клітини та відростків, активація мітозу та їх проліферація, збільшення ядра та підвищення щільності хроматину. Астроцити можуть перегруповуватись і утворювати скупчення [159]. Окремо, астроцитоз вважається маркером нейродегенерації, а для прижиттєвої діагностики запалення астроцитів визначають рівень гліального фібрилярного кислого білка плазми крові (GFAP) [160]. Нещодавно, з 2018 року, для діагностики ВІТГМ почали використовувати GFAP та убіквітин C-кінцеву гідролазу L1 (UCH-L1) як біомаркери [161]. GFAP є біомаркером проліферації астроцитів та залучається до активації гліозу. Відомо, що GFAP є білком проміжних філаментів, які, в свою чергу, є основними складниками цитоскелета і зберігає цілісність клітин та органел, забезпечує механочутливість до позаклітинного простору [162]. Вагому роль у функціонуванні нейронів відіграє та UCH-L1. З'ясовано, що UCH-L1 – це висококонсервативний цитозольний білок, що входить до складу системи убіквітину, який є вкрай важливим для регуляції більшості клітин. UCH-L1 знаходиться в кортикальних та кортикоспинальних нейронах, а також його знаходили у великих сенсорних і мотонейронах. Він складає близько 5% від усіх нейропротеїнів, що дозволяє використовувати його як маркер ЧМТ [163].

Використання біомаркера цитоскелета астроглії обґрунтовується результатами експериментів, які показали, що достеменне підвищення GFAP було відмічено вже на шосту годину після травми й такий рівень тримався принаймні 3 дні, а у людей — підвищення спостерігали через 1 добу [164]. В дослідженні [161] показали високу активність GFAP у плазмі щурів з першої доби, що корелювала із силою тиску ВХ, та зменшення вже на 6-7 добу посттравматичного періоду [161]. Більш пізнім маркером ВІТГМ вважають UCH-L1, який з'являється у плазмі крові не раніше ніж через місяць [165].

Значущим гістологічним маркером легкої ВІТГМ є зміни в нейронах, ознаками яких є ушкодження (дегенерація) аксонів, втрата мієліну, нейрональна смерть через некроз або апоптоз, зміни у синапсах та накопичення токсичних білків [166]. Дослідження легкої ВІТГМ показали, що вже через 24 години після травми спостерігається значна кількість Fluoro-Jade C (FJC)-позитивних нейронів у корі та лобовій, тім'яній і скроневій ділянках мозку. Подібні результати підтверджують наявність нейрозапалення і є прогностичними ознаками розвитку нейродегенерації [152].

Прижиттєвими біомаркерами вважаються показники біологічно активних речовин та продуктів розпаду, які визначаються у сироватці крові або у спинномозковій речовині. У своєму дослідженні [167] показали, що вміст різних видів лізофосфатидної кислоти у спинномозковій рідині різко збільшуються у тварин в гострому та хронічному посттравматичному періоді легкої ВІТГМ. При чому було встановлено, що ці зміни мали хвилеподібний характер з періодами зменшення через 1 місяць і збільшення на 6 місяць після травми та негативно корелювали з показниками поведінки, що дозволяє використовувати рівень лізофосфатидної кислоти у спинномозковій рідині для діагностики запалення головного мозку, в тому числі при ВІТГМ. Цей біомаркер є важливим, адже лізофосфатна кислота є високоактивним сигнальним фосфоліпідом, який продукується багатьма клітинами, зокрема

тромбоцитами крові, астроцитами та мікроглією і клітинами хоріоїдального сплетення. Основною функцією цієї кислоти є активування запалення [167].

Одним із поширених маркерів струсу головного мозку та ЧМТ, але не достатньо дослідженим при ВІТГМ, є рівень легкого ланцюга нейрофіламентів (NfL), підвищення вмісту якого свідчить про ушкодження аксонів. Відомо, що білок NfL більшою мірою присутній у великокаліберних мієлінізованих аксонах і входить до складу нейрофіламенту [168]. В оглядовій статті за систематичним аналізом літератури [169] дійшли висновку, що рівень NfL у сироватці крові людей з різними ЧМТ був суттєво вище порівняно зі здоровими людьми, проте найменшим він був у військових з ВІТГМ порівняно зі спортивною травмою, струсом і ЧМТ іншої етіології.

За біомаркери ушкодження ГЕБ, в тому числі при ВІТГМ, визначають білок PDGFR- β (рецептор тромбоцитарного фактора росту-бета), десміни, нервово-гліальний антиген 2 (NG2) та CD13 (трансмембранна металопротеїназа-2), які експресують перицити [43, 170]. Проте дані щодо PDGFR- β є суперечливими. Одні дослідження підтверджують, а інші спростовують цю інформацію, що пов'язано з мало дослідженими змінами перицитів, які мають гетерогенну природу і, ймовірно, після впливу патогенних факторів, можуть змінювати свою структуру, через що змінюється й синтетична їх функція.

Більш інформативним є визначення NG2, збільшення якого спостерігали [170] після одноразового впливу ВХ. Значні зміни встановили в експресії десміну та CD13, що пояснюється пластичністю перицитів після впливу ВХ [43]. А біологічним маркером гіпоксії, в тому числі й головного мозку, є підвищення концентрації лактату [171]. Відомо, що астроцити та олігодендрити більше, ніж нейрони, продукують лактат. Це пов'язано з тим, що ці клітини здатні накопичувати глікоген для енергозабезпечення і мають різні форми лактатдегідрогенази [172]. В нормальних умовах лактат, що утворюється в астроцитах в результаті метаболізму глюкози за участі

глутамату, аеробним шляхом утилізується до пірувату з утворенням АТФ і НАДФН нейронами. Таким чином, лактат є важливим ресурсом енергії та впливає на збудливість клітин головного мозку, а вже вказані нами зміни ГЕБ, мітохондрій призводять до порушення ланок енергозабезпечення і функціональної активності головного мозку [173].

Важливими маркерами нейрозапалення в результаті ВІТГМ є визначення у спинномозковій рідині вмісту таких цитокінів, як IL-6 IL-1 β , що з'являються у рідині як мінімум через 6 годин після травми [174]. Експериментально було показано, що вже через 2 години після травми вміст цитокінів і хемокінів (інтерлейкін [IL]-1 α , IL-6, IL-10 і макрофагальний запальний білок 1 альфа [MIP-1 α]) суттєво зростали в тканинах головного мозку [175]. Окрім цього, дослідження активації генів показало збільшення активності Rps10, Rpl29, Rpl35, Rpl41, Rps14, Rpl32 і Rps26 рибосомальних білків, які залучені до гострої активації інших білків запалення через трансляцію та транскрипцію [175].

Загальноприйнятим є те, що протеїн S100 β є маркером ушкодження головного мозку, в тому числі й при вибухо-індукованій травмі [176, 177]. Кальцій-зв'язуючий розчинний білок S100 β синтезується переважно астроцитами, а також дещо олігодендритами, Шваннівськими клітинами, епітеліоцитами судин ГЕБ та багатьма іншими по усьому організму. Він знаходиться у цитоплазмі у розчиненому або зв'язаному з внутрішньоклітинними структурами (мембраною, центросомами, проміжними філаментами, мікротрубочками) стані [178]. S100 β зв'язує Ca²⁺ через наявність двох сайтів EF-руки, що з'єднуються за допомогою шарніру і С-кінцевого розширення. При зв'язуванні з Ca²⁺ білок S100 β змінює свою структуру внаслідок розширення з'єднань і зв'язується з іншими білками клітини та передає регуляторні сигнали та, тим самим, долучається до процесів проліферації та диференціації, підтримання гомеостазу Ca²⁺, фосфорилування інших білків, до яких він прикріплюється, впливає на

активність ензимів та активність метаболічних реакцій [178]. Ці процеси можуть реалізуватися й без участі Ca^{2+} . Враховуючи фізіологічне значення S100 β , його підвищення пов'язано з астроцитозом, посиленням синтезом глутамату, цитокінів і хемокінів, ензимів антиоксидантної системи, збільшенням цитозольного Ca^{2+} , а також при метаболічних порушеннях. При некрозі клітин S100 β просто «витікає» з них і потрапляє в рідини головного мозку [178]. Для прижиттєвої діагностики патологій головного мозку у людей його визначають у спинномозковій рідині, у тварин — в культурах клітин та на гістологічних зрізах.

Чутливим високоспецифічним біомаркером ушкодження нейронів і аксонів є нейрон-специфічна енолаза — ізофермент гліколітичного ензиму, що в нормі присутній тільки в нейронах головного і спинного мозку [179, 180]. Нейрон-специфічна енолаза залучена до енергетичного метаболізму у гліколітичному шляху перетворення глюкози на піруват і продукції АТФ та НАДН, тому його експресія залежить від енергетичних потреб нейронів за нормальних і патологічних умов [181]. Оскільки енергодефіцит характерний для більшості захворювань головного мозку, визначення рівня нейрон-специфічної енолази у плазмі крові або спинномозковій рідині є розповсюдженим та вагомим і вказує на ішемічно/гіпоксичне ушкодження мозку [182 - 184].

Нещодавні дослідження ВІТГМ з різними тисками ВХ (від легкої до сильної) залежно від відстані, що провели [177] на козах в умовах відкритого поля, показали підвищення рівнів S100 β та нейрон-специфічної енолази у сироватці крові на фоні розширення судин ГЕБ, збільшення навколосудинного простору. Виявлені зміни корелювали з тиском ВХ та відстанню від вибуху і тяжкістю травми, тобто чим ближче до епіцентру вибуху була тварина, тим вище були вміст S100 β та активність нейрон-специфічної енолази [177].

Окрім змін, що відбуваються безпосередньо у головному мозку внаслідок впливу ВХ, ця травма призводить до значних негативних наслідків для усього організму. Як в клініці, так і експериментально показано, що одним зі значних наслідків ВІТГМ є порушення регуляції гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової вісі, що призводить не тільки до поведінково-когнітивних дефіцитів та розвитку ПТСР, а й до дисрегуляції ендокринної системи організму [185]. Епідеміологічні дослідження вказують на те, що порушення передньої долі гіпофіза спостерігалось у 31% військових з ВІТГМ, які діагностували на підставі гормональних змін (гіперпролактинемія без вторинного гіпогонадізму, дефіцит адренокортикотропного гормону, гормону росту та гонадотропіну). При цьому повідомляється, що у військових з гіпофізарною дисфункцією після отриманої вибухо-індукованої травми якість життя значно гірша за виразністю симптомів порушення поведінково-когнітивної сфери. Відповідні клінічні тести, от як тест Векслера, дозволили встановити дефіцит інтелекту не залежно від попереднього стану, порушення візуального сприйняття предметів, їх назв, гальмування читання й обробки інформації [186].

Інші дослідження показують, що фізичні фактори, зокрема ВХ, підвищують активність нейронів кортикотропін-релізінг-системи паравентрикулярного ядра таламуса, в результаті чого релізінг-фактори у великій кількості виділяються у портальну судинну систему та активують кортикотропіни передньої долі гіпофіза. Це призводить до гіперсекреції адренокортикотропного гормону і, відповідно, до секреції глюкокортикоїдів (кортизолу) наднирниками. Є думка, що такі різноспрямовані результати залежать від механізму ушкодження, які відзначаються фізичними характеристиками ВХ, так і положенням і відстанню тіла від місця вибуху.

Кортизол, через нейрональні мінерало- та глюкокортикоїдні рецептори активує гіпоталамо-гіпофізарно-надниркову систему та інші відділи мозку, де також розташовані подібні рецептори, в тому числі у префронтальній корі,

лімбічній системі, мигдалеподібному тілі та гіпокампі. Звідси зрозуміло, що як гіпо-, так і гіперфункція гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової вісі на тлі ВІТГМ посідає важливе місце у патогенезі поведінково-когнітивних дефіцитів [187, 188].

Не виключено, що ці гормональні порушення, особливо адренкортикотропного гормону та гормону росту, лежать в основі метаболічних дисфункцій, зокрема обміну глюкози та призводять до ожиріння і розвитку метаболічного синдрому у військових з ВІТГМ в анамнезі [189]. Окрім цього відбувається стимуляція апетиту, що також може викликати ожиріння на фоні зниження рухової активності через депресію внаслідок ушкодження головного мозку [190]. З іншого боку, результатом аксонального, а надалі аутоімунного ушкодження гіпофіза при ЧМТ, зокрема у спортсменів, може бути гіпопітуїтаризм, при якому знижується синтез гормону росту, що також викликає метаболічний дисбаланс [191]. Тому визначення даних гормонів є необхідними для діагностики ВІТГМ і профілактики та вчасного лікування її ускладнень з боку гормональної системи.

Травма головного мозку може порушити функціонування гіпоталамо-гіпофізарної вісі, яка контролює секрецію тиреоїд-стимулюючого гормону. Це може призвести до гіпотиреозу або гіпертиреозу, які також залучені до регуляції метаболізму. Тиреоїдні гормони мають плейотропний ефект і вважаються прогностично важливими [192].

Окрім цих змін, експериментатори показали, що через порушення вегетативних центрів виникають порушення серцевого ритму у вигляді бради- або тахікардії [193]. При ушкодженні гіпоталамуса відбувається експресія окисного стресу через мітохондріальну АТФ-синтазу і НАДФН-оксидазу та формування активних форм кисню, які сумісно з ядром одиноким шляху, здійснюють стимулювальний вплив на симпато-

адреналову систему і підвищують активність наднирників і симпатичних гангліїв.

Зазначено, що ці структури безпосередньо беруть участь у синтезі катехоламінів через ферменти тирозин-3 монооксигеназу (каталізує гідроокислювання амінокислот з утворенням L-DOPA - попередника нейромедіаторів дофаміну та норадреналіну), D β H — дофамін- β -гідроксилазу (перетворює дофамін на норепінефрин). Ці процеси підвищують продукцію адреналіну та норадреналіну, а визначення вказаних біологічно активних речовин-попередників адреналіну та норадреналіну вважаються біомаркерами активності симпато-адреналової системи [194].

Є дані, що у постраждалих від вибуху людей спостерігаються різні форми порушення збоку шлунково-кишкового тракту. Невелика на сьогодні кількість робіт, що присвячені дослідженню патогенезу синдрому подразненого кишківника, підвищення його проникності та порушення мікробіому на тлі ВІТГМ, вказують на взаємозв'язок вказаних патологій з порушенням чутливості рецепторів до кортикоропін-релізінг гормону [195].

1.4 Ретроспективний аналіз і сучасний стан експериментального моделювання вибухо-індукованої травми головного мозку

В клінічній практиці можливо лише діагностувати зміни, що відбуваються в організмі людини після впливу ВХ, проте відмежувати їх від інших захворювань складно. До того ж важливим є розуміння фізики ВХ, адже саме ці характеристики є вирішальними у біомеханіці вибухо-індукованих травм та наступних, в тому числі віддалених, наслідків. Тому, для розуміння патогенезу ВІТГМ необхідно проводити експериментальне дослідження на тваринах, що потребує адекватної моделі.

На сьогодні найбільш поширеними експериментальними моделями вибухових або ударних хвиль існує декілька способів, які поділяються на 2

основні групи: шляхом підриву вибухових речовин на відкритому полігоні, а також за допомогою спеціальних пристроїв - вибухових камер або ударних труб, що дозволяють проводити дослідження в лабораторних умовах [196, 197]. Серед переваг досліджень на відкритому просторі є те, що такі обставини більш наближені до реальної ситуації, в якій відбувається вплив додаткових факторів вибуху, а також в цих умовах можна використовувати велику групу тварин з різною віддаленістю від епіцентру.

Але проведення досліджень на відкритому просторі (полігоні) має суттєві недоліки, пов'язані з тим, що біологічні об'єкти мають декілька факторів вибуху, що вражають (одночасна дія вибухової хвилі, термічних, хімічних, механічних та інших факторів), які ускладнюють вивчення окремого впливу ВХ в динаміці посттравматичного періоду на окремі органи, зокрема, на головний мозок. Також до недоліків слід додати те, що вибух впливає на весь організм піддослідного. Це призводить до високої летальності тварин внаслідок легеневої баротравми й перешкоджає подальшому відстеженню, зокрема, реактивних змін у центральній нервовій системі в різні терміни посттравматичного періоду. Обмеженням, яке також суттєво стримує широке використання цього методу, є застосування вибухових речовин з обов'язковим застосуванням спеціального обладнання для захисту дослідників та дозволів відповідних служб, що підвищує вартість дослідження [198, 199].

Другий спосіб генерації ударної хвилі в лабораторних умовах – це розробка і монтаж різних пристроїв, до яких відносяться дульні пістолети, апарати для індукції лазерної хвилі, камери надлишкового тиску струменевого потоку, циліндричні імітатори вибуху, симулятори вибуху [199].

Зацікавленість викликала модель із застосуванням лазерно-індукованої ударної хвилі, що дозволяє досліджувати механізм вибухового ушкодження та динаміку молекулярних змін на окремих клітинах. Відомо, що лазерно-

індукована ударна хвиля шляхом накопичення значного рівня енергії, викликає формування кавітаційної бульбашки, а в зоні її розширення та звуження відбувається ушкодження клітин. Цей метод є високоточним і дозволяє контролювати напругу і не доводити ушкодження до загибелі клітин [200].

В іншому дослідженні для моделювання ВІТГМ використовували ударну трубу із гелієм, що імітувала вибух на відкритому полі [201]. Використання гелію обумовлено тим, що хвиля тиску в ньому поширюється з більшою швидкістю, ніж у звичайному повітрі, і набуває властивостей ВХ від саморобних вибухівок. А сама труба мала лавсанову діафрагму, яка розривалася від надзвукової хвилі, що надалі поширювалася по трубі й впливала безпосередньо на голову експериментальної тварини [201].

Застосування камери надлишкового тиску струменевого потоку раніше дозволяло відтворювати неізольовану вибухо-індуковану травму, проте технічні модуляції цього способу розширили можливості його використання. Дослідники [202] запропонували особливу фіксацію тварини, яка полягала у розміщенні щура у каністрі таким чином, щоб голова його була відкрита та зафіксована в одному положенні. Сам апарат струменевого потоку представлений сталеною ємністю з перегородкою між секціями високого тиску і тестування, де розміщується тварина. Перегородка між секціями — майларова мембрана, не розбивається на уламки, а розривається радіально та утримується на пристрої, що нівелює ушкодження тварини додатковими факторами вибуху.

Економічно вигідну модифікацію циліндричного імітатора вибуху для вибухо-індукованого ушкодження середнього та внутрішнього вуха та відтворення ВІТГМ запропонували [203]. Представлений пристрій складається з полівінілхлоридної ударної труби, поділеної на 2 камери (високого і низького тиску) латунною діафрагмою, яка утримується гумовим кільцем для ущільнення. Діафрагму розриває мисливська стріла, керована

соленоїдом, що дозволяло випустити повітря з високим тиском у секцію низького тиску. На кінці труби встановлювали ковпачок з полімеру вінілхлориду для реєстрації тиску на виході труби датчиком [203].

В деяких моделях за паливо для детонації всередині ударної труби використовували суміш кисню й ацетилену, а мембрана була виготовлена з нітрилу. Для детонації застосовували нікелеву свічку запалення від автоматичної катушки. Весь процес контролювався спеціально розробленою програмою LabVIEW2011, що дозволяло з високою точністю контролювати дозування компонентів суміші та вчасну детонацію [154].

Як видно з огляду літератури, більшість пристроїв для відтворення ВІТГМ в лабораторних умовах представлені трубою, на кінці якої відбувається руйнування діафрагми високим тиском, що реєструється монometрами та п'єзодатчиками. Функція такої діафрагми полягає у відділенні газової або повітряної суміші з високим тиском від біологічного об'єкта. Цей спосіб дозволяє усунути решту недоліків шляхом зміни методики імітації стану моделі шляхом руйнування діафрагми в спеціальному пристрої газовою або повітряною сумішшю під високим тиском і локального впливу на відповідну ділянку тіла. Відсутність цих недоліків у методі має багато прихильників серед дослідників впливу ВХ на біологічні об'єкти. З усім тим, використання вибухових речовин в лабораторній ударній трубі є не тільки дорогим, але й небезпечним для дослідників [204, 205]. Проте, вони досить часто використовуються й в лабораторних умовах. У своїй роботі [204] застосовували установку з мініатюрними сферичними вибухівками, положення яких можна точно регулювати відповідно до проєкції необхідного органу. В представленому дослідженні за вибухівку було використано тетранітрат пентаеритриту, що активувався за допомогою детонатора, захищеного металевою гільзою. Це створило укриття від впливу уламків для тварин. Дана модель дозволила

відтворити травму головного мозку середнього та важкого ступеня відразу десятиком наркотизованим щурам [204].

Ударні труби, незалежно від конструкції, можуть бути горизонтально або вертикально орієнтованими, з відкритим або закритим дулом. Ударні труби із закритим кінцем використовуються для дослідження термодинамічних характеристик ВХ. Разом з тим, ударна труба з відкритим кінцем має ширший спектр характеристик для дослідження повітряної ударної хвилі в експерименті [204].

Найбільш вдалим вважаємо експериментальний пристрій, який складається з факторів вибуху, що вражають, та засобів розміщення піддослідних тварин у зоні впливу ВХ [205 - 207]. Такий пристрій містить ударну трубу, яка складається з камери високого та низького тиску, розділених руйнівною діафрагмою. Засоби фіксації тварин у зоні дії ВХ включають сітчасту клітку, яка розташована в камері низького тиску. Розміщення тварин всередині пристрою (в камері низького тиску) унеможливорює отримання модельного стану (локального впливу ВХ на відповідну ділянку тіла, динамічних змін у формуванні параметрів ВХ, швидкості впливу), що ускладнює подальше вивчення впливу ВХ в динаміці, адже вона діє на піддослідну тварину в цілому, на весь організм, травмуючи всі органи. Тобто, така модель не дозволяє відтворити локальний вплив на конкретний орган. Враховуючи вищезазначені недоліки, розміщення тварин поза ударною трубою є найбільш прийнятним методом для вивчення, наприклад, механізму розвитку первинного ушкодження конкретного органу, зокрема головного мозку, і може бути прийнято за стандартне положення біологічного об'єкта при дослідженні дії ВХ [208, 209].

Окрім цього, були визначені додаткові переваги та недоліки зазначених у цьому огляді пристроїв. Зокрема, використання лазерної ВХ обмежене зосередженням на клітинному рівні, в той час, як для розуміння механізму ВІТГМ необхідним є вплив на весь мозок через череп, адже зміни його

конфігурації також мають велике значення [29, 210]. Вибухи із застосування дула пістолета обмежені формуванням хвилі високого тиску без газодинаміки, що віддаляє цю модель від подібного до реальних умов у відкритому полі. А надмірно збільшений тиск в дулі призводить до надмірного ефекту прискорення та уповільнення хвильового процесу [211]. При застосуванні циліндричних імітаторів вибуху недоліками є формування платоподібного піка ВХ і відсутність негативної фази, що також віддаляє такий спосіб моделювання вибухо-індукованої травми від дійсних умов [200]. Вдосконалені симулятори вибуху розроблені з урахуванням цих недоліків завдяки створенню дивергентного поперечного перерізу, що імітує фізику хвилі Фрінлендера з негативною фазою [210].

Оскільки у пошкодженні головного мозку одним із встановлених наслідків впливу ВХ є кавітації, широко розробляються експериментальні методи відтворення подібного ушкодження. За результатами аналізу літератури, було встановлено, що методи відтворення кавітації поділяються на два типи. Перший тип — статичний (викликана голкою), другий — динамічний (викликана лазером або звуком, а також інтегрована система крапельної вежі) [212].

Для створення кавітаційної бульбашки статичним методом, за умов контролю під мікроскопом, через вузьку голку, вставлену в тканину, під сильним тиском, що створюється помпою, подають повітря. Такий контрольований метод дозволяє регулювати розмір (за допомогою використання голок різного діаметра) і тиск кавітаційної бульбашки та спостерігати за змінами властивостей і реакцій тканин, в тому числі й у неоднорідних [212]. Перевагою цього методу є можливість проводити дослідження *in vivo* [213].

За допомогою ультразвуку моделюють акустично індуковану кавітацію. Для цієї моделі застосовують прилад, що складається з комплексу перетворювач+підсилювач+генератор сигналу, що, внаслідок зміни циклів

розширень і коливань, дозволяє створювати декілька кавітаційних бульбашок у біологічному об'єкті [214]. Такий метод є наближеним до реального ушкодження ВХ, проте не дозволяє встановити поведінку окремої бульбашки та змін властивостей тканини. Цей недолік виправили [215]. Для цього вони запропонували використати кавітаційну реометрію - метод, який полягає у створенні бульбашки шляхом генерації високосфокусованого ультразвуку [216].

Як відомо, для літотрипсії також використовують ефект кавітації від ультразвуку. Під час розробки таких апаратів науковці звернули увагу на те, що бульбашки пошкоджують судини прилеглих до нирок органів. Це привернуло увагу дослідників, що вивчають вибухо-індуковану кавітацію і сприяло адаптації таких приладів для експериментальних досліджень [212].

Проте, всі ці моделі або складні у відтворенні, або, через постійну взаємодію бульбашок між собою, складно вивчати їх динаміку. Наразі, розроблено нові моделі - двошаровий сонофор, в основі роботи якого також використовують ультразвук і лазерний дифрактор, що прогностично дозволять визначати більший спектр характеристик окремих і у скупченні кавітаційних бульбашок (розмір, тривалість існування, поведінку тощо) [212].

Динамічним типом методики кавітаційного ушкодження є використання лазера для дослідження кавітації з наголосом на ЧМТ [216]. Кавітація створюється в результаті підвищення температури при передачі енергії від променя лазера, а пухирці фіксуються високошвидкісною відеокамерою різної локалізації й у різних тканинах. До переваг використання лазера також відносять безконтактність і високоточність, а основним недоліком є термічний вплив [212].

Також до динамічного типу відноситься інтегрована система на основі крапельної вежі, конструкція якої складається зі спеціально розробленого тримача пружин з предметом необхідної ваги та амортизаторів, що

дозволяють моделювати класичну ЧМТ. При цьому, через зміну тиску шляхом прискорення, формуються кавітаційні бульбашки, механізм утворення, характеристики й поведінку яких записують високошвидкісною камерою [217]. В ході використання інтегрованої системи на основі крапельної вежі встановлено максимально ефективні показники механічного удару, що викликає формування кавітаційних пухирців з обов'язковими первинними параметрами об'єкта дослідження. Цей метод удосконалений введенням мікропухирців шляхом мікрофлюїдної системи, що дозволяє оцінити параметри й динаміку її під час механічної дії [218]. У 2020 році [219] провели дослідження *in vitro* із використанням модифікованої на основі крапельної вежі установки з тримачем вантажу, що дозволяє уникнути прямого контакту з біологічним об'єктом і порівняти механічні та клітинні характеристики [219]. Висновки цього дослідження показують, що розширення і стискання кавітаційної бульбашки мають менше значення у пошкодженні клітини, на відміну від первинного тиску матеріалу [219]. Таким чином, ця методика дозволяє дослідити фізико-механічні характеристики, що призводять до кавітації в різних біологічних об'єктах.

Резюме

Вибухо-індукована травма головного мозку є поширеною травмою у військових і цивільних внаслідок терористичних актів та використання саморобних вибухівок. Серед наслідків ВІТГМ навіть легкого ступня є стійкі поведінково-когнітивні порушення з розвитком нейродегенерації у віддаленому посттравматичному періоді, що суттєво знижує якість життя. Фізичні механізми первинного ушкодження недостатньо дослідженні, що вимагає розробки експериментальних моделей, які максимально імітують реальні події. А для діагностики та патогенетично обґрунтованого лікування необхідним є визначення специфічних поведінкових, морфологічних та

біохімічних маркерів, що будуть виявлені при вивченні динаміки ВІТГМ, які залишаються на сьогодні мало дослідженими. Усі ці аспекти підвищують актуальність подальшого вивчення патогенезу ВІТГМ зі встановленням специфічних біомаркерів.

Результати даного розділу опубліковані у наукових працях [23, 33, 278, 280, 283, 293, 294, 305].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Вибір об'єкта та методів для проведення експериментального дослідження вибухо-індукованої травми головного мозку здійснено відповідно до поставленої мети роботи та завдань.

2.1 Вибір об'єкта дослідження

Для проведення дослідження були обрані лабораторні щури. Це пов'язано з тим, що саме цих тварин легко відсортувати за віком, статтю, вагою. А також із тим, що саме ці тварини є найбільш зручними та доступними для експериментального відтворення ВІТГМ, дослідження механізмів порушення функції центральної нервової системи (ЦНС) та морфологічного і біохімічного аналізу.

Експериментальні дослідження проведені на статевозрілих 345 щурах самцях лінії Wistar масою 220-270 г, що утримувались в стандартних умовах віварію Дніпровського державного медичного університету. Усі тварини перед дослідженням підлягали карантину та регулярно оглядались на предмет можливої патології.

Тварини були розміщені у прямокутних пластикових клітках (площа підлоги 1500 см²) з дротяною сіткою зверху. У кожній клітці було по 3 щури, що дозволило адекватно розділити тварин на групи, а також не викликало у тварин негативних емоційних реакцій самотності після евтаназії інших щурів. Усіх щурів маркували перманентним маркером, що не призводило до інтоксикації тварин і не впливало на результати.

За наповнювач кліток використовували деревну тирсу товщиною 2-3 мм. У приміщенні з щурами підтримувалась стала температура повітря в межах 20-25 °С, вологість в межах 50-60 %. Добовий цикл світло : темрява

був 12:12 годин. Їжу та воду надавали *ad libidum* Усіх тварин годували комерційними кукурудзяними та пшеничними гранулами, що були однаковими за складом та кількістю. Для пиття використовували воду з-під крану.

Перед проведенням кожної серії експерименту, щурів суворо відбирали за критеріями, що дозволяли надалі оцінювати функціональні показники головного мозку, а саме відсутність спонтанних рухів по колу, при посадці на рівну поверхню щур одночасно торкався її обома передніми лапками, при зміні положення щура вниз головою за хвіст спостерігали одночасне розведення пальців задніх лапок.

2.2 Характеристика груп дослідження

Щури експериментальної групи (Експ) піддавались впливу галотану і вибухової хвилі, тварин контрольної групи (Контр) піддавали впливу галотану і фіксації. Для короткочасної (2-3 хвилини) наркотизації щурів експериментальної та контрольної груп поміщали в ексикатор об'ємом 3 літри, шприцом вводили 3 мл галотану. Глибину наркозу у щурів оцінювали за загальною міорелаксацією, відсутністю перевертального і рогівкового рефлексу [220].

У зв'язку із відомими та встановленими ефектами галотану у вигляді знеболювання, міорелаксації та анестезії інгаляційної [221], для виключення його впливу на функцію ЦНС додатково до контрольної групи була створена інтактна група (Інт), тварин якої не піддавали жодному впливу.

Усі дослідження проводили на 1-у, 3-ю, 7-у, 14-у, 21-у та 28-у добу після експериментального відтворення ВІТГМ.

Відповідно до задач та методів дослідження, усі тварини були розподілені на окремі групи (табл. 2.1).

Таблиця 2.1 - Розподіл тварин по групах

Методи дослідження		Кількість щурів залежно від групи дослідження		
		Експериментальна	Контрольна	Інтактна
1.	Тест «Відкрите поле»	6	7	7
2.	ПХЛ	6	6	6
3.	Больова чутливість	6	6	6
4.	Лабіринт Барнса	6	6	6
5.	Ж-подібний лабіринт	6	6	6
6.	УРПУ	6	6	6
7.	Визначення біометалів	42	42	42
8.	Біохімічні дослідження	28	14	7
9.	Електронна мікроскопія	6	6	-
10.	Світлова мікроскопія	24	24	-
Всього: 345		136	123	86

Для морфологічних досліджень не використовували тварин інтактною групи, адже це не було доцільним через те, що для наркотизації перед декапітацією тварин використовували галотан і тому різниці між Контр та Інт не передбачали.

На етапах планування та проведення експериментального дослідження були зроблені усі зусилля, щоб звести до мінімуму як страждання тварин, так і кількість щурів, що були залучені у дослідженні, згідно сучасних вимог біоетики (див. п. 2.10).

Це засвідчують витяги із протоколів засідання комісії з біомедичної етики Дніпровського державного медичного університету № 3 від 02.11.2021, № 23 від 18.12.2024.

2.3 Моделювання вибухо-індукованої травми головного мозку

Експериментальне моделювання ВІТГМ проводилось у лабораторії кафедри Патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології Дніпровського державного медичного університету.

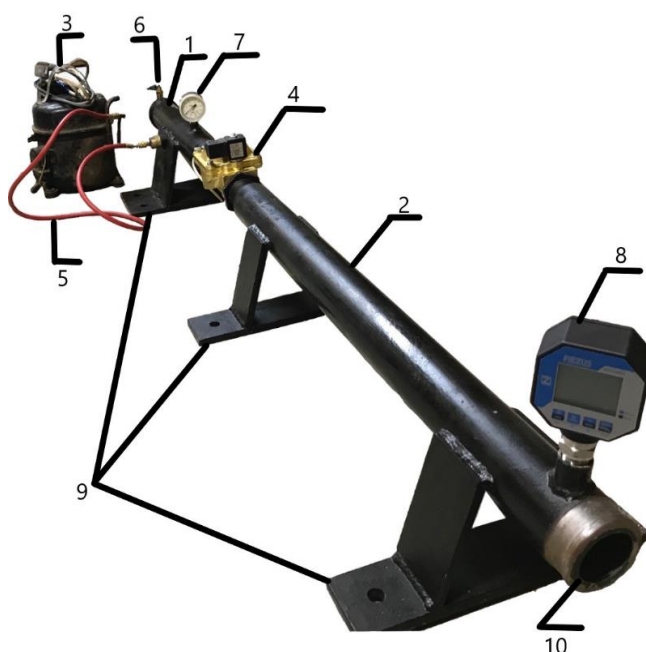
Для моделювання ВІТГМ тварин анестезували галотаном (Halothan Hoeschst AG, Німеччина). Для цього кожного щура поміщали в ексикатор об'ємом 3 літри, в отвір якого шприцом вводили 3 мл галотану. Глибину наркозу в Експ і Контр щурів оцінювали за загальною міорелоксацією, відсутністю перевертального і рогівкового рефлексу. Потім м'яко фіксували в горизонтальному положенні на животі, мордочкою до отвору приладу на відстані 5 см (рис. 2.1).



Рисунок 2.1 – Положення щура до пристрою.

Для створення повітряної ВХ на відкритий кінцевий отвір камери низького тиску закріплювали гумову діафрагму (рис. 2.1, 2.2).

Надалі підключали компресор до стандартної електричної мережі (220 В), який протягом декількох секунд нагнітав повітря у камеру високого тиску - до 15 атм, тобто ≈ 1520 кПа. Після досягнення необхідного тиску, що фіксувався манометром, відкривали електромагнітний клапан між двома камерами. В результаті потік повітря з надлишковим тиском переходив у камеру низького тиску (рис. 2.2) [222]. Як наслідок цих дій, повітряна ВХ розривала гумову діафрагму та впливала на щура.



Примітки: 1- камера високого тиску, 2 - камера низького тиску, 3 - повітряний компресор, 4 - електромагнітний клапан, 5 - шланг для подачі повітряної суміші, 6 - клапан скидання надлишкового тиску, 7 - манометр для вимірювання статичного тиску, 8 - п'єзоелектричний високошвидкісний датчик тиску для вимірювання надлишкового тиску, 9 - металеві опори для кріплення ударної труби, 10 - дулова частина камери низького тиску.

Рисунок 2.2 – Пристрій для генерації вибухової хвилі.

За умов експерименту ВХ генерувалася з надлишковим тиском, у середньому $31,22 \pm 12,9$ кПа, що відповідало легкій ВІТГМ. Надлишковий тиск на виході вимірювали за допомогою електронного манометра з п'єзoeлементом ВІТ02В-10В (АЕР transducers, Італія), показник якого фіксували на камеру iPhone XR.

Для виключення патологічної дії шуму [223] визначали його рівень за допомогою шумоміра Robotron RFT 00024 (Німеччина), що становив в середньому 130 дБ під час розриву гумової діафрагми.

2.4 Дослідження поведінки щурів

Методики дослідження поведінки щурів, що були використані в нашому дослідженні, є добре відомими та, що вкрай важливо, чутливими для визначення функціональних змін головного мозку у щурів. Це є головною вимогою, враховуючи специфіку і легкий ступінь ВІТГМ.

2.4.1 Дослідження поведінкової активності щурів у тесті «Відкрите поле»

Методичний підхід тесту «Відкрите поле» є одним із найпоширеніших способів дослідження дії різних факторів на стан ЦНС внаслідок легкого фіксування частоти та тривалості специфічної поведінки при потраплянні на велику відкриту площу. Дана методика дозволяє оцінити емоційний статус, пошукові рефлекси щурів, простежити адаптаційні можливості в динаміці [224]. За добу до проведення поведінкового тесту тварин Експ групи піддавали впливу ВХ ($M=30,65\pm4,06$ кПа).

Для проведення тесту «Відкрите поле» використовували стандартну установку – велика квадратна камера (100x100 см) зі стінками заввишки 40 см. Підлога була поділена на 25 (5x5 см) рівних квадратів. На перетині ліній кожного квадрату було розміщено отвір діаметром 1 см [224].

Впродовж 3-х хвилин спостереження у тварин підраховували кількість квадратів, що тварина перетинала чотирма лапками – горизонтальна рухова активність, вертикальних стійок – вертикальна рухова активність, число обстежених нірок, кількість та тривалість різних за якістю грумінгів,

кількість актів та болюсів дефекацій, а також кількість уринацій [224]. Якість грумінгу додатково оцінювали за послідовністю рухів тварини та окремо аналізували повний (правильна послідовність грумінгу носика, вушок, тіла) і неповний (переривчасті, непослідовні рухи).

Динаміку змін орієнтовно-дослідницької активності щурів оцінювали за результатами горизонтальної та вертикальної рухливості, а також за кількістю обстежених нірок (отворів у підлозі установки). Оцінка «емоційності» проводилась за результатами розрахунку кількості актів та болюсів дефекації, кількості уринацій, оскільки відомо, що ці показники свідчать про стан емоційної сфери тварини, за кількістю та тривалістю різних за якістю актів грумінгу. Підвищення цих параметрів свідчить про тривожність та страх, пригнічення - про стан, подібний до депресії [224].

2.4.2 Дослідження поведінки щурів у піднесеному хрестоподібному лабіринті

Піднесений хрестоподібний лабіринт (ПХЛ) широко використовують для визначення наявності поведінки, подібної до тривоги у щурів з порушенням ЦНС, адже ця методика ґрунтується на вродженому рефлексі страху до відкритого простору, в результаті чого тварина ховається у закриті темні рукави пристрою [225].

За добу до дослідження поведінки у ПХЛ щурів Експ групи піддавали впливу ВХ ($M=29,13 \pm 1,9$ кПа).

У відповідні терміни спостереження протягом 3-х хвилин визначали поведінкові профілі у піднесеному хрестоподібному лабіринті, який представлений ареною з навхрест поставленими рукавами — 2 відкриті рукави, 2 закриті рукави, довжиною 50 см, шириною 14 см. Висота стінок закритих рукавів 30 см, що створює достатнє затемнення. У місці перетину рукавів знаходився відкритий майданчик, що є стартовим для проведення

тесту. Арену піднесено на 55 см над рівнем підлоги [226]. В щурів усіх груп фіксували тривалість (в секундах) перебування у відкритих та закритих рукавах, кількість вертикальних стійок (вертикальна моторна активність), кількість і тривалість (в секундах) різних за якістю актів грумінгу, кількість звішувань з країв світлих рукавів, кількість актів та болосів дефекацій, а також кількість уринацій.

2.4.3 Дослідження больової чутливості

Відомо, що біль є одним з еволюційно найстаріших у ссавців і водночас одним із найскладніших за механізмами виникнення, проведення і відповіддю ЦНС на зовнішні та внутрішні ушкодження [227]. Адже в головному мозку немає одного конкретного центру болю, при цьому різні дослідження показують, що на будь-які больові подразнення реагують різні структури ЦНС. Тому, сприйняття больового подразнення і відповідь безпосередньо на біль є індикаторами функціонального стану вищої нервової діяльності [228].

За добу до дослідження больового порогу щурів Експ групи піддавали впливу ВХ ($M=31,13 \pm 5,1$ кПа).

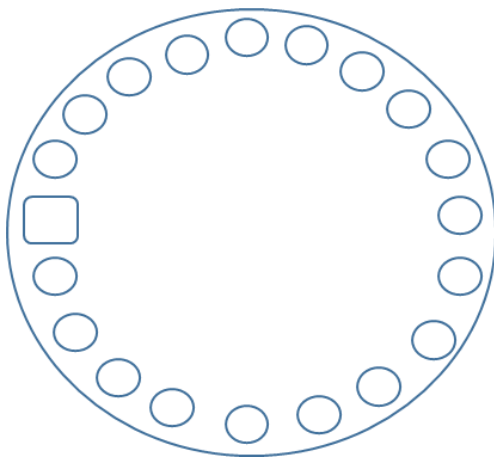
Дослідження реакції щурів на больове подразнення проводили в прямокутній камері (40x40x40 см) з електрифікованою підлогою. Кожного щура поміщали в центр камери та піддавали впливу перемінного струму (50 Гц) тривалістю 0,2 секунди, починаючи з сили електричного струму 20 μ А, поступово, з інтервалом 20 секунд, збільшуючи силу струму на 5 μ А до досягнення реакції вокалізації тварини. Після цього тварина відпочивала протягом 60 секунд і повторно піддавалась такій самій маніпуляції. Через 60 секунд після повторного досягнення реакції вокалізації щур піддавався третій серії впливу електричного струму. В кожній серії фіксували силу струму і, для інтерпретації результатів, розраховували середнє значення [224].

2.5 Дослідження когнітивного профілю щурів

Дослідження різних видів пам'яті та здатності до навчання є необхідним для встановлення функціональних порушень головного мозку, тоді як зміни їх вказують на порушення когнітивного профілю у щурів з ВІТГМ.

2.5.1 Дослідження просторової пам'яті щурів в лабіринті Барнса

Лабіринт Барнса – це поведінковий тест, що застосовується для дослідження просторових навчання та пам'яті щурів. Також тест дозволяє оцінити здатність до адаптації у новому небезпечному просторі. Власне лабіринт Барнса представлений ареною діаметром 122 см з пластику чорного кольору, яка зафіксована на рівні 100 см від поверхні полу на металевій підставці (рис. 2.3).



Примітка. Прямокутник - притулок, кружечки - «фальшиві» притулки.

Рисунок 2.3 – Схематичне зображення лабіринту Барнса.

По периметру арени було розташовано на однаковій відстані один від одного та від центра 20 отворів діаметром 10,5 см. Один з отворів перетворено на притулок, де тварина може повністю сховатися. Решта отворів є «фальшивими» притулками - не глибокі, в яких неможливо

сховатись. В центрі арени знаходилась закрита стартова камера, яку можливо було прибрати.

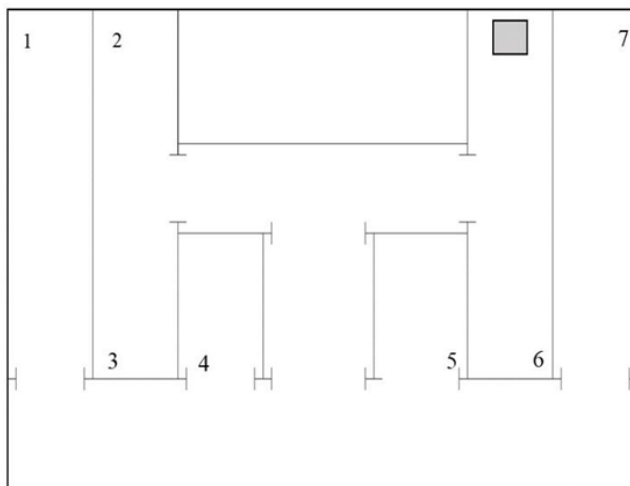
Перед тестуванням усі тварини проходили 5-и денне навчання, після якого було відібрано тільки тих тварин, які знаходили притулок протягом 5 хвилин [229]. Для проведення навчання та подальшого дослідження, після впливу ВХ на Експ тварин (тиск $M=29,95\pm 2,3$ кПа), кожну тварину на 2 хвилини розміщали в притулок, потім діставали і переміщували в закриту камеру в центрі арени, яку відразу прибирали, і щур опинявся на відкритій площі. Після кожної тварини арену обробляли 70 % спиртовим розчином. Дослідницьку активність від старту до того моменту, коли щур знаходив справжній притулок, фіксували камерою iPhoneXR на штативі.

Надалі визначали час завмирання щура при потраплянні на відкриту арену у секундах, латентний час (ЛЧ) від старту до моменту потрапляння тварини у справжній притулок у секундах, графічно зображали маршрут переміщення по лабіринту щурів трьох груп і візуально аналізували, а також підраховували кількість заходів у «фальшиві» притулки, визначали час завмирання та порівнювали показники експериментальних, контрольних та інтактних щурів.

2.5.2 Дослідження здатності щурів до навчання в Ж-подібному лабіринті

Ж-подібний лабіринт відноситься до складних внаслідок розгалуженості. Складність ситуації й завдання призводить до страху тварин зі швидкою адаптацією здорових щурів [126]. Проте, при порушенні функцій головного мозку, експериментальна тварина втрачає фізіологічні здібності до адаптації, проявляє ознаки тривожної поведінки, а також порушення здатності до формування сліду пам'яті щодо маршруту.

Ж-подібний лабіринт (рис. 2.4), який виготовлено із плексигласу, складається з 9 відділень.



Примітки: 1. Цифрами позначені окремі сектори, в які заходили тварини, 2. Сірий квадрат - годівничка.

Рисунок 2.4 – Схематичне зображення Ж-подібного лабіринту.

Серед цих відділень виділяють стартову зону, два Т-подібних розгалужень з правого та лівого боку, з'єднаних загальним коридором та два бічних відділення, праворуч та ліворуч, для виходу тварин з лабіринту у стартову зону [230].

Вхід зі стартової зони в лабіринт здійснюється через прохід, який розташований в центрі загального коридору. Т-подібні розгалуження праворуч і ліворуч закінчуються годівницями. Вироблення складної замкнутої харчової поведінки у щурів здійснювалося методом надання голодним тваринам вільного вибору рухів у лабіринті. Ми не ускладнювали завдання щурам, тому корм (кукурудза) знаходився завжди в одній тій же самій годівниці, що дозволяло також оцінити здатність до запам'ятовування маршруту. Рухову активність від входу в лабіринт до того моменту, коли щур знаходив годівницю, фіксували камерою iPhoneXR на штативі 5 діб поспіль через 1-у добу після впливу ВХ із середнім значенням $31,22 \pm 2,9$ кПа. Надалі визначали ЛЧ від старту до моменту, коли тварина знайде годівничку,

графічно зображали маршрут переміщення щурів по лабіринту і візуально аналізували. А також підраховували кількість заходів в окремі сектори, що частіше відвідувались, та порівнювали показники експериментальних, контрольних та інтактних щурів.

2.5.3 Дослідження умовної реакції пасивного уникнення

Помірний, але ефективний больовий подразник, що застосовується в методиці дослідження умовної реакції пасивного уникнення, сприяє формуванню стійкої пам'яті. Ця методика дозволяє оцінити особливості мнестичних процесів у щурів з ВІТГМ [231].

Умовну реакцію пасивного уникнення (УРПУ) досліджували стандартним методом у світло-темній камері, з електризованою підлогою в темній камері [224]. Розмір світлої камери 25х25 см, розмір темної камери 25х25 см.

Всі тварини проходили 5-денне навчання: щура розміщали в центрі світлої камери хвостом до входу у темну камеру і визначали латентний час до повного заходу у темну камеру, після переміщення в яку тварину піддавали впливу перемінного струму (50 Гц, 1,5 мА) тривалістю 0,2 секунди, при цьому щур мав вийти з темної камери. Якщо протягом 10-ти секунд тварина не поверталася в темну камеру її повертали в клітку, якщо заходила в темну камеру повторно наносили подразнення. Для участі в подальшому дослідженні були відібрані лише ті тварини, які не заходили в темну камеру протягом 180-ти секунд після навчання, тобто зі стійкою пам'яттю про біль у темній камері.

Через добу після навчання тварин Експ групи піддавали впливу ВХ ($M=31,35 \pm 3,2$ кПа) та досліджували у вказані терміни латентний час входу в темну камеру у тварин трьох груп.

2.6 Дослідження змін біометалів головного мозку щурів

Дослідження біометалів головного мозку дозволяють розкрити їх значення у патогенезі функціональних порушень головного мозку, завдяки залученню біометалів у метаболічні процеси нейронів [232].

Для дослідження біометалів створили окремі групи, які піддавались дії ВХ для забору головного мозку з середнім тиском, що відповідав 1-й добі посттравматичного періоду ($M=33,02\pm3,4$ кПа), 3-й добі ($M=31,08\pm3,4$ кПа), 7-й добі ($M=30,2\pm3,4$ кПа), 14-й добі ($M=30,88\pm1,2$ кПа), 21-й добі ($M=30,3\pm3,4$ кПа), 28-й добі ($M=31,2\pm1,2$ кПа) та надалі тваринам трьох груп в один і той самий день проводили евтаназію галотаном з наступним вилученням головного мозку для енергодисперсійного рентгенофлуоресцентного аналізу (ЕДРФА) на аналізаторі EXPERT 3 XL.

Цей аналіз відноситься до фізичних неруйнівних експрес-методів кількісного визначення елементного складу біологічного матеріалу [233]. Незалежно від форми об'єкта, не використовуючи рекалібровки та спеціальної пробопідготовки, прямий експрес-аналіз з широким діапазоном вимірювання спектра біоелементів (від Na до U) дозволяє швидко і високоточно установити елементний склад будь-якого взірця, зокрема у тканинах головного мозку.

Фрагменти (передній мозок, мозочок) нативного нефіксованого головного мозку вносили у вимірювальну камеру з експозицією опромінення 10 хвилин (600 с). Після цього за допомогою програмного забезпечення (виробник: ТОВ «Науково-виробниче підприємство Інститут аналітичних методів контролю (ТОВ «ІНАМ»)), Київ, Україна) на базі лабораторії Комунального закладу «Дніпропетровське обласне бюро судово-медичної експертизи» Дніпропетровської обласної Ради проводили розрахунки в автоматизованому режимі. Програма для розрахунку масової частки у відсотках (ω) є невід'ємною складовою програмного забезпечення приладу та

написана мовою програмування (набір інструкцій у вигляді слів та цифр, схем, кодів) спеціально для розрахунку кількісних значень спектра. Тому результати представлені у вигляді піків спектрів та таблиць для кожного зразка з відповідними масовими концентраціями.

Після отримання кількісних масових часток біометалів розраховували коефіцієнти співвідношень Cu/Fe, Cu/Zn, Zn/Fe та порівнювали дані між трьома групами.

2.7 Визначення біохімічних показників крові щурів

Визначення активності антиоксидантної системи дозволяє встановити наявність оксидативного стресу у відповідь на первинне ушкодження. Представлене дослідження є важливим у розкритті патогенезу ВІТГМ, адже нейрони вкрай чутливі до впливу вільних радикалів через активне споживання кисню та великий вміст ліпідів у структурі [234].

Дослідження антиоксидантної системи крові проводили за визначенням активності окремих ензимів крові щурів експериментальної, контрольної та інтактної груп.

Щурів експериментальної групи піддавали впливу повітряної вибухової хвилі у дні, що на момент забору крові відповідали необхідним термінам дослідження - для 1-ї доби посттравматичного періоду тиск ВХ відповідав $M=29,45\pm3,4$ кПа, для 3-ї доби $M=30,05\pm2,7$ кПа, для 7-ї доби $M=30,52\pm3,1$ кПа, для 14-ї доби $M=29,08\pm2,6$ кПа, а збір крові у тварин усіх груп проводили в один день.

Для цього щурів наркотизували галотаном і декапітували. Для забору крові використовували вакуумні пробірки Vacutest Kima K₃EDTA 16.2 mg, 9 ml (Italy).

2.7.1 Дослідження змін рівня каталази в крові щурів

Активність каталази (EC1.11.1.6; Systematic name: hydrogen-peroxide:hydrogen-peroxide oxidoreductase) визначали за швидкістю зменшення (утилізації) перекису водню в середовищі інкубації. Концентрацію перекису водню визначали за реакцією з молібдатом амонію, який дає стійкий забарвлений комплекс, що вимірюється колориметрично при визначеній довжині хвилі (405 нм).

Аналізували плазму крові щурів, яка зберігалася при температурі – 20 °C. По 50 мкл плазми крові щурів було перенесено у центрифужні пробірки об'ємом 1,6 мл з розрахунком 1 контрольна та 1 дослідна проба для 1 досліджуваного зразка. У контрольні проби додавали по 50 мкл 0,2 %-го азиду натрію (NaN_3) для пригнічення активності каталази, після чого у всі пробірки було додано по 1 мл 0,03 %-го перекису водню (H_2O_2), інкубацію реактивної суміші проводили у темряві, при температурі +25 °C впродовж 1 хвилини (термостат ТС-80) для нейтралізації молекул перекису водню каталазою протягом встановленого часу.

Одразу після цього активність каталази інгібували додаванням по 50 мкл 0,2 %-го азиду натрію (NaN_3) до кожної з дослідних пробірок. До суміші у всіх (контрольних та дослідних) пробірках додавали по 0,5 мл 4 %-го молібдату амонію ($(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$) для формування стійкого забарвленого комплексу із незруйнованими молекулами перекису водню, після чого суміш у пробірках центрифугували протягом 2 хв при 300 g (центрифуга MPW-55, Польща) для осадження нерозчинного комплексу.

Супернатант відбирали по 200 мкл у лунку мікропланшету (дослідну пробу дублювали) та вимірювали абсорбцію супернатанта за допомогою мікропланшетного фотометра Multiscan FC (Thermo Fisher Scientific, Китай, 2019) при 405 нм [235].

Активність каталази (мкмоль/с•л) розраховували за формулою 2.1:

$$E = \frac{\Delta A \times V \times K}{\varepsilon \times t}, \quad (2.1)$$

де E – активність каталази, мкмоль/с•л; ΔA – різниця в оптичній щільності між контрольним і досліджуваним зразками, ($A_k - A_d$); V – об'єм зразка, мл; K – коефіцієнт перерахунку на 1 літр плазми крові, 10000; t – час інкубації у секундах; ε – коефіцієнт молярної екстинкції перекису водню, $22,2 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

2.7.2 Визначення змін активності глутатіонредуктази еритроцитів щурів

Активність глутатіонредуктази (Glutathione-disulfide reductase (GR) (EC 1.8.1.7) визначали у розчині гемолізату еритроцитів щурів.

Гемолізат еритроцитів отримували методом заморожування-відтавання, для чого спочатку зразки крові центрифугували при 2500 g протягом 10 хвилин, відбирали супернатант та тричі промивали з додаванням фізіологічного розчину. Потім еритроцити гемолізували методом заморожування-відтавання з додаванням дистильованої води у співвідношенні 1:5 за обсягом. Клітинні мембрани видаляли центрифугуванням при 14000 g протягом 30 хвилин. Гемолізат еритроцитів зберігали при -20°C [236].

Глутатіонредуктаза відновлює окиснений глутатіон (GSSG) у присутності НАДФН до відновленого глутатіону GSH, який при взаємодії з ДТНБ (реактив Елмана) утворює забарвлені продукти реакції, що визначаються спектрофотометрично з максимумом поглинання при 412 нм.

Активність глутатіонредуктази визначали у розведеному 1:10 0,9 % розчином NaCl гемолізаті еритроцитів [237].

Суміш зі 100 мкл розведеного гемолізату крові щурів та 0,2 мл 4 мМ розчину окисненого глутатіону (GSSG) інкубували у термостаті протягом 5 хвилин при +37 °C. Суміш розподіляли по 100 мкл у контрольну та дослідну мікропробірки. До дослідного зразка одразу додавали 10 мкл 5,35 мМ розчину НАДФН, після чого усі зразки переносили до термостата та інкубували протягом 10 хвилин при +37 °C. Внесення 100 мкл 10 % трихлороцтової кислоти зупиняло реакцію, після чого до контрольної проби додавали 10 мкл 5,35 мМ розчину НАДФН₂.

Зразки інкубували протягом ще 10 хвилин, потім центрифугували 15 хвилин при 300 g, відбирали по 200 мкл супернатанта у лунки мікропланшета та додавали по 20 мкл 10 мМ реактиву Елмана у кожен лунку.

Після вимірювання оптичної щільності активність глутатіонредуктази (мкмоль НАДФН/г Hb) визначали за різницею між поглинанням при 405 нм у контрольного та дослідного зразків з урахуванням концентрації гемоглобіну у пробах крові щурів.

2.7.3 Дослідження змін активності глутатіонпероксидази еритроцитів щурів

Активність глутатіонпероксидази (Glutathione peroxidase (GPx) (EC 1.11.1.9) визначали у розчині гемолізату еритроцитів щурів.

Спосіб отримання гемолізату еритроцитів дивитись у п. 2.7.2.

Глутатіонпероксидаза каталізує відновлення гідропероксидів з використанням відновленого глутатіону GSH, тому метод базується на окисненні відновленого глутатіону (GSH), який при взаємодії з 5,5-дитіобіс-2-нітробензойною кислотою (ДТНБ) утворює забарвлені аніони 2-нітро-5-тіобензоата з максимумом поглинання при 412 нм.

Активність глутатіонпероксидази визначали у розведеному 0,9 % розчином NaCl у співвідношенні 1:40 гемолізаті еритроцитів [238].

Розведений гемолізат еритроцитів (100 мкл) змішували з 650 мкл суміші розчинів, яка містила 10 мМ трис-HCl буферу (pH 7,4), 12 мМ азиду натрію та 6 мМ EDTA.

Потім додавали 250 мкл 2 мМ розчину відновленого глутатіону (GSH) та 250 мкл 1,8 мМ розчину пероксиду гідрогену (H_2O_2) та інкубували у термостаті при +25 °C протягом 15 хвилин. Реакцію зупиняли додаванням 1,5 мл 7,5 % розчину метафосфорної кислоти, після чого центрифугували зразки при 300 g впродовж 5 хвилин.

Супернатант змішували з 25 мкл 10 мМ розчину 5,5-дитіобіс-2-нітробензойної кислоти (реагенту Елмана), 200 мкл суміші переносили у лунки мікропланшета та вимірювали оптичну густину при 405 нм.

Активність глутатіонпероксидази (мкмоль GSH/г Hb) визначали з урахуванням концентрації гемоглобіну у пробах крові щурів.

2.7.4 Визначення рівня нейротрофічного фактора Brain Derived Neurotrophic Factor у крові щурів

Рівні Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) визначали за допомогою комерційного сендвіч-набору для ферментного імуносорбетного аналізу ELISA (FineTest®, Catalogue № ER0008).

Експериментальна процедура була виконана відповідно до інструкцій виробника. Цей набір базується на технології сендвіч-зв'язаного імуноферментного аналізу. Використовували 96-лунковий планшет з попередньо нанесеними антитілами до BDNF. Зразки бідної тромбоцитами EDTA плазми (50 мкл) попередньо розводили (1/2, об'єм/об'єм) у буфері, що надається у наборі. Стандарти розводили згідно з наданою методикою. Усі аналізи проводили у двох повтореннях. Стандарти для калібрування та

дослідні зразки вносили до лунок, після чого додавали кон'юговані з біотином антитіла до BDNF. Після інкубації незв'язані кон'югати видаляли тричі промивним буфером.

Після змивання незв'язаних кон'югатів, для імунодетекції біотинілованих білків, додавали HRP-стрептавідин (SABC). Після п'ятиразового промивання додавали субстрат ТМБ (розчин 3,3',5,5'-тетраметилбензидину гідрохлориду) для візуалізації ферментативної реакції з пероксидазою хрому (HRP). Пероксидаза хрому при інкубації протягом 20 хв каталізувала окиснення ТМБ з отриманням продукту реакції синього кольору, який, під дією доданого потім стоп-розчину, набував жовтого забарвлення.

Оптичну густину (OD) визначали на пристрої для зчитування мікропланшетів Thermo Scientific™ Multiskan™ FC при 450 нм. Концентрацію BDNF у зразку розраховували за стандартною кривою, яку будували згідно з даними OD стандартних розчинів та корегували за допомогою програми Curve Expert 1.4 на веб-сайті FineTest. Межа чутливості набору ELISA BDNF становить 18,75 пг/мл. Рівні BDNF в крові виражали у пг/мл.

2.8 Дослідження патоморфологічних особливостей головного мозку

Патоморфологічні дослідження проводились у двох групах щурів: експериментальній та контрольній, адже для евтаназії проводили декапітацію під галотановим наркозом, після чого вилучали головний мозок та проводили відповідні до дослідження маніпуляції.

2.8.1 Трансмісійна електронна мікроскопія

Для електронно-мікроскопічного аналізу фронтальної кори, гіпокампа та мозочка щурів контрольної та експериментальної групи після евтаназії та подальшої краніотомії вилучали з відповідних ділянок головного мозку фрагменти та фіксували за допомогою 2,5 %-вого розчину глютаральдегіду, що виготовляли на 0,1 М фосфатному буфері (pH 7,3).

Постфіксацію матеріалу проводили у 1 %-вому буферному розчині O_5O_4 протягом 1 години. Зневоднення тканини проводили за допомогою спиртів висхідної концентрації та пропіленоксиду, після чого матеріал поміщали в Епон-812 («SPI-Pon™ 812 Epoxy Embedding Kit», США).

Ультратонкі зрізи завтовшки 60-80 нм виготовляли за допомогою ультрамикротому УМТП-6М («SELMi», Україна) та розміщували на опорних мідних сіточках (Mesh Regular Grid 200).

Подвійне контрастування за Рейнольдсом проводили 5 %-вим водним розчином уранілацетату протягом 10 хв при температурі $+37^{\circ}C$ з наступною імпрегнацією розчином цитрату свинцю по методу Рейнольдса протягом 15 хв.

Дослідження проводили за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа ПЕМ-100-01 («SELMi», Україна) при напрузі прискорення 70-75 кВ і первинних збільшеннях від 1500 до 20000 за стандартною схемою. Досліджено усі поля зору та проведено фотофіксацію значущих змін за допомогою цифрової системи виводу зображень SEO-SCAN.

Загалом, електронно-мікроскопічне дослідження проводили за стандартною схемою [239, 240].

За 1-у годину до забору головного мозку, щурів Експ групи піддавали впливу ВХ ($M=30,1 \pm 2,9$ кПа).

2.8.2 Світлова мікроскопія

За добу до забору головного мозку, щурів Експ групи піддавали впливу ВХ ($M=29,6\pm3,8$ кПа). У відповідні терміни тварин Експ та Контр груп наркотизували та декапітували, вилучали головний мозок й надалі фіксували у 10 % розчині формаліну (рН 7,4) впродовж не менше 24 годин при кімнатній температурі [241, 242]. Процес інфільтрації виконували на гістопроекторі Microm STP-120 (Thermo Fisher Scientific, Німеччина). Зразки зневоднювали у висхідних концентраціях ізопропанолу (70 %, 80 %, 95 %, та у трьох змінах 100 % протягом 90 хв на кожну зміну), просвітлювали у ксилолі та інфільтрували у двох змінах розплавленого парафіну по 120 хв на кожну зміну. Після цього інфільтровані парафіном тканини заливали у парафінові блоки за допомогою станції заливки HistoStar (Thermo Fisher Scientific, США). З блоків отримували серійні зрізи товщиною не більше 4 мкм за допомогою мікротому Thermo HM 355S (Thermo Fisher Scientific, Німеччина). Зрізи кожного зразку тканини використовували для загального гістологічного забарвлення тканин за допомогою гематоксиліна і еозина після чого досліджено усі поля зору та проведено фотофіксацію значущих змін [243, 244].

Мікроскопія гістологічних зрізів проводилася за допомогою мікроскопу Axio Imager 2 (Zeiss, Німеччина) на збільшеннях $\times 100$, $\times 200$ та $\times 400$.

Для кількісної оцінки периваскулярного та перицелюлярного набряку у фронтальній корі головного мозку та в ділянці гіпокампа проводили морфометричне дослідження шляхом використання програми ImageJ. Цифрові зображення гістопрепаратів зберігали в jpg-форматі та переносили в інтерфейс програми. Використовуючи програмні модулі (плагіни), Color Threshold, Analyze/ Set Measurements/Measure, на інвертованих чорно-білих

зображеннях автоматично визначали % відносної площі набрякового компонента.

2.8.3 Імуногістохімічні методи

Зрізи завтовшки 4 мкм наносили на адгезивні предметні скельця Superfrost (Thermo, Німеччина), далі вони депарафінізувалися ксилолом та регідратувалися. Активність ендогенної пероксидази блокувалася 3 % розчином перекису водню у 70 % метанолі протягом 20 хвилин при кімнатній температурі. Потім зрізи промивали у трьох змінах натрій-фосфатного буферу (PBS) з наступним проведенням теплового антигенного демаскування (HIAR – heat induced antigene retrieval) шляхом нагрівання на водяній бані в цитратному буфері з pH=6.0 або Tris-EDTA буфері pH=9.0 (20 хвилин після досягнення температури 98 °C) із симетричним розташуванням скелець у кюветі з додаванням 2 мл детергенту Triton-X100 (Sigma, Німеччина) на 200 мл буфера [245, 246].

Після промивання у трьох змінах PBS, скельця розташовували на планшеті з вологою підкладкою та інкубували з 1 % розчином сироватки, що блокує (нормальна козяча сироватка) у 1 % BSA (бичачий сироватковий альбумін) протягом 20 хвилин. У якості первинних використовувалися антитіла до ендотеліальної NO-синтази, eNOS (клон M221, розведення 1:400, Abscam, Сполучене Королівство); матриксної металопротеїнази-2 (MMP-2) (клон 6E3F8, 1:1000, Abscam, Сполучене Королівство).

Проводили інкубацію зрізів з первинними антитілами у вологій камері при температурі 4 °C протягом ночі. Візуалізацію проводили за допомогою набору реагентів Master Polymer Plus Detection System (Master Diagnostica, Іспанія), яка завершувалася реакцією хромогену DAB з перекисом водню у присутності пероксидази хрому з утворенням коричневого забарвлення у місцях зв'язування діагностичного антитіла з досліджуваними маркерами

[245]. Для фонового забарвлення ядер зрізи додатково фарбували гематоксиліном Джилла протягом 30 секунд. Потім дегідратували у висхідних концентраціях алкоголю, просвітлювали у ксилолі та розміщували у кінцеве середовище під покривні скельця.

Оцінку експресії eNOS, який синтезується в ендотеліюцитах судин, проводили шляхом констатації наявності або відсутності експресії цього маркеру. На препаратах головного мозку, де була встановлена експресія eNOS у вигляді коричневого забарвлення, візуально оцінювали ступінь виразності експресії за градієнтом кольору - чим темніший коричневий, тим суттєвіша експресія. Залучення машинних методів обробки зображень було недоцільно у зв'язку із малоінформативністю майбутніх результатів.

Інтенсивність цитоплазматичного забарвлення маркером MMP-2 в структурах головного мозку розраховувалась у балах яскравості коричневого кольору хромогену DAB програмою обробки цифрових зображень Image J із застосуванням плагіну Colour Deconvolution з подальшим формуванням гістограм (графік вимірювання яскравості зображення, на якому частота кожного відтінку представлена у вигляді певних значень лінійної діаграми), де білий колір відповідав 255 балів (максимальне значення), а чорний колір – 0 балів. Менший бал яскравості коричневого кольору корелював зі збільшеним рівнем інтенсивності MMP-2.

В окремо взятих полях зору гістопрепаратів мозку (з найбільшою концентрацією клітин з експресією маркера) нами розраховувалася відносна площа забарвлення маркером MMP-2 з використанням програмних модулів Color Threshold, Analyze/ Set Measurements/Measure. Рівень експресії MMP-2 оцінювали у відсотках площі до площі поля зору при збільшенні $\times 400$. Площа експресії являла собою відсоткове співвідношення числа пікселів цифрового зображення зон експресії до загальної кількості пікселів у зображенні. Показники інтенсивності цитоплазматичного забарвлення та

відносної площі експресії MMP-2 підлягали статистичному опрацюванню у програмі ImageJ (рис. 2.5).

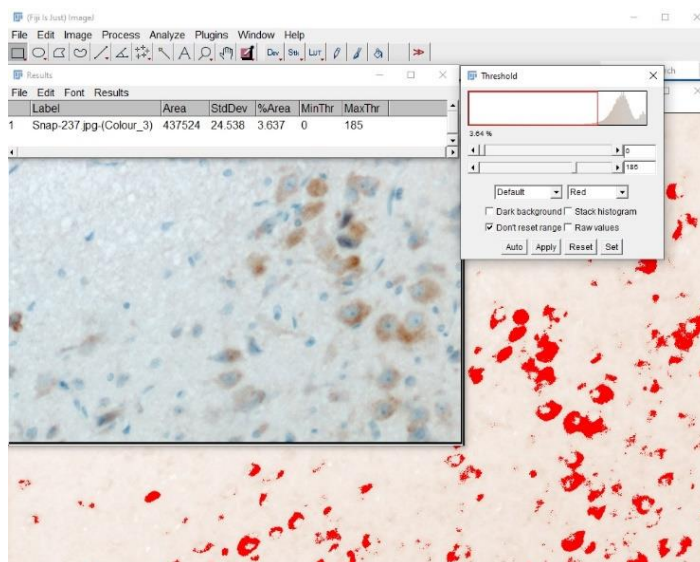


Рисунок 2.5 – Приклад розрахунку площі експресії MMP-2 у програмі ImageJ.

Інтенсивність цитоплазматичного забарвлення маркером MMP-2 в структурах головного мозку розраховувалась у балах яскравості коричневого кольору хромогену DAB програмою обробки цифрових зображень Image J із застосуванням плагіну Colour Deconvolution з подальшим формуванням гістограм (графік вимірювання яскравості зображення, на якому частота кожного відтінку представлена у вигляді певних значень лінійної діаграми), де білий колір відповідав 255 балів (максимальне значення), а чорний колір – 0 балів. Менший бал яскравості коричневого кольору корелював зі збільшеним рівнем інтенсивності MMP-2.

В окремо взятих полях зору гістопрепаратів мозку (з найбільшою концентрацією клітин з експресією маркера) нами розраховувалася відносна площа забарвлення маркером MMP-2 з використанням програмних модулів Color Threshold, Analyze/Set Measurements/Measure. Рівень експресії MMP-2 оцінювали у відсотках площі до площі поля зору при збільшенні $\times 400$. Площа експресії являла собою відсоткове співвідношення числа пікселів

цифрового зображення зон експресії до загальної кількості пікселів у зображенні.

Показники інтенсивності цитоплазматичного забарвлення та відносної площі експресії MMP-2 підлягали статистичному опрацюванню в програмах Image J та зі статистичними методами аналізу (п. 2.9).

2.9 Статистична обробка отриманих результатів

Статистичний аналіз був проведений за допомогою програмного забезпечення STATISTICA 6.1 (StatSoftInc., серійний номер AGAR909E415822FA) та Microsoft Excel (<https://www.microsoft.com/microsoft-365/free-office-online-for-the-web>).

Перевірку гіпотези нормальності розподілу досліджуваних кількісних ознак проводили за критерієм Шапіро-Уїлка, перевірку гіпотези про рівність дисперсій за критерієм Левіна.

За умов нормального закону розподілу використовували параметричні характеристики та критерії оцінки достовірності внутрішньогрупових та міжгрупових (між експериментальною та контрольною, експериментальною та інтактною, контрольною та інтактною групами) відмінностей показників: середнє арифметичне (M), стандартне відхилення (SD), критерій Стюдента для залежних вибірок (T) (оцінка динамічних змін в межах однієї групи), дисперсійний аналіз ANOVA (F) з подальшим попарним порівнянням показників за критерієм Тьюкі (HSD). При відхиленні розподілу кількісних ознак від нормального закону чи відсутності рівності дисперсій порівнюваних вибірок, використовували медіану (Me) та розмах вибірки – мінімальне – максимальне значення (min-max) і критерій Вілкоксона (W) для порівняння пов'язаних вибірок, непараметричний дисперсійний аналіз Краскела-Уоліса (H) та критерій Данна – для непов'язаних вибірок. Застосовувалися поправки Бонфероні та Холма при множинних порівняннях.

Достовірність відмінностей якісних ознак оцінювали за критерієм Хі-квадрат Пірсона (χ^2).

Для встановлення кореляційних зв'язків між параметрами дослідження було використано коефіцієнт рангової кореляції Спірмена (r).

Кількісну оцінку впливу ВХ та галотану отримали за допомогою дисперсійного аналізу повторних вимірів (Repeated measures ANOVA) з оцінкою ступеня впливу незалежного фактора на досліджувану ознаку за коефіцієнтом детермінації (K^2 , %).

Критичне значення рівня статистичної значущості (p) для усіх видів аналізу приймалося $<5\%$ ($p < 0,05$) [247].

2.10 Біоетика та евтаназія експериментальних щурів

Всі маніпуляції проводилися відповідно до заздалегідь розробленого і затвердженого плану та правил чинного законодавства: Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3447-IV від 21.02.2006 р., Закон України «Про затвердження порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» № 249 від 01.03.2012 р., «Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (ETS 123)» (1986 р.), «Директива 2010/63/ЄС Європейського парламенту та Ради ЄС від 22 вересня 2010 року про захист тварин, що використовуються в наукових цілях», а також згідно з Керівництвом з догляду та використання лабораторних тварин і ARRIVE [248].

Матеріали даного розділу представлені у наукових працях [222, 257, 267, 287, 297, 300, 308, 318, 334, 347, 354, 355, 361, 400].

РОЗДІЛ 3

ЗМІНИ ПОВЕДІНКИ ЩУРІВ В ДИНАМІЦІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ВИБУХО-ІНДУКОВАНОЇ ТРАВМИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Даний розділ присвячений оцінці показників, що віддзеркалюють стан поведінки щурів у динаміці ВІТГМ.

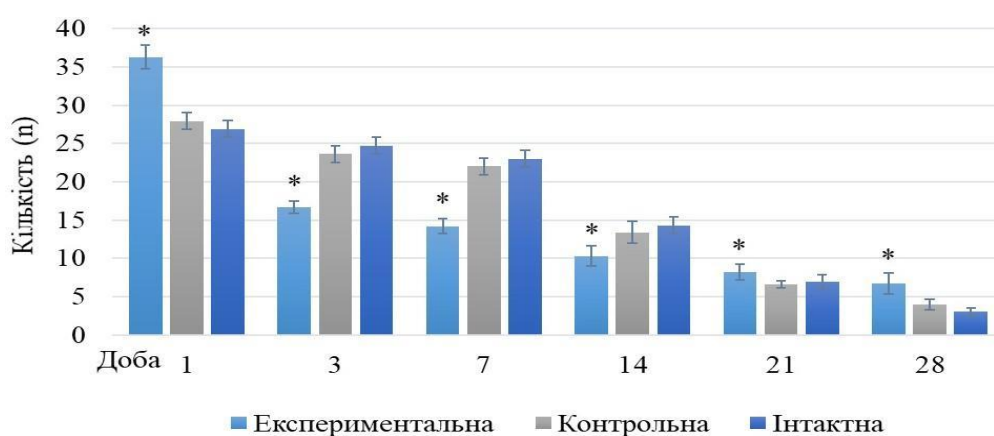
Було проведено попарні статистичні порівняння поведінкових показників у представлених надалі тестах, що визначали у щурів таких груп: експериментальної проти контрольної, експериментальної проти інтактної, контрольної проти інтактної. А також проведено аналіз змін в середині кожної групи та множинні порівняння між Експ, Контр та Інт групами із застосуванням параметричних і непараметричних статистичних методів аналізу. Було встановлено, що відмінності між усіма показниками двох груп - контрольної та інтактної, пов'язані з впливом галотану і фіксацією та більшою мірою не мали систематичного довготривалого впливу на щурів контрольної групи.

3.1 Поведінкова активність щурів в тесті «Відкрите поле» в динаміці розвитку експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку

Значні ефекти дії ВІТГМ легкого ступеня на поведінку піддослідних щурів у «Відкритому полі» були очевидними.

Одним з показників, що характеризує дослідницьку діяльність у горизонтальній площині є горизонтальна рухова активність (ГРА), яку визначали за кількістю перетнутих квадратів на підлозі майданчика «Відкритого поля» протягом 3-х хвилин у кожную добу спостереження.

В усіх групах ГРА поступово зменшувалась, що свідчить про адаптацію тварин. В Експ групі середній показник ГРА з 1-ї по 28-у добу посттравматичного періоду зменшився з $36,3 \pm 1,5$ од. до $6,7 \pm 1,4$ од., тобто на 82% ($p < 0,0001$). У щурів Контр групи ГРА з 1-ї по 28-у добу дослідження зменшилась з $27,9 \pm 1,1$ од. до $4,0 \pm 0,7$ од. (на 86%, $p < 0,0001$). І у щурів Інт групи у цей період дослідження ГРА зменшилась з $26,9 \pm 1,1$ од. до $3,0 \pm 0,5$ од., на 89%, $p < 0,0001$ (рис. 3.1).



Примітки: 1. Вертикальна шкала - кількість квадратів, що повністю перетинали тварини протягом тестування (3 хв), 2. * - випадки достовірної ($p < 0,0001$) різниці між групами Експ ($n=6$) та Контр ($n=7$), Експ та Інт ($n=7$).

Рисунок 3.1 - Динаміка середніх показників (М, SD) горизонтальної рухової активності щурів різних груп у тесті «Відкрите поле».

Кореляційний аналіз Спірмена встановив негативну залежність дуже сильного ступеня ($r = -0,97$, $p < 0,001$) змін ГРА від динаміки посттравматичного періоду в щурів Експ групи.

За результатами параметричного дисперсійного аналізу ANOVA (F-критерій) встановлено наявність статистично значущих відмінностей між 3-а групами у 1-у ($F=116,0$, $p < 0,0001$), 3-ю ($F=90,5$, $p < 0,0001$) та у 7-у ($F=120,4$, $p < 0,0001$) добу спостереження, а подальше дослідження встановило такі рівні: у 14-у добу $F=16,3$ при $p < 0,0001$, у 21-у добу $F=8,3$ при $p < 0,01$ та у 28-у добу $F=18,6$ ($p < 0,0001$). Водночас динаміка показників ГРА у щурів Контр та

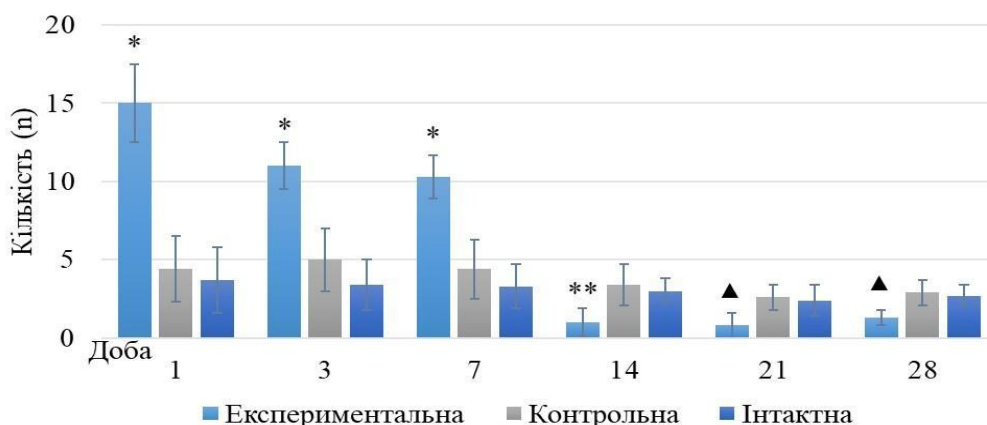
Інт груп протягом всього періоду спостереження була статистично зіставною при $p > 0,05$ у всіх порівняннях за критерієм Тьюкі.

При цьому міжгрупове попарне порівняння на 1-у добу після індукції ВІТГМ показало, що рівень ГРА, який характеризує переважно інтенсивність пересування тварини в межах манежу, в групі Експ був у середньому на 30% ($p < 0,0001$) вищим, ніж у групі Контр і на 35% ($p < 0,0001$) вищим, ніж у групі Інт (рис. 3.1). Пізніше (3-14-а доба) цей тип активності помітно пригнічувався порівняно з Контр та Інт, і залишався статистично значущим. Так, на 3-ю добу ГРА групи Експ була меншою на 29% ($p < 0,0001$) у порівнянні з Контр і на 32% ($p < 0,0001$) у порівнянні з Інт. На 7-у добу ГРА групи Експ також знижувалась на 35% ($p < 0,0001$) у порівнянні з Контр і на 38% ($p < 0,0001$) у порівнянні з Інт. На 14-у добу спостерігали встановили зменшення кількості перетнутих квадратів у щурів групи Експ при порівнянні з Контр на 23% ($p < 0,01$) і з Інт на 28% ($p < 0,0001$). Потім, цей показник знову помітно перевищував значення Контр на 20% ($p < 0,01$) у 21-у і 68% ($p < 0,0001$) на 28-у добу, та Інт на 19% ($p < 0,01$) у 21-у та 123% ($p < 0,0001$) у 28-у добу (рис. 3.1).

Такі зміни вказують на тривожність Експ тварин у 1-у добу дослідження, що змінюється у 3-ю та 7-у добу пригніченням цього рефлексу, тобто розвитком стану, подібного до депресії. Разом з тим у тварин Контр та Інт ГРА змінюється поступово, що свідчить про звикання до нового середовища.

Кількість повних стійок на задніх кінцівках, виконаних твариною - вертикальна рухова активність (ВРА), що зазвичай інтерпретується як прояв переважно дослідницько-орієнтувальної активності у вертикальній площині в умовах нового та відкритого, добре освітленого середовища, у щурів з легкою ВІТГМ на 1-у тижні спостереження була вища, а надалі пригнічувалась як всередині групи, так і у порівнянні з Контр та Інт.

Загальне зменшення з $15,0 \pm 2,5$ од. до $1,3 \pm 0,5$ од. ВРА у щурів Експ групи спостерігали у період з 1-ї по 28-у добу посттравматичного періоду, що становило 91% ($p < 0,0001$). В той час, як у щурів Контр (з $4,4 \pm 2,1$ од. до $2,9 \pm 0,8$ од.) та Інт (з $3,7 \pm 2,1$ од. до $2,7 \pm 0,7$ од.) груп спостерігали адаптаційне зниження ВРА на 34% ($p > 0,05$) та на 27% ($p > 0,05$) відповідно (рис. 3.2).



Примітки: 1. Вертикальна шкала - кількість повних підйомів на задні кінцівки протягом тестування (3 хв), 2. * - випадки достовірної ($p < 0,0001$) різниці між групами Експ ($n=6$) та Контр ($n=7$), Експ та Інт ($n=7$), 3. ** - випадки достовірної ($p < 0,01$) різниці між групами Експ та Контр, Експ та Інт, 4. ▲ - випадки достовірної ($p < 0,05$) різниці між групами Експ та Контр, Експ та Інт.

Рисунок 3.2 - Динаміка середніх показників (М, SD) вертикальної рухової активності у щурів різних груп у тесті «Відкрите поле».

Тісний негативний зв'язок між змінами ВРА та перебігом посттравматичного періоду ВІТГМ підтверджений і результатами кореляційного аналізу Спірмена – $r = -0,84$ ($p < 0,001$).

Порівняння показників ВРА між трьома групами із застосуванням дисперсійного аналізу ANOVA (F-критерій) та критерію Тьюкі показало наявність статистично значущих відмінностей між Експ групою та Контр й Інт у 1-у добу ($F=50,3$, $p < 0,0001$), 3-ю добу ($F=33,2$, $p < 0,0001$), 7-у добу ($F=36,2$, $p < 0,0001$), 14-у добу ($F=10,2$, $p < 0,001$), 21-у добу ($F=8,1$, $p < 0,01$) і у 28-у ($F=7,9$, $p < 0,01$) добу та відсутність відмінностей між Контр та Інт групами.

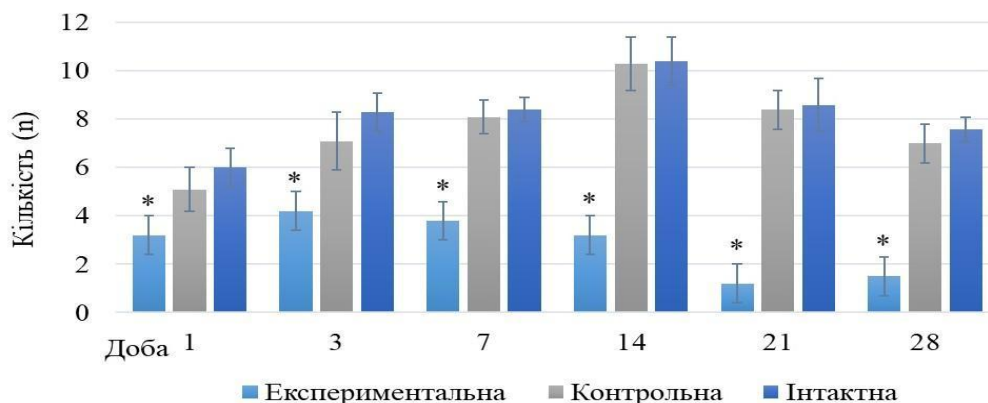
На 1-у добу ВРА травмованих щурів була більшою в 3,4 ($p < 0,0001$) рази у порівнянні з Контр і у 4 рази ($p < 0,0001$) більше у порівнянні з Інт. На 3-ю добу ВРА Експ групи щурів була більшою у 2,2 ($p < 0,0001$) рази у порівнянні з Контр і у 3,2 рази ($p < 0,0001$) у порівнянні з Інт. На 7-у добу також спостерігали підвищення ВРА у щурів з ВІТГМ: у 2,3 рази ($p < 0,0001$) порівняно з Контр і в 3,1 рази ($p < 0,0001$) від аналогічного показника в інтактних тварин.

Однак пізніше, вже з 14-ї доби, ВРА щурів групи Експ була нижчою на 71% ($p < 0,01$) порівняно з Контр і на 67% ($p < 0,01$) порівняно з Інт. На 21-у також спостерігали дефіцит вертикальної рухової активності у щурів з ВІТГМ на 69% ($p < 0,01$) на відміну від контрольних щурів і на 67% ($p < 0,05$) у порівнянні з інтактними щурами. А вже у 28-у добу показник ВРА у щурів з травмою мав тенденцію до підвищення у порівнянні з 28-ю, проте все ще був менше на 55% ($p < 0,01$) у порівнянні з групою Контр і на 52% ($p < 0,05$) у порівнянні з групою Інт (рис. 3.2).

Подібна активність у вертикальній площині щурів Експ групи також свідчить про тривожність та страх у 1-у, 3-ю та 7-у добу із подальшим пригніченням, тобто трансформацією у стан, подібний до депресії. В щурів Контр та Інт цей показник також змінювався поступово, що вказувало на адаптацію цих тварин.

Кількість обстежених нірок у підлозі майданчика «Відкрите поле» є індикатором адаптивних можливостей тварин, а зміни цього показника свідчать про розвиток стресу і тривожності. Зменшення кількості обстежених нірок свідчить про страх (анксіогенність) до дослідження, а збільшення, навпаки про втрату страху (анксіолітичність) до обстеження нової території.

За результатами дослідження і статистичного аналізу отриманих даних встановили, що цей тип поведінкових феноменів у щурів, уражених вибухом, був різко пригнічений протягом усього 28-денного періоду спостереження (рис. 3.3).



Примітки: 1. Вертикальна шкала - кількість обстежень отворів у підлозі манежу протягом тестування (3 хв), 2. * - випадки достовірної ($p < 0,0001$) різниці між групами Експ ($n=6$) та Контр ($n=7$), Експ та Інт ($n=7$).

Рисунок 3.3 - Динаміка середніх показників (М, SD) ніркової дослідницької активності щурів різних груп у тесті «Відкрите поле».

Кількість обстежених нірок в Експ групі щурів з 1-ї по 28-у добу спостереження зменшилась з $3,2 \pm 0,8$ од. до $1,5 \pm 0,8$ од., тобто на 53% ($p < 0,05$). В той час як у щурів Контр та Інт груп кількість обстежених нірок навпаки збільшилась. В групі Контр щурів з $5,1 \pm 0,9$ од. до $7,0 \pm 0,8$ од. (на 37%, $p < 0,05$) та в Інт групі тварин з $6,0 \pm 0,8$ од. до $7,6 \pm 0,5$ од. (на 27%, $p < 0,05$).

В щурів Експ групи із використанням кореляційного аналізу Спірмена встановили значний негативний зв'язок ($r = -0,65$, $p < 0,001$) між змінами кількості обстежених нірок та термінами посттравматичного періоду ВІТГМ, в які проводили дослідження.

Множинне міжгрупове порівняння із застосуванням параметричних критерію Тьюкі та дисперсійного аналізу ANOVA (F-критерій) показало наявність статистично значущих відмінностей між Експ групою та Контр й Інт, які тільки підвищувались у динаміці посттравматичного періоду. Так, у 1-у добу F-критерій дорівнював 19,5, $p < 0,0001$, у 3-ю добу $F = 32,3$, $p < 0,0001$, у 7-у добу $F = 95,9$, $p < 0,0001$, у 14-у добу $F = 115,6$, $p < 0,0001$, у 21-у добу

$F=134,7$, $p<0,0001$ і у 28-у добу $F=130,7$, $p<0,0001$. Ці ж методи статистичного аналізу показали відсутність відмінностей між Контр та Інт групами.

Попарне порівняння результатів різних груп показало, що у 1-у добу після відтворення ВІТГМ у щурів групи Експ кількість обстежених нірок була меншою на 37% ($p<0,0001$) у порівнянні з результатом щурів групи Контр і на 47% ($p<0,0001$) у порівнянні з щурами групи Інт. На 3-ю добу цей показник у щурів з ВІТГМ був меншим на 41% ($p<0,0001$) у порівнянні з Контр і на 50% ($p<0,0001$) у порівнянні з Інт. На 7-у добу експериментальні щури дослідили меншу на 53% ($p<0,0001$) кількість нірок у порівнянні з контрольними тваринами та на 55% ($p<0,0001$) у порівнянні з інтактними тваринами. А з 14-ї до 28-ї доби відповідний показник демонстрував подальшу негативну динаміку. Так, на 14-у добу дослідницька активність за показником обстежених нірок у щурів Експ була нижче на 69% ($p<0,0001$) у порівнянні з Контр групою і також на 69% ($p<0,0001$) порівняно з Інт групою. На 21-у добу спостерігали ще більше пригнічення цього рефлексу - на 86% ($p<0,0001$) у порівнянні з Контр і на 86% ($p<0,0001$) у порівнянні з Інт тваринами. І вже на 28-у добу цей показник був меншим у щурів Експ групи на 79% ($p<0,0001$) у порівнянні з Контр групою і на 80% ($p<0,0001$) у порівнянні з показниками Інт тварин.

Поступове пригнічення вродженого ніркового рефлексу в щурів Експ групи підтверджувало наявність сильного страху і розвиток стану, подібного до депресії. Проте, у щурів Контр та Інт груп зміни цього показника свідчили про високий рівень пошуку затемненого сховища.

Поведінкою, яка полягає в рефlekсах догляду за шерстю та шкірою тварини є грумінг, який демонструє емоційний стан тварин [249]. Під час аналізу грумінг-поведінки, слід розрізняти два типи відповідних епізодів. Повний грумінг включав «миючі» рухи, спрямовані на морду, ніс, ділянки за вухами, а також очищення всього тіла. Типова (повноцінна) грумінгова поведінка була достовірно ($p<0,01$, $p<0,05$) пригнічена у щурів з ВІТГМ

протягом усього періоду спостереження (1-ї по 28-у добу) порівняно з аналогічними проявами у щурів груп Контр (крім 14-ї доби) та Інт.

Так, з 1-ї по 28-у добу посттравматичного періоду середня (Ме) кількість актів повного грумінгу в групі Експ щурів зменшилась з 2,0 од. до 1,0 од. (на 50%, $p < 0,05$) (табл. 3.1).

Таблиця 3.1 - Кількість актів повного грумінгу щурів у тесті «Відкрите поле» (Ме, (min-max))

Група	Доба					
	1	3	7	14	21	28
Експ (n=6)	2,0 (1-3)	2,5 (0-3)	2,5 (1-3)	2,0 (2-4)	2,5 (1-3)	1,0 (0-2)
Контр (n=7)	4,0** (3-5)	4,0** (4-6)	4,0** (4-6)	3,0 (2-5)	4,0** (2-5)	2,0** (1-3)
Інт (n=7)	5,0* (4-6)	5,0* (4-6)	5,0* (4-6)	4,0** (2-5)	4,0** (3-5)	2,0** (1-3)

Примітки: 1. *- випадки достовірної ($p < 0,01$) різниці між групами Експ та Контр, Експ та Інт, 2. ** - випадки достовірної ($p < 0,05$) різниці між групами Експ та Контр, Експ та Інт.

В щурів Контр та Інт середня кількість актів повного грумінгу за весь період спостереження знизилась на 50% (з 4,0 од. до 2,0 од., $p < 0,05$) й на 60% (з 5,0 од. до 2,0 од., $p < 0,05$) відповідно.

За допомогою кореляційного аналізу Спірмена встановили наявність негативного зв'язку слабкого ступеня ($r = -0,21$, $p > 0,05$) між динамікою кількості повного грумінгу та перебігом посттравматичного періоду ВІТГМ.

Аналіз кількості повного грумінгу між Експ, Контр та Інт групами із застосуванням непараметричного дисперсійного аналізу Краскела-Уоліса (Н-критерій) і критерію Данна показав наявність статистично значущих відмінностей у 1-у добу ($H = 12,8$, $p < 0,01$), 3-ю добу ($H = 12,9$, $p < 0,01$), 7-у добу ($H = 12,9$, $p < 0,01$), 21-у добу ($H = 8,0$, $p < 0,05$) та 28-у добу ($H = 6,8$, $p < 0,05$), а у 14-у добу достовірних відмінностей не було ($H = 4,6$, $p > 0,05$).

Міжгрупове попарне порівняння медіанних показників показало, що у 1-у добу у щурів з ВІТГМ кількість актів повного грумінгу була меншою на 50% ($p < 0,05$) у порівнянні з Контр і на 60% ($p < 0,01$) у порівнянні з Інт групами тварин. На 3-ю і 7-у добу цей показник у щурів Експ був нижче на 38% ($p < 0,05$) у порівнянні з Контр і на 50% ($p < 0,01$) у порівнянні з Інт групами. Надалі спостерігали тенденцію до зменшення кількості повних грумінгів у щурів з ВІТГМ: у 14-у добу на 33% ($p > 0,05$) у порівнянні з Контр і на 50% ($p > 0,05$) у порівнянні з Інт, у 21-у добу на 38% ($p < 0,05$) із Контр, на 38% ($p < 0,05$) з Інт, у 28-у добу на 50% ($p < 0,05$) із Контр, на 50% ($p < 0,05$) з Інт (табл. 3.1).

Зменшення кількості актів повних грумінгів вказує на те, що тварини з ВІТГМ не почувалися комфортно після першого знайомства з новою територією, та й надалі не змогли до неї пристосуватися, на відміну від тварин Контр та Інт груп. Лише у 14-у добу почувалися трошки краще, про що свідчила відсутність значущих змін у цьому показнику.

В деяких епізодах грумінгу щури чистили лише окремі частини тіла та голови, і подібна активність мала переривчастий характер. Такі епізоди були кваліфіковані як неповний (абортивний) грумінг. Останні модифікації грумінгової поведінки зустрічались не часто у тварин груп Контр та Інт, але у щурів, які отримали ВІТГМ, неповний грумінг становив близько третини усіх епізодів.

Епізоди неповного грумінгу в Експ групі щурів були відносно частими на 1-у тижні порівняно з відповідними показниками в групах Контр та Інт, а надалі - зменшувалися. Такі епізоди спостерігалися у 100% тварин на 3-ю і 7-у добу спостереження, з середньою кількістю (Me) 1,5 од. і 2,0 од. відповідно. Через 3 тижні епізоди неповного грумінгу відмічались лише у 2 тварин (33%) з пригніченням цього рефлексу на 100% ($p < 0,01$) у 28-у добу (табл. 3.2).

Таблиця 3.2 - Динаміка показників актів неповного грумінгу щурів у тесті «Відкрите поле» (Me, (min-max))

Доба	Група тварин					
	Експ (n=6)		Контр (n=7)		Інт (n=7)	
	Кількість тварин, n/%	Кількість актів, Me (min-max)	Кількість тварин, n/%	Кількість актів, Me (min-max)	Кількість тварин, n/%	Кількість актів, Me (min-max)
1	5/ 83%	1 (0-2)	1/ 14% **	0 (0-1)**	1/ 14% **	0 (0-1)**
3	6/ 100%	1,5 (1-2)	2/ 29% *	0 (0-1)**	1/ 14% *	0 (0-1)**
7	6/ 100%	2 (1-3)	2/ 29% *	0 (0-1)**	1/ 14% *	0 (0-1)**
14	4/ 67%	1 (0-2)	1/ 14% **	0 (0-1)	1/ 14% **	0 (0-1)
21	2/ 33%	0 (0-1)	1/ 14%	0 (0-1)	1/ 14%	0 (0-1)
28	0/ 0%	0 (0-0)	6/ 86% *	1 (0-1) *	0/ 0%	0 (0-0)

Примітки: 1. *- випадки достовірної ($p < 0,01$) різниці між групами Експ (n=6) та Контр (n=7), Експ та Інт (n=7), 2. **- випадки достовірної ($p < 0,05$) різниці між групами Експ та Контр, Експ та Інт.

Кореляційний аналіз Спірмена показав значну негативну залежність кількості актів неповного грумінгу в щурів Експ групи ($r = -0,63$, $p < 0,001$) від терміну спостереження.

Порівняння між Експ, Контр та Інт групами кількості актів неповного грумінгу протягом усього періоду дослідження із застосуванням непараметричного дисперсійного аналізу Краскела-Уоліса (H-критерій) та критерію Данна показало наявність статистично значущих відмінностей між ними. Так, у 1-у добу спостереження відмінності були статистично значущі при $H = 9,2$, $p < 0,01$, у 3-ю добу - $H = 12,1$, $p < 0,01$, у 7-у добу - $H = 12,8$, $p < 0,01$ та 28-у добу - $H = 14,9$, $p < 0,001$. В період 14-а ($H = 5,6$, $p > 0,05$) та 21-а ($H = 0,9$, $p > 0,05$) доба відмінності не були статистично значущими. Відмінностей між Контр та Інт групами з 1-ї по 28-у добу не встановлено.

Подальше міжгрупове порівняння з використанням критерію χ^2 показало, що кількість тварин з епізодами неповного грумінгу в щурів з

ВІТГМ була вищою у 1-у добу в 5,9 рази в порівнянні з Контр та Інт групами (83% проти 14%, $p<0,05$). На 3-ю і 7-у добу цей показник у щурів Експ групи був більшим у 3,4 раза у порівнянні з Контр (100% проти 29%, $p<0,01$) та у 7,1 раза в порівнянні з Інт (100% проти 14%, $p<0,01$).

На 14-у добу кількість тварин з епізодами неповного грумінгу стрімко зменшувалась у щурів групи Експ, але залишалась вищою у 4,8 рази в порівнянні з Контр і Інт групами (67% проти 14%, $p=0,05$). На 21-у добу в усіх групах залишилися одиничні випадки неповного грумінгу ($p>0,05$). І на 28-у добу у щурів Експ та Інт не спостерігали жодного випадку неповного грумінгу, а у щурів Контр групи був лише 1 епізод (табл. 3.2). В той самий час, слід зазначити, що частота рефлексів неповного грумінгу в усіх групах була досить сильно індивідуально варіабельною.

Подібні за напрямком зміни у кількості актів неповного грумінгу в щурів Експ групи свідчить про сильну тривожність у перший тиждень посттравматичного періоду. Однак, поодинокі епізоди такої поведінки у тварин Контр та Інт свідчили про незначний страх під час перебування на манежі «Відкритого поля».

Крім цього, визначали загальну для кожного щура тривалість різних його видів - повного і неповного грумінгу. Тривалість грумінгів, тобто сумарний час для кожного окремого щура в конкретний день спостереження - це час, який тварина витратила на виконання дій по догляду за собою мала схожі з кількістю грумінгів зміни, адже ці показники взаємозалежні.

Тривалість актів повного грумінгу в усіх групах зменшувалась. В Експ групі медіанний показник зменшився з 5,0 (3-7) сек до 2,5 (0-4) сек, тобто на 50% ($p<0,05$). Зміни всередині Експ групи мали хвилеподібний характер, а саме: у 3-ю добу цей показник був менше на 30% ($p<0,05$), у 7-у добу – на 20% ($p>0,05$), у 14-у добу був більше на 20% ($p>0,05$), а з 21-ї доби знову зменшувався на 10% ($p>0,05$) та у 28-у добу – на 50% ($p<0,05$) порівняно з 1-ю добою посттравматичного періоду (табл. 3.3).

Таблиця 3.3 - Тривалість у секундах актів повного грумінгу щурів у тесті «Відкрите поле» (Me (min-max))

Група	Доба					
	1	3	7	14	21	28
Експ	5,0 (3-7)	3,5 (0-5)	4,0 (3-5)	6,0 (5-7)	4,5 (4-6)	2,5 (0-4)
Контр	13,0* (12-14)	14,0* (12-15)	14,0* (14-16)	16,0* (15-17)	15,0* (14-18)	6,0* (4-7)
Інт	13,0* (12-15)	14,0* (13-17)	15,0* (14-16)	17,0* (15-18)	16,0* (14-18)	6,0* (4-8)

Примітка. *- випадки достовірної ($p<0,01$) різниці між групами Експ ($n=6$) та Контр ($n=7$), Експ та Інт ($n=7$).

Хоча у Контр щурів тривалість актів повного грумінгу загалом з 1-ї по 28-у добу скоротилась з 13,0 (12-14) сек до 6,0 (4-7) сек (на 54%, $p<0,05$) та в Інт тварин - з 13,0 (12-15) сек до 6,0 (4-8) сек, тобто на 54% ($p<0,05$), ці зміни також були з тривалим періодом підвищення. Зокрема, у тварин Контр та Інт груп тривалість повного грумінгу з 1-ї по 21-у добу збільшувалась від 8% до 23% ($p<0,05$) та від 8% до 31% ($p<0,05$) відповідно, а у 28-у добу спостереження різко зменшувалась порівняно з 1-ою добою (табл. 3.3).

Слід зазначити, що тривалість актів повного грумінгу в щурів Експ групи не мала достовірного кореляційного зв'язку ($r=-0,19$, $p>0,05$) з динамікою ВІТГМ, що пояснюється хвилеподібним характером змін показника.

Водночас множинне порівняння показників тривалості актів повного грумінгу із застосуванням дисперсійного аналізу Краскела-Уоліса (Н-критерій) і критерію Данна показало наявність статистично значущих відмінностей між групами дослідження протягом усього періоду. Так, у 1-у добу дослідження Н-критерій дорівнював 12,4 із високим рівнем значущості ($p<0,01$), у 3-ю добу $H=12,5$ ($p<0,01$), у 7-у добу $H=13,0$ ($p<0,01$), у 14-у добу ($H=12,8$, $p<0,01$) та 21-у добу ($H=12,3$, $p<0,01$) міжгрупові відмінності не були статистично значущі при високому Н-критерії, проте на 28-у добу знову

стає вагомим ($H=11,9$, $p<0,01$). Відмінностей між Контр та Інт групами з 1-ї по 28-у добу не встановлено.

Міжгруповий попарний аналіз показав, що тривалість актів повного грумінгу у тварин Експ групи у 1-у добу посттравматичного періоду була коротше на 62% ($p<0,01$) у порівнянні з Контр тваринами й також на 62% ($p<0,01$) порівняно з щурами Інт групи. В період 3-7-а доба спостерігали ще більше пригнічення цього рефлексу - у 3-ю добу тривалість повного грумінгу скоротилась на 77% ($p<0,01$) у порівнянні з Контр і на 75% ($p<0,01$) у порівнянні з Інт тваринами, у 7-у добу на 71% ($p<0,01$) у порівнянні з Контр і на 73% ($p<0,01$) порівняно з тваринами Інт групи. В 14-у добу спостереження цей показник в Експ щурів був менше на 62% ($p<0,01$) порівняно з Контр і на 65% ($p<0,01$) у порівнянні з Інт тваринами. Надалі, у 21-у та 28-у добу також встановили суттєве скорочення тривалості повного грумінгу в щурів з ВІТГМ на 70% ($p<0,01$) та 58% ($p<0,01$) порівняно з Контр і на 72% ($p<0,01$) та на 58% ($p<0,01$) порівняно з Інт тваринами відповідно до термінів (табл. 3.3).

Згідно з отриманими результатами, можна зазначити, що укорочення часу, який тварини Експ групи витрачали для комфортного догляду за собою, тобто тривалість повного грумінгу, підтверджує дискомфорт та високу тривожність у цих щурів.

В ході аналізу тривалості актів неповного грумінгу у щурів Експ групи встановили тенденцію до її скорочення з 4 (0-6) сек у 1-у добу до 3,5 (2-6) сек у 3-ю добу ($p>0,05$), до 2 (1-3) сек – у 7-у добу ($p>0,05$), до 2 (0-5) сек – у 14-у добу (на 50%, $p=0,068$ за критерієм Вілкоксона).

Кореляційний аналіз Спірмена підтвердив наявність помірного негативного зв'язку ($r=-0,45$, $p<0,05$) між тривалістю актів неповного грумінгу та 1-14-ю добою у щурів Експ групи.

Відомо, що потрапляння у нове, необстежене середовище для тварин є стресогенним. В свою чергу такий вид стресу впливає як на центральні, так й

на вегетативні центри регуляції, ознакою чого є посилення або пригнічення моторики кишківника, проявом яких є інтенсивність дефекацій, а викид адреналіну підвищує артеріальний тиск, в тому числі й у нирках, що викликає збільшення фільтрації та утворення сечі та, як результат, підвищення актів уринації [224].

Таким чином, тест «Відкрите поле» допомагає виявити не тільки особливості орієнтовно-дослідницької діяльності, а й дослідити емоційний стан щурів та здатність до адаптації у новому середовищі протягом 28-и денного посттравматичного періоду, адже потрапляння на відкритий майданчик призводить й до «провокації» емоційної відповіді, яку аналізували за показниками кількості актів і болюсів дефекацій та кількості уринацій.

Аналіз цих показників всередині групи Експ тварин показав зменшення емоційності на 28-у добу у порівнянні з 1-ю добою посттравматичного періоду, про що свідчила редукція актів дефекацій з 2,0 (2-3) од. до 1,0 (0-1) од. (на 50%, $p < 0,05$) і болюсів дефекацій з 3,0 (2-5) од. до 2,0 (0-2) од. (на 33%, $p < 0,05$) і зменшення середньої кількості уринацій з 1,0 (1-2) од. до 0 (0-1) од. ($p < 0,05$).

На 3-ю добу посттравматичного періоду в щурів Експ групи всі показники, що досліджували, були максимально збільшені, порівняно з іншими термінами спостереження.

В подібному напрямку були змінені й показники емоційності у щурів Контр та Інт груп. Так, з 1-ї по 28-у добу спостереження у щурів Контр групи знижувались кількість актів дефекацій з 1,0 (1-2) од. до 0 (0-1) од. ($p < 0,05$) і кількість болюсів дефекацій – з 2,0 (1-3) од. до 0,0 (0-2) од. ($p < 0,05$). А в групі Інт з 1-ї по 28-у добу кількість актів дефекацій зменшилась з 1,0 (0-2) од. до 0 (0-1) од. ($p < 0,05$), кількість болюсів дефекацій – з 2,0 (0-2) од. до 0 (0-2) од. ($p < 0,05$), а випадки уринацій були одиничними та статистично недостовірними, при $p > 0,05$ (табл. 3.4).

Таблиця 3.4 - Показники емоційного стану щурів у тесті «Відкрите поле» (Me (min-max))

Доба дослідження							
Показник	Група	1	3	7	14	21	28
АД (n)	Експ	2,0 (2-3)	4,0 (3-6)	2,0 (0-3)	1,0 (1-2)	1,0 (0-1)	1,0 (0-1)
	Контр	1,0** (1-2)	2,0** (0-3)	2,0 (0-3)	2,0 (1-2)	1,0 (0-1)	0,0 (0-1)
	Інт	1,0** (0-2)	1,0* (0-2)	2,0 (0-3)	2,0 (1-2)	1,0 (0-1)	0 (0-1)
БД (n)	Експ	3,0 (2-5)	6,0 (4-7)	2,0 (0-4)	2,5 (2-3)	1,5 (0-2)	2,0 (0-2)
	Контр	2,0* (1-3)	2,0* (0-4)	2,0 (0-3)	2,0 (1-3)	1,0 (0-2)	0,0 (0-2)
	Інт	2,0* (0-2)	2,0* (0-3)	2,0 (0-3)	2,0 (1-2)	1,0 (0-2)	0,0 (0-2)
Уринації (n)	Експ	1,0 (1-2)	2,0 (1-2)	0 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-1)
	Контр	0** (0-1)	1,0 (0-2)	1,0 (0-1)	1,0 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-1)
	Інт	0** (0-1)	0* (0-1)	1,0 (0-1)	1 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-1)

Примітки: 1. АД - акти дефекацій, 2. БД - болюси дефекацій, 3. (n) - кількість, 4. * - випадки достовірної ($p < 0,01$) різниці між групами Експ (n=6) та Контр (n=7), Експ та Інт (n=7), 5. ** - випадки достовірної ($p < 0,05$) різниці між групами Експ та Контр, Експ та Інт.

Статистично встановлено значну негативну залежність між динамікою перебігу посттравматичного періоду в щурів групи Експ та кількістю актів дефекації ($r = -0,68$, $p < 0,001$), кількістю болюсів дефекації ($r = -0,63$, $p < 0,001$), кількістю уринацій ($r = -0,59$, $p < 0,001$).

Множинний міжгруповий аналіз із використанням непараметричного дисперсійного аналізу Краскела-Уоліса (H-критерій) і критерію Данна показав значущі відмінності між Експ, Контр та Інт групами за кількістю актів дефекацій у 1-у добу ($H = 7,4$, $p < 0,05$) та у 3-ю добу ($H = 13,1$, $p < 0,001$), на відміну від подальшого періоду дослідження: у 7-у добу $H = 1,5$ ($p > 0,05$), у 14-у добу $H = 1,8$ ($p > 0,05$), у 21-у добу $H = 0,3$ ($p > 0,05$), у 28-у добу $H = 2,1$ ($p > 0,05$).

В результаті множинного порівняння показників кількості болюсів дефекацій отримали наступні показники Н-критерію: у 1-у добу $H=9,8$ ($p<0,01$), у 3-ю добу $H=12,6$ ($p<0,01$), у 7-у добу $H=1,09$ ($p>0,05$), у 14-у добу $H=4,03$ ($p>0,05$), у 21-у добу $H=1,6$ ($p>0,05$) та у 28-у добу $H=4,8$ ($p>0,05$). Подібні значення Н-критерію встановили й в результаті аналізу міжгрупових порівнянь кількості уринацій: у 1-у добу $H=7,5$ ($p<0,05$), у 3-ю добу $H=9,9$ ($p<0,01$), у 7-у добу $H=1,1$ ($p>0,05$), у 14-у добу $H=1,9$ ($p>0,05$), у 21-у добу $H=1,15$ ($p>0,05$) та у 28-у добу $H=1,04$ ($p>0,05$). Поряд із цими змінами, показники емоційного статусу щурів Контр та Інт груп були статистично зіставними при $p>0,05$ у всіх порівняннях за критерієм Данна.

Міжгруповий аналіз показав, що у 1-у та 3-ю добу у щурів з ВІТГМ спостерігалась підвищена емоційна реакція, яка проявлялась у збільшенні кількості усіх показників, що визначалися.

Так, у 1-у добу середня (M_e) кількість актів дефекацій була вдвічі більшою ($p<0,05$) у порівнянні з Контр і Інт групами. На 3-ю добу кількість актів дефекації у щурів групи Експ збільшилась на 100% ($p<0,05$) у порівнянні з групою Контр і на 300% ($p<0,01$) у порівнянні з щурами Інт. В період 7-28-а доба аналіз кількості актів дефекацій в Експ тварин порівняно з Контр і з Інт тваринами не показав достовірних змін.

Кількість болюсів дефекацій також збільшувалась у щурів Експ у 1-у добу на 50% ($p<0,05$) у порівнянні з Контр і Інт групами. І на 3-ю добу збільшення цього показника у щурів з ВІТГМ було втричі вище у порівнянні з щурами Контр ($p<0,01$) і Інт ($p<0,01$) груп. В період 7-28-а доба також не встановили значущих змін у кількості болюсів дефекацій при порівнянні показників Експ тварин порівняно з Контр і з Інт щурами.

Кількість уринацій в експериментальних щурів була достовірно вище у 1-у добу у порівнянні з Контр і Інт групами ($p<0,05$). В 3-ю добу цей показник мав тенденцію до підвищення у щурів Експ у порівнянні з Контр ($p=0,064$ за критерієм Данна) і достовірно перевищував показники в Інт

щурів ($p < 0,01$). Подальший аналіз показав зменшення емоційності в усіх групах спостереження без значущих відмінностей між ними ($p > 0,05$).

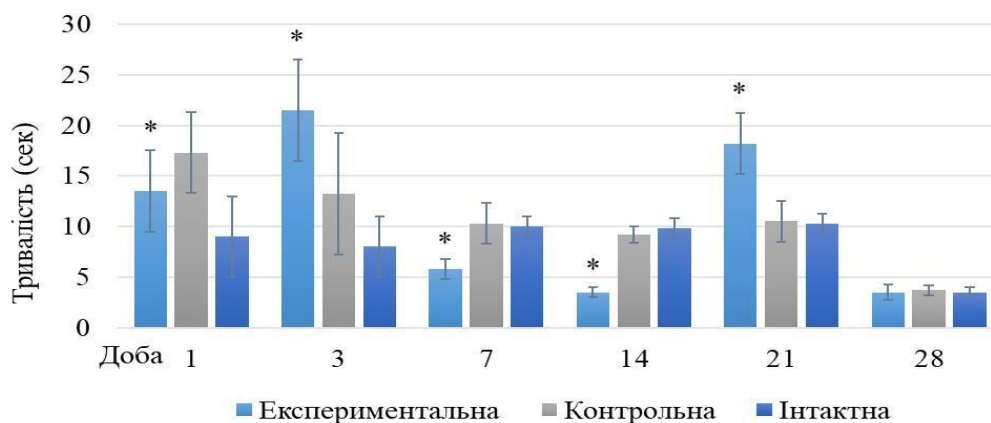
Таким чином, за результатами аналізу показників емоційного статусу, можна сказати, що травмовані щури демонстрували високий рівень емоційності у 1-у та 3-ю добу дослідження, про що свідчило значуще збільшення актів та болюсів дефекацій, а також уринацій, на відміну від Контр та Інт тварин. Та надалі емоційність Експ тварин зменшувалась.

3.2 Емоційний стан щурів у піднесеному хрестоподібному лабіринті в динаміці розвитку експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку

Піднесений хрестоподібний лабіринт дозволяє вивчити здатність щурів до навігації у просторі за рахунок установлення можливостей тварин до розпізнавання та запам'ятовування місцеположення певних точок у лабіринті, а також дозволяє встановити наявність змін поведінки, зокрема тривожності та стану, подібного до депресії, здатності до адаптації у новому сильно стресогенному середовищі.

За допомогою ПХЛ оцінювали поведінку щурів трьох груп, що були пов'язані із тривогою. Тварини вільно досліджували лабіринт, пересуваючись вздовж по відкритим і закритим рукавам.

Аналіз тривалості перебування у відкритих рукавах ПХЛ показав хвилеподібні зміни у щурів групи Експ з 1-ї по 28-у добу посттравматичного періоду (рис. 3.4).



Примітки: 1. Вертикальна шкала - час, що витрачали тварини на дослідження відкритих рукавів протягом тестового періоду (3 хв), 2. * - випадки достовірної ($p < 0,01$) різниці між групами Експ ($n=6$) та Контр ($n=6$), Експ та Інт ($n=6$).

Рисунок 3.4 - Динаміка середніх показників (M, SD) тривалості перебування у відкритих рукавах піднесеного хрестоподібного лабіринту.

Проте загально у щурів Експ час знаходження у світлих рукавах з 1-ї по 28-у добу посттравматичного періоду зменшився з $13,5 \pm 4,0$ од. до $3,5 \pm 0,8$ од., тобто на 74% ($p < 0,01$). Найбільше часу у світлих рукавах щури з ВІТГМ проводили у 3-ю та 21-у добу, що було вище на 59% ($p < 0,05$) та 35% ($p < 0,05$) відповідно у порівнянні з 1-ю добою.

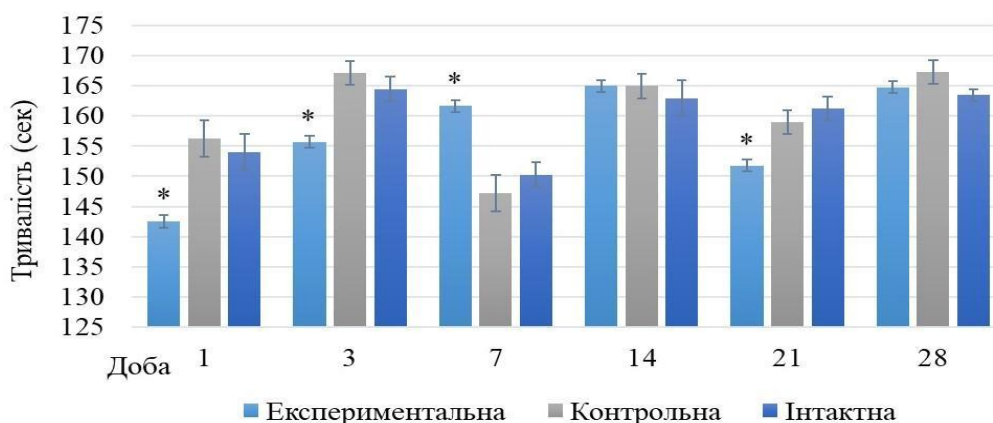
В той самий час, у щурів Контр та Інт груп час перебування у світлих рукавах ПХЛ також скорочувався з 1-ї по 28-у добу, проте це відбувалось більш поступово, без піків, що свідчить до адаптації тварин у новому середовищі. В Контр групі цей показник зменшився з $17,3 \pm 4,0$ од. до $3,7 \pm 0,5$ од. (на 79%, $p < 0,001$), а в групі Інт - з $9,0 \pm 2,7$ од. до $3,5 \pm 0,5$ од. (на 61%, $p < 0,01$). Єдине, що різко змінювалось, це тривалість перебування у відкритих місцях лабіринту в 1-у добу в Контр щурів, що вочевидь пов'язано з токсичним впливом галотану.

В щурів Експ групи із використанням кореляційного аналізу Спірмена встановили помірний негативний зв'язок ($r = -0,47$, $p < 0,01$) між змінами тривалості перебування у відкритих рукавах та термінами посттравматичного періоду ВІТГМ, що досліджували.

Множинне порівняння між трьома групами із застосуванням параметричного аналізу ANOVA (F-критерій) та критерію Тьюкі показало наявність статистично значущих відмінностей між Експ, Контр й Інт групами у 1-у добу $F=5,9$ ($p<0,01$), у 3-ю добу $F=11,1$ ($p<0,001$), у 7-у добу $F=26,6$ ($p<0,0001$), у 14-у добу $F=51,5$ ($p<0,0001$), у 21-у добу $F=28,3$ ($p<0,0001$) і у 28-у добу $F=0,1$ ($p>0,05$). Та водночас було встановлено відсутність достовірних відмінностей між Контр та Інт групами з 3-ї до 28-ї доби спостереження ($p>0,05$).

Попарне порівняння між Експ та Контр, Експ та Інт, Контр та Інт показало, що на 1-у добу час перебування у відкритих рукавах у щурів Експ групи був меншим на 22% ($p<0,01$) у порівнянні з Контр щурами та на 33% ($p<0,01$) більшим у порівнянні з Інт. В 3-ю добу щури з ВІТГМ проводили більше часу у відкритих рукавах на 63% ($p<0,01$) у порівнянні з Контр і на 169% ($p<0,01$) порівняно з Інт щурами. А на 7-у добу спостерігали різке зменшення тривалості перебування у відкритих рукавах у групі Експ щурів на 44% ($p<0,01$) у порівнянні з Контр і на 42% ($p<0,01$) порівняно з Інт (рис. 3.4). На 14-у добу спостереження встановили, що щури з ВІТГМ проводили менше часу у відкритих рукавах на 62% ($p<0,01$) у порівнянні з Контр і на 64% ($p<0,01$) у порівнянні з Інт. А у 21-у добу дослідницька активність у щурів групи Експ навпаки підвищувалась, проявом чого стало збільшення часу перебування у відкритих рукавах на 57% ($p<0,01$) у порівнянні з Контр і на 56% ($p<0,01$) у порівнянні з Інт тваринами. В останню добу дослідження цей рефлекс у щурів Експ групи не мав відмінностей від даного показника у щурів Контр та Інт груп (рис. 3.4).

Відповідно до динаміки перебування у світлих рукавах з 1-ї по 28-у добу хвилеподібно із підвищенням з $142,5\pm3,3$ од. до $164,8\pm2,9$ од., на 16% ($p<0,001$) змінювалась й тривалість знаходження у закритих рукавах щурів Експ групи (рис. 3.5).



Примітки: 1. Вертикальна шкала - час, що витрачали тварини на дослідження відкритих рукавів протягом тестового періоду (3 хв), 2. * - випадки достовірної ($p < 0,01$) різниці між групами Експ ($n=6$) та Контр ($n=6$), Експ та Інт ($n=6$).

Рисунок 3.5 - Динаміка тривалості перебування у закритих рукавах піднесеного хрестоподібного лабіринту.

Протягом періоду дослідження тварини Експ групи більше перебували у закритих рукавах у 3-ю добу на 9% ($p < 0,01$), у 7-у добу на 13% ($p < 0,01$), у 14-у добу на 16% ($p < 0,01$), у 21-у добу на 7% ($p < 0,05$) і на 28-у добу на 16% ($p < 0,01$) у порівнянні з 1-ю добою.

Також хвилеподібно, проте в інших напрямках і без достовірних відмінностей, подовжувались й показники тривалості часу знаходження у закритих рукавах у щурів Контр групи зі змінами впродовж 1-28-ї доби з $156,3 \pm 3,6$ од. до $164,3 \pm 5,2$ од. (на 5%, $p > 0,05$) та Інт групи - з $154,3 \pm 4,0$ од. до $163,5 \pm 2,4$ од. (на 5%, $p > 0,05$).

Кореляційний аналіз Спірмена показав статистично позитивний зв'язок значного ступеня ($r=0,84$, $p < 0,0001$) між динамікою змін тривалості перебування у закритих рукавах та перебігом посттравматичного періоду ВІТГМ.

Множинне порівняння тривалості перебування у закритих рукавах між трьома групами із застосуванням параметричних критерію Тьюкі та дисперсійного аналізу ANOVA (F-критерій) показало наявність статистично значущих відмінностей на 1-у добу ($F=26,7$ при $p < 0,0001$), 3-ю добу ($F=35,6$,

$p < 0,0001$), у 7-у добу ($F=36,0$, $p < 0,0001$) та у 21-у добу ($F=36,7$ при $p < 0,0001$). При цьому відмінності між групами за F-критерієм були недостовірними у 14-у ($F=1,3$, $p > 0,05$) та 28-у добу ($F=0,6$, $p > 0,05$). Відносно показників Контр та Інт, за критерієм Тьюкі не було встановлено статистично значущих відмінностей між ними ($p > 0,05$) протягом усього періоду дослідження.

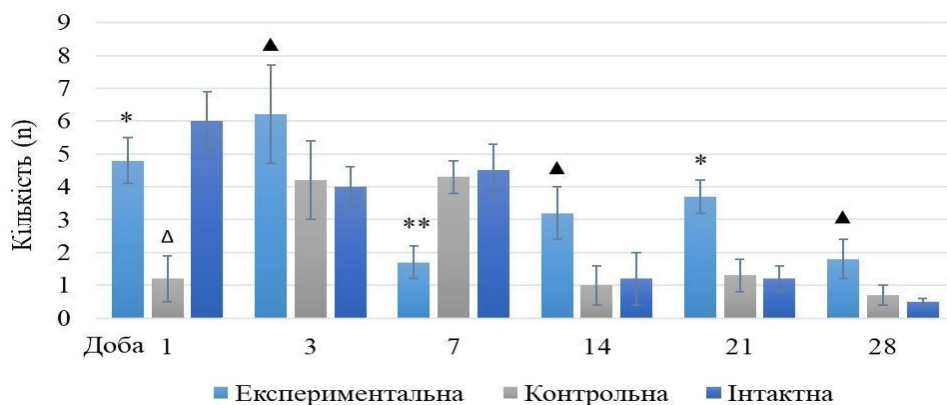
Тривалість перебування тварин Експ групи у закритих рукавах ПХЛ була меншою у 1-у добу на 9% ($p < 0,0001$) у порівнянні з щурами Контр групи та на 8% ($p < 0,0001$) у порівнянні з щурами Інт групи (рис. 3.5). На 3-ю добу тривалість перебування у закритих рукавах у щурів з ВІТГМ зменшувалась на 7% ($p < 0,0001$) у порівнянні з Контр і на 5% ($p < 0,0001$) у порівнянні з Інт.

На 7-у добу встановили різке збільшення тривалості перебування у закритих рукавах у щурів групи Експ на 10% ($p < 0,0001$) у порівнянні з Контр і на 8% ($p < 0,0001$) у порівнянні з Інт. На 14-у і 28-у добу відмінностей у тривалості перебування у закритих рукавах ПХЛ не було.

Однак, на 21-у добу спостерігали пригнічення захисного рефлексу ховання, що проявлялось у зменшенні часу перебування у закритих рукавах у щурів з ВІТГМ на 5% ($p < 0,0001$) у порівнянні з Контр і на 6% у порівнянні з Інт ($p < 0,0001$). На 28-у добу цей показник був у межах рівнів Контр й Інт тварин (рис. 3.5).

Відомо, що щури інстинктивно ховаються у темне середовище, тому й при інтерпретації результатів ПХЛ збільшення часу перебування у закритих рукавах, порівняно із часом, що проводять щури на відкритих ділянках, вважається більш нормальним. За результатами дослідження встановили, що тварини Експ групи у різні терміни посттравматичного періоду по-різному поводитись. Вважаємо, що збільшення часу у відкритих лабіринтах свідчить про відсутність страху, що є небезпечним для життя, а переважне перебування у темних відсіках свідчить про наявність сильного страху і пригнічений стан [225, 226].

Аналіз вертикальної рухової активності також показав хвилеподібні зміни зі значним зменшенням у період 1-28-а доба з $4,8 \pm 0,7$ од. до $1,8 \pm 0,6$ од. (на 63%, $p < 0,01$) (рис. 3.6).



Примітки: 1. Вертикальна шкала - кількість вертикальних стійок протягом тестового періоду (3 хв), 2. * - випадки достовірної ($p < 0,001$) різниці між групами Експ ($n=6$) та Контр ($n=6$), Експ та Інт ($n=6$), 3. ** - випадки достовірної ($p < 0,01$) різниці між групами Експ та Контр, Експ та Інт, 4. ▲ - випадки достовірної ($p < 0,05$) різниці між групами Експ та Контр, Експ та Інт, 5. Δ - випадки достовірної ($p < 0,001$) різниці між групами Контр та Інт.

Рисунок 3.6 - Динаміка середніх показників (М, SD) кількості вертикальних стійок у піднесеному хрестоподібному лабіринті.

А всередині Експ групи рівень ВРА збільшився у 3-ю добу на 29% ($p > 0,05$) порівняно з 1-ю добою.

Надалі ВРА Експ щурів зменшився у 7-у добу на 66% ($p < 0,01$), у 14-у добу на 33% ($p < 0,01$), у 21-у добу на 23% ($p < 0,05$) і у 28-у добу на 63% ($p < 0,01$) у порівнянні з 1-ю добою дослідження. Цей показник у щурів Контр групи зменшився з $1,16 \pm 0,7$ од. до $0,7 \pm 0,3$ од., на 40% ($p < 0,05$). В групі Інт тварин кількість ВРА зменшилась з $6,0 \pm 0,9$ од. до $0,5 \pm 0,1$ од., на 92% при $p < 0,01$.

Кореляційний аналіз Спірмена показав значну негативну залежність ($r = -0,6$, $p < 0,001$) кількості вертикальних стійок від доби спостереження у групі Експ тварин.

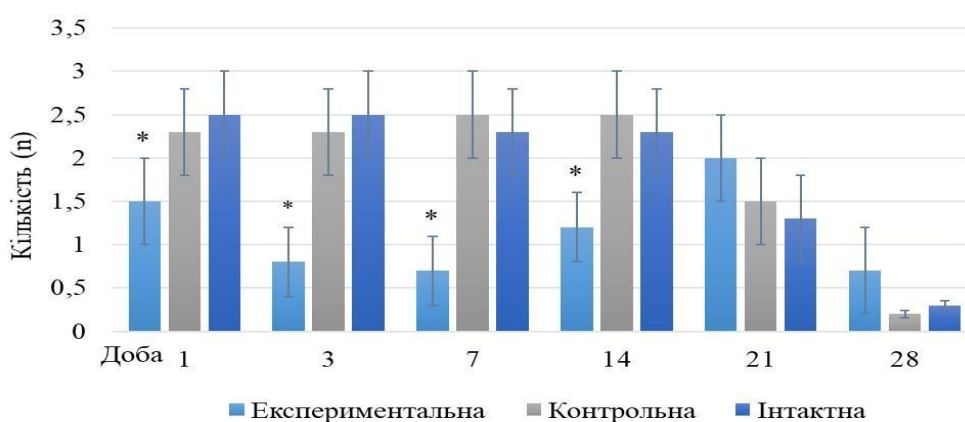
Проведене множинне порівняння із застосуванням непараметричного критерію Данна та дисперсійного аналізу Краскела-Уоліса (H-критерій) показало значущі відмінності у показниках ВРА протягом усього терміну спостереження між Контр, Експ та Інт. Так, у 1-у добу $F=59,2$ ($p<0,0001$), у 3-ю добу $F=6,7$ ($p<0,01$), у 7-у добу $F=36,9$ ($p<0,0001$), у 14-у добу $F=17,1$ ($p<0,0001$), у 21-у добу $F=50,2$ ($p<0,0001$) й у 28-у добу $F=4,9$ ($p<0,05$). При цьому різниця між Контр та Інт не була достовірною ($p>0,05$) з 3-ї доби спостереження.

Інтенсивність ВРА у щурів Експ групи з 1-ї по 28-у добу посттравматичного періоду була вища за Контр та Інт групи, окрім 7-ї доби. В 1-у добу у щурів групи Контр спостерігали пригнічення дослідницького рефлексу, що ми пов'язуємо із впливом галотану. Проте у щурів Експ групи подібного пригнічення не виявили, хоча кількість вертикальних стійок була меншою у щурів Експ на 20% ($p<0,001$) у порівнянні з Інт тваринами. На 3-ю добу кількість вертикальних стійок у щурів Експ навпаки збільшилась на 32% ($p<0,05$) у порівнянні з Контр і на 35% ($p<0,05$) у порівнянні з Інт. Водночас вертикальна рухливість відновилась у щурів Контр до рівня Інт.

На 7-у добу посттравматичного періоду спостерігали максимальне пригнічення рухливості у вертикальній площині, ознакою чого стало зниження кількості стійок в Експ тварин на 60% ($p<0,01$) у порівнянні з Контр і на 64% ($p<0,01$) порівняно з Інт. З 14-ї доби дослідницький рефлекс у щурів з ВІТГМ проявився інтенсивніше у порівнянні з 7-ю добою та у порівнянні з Контр на 69% ($p<0,05$), а також відносно Інт на 63% ($p<0,05$). На 21-у добу щури Експ групи активніше досліджували ПХЛ на 65% ($p<0,001$) у порівнянні з Контр і на 67% ($p<0,001$) у порівнянні з Інт. На 28-у добу активність щурів Експ групи знизилась майже вдвічі у порівнянні з 21-ю добою, проте все ще була більшою на 61% ($p<0,05$) у порівнянні з Контр і на 72% ($p<0,05$) у порівнянні з Інт тваринами.

Подібні зміни ВРА у травмованих щурів свідчать про високий рівень тривожності й страху протягом усього періоду дослідження, крім 7-ї доби, коли відбулося пригнічення цього вродженого рефлексу, що свідчило про стан, подібний до депресії.

Наступний показник, що визначали у ПХЛ - кількість звішувань з відкритих рукавів, дозволяє виявити наявність або відсутність страху (рис. 3.7).



Примітки: 1. Вертикальна шкала - кількість звішувань протягом тестового періоду (3 хв), 2. * - випадки достовірної ($p < 0,01$) різниці між групами Експ ($n=6$) та Контр ($n=6$), Експ та Інт ($n=6$).

Рисунок 3.7 - Динаміка середніх показників (М, SD) кількості звішувань з відкритих рукавів у піднесеному хрестоподібному лабіринті.

Травмовані щури, вочевидь, відчували страх дослідження відкритого простору, проявом чого стало зниження кількості звішувань з відкритих рукавів у період з 1-ї по 28-у добу з $1,5 \pm 0,5$ од. до $0,7 \pm 0,5$ од., тобто на 53% при $p < 0,05$. Ці зміни не були системними у різні доби спостереження. Зокрема, кількість звішування була меншою на 3-ю добу на 47% ($p > 0,05$), у 7-у добу на 53% ($p < 0,05$), у 14-у добу на 20% ($p > 0,05$) і у 28-у добу на 53% ($p < 0,05$) у порівнянні з 1-ю добою. У 21-у добу цей показник навпаки збільшився на 25% ($p > 0,05$) у порівнянні з 1-ю добою.

Значущих кореляційних зв'язків між кількістю звішувань з відкритих рукавів ПХЛ та перебігом посттравматичного періоду не встановлено ($r=-0,04$, $p>0,05$).

Порівняння трьох груп із застосуванням дисперсійного аналізу ANOVA (F-критерій) показало наявність значущих змін в межах $p<0,001$ - $p<0,05$ у 1-у добу ($F=6,0$, $p<0,05$), у 3-ю добу ($F=20,7$, $p<0,001$), у 7-у добу ($F=22,2$, $p<0,001$) та у 14-у добу ($F=13,0$, $p<0,001$), а надалі F-критерій не був достовірним: у 21-у добу $F=2,2$ ($p>0,05$) та у 28-у добу $F=1,7$ ($p>0,05$). Кількість звішувань з відкритих рукавів у щурів Контр та Інт груп були статистично зіставними при $p>0,05$ у всіх порівняннях за критерієм Тьюкі.

Попарне міжгрупове порівняння показало зменшення кількості звішувань з відкритих рукавів у піднесеному хрестоподібному лабіринті в 1-у добу у щурів групи Експ, яке складало 35% ($p<0,05$) у порівнянні з Контр і 40% ($p<0,05$) у порівнянні з Інт. На 3-ю добу кількість звішувань у щурів з ВІТГМ була меншою на 65% ($p<0,01$) у порівнянні з Контр і на 68% у порівнянні з щурами групи Інт. На 7-у добу спостерігали наростання страху. Про це свідчило те, що кількість звішувань у щурів Експ групи знизилась на 72% ($p<0,01$) у порівнянні з Контр і на 70% ($p<0,01$) у порівнянні з Інт тваринами. З 14-ї доби цей показник навпаки збільшувався у щурів з ВІТГМ, проте все ще був менше на 52% ($p<0,01$) у порівнянні з Контр і на 49% ($p<0,01$) порівняно з показником тварин Інт групи. У порівнянні кількості звішувань, що виконували тварини Експ групи порівняно з Контр та у порівнянні з Інт групами на 21-у добу спостерігали тенденцію до збільшення звішувань, що становило 25% ($p>0,05$) і 35% ($p>0,05$) відповідно. На 28-у добу кількість звішувань з відкритих рукавів експериментальної установки у щурів усіх груп дослідження суттєво зменшилась до 0-1 випадків і не мала достовірних відмінностей ($p>0,05$).

Отже, зменшення кількості звішувань з відкритих рукавів у період з 1-ї до 14-ї доби свідчить про те, що травмовані щури у цей період відчують

сильний страх. На відміну від Експ тварин, щури Контр та Інт груп обережно, але без страху звішувались з кінців відкритих рукавів у пошуках виходу з лабіринту, проте велика відстань до підлоги стримувала їх.

В ПХЛ ми визначали динаміку кількості та тривалості різних за якістю актів грумінгу, що також змінювалась хвилювально. Жодного епізоду повного грумінгу у тварин Експ групи не встановили у 1-у, 14-у, та 28-у добу посттравматичного періоду.

Водночас всередині Контр групи кількість актів повного грумінгу впродовж 1-14-ї діб спостереження коливалася від 0 до 2 випадків з медіаною $Me=1$ (табл. 3.5).

Таблиця 3.5 - Динаміка показників актів повного грумінгу в щурів у піднесеному хрестоподібному лабіринті (Me , (min-max))

Доба	Група тварин					
	Експ		Контр		Інт	
	Кількість тварин, п/о	Кількість актів, Me (min-max)	Кількість тварин, п/о	Кількість актів, Me (min-max)	Кількість тварин, п/о	Кількість актів, Me (min-max)
1	0/ 0%	0 (0-0)	5/ 83%*	1 (0-1)**	5/ 83%*	1 (0-2)**
3	1/ 17%	0 (0-1)	4/ 67%	1 (0-1)	2/ 33%	0 (0-1)
7	3/ 50%	0,5 (0-1)	6/ 100%**	1 (1-2)	6/ 100%**	1 (1-2)
14	0/ 0%	0 (0-0)	6/ 100%*	1 (1-2)**	6/ 100%*	2 (1-3)*
21	1/ 17%	0 (0-1)	0/ 0%	0 (0-0)	0/ 0%	0 (0-0)
28	0/ 0%	0 (0-0)	1/ 17%	0 (0-1)	0/ 0%	0 (0-0)

Примітки: 1. *- випадки достовірної ($p<0,01$) різниці між Експ ($n=6$) та Контр ($n=6$), Експ та Інт ($n=6$) групами, 2. ** - випадки достовірної ($p<0,05$) різниці між Експ та Контр, Експ та Інт групами.

В подальші терміни спостереження відмічали зникнення (21-а доба), або одиничні випадки повного грумінгу (28-а доба) у тварин цієї групи ($p<0,05$ порівняно з 1-ю добою). Подібні зміни у тварин групи Контр

пов'язуємо з токсичним впливом галотану на головний мозок, що не виявлено у тварин Експ групи.

Кореляційних зв'язків між кількістю повного грумінгу і перебігом посттравматичного періоду не встановлено ($r=-0,07$, $p>0,05$).

Множинний міжгруповий аналіз із застосуванням непараметричного дисперсійного аналізу Краскела-Уоліса (Н-критерій) і критерію Хі-квадрат Пірсона показали наявність статистично значущих відмінностей у 1-у ($H=9,9$ при $p<0,01$, $\chi^2=11,3$, $p<0,01$), 7-у ($H=6,2$ при $p<0,05$, $\chi^2=7,2$, $p<0,05$) та у 14-у ($H=13,2$ при $p<0,01$, $\chi^2=18,0$, $p<0,001$) добу у кількості тварин і актів повного грумінгу. В інші терміни дослідження достовірних відмінностей між групами не відзначено ($p>0,05$).

Попарний міжгруповий аналіз з використанням критерію Данна показав, що у тварин Експ групи медіанний показник актів повного грумінгу був менше у 1-у добу на 100% порівняно з Контр і Інт щурами ($p<0,05$), у 7-у добу – на 50% ($p<0,05$) порівняно з тваринами цих груп та у 14-у добу – на 100% порівняно з Контр ($p<0,05$) і з Інт тваринами ($p<0,01$).

Варто відзначити, що епізоди неповного грумінгу відзначалися у більшості тварин Експ та Інт групи з 1-ї по 21-у добу, а в Контр групі – з 1-ї по 14-у добу.

Кількість епізодів неповного грумінгу в щурів з ВІТГМ впродовж 1-21-ї діб спостереження коливалася від 0 до 2-3-х випадків, з медіаною $Me=1$ (у 3-ю добу – $Me=2$ епізоди). До 28-ї доби по 1-му епізоду неповного грумінгу фіксували лише у 2-х (33%) Експ тварин ($p<0,05$, порівняно з 1-ю добою). Такі ж зміни встановили й у щурів Контр та Інт групи. Зменшення кількості актів неповних грумінгів у щурів Контр групи з 1-ї по 28-у добу з 1,5 (0-2) до 0 (0-1) епізодів ($p<0,05$). В Інт групі за період дослідження з 1-ї по 21-у добу цей показник суттєво не змінився ($p>0,05$), складаючи в середньому один епізод ($Me=1$), але до 28-ї доби один епізод неповного грумінгу фіксували

лише у 1 (17%) тварини Інт групи, при $p < 0,05$ порівняно з 1-ю добою (табл. 3.6).

Таблиця 3.6 – Динаміка показників актів неповного грумінгу щурів у піднесеному хрестоподібному лабіринті (Me, (min-max))

Доба	Група тварин					
	Експ		Контр		Інт	
	Кількість тварин, n/%	Кількість актів, Me (min-max)	Кількість тварин, n/%	Кількість актів, Me (min-max)	Кількість тварин, n/%	Кількість актів, Me (min-max)
1	6/ 100%	1 (1-2)	5/ 83%	1,5 (0-2)	4/ 67%	1 (0-2)
3	5/ 83%	2 (0-3)	4/ 67%	1 (0-3)	5/ 83%	1 (0-4)
7	5/ 83%	1 (0-1)	4/ 67%	1 (0-1)	3/ 50%	0,5 (0-1)
14	5/ 83%	1 (0-2)	3/ 50%	0,5 (0-1)	5/ 83%	1 (0-2)
21	5/ 83%	1 (0-2)	1/ 17%*	0 (0-1)*	4/ 67%	1 (0-1)
28	2/ 33%	0 (0-1)	1/ 17%	0 (0-1)	1/ 17%	0 (0-1)

Примітка. *- випадки достовірної ($p < 0,05$) різниці між Експ (n=6) та Контр (n=6), Експ та Інт (n=6) групами.

Одночасно, кореляційний аналіз Спірмена встановив помірну негативну залежність кількості актів неповного грумінгу ($r = -0,42$, $p < 0,01$) від терміну посттравматичного періоду в щурів з ВІТГМ.

Множинні порівняння 3-х груп за непараметричними дисперсійним аналізом Краскела-Уоліса (H-критерій) і критерію Хі-квадрат Пірсона не показали статистично значущих відмінностей між показниками кількості актів неповного грумінгу у тварин Експ, Контр та Інт груп: у 1-у добу $H = 1,7$ ($p > 0,05$), $\chi^2 = 2,4$ ($p > 0,05$), у 3-ю добу $H = 1,6$ ($p > 0,05$), $\chi^2 = 0,6$ ($p > 0,05$), у 7-у добу $H = 1,4$ ($p > 0,05$), $\chi^2 = 1,5$ ($p > 0,05$), у 14-у добу $H = 4,8$ ($p > 0,05$), $\chi^2 = 2,2$ ($p > 0,05$), та у 28-у добу $H = 3,1$ ($p > 0,05$), $\chi^2 = 0,6$ ($p > 0,05$). Також, показники кількості тварин та актів неповного грумінгу в Експ, Контр та Інт групах були

статистично зіставними ($p > 0,05$) протягом всього періоду спостереження, крім 21-ї доби, коли фіксувалися достовірні відмінності між групами Експ і Контр ($p < 0,05$ за критеріями χ^2 і Данна).

Хоча кількісні показники різних видів грумінгу майже не були статистично значущими, аналіз тривалості повного та неповного грумінгу показав суттєві зміни як всередині кожної групи, так і при порівняннях.

Так, в Експ щурів повний грумінг зареєстрували на 3-ю добу тільки у 1-ї тварини, 7-у добу у 3-х тварин та на 21-у добу посттравматичного періоду цей рефлекс виконувала 1-а тварина. При цьому тривалість епізоду повного грумінгу в 3-ю добу склала 18 сек, у 7-у добу – від 16 сек до 18 сек, а у 21-у добу – 8 сек. В щурів Контр групи середня тривалість повного грумінгу поступово збільшувалась з 18,5 (0-20) сек у 1-у добу, до 24,5 (0-28) сек у 3-ю добу (на 32% порівняно з 1-ю добою, $p < 0,05$), до 24 (23-26) сек у 7-у добу (на 30%, $p < 0,05$) і до 22,5 (21-24) сек у 14-у добу (на 22%, $p < 0,05$). У щурів Інт групи тривалість повного грумінгу збільшилась з 21,5 (0-22) сек у 1-у добу до 25,0 (22-28) сек у 7-у добу (на 16% порівняно з 1-ю добою, $p < 0,05$), до 22,0 (17-25) сек на 14-у добу (на 2,3%, $p > 0,05$). Надалі цей рефлекс тотально пригнічувався як у Контр, так і в Інт групі. При цьому, аналіз Данна не встановив суттєвих статистичних відмінностей ($p > 0,05$) між Контр та Інт групами протягом всього періоду спостереження, що дозволило зробити адекватні висновки.

Тривалість актів неповного грумінгу в щурів з ВІТГМ мала тенденцію до збільшення у 3-ю, 7-у та 14-у добу: час, що витрачали тварини на непослідовний грумінг, був довше на 65% ($p < 0,05$), 85% ($p < 0,05$) та 75% ($p < 0,05$) у вказані терміни у порівнянні з показником у 1-у добу. У 21-у цей показник зменшився на 15% ($p > 0,05$), на 28-у добу даний рефлекс фіксувався у 2 тварин і тривав 18 і 19 сек відповідно (табл. 3.7).

Таблиця 3.7 - Тривалість актів неповного грумінгу щурів у піднесеному хрестоподібному лабіринті (Me (min-max))

Група	Доба					
	1	3	7	14	21	28
Експ (n=6)	10 (8-15)	16,5 (0-19)	18,5 (0-21)	17,5 (0-19)	8,5 (0-9)	0 (0-19)
Контр (n=6)	15,5 (0-16)	16 (0-18)	17 (0-18)	5 (0-16)*	0 (0-25)	0 (0-23)
Інт (n=6)	18,5 (0-20)	8,5 (0-10)	12 (0-25)	6,5 (0-8)*	8 (0-9)	0 (0-10)

Примітка. *- випадки достовірної ($p < 0,05$) різниці між групами Експ та Контр, Експ та Інт.

В групі Контр тварин тривалість епізодів неповного грумінгу поступово та значно зменшилась у період дослідження з 1-ї по 14-у добу з 15,5 (0-16) сек до 5 (0-16) сек (на 68%, $p < 0,05$). В Інт щурів цей показник також зменшився до 14-ї доби з 18,5 (0-20) сек до 6,5 (0-8) сек (на 65%, $p < 0,05$) і до 8,0 (0-9) сек у 21-у добу (на 57%, $p = 0,08$ за критерієм Вілкоксона).

Кореляційний аналіз Спірмена показав тенденцію до помірної зворотної залежності між тривалістю неповного грумінгу і терміном посттравматичного періоду ($r = -0,3$, $p > 0,05$).

Міжгрупове множинне порівняння Експ, Контр та Інт груп із застосуванням непараметричного дисперсійного аналізу Краскела-Уоліса показало відсутність значущих відмінностей між групами протягом всього періоду спостереження, крім 14-ї доби. Показники Н-критерію складали: у 14-у добу - $H = 6,4$ ($p < 0,05$), у 1-у добу $H = 2,8$ ($p > 0,05$), у 3-ю добу $H = 4,02$ ($p > 0,05$), у 7-у добу $H = 1,6$ ($p > 0,05$), у 21-у добу $H = 2,3$ ($p > 0,05$) та у 28-у добу $H = 1,2$ ($p > 0,05$).

В усіх порівняннях за критерієм Данна Контр та Інт груп були статистично зіставними при $p > 0,05$. Водночас тривалість неповного грумінгу

Експ щурів у 14-у добу була вище за показники Контр групи в 3,5 раза ($p<0,05$), Інт групи – у 2,7 раза ($p<0,05$).

Таким чином, дослідження кількості та тривалості різних за якістю грумінгів у ПХЛ тільки яскравіше підкреслило наявність у різні періоди динаміки перебігу ВІТГМ тривожності, страху та стану, подібного до депресії у тварин Експ групи.

Емоційний стан щурів Експ групи у ПХЛ підвищувався, про що свідчило збільшення болюсів і актів дефекацій та уринацій (табл. 3.8).

Таблиця 3.8 - Показники емоційного стану у піднесеному хрестоподібному лабіринті (Me (min-max))

	Доба дослідження						
	Група	1	3	7	14	21	28
АД (n)	Експ	1 (1-2)	1 (0-2)	2 (1-2)	1,5 (1-2)	1 (1-2)	2 (1-2)
	Контр	1 (0-1)	1 (0-2)	1 (0-1)*	0 (0-1)*	1 (0-1)	0 (0-1)*
	Інт	1 (1-2)	1 (1-2)	1 (0-2)*	0,5 (0-1)*	1 (0-1)	0 (0-1)*
БД (n)	Експ	2 (1-4)	2 (0-3)	2 (2-3)	2 (1-3)	2 (1-3)	2 (1-3)
	Контр	1 (0-2)	1 (0-3)	1 (0-2)*	0 (0-2)*	1 (0-2)	0 (0-2)*
	Інт	1,5 (1-2)	1,5 (1-2)	1 (1-2)*	0,5 (0-2)*	1 (0-2)	0 (0-2)*
Уринації (n)	Інт	1,5 (1-2)	1,5 (1-2)	1 (1-2)*	0,5 (0-2)*	1 (0-2)	0 (0-2)*
	Експ	0,5 (0-3)	0,5 (0-1)	1,5 (1-3)	1 (0-3)	1 (1-2)	2 (1-2)
	Контр	1 (0-1)	0,5 (0-1)	1 (0-2)	0 (0-1)	1 (0-2)	0,5 (0-1)*

Примітки: 1. АД - акти дефекацій, 2. БД - болюси дефекацій, 3. (n) - кількість, 4. * - випадки достовірної ($p<0,05$) різниці між групами Експ (n=6) та Контр (n=6), Експ та Інт (n=6).

Всередині Експ групи майже у всіх тварин фіксували від 1 до 2 актів дефекацій протягом всього періоду спостереження. Причому зміни кількості актів дефекацій мали хвилеподібний характер з тенденцією до підвищення

медіанного показника у 7-у, 14-у та 28-у добу в 1,5-2 рази порівняно з 1-ою добою, при $p > 0,05$

Всередині Контр групи також траплялися незначні коливання кількості актів дефекацій, але епізоди здебільшого були поодинокими або були відсутні (без достовірних відмінностей у динаміці $p > 0,05$).

В той самий час у щурів Інт групи кількість актів дефекації зменшувалась поступово з 1-ї до 28-ї доби. При розрахунках встановили зниження з 1 (1-2) од. до 0 (0-1) од., тобто на 100% при $p < 0,05$.

Аналіз Спірмена показав відсутність кореляційних зв'язків між кількістю актів дефекацій і терміном посттравматичного періоду ($r = 0,2$, $p > 0,05$).

Порівняння змін за непараметричним дисперсійним аналізом Краскела-Уоліса (H-критерій) та критерієм Данна між трьома групами показало наявність статистично значущих відмінностей у кількості актів дефекацій на 7-у добу - $H = 9,8$ ($p < 0,01$), 14-у добу - $H = 8,6$ ($p < 0,01$) та 28-у добу - $H = 10,4$ ($p < 0,01$) і незначні у 1-у добу $H = 4,9$ ($p > 0,05$), у 3-ю добу $H = 1,4$ ($p > 0,05$) та у 21-у добу $H = 4,9$ ($p > 0,05$). Також за критерієм Данна встановлено відсутність відмінностей ($p > 0,05$) між Контр та Інт групами.

Попарний міжгруповий аналіз з використанням критерію Данна також показав відсутність значущих відмінностей між показниками Експ групи порівняно з іншими групами у 1-у та 3-ю добу посттравматичного періоду ($p > 0,05$). А вже з 7-ї доби середня кількість актів дефекацій зростала на 100% ($p < 0,05$) порівняно з Контр і Інт тваринами. В 14-у добу дослідження середня кількість актів дефекацій у щурів з ВІТГМ складала 1,5 (1-2) од., в той час, як у більшості тварин Контр групи таких епізодів не фіксувалося ($Me = 0$ од., $p < 0,05$). В Інт групі в цей період медіанний показник кількості актів дефекацій становив 0,5 од., який свідчив про відсутність (або наявність) таких епізодів у половини тварин, що також достовірно відрізнялося від показників Експ групи ($p < 0,05$). 28-ма доба дослідження характеризувалася

підвищеною частотою актів дефекацій у щурів з ВІТГМ ($Me=2$ од.) та їх відсутністю у більшості тварин Контр та Інт груп ($Me=0$ од., $p<0,05$) (табл. 3.8).

Слід зазначити, що динаміка кількості болюсів дефекацій в Експ щурів була стабільною протягом посттравматичного періоду: кількість епізодів варіювала від 0 до 4 од., але в середньому становила $Me=2$ од. ($p>0,05$) (табл. 3.8). Відсутність значущих зв'язків між кількістю болюсів дефекацій та термінами посттравматичного періоду підтверджує і низький коефіцієнт кореляції Спірмена ($r=0,03$, $p>0,05$).

В щурів Контр групи кількість болюсів дефекацій мала незначні епізоди зменшення у 14-у добу та на 28-у добу, але без достовірних відмінностей у динаміці в цілому ($p>0,05$). В Інт групі встановили поступове рівномірне зменшення кількості болюсів дефекацій з 1,5 (1-2) од. у 1-у добу до 0,5 (0-2) од. у 14-у добу ($p>0,05$) і до 0 (0-2) од. на 28-у добу ($p<0,05$).

Кореляційних зв'язків між кількістю болюсів дефекацій та термінами посттравматичного періоду не встановлено ($r=0,2$, $p>0,05$).

Множинний міжгруповий аналіз кількості болюсів дефекацій із застосуванням непараметричного дисперсійного аналізу Краскела-Уоліса (Н-критерій) та критерію Данна встановив статистично значущі відмінності між 3-а групами у 7-у добу ($H=9,7$, $p<0,01$), у 14-у добу ($H=8,5$, $p<0,01$) та у 28-у добу ($H=8,9$, $p<0,01$). Одночасно не значущі зміни виявлені у 1-у добу - $H=3,4$ ($p>0,05$), у 3-ю добу - $H=1,6$ ($p>0,05$) та у 21-у добу - $H=5,1$ ($p>0,05$). Між Контр та Інт не виявлено жодного випадку значущих відмінностей ($p>0,05$ за критерієм Данна).

Міжгруповий попарний аналіз показав підвищення кількості болюсів дефекацій в Експ тварин порівняно з Контр та Інт групами протягом усього періоду дослідження. При цьому статистично значущі відмінності між Експ та Контр, Експ та Інт групами встановлені у 7-у ($p<0,05$), 14-у ($p<0,05$) та 28-у добу ($p<0,05$) динамічного спостереження (табл. 3.8).

Кількість уринацій у щурів Експ групи поступово збільшувалась з 0,5 (0-3) од. у 1-у добу до 1,5 (1-3) од. у 7-у добу ($p>0,05$) та до 2 (1-2) од. у 28-у добу спостереження ($p<0,05$).

Кореляційний аналіз Спірмена показав наявність помірного прямого зв'язку між кількістю уринацій і терміном посттравматичного періоду ($r=0,41$, $p<0,05$).

На відміну від Експ тварин кількість уринацій у щурів Контр групи коливалась від 0 до 2 випадків зі зниженням медіанного показника з 1 од. у 1-у добу до 0,5 од. у 3-ю і 28-у добу, і до $Me=0$ од. у 14-у добу спостереження (без достовірних відмінностей у динаміці $p>0,05$). Водночас динаміка показників у щурів Інт групи була більш вираженою і характеризувалася тенденцією до зменшення середньої кількості епізодів уринацій з 1 (0-1) од. до 0,5 (0-1) од. у 7-21-у добу і практично до їх зникнення у більшості тварин ($Me=0$ од.) наприкінці спостереження ($p<0,05$).

Міжгрупове множинне порівняння кількості уринацій між Експ, Контр та Інт групами із застосуванням непараметричного дисперсійного аналізу Краскела-Уоліса (Н-критерій) та критерію Данна показало наявні значущі відмінності у 7-у добу ($H=6,03$, $p<0,05$) та на 28-у добу посттравматичного періоду ($H=9,8$, $p<0,01$). В інші доби спостереження Н-критерій не був статистично значущим: у 1-у добу $H=2,6$ ($p>0,05$), у 3-ю добу $H=1,9$ ($p>0,05$), у 14-у добу $H=1,7$ ($p>0,05$), у 21-у добу $H=3,8$ ($p>0,05$). Також цей показник у щурів Контр та Інт груп був статистично зіставним ($p>0,05$) у всіх порівняннях за критерієм Данна.

Подальший міжгруповий попарний аналіз підвищення кількості уринацій в Експ тварин порівняно з Контр та Інт групами протягом усього періоду дослідження. При цьому статистично значущі відмінності між Експ та Інт групами встановлені у 7-у добу та 28-у добу ($p<0,05$), а між Експ і Контр групами – у 28-у добу ($p<0,05$) динамічного спостереження (табл. 3.8).

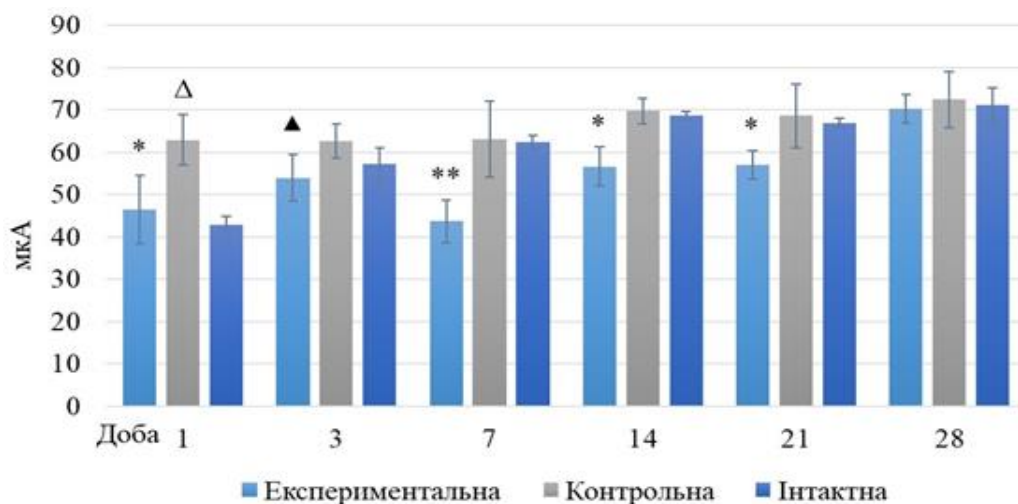
Тож, отримані результати показників, що віддзеркалюють емоційний стан щурів Експ групи, вказують на значне й тривале її напруження, а також порушення адаптації тварин до стресогенних умов піднесеного хрестоподібного лабіринту протягом усього періоду дослідження. В той час, як тварини Контр та Інт груп показали кращу адаптивну та емоційну реакцію на складні умови цього лабіринту.

3.3 Дослідження больової чутливості у динаміці розвитку експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку

Використаний нами метод електрошкірної стимуляції є ефективним для визначення больової чутливості в експерименті на щурах, адже цей метод є стандартизованим, що дозволяє забезпечити однакові умови для всіх тварин і робить результати більш надійними. Також, цей метод контрольований та дозволяє швидко і з мінімальними стражданнями тварин визначити необхідні параметри.

Середній больовий поріг, оцінений за поведінковою подією (вокалізацією), у щурів групи Експ підвищився з 1-ї ($46,5 \pm 8,0$ од.) до 28-ї доби ($70,3 \pm 3,3$ од.), тобто на 66% при $p < 0,01$. На 3-ю добу цей показник демонстрував чітку (але статистично не достовірну, $p > 0,05$) тенденцію до зростання - на 77% від значення у 28-у добу. Однак на 7-у добу больовий поріг знову знизився до значення, меншого, ніж на 1-у добу - 62% ($p < 0,01$) від значення на 28-й день. Значення больового порогу у 14-у та 21-у добу продемонстрували чітке зростання. Однак цей показник залишався помірно, але статистично значущо нижчим, ніж на 28-у добу. Динаміка середнього больового порогу в групі Контр була зовсім іншою. На 1-у добу цей показник ($63,0 \pm 6,0$ од.) був достовірно вищим на 32% ($p < 0,01$) за аналогічні значення у групі Інт тварин. На 3-й та 7-й день середній больовий поріг був майже таким самим, як і в 1-й день ($p > 0,05$). Пізніше, на 14-28-й дні, відповідні показники

демонстрували чітку схожість з відповідними показниками в Інт групі. Ці показники варіювали від 68,7 од. до 72,5 од. і не мали статистично значущих відмінностей між собою ($p>0,05$) (рис. 3.8).



Примітки: 1. Вертикальна шкала - сила току у мкА, 2. * - випадки достовірної ($p<0,0001$) різниці Експ ($n=6$) та Контр ($n=6$), Експ та Інт ($n=6$), 3. ** - випадки достовірної ($p<0,001$) різниці між групами Експ та Контр, Експ та Інт, 4. ▲ - випадки достовірної ($p<0,05$) різниці між групами Експ та Контр, Експ та Інт, 5. Δ - випадки достовірної ($p<0,0001$) різниці між Контр та Інт.

Рисунок 3.8 - Динаміка середніх показників (М, SD) сили електричного струму.

Середній больовий поріг в Інт групі тварин на 1-у добу дослідження був різко зниженим (лише $43,0 \pm 2,0$ од.), проте цей показник відносно швидко зростав і на 14-у добу сягав 68 од. Та вже на 28-у добу середній больовий поріг дорівнював $71,2 \pm 4,0$ од. Слід підкреслити, що середні значення цього показника на 14-у, 21-у та 28-у добу статистично достовірно не відрізнялися ($p>0,05$) між собою. Таким чином, спостережувані середні значення больових порогів у тварин Контр та Інт груп у період з 14-ї до 28-ї доби можна вважати референтними.

Кореляційний аналіз Спірмена показав статистично позитивний зв'язок сильного ступеня ($r=0,71$, $p<0,0001$) між динамікою змін сили току,

необхідної для реакції вокалізації та перебігом посттравматичного періоду ВІТГМ.

Множинне порівняння сили току, необхідної для вокалізації щурів, між трьома групами із застосуванням параметричних критерію Тьюкі та дисперсійного аналізу ANOVA (F-критерій) показало наявність статистично значущих відмінностей на 1-у добу - $F=18,2$ ($p<0,001$), у 3-ю добу $F=4,9$ ($p<0,05$), у 7-у добу ($p<0,001$), у 14-у добу $F=30,0$ ($p<0,0001$) та у 21-у добу $F=10,4$ ($p<0,0001$). Ці ж методи статистичного аналізу показали відсутність відмінностей між Контр та Інт групами з 3-ї доби.

Попарний міжгруповий аналіз показав, що сила току, яка викликала реакцію вокалізації у щурів Експ групи у 1-у добу була на 26% ($p<0,0001$) нижче за Контр щурів та вище на 8% ($p<0,0001$) порівняно з Інт тваринами, що свідчить про відсутність знеболювального ефекту галотану в щурів з ВІТГМ. В 3-ю добу цей показник зменшився в Експ групі щурів на 31% ($p<0,05$) порівняно з Контр і на 9% ($p>0,05$) у порівнянні з Інт, тобто у щурів Контр групи все ще зберігався, хоча й менше, анальгетичний ефект галотану.

В 7-у добу сила току в групі Експ тварин була меншою на 31% ($p<0,001$) порівняно з Контр і на 30% ($p<0,001$) у порівнянні з Інт тваринами. В період 14-28-а доба для досягнення вокалізації у щурів Експ групи необхідно було впливати силою току, меншою на 19% ($p<0,0001$), 17% ($p<0,001$) та 3% ($p>0,05$) порівняно з Контр тваринами та на 17% ($p<0,0001$), 15% ($p<0,001$) й 1% ($p>0,05$) порівняно з Інт тваринами у відповідні періоди спостереження.

Порівняння сили току, необхідного для реакції вокалізації у тварин, показало, що у щурів Експ групи цей показник був значно меншим, порівняно із тваринами Контр та Інт груп, тобто тварини з ВІТГМ були більш чутливими до електробольового подразника.

Резюме

В результаті проведеного дослідження поведінки у тесті «Відкрите поле» у щурів з ВІТГМ у 1-у добу посттравматичного періоду встановлені ознаки тривожності (підвищені на 35% ($p < 0,0001$) ГРА та в 4 ($p < 0,0001$) рази ВРА, зменшена на 47% ($p < 0,0001$) кількість обстежених нірок) та підвищеної емоційності (зміни грумінгу, кількості актів та болюсів дефекацій, уринацій, при $p < 0,01$, $p < 0,05$) з епізодом втрати страху у 14-у добу й подальшим переходом у стан, подібний про депресію, на що вказувало пригнічення цих вроджених рефлексів у Експ тварин порівняно з 1-ю добою посттравматичного періоду: ГРА на 82% ($p < 0,0001$), ВРА на 91% ($p < 0,0001$), кількість обстежених нірок на 53% ($p < 0,05$), кількості актів (на 50%, $p < 0,05$) та болюсів дефекацій (на 33%, $p < 0,05$), уринацій ($p < 0,05$). Водночас ці показники були вище у Експ тварин, ніж у Контр та Інт, що також вказує на порушення адаптації травмованих щурів.

Подібні зміни поведінки прослідковуються у ПХЛ, де у 1-у добу встановили тривожність, про що свідчило подовження на 33% ($p < 0,01$) часу перебування у відкритих рукавах, у 3-ю та 21-у добу визначається відсутність страху, ознакою чого стало ще більш значне подовження часу перебування у відкритих рукавах (на 169%, $p < 0,01$) порівняно з Інт тваринами. Надалі відмічався розвиток стану, подібного до депресії зі скороченням часу перебування у відкритих рукавах на 74% ($p < 0,01$). Також спостерігали порушення адаптації та зростання емоційності, про що свідчило превалювання неповного грумінгу над повним та збільшення актів і болюсів дефекацій, уринацій ($p < 0,01$, $p < 0,05$).

Встановлено ознаки змін больового сприйняття центрального генезу, про що свідчило підвищення сили току необхідної для реакції вокалізації щурів Експ групи на 8% ($p < 0,0001$) порівняно з Інт тваринами, що відновлюється лише на 28-у добу посттравматичного періоду. При цьому у 1-

у добу у Експ тварин цей показник був нижче на 26% ($p < 0,0001$) за Контр, що вказує на знеболювальний ефект галотану.

Результати даного розділу опубліковані у наукових працях [255, 257, 259, 256, 261, 308, 312-314, 318, 335, 354, 400].

РОЗДІЛ 4

ЗМІНИ КОГНІТИВНОГО ПРОФІЛЮ В ДИНАМІЦІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ВИБУХО-ІНДУКОВАНОЇ ТРАВМИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

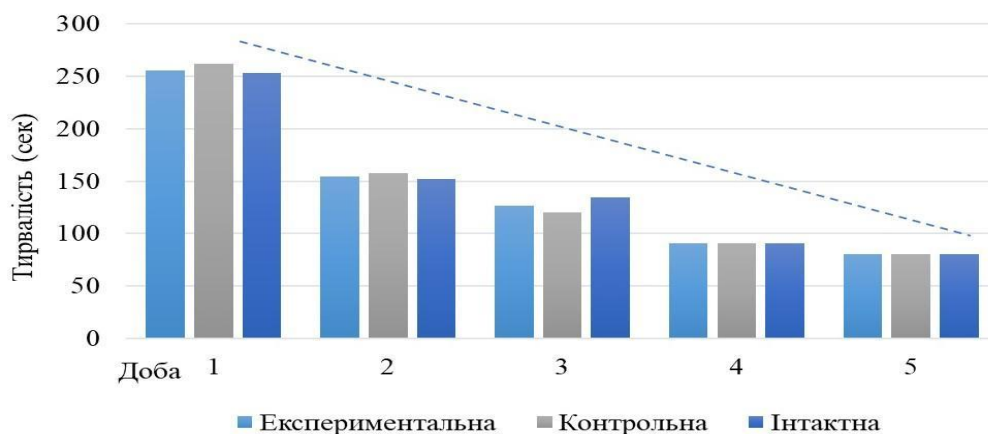
В представленому розділі наведені результати дослідження процесів навчання та стану різних видів пам'яті, зокрема просторової з рятівним та харчовим підкріпленням, пам'яті на больовий подразник. Проведені порівняння динаміки цих показників у середині кожної групи, попарні та множинні із застосуванням параметричних та непараметричних статистичних методів аналізу.

4.1 Просторова пам'ять щурів у лабіринті Барнса в динаміці розвитку експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку

Лабіринт Барнса, представлений великою ареною з 19-а фальшивими та 1-м справжнім притулком, дозволяє оцінити короточасну та довготривалу просторову пам'ять у дослідних тварин за показником ЛЧ пошуку справжнього притулку, а також здатність до адаптації у новій небезпечній обстановці за кількістю обстежених «фальшивих» притулків й наявність страху та тривожності за часом замирання при потраплянні на освітлену велику арену лабіринту.

Перед відтворенням ВІТГМ відібрані для дослідження щури усіх груп проходили 5-и денне навчання. В 1-у добу тварин розміщали у центрі арени та визначали ЛЧ пошуку кожною твариною справжнього притулку. ЛЧ зменшувався з 1-ї до 5-ї доби навчання в Експ тварин з 255,7 од. до 80,3 од. (на 69%, $p > 0,05$), у тварин Контр групи з 261,7 од. до 80,7 од. (на 70%, $p > 0,05$) та в Інт групі з 253,5 од. до 80,7 од. (68%, $p > 0,05$). Множинне

міжгрупове порівняння ЛЧ у період навчання з використанням критерію Тьюкі не виявило статистично значущих відмінностей, а F-критерій за аналізом ANOVA був у межах 0,0-0,1, при $p > 0,05$ (рис. 4.1).



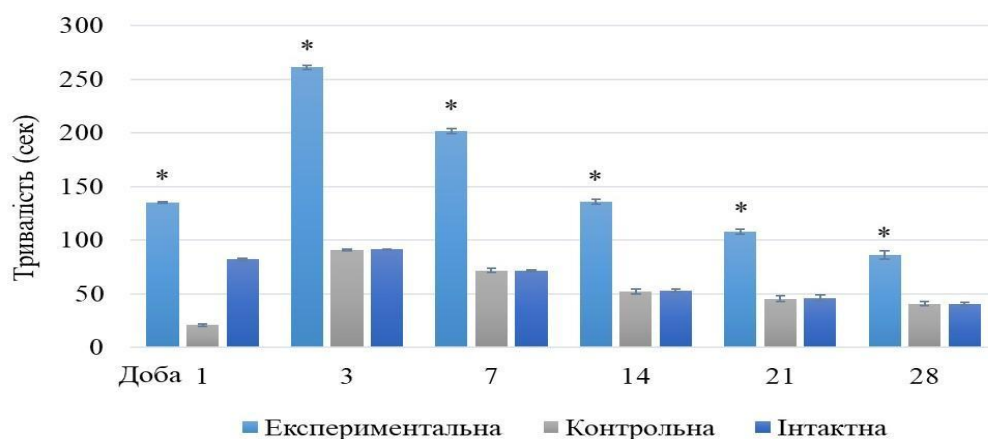
Примітки: 1. Вертикальна шкала - тривалість пошуку в секундах у період навчання (5 днів), 2. Пунктирною лінією показано градієнтне зменшення латентного часу в усіх групах щурів - Експ ($n=6$), Контр ($n=6$), Інт ($n=6$).

Рисунок 4.1 - Динаміка середніх показників (M, SD) латентного часу під час навчання щурів різних груп у лабіринті Барнса.

Після моделювання ВІТГМ, латентний час пошуку притулку у тварин групи Експ був вище на 7% ($p < 0,05$) порівняно із 5-ю добою навчання.

А при порівнянні у посттравматичний період встановлено, що ЛЧ у Експ тварин достовірно ($p < 0,0001$) зменшився з 1-ї до 28-ї доби дослідження зі $135,3 \pm 0,8$ од. до $86,3 \pm 3,7$ од., тобто, загальне зменшення становило 36%, при $p < 0,0001$.

Всередині Експ групи латентний час у 3-ю добу був більше на 93% ($p < 0,0001$), у 7-у добу на 49% ($p < 0,0001$), і менше у 21-у добу на 20% ($p < 0,0001$) у порівнянні з 1-ю добою посттравматичного періоду. В щурів Контр групи у 1-у добу був максимально короткий термін ЛЧ ($80,8 \pm 1,2$ од.), а з 3-ї доби цей показник нормалізувався ($90,8 \pm 0,8$ од.) і надалі зменшився до $40,8 \pm 1,7$ од., на 50% при $p < 0,0001$ (рис. 4.2).



Примітки: 1. Вертикальна шкала - тривалість пошуку у секундах, 2. * - випадки достовірної ($p < 0,0001$) різниці між групами: Експ ($n=6$) та Контр ($n=6$), Експ та Інт ($n=6$).

Рисунок 4.2 - Динаміка середніх показників (М, SD) латентного часу пошуку «справжнього» притулку щурів різних груп у лабіринті Барнса.

Аналіз отриманих результатів показав значне скорочення латентного часу в щурів Контр групи на 1-у добу дослідження, що свідчить про підвищення страху через токсичний вплив галотану, при цьому пам'ять не була порушена. На 3-ю добу латентний час в Контр групі щурів не відрізнявся від такого в Інт тварин, та надалі ЛЧ в цих групах зменшувався.

В Інт щурів латентний час пошуку мав хвилі несуттєвого підвищення на 3-ю добу, проте загалом з 1-ї до 28-ї доби спостереження встановили зменшення ЛЧ з $82,2 \pm 1,2$ од. до $40,2 \pm 1,5$ од., тобто на 51% при $p < 0,0001$.

Також, статистично встановлено сильний негативний кореляційний зв'язок ($r = -0,71$, $p < 0,0001$) між ЛЧ, який щури витрачали на пошук «справжнього» притулку та добою посттравматичного періоду.

Множинне порівняння тривалості пошуку «справжнього» притулку між трьома групами із застосуванням параметричних критерію Тьюкі та дисперсійного аналізу ANOVA (F-критерій) не показало достовірні відмінності у період навчання: у 1-у добу $F=0,1$ ($p > 0,05$), у 2-у добу $F=0,0$ ($p > 0,05$), у 3-ю добу $F=1,0$ ($p > 0,05$), у 4-у добу $F=0,0$ ($p > 0,05$) та у 5-у добу $F=0,0$ ($p > 0,05$). Ретельне порівняння із використанням цих статистичних методів у експериментальний період (1-28-а доба) показав наявність

статистично значущих відмінностей між Експ групою та Контр й Інт у 1-у добу - $F=5116,5$ ($p<0,0001$), у 3-ю добу $F=47198,8$ ($p<0,0001$), у 7-у добу $F=9277,5$ ($p<0,0001$), у 14-у добу $F=3320,4$ ($p<0,0001$), у 21-у добу $F=1312,1$ ($p<0,0001$) та у 28-у добу $F=741,5$ ($p<0,0001$). При цьому встановлено відсутність відмінностей між Контр та Інт групами.

Міжгрупове попарне порівняння латентного часу пошуку «справжнього» притулку в лабіринті Барнса на 1-у добу показало подовження тривалості пошуку справжнього притулку у щурів Експ групи на 85% ($p<0,0001$) порівняно з Контр тваринами й на 39% ($p<0,0001$) у порівнянні з щурами Інт групи. На 3-ю добу ЛЧ був максимально за весь період дослідження збільшеним у щурів Експ на 187% ($p<0,0001$) у порівнянні з Контр і на 185% ($p<0,0001$) у порівнянні з Інт тваринами. На 7-у добу ЛЧ в Експ групі щурів був довшим на 181% ($p<0,0001$) у порівнянні з Контр і на 65% ($p<0,0001$) порівняно з Інт тваринами. На 14-у добу ЛЧ прогресивно скорочувався у порівнянні з 3-ю добою в Експ групі, проте все ще залишався тривалішим на 155% ($p<0,0001$) у порівнянні з Контр і на 61% ($p<0,0001$) у порівнянні з Інт щурами. На 21-у добу величина ЛЧ в Експ щурів була довшою на 57% ($p<0,0001$) у порівнянні з Контр тваринами і на 57% ($p<0,0001$) у порівнянні з Інт щурами. І на 28-у добу латентний час вже був менше ніж у 1-у добу в щурів Експ групи, але все ще залишався більшим на 53% ($p<0,0001$) у порівнянні з Контр і також на 53% ($p<0,0001$) у порівнянні з Інт щурами.

Додатково до визначення латентного часу, аналізували динаміку кількості «фальшивих» притулків, що обстежували тварини у пошуку «справжнього». З кожним днем навчання тварини все менше обстежували «фальшиві» притулки (рис. 4.3).

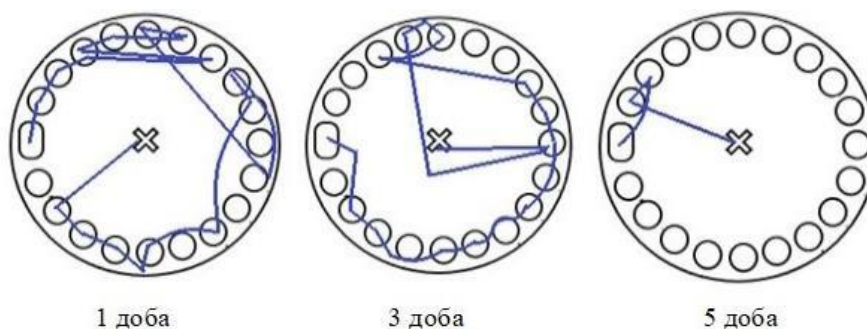


Рисунок 4.3 - Динаміка кількості обстежених «фальшивих» притулків у період навчання (5 днів) в усіх групах щурів.

Зокрема, в Експ тварин медіанний показник зменшився з 13,0 од. до 2,0 од. (на 85%, $p < 0,05$), в Контр групі – з 11,0 од. до 2,5 од. (на 77%, $p < 0,05$), в Інт тварин – з 9,0 од. до 2,0 од. (на 78%, $p < 0,05$). І у 5-у добу навчання в усіх тварин сформувались довгострокові енграми пам'яті щодо можливості сховатись при потраплянні на відкриту арену лабіринту, про що свідчило зменшення як ЛЧ пошуку «справжнього» притулку, так і кількості обстежених «фальшивих» притулків.

У подальше дослідження відбирали тільки тих тварин, що швидко знаходили «справжній» притулок з мінімальною кількістю обстежених «фальшивих» притулків.

Кількість заходів у «фальшиві» притулки в групі Експ тварин у першу добу після відтворення ВІТГМ порівняно з 5-ю добою навчання збільшилась в 4 рази (з 2,0 од. до 8 од., $p < 0,01$).

Подальший аналіз встановив, що в Експ тварин з 1-ї доби порівняно із 28-ю зменшилась варіабельність показника, але медіанний показник практично не змінився (збільшення на 6%, $p > 0,05$). В Контр щурів цей показник зменшився у період 1-28-а доба з 3,5 (0-6) од. до 2,0 (0-4) од., на 43% ($p > 0,05$) та в групі Інт щурів у цей період – з 3,0 (1-5) од. до 0,5 (0-4) од., на 83%, $p < 0,05$ (табл. 4.1).

Таблиця 4.1 - Динаміка кількості заходів у «фальшиві» притулки лабіринту Барнса (Me (min-max))

Група тварин	Експериментальна	Контрольна	Інтактна
1 доба	8,0 (4-24)	3,5 (0-6)**	3,0 (1-5)**
3 доба	6,5 (0-10)	2,5 (0-3)**	3,0 (0-5)**
7 доба	11,5 (7-16)	1,5 (0-2)*	1,5 (0-4)*
14 доба	7,5 (5-10)	1,0 (1-2)*	2,0 (0-4)*
21 доба	9,5 (9-14)	2,0 (1-4)*	2,0 (1-3)*
28 доба	8,5 (6-12)	2,0 (0-4)*	0,5 (0-4)*

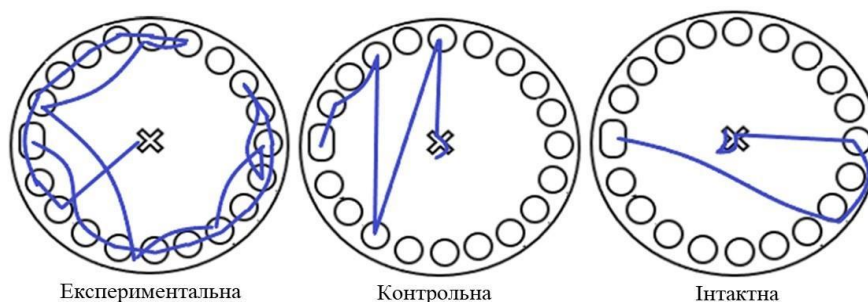
Примітки: 1. * - випадки достовірної ($p < 0,01$) різниці між групами Експ ($n=6$) та Контр ($n=6$), Експ та Інт ($n=6$), 2. ** - випадки достовірної ($p < 0,05$) різниці між групами Експ та Контр, Експ та Інт.

Кореляційний аналіз Спірмена не показав залежності змін кількості обстежених «фальшивих» притулків від доби посттравматичного перебігу ($r=0,18$, $p > 0,05$), адже цей показник мав невеликі коливання протягом усього періоду дослідження. А також встановили тенденцію до негативного зв'язку між латентним часом пошуку «справжнього» притулку та кількістю обстежених «фальшивих» притулків ($r = -0,2$, $p > 0,05$).

Також були проведені множинні порівняння кількості «фальшивих» притулків між Експ, Контр та Інт групами із застосуванням непараметричного дисперсійного аналізу Краскела-Уоліса (H-критерій) як у період навчання (1-5-а доба), так і у експериментальний період (1-28-а доба). Тож, під час навчання у 1-у добу $H=1,2$ ($p > 0,05$), у 2-у добу $H=10,0$ ($p < 0,01$), у 3-ю добу $H=5,7$ ($p > 0,05$), у 4-у добу $H=2,1$ ($p > 0,05$) та у 5-у добу $H=0,7$ ($p > 0,05$). Множинне порівняння показників кількості обстежених «фальшивих» притулків у експериментальний період встановило, що у 1-у добу H-критерій дорівнював 8,4 ($p < 0,05$), у 3-ю добу $H=5,9$ ($p < 0,05$), у 7-у добу $H=11,7$ ($p < 0,01$), у 14-у добу $H=12,2$ ($p < 0,01$), у 21-у добу $H=11,8$

($p < 0,01$) та у 28-у добу $H=12,0$ ($p < 0,01$). При цьому між Контр та Інт групами за критерієм Данна достовірних відмінностей не встановлено.

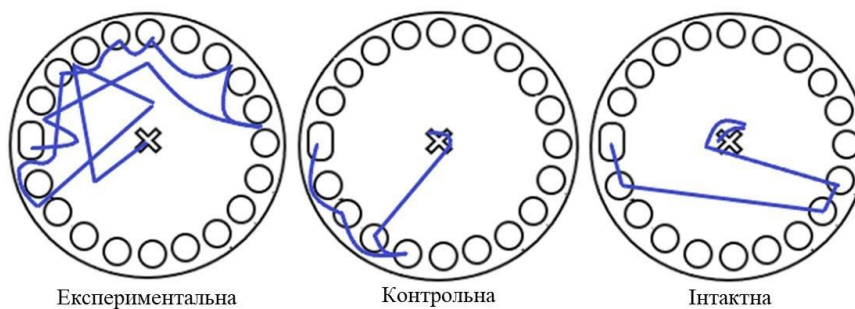
Як видно з таблиці 4.1, кількість обстежень «фальшивих» притулків у щурів Експ групи на 1-у добу після моделювання ВІТГМ була більшою у 2,3 раза ($p < 0,05$) у порівнянні з Контр і у 2,7 раза ($p < 0,05$) у порівнянні з Інт тваринами, що свідчить про неможливість відтворення маршруту, тобто про порушення просторової пам'яті. При цьому травмовані щури були занепокоєні, швидко та хаотично рухалися, притискаючись до арени, що свідчило про страх перебування на відкритій площині навіть після навчання. Проте, усі їх рухи були спрямовані на пошук безпечного місця - «справжнього» притулку, про який, вочевидь, вони добре пам'ятали (рис. 4.4).



Примітка. Експ ($n=6$), Контр ($n=6$), Інт ($n=6$).

Рисунок 4.4 - Пересування щурів по лабіринту Барнса у 1-у добу.

На 3-ю добу цей показник в Експ групі зростав у 2,6 раза ($p < 0,05$) порівняно з Контр щурами та у 2,2 раза ($p < 0,05$) порівняно з Інт тваринами. А всередині Експ групи на 3-ю добу кількість заходів у «фальшиві» притулки зменшувалась на 19% ($p > 0,05$) порівняно з 1-ю добою спостереження (рис. 4.5).

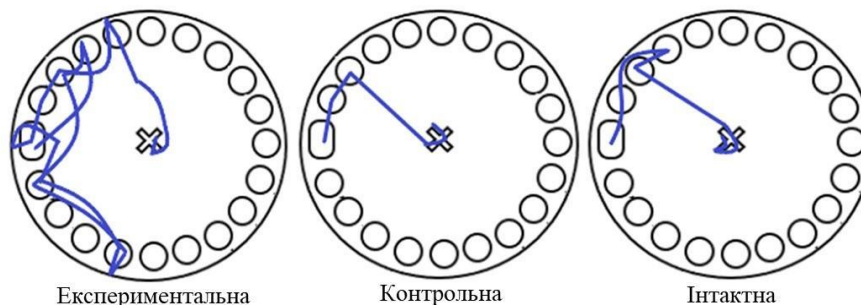


Примітка. Експ (n=6), Контр (n=6), Інт (n=6).

Рисунок 4.5 - Пересування щурів по лабіринту Барнса у 3-ю добу.

Загальна поведінка щурів Експ групи вказувала на те, що страх все ще зберігався. Тварини активно шукали можливість сховатися, були занепокоєні (рис. 4.5).

На 7-у добу Експ щури обстежували більшу в 7,7 раза кількість «фальшивих» притулків порівняно з показниками Контр та Інт тваринами ($p < 0,01$) (рис. 4.6).

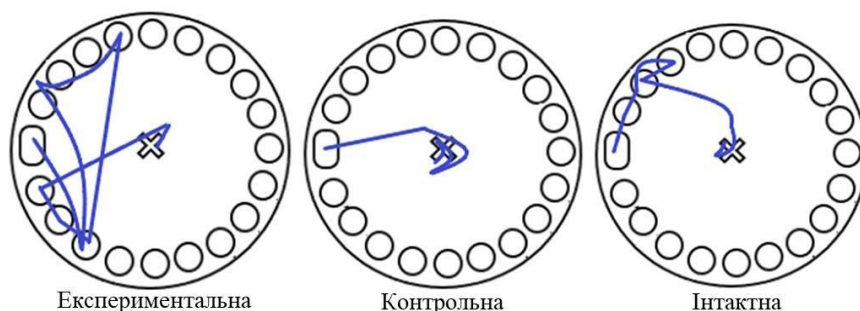


Примітка: Експ (n=6), Контр (n=6), Інт (n=6).

Рисунок 4.6 - Пересування щурів по лабіринту Барнса у 7-у добу.

Всередині Експ групи цей показник на 7-у добу навпаки зріс на 44% ($p > 0,05$), порівняно з 1-ю добою. Загальна поведінка щурів Експ групи також, як і у попередні доби спостереження, вказувала на наявність страху. В той час, як щури Контр та Інт груп поводитись впевнено, неспішно обстежували деякі «фальшиві» притулки та знаходили схованку.

На 14-у добу цей показник у щурів з легкою вибухо-індукованою травмою головного мозку був більше в 7,5 раза ($p < 0,01$) у порівнянні з Контр і в 3,8 раза ($p < 0,01$) більше у порівнянні з Інт тваринами (рис. 4.7).



Примітка: Експ (n=6), Контр (n=6), Інт (n=6).

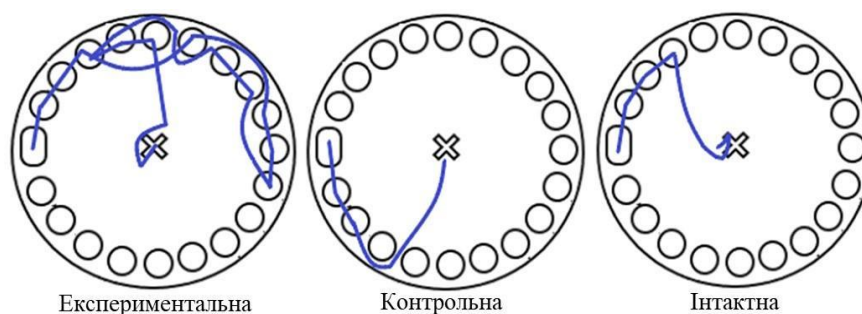
Рисунок 4.7 - Пересування щурів по лабіринту Барнса у 14-у добу.

Внутрішньогруповий аналіз показав, що у тварин Експ групи цей показник у 14-у добу знову зменшувався на 23% ($p > 0,05$) порівняно з кількістю «фальшивих» притулків, що ці тварини обстежили у 1-у добу (рис. 4.4 та рис. 4.7).

Щури з вибухо-індукованою травмою головного мозку виглядали менш тривожними, проте все ще не могли швидко відтворити маршрут до «справжнього» притулку.

На 21-у добу кількість «фальшивих» притулків, що обстежували щури групи Експ була вищою в 4,8 раза ($p < 0,01$) у порівнянні з групами Контр та Інт щурів.

У цей період кількість обстежених «фальшивих» притулків всередині Експ групи дещо збільшилась - на 12% ($p > 0,05$), порівняно з кількістю «фальшивих» притулків, що ці тварини обстежили у 1-у добу (рис. 4.4, рис. 4.8).

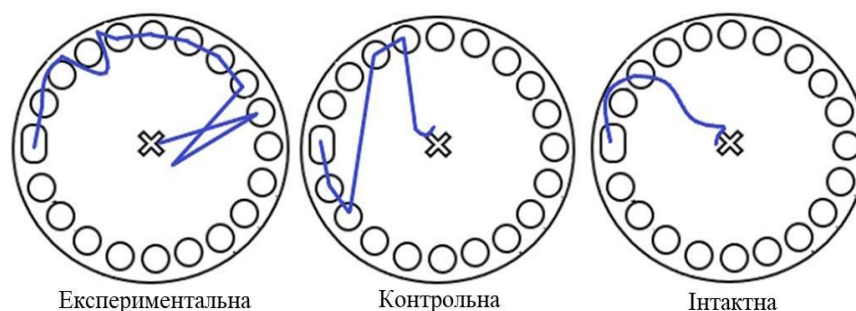


Примітка: Експ (n=6), Контр (n=6), Інт (n=6).

Рисунок 4.8 - Пересування щурів по лабіринту Барнса у 21-у добу.

Але при урахуванні, що й висхідний стан у 1-у добу був високим у порівнянні Контр та Інт та зменшення цього показника в цих групах на 21-у добу, можемо говорити не стільки про відновлення, скільки про тривале порушення просторової пам'яті в Експ тварин. При цьому, тривожність Експ щурів все більше згасає, проте кількість помилок при пошуку «справжнього» притулку залишається високою, визначались хаотичні рухи, обнюхування і прагнення сховатися.

На 28-у добу показник у щурів Експ групи знов зменшився відносно 21-ї доби (на 11%, $p > 0,05$), але залишався збільшеним в 4,3 раза ($p < 0,01$) у порівнянні з Контр тваринами та в 17 разів ($p < 0,001$) порівняно з Інт щурами (рис. 4.9).



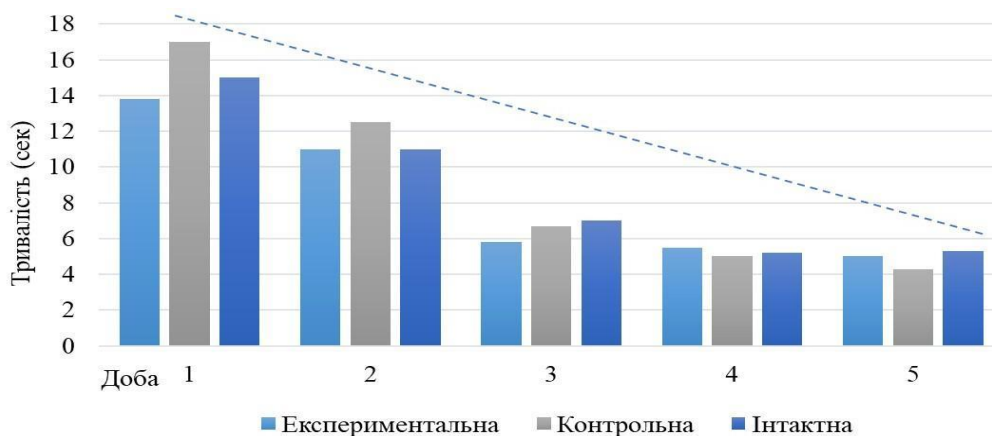
Примітка: Експ (n=6), Контр (n=6), Інт (n=6).

Рисунок 4.9 - Пересування щурів по лабіринту Барнса у 28-у добу.

Такий результат свідчить про те, що тварини Експ групи все ще мали складнощі з орієнтацією у просторі, адже не могли швидко знайти «справжній» притулок навіть після щотижневого повторення представленої ситуації.

Також, оцінювали емоційний статус щурів за часом завмирання при потраплянні на відкриту арену лабіринту Барнса - фрізингом (*freezing*). Власне, час завмирання визначали після прибирання стартової камери, коли щур, опинившись на добре освітленому відкритому просторі, притискався до арени лабіринту та оцінював навколишню обстановку. Впевнившись у безпеці, починав шукати надійної схованки.

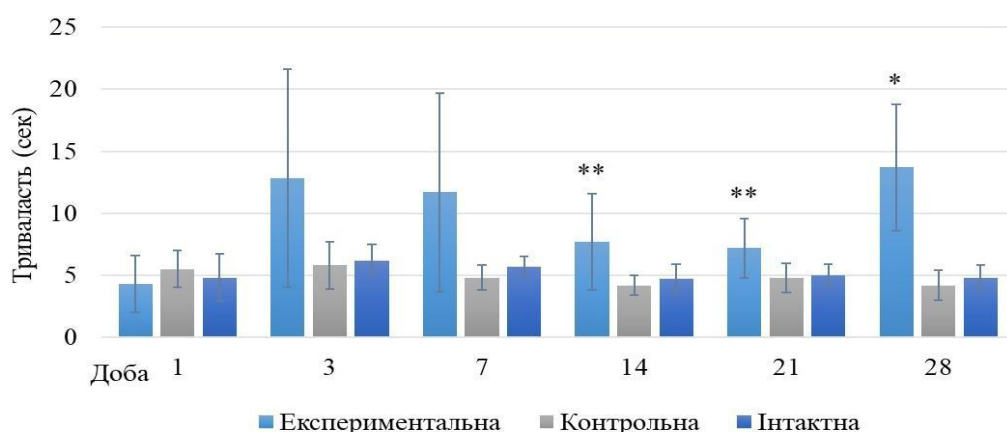
В період навчання час завмирання поступово зменшувався з 1-ї по 5-у добу в Експ щурів з $13,8 \pm 6,6$ од. до $5,0 \pm 1,8$ од. (на 64%, $p < 0,05$), у Контр щурів – з $17,0 \pm 9,2$ од. до $4,0 \pm 1,0$ од. (на 77%, $p < 0,05$), в Інт тварин – з $15,0 \pm 7,2$ од. до $5,3 \pm 1,6$ од. (на 65%, $p < 0,05$), що свідчило про адаптацію щурів до відкритої арени лабіринту Барнса (рис. 4.10).



Примітки: 1. Вертикальна шкала - тривалість завмирання у секундах, 2. Пунктирною лінією показано градієнтне зменшення часу у всіх групах щурів: Експ (n=6) та Контр (n=6), Експ та Інт (n=6).

Рисунок 4.10 - Динаміка середніх показників (М, SD) часу завмирання у період навчання (5 днів).

В щурів Експ групи час завмирання був нижче на 14% ($p>0,05$) у 1-у добу посттравматичного періоду порівняно із 5-ю добою навчання. Також у щурів Експ групи збільшувався час завмирання у період з 1-ї до 28-ї доби дослідження з $4,3\pm2,3$ од. до $13,7\pm5,1$ од., тобто в 3,2 раза ($p<0,01$). Таке збільшення часу завмирання відбувалось поступово з періодами сильних коливань у 3-ю добу, 7-у добу і 14-у добу спостереження ($p<0,01$ за критерієм Левіна), і збільшенням показника у 21-у добу – на 67% ($p<0,05$) порівняно з показником 1-ї доби після відтворення ВІТГМ (рис. 4.11).



Примітки: 1. Вертикальна шкала - тривалість завмирання у секундах між групами Експ ($n=6$) та Контр ($n=6$), Експ та Інт ($n=6$), 2. * - випадки достовірної ($p<0,0001$) різниці між групами Експ та Контр, Експ та Інт, 3. ** - випадки достовірної ($p<0,05$) різниці між групами Експ та Контр, Експ та Інт.

Рисунок 4.11 - Динаміка середніх показників (M , SD) часу завмирання щурів різних груп у лабіринті Барнса.

За допомогою кореляційного аналізу Спірмена встановили помірну позитивну залежність ($r=0,41$, $p<0,01$) між змінами часу завмирань та добою посттравматичного періоду в щурів з ВІТГМ.

Час завмирання у щурів Контр групи зменшився з 1-ї до 28-ї доби спостереження з $5,5\pm1,5$ од. до $4,2\pm1,2$ од. (на 24%, $p>0,05$), а в Інт групі щурів середній показник часу завмирання у 1-у та у 28-у добу спостереження не змінився ($p>0,05$).

В 1-у добу експерименту у щурів з ВІТГМ спостерігалась тенденція до зменшення часу завмирання у порівнянні з тваринами Контр на 22% ($p>0,05$) та Інт на 10% ($p>0,05$) груп. У тварин Контр групи час довше на 13% ($p>0,05$) у порівнянні з Інт тваринами, що свідчить про гальмівний ефект галотану. Проте, у щурів Експ групи цього ефекту немає.

Порівняння показників часу завмирання між трьома групами із застосуванням параметричного критерію Тьюкі та аналізом ANOVA (F-критерій) показало відсутність взаємозв'язків протягом навчання: у 1-у добу $F=0,3$ ($p>0,05$), у 2-у добу $F=0,1$ ($p>0,05$), у 3-ю добу $F=0,4$ ($p>0,05$), у 4-у добу $F=0,2$ ($p>0,05$) та у 5-у добу $F=0,7$ ($p>0,05$). А вже після відтворення ВІТГМ аналіз ANOVA показав статистичні відмінності: у 1-у добу $F=0,3$ ($p>0,05$), у 3-ю добу $F=1,0$ ($p>0,05$), у 7-у добу $F=1,07$ ($p>0,05$), у 14-у добу $F=3,7$ ($p<0,05$), у 21-у добу $F=3,8$ ($p<0,05$) та у 28-у добу $F=17,7$ ($p<0,0001$). Водночас динаміка показників часу завмирань у щурів Контр та Інт груп протягом всього періоду спостереження була статистично зіставною при $p>0,05$ у всіх порівняннях за критерієм Тьюкі.

Тенденцію до збільшення часу завмирання у щурів групи Експ спостерігали з 3-ї доби на 121% ($p>0,05$) порівняно з Контр групою і на 106% ($p>0,05$) у порівнянні з Інт групою, у 7-у добу – на 144% ($p>0,05$) у порівнянні з Контр і на 105% у порівнянні з Інт групою.

З 14-ї доби час завмирання у щурів Експ групи був більше на 83% ($p<0,05$) у порівнянні з Контр щурами й на 64% ($p<0,05$) у порівнянні з Інт тваринами. На 21-у добу збільшення у щурів Експ становило 50% ($p<0,05$) у порівнянні з Контр щурами та на 44% ($p<0,05$) порівняно з Інт тваринами. Максимальне й значуще збільшення цього показника відбувалось на 28-у добу посттравматичного періоду в щурів з ВІТГМ на 226% ($p<0,01$) у порівнянні з Контр тваринами й на 185% ($p<0,01$) у порівнянні з Інт групою.

Встановлені зміни показників Експ щурів у лабіринті Барнса свідчать про тривале порушення просторової пам'яті, проте загальна поведінка

вказувала на те, що тварини пам'ятали про можливість укриття у «справжньому» притулку.

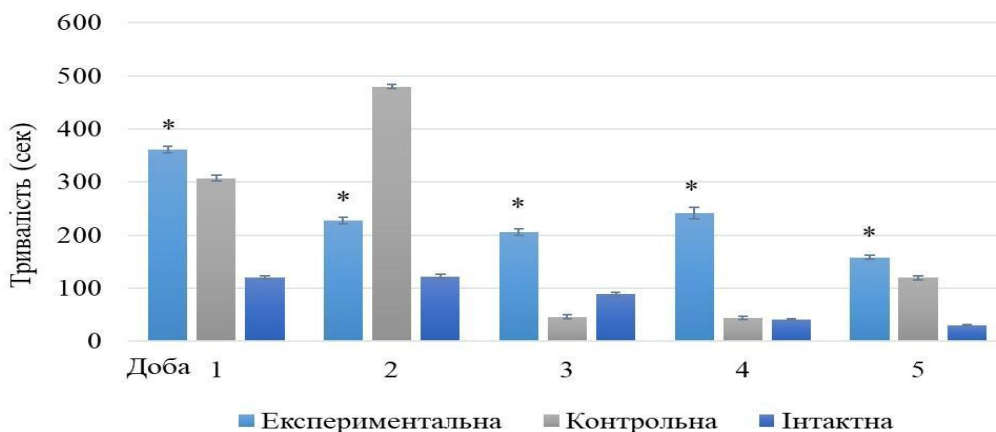
4.2 Формування здатності до навчання щурів у Ж-подібному лабіринті в динаміці розвитку експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку

Ж-подібний лабіринт дозволяє вивчати здатність щурів навчання і просторової навігації, а також відстежити стан короткочасної та довготривалої пам'яті. Тварини Експ групи навчались вже після відтворення ВІТГМ. Щури усіх груп мали виконати такі етапи: увійти зі стартової зони до лабіринту, дослідити лабіринт, знайти одну з годівниць з кормом та отримати підкріплення щодо якого формували слід пам'яті.

Латентний час всередині Експ групи зменшився з 1-ї по 5-у добу з $361,2 \pm 20,0$ од. до $157,8 \pm 10,9$ од., що склало 56%, при $p < 0,0001$.

В щурів Контр групи у 2-гу добу латентний час був довше на 56% ($p < 0,0001$) порівняно з 1-ою добою, а надалі цей показник зменшився з $307,2 \pm 9,6$ од. до $119,8 \pm 11,5$ од., на 61% ($p < 0,0001$) нижче з 1-ї до 5-ої доби спостереження. Такі зміни вказують на токсичний вплив галотану, чого не спостерігали у тварин з ВІТГМ.

В щурів Інт групи ЛЧ пошуку годівниці поступово зменшився з $120,0 \pm 6,4$ до $30,17 \pm 7,3$ од. у період з 1-ї по 5-ту добу, що склало 75%, при $p < 0,0001$ (рис. 4.12).



Примітки: 1. Вертикальна шкала - тривалість пошуку у секундах, 2. * - випадки достовірної ($p < 0,0001$) різниці між групами Експ ($n=6$) та Інт ($n=6$). Контр ($n=6$).

Рисунок 4.12 - Динаміка середніх показників (М, SD) латентного часу пошуку годівниці в Ж-подібному лабіринті.

Кореляційний аналіз Спірмена показав наявність сильного негативного зв'язку ($r = -0,77$, $p < 0,0001$) між ЛЧ пошуку годівниці Експ тварин та терміном спостереження.

Дисперсійний аналіз ANOVA (F-критерій) показав наявність статистично значущих ($p < 0,0001$) відмінностей у ЛЧ між Експ, Контр й Інт групами протягом експериментального періоду: у 1-у добу $F=540,8$ ($p < 0,0001$), у 2-у добу $F=1303,3$ ($p < 0,0001$), у 3-ю добу $F=284,7$ ($p < 0,0001$), у 4-у добу $F=268,3$ ($p < 0,0001$) і у 5-у добу $F=255,7$ ($p < 0,0001$). Треба відмітити наявність достовірних відмінностей між Контр та Інт групами (крім 4-ї доби, $p > 0,05$), при $p < 0,001$.

Міжгруповий попарний аналіз з використанням критерію Тьюкі показав, що ЛЧ у щурів Експ групи у 1-у добу збільшився на 18% ($p < 0,0001$) у порівнянні з Контр тваринами та в 3 рази ($p < 0,0001$) порівняно з Інт тваринами. В 2-у добу спостереження латентний час в Експ щурів був меншим на 52% ($p < 0,0001$) у порівнянні з Контр та збільшився на 86% ($p < 0,0001$) у порівнянні з Інт тваринами. Подальший аналіз показав підвищення ЛЧ у щурів Експ групи порівняно з Контр та Інт тваринами: у 3-ю добу в 4,5 рази ($p < 0,0001$) та у 2,3 рази ($p < 0,0001$), у 4-у добу – в 5,5 рази

($p < 0,0001$) та в 5,9 разів ($p < 0,0001$) і у 5-у добу – на 32% ($p < 0,0001$) та в 5,2 разів ($p < 0,0001$) відповідно груп порівняння (рис. 4.12).

Таким чином, щури з ВІТГМ витрачали значно більше часу на пошук годівниці протягом усього 5-и денного періоду дослідження, що свідчило про порушення здатності до просторового навчання, що призводить до стійких змін просторової пам'яті.

Додатково до латентного часу пошуку годівниці, було проаналізовано й показники поведінки у Ж-подібному лабіринті. Зокрема, кількість вертикальних стійок (ВРА), кількість і тривалість різних за якістю актів грумінгу (табл. 4.2).

Таблиця 4.2 - Показники поведінки у Ж-подібному лабіринті (М, SD або Me (min-max))

Доба дослідження						
Показник	Група	1	2	3	4	5
ВРА (n)	Експ	32,3±7,2	18,3±6,8	11,5±2,7	14,0±3,8	14,0±3,6
	Контр	17,5±1,9*	34,8±7,1* ^Δ	2,8±0,6* ^Δ	3,0±0,5*	3,8±0,7* ^Δ
	Інт	12,8±2,8*	9,5±2,6**	8,0±1,4**	3,0±0,5*	1,5±0,2*
Кількість актів повного грумінгу (n)	Експ	1 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-1)
	Контр	0 (0-1)	2 (1-3)*	1 (0-1)	1 (1-1)**	0,5 (0-1)
	Інт	0 (0-1)	1 (0-1)	0,5 (0-1)	1 (0-1)**	1 (0-1)
Кількість актів неповного грумінгу (n)	Експ	2 (1-3)	1 (1-1)	1 (0-1)	1 (1-1)	0,5 (0-1)
	Контр	0 (0-1)*	1 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-1)**	0 (0-1)
	Інт	0 (0-0)*	0 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-1)**	0,5 (0-1)

Примітки: 1. (n) - кількість, 2. * - випадки достовірної ($p < 0,001$) різниці між групами Експ (n=6) та Інт (n=6), 3. ** - випадки достовірної ($p < 0,05$) різниці між групами Експ та Інт, 4. Δ - випадки достовірної ($p < 0,001$) різниці між групами Контр та Інт.

Аналіз орієнтовно-дослідницької діяльності за кількістю вертикальних стійок, що тварина використовує для пошуку виходу з лабіринту або годівнички, показав більшу її активність у тварини Експ групи порівняно як з Контр, так і з Інт тваринами, проте зменшувався всередині кожної групи.

В Експ тварин у період дослідження з 1-ї до 5-ї доби ВРА зменшилась з $32,3 \pm 3,0$ од. до $14,0 \pm 1,0$ од., на 57% ($p < 0,01$). В Контр групі ВРА збільшилась у 2-у добу на 50% ($p < 0,01$) порівняно з 1-ю добою, що свідчить про токсичний вплив галотану, проте загалом з 1-ї до 5-ї доби зменшувалась з $17,5 \pm 1,0$ од. до $3,8 \pm 0,7$ од., на 78% ($p < 0,01$).

В щурів Інт групи спостерігали поступове зменшення ВРА з 1-ї до 5-ї доби з $12,8 \pm 1,0$ од. до $1,5 \pm 0,2$ од., що становило 88% ($p < 0,01$). Це свідчить про адаптацію до лабіринту і добре сформовану пам'ять про маршрут до годівниці у тварин Контр та Інт груп.

В Експ тварин у період дослідження з 1-ї до 5-ї доби ВРА зменшилась з $32,3 \pm 7,2$ од. до $14,0 \pm 3,6$ од., на 57%, при $p < 0,01$ (табл. 4.2). В Контр групі ВРА збільшилась у 2-у добу на 99% ($p < 0,01$) порівняно з 1-ою добою, що свідчить про токсичний вплив галотану, проте загалом з 1-ї до 5-ї доби зменшувалась з $17,5 \pm 1,9$ од. до $3,8 \pm 0,7$ од., на 78% ($p < 0,001$). В щурів Інт групи спостерігали поступове зменшення ВРА з 1-ї до 5-ї доби з $12,8 \pm 2,8$ од. до $1,5 \pm 0,2$ од., що становило 88% ($p < 0,001$). Це свідчить про адаптацію до лабіринту і добре сформовану пам'ять про маршрут до годівниці у тварин Контр та Інт груп.

Кореляційний аналіз Спірмена встановив помітний негативний зв'язок ($r = -0,54$, $p < 0,01$) між кількістю вертикальних стійок та терміном посттравматичного періоду ВРА, що оцінювали за кількістю вертикальних стійок.

Міжгрупове множинне параметричне порівняння кількості ВРА за критерієм Тьюкі показало статистично значущі відмінності між Експ та Контр, Експ та Інт групами з 1-ї до 5-ї доби, а між Контр та Інт групою у 2-у,

3-ю та 5-у добу спостереження (від $p < 0,05$ до $p < 0,001$). За дисперсійним аналізом ANOVA встановили такі значення F-критерію: у 1-у добу $F=29,6$ ($p < 0,0001$), у 2-у добу $F=21,6$ ($p < 0,0001$), у 3-ю добу $F=30,4$ ($p < 0,0001$), у 4-у добу $F=41,3$ ($p < 0,0001$), у 5-у добу $F=42,2$ ($p < 0,0001$).

Попарний міжгруповий аналіз з використанням критерію Тьюкі показав збільшення кількості вертикальних стійок у тварин з ВІТГМ у 1-у добу на 85% ($p < 0,0001$) порівняно з тваринами Контр групи й на 152% ($p < 0,0001$) порівняно з Інт щурами, у 2-у добу – на 47% ($p < 0,001$) менше порівняно з Контр щурами й на 93% ($p < 0,05$) більше порівняно з Інт тваринами.

В період 3-5-а доба ВРА у Експ щурів збільшувалось порівняно з Контр та Інт. Так, у 3-ю добу ВРА в Експ щурів було збільшеним в 4,1 раза ($p < 0,0001$) у порівнянні з Контр тваринами й на 44% ($p < 0,05$) порівняно з Інт щурами, у 4-у добу – в 4,7 раза ($p < 0,0001$) у порівнянні з Контр і також в 4,7 раза ($p < 0,0001$) порівняно з Інт, у 5-у добу – в 3,7 раза ($p < 0,0001$) порівняно з Контр і в 9,3 раза ($p < 0,0001$) у порівнянні з Інт тваринами. Подібні зміни вказують на високу тривожність у травмованих щурів, що тривала протягом 5-и днів спостереження.

Середня кількість актів повного грумінгу зменшилась в Експ тварин з 1 (0-1) од. до 0 (0-1) од., на 100% ($p > 0,05$) вже на 2-у добу і залишалась на цьому рівні до 5-ї доби. В той час, як у тварин Контр та Інт груп цей показник навпаки збільшувався. Так, у щурів Контр групи з 1-ї до 4-ї доби кількість повного грумінгу збільшилась з 0 (0-1) од. до 1 (0-1) од. ($p < 0,05$), а в групі Інт тварин подібні зміни відбулися на 4-у і 5-у добу ($p < 0,05$) (табл. 4.2).

Також було помічено, що у групі Контр тварин протягом 5-и діб спостереження кількість епізодів повних грумінгів змінювалася хвилеподібно з підвищенням у 2-гу добу до 2 (1-3) од. ($p < 0,05$) порівняно з 1-ю добою.

Слід зазначити, що кореляційний аналіз Спірмена показав слабку негативну залежність ($r=-0,32$, $p>0,05$) кількості актів повного грумінгу від доби посттравматичного періоду в Експ тварин.

Множинний міжгруповий аналіз із застосуванням непараметричного критерію Данна виявив статистично значущі відмінності показників Контр групи у 2-у добу, та відмінності Експ групи від Контр та Інт ($p<0,05$). Подальший розгляд отриманих даних щодо кількості актів повного грумінгу із застосуванням непараметричного дисперсійного аналізу Краскела-Уоліса показав, що Н-критерій змінювався у різні доби спостереження, зокрема, у 1-у добу $H=3,09$ ($p>0,05$), у 2-у добу $H=12,2$ ($p<0,01$), у 3-ю добу $H=3,0$ ($p>0,05$), у 4-у добу $H=9,9$ ($p<0,01$) та у 5-у добу $H=5,03$ ($p>0,05$).

В свою чергу, міжгруповий попарний аналіз показав стійке пригнічення цього вродженого рефлексу у більшості тварин Експ групи, починаючи з другої доби посттравматичного періоду, що було достовірно меншим за показники в Контр групі на 2-у добу ($p<0,01$) і 4-у добу ($p<0,05$), а порівняно з Інт групою – на 4-у добу спостереження ($p<0,05$). В інші терміни спостереження розбіжності в показниках між Експ групою та групами порівняння мали характер тенденції ($p>0,05$).

Кількість актів неповних грумінгів зменшилась у Експ щурів з 1-ї по 5-у добу з 2 (1-3) од. до 0,5 (0-1) од., на 75% при $p<0,05$. В Контр групі цей показник дещо підвищився у 2-у добу відносно 1-ї доби ($p>0,05$), а надалі був у межах вихідного рівня ($p>0,05$). Тварини Інт групи у 1-у добу не відтворювали неповний грумінг, в подальшому епізоди неповного грумінгу були поодинокими з медіаною $Me=0$ од., на 5-у добу – $Me=0,5$ од. при $p>0,05$ в динаміці.

Порівняння кількості епізодів неповних грумінгів, що виконували травмовані щури, із періодами перебігу ВІТГМ за допомогою кореляційного аналізу Спірмена показало наявність помітного негативного зв'язку ($r=-0,65$, $p<0,01$) із термінами посттравматичного періоду.

Подальше порівняння кількості актів неповного грумінгу між трьома групами із застосуванням непараметричного дисперсійного аналізу Краскела-Уоліса (Н-критерій) та критерію Данна продемонструвало статистично значущі відмінності у кількості неповного грумінгу між Експ, Контр та Інт групами у 1-у та 4-у добу спостереження в межах $p < 0,01$, $p < 0,05$. При цьому значення Н-критерію були наступними: у 1-у добу $H=13,8$ ($p < 0,001$), у 2-у добу $H=5,7$ ($p > 0,05$), у 3-ю добу $H=3,09$ ($p > 0,05$), у 4-у добу $H=10,6$ ($p < 0,01$), у 5-у добу $H=10,6$ ($p < 0,01$). Відмінностей між показниками Контр та Інт груп не встановили.

Кількість актів неповних грумінгів була вищою в Експ тварин порівняно з Контр та Інт тваринами протягом усього терміну дослідження. Проте, достовірні відмінності між показниками Експ групи та груп порівняння отримано на 1-у добу ($p < 0,001$) і 4-у добу ($p < 0,05$) спостереження (табл. 4.3).

Таблиця 4.3 - Тривалість актів неповного грумінгу в Ж-подібному лабіринті (Me (min-max))

Доба дослідження						
Показник	Група	1	2	3	4	5
Тривалість актів повного грумінгу (сек)	Експ	4,5 (3-5)	2,5 (2-3)	2,5 (2-3)	3,0 (2-4)	2,5 (2-3)
	Контр	4,5 ^Δ (3-5)	22,5* ^Δ (22-24)	1,0** (1-2)	1,0** (0-1)	1,0** (1-2)
	Інт	1,0* (0-1)	10,5* (9-11)	1,0** (1-2)	1,0** (0-1)	1,0* (0-1)
Тривалість актів неповного грумінгу (сек)	Експ	4,5 (3-5)	2,5 (2-3)	2,5 (2-3)	3,0 (2-4)	2,5 (2-3)
	Контр	4,5 ^Δ (3-5)	22,5* ^Δ (22-24)	1,0** (1-2)	1,0** (0-1)	1,0** (1-2)
	Інт	0* (0-0)	1,5* (1-2)	0,5* (0-1)	0* (0-1)	0* (0-1)

Примітки: 1. (сек) - секунди, 2. * - випадки достовірної ($p < 0,001$) різниці між групами Експ ($n=6$) та Інт ($n=6$), 3. ** - випадки достовірної ($p < 0,05$) різниці між групами Експ та Інт, 4. Δ - випадки достовірної ($p < 0,001$) різниці між групами Контр та Інт.

Такі зміни у реалізації вродженого рефлексу також свідчать про розвиток тривожності у тварин з ВІТГМ, в той час, як у Контр тварин встановлені зміни пов'язуємо із дією галотану, проте як Контр, так й Інт тварини показали високий рівень адаптації, харчової мотивації та гарні здібності до просторового навчання і пам'яті.

Тривалість повного грумінгу в групі Експ тварин у період з 1-ї до 5-ї доби зменшилась з 4,5 (3-5) од. до 2,5 (2-3) од., тобто на 44% при $p < 0,05$. За даними кореляційного аналізу тривалість активів повного грумінгу також мала помірний негативний зв'язок ($r = -0,42$, $p < 0,05$) із добою дослідження у щурів з ВІТГМ.

В щурів Контр групи спостерігали хвилеподібні зміни, що пов'язані з токсичною дією галотану, зокрема суттєве збільшення тривалості повного грумінгу у 2-у добу порівняно з 1-ю – з 4,5 (3-5) од. до 22,5 (22-24) од., тобто на 400% ($p < 0,01$), а надалі відбулося значне зменшення до 1,0 (1-2) од. у 5-у добу, що становило 78%, при $p < 0,01$ (табл. 4.3).

Всередині групи Інт щурів тривалість активів повного грумінгу змінювалась хвилеподібно, зі збільшенням показника з 1,0 (0-1) од. до 10,5 (9-11) од. у 2-гу добу ($p < 0,01$) і подальшим збереженням середньої тривалості активів повного грумінгу на рівні 1,0 (0-1) од., при $p > 0,05$ (табл. 4.3).

Порівняння показників тривалості повного грумінгу між трьома групами за допомогою непараметричних критерію Данна та дисперсійного аналізу Краскела-Уоліса (H-критерію) показало статистичну значущість у 1-у та 2-у добу між усіма групами у межах $p < 0,001$, $p < 0,01$. В період 3-5-а доба показники тварин Контр та Інт груп не мали відмінностей між собою, проте достовірно відрізнялись від показників Експ групи у межах $p < 0,001$, $p < 0,01$: у 1-у добу $H = 12,1$ ($p < 0,01$), у 2-у добу $H = 15,4$ ($p < 0,001$), у 3-ю добу $H = 10,6$ ($p < 0,01$), у 4-у добу $H = 10,6$ ($p < 0,01$) та у 5-у добу $H = 13,7$ ($p < 0,001$).

Попарний аналіз між групами Експ та Контр, Експ та Інт показав, що у 1-у добу дослідження тривалість активів повного грумінгу в щурів Експ групи

не відрізнялась від такої у Контр тварин, проте була довшою в 4,5 рази ($p < 0,01$) порівняно з Інт групою. У 2-у добу спостереження, цей показник у тварин Експ групи навпаки був менше за Контр на 89% ($p < 0,001$) й за Інт на 76% ($p < 0,001$). Надалі, спостерігали підвищення часу, що витрачали щури Експ групи на комфортний догляд за собою порівняно з тваринами Контр та Інт груп: у 2,5 рази ($p < 0,05$) більше на 3-ю добу, в 3 рази ($p < 0,05$) довше на 4-у добу та у 2,5 рази ($p < 0,05$) довше на 5-у добу спостереження (табл. 4.3).

Відповідно до кількості змінювалась й тривалість актів неповних грумінгів у щурів групи Експ. Так, відзначили загальне зменшення показників з 1-ї по 5-у добу в групі Експ з 30,5 (28-32) од. до 3,0 (2-4) од., що загалом становило 90% ($p < 0,01$). Помітний негативний зв'язок ($r = -0,59$, $p < 0,001$) за допомогою кореляційного аналізу Спірмена встановили між показниками тривалості неповного грумінгу та добою спостереження за щурами з ВІТГМ.

У групі Контр у цей період тривалість зменшилась з 3,0 (2-4) од. до 0,5 (0-1) од., тобто на 83% ($p < 0,01$). В щурів Інт групи цей показник змінювався хвилеподібно, а саме був відсутнім у 1-у добу, та вже з 2-ї доби зменшувався з 1,5 (1-2) од. до 0 (0-1) од., при $p < 0,01$ (табл. 4.3).

Міжгруповий попарний аналіз показав подовження тривалості неповного грумінгу в групі тварин з ВІТГМ у 1-у добу в 10 разів ($p < 0,01$) порівняно з Контр групою. Надалі також встановили значущі ($p < 0,01$, $p < 0,05$) відмінності цього показника між різними групами. Так, щури Експ групи у 2-гу добу довше у 2,3 рази ($p < 0,01$) і в 4,7 рази ($p < 0,01$) виконували цей тип рефлексу у порівнянні з Контр та Інт, відповідно. У 3-ю та 4-у добу різниця показників між групами була ще більшою ($p < 0,01$) (табл. 4.3). В 5-у добу Експ тварини все ще показували більшу тривалість неповного грумінгу як порівняно з Контр групою ($p < 0,05$), так й з Інт тваринами ($p < 0,01$). Тривалість повного та, особливо, неповного грумінгів у тварин Експ групи також підтверджують появу тривожності на тлі травми.

Аналіз зображень шляхів пересувань показав, що у 1-у добу навчання (рис. 4.13) щури Експ групи пересувались більш активно.



Примітка. Експ (n=6), Контр (n=6), Інт (n=6).

Рисунок 4.13 - Шлях пересування тварин в Ж-подібному лабіринті в 1-у добу.

При цьому тварини усіх груп не знали, що їх очікує їжа, але тварини Експ групи виконували одноманітні рухи, частіше заходили у бокові сектори, були схвильованими та наляканими через потрапляння у незвичний і складний лабіринт.

За аналізом кількості заходів в окремі сектори встановили, що у 1-у добу щури Експ групи частіше заходили у 1-й, 4-й, 5-й та 7-й сектор. Тварини Контр, а також щури Інт групи у 1-у добу частіше відвідували 1-й, 4-й, 5-й та 7-й сектор (табл. 4.4).

Таблиця 4.4 - Кількість заходів у сектори Ж-подібного лабіринту у 1-у добу (Me (min-max))

Група	1 сектор	2 сектор	3 сектор	4 сектор	5 сектор	6 сектор	7 сектор
Експ	2,5 (1-5)	0,5 (0-1)	0 (0-1)	2,0 (1-5)	1,0 (0-3)	0 (0-1)	2,5 (1-6)
Контр	1,5 (0-3)	1,0 (0-1)	1,0 (0-1)	3,0 (0-3)	2,0 (1-3)	0,5 (0-1)	2,0 (1-5)
Інт	1,0* (0-1)	0,5 (0-1)	0,5 (0-1)	1,0 (0-1)	1,0 (0-2)	0 (0-1)	1,0* (1-2)

Примітка. * - випадки достовірної ($p < 0,05$) різниці між Експ (n=6) та Контр (n=6), Експ та Інт (n=6) групами.

Множинне порівняння Експ, Контр та Інт груп за допомогою розрахунків непараметричного критерію Данна та дисперсійного аналізу Краскела-Уоліса (Н-критерій) показало наявність значущих відмінностей у кількості заходів у 1-у добу дослідження у 1-й сектор - $H=7,6$ ($p<0,05$), надалі встановили тенденції: у 2-й сектор $H=0,4$ ($p>0,05$), у 3-й сектор $H=3,0$ ($p>0,05$), у 4-й сектор $H=4,5$ ($p>0,05$), у 5-й сектор $H=4,5$ ($p>0,05$), у 6-й сектор $H=1,4$ ($p>0,05$) та у 7-й сектор $H=5,9$ ($p>0,05$).

Попарне міжгрупове порівняння показало, що у 1-у добу щури Експ групи частіше на 67% ($p>0,05$) у порівнянні з Контр і на 150% ($p<0,05$) у порівнянні з Інт заходили у 1-й сектор; на 50% ($p>0,05$) рідше за Контр й на однаковому рівні з Інт тваринами заходили у 2-й сектор ($p>0,05$), рідше на 33% ($p>0,05$) у порівнянні з Контр, але частіше на 100% ($p>0,05$) у порівнянні з Інт заходили у 4-й сектор.

Також щури з ВІТГМ дещо частіше за Контр ($p>0,05$) заходили у 7-й сектор, в той час, як порівняно з Інт тваринами різниця показників була статистично значущою (на 150%, $p<0,05$).

На 2-у добу дослідження спостерігали підвищену рухову активність у щурів Експ, Контр та Інт груп, які частіше заходили у 1-й, 4-й 5-й та 7-й сектори, при цьому візуально визначалось, що тварини Контр групи проявляли найвищу активність як у порівнянні з Експ, так й порівняно з Інт тваринами, що вочевидь є результатом токсичного впливу галотану.

Поряд із цим у щурів Експ групи висока рухливість пов'язана з вибухо-індукованою травмою, у відповідь на яку компенсаторні механізми приховують вплив галотану (рис. 4.14).



Примітка: Експ (n=6), Контр (n=6), Інт (n=6).

Рисунок 4.14 - Шлях пересування тварин в Ж-подібному лабіринті у 2-у добу.

Кількісний аналіз підтвердив високу активність щурів Контр групи, яку встановили за маршрутом пересування (табл. 4.5).

Таблиця 4.5 - Кількість заходів у сектори Ж-подібного лабіринту у 2-у добу (Me (min-max))

Група	1 сектор	2 сектор	3 сектор	4 сектор	5 сектор	6 сектор	7 сектор
Експ	2,5 (0-4)	1,0 (0-1)	1,0 (0-1)	1,5 [▲] (0-3)	1,5 (0-4)	0,5 (0-1)	2,0 [▲] (0-3)
Контр	4,0 (2-6)	1,0 (0-1)	1,0 (0-1)	4,0 (2-5)	3,5 (2-5)	0 (0-1)	4,0 (3-6)
Інт	0,5 [▲] (0-3)	0 (0-1)	0 (0-1)	0,5 [▲] (0-3)	0,5* (0-2)	0 (0-1)	1,0 [▲] (1-6)

Примітки: 1. * - випадки достовірної ($p < 0,01$) різниці між Експ (n=6) та Контр (n=6), Експ та Інт (n=6) групами, 2. [▲] - випадки достовірної ($p < 0,05$) різниці між Експ та Контр, Експ та Інт групами.

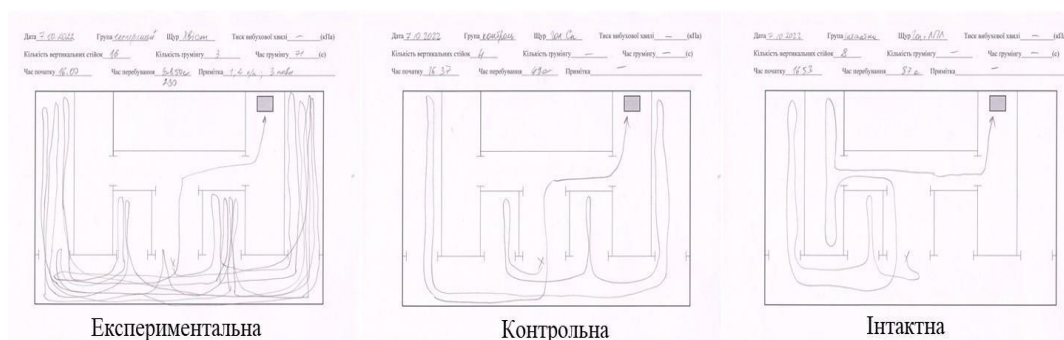
Вважаємо, що це пов'язано із токсичною дією галотану, хоча й в Експ групі щури, що також піддавались дії галотану, були менш активними у порівнянні з Контр тваринами, але активніше і стереотипно за Інт тварин досліджували лабіринт.

Із застосуванням непараметричного дисперсійного аналізу Краскела-Уоліса (H-критерій) та критерію Данна встановили статистично значущі

відмінності у кількості заходів у різні сектори між Експ, Контр та Інт групами у межах $p < 0,01$, $p < 0,05$ у 2-у добу спостереження та наступні значення Н-критерію: у 1-й сектор $H=8,5$ ($p < 0,05$), у 2-й сектор $H=3,09$ ($p > 0,05$), у 3-й сектор $H=3,8$ ($p > 0,05$), у 4-й сектор $H=9,8$ ($p < 0,01$), у 5-й сектор $H=9,3$ ($p < 0,01$), у 6-й сектор $H=0,4$ ($p > 0,05$) та у 7-й сектор $H=7,8$ ($p > 0,05$).

При цьому було встановлено достовірні відмінності між Контр та Інт групами у 1-у, 4-у і 7-у секторах, а між Експ і Контр групами – у 4-у і 7-у секторах ($p < 0,05$).

В 3-ю добу (рис. 4.15) встановлено чіткі ознаки порушення формування просторової пам'яті у щурів Експ за подовженням шляху до годівниці, водночас щури Контр групи відновлюють свій стан і пересуваються на рівні з Інт тваринами.



Примітка: Експ (n=6), Контр (n=6), Інт (n=6).

Рисунок 4.15 - Шлях пересування тварин в Ж-подібному лабіринті в 3-ю добу.

Водночас щури вже пам'ятали про харчове підкріплення, про що свідчило прийняття, рухи щурів чітко вказували на пошук їжі, але маршрут вони ще не запам'ятали.

У 3-ю добу спостереження щури Експ групи частіше заходили у 1-й, 4-й, 5-й та 7-й сектори (табл. 4.6).

Таблиця 4.6 - Кількість заходів у сектори Ж-подібного лабіринту у 3-ю добу (Me (min-max))

Група	1 сектор	2 сектор	3 сектор	4 сектор	5 сектор	6 сектор	7 сектор
Експ	1,0 (0-3)	0 (0-1)	0 (0-1)	1,5 (0-2)	0,5 (0-4)	0 (0-1)	1,0 (0-4)
Контр	0 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-1)	0,5 (0-1)	0 (0-1)	1,0 (0-7)
Інт	1,0 (0-3)	0 (0-1)	0 (0-1)	0,5 (0-2)	2,0 (0-3)	0 (0-1)	1,0 (0-4)

Примітка. Експ (n=6), Контр (n=6), Інт (n=6).

Щури Контр групи частіше заходили у 7-й сектор, а тварини Інт групи частіше заходили у 1-й, 5-й та 7-й сектори.

Міжгрупове множинне порівняння за критерієм Данна та аналізу Краскела-Уоліса (H-критерій) показало відсутність статистично значущих відмінностей між групами дослідження у жодному секторі, а критерій $H=3,4$ ($p>0,05$) при порівнянні результатів щурів, які заходили у 1-й сектор, $H=3,9$ ($p>0,05$) - у 4-й сектор, $H=2,04$ ($p>0,05$) - у 5-й сектор та $H=0,1$ ($p>0,05$) - у 7-й сектор.

В 4-у добу посттравматичного періоду шлях пошуку їжі скорочується у щурів всіх груп (рис. 4.16).



Примітка. Експ (n=6), Контр (n=6), Інт (n=6).

Рисунок 4.16 - Шлях пересування тварин в Ж-подібному лабіринті в 4-у добу.

В цей термін спостереження встановили, що щури Експ все ще не можуть більш чітко відтворити маршрут, знову обстежують 1-й, 4-й, 5-й, 6-й та 7-й сектори.

Тварини Контр групи частіше заходили у 1-й, 4-й та 5-й сектори, а Інт щури більше обстежували 3-й, 6-й та 7-й сектори (табл. 4.7).

Таблиця 4.7 - Кількість заходів у сектори Ж-подібного лабіринту у 4-у добу (Me (min-max))

Група	1 сектор	2 сектор	3 сектор	4 сектор	5 сектор	6 сектор	7 сектор
Експ	1,0 (1-3)	1,0 (0-1)	0,5 (0-2)	1,5 (0-2)	1,0 (0-3)	0,5 (0-6)	2,0 (1-3)
Контр	0,5 (0-2)	---	---	1 (0-1)	0,5 (0-2)	0 (0-1)	0* (0-2)
Інт	0* (0-1)	0 (0-1)	0,5 (0-1)	0* (0-1)	0 (0-1)	0,5 (0-1)	0,5* (0-1)

Примітка. * - випадки достовірної ($p < 0,05$) різниці між Експ ($n=6$) та Контр ($n=6$), Експ та Інт ($n=6$) групами.

Міжгрупове (Експ, Контр, Інт) порівняння із застосуванням непараметричного дисперсійного аналізу Краскела-Уоліса (H-критерій) показало наявність статистично значущих відмінностей між кількістю заходів у різні сектори Ж-подібного лабіринту, а саме: у 1-й сектор $H=8,0$ ($p < 0,05$), у 2-й сектор $H=5,7$ ($p > 0,05$), у 3-й сектор $H=4,2$ ($p > 0,05$), у 4-й сектор $H=7,0$ ($p < 0,05$), у 5-й сектор $H=2,09$ ($p > 0,05$), у 6-й сектор $H=1,9$ ($p > 0,05$) та у 7-й сектор $H=7,3$ ($p > 0,05$).

Попарне порівняння Експ та Інт груп показало, що кількість заходів Експ щурів була достовірно більшою ($p < 0,05$) у 1-й, 4-й і 7-й сектори. А у порівнянні з Контр щурами, кількість заходів, що виконували Експ групи, була достовірно більше лише у 7-й сектор.

На 5-у добу аналіз шляху пересування тварин показує, що щури з ВІТГМ все ще погано орієнтуються в лабіринті й навіть гірше, ніж у 3-ю та 4-

у добу, тобто здатність до навчання та просторова пам'ять порушена (рис. 4.17).



Примітка: Експ (n=6), Контр (n=6), Інт (n=6).

Рисунок 4.17 - Шлях пересування тварин в Ж-подібному лабіринті в 5-у добу.

Про це свідчить відновлення у Експ тварин одноманітного обстеження 1-о, 4-го, 5-о та 7-о секторів лабіринту (табл. 4.8).

Таблиця 4.8 - Кількість заходів у сектори Ж-подібного лабіринту у 5-у добу (Me (min-max))

Група	1 сектор	2 сектор	3 сектор	4 сектор	5 сектор	6 сектор	7 сектор
	2	3	4	5	6	7	8
Експ	1,5 (0-3)	1,0 (0-1)	1,0 (0-1)	1,0 (0-3)	1,5 (0-8)	0,5 (0-1)	1,0 (0-6)
Контр	1,0 (0-4)	0,5 (0-1)	0 (0-1)	1,0 (0-2)	1,0 (0-4)	1,0 (0-1)	0,5 (0-4)
Інт	---*	1,0 (0-1)	1,0 (0-1)	---*	0 (0-1)	1,0 (0-1)	---*

Примітка. * - випадки достовірної ($p < 0,05$) різниці між Експ (n=6) та Контр (n=6), Експ та Інт (n=6) групами.

Спостереження за поведінкою у 5-у добу посттравматичного періоду показало, що щури з ВІТГМ чітко пам'ятали про харчове підкріплення, тобто мали високу мотивацію якнайшвидше досягти мети, але так і не запам'ятали вірний маршрут. На відміну від Експ тварин, у цей же термін Контр тварини

частіше відвідували 1-й, 4-й, 5-й та 7-й сектори, а Інт тварини частіше відвідували 2-й, 3-й та 6-й сектори та швидко знаходили годівницю, попередньо впевнившись у безпеці обстановки.

При множинному порівнянні із застосуванням непараметричних критерію Данна та аналізу Краскела-Уоліса встановили відсутність відмінностей між Контр та Інт, а порівняння Експ, Контр та Інт показало, що Н-критерій при порівнянні кількості відвідувань 1-о сектору у 5-у добу становив 7,5 ($p < 0,05$), 2-о сектора $H = 2,09$ ($p > 0,05$), 3-о сектору $H = 3,8$ ($p > 0,05$), 4-о сектору $H = 7,8$ ($p < 0,05$), 5-о сектору $H = 4,3$ ($p < 0,05$), 6-о сектору $H = 0,4$ ($p > 0,05$) та 7-о сектору $H = 6,9$ ($p < 0,05$).

Також, встановлено, що щури Експ групи, при порівнянні з Інт тваринами достовірно частіше ($p < 0,05$) заходили у 1-й, 4-й та 7-й сектори. Порівняння з Контр тваринами показало тенденції до збільшення кількості відвідувань щурами Експ у 4-й, 5-й та 7-й сектори ($p > 0,05$).

4.3 Дослідження умовної реакції пасивного уникнення в щурів у динаміці розвитку експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку

Умовна реакція пасивного уникнення (УРПУ) використовується для вивчення мнестичних процесів у щурів. Тварини навчаються реагувати на негативні стимули шляхом впливу певних негативних дій на вроджені рефлекси. Найбільш застосованим фактором, що використовують для вироблення умовного рефлексу, є електричний струм, що при невеликій інтенсивності та без ушкодження тканин призводить до значного больового відчуття. В той самий час у тварин є можливість уникнути больового відчуття за рахунок переходу хоч і в освітлену камеру, проте без больової стимуляції. В результаті формуються умовно-рефлекторні зв'язки щодо негативного стимулу та можливості уникнути його [231].

Тому використання методу УРПУ є корисним для розуміння принципів навчання та асоціативної пам'яті у щурів, вивчення особливостей механізмів стресу та адаптації, в тому числі при травмах головного мозку.

Перед відтворенням модельного стану експериментальним щурам, тваринам усіх груп проводили навчання протягом 5-ти діб, в ході якого щурів по одному розміщували у світлій камері установки та при переході у темну камеру піддавали впливу електричного струму. В процесі навчання усі щури швидко запам'ятали про негативну ситуацію в темній камері, адже вже на 3-ю добу жоден щур не намагався сховатися, а залишався у світлій камері, що свідчило про вироблення пам'яті щодо негативної больової стимуляції (табл. 4.9).

Таблиця 4.9 - Показники латентного часу заходу у темну камеру при навчанні УРПУ (М, SD)

Період	Доба	Група		
		Експериментальна	Контрольна	Інтактна
Навчання (сек)	1	32,8	27,5	27,0
	2	2,7	2,5	2,5
	3	---	---	---
	4	---	---	---
	5	---	---	---

Примітка: Експ (n=6), Контр (n=6), Інт (n=6).

Множинне порівняння із визначенням критерію Данна та аналізом Краскела-Уоліса показало відсутність статистично значущих відмінностей між Експ, Контр та Інт групами ($p > 0,05$).

Дослідження у 1-у добу після моделювання ВІТГМ також показало відсутність заходів (табл. 4.10).

Таблиця 4.10 - Показники латентного часу заходу у темну камеру при дослідженні умовної реакції пасивного уникнення (M, SD)

Період	Доба	Група		
		Експериментальна	Контрольна	Інтактна
Латентний час (сек)	1	---	---	---
	3	16.2±15.3	5.0±5.8	4.7±5.3
	7	0.7±1.6	0.8±1.3	1.2±2.4
	14	0.7±1.6	0.5±1.2	0.8±1.3
	21	8.0±11.0	---	0.2±0.4
	28	7.5±6.2**	---	0.3±0.7

Примітки: 1. (сек) - секунди, 2. ** - випадки достовірної ($p<0,05$) різниці між групами Експ ($n=6$) та Контр ($n=6$), Експ та Інт ($n=6$).

А починаючи з 3-ї доби щури Експ групи почали заходити у темну камеру, проте на 7-у і на 14-у добу ЛЧ був на 96% ($p<0,05$) менше у порівнянні з 3-ю добою. У 21-у добу латентний час скорочувався на 51% ($p>0,05$), у 28-у добу на 54% ($p>0,05$) порівняно з показником латентного часу на 3-ю добу. За умов ВІТГМ у щурів спостерігали тенденцію до подовження латентного періоду на 3-ю та 21-у добу посттравматичного періоду.

Варто зауважити, що зміни ЛЧ не корелювали із терміном перебігу посттравматичного періоду ($r=0,22$, $p>0,05$), що встановили за допомогою кореляційного аналізу Спірмена.

Множинне порівняння трьох груп із застосуванням непараметричного критерію Данна виявив статистично значущі відмінності Експ групи від Контр та Інт ($p<0,05$) у 28-у добу. Подальший розгляд отриманих даних ЛЧ із застосуванням непараметричного дисперсійного аналізу Краскела-Уоліса (Н-критерію) показав, що у 1-у добу дослідження $H=0$ ($p>0,05$), у 3-ю добу $H=2,7$ ($p>0,05$), у 7-у добу $H=0,4$ ($p>0,05$), у 14-у добу $H=4,8$ ($p>0,05$) та у 28-у добу $H=7,7$ ($p<0,05$). Відмінності у латентному часі між Контр та Інт

групами не є достовірними, що свідчить про мінімальний вплив галотану на мозок в експерименті.

Попарний аналіз показав, що на 3-ю добу в Експ щурів ЛЧ був довше на 31% ($p>0,05$) порівняно з Контр тваринами та на 28% ($p>0,05$) у порівнянні з Інт щурами, що свідчить про погіршення пам'яті у тварин з ВІТГМ та тривожність, бажання сховатися за будь-яких умов. Теж саме відбувалось й у 21-у добу, про що свідчило підвищення тривалості латентного часу в Експ групі щурів на 100% ($p>0,05$) у порівнянні з Контр і на 79% ($p>0,05$) у порівнянні з Інт.

Значуще подовження ЛЧ входу в темну камеру спостерігалось лише на 28-у добу посттравматичного періоду між тваринами Експ та Контр груп на 100% ($p<0,05$), між тваринами Експ та Інт груп на 96% ($p<0,05$). Такі зміни свідчать про значне порушення пам'яті щодо негативного подразника в умовно безпечному місці, що прогресує на тлі вибухо-індукованої травми головного мозку.

Резюме

Отримані дані дослідження у лабіринті Барнса чітко вказують на порушення просторової пам'яті у травмованих щурів, на що вказувало подовження латентного часу на 39% ($p<0,0001$) у 1-у добу порівняно з показниками Інт тварин. Хоча у 28-у добу ЛЧ скоротився порівняно з 1-ю добою у Експ тварин, він все ще був суттєво тривалішим (на 53%, $p<0,0001$) порівняно з Інт тваринами. У 3-ю та 7-у добу посттравматичного періоду спостерігались максимальні значення даного показника, що ймовірно пов'язано з перебігом патобіохімічних реакцій. Тварини експериментальної групи обстежували більшу кількість «фальшивих» притулків, пересувались більш хаотично по майданчику лабіринту. Травмовані щури показали ознаки

високої тривожності й страху, про що свідчили високі показники часу завмирань з 3-ї до 28-ї доби.

Під час дослідження здатності до просторового навчання у Ж-подібному лабіринті встановили порушення цього процесу, на що вказує значуще хаотичне пересування по лабіринту та подовження латентного часу пошуку годівнички у експериментальних щурів, що навіть у 5-у добу навчання становило 5,2 раза ($p < 0,0001$) порівняно з Інт тваринами. При цьому Експ тварини добре запам'ятали про харчове підкріплення, проявляли високу орієнтовну-дослідницьку діяльність з порушенням грумінгової поведінки. Прогресивне порушення асоціативної пам'яті, стан якої оцінювали за умовною реакцією пасивного уникнення, установили у травмованих щурів у 3-ю та 21-у добу, проте статистично значущу відмінність від показників Контр та Інт виявили на 28-у добу.

Результати даного розділу опубліковані у наукових працях [347-349, 354-356, 361].

РОЗДІЛ 5

ДОСЛІДЖЕННЯ ЗМІН БІОМЕТАЛІВ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ТА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КРОВІ ЩУРІВ В ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ВИБУХО-ІНДУКОВАНОЇ ТРАВМИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Проведено попарні статистичні порівняння масових часток Cu, Fe, Zn у відсотках (ω) та співвідношень Cu/Fe, Cu/Zn, Zn/Fe у мозочку та передньому мозку щурів таких груп: експериментальної проти контрольної, експериментальної проти інтактної, контрольної проти інтактної. Також були проведені аналізи змін в середині кожної групи та множинні порівняння між Експ, Контр та Інт групами із застосуванням параметричних і непараметричних статистичних методів аналізу. Було встановлено, що галотан не мав впливу на гомеостаз біометалів, що досліджували.

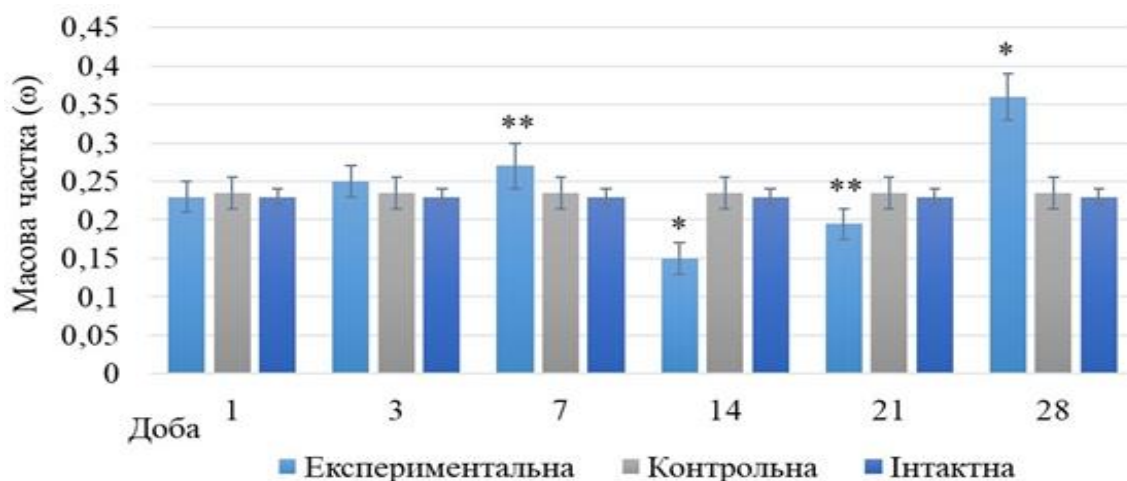
Визначення масової частки у відсотках (ω) дозволяє встановити зміни кожного біометалу, які можуть призводити до токсичного впливу або навпаки до їх недостатності, та встановити залежні від цього зміни функції головного мозку. Розрахунок співвідношення біометалів дозволяє виявити наявність дисбалансу взаємодії між ними, що є ознаками метаболічних порушень.

5.1 Кількісна характеристика біометалів у мозочку щурів в динаміці розвитку експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку

Дослідження масової частки у відсотках (ω) Cu у мозочку щурів показало загальне його збільшення з 1-ї до 28-ї доби у щурів з ВІТГМ з $0,23 \pm 0,02$ од. до $0,36 \pm 0,03$ од. (на 36%, $p < 0,01$). Хоча й встановили загальне збільшення цього показника у щурів Експ групи, проте ці зміни мали

хвилеподібний характер. Так, у 3-ю та 7-у добу зареєстрували поступове збільшення Cu на 8% ($p>0,05$) та 15% ($p<0,05$) відповідно, порівняно з 1-ю добою. В 14-у та 21-у добу масова частка у відсотках (ω) Cu у мозочку Експ щурів різко зменшилась на 55% ($p<0,05$) та на 15% ($p>0,05$) у порівнянні з 1-ї добою.

В той час, як у Контр тварин масова частка у відсотках (ω) Cu у мозочку була в межах $0,235\pm0,02$ од. ($p>0,05$) та у тварин Інт групи цей показник був у межах $0,23\pm0,01$ од. при $p>0,05$ (рис. 5.1).



Примітки: 1. Вертикальна шкала - масова частка (ω) Cu , 2. * - випадки достовірної ($p<0,001$) різниці між групами Експ ($n=42$) та Контр ($n=42$), Експ та Інт ($n=42$), 3. ** - випадки достовірної ($p<0,01$) різниці між групами Експ та Контр, Експ та Інт.

Рисунок 5.1 - Динаміка середніх показників (М, SD) масової частки у відсотках (ω) Cu у мозочку щурів.

При цьому кореляційний аналіз Спірмена не показав наявності залежності змін масової частки у відсотках (ω) Cu у мозочку травмованих щурів від доби дослідження ($r=0,12$, $p>0,05$).

Подальший множинний аналіз масової частки у відсотках (ω) Cu у мозочку щурів із застосуванням параметричних критерію Тьюкі та дисперсійного аналізу ANOVA (F-критерій) показав наступні статистичні відмінності між трьома групами: у 1-у добу $F=0,2$ ($p>0,05$), у 3-ю добу $F=2,6$

($p > 0,05$), у 7-у добу $F=6,2$ ($p < 0,01$), у 14-у добу $F=40,3$ ($p < 0,001$), у 21-у добу $F=8,4$ ($p < 0,01$), у 28-у добу $F=59,2$ ($p < 0,001$).

Водночас показники між Контр та Інт групами протягом всього періоду спостереження були статистично зіставними при $p > 0,05$ у всіх порівняннях за критерієм Тьюкі.

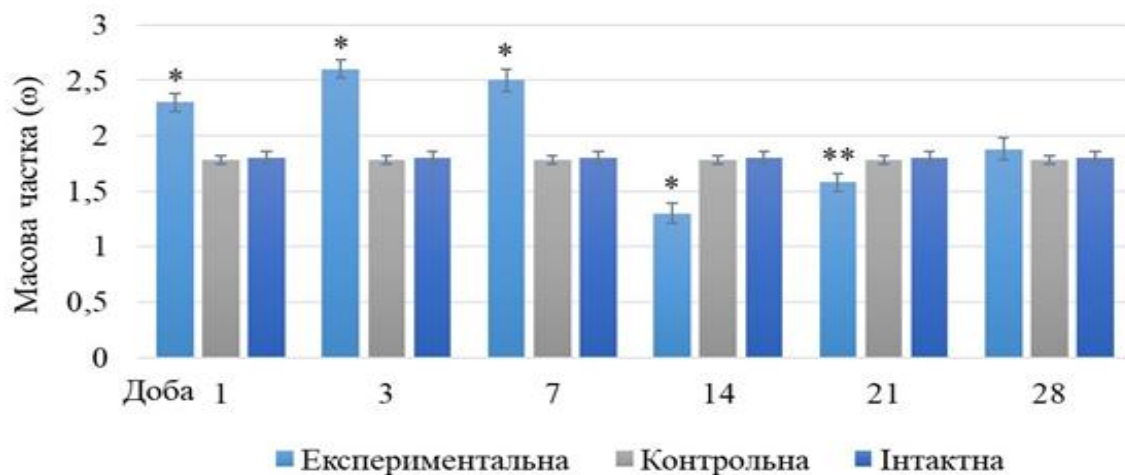
Попарне міжгрупове порівняння показало збільшення масової частки у відсотках (ω) Cu у мозочку щурів Експ групи у 3-ю та 7-у добу на 6% ($p > 0,05$) та 13% ($p < 0,01$) у порівнянні з Контр і на 8% ($p > 0,05$) та 15% ($p < 0,01$) порівняно з Інт тваринами у відповідні терміни. А вже у 14-у добу після моделювання ВІТГМ у щурів Експ групи масова частка (ω) Cu зменшилась на 36% ($p < 0,001$) у порівнянні з Контр і на 35% ($p < 0,001$) у порівнянні з щурами Інт групи.

На 21-у добу масова частка (ω) Cu зменшилась на 17% ($p < 0,01$) у порівнянні з Контр щурами і на 15% ($p < 0,01$) у порівнянні з Інт. На 28-у добу встановили максимальне збільшення масової частки у відсотках (ω) Cu у мозочку Експ тварин, що становило 35% ($p < 0,001$) у порівнянні з Контр і на 36% ($p < 0,001$) у порівнянні з Інт групою.

Таким чином, кількісний аналіз вказує на значні зміни з періодами зниження у 14-у та 21-у добу і збільшення у 7-у та 28-у добу, що, вочевидь, пов'язано з особливостями патобіохімічних змін у патогенезі ВІТГМ.

Аналіз масових часток Fe у відсотках (ω) у мозочку щурів Експ групи показав загальне зменшення з 1-ї до 28-ї доби з $2,3 \pm 0,08$ од. до $1,88 \pm 0,1$ од., тобто на 18% ($p < 0,01$). При цьому, у мозочку щурів Контр групи масова частка Fe у відсотках (ω) була на рівні $1,78 \pm 0,04$ од. ($p > 0,05$). Та у тварин Інт групи цей показник дорівнював $1,8 \pm 0,06$ од. при $p > 0,05$ (рис. 5.2).

При цьому встановлено негативну, значного ступеня кореляцію ($r = -0,58$, $p < 0,001$) між змінами масових часток Fe у відсотках (ω) у мозочку щурів Експ групи та добою посттравматичного періоду.



Примітки: 1. Вертикальна шкала - масова частка (ω) Fe, 2. * - випадки достовірної ($p<0,001$) різниці між групами Експ ($n=42$) та Контр ($n=42$), Експ та Інт ($n=42$), 3. ** - випадки достовірної ($p<0,01$) різниці між групами Експ та Контр, Експ та Інт.

Рисунок 5.2 - Динаміка середніх показників (М, SD) масової частки у відсотках (ω) Fe у мозочку щурів.

Порівняння масових часток Fe у відсотках (ω) у мозочку щурів трьох груп із застосуванням параметричних дисперсійного аналізу ANOVA (F-критерій) та критерію Тьюкі показало статистично значущі відмінності з 1-ї до 21-ї доби і відсутність зв'язків у 28-у добу, при цьому значення F-критерію були такими: у 1-у добу $F=113,5$ ($p<0,001$), у 3-ю добу $F=150,1$ ($p<0,001$), у 7-у добу $F=102,1$ ($p<0,001$), у 14-у добу $F=54,6$ ($p<0,001$), у 21-у добу $F=10,3$ ($p<0,001$) та у 28-у добу $F=1,2$ ($p>0,05$) та відсутність відмінностей між Контр та Інт групами (HSD Тьюкі).

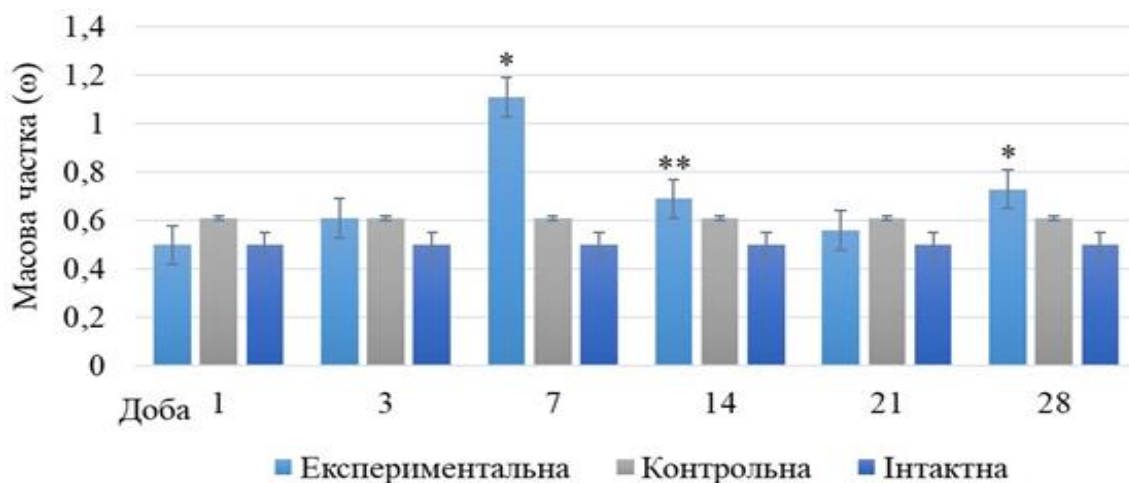
Міжгруповий попарний аналіз масових часток Fe у відсотках (ω) у мозочку тварин Експ та Контр, Експ та Інт груп показав збільшення цього показника в Експ групі у 1-у добу на 23% ($p<0,001$) у порівнянні з Контр групою і на 22% ($p<0,001$) у порівнянні з Інт групою.

На 3-ю добу цей показник збільшувався у щурів Експ групи на 32% ($p<0,001$) у порівнянні з Контр і на 31% ($p<0,001$) порівняно з частковою масою Fe у мозочку щурів Інт групи. На 7-у добу збільшення масової частки Fe у щурів з ВІТГМ порівняно з Контр становило 29% ($p<0,001$), а у порівнянні з Інт збільшення становило 28% ($p<0,001$).

На 14-у масова частка Fe (рис. 5.2) була максимально меншою у щурів Експ групи за весь період дослідження та на 73% ($p<0,001$) у порівнянні з Контр і на 72% ($p<0,001$) порівняно з Інт тваринами. За результатами, що отримали у 21-у добу між Експ та Контр і між Експ та Інт встановили, що масова частка Fe в Експ щурів була меншою на 11% ($p<0,01$) у порівнянні з Контр щурами і на 12% ($p<0,01$) порівняно з Інт групою (рис. 5.2).

А на 28-у добу цей показник у щурів Експ групи був в межах значень Контр і Інт тварин. Слід відзначити, що підвищення масових часток Fe у відсотках (ω) у мозочку тварин у 1-у добу посттравматичного періоду ймовірно пов'язано з порушенням ГЕБ і діapedезним виходом еритроцитів у тканину головного мозку (див. розділ 7), а подальше зменшення Fe вказує на компенсаторне його виведення або активне залучення до метаболічних процесів.

Аналіз масової частки у відсотках (ω) Zn у мозочку щурів Експ групи показав суттєві зміни у травмованих щурів (рис. 5.3).



Примітки: 1. Вертикальна шкала - масова частка (ω) Zn, 2. * - випадки достовірної ($p<0,001$) різниці між групами Експ ($n=42$) та Контр ($n=42$), Експ та Інт ($n=42$), 3. ** - випадки достовірної ($p<0,01$) між групами Експ та Контр, Експ та Інт.

Рисунок 5.3 - Динаміка середніх показників (М, SD) масової частки у відсотках (ω) Zn у мозочку щурів.

Так, у період з 1-ї до 28-ї доби дослідження встановили збільшення з $0,5 \pm 0,08$ од. до $0,73 \pm 0,01$ од. (на 32% при $p < 0,01$) у щурів Експ групи. При цьому, максимальне збільшення відбулось у 7-у добу (55%, $p < 0,01$). Цей показник у щурів Контр групи був у межах $0,61 \pm 0,01$ од. ($p > 0,05$), а в Інт групі - $0,5 \pm 0,05$ од. ($p > 0,05$) за весь термін спостереження.

Разом із цим, кореляційний аналіз Спірмена не виявив кореляційного зв'язку отриманих змін із періодом перебігу ВІТГМ ($r = -0,15$, $p > 0,05$).

Множинне міжгрупове порівняння із використанням параметричного критерію Тьюкі та аналізом ANOVA (F-критерій) виявило статистично значущі відмінності між Експ, Контр та Інт груп у такі періоди дослідження: у 1-у добу $F = 2,8$ ($p > 0,05$), у 3-ю добу $F = 0,5$ ($p > 0,05$), у 7-у добу $F = 192,6$ ($p < 0,001$), у 14-у добу $F = 8,1$ ($p < 0,01$), у 21-у добу $F = 2,8$ ($p > 0,05$) та у 28-у добу $F = 27,8$ ($p < 0,001$). Ці ж методи статистичного аналізу показали відсутність відмінностей між Контр та Інт групами.

В результаті проведення попарного порівняння встановили відмінності між показниками масової частки Zn у відсотках (ω) у мозочку щурів з ВІТГМ у 1-у добу на 19% ($p > 0,05$) порівняно з Контр і водночас не було різниці порівняно з Інт групою. А у 3-ю добу навпаки, цей показник у щурів Експ групи дорівнював такому в щурів Контр групи, проте був вище на 18% ($p > 0,05$) у порівнянні з тваринами Інт групи. Та вже на 7-у добу посттравматичного періоду встановили зміни масової частки Zn у відсотках (ω) у мозочку Експ щурів у вигляді підвищення на 45% ($p < 0,001$) порівняно з результатом щурів Контр групи і на 55% ($p < 0,001$) у порівнянні з щурами Інт групи, у 14-у добу на 12% ($p < 0,01$) у порівнянні з Контр тваринами і на 28% ($p < 0,01$) порівняно з показниками Інт групи, у 28-у добу на 16% ($p < 0,001$) порівняно з показником Контр тварин й на 32% ($p < 0,001$) у порівнянні з Інт щурами.

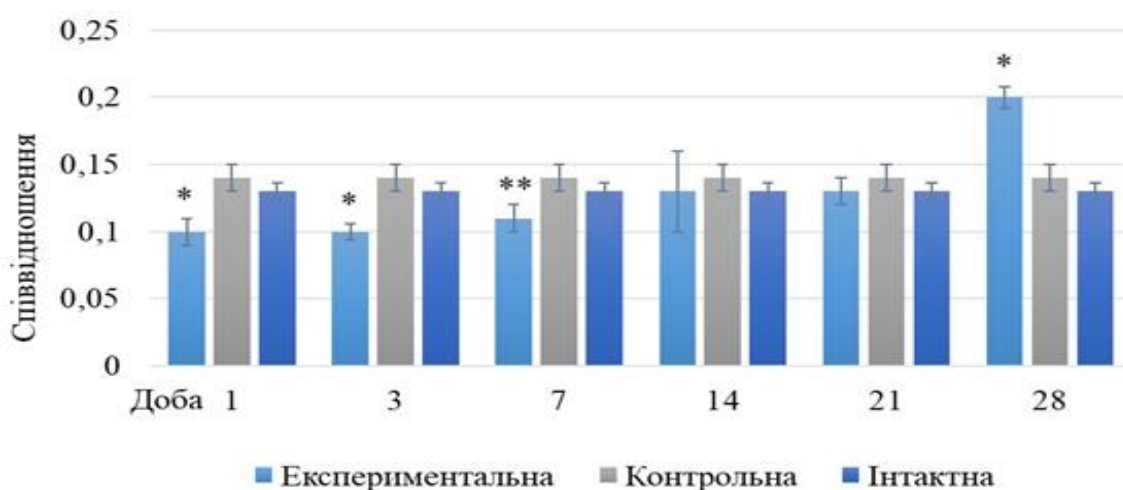
Хвилеподібні зміни масової частки Zn у відсотках (ω) у мозочку Експ щурів з суттєвим підвищенням у 14-у добу посттравматичного періоду

вказують на порушення його обміну у головному мозку, що залежать від особливостей патогенезу ВІТГМ.

Завдяки подальшому аналізу співвідношень біометалів встановили більшою мірою достовірні ознаки порушень їх взаємодії.

Порівняння показників співвідношення Cu/Fe у Експ тварин протягом усього періоду дослідження з 1-ї до 28-ї доби показало градієнтне збільшення з $0,1 \pm 0,01$ до $0,2 \pm 0,008$ од., тобто на 50% при $p < 0,01$.

Тоді, як у Контр тварин співвідношення Cu/Fe залишалось у межах $0,14 \pm 0,01$ од. ($p > 0,05$) та у Інт щурів у межах $0,13 \pm 0,006$ од. ($p > 0,05$) у весь період спостереження (рис. 5.4).



Примітки: 1. Вертикальна шкала - значення співвідношення Cu/Fe, 2. * - випадки достовірної ($p < 0,0001$) різниці між групами Експ ($n=42$) та Контр ($n=42$), Експ та Інт ($n=42$), 3. ** - випадки достовірної ($p < 0,001$) між групами Експ та Контр, Експ та Інт.

Рисунок 5.4 - Динаміка середніх показників (М, SD) співвідношення Cu/Fe у мозочку щурів.

Статистично значущу позитивну кореляцію сильного ступеня ($r=0,79$, $p < 0,01$) встановили між змінами співвідношення Cu/Fe у мозочку Експ щурів та добою посттравматичного періоду за допомогою аналізу Спірмена.

Порівняння між трьома групами із використанням параметричного критерію Тьюкі та аналізом ANOVA (F-критерій) показало статистично значущі відмінності міжгрупові відмінності у 1-у добу - $F=22,1$ ($p < 0,001$), у 3-

ю добу $F=36,8$ ($p<0,001$), у 7-у добу $F=13,01$ ($p<0,001$) та у 28-у добу $F=106,2$ ($p<0,001$), в той час, як у 14-у та 21-у добу ці зміни не мали значущих змін: у 14-у добу $F=0,6$ ($p>0,05$) та у 21-у добу $F=1,0$ ($p>0,05$). При цьому, такі ж методи статистичного аналізу показали відсутність відмінностей між Контр та Інт групами.

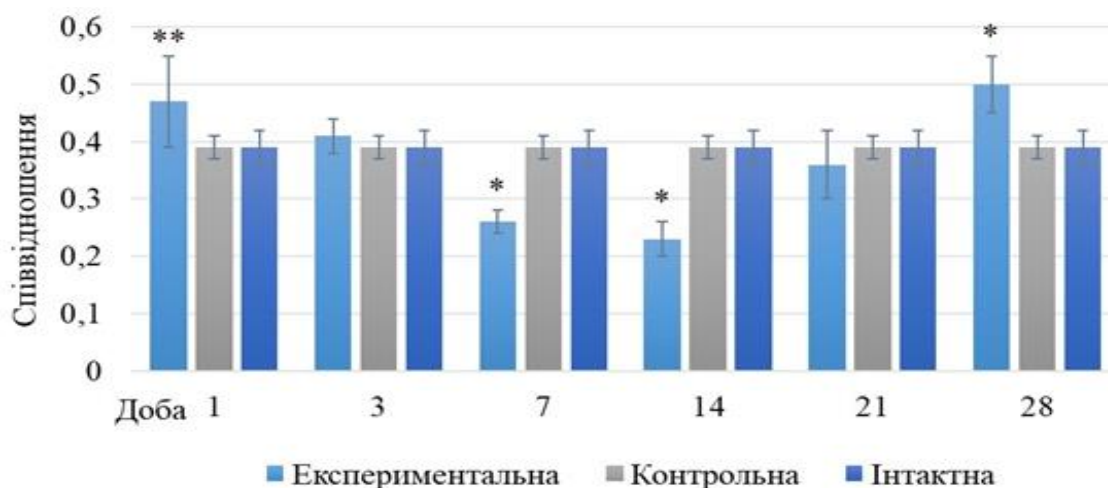
Попарне, між Експ та Контр, Експ та Інт групами, порівняння показників співвідношень Cu/Fe у мозочку щурів показало, що у тварин Експ групи відбулося зменшення у період 1-28-а доба, а у 28-у, навпаки, збільшення співвідношення Cu/Fe у мозочку щурів Експ групи у порівнянні з Контр та Інт групами. А саме, цей показник був менше у 1-у добу на 29% ($p<0,0001$) у порівнянні з Контр і на 23% ($p<0,0001$) у порівнянні з Інт, у 3-ю добу на 29% ($p<0,0001$) у порівнянні з Контр і на 23% ($p<0,0001$) у порівнянні з Інт.

Співвідношення Cu/Fe у мозочку Експ щурів у 7-у добу зменшився на 21% ($p<0,001$) порівняно з Контр тваринами і на 15% ($p<0,001$) у порівнянні з Інт щурами. На 14-у та 21-у добу посттравматичного періоду зменшення співвідношення Cu/Fe у мозочку Експ щурів становило 7% ($p<0,05$) та 6% ($p<0,05$) у порівнянні з Контр і 3% ($p>0,05$) та 2% ($p>0,05$) у порівнянні з Інт тваринами. У 28-у добу за допомогою міжгрупового аналізу встановили збільшення співвідношення Cu/Fe у мозочку Експ щурів на 30% ($p<0,0001$) у порівнянні з Контр щурами й на 33% ($p<0,0001$) у порівнянні з групою Інт тварин (рис. 5.4).

Таким чином, зростання співвідношення Cu/Fe у мозочку Експ щурів може вказувати на метаболічні зміни через порушення транспортування або використання цих біометалів [232, 250].

Оцінка показників співвідношень Cu/Zn у мозочку щурів Експ групи показав загальне збільшення з 1-ї до 28-ї доби спостереження з $0,47\pm0,08$ до $0,5\pm0,05$ од. (6%, $p>0,05$).

При цьому, зміни мали перемінний характер з максимальним зменшенням у 14-у добу до $0,23 \pm 0,03$ од., на 51% при $p < 0,01$. Водночас у щурів Контр групи співвідношення Cu/Zn утримувалось на рівні $0,39 \pm 0,02$ од. ($p > 0,05$) та у Інт тварин - $0,39 \pm 0,03$ од., $p > 0,05$ (рис. 5.5).



Примітки: 1. Вертикальна шкала - значення співвідношення Cu/Zn, 2. * - випадки достовірної ($p < 0,0001$) різниці між групами Експ ($n=42$) та Контр ($n=42$), Експ та Інт ($n=42$), 3. ** - випадки достовірної ($p < 0,05$) між групами Експ та Контр, Експ та Інт.

Рисунок 5.5 - Динаміка середніх показників (М, SD) співвідношення Cu/Zn у мозочку щурів.

Хоча, співвідношення Cu/Zn у щурів Експ групи сильно коливалися протягом усього періоду дослідження, кореляцій між ними та терміном посттравматичного періоду із застосуванням аналізу Спірмена не встановлено ($r=0,0$, $p > 0,05$).

Оцінка різниць у співвідношенні Cu/Zn у мозочку між трьома групами із застосуванням параметричних критерію Тьюкі та аналізом ANOVA (F =критерій) виявила статистично значущі відмінності у 1-у добу ($F=5,2$, $p < 0,05$), у 7-у добу ($F=56,8$, $p < 0,0001$), у 14-у добу ($F=68,1$, $p < 0,0001$) та у 28-у добу ($F=18,6$, $p < 0,0001$), а у 3-ю ($F=1,3$, $p > 0,05$) та 21-у ($F=0,9$, $p > 0,05$) добу статистично значущих відмінностей не було. Різниця між Контр та Інт групою не мала значущий характер за критерієм Тьюкі, що дозволило їх зіставляти.

Порівняння між групами Експ та Контр, Експ та Інт продемонструвало, що у 1-у добу відбулося підвищення співвідношення Cu/Zn у мозочку щурів Експ групи на 18% ($p < 0,05$) порівняно з цим показником у щурів Контр групи і на 17% ($p < 0,05$) порівняно з Інт групою. А на 3-ю добу збільшення становило лише 6% ($p > 0,05$) у порівнянні з Контр і на 5% ($p > 0,05$) порівняно з Інт групою.

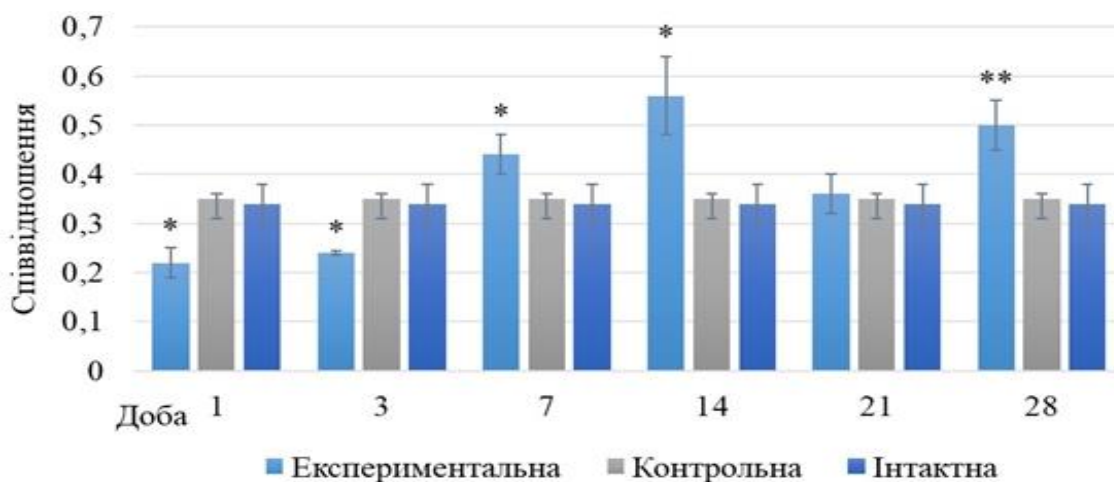
Та вже на 7-у добу в мозочку щурів з ВІТГМ співвідношення Cu/Zn різко зменшилось на 34% ($p < 0,0001$) у порівнянні з Контр групою і на 35% ($p < 0,0001$) у порівнянні з Інт групою тварин. В 14-у добу співвідношення Cu/Zn у мозочку Експ щурів також був меншим на 42% ($p < 0,0001$) у порівнянні з Експ тварин і на 43% ($p < 0,01$) порівняно з Інт тварин.

Порівняння у 21-у добу показало тенденцію до зменшення співвідношення Cu/Zn у мозочку тварин Експ групи на 7% ($p < 0,05$) ніж у Контр і на 8% ($p < 0,05$) ніж у Інт тварин. Та вже на 28-у добу посттравматичного періоду співвідношення Cu/Zn у мозочку щурів з ВІТГМ різко зросло - на 22% ($p < 0,01$) порівняно з Контр тваринами та на 21% ($p < 0,01$) у порівнянні з Інт тваринами (рис. 5.5).

Подібні зміни співвідношення Cu/Zn у мозочку травмованих щурів також свідчать про метаболічні порушення на тлі ВІТГМ [250, 251].

Наступний аналіз показників співвідношення Zn/Fe показав суттєві відмінності як в середині Експ групи, так і при порівняннях з Контр та Інт. Всередині Експ групи у період з 1-ї до 28-ї доби встановили збільшення співвідношення Zn/Fe у мозочку цих тварин з $0,22 \pm 0,03$ од. до $0,5 \pm 0,05$ од. (на 56%, $p < 0,01$).

При цьому показники співвідношення Zn/Fe у мозочку Контр щурів були на рівні $0,35 \pm 0,01$ од. ($p > 0,05$) та у Інт тварин цей показник був у межах $0,34 \pm 0,04$ од., $p > 0,05$ (рис. 5.6).



Примітки: 1. Вертикальна шкала - значення співвідношення Zn/Fe, 2. * - випадки достовірної ($p < 0,0001$) різниці між групами Експ ($n=42$) та Контр ($n=42$), Експ та Інт ($n=42$), 3. ** - випадки достовірної ($p < 0,01$) між групами Експ та Контр, Експ та Інт.

Рисунок 5.6 - Динаміка середніх показників (М, SD) співвідношення Zn/Fe у мозочку щурів.

За результатами проведеного кореляційного аналізу Спірмена встановили наявність статистично значущий позитивний зв'язок значного ступеня ($r=0,54$, $p < 0,0001$) між змінами співвідношення Zn/Fe у мозочку Експ тварин та динамікою перебігу посттравматичного періоду.

Групове зіставлення за допомогою параметричних критерію Тьюкі та аналізом ANOVA (F-критерій) встановило статистично вагомі зміни у показниках співвідношень Zn/Fe у мозочку тварин Експ, Контр та Інт груп у 1-у добу ($F=29,5$, $p < 0,0001$), у 3-ю добу ($F=36,0$, $p < 0,0001$), у 7-у добу ($F=18,8$, $p < 0,0001$), у 14-у добу ($F=36,3$, $p < 0,0001$) та у 28-у добу ($F=7,8$, $p < 0,01$), а у 21-у добу $F=0,6$ при $p > 0,05$.

При попарному аналізі встановили, що у 1-у та 3-ю добу співвідношення Zn/Fe у мозочку Експ щурів зменшилося на 36% ($p < 0,01$) та 32% ($p < 0,01$) порівняно з Контр і на 35% ($p < 0,01$) та 31% ($p < 0,01$) у порівнянні з Інт тваринами відповідно. У період 7-14-а доба встановили збільшення співвідношення Zn/Fe у мозочку щурів Експ у порівнянні з Контр на 22-38% ($p < 0,01$) та у порівнянні з Інт на 23-39% ($p < 0,01$). На 21-у добу значення співвідношення Zn/Fe у мозочку щурів з ВІТГМ відрізнявся від

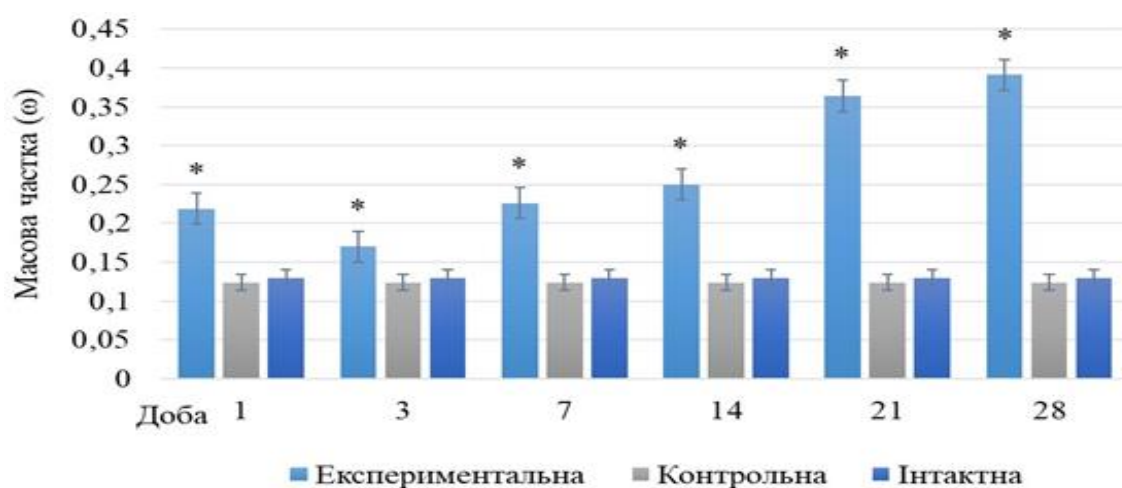
показників Контр та Інт груп в межах 7-8% ($p>0,05$). На 28-у добу відбулося збільшення співвідношення Zn/Fe у мозочку щурів Експ групи у порівнянні з Контр - 13% ($p<0,01$), з Інт - 14% ($p<0,01$).

Подібні зміни співвідношення Zn/Fe у мозочку щурів Експ групи також свідчать про метаболічні порушення після впливу ВХ.

Загалом, отримані порушення гомеостазу Cu, Fe та Zn характерні для оксидативного стресу та запалення у головному мозку і є як тригерами цих патологічних процесів, так і їх біологічними маркерами [252 - 254].

5.2 Кількісна характеристика біометалів у передньому мозку в динаміці розвитку експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку

Аналіз масових часток Cu у відсотках (ω) у передньому мозку щурів Експ групи загалом у період з 1-ї до 28-ї доби збільшився з $0,219\pm0,02$ од. до $0,391\pm0,02$ од., на 44% при $p<0,01$ (рис. 5.7).



Примітки: 1. Вертикальна шкала - масова частка (ω) Cu, 2. * - випадки достовірної ($p<0,0001$) різниці між групами Експ ($n=42$) та Контр ($n=42$), Експ та Інт ($n=42$).

Рисунок 5.7 - Динаміка середніх показників (М, SD) масової частки у відсотках (ω) Cu у передньому мозку щурів.

Разом з тим, у передньому мозку тварин Контр групи масова частка Cu у відсотках (ω) перебувало у межах $0,124 \pm 0,01$ од. ($p > 0,05$) та у Інт тварин цей показник був на рівні $0,13 \pm 0,01$ од., при $p > 0,05$

Зіставлення даних при кореляційному аналізі Спірмена підкреслило наявність сильного позитивного зв'язку ($r = 0,84$, $p < 0,001$) між змінами масової частки у відсотках (ω) Cu у передньому мозку Експ щурів та добою посттравматичного періоду.

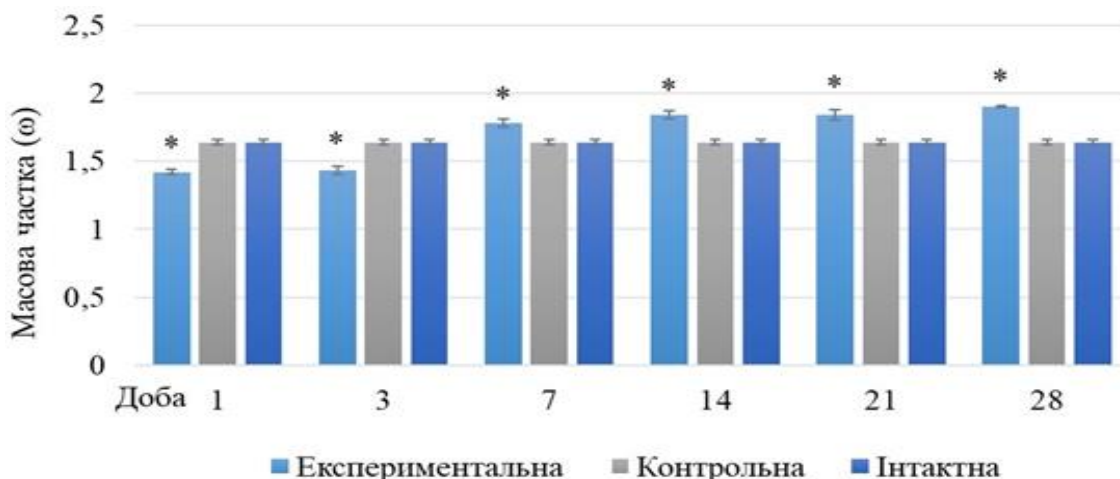
Порівняння між трьома групами послуговуючись параметричними критерієм Тьюкі та дисперсійним аналізом ANOVA (F-критерій) показало наявність статистично високо значущих відмінностей показників масової частки у відсотках (ω) Cu у передньому мозку Експ тварин, а саме: у 1-у добу $F = 85,3$ ($p < 0,0001$), у 3-ю добу $F = 20,8$ ($p < 0,0001$), у 7-у добу $F = 91,6$ 8 ($p < 0,0001$), у 14-у добу $F = 118,4$ ($p < 0,0001$), у 21-у добу $F = 553,3$ ($p < 0,0001$), у 28-у добу $F = 521,7$ ($p < 0,0001$). При цьому, відмінності між Контр та Інт групами були не значущими ($p > 0,05$), тобто статистично зіставними у всіх порівняннях за критерієм Тьюкі.

Аналіз відмінностей між Експ та Контр, Експ та Інт показало, що у 1-у добу відбулося підвищення масової частки (ω) Cu у передньому мозку щурів Експ групи на 43% ($p < 0,0001$) порівняно з Контр тваринами та на 41% ($p < 0,0001$) порівняно з Інт щурами. В 3-ю добу цей показник у щурів Експ збільшився на 27-41% ($p < 0,0001$) у порівнянні з Контр та Інт відповідно. На 7-у добу дослідження встановили збільшення на 45% ($p < 0,0001$) при порівнянні Експ з Контр і на 43% ($p < 0,0001$) порівняно з Інт. Слід зазначити, що починаючи з 14-ї доби встановили ще більше підвищення масової частки (ω) Cu у передньому мозку щурів Експ групи, яке становило 50% ($p < 0,0001$) у порівнянні з Контр і на 48% ($p < 0,0001$) у порівнянні з Інт. Надалі, у 21-у добу збільшення Cu у передньому мозку Експ щурів становило 66% ($p < 0,0001$) порівняно з Контр і 64% ($p < 0,0001$) порівняно з Інт, а на 28-у добу

цей показник був вище на 68% ($p<0,0001$) у порівнянні з Контр і на 67% ($p<0,0001$) порівняно з Інт (рис. 5.7).

Вважаємо, що подібні зміни вказують на значні метаболічні порушення у нейронах переднього мозку, що прогресують у динаміці розвитку ВІТГМ.

Також встановили вагомі зміни масової частки (ω) Fe (рис. 5.8).



Примітки: 1. Вертикальна шкала - масова частка (ω) Fe, 2. * - випадки достовірної ($p<0,0001$) різниці між групами Експ ($n=42$) та Контр ($n=42$), Експ та Інт ($n=42$).

Рисунок 5.8 - Динаміка середніх показників (М, SD) масової частки у відсотках (ω) Fe у передньому мозку щурів.

У результаті впливу ВХ на головний мозок відбулось збільшення масової частки Fe у відсотках (ω) у передньому мозку щурів Експ групи з 1-ї до 28-ї доби посттравматичного періоду з $1,4\pm0,02$ од. до $1,9\pm0,01$ од., на 26% при $p<0,01$.

Натомість у Контр щурів масова частка Fe у відсотках (ω) у передньому мозку утримувалась у значенні $1,64\pm0,02$ од. ($p>0,05$), такі ж значення були й у Інт тварин ($1,64\pm0,02$ од., $p>0,05$).

Кореляційний аналіз Спірмена встановив сильний позитивний зв'язок $r=0,85$, $p<0,001$) між змінами масової частки Fe у відсотках (ω) у передньому мозку травмованих щурів та добою періоду дослідження.

Міжгрупове зіставлення масових часток Fe у відсотках (ω) у передньому мозку щурів Експ, Контр та Інт груп при використанні параметричних дисперсійного аналізу ANOVA (F-критерій) та критерію Тьюкі показало значні статистичні відмінності, зокрема у 1-у добу $F=310,8$ ($p<0,0001$), у 3-ю добу $F=203,6$ ($p<0,001$), у 7-у добу $F=55,4$ ($p<0,001$), у 14-у добу $F=108,0$ ($p<0,001$), у 21-у добу $F=72,5$ ($p<0,001$) та у 28-у добу $F=27,0$ ($p<0,001$). Одночасно, наявність відмінностей між Контр та Інт групами за критерієм Тьюкі не встановили ($p>0,05$), що надало можливість зіставляти результати цих груп.

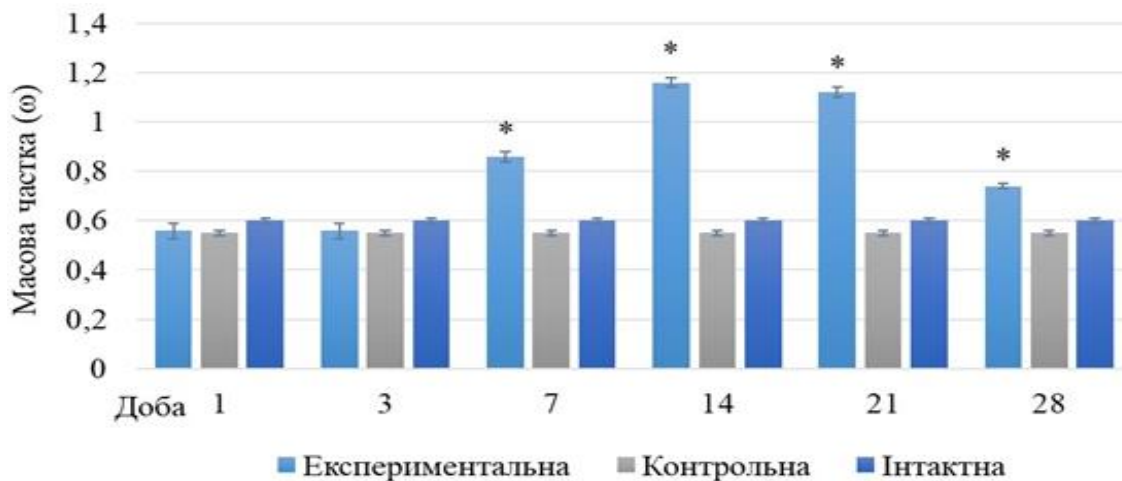
Окрім цього, попарне міжгрупове порівняння встановило, що масова частка Fe у відсотках (ω) у передньому мозку тварин Експ групи була меншою у 1-у добу на 13% ($p<0,0001$) порівняно з Контр тваринами і, так само, зменшилась на 13% ($p<0,0001$) у порівнянні з Інт тваринами. Також, у 3-ю масова частка Fe у відсотках (ω) у передньому мозку тварин Експ групи була меншою на 13% ($p<0,0001$) від показників тварин Контр групи й на 13% ($p<0,0001$) порівняно з Інт групою, між якими, власне, не було різниці.

В період 7-21-а доба встановили збільшення масової частки Fe у передньому мозку щурів Експ групи: у 7-у добу на 8% ($p<0,0001$) порівняно з Контр та на 8% ($p<0,0001$) у порівнянні з Інт, у 14-у добу на 11% ($p<0,0001$) порівняно з Контр й на 11% ($p<0,0001$) у порівнянні з Інт, у 21-у добу також на 11% ($p<0,0001$) у порівнянні з Контр й на 11% ($p<0,0001$) порівняно з Інт тваринами. У 28-у добу цей показник у щурів Експ групи був вище на 14% ($p<0,0001$) порівняно з Контр тваринами й, так само, на 14% ($p<0,0001$) у порівнянні з Інт щурами (рис. 5.8).

Такі зміни масової частки Fe у відсотках (ω) у передньому мозку тварин з ВІТГМ, подібно й попереднім змінам у мозочку, вказують на тривалі метаболічні зміни після впливу ВХ,

При дослідженні масової частки у відсотках (ω) Zn у передньому мозку щурів Експ групи встановлено патологічне підвищення цього біометалу з 1-ї

до 28-ї доби у межах $0,56 \pm 0,03$ - $0,74 \pm 0,01$ од., що загалом становило 24% при $p < 0,01$ (рис. 5.9).



Примітки: 1. Вертикальна шкала - масова частка (ω) Zn, 2. * - випадки достовірної ($p < 0,001$) різниці між групами Експ ($n=42$) та Контр ($n=42$), Експ та Інт ($n=42$).

Рисунок 5.9 - Динаміка середніх показників (M, SD) масової частки у відсотках (ω) Zn у передньому мозку щурів.

Ці зміни мали перемінний характер у динаміці посттравматичного періоду. В 1-у та 3-ю добу масова частка у відсотках (ω) Zn у передньому мозку щурів Експ групи була на одному рівні, а у 14-у добу це значення досягло максимального значення, та надалі градієнтно зменшувалась.

В той самий час масова частка у відсотках (ω) Zn у передньому мозку щурів Контр групи була у межах $0,55 \pm 0,01$ од. ($p > 0,05$) та у тварин Інт групи - на рівні $0,6 \pm 0,01$ од. при $p > 0,05$.

При цьому, кореляційний аналіз Спірмена виявив значний позитивний кореляційний зв'язок ($r=0,57$, $p < 0,001$) отриманих змін масової частки Zn у передньому мозку щурів Експ із періодом перебігу ВІТГМ.

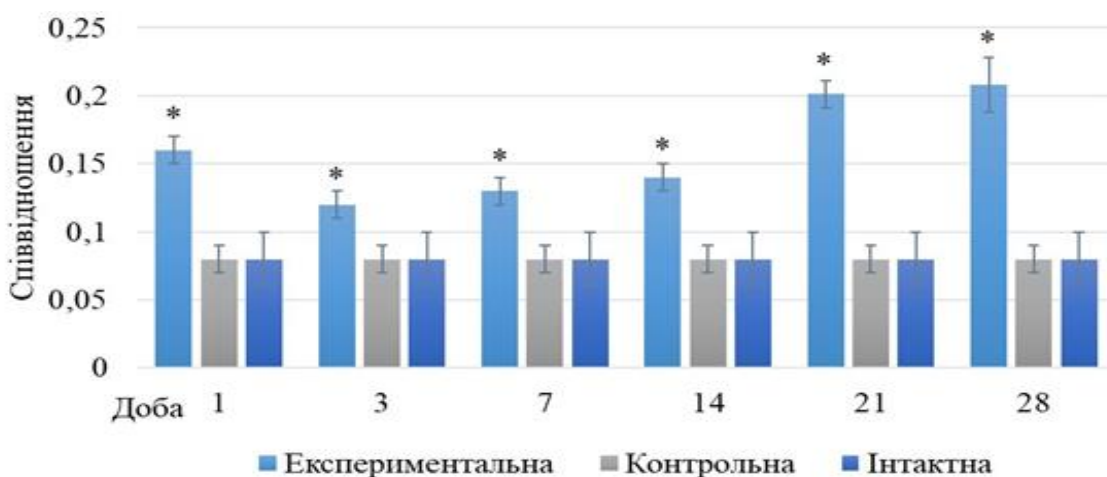
Аналіз відмінностей між трьома групами (Експ, Контр та Інт) із використанням параметричних аналізів ANOVA (F-критерій) та критерію Тьюкі показав наявність статистично значущої різниці з 7-ї доби спостереження ($F=583,5$, $p < 0,001$) у 14-у добу $F=2201,7$ ($p < 0,001$), у 21-у добу

$F=2745,0$ ($p<0,001$), у 28-у добу $F=287,1$ ($p<0,001$), а у 1-у добу $F=6,2$ ($p>0,05$) та у 3-ю добу $F=8,8$ ($p>0,05$).

Міжгруповий попарний аналіз показав відмінності між Експ та Контр і Експ та Інт групами з 7-ї доби. Так, масова частка (ω) Zn у передньому мозку щурів Експ групи була вище на 36% ($p<0,05$) у порівнянні з Контр та на 30% ($p<0,001$) порівняно з Інт групою тварин. В 14-у добу цей показник у Експ щурів збільшився на 53% ($p<0,001$) та на 48% ($p<0,001$) у порівнянні з Контр та Інт групами відповідно. Значення Zn у передньому мозку у 21-у та у 28-у добу збільшувались у щурів Експ групи на 51% ($p<0,001$) та на 26% ($p<0,001$) порівняно з Контр тваринами і на 46% ($p<0,001$) та на 19% ($p<0,001$) у порівнянні з Інт щурами відповідно.

Встановлені зміни масової частки (ω) Zn показали сильне порушення метаболізму у нейронах переднього мозку Експ тварин з 1-о тижня посттравматичного періоду.

Подальший аналіз співвідношення Cu/Fe у передньому мозку показав підвищення цього показника з 1-ї до 28-ї доби у щурів Експ групи з $0,16\pm0,01$ од. до $0,208\pm0,02$ од., тобто на 23% при $p<0,01$ (рис. 5.10).



Примітки: 1. Вертикальна шкала - значення співвідношення Cu/Fe, 2. * - випадки достовірної ($p<0,001$) різниці між групами Експ ($n=42$) та Контр ($n=42$), Експ та Інт ($n=42$).

Рисунок 5.10 - Динаміка середніх показників (M, SD) співвідношення Cu/Fe у передньому мозку щурів.

В цей же період співвідношення Cu/Fe у передньому мозку щурів Контр групи було у межах $0,08 \pm 0,01$ од. ($p > 0,05$) й у Інт щурів на такому ж рівні ($0,08 \pm 0,01$ од. од., $p > 0,05$).

За допомогою аналізу Спірмена встановили статистично значущу позитивну кореляцію сильного ступеня ($r = 0,61$, $p < 0,001$) між змінами співвідношення Cu/Fe у передньому мозку Експ щурів та добою посттравматичного періоду.

Порівняння трьох груп із використанням параметричного критерію Тьюкі та аналізом ANOVA (F-критерій) показало значні достовірні відмінності між значеннями співвідношення Cu/Fe у передньому мозку тварин протягом усього періоду дослідження. Так, у 1-у добу F-критерій дорівнював 137,1 при $p < 0,001$, у 3-ю добу $F = 34,3$ ($p < 0,001$), у 7-у добу $F = 54,0$ ($p < 0,001$), у 14-у добу $F = 90,0$ ($p < 0,001$), у 21-у добу $F = 263,8$ ($p < 0,001$), у 28-у добу $F = 216,4$ ($p < 0,001$). Водночас ці ж методи статистичного аналізу показали відсутність відмінностей ($p > 0,05$) між Контр та Інт групами. Між Контр та Інт не виявлено жодного випадку значущих відмінностей за критерієм Тьюкі ($p > 0,05$).

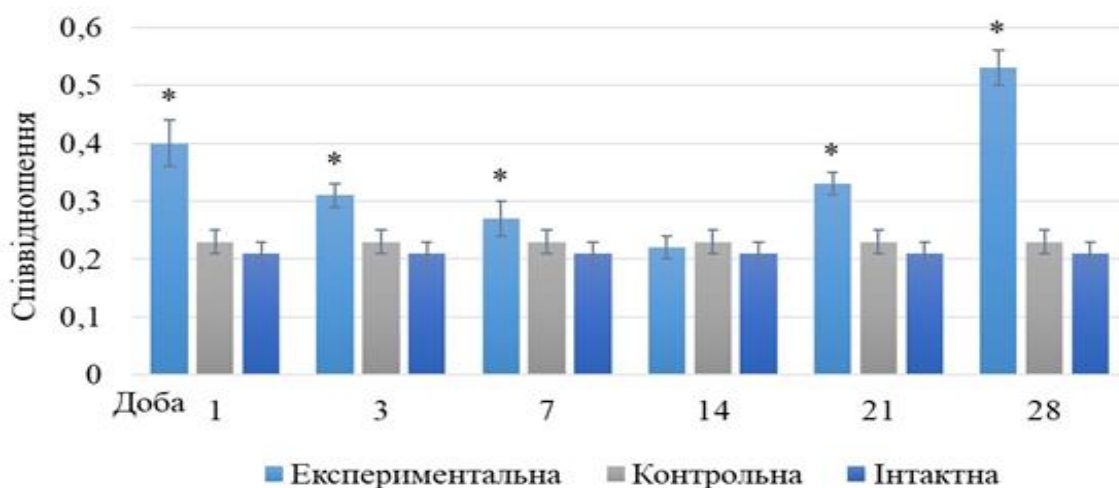
Порівняння між Експ та Контр й Експ та Інт групами показало, що вже у 1-у добу співвідношення Cu/Fe у передньому мозку щурів Експ групи було вище на 51% ($p < 0,001$), у 3-ю добу на 39% ($p < 0,001$), у 7-у добу на 36% ($p < 0,001$), у 14-у добу на 42% ($p < 0,001$) у порівнянні з показником тварин Контр групи й так само було вище на 51% ($p < 0,001$), у 3-ю добу на 39% ($p < 0,001$), у 7-у добу на 36% ($p < 0,001$), у 14-у добу на 42% ($p < 0,001$) у порівнянні з показниками щурів Інт групи.

Максимальне збільшення співвідношення Cu/Fe у передньому мозку Експ щурів визначили у 21-у та 28-у добу - на 60% ($p < 0,001$) та 62% ($p < 0,001$) порівняно з результатом у щурів Контр групи й такі ж зміни встановили у 21-у та 28-у добу - на 60% ($p < 0,001$) та 62% ($p < 0,001$) у порівнянні з показником Інт групи.

Встановлені нами зміни співвідношення Cu/Fe у передньому мозку щурів Експ групи також вказують на значні порушення метаболічних процесів у передньому мозку на тлі вибухо-індукованої травми, що прогресували з 21-ї доби посттравматичного періоду.

Поряд з цим, аналіз співвідношення Cu/Zn у передньому мозку щурів Експ групи показав збільшення у період з 1-ї до 28-ї доби з $0,4 \pm 0,04$ од. до $0,53 \pm 0,03$ од., на 25% ($p < 0,01$). Проте, ці зміни мали різноспрямований характер, з максимальним зменшенням у 14-у добу та найвищим збільшенням у 28-у добу. Вочевидь такі хвилеподібні зміни свідчать про перебіг патобіохімічних процесів, що більшою мірою залежать від балансу Cu.

Також, у цей період показники співвідношення Cu/Zn у передньому мозку Контр щурів відповідали рівню $0,23 \pm 0,02$ од. ($p > 0,05$) та у Інт тварин цей показник був у межах $0,21 \pm 0,02$ од., при $p > 0,05$, що також були співставними (рис. 5.11).



Примітки: 1. Вертикальна шкала - значення співвідношення Cu/Zn, 2. * - випадки достовірної ($p < 0,0001$) різниці між групами Експ ($n=42$) та Контр ($n=42$), Експ та Інт ($n=42$).

Рисунок 5.11 - Динаміка середніх показників (M, SD) співвідношення Cu/Zn у передньому мозку щурів.

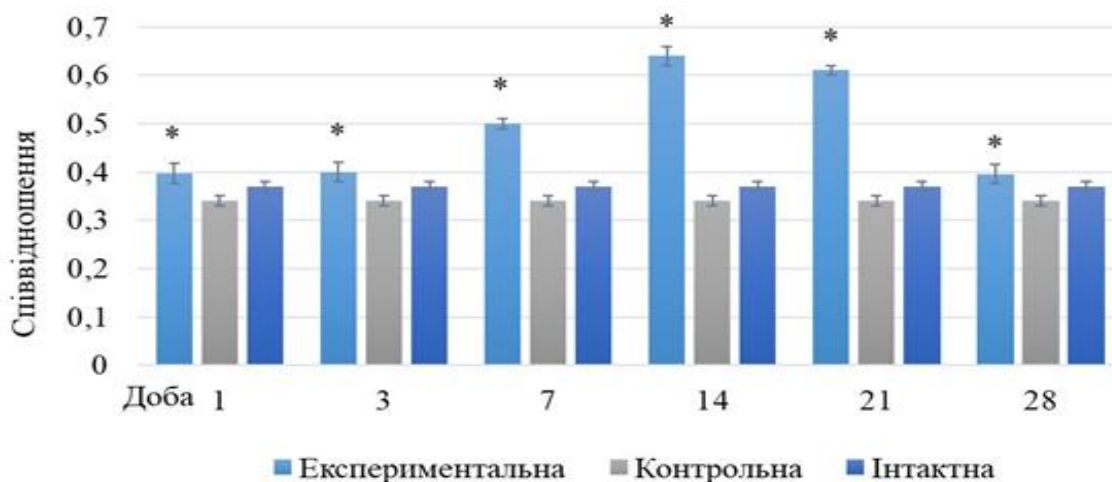
Завдяки аналізу Спірмена кореляційного зв'язку між співвідношенням Cu/Zn у передньому мозку Експ тварин та терміном посттравматичного періоду не встановили ($r=0,19$, $p>0,05$).

Множинне порівняння трьох груп із залученням параметричного аналізу ANOVA (F-критерій) та критерію Тьюкі показало наявність статистично значущих відмінностей між ними у 1-у добу ($F=60,8$, $p<0,001$), у 3-ю добу ($F=31,9$, $p<0,001$), у 7-у добу ($F=9,6$, $p<0,001$), у 21-у добу ($F=54,1$, $p<0,001$), у 28-у добу ($F=275,9$, $p<0,001$), а у 14-у добу не виявили значущих відмінностей ($F=0,7$, $p>0,05$). Одночасно, ці ж методи статистичного аналізу показали відсутність відмінностей ($p>0,05$) між Контр та Інт групами.

Міжгруповий аналіз показав, що співвідношення Cu/Zn у передньому мозку щурів з ВІТГМ у 1-у добу спостереження був більше на 56% ($p<0,01$) у порівнянні з Контр групою і на 46% ($p<0,01$) у порівнянні з Інт тваринами. В 3-ю добу цей показник у Експ щурів був вище на 26% ($p<0,01$) порівняно з Контр та на 32% ($p<0,01$) порівняно з Інт, а у 7-у добу на 15% ($p<0,01$) у порівнянні з Контр та на 19% ($p<0,01$) у порівнянні з Інт тваринами. В 14-у добу співвідношення Cu/Zn не відрізнялось між усіма групами. А вже у 21-у добу співвідношення Cu/Zn у передньому мозку щурів з ВІТГМ було вище на 30% ($p<0,05$) у порівнянні з тваринами Контр групи та на 37% ($p<0,05$) порівняно з Інт групою. І у 28-у добу дослідження встановили максимальне збільшення співвідношення Cu/Zn у щурів Експ групи на 57% ($p<0,01$) порівняно з Контр щурами та на 60% ($p<0,01$) у порівнянні з Інт тваринами.

Отримані результати вказують на те, що метаболічні порушення у передньому мозку щурів з ВІТГМ були протягом усього періоду дослідження, проте у 1-у та 28-у добу встановили максимальні зміни. вважаємо, що у 1-у добу погіршення метаболізму нейронів пов'язано з первинним ушкодженням ВХ, а у 28-у добу відбулась декомпенсація.

В свою чергу, співвідношення Zn/Fe у передньому мозку Експ щурів не змінився з 1-ї до 21-ї доби і був у межах $0,397 \pm 0,02 - 0,395 \pm 0,02$ од., при $p > 0,05$ (рис. 5.12).



Примітки: 1. Вертикальна шкала - значення співвідношення Zn/Fe, 2. * - випадки достовірної ($p < 0,001$) різниці між групами Експ ($n=42$) та Контр ($n=42$), Експ та Інт ($n=42$).

Рисунок 5.12 - Динаміка середніх показників (M, SD) співвідношення Zn/Fe у передньому мозку щурів.

Проте, протягом усього періоду дослідження співвідношення Zn/Fe у передньому мозку Експ щурів мало піки підвищення: у 7-у добу (на 21%, $p < 0,05$), у 14-у добу на 38% ($p < 0,05$), у 21-у добу на 35% ($p < 0,05$) у порівнянні з 1-ою добою посттравматичного періоду. Всередині Контр групи співвідношення Zn/Fe було у межах $0,34 \pm 0,01$ од. ($p < 0,05$) та в Інт - на рівні $0,37 \pm 0,01$ од., при $p < 0,05$.

Аналіз Спірмена показав наявний позитивний зв'язок помірного ступеня між змінами співвідношення Zn/Fe у передньому мозку щурів з ВІТГМ та динамікою посттравматичного періоду ($r=0,34$, $p < 0,05$).

Порівняння між трьома групами із використанням параметричного критерію Тьюкі та аналізом ANOVA (F-критерій) показало статистично значущі відмінності міжгрупові відмінності у 1-у добу - $F=17,6$ ($p < 0,001$), у 3-

ю добу $F=20,0$ ($p<0,001$), у 7-у добу $F=380,2$ ($p<0,001$), у 14-у добу $F=692,0$ ($p<0,001$), у 21-у добу $F=1259,0$ ($p<0,001$) та у 28-у добу $F=17,6$ ($p<0,001$).

Необхідно підкреслити, що у 1-у добу співвідношення Zn/Fe у передньому мозку щурів з ВІТГМ було вище на 15% ($p<0,001$) порівняно з Контр групою і на 7% ($p<0,001$) у порівнянні з Інт тваринами.

В 3-ю добу цей показник у щурів Експ групи збільшився на 15% ($p<0,001$) і на 8% ($p<0,001$), у 7-у добу на 32% ($p<0,001$) і на 26% ($p<0,001$) у порівнянні з Контр та Інт групами відповідно. Найбільше значення співвідношення Zn/Fe у передньому мозку Експ тварин побачили на 14-у та 21-у добу, що становило 47% ($p<0,001$) та 44% ($p<0,001$) у порівнянні з Контр і 42% ($p<0,001$) та 39% ($p<0,001$) порівняно з тваринами Інт групи.

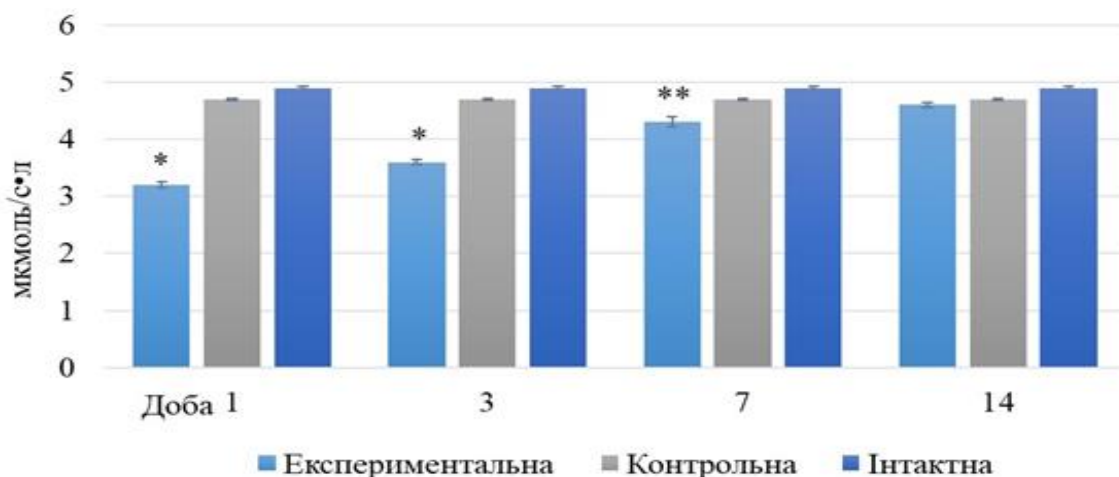
Подібні зміни співвідношення Zn/Fe у передньому мозку у травмованих щурів також свідчить про метаболічні порушення у нейронах головного мозку та вказує на суттєве їх залучення у патогенез ВІТГМ.

5.3 Особливості активності каталази крові щурів в динаміці розвитку експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку

Визначення рівня ензимів антиоксидантної системи у крові може допомогти оцінити ступінь окислювального стресу та вибрати оптимальні стратегії лікування та реабілітації для пацієнтів із черепно-мозковими травмами.

Відомо, що зменшення активності каталази свідчить про підвищення її залучення до зменшення рівня перекису водню, тим самим запобігаючи можливому ушкодженню структур клітин, зокрема нейронів головного мозку. Саме це можна використовувати для діагностики і вчасного лікування оксидативного стресу у випадку ВІТГМ.

В перші 7-м днів посттравматичного періоду встановили суттєві зміни активності каталази плазми крові щурів Експ групи з подальшим її відновленням, а саме, у період з 1-ї до 14-ї доби активність каталази збільшилась з $3,2 \pm 0,05$ од. до $4,6 \pm 0,04$ од., тобто на 30% при $p < 0,05$ (рис. 5.13).



Примітки: 1. Вертикальна шкала - активність каталази (мкмоль/с·л); 2. * - випадки достовірної ($p < 0,0001$) різниці між групами Експ ($n=28$) та Контр ($n=14$), Експ та Інт ($n=7$), ** - випадки достовірної ($p < 0,05$) різниці між групами Експ та Контр, Експ та Інт.

Рисунок 5.13 - Динаміка середніх показників (М, SD) активності каталази плазми крові щурів.

Водночас у тварин Контр групи показник активності каталази був у межах $4,7 \pm 0,01$ од. та у щурів Інт групи цей показник був на рівні $4,9 \pm 0,03$ од. при $p > 0,05$

Аналіз Спірмена встановив позитивний сильний зв'язок ($r=0,92$, $p < 0,0001$) між активністю каталази та добою посттравматичного періоду.

Множинний аналіз між трьома групами (Експ, Контр та Інт) із застосуванням дисперсійного аналізу ANOVA (F-критерій) та критерію Тьюкі показало статистично значущі відмінності Контр та Інт від Експ у 1-у добу ($F=158,5$, $p < 0,0001$), у 3-ю добу ($F=139,3$, $p < 0,0001$), у 7-у добу ($F=13,8$, $p < 0,05$), а вже у 14-у добу зміни не встановлено ($F=4,2$, $p > 0,05$). Ці ж методи

статистичного аналізу показали відсутність відмінностей ($p > 0,05$) між Контр та Інт групами.

Порівняння показників активності каталази плазми крові між Експ та Контр і Експ та Інт (рис. 5.13) показало достовірне ($p < 0,0001$, $p < 0,05$) зменшення цього ферменту в Експ групі щурів у 1-у добу на 34% ($p < 0,0001$) порівняно з Контр і на 35% ($p < 0,0001$) порівняно з Інт тваринами. В 3-ю добу активність каталази плазми крові щурів з ВІТГМ була меншою на 23% ($p < 0,0001$) у порівнянні з Контр і на 27% ($p < 0,0001$) порівняно з активністю цього ензиму в Інт тварин.

Також було встановлено, що у 7-у добу активність каталази Експ щурів зменшилася на 9% ($p < 0,05$) у порівнянні з Контр і на 12% ($p < 0,05$) у порівнянні з показником Інт тварин (рис. 5.13). Зменшення активності каталази у плазмі крові щурів Експ групи у 14-у добу було незначним: на 2% ($p > 0,05$) у порівнянні з показником тварин Контр групи і на 6% ($p > 0,05$) у порівнянні з Інт.

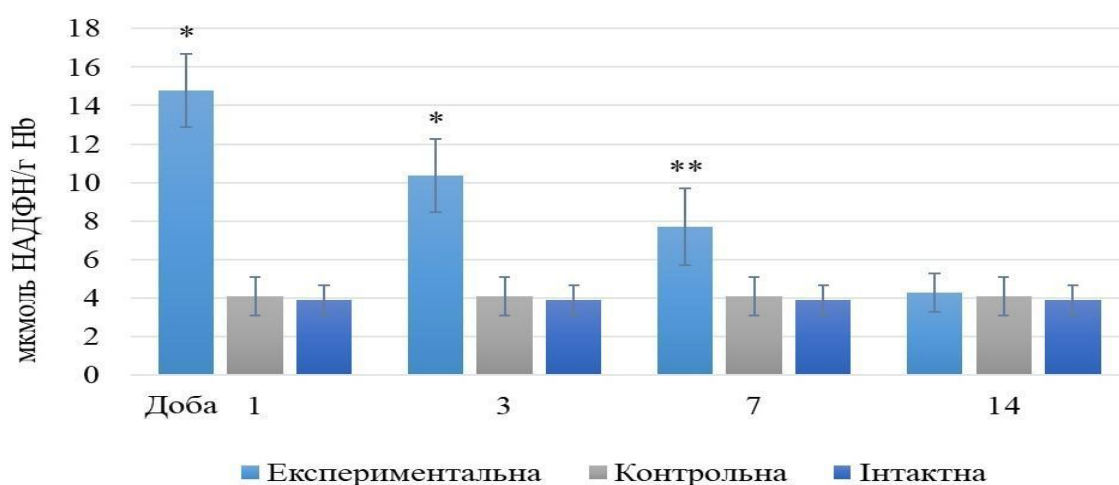
Враховуючи функцію каталази, встановлені результати свідчать про залучення цього ензиму до інактивації вільних радикалів, та, повільна нормалізація каталази після 7-ї доби посттравматичного періоду, свідчить про те, що оксидативний стрес є нетривалим, але розвивається безпосередньо після впливу ВХ та є невід'ємною ланкою патогенезу ВІТГМ.

5.4 Стан активності глутатіонредуктази еритроцитів щурів в динаміці розвитку експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку

Глутатіонредуктаза каталізує реакцію відновлення зв'язку глутатіону, що окислюється під час нейтралізації вільних радикалів та інших окислювальних сполук і, таким чином, допомагає відновлювати глутатіон до активної форми, що забезпечує необхідний захист клітин від окислювального

стресу та підтримує їхню нормальну функцію. А рівень активності цього ензиму вказує на ступінь залучення його до антиоксидативного захисту організму.

Як видно з рисунка 5.14, рівень глутатіонредуктази еритроцитів щурів Експ групи зменшився з 1-ї до 14-ї доби з $14,8 \pm 1,9$ од. до $4,3 \pm 1,0$ од. (на 71%, $p < 0,05$), при цьому рівень активності глутатіонредуктази у Контр щурів був у межах $4,07 \pm 1,0$ од. ($p > 0,05$) й у Інт тварин у межах $3,9 \pm 0,8$ од. ($p > 0,05$).



Примітки: 1. Вертикальна шкала - активність глутатіонредуктази (μмоль НАДФН/г Нб); 2. * - випадки достовірної ($p < 0,0001$) різниці між групами Експ ($n=28$) та Контр ($n=14$), Експ та Інт ($n=7$), 3. ** - випадки достовірної ($p < 0,001$) різниці між групами Експ та Контр, Експ та Інт.

Рисунок 5.14 - Динаміка середніх показників (М, SD) активності глутатіонредуктази еритроцитів крові щурів.

Кореляційний аналіз Спірмена встановив негативний зв'язок сильного ступеня ($r = -0,91$, $p < 0,0001$) між рівнем глутатіонредуктази еритроцитів крові травмованих щурів та добою перебігу ВІТГМ.

Множинне порівняння із застосуванням дисперсійного аналізу ANOVA (F-критерій) та критерію Тьюкі показало статистично значуще підвищення активності глутатіонредуктази у щурів Експ групи у 1-у добу $F=112,3$ ($p < 0,0001$), у 3-ю добу $F=40,3$ ($p < 0,0001$), у 7-у добу $F=12,6$ ($p < 0,001$) та вже у 14-у добу значущих відмінностей між рівнями глутатіонредуктази у тварин

Експ, Контр та Інт груп не було ($F=0,3$, $p=0,9$). Разом з тим, відмінностей між Контр та Інт групами не були статистично значущими ($p>0,05$), що дозволило їх зіставити.

Попарний аналіз також показав значущі відмінності: у 1-у добу активність глутатіонредуктази еритроцитів щурів Експ групи була вищою на 73% ($p<0,0001$) у порівнянні з Контр і на 74% ($p<0,0001$) порівняно з активністю цього ензиму в щурів Інт групи.

Надалі, у 3-ю добу встановили, що глутатіонредуктаза щурів з ВІТГМ була активніша на 61% ($p<0,0001$) у порівнянні з Контр і на 63% ($p<0,0001$) у порівнянні з Інт. В 7-у добу активність глутатіонредуктази еритроцитів Експ тварин підвищилась на 47% ($p<0,001$) порівняно з Контр і на 50% ($p<0,001$) порівняно з результатом у щурів Інт групи. В 14-у добу значення глутатіонредуктази Експ щурів мали тенденцію до підвищення на 5% ($p>0,05$) порівняно з Контр і на 10% ($p>0,05$) порівняно з Інт тваринами.

Встановлені нами зміни активності глутатіонредуктази еритроцитів крові щурів з ВІТГМ, а саме значне збільшення її активності, вказують на посилення продукції цього ензиму для деактивації вільних радикалів, що утворились вже у 1-у добу посттравматичного періоду.

5.5 Дослідження активності глутатіонпероксидази еритроцитів крові щурів в динаміці розвитку експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку

Глутатіонпероксидаза каталізує реакцію знищення перекису водню, перетворюючи його на воду, через що це також один з важливих ензимів, який входить до складу системи антиоксидантного захисту організму.

Результати дослідження рівня глутатіонпероксидази еритроцитів крові щурів Експ групи показали поступове зниження активності цього ензиму з 1-ї до 14-ї доби у межах $34,65\pm3,5$ - $25,77\pm2,0$ од. (на 26%, $p>0,05$). Проте, у 7-у

добу було зареєстровано максимальне значення глутатіонпероксидази, що на 24% ($p > 0,05$) вище за показник 1-ї доби. В цей же період у щурів Контр групи рівень глутатіонпероксидази був у межах $24,86 \pm 1,0$ од. ($p > 0,05$) та у тварин Інт групи рівень ензиму, що досліджували, був у межах $21,02 \pm 1,0$ од., при $p > 0,05$.

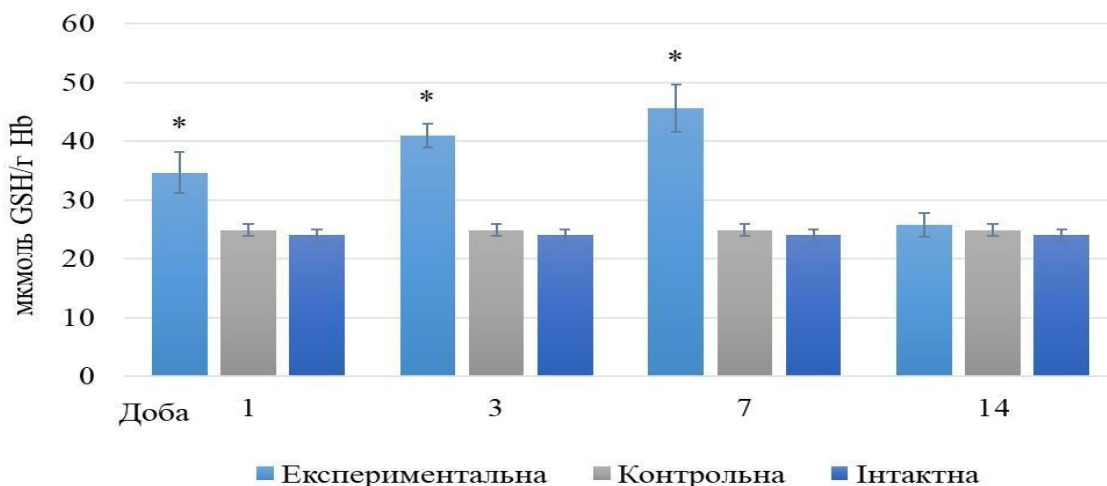
За допомогою аналізу Спірмена кореляційних зв'язків між показниками глутатіонпероксидази еритроцитів крові щурів з ВІТГМ та динамікою перебігу посттравматичного періоду не встановлено ($r = -0,23$, $p > 0,05$).

Подальший множинний аналіз із застосуванням дисперсійного аналізу ANOVA (F-критерій) та критерію Тьюкі встановив, що у перший тиждень після впливу ВХ зміни у Експ щурів були статистично відмінними від показників Контр та Інт тварин, а саме у 1-у добу $F = 42,9$ ($p < 0,0001$), у 3-ю добу $F = 218,2$ ($p < 0,0001$), у 7-у добу $F = 129,3$ ($p < 0,0001$) та у 14-у добу не було відмінностей ($F = 1,8$, $p > 0,05$). Також, статистичний аналіз із застосуванням цих методів показав відсутність відмінностей між Контр та Інт групами не були статистично значущими ($p > 0,05$), що дозволило їх зіставити.

В динаміці розвитку ВІТГМ відбулося поступове, але значне збільшення активності глутатіонпероксидази у 1-у добу спостереження в щурів Експ групи на 28% ($p < 0,0001$) у порівнянні з Контр і на 31% ($p < 0,0001$) порівняно з Інт тваринами.

В 3-ю добу встановили підвищення активності ензиму, що досліджували у Експ тварин на 39% ($p < 0,0001$) у порівнянні з Контр значенням і на 41% ($p < 0,0001$) порівняно з показником Інт тварин. Максимальне збільшення активності глутатіонпероксидази спостерігали у 7-у добу у щурів Експ на 46% ($p < 0,0001$) порівняно з Контр групою і на 47% ($p < 0,0001$) порівняно з активністю цього ензиму в Інт тварин. В 14-у добу значення активності глутатіонпероксидази еритроцитів Експ щурів мали

тенденцію до підвищення на 4% ($p<0,05$) порівняно з Контр і на 7% ($p<0,05$) порівняно з Інт значеннями (рис. 5.15).



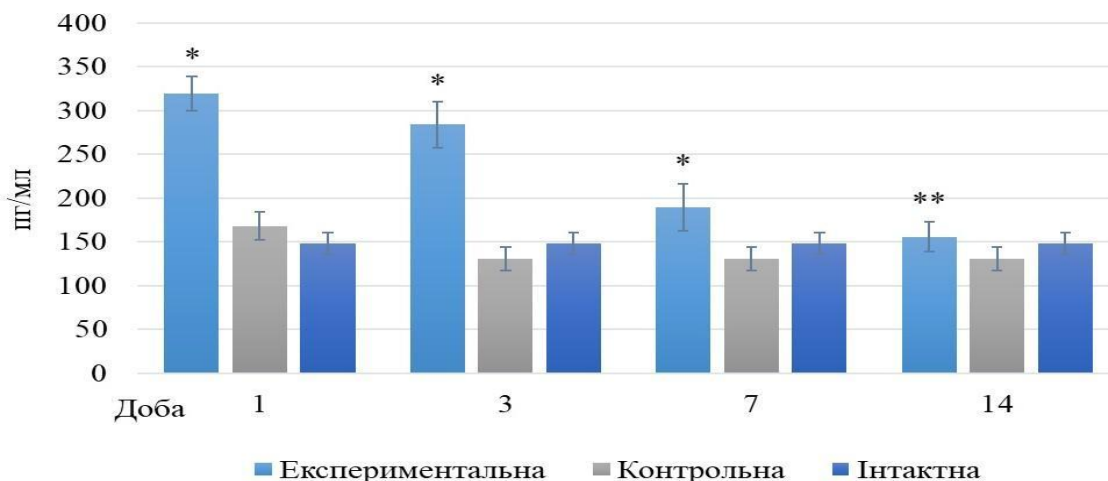
Примітки: 1. Вертикальна шкала - активність глутатіонпероксидази (мкмоль GSH/г Hb); 2. * - випадки достовірної ($p<0,0001$) різниці між групами Експ ($n=28$) та Контр ($n=14$), Експ та Інт ($n=7$).

Рисунок 5.15 - Динаміка середніх показників (М, SD) активності глутатіонпероксидази еритроцитів крові щурів.

Отримані результати також вказують на оксидативний стрес у щурів Експ групи, що дуже швидко розвивається та компенсується за рахунок залучення ензимів антиоксидантної системи.

5.6 Дослідження змін нейротрофічного фактора BDNF у крові щурів в динаміці розвитку експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку

В представленому дослідженні були встановлені значущі зміни рівня BDNF у плазмі крові щурів експериментальної групи з 1-ї до 14-ї доби з $319,26 \pm 20,0$ од. до $155,5 \pm 17,0$ од, тобто на 51% при $p<0,01$ (рис. 5.16).



Примітки: 1. Вертикальна шкала - рівень BDNF (пг/мл); 2. * - випадки достовірної ($p < 0,0001$) між Експ ($n=28$) та Контр ($n=14$), Експ та Інт ($n=7$), 3. ** - випадки достовірної ($p < 0,05$) різниці між Експ та Контр, Експ та Інт.

Рисунок 5.16 - Динаміка середніх показників (М, SD) рівня BDNF крові щурів.

Рівень BDNF у щурів Контр групи зменшився з 1-ї до 3-ї доби з $167,84 \pm 16$ од. до $130,53 \pm 13$ од. (на 22%, $p < 0,05$), а надалі залишився у межах $130,53 \pm 13$ од. Такі зміни пов'язуємо із токсичною дією галотану. Водночас у щурів Інт групи рівень BDNF стабільно був у межах $147,92 \pm 12$ од. ($p > 0,05$).

Поряд зі значними змінами самого BDNF, встановили негативний кореляційний зв'язок сильного ступня ($r = -0,92$, $p < 0,0001$) між його змінами у щурів Експ групи та перебігом посттравматичного періоду.

Параметричний аналіз Тьюкі та аналіз ANOVA (F-критерій) статистично довели значущі відмінності між Експ, Контр та Інт групами: у 1-у добу $F=203,1$ ($p < 0,0001$), у 3-ю добу $F=126,1$ ($p < 0,0001$), у 7-у добу $F=16,0$ ($p < 0,0001$) та у 14-у добу $F=5,2$ ($p < 0,05$). При цьому відмінностей між Контр та Інт не встановлено.

Попарне порівняння рівнів BDNF показало вищий його рівень у плазмі крові експериментальних тварин, особливо у гострому (1-7-а доба) посттравматичному періоді. Так, у 1-у добу активність BDNF у плазмі крові

експериментальної групи був сильніше на 47% ($p < 0,0001$) порівняно з показниками контролю і на 54% ($p < 0,0001$) порівняно з інтактною групою.

Аналіз у 3-ю добу показав збільшення рівня BDNF у експериментальних тварин на 54% ($p < 0,0001$) порівняно з контролем і на 48% ($p < 0,0001$) порівняно з інтактною групою. На 7-у добу збільшення експресії BDNF експериментальних щурів становило 31% ($p < 0,0001$) порівняно з контролем та на 23% ($p < 0,0001$) у порівнянні з інтактною групою. І вже на 14-у добу збільшення BDNF у щурів з ВІТГМ становило 16% ($p < 0,05$) порівняно з контролем та на 5% ($p < 0,05$) у порівнянні з інтактними тваринами (рис. 5.16).

Очевидні відмінності між показниками BDNF у плазмі крові контрольних та інтактних тварин ймовірно пов'язані з токсичним впливом галотану на головний мозок. Проте, у щурів з ВІТГМ рівні BDNF значно вищі, хоч і зменшуються у ранньому посттравматичному періоді (з 7-ї по 14-у добу).

Отримані результати свідчать про активацію захисту головного мозку у відповідь на ушкодження ВХ, адже BDNF сприяє відновленню нейропластичності ушкоджених нейронів. Враховуючи те, що BDNF зазвичай корелює з тяжкістю ушкодження, його рівні можна використовувати у якості біомаркерів, в тому числі ВІТГМ.

Резюме

Встановлено хвилеподібні зміни з поступовим збільшенням масової частки у відсотках (ω) Cu, збільшення з 1-ї до 7-ї доби та зменшення у 14-у добу масової частки у відсотках (ω) Fe та збільшення у 7-у, 14-у та 28-у добу масової частки у відсотках (ω) Zn у мозочку Експ щурів. Накопичення Fe у мозочку у 1-у та 3-ю добу призводить до порушення балансу Cu та Zn на 7-у добу і запускає хибне коло ушкодження нейронів, про що свідчило

збільшення співвідношень Cu/Fe на 50% ($p<0,0001$), Cu/Zn на 6% ($p<0,001$) та Zn/Fe на 56% ($p<0,0001$) на тлі зменшення Fe до 28-ї на 18% ($p<0,0001$).

Енергодисперсійний рентгенофлуоресцентний аналіз переднього мозку показав збільшення як самих біометалів - Cu на 44% ($p<0,0001$), Fe на 26% ($p<0,0001$) та Zn на 24% ($p<0,0001$), так і їх співвідношень: Cu/Fe на 23% ($p<0,0001$), Cu/Zn на 25% ($p<0,0001$), що є результатом накопичення заліза внаслідок порушення гематоенцефалічного бар'єра. Зміни балансу Cu, Fe та Zn вказують на метаболічні порушення і є вторинними факторами у патогенезі ушкодження мозку внаслідок первинного впливу вибухової хвилі. Отримані значущі зміни біометалів у передньому мозку порівняно з мозочком свідчать про важливість урахування напрямку вибухової хвилі щодо положення тіла до неї.

Оцінка активності ензимів антиоксидантної системи на етапах посттравматичного періоду показала зміни у період з 1-ї до 7-ї доби, зокрема активність каталази зменшувалась, порівняно з інтактними тваринами. В цей же період активність глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази крові експериментальних щурів була вище у порівнянні з інтактними щурами. Отримані результати свідчать про розвиток оксидативного стресу з 1-ї доби після одноразового впливу вибухової хвилі, що триває до 14-ї доби.

Підтверджено нейропротекторні властивості нейротрофічного фактора BDNF, активність якого була високою у період з 1-ї до 7-ї доби після впливу вибухової хвилі.

Результати даного розділу опубліковані у наукових працях [257, 258, 260-262, 267, 300, 347, 398-400].

РОЗДІЛ 6

ДИНАМІКА ПАТОМОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ З ВИБУХО-ІНДУКОВАНОЮ ТРАВМОЮ

В даному розділі представлено аналіз ультраструктурних, гістологічних та імуногістохімічних особливостей кори головного мозку та гіпокампу щурів та проведено порівняння взірців Експ та Контр груп. Дослідження структур головного мозку щурів Інт групи не мало сенсу, адже для декапітації усіх тварин попередньо піддавали наркотизації із застосуванням галотану.

6.1. Дослідження ультраструктурних змін головного мозку щурів з експериментальною вибухо-індукованою травмою головного мозку

Вибухова хвиля, що має певні фізичні характеристики (величина динамічного тиску на фронті ударної хвилі, тривалість позитивної та негативної фази змін тиску упродовж одного коливання) залежно від потужності заряду, у живому організмі первинно призводить до руйнації біологічних тканин та клітин навіть на ультраструктурному рівні.

Для дослідження первинних вибухо-індукованих змін на рівні клітин нервової тканини ми використали трансмісійну електронну мікроскопію (ТЕМ) взірців головного мозку щурів, що забирали через 1-у годину після впливу ВХ і порівнювали із взірцями щурів Контр групи.

За допомогою ТЕМ, на цей час, можливо ідентифікувати не тільки типи клітин головного мозку (нейрони, астроцити, олігодендроцити, клітини мікроглії) за їх розміром, формою, особливостями розподілу ядерного хроматину, цитоплазматичних органел, але й неклітинні структури.

Для ототожнення з відповідними клітинними та неклітинними елементами кори головного мозку й гіпокампа та їх ідентифікації, під час

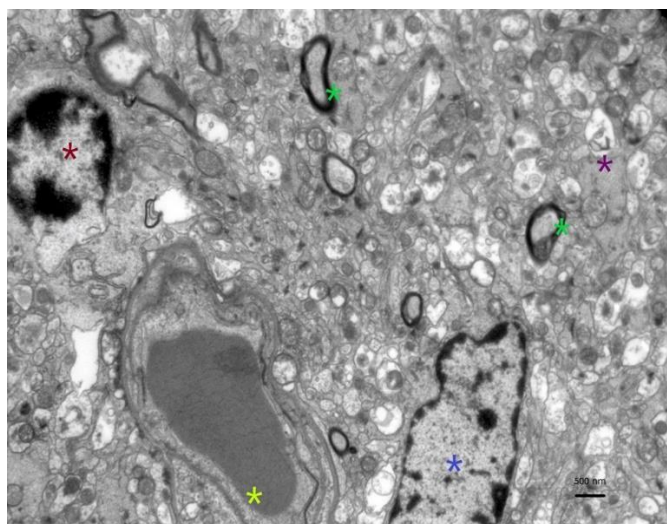
аналізу отриманих в ході дослідження взірцях ми використали наступні ультраструктурні відмінності ядер та цитоплазматичних структур: форма ядра, наявність ядерець, щільність та топографія розподілу хроматину, наявність та розповсюдженість цитоплазматичних органел, зокрема, мітохондрій, ендоплазматичного ретикулуму (ЕР), комплексу Гольджі (СG), лізосом, нейросекреторних везикул, наявність елементів цитоскелета, зокрема, ниток актину, проміжних нейрофіламентів, мікротрубочок.

За результатами опису електронограм було з'ясовано, що нейрони кори головного мозку та гіпокампу оточені навколо своїх тіл нейропілем, що являв собою простір з гліальними клітинами, астроцитами та олігодендроцитами, клітинами-сателітами, клітинами-попередниками, клітинами мікроглії, з переплетеними та щільно запакованими відростками нейроцитів, аксонами та дендритами, з численними синапсами.

Гематоенцефалічний бар'єр надійно захищає нейрони, клітини нейроглії від впливу патогенів, які можуть заподіювати певну шкоду у разі проникнення з крові.

Основним компонентом ГЕБ є неперервний шар ендотеліальних клітин, який ззовні оточений базальною мембраною з перицитами та кінцевими відростками астроцитів, які щільно відокремлюють паренхіму мозку від системи кровообігу.

На рисунку 6.1 представлено гіпокамп з гемокапіляром. Аналіз мікрофотографії показав збереження цілісності мембран клітин, ядра не збільшені, мітохондрії без змін. Також установили нормальне розташування і збереження цілісності усіх шарів стінки гемокапіляра.



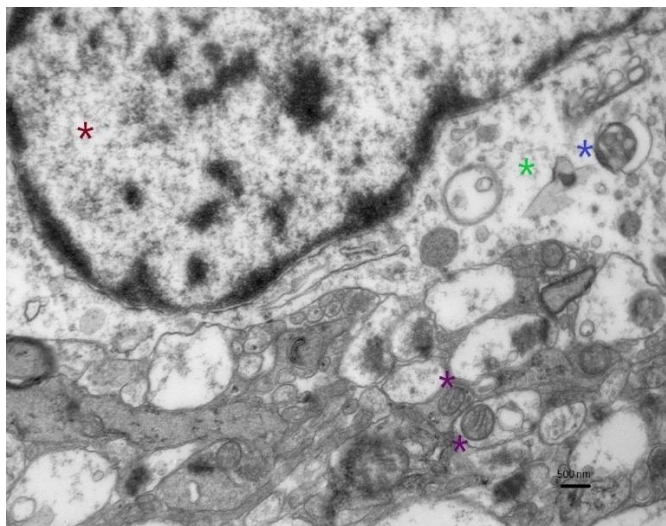
Примітки: 1. Електронна мікрофотографія, scale bar =500 nm, 2. * - гемокapіляр, 3. * - ядро олігодендроцита, 4. * - ядро мікрогліальної клітини, 5. * - скупчення мікрофіламентів, 6. * - мієлінізовані волокна.

Рисунок 6.1 - Гіпокамп щура контрольної групи.

Товщина базальної мембрани гемокapілярів була рівномірно розподілена упродовж своєї довжини та не мала суттєвих відмінностей у порівнянні між собою гемокapілярів фронтальної кори та гіпокампу. Але, при зіставленні площини контакту перицитів з базальною мембраною слід вказати на більшу охопленість периметра перицитами гемокapілярів гіпокампа у порівнянні з кортикальними гемокapілярами. На всіх препаратах головного мозку щурів інтактної групи базальна мембрана гемокapілярів мала чіткі контури.

Також, ультраструктурне дослідження клітин гіпокампа щурів Контр групи показало відсутність набряку нейронального, гліального та синаптичного компонентів гіпокампа, мітохондрії та інші структури без змін, ядра не збільшені, округлої або овальної форми, заповнене дрібнодисперсним хроматином та з ядерцем, яке чітко візуалізується, мембрани клітин та органел без ушкоджень, не набряклі, міжклітинні з'єднання та синапси нервових відростків не потовщені.

Ядра астроцитів, які щільно охоплюють гемокапіляри своїми розгалуженими відростками, відрізняються наявністю тонкого шару гетерохроматину. В цитоплазмі астроцитів поряд зі зниженою щільністю мембран мітохондрій зустрічалися групи проміжних філаментів (рис. 6.2).

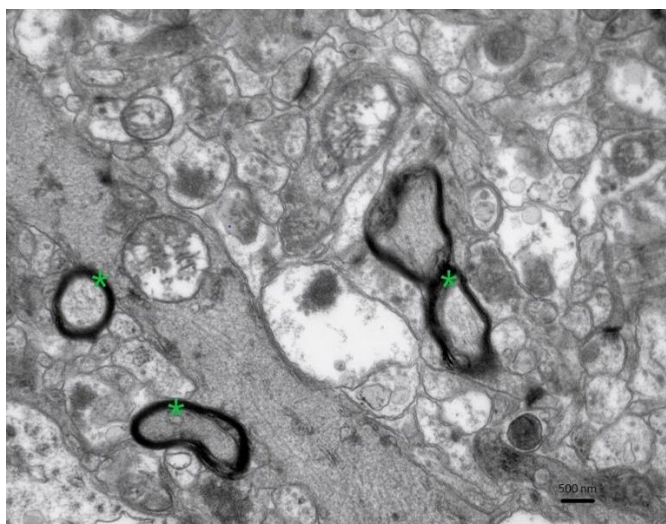


Примітки: 1. Електронна мікрофотографія, scale bar =500 nm, 2. * - ядро астроциту, 3. * - відросток астроциту, 4. * - міковезикулярні тільця, 5. * - мітохондрії.

Рисунок 6.2 - Астроцит фронтальної кори головного мозку щура контрольної групи.

Окрім перицитів та астроцитів, навколо деяких гемокапілярів зустрічалися клітини мікроглії, нуклеоплазма яких, як і по периферії, так й у товщі, була насичена гетерохроматином, цитоплазма була збагачена цистернами ендоплазматичного ретикулуму та лізосомами. В позаклітинному просторі візуально визначались концентрації мієлінізованих аксонів.

Також, в корі та гіпокампі щурів Інт групи нейропіль складався з переплєтених нейронних та гліальних відростків, які між собою контактували та утворювали як симетричні, так і асиметричні синапси (рис. 6.3).



Примітки: 1. Електронна мікрофотографія, scale bar =500 nm, 2. * - мієлінові волокна.

Рисунок 6.3 - Мієлінові волокна в гіпокампі щура контрольної групи.

Крім ідентифікації та визначення ультраструктурних відмінностей нейронів та структурних компонентів нейропілю в нормі, або у контрольних взірцях, електронна мікроскопія дозволила з'ясувати ультраструктурні зміни, які відбувалися у корі головного мозку та гіпокампі після впливу вибухової хвилі.

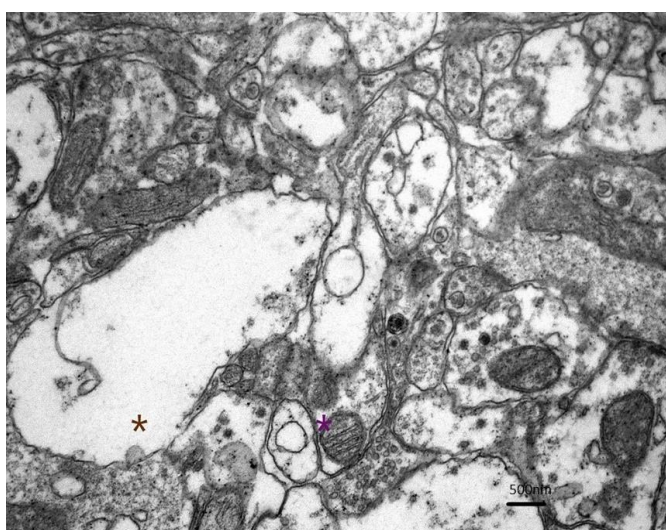
Насамперед при аналізі електронограм Експ групи щурів досліджували стан плазматичних мембран спеціалізованих клітин, стан базальних мембран судинного русла, стан синаптичних пухирців та мікровезикул, цілісність каріолем та оболонок відростків, реактивність цистерн та трубочок ЕР та СГ, виразність набрякового компонента.

Субмікроскопічний аналіз кори головного мозку (молекулярний шар фронтальної кори) та гіпокампу (молекулярний шар зубчастої звивини) у щурів Експ групи показав гострі реактивні зміни, які переважно були сконцентровані в нейропілі мозкової тканини. В нейронах, олігодендроцитах, астроцитах, ендотеліоцитах, перицитах реактивні зміни на електронограмах визначалися у вигляді електронно ущільненої нуклео- та цитоплазми. В цитоплазмі нейронів кори головного мозку відмічали розширення цистерн ЕР

та CG, в периваскулярних ніжках астроцитів на фоні концентрації гранул глікогену відбулося накопичення набрякової рідини.

На рисунках 6.4 - 6.9 представлені найбільш виразні зміни, які виникли через 1-у годину після впливу ВХ.

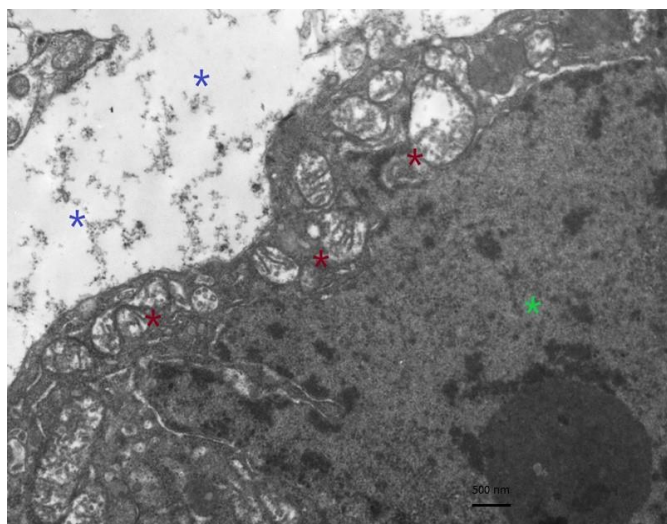
Більшою мірою виявлені зміни були зосереджені у відростках та в нейропілі, а також визначались частково, без втрати цілісності, зруйновані мітохондрії та значний набряк нейропілю, а також навколо клітин та судин.



Примітки: 1. Електронна мікрофотографія, scale bar =500 nm, 2. * - мітохондрія, 3. * - набряк.

Рисунок 6.4 - Нейропіль гіпокампу головного мозку щура експериментальної групи.

В порівнянні зі зрізками тварин Контр групи, на електронограмах головного мозку Експ тварин виявили значний периваскулярний (навколо судин), перинейрональний набряк (рис. 6.5) та набряк відростків нейроцитів, зокрема дендритів, органел нейронів, особливо мітохондрій з частковою деструкцією крист, а також виразний набряк нейропілю в цілому.

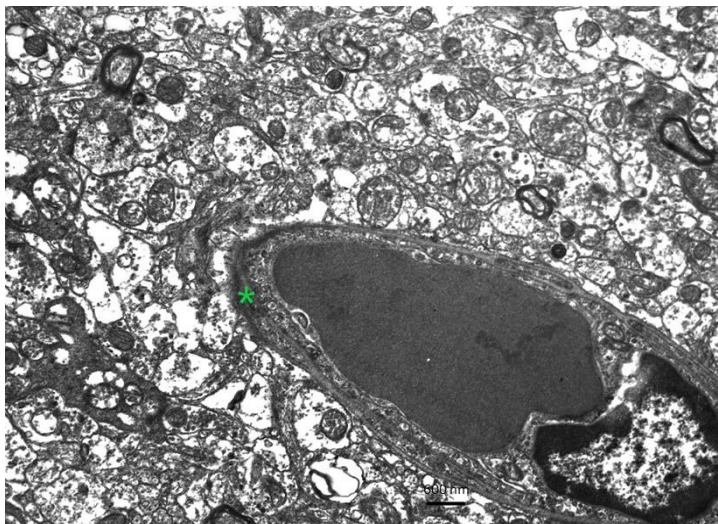


Примітки: 1. Електронна мікрофотографія, scale bar =500 nm, 2. * - нейрон, 3. * - мітохондрії, 4. * - перинейрональний набряк.

Рисунок 6.5 - Перинейрональний набряк, гіпокамп щура експериментальної групи.

Окрім описаних вище ультраструктурних змін, мітохондріальний апарат також зазнавав гострих реактивних перетворень у вигляді мозаїчних структурних порушень крист та трансформування цих органел з округлої у переважно подовжену форму. Попри складну цитоархітетоніку фронтальної кори та гіпокампу характерними ультраструктурними змінами в експериментальній групі тварин були специфічні для ВІТГМ зміни з боку нейронів та їх органел, волокон, синапсів, компонентів ГЕБ - гемокапілярів.

Морфологічний аналіз електронної мікрофотографії гіпокампа щурів Експ групи показав порушення ГЕБ у вигляді розшарування, так зване «скелетування» стінки та набряк базальної мембрани гемокапіляра, загальний набряк стінки гемокапіляра. Також виявили різко виражений набряк нейропілю (рис. 6.6).



Примітки: 1. Електронна мікрофотографія, scale bar =500 nm, 2. * - гемокapіляр.

Рисунок 6.6 - Гемокapіляр гіпокампа щурів експериментальної групи.

На ультраструктурному рівні було встановлено наявність петехіальних крововиливів у нейропілі фронтальної кори головного мозку щура з ВІТГМ (рис. 6.7).



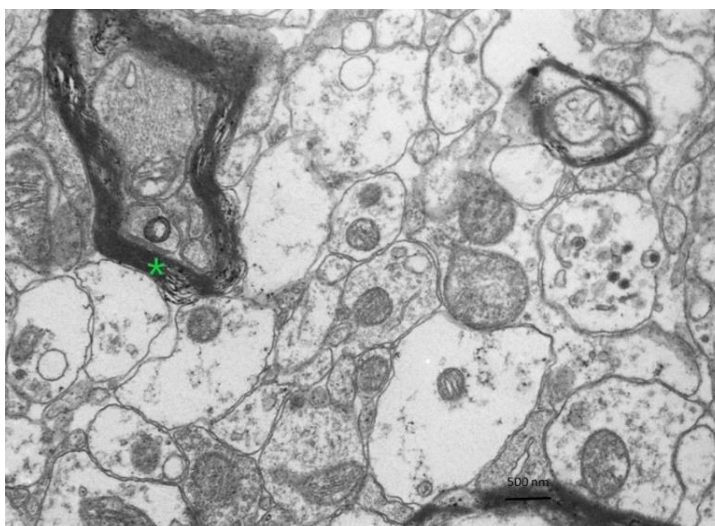
Примітки: 1. Електронна мікрофотографія, scale bar =500 nm, 2. * - еритроцити.

Рисунок 6.7 - Петехіальний крововилив у нейропілі фронтальної кори головного мозку щура експериментальної групи.

В нейропілі гіпокампу головного мозку щурів Експ групи виявили значний перичелюлярний (навколо клітин) набряк, Також визначалось

потовщення за рахунок набряку аксо-аксональних синаптичних з'єднань, зменшення кількості синаптичних пухирців, потовщення постсинаптичної мембрани та збільшення міжсинаптичної щілини. Визначались поліморфні набряклі мітохондрії зі збереженою цілісністю, проте зі зменшеною різного ступеня кількістю крист. В той самий час, нейронів з ознаками некробіозу або апоптозу не виявили.

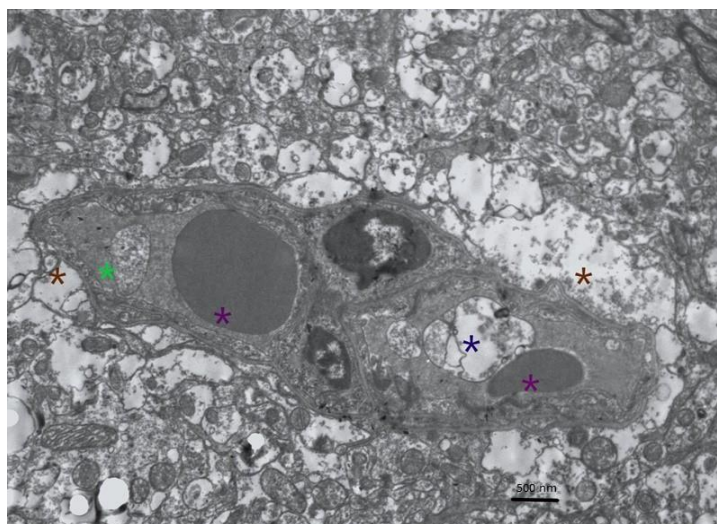
Окрім зазначених вище змін також визначалось значне розшарування мієліну нервових волокон гіпокампу Експ щурів (рис. 6.8).



Примітки: 1. Електронна мікрофотографія, scale bar =500 nm, 2. * - розшарування мієліну.

Рисунок 6.8 - Розшарування мієліну волокон гіпокампу щурів експериментальної групи.

На електронограмі (рис. 6.9) також чітко візуалізується периваскулярний набряк, потовщення мембрани судини через її набряк та вкрай цікавою знахідкою було визначення наявності кавітаційних бульбашок в просвіті судин гіпокампа тварин Експ групи навіть через 1-у годину після впливу ВХ.



Примітки: 1. Електронна мікрофотографія, scale bar =500 nm, 2. * - ендотеліоцит, 3. * - еритроцити, 4. * - кавітаційна бульбашка, 5. * - периваскулярний набряк.

Рисунок 6.9 - Судина гіпокампа щура експериментальної групи

Таким чином, виявлені після однократної дії ВХ ультраструктурні зміни в нейронах і нейропілі кори головного мозку та гіпокампу характеризуються дифузністю проявів фізичного ушкодження, в першу чергу мембран та оболонок як спеціалізованих клітин, так і клітин глії, оболонок відростків у вигляді розшарування, мембран органел, особливо мітохондрій, стінок капілярів, та їх наслідків у вигляді набряку нейропілю та периваскулярного і перицелюлярного набряку може свідчити про порушення бар'єрної функції клітинних мембран та цілісності ГЕБ, розвиток оксидативного стресу, а також вторинні зміни в мікроциркуляції мозку вже через 1-ну годину після впливу ВХ. Ці процеси можуть спричиняти порушення синаптичної передачі, зміни метаболізму нейронів та загострювати нейрозапалення, що призводить до функціональних розладів і подальшого ушкодження нервової тканини.

6.2 Патоморфологічне дослідження головного мозку щурів в динаміці розвитку експериментальної вибухо-індукованої травми головного мозку

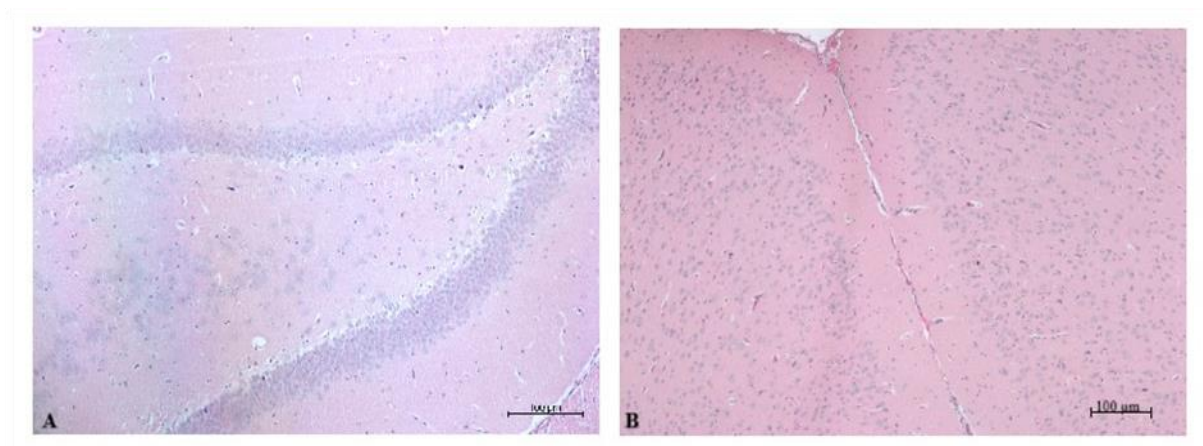
Гістологічна структура фронтальної кори та гіпокампу тварин Інт групи щурів була представлена 6-а шарами клітин (молекулярний, зовнішній гранулярний, зовнішній пірамідний, внутрішній гранулярний, внутрішній пірамідний та шар поліморфних клітин) у фронтальній корі та 3-а шарами (молекулярний, пірамідальний та шар поліморфних клітин) у гіпокампі.

Артеріальна та венозна церебральні судинні мережі головного мозку щура знаходилися у тісній взаємодії. Артеріальна та дренажна система мозку мала свої особливості в коркових та підкоркових структурах. Радіальний розподіл судин малого діаметра в корі головного мозку співіснував з менш упорядкованим розташуванням поздовжніх та поперекових гіпокампальних гілок задніх мозкових артерій у гіпокампі.

В результаті проведеного гістологічного аналізу вірців головного мозку щурів Інт групи не виявлено жодного крововиливу, порушень судинної стінки, набряку та будь-яких ознак запалення. Тканина головного мозку мала рівномірне забарвлення. Шари окремих структур не порушені, чітко визначаються правильно розташовані клітини.

На рисунку 6.10 А візуалізується гіпокамп з гетерогенною корою, в якій чітко можна розрізнити поверхневий молекулярний шар, середній шар і глибокий шар поліморфних клітин. В середньому шарі визначаються пірамідні клітини. Також на гістологічному препараті можна побачити зірчасті нейрони та гранулярні клітини, що більш скупчені в шарі зернистих клітин зубчастої звивини, багатополярні вставні нейрони зони С2, корзинчасті нейрони зон С3.

Таламус Інт щурів (рис. 6.10 В) представлений сірою речовиною з прошарками білої. Судинні стінки не набрякли без ушкоджень, незначно наповненні кров'ю внаслідок швидкої смерті тварин через декапітацію.



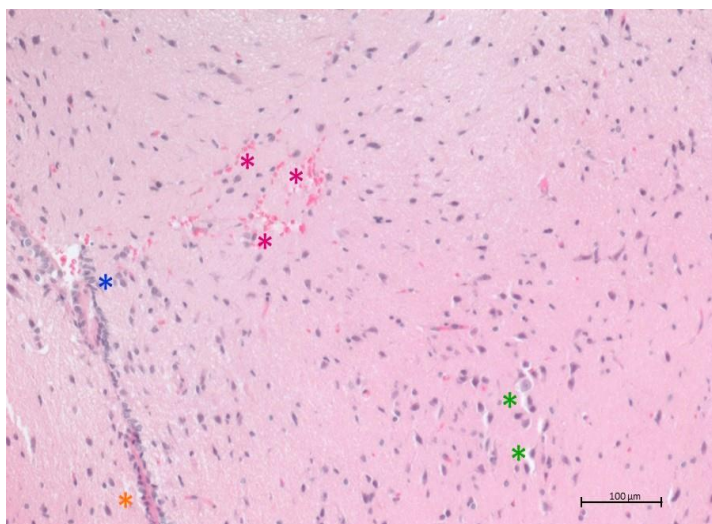
Примітки: 1. Забарвлення гематоксилином та еозином, 2. Літерами позначено: А гіпокамп, scale bar = 100 μm, В - таламус, scale bar = 100 μm.

Рисунок 6.10 - Гістологічне дослідження головного мозку щура контрольної групи.

При дослідженні гістологічних препаратів різних ділянок головного мозку Експ щурів були встановлені верифіковані морфологічні ознаки ушкодження як тканини, так і судин в результаті дії вибухової хвилі (рис. 6.11-6.13).

В 1-у добу посттравматичного періоду встановили наявність розривів капілярів різного діаметра та десквамації судинного ендотелію, екстравазальна агрегація незмінених еритроцитів.

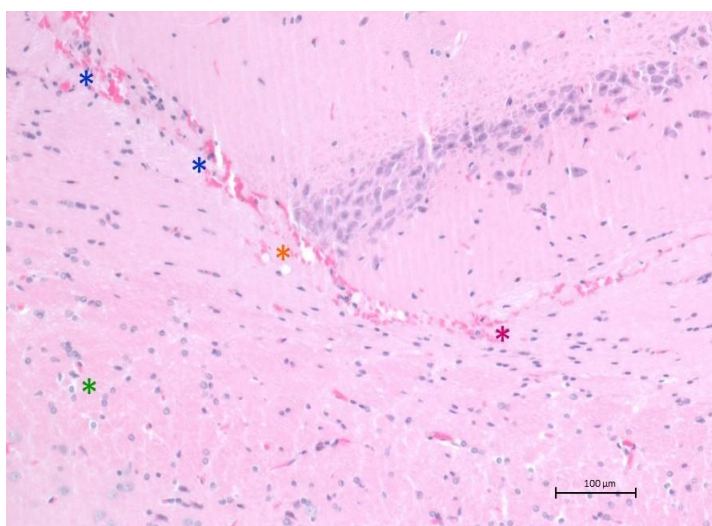
Ці явища мали дифузний характер у різних ділянках головного мозку (рис. 6.11).



Примітки: 1. Забарвлення гематоксилином та еозином, scale bar =100 μm, 2. * - розриви капілярів, 3. * - екстравазальна агрегація еритроцитів, 4. * - перичелюлярний набряк, 5. * - периваскулярний набряк.

Рисунок 6.11 - Гістологічне дослідження головного мозку щурів експериментальної групи (1-а доба посттравматичного періоду ВІТГМ).

Також виявлені діapedезні крововиливи, паретично дилатовані судини через порушення ауторегуляції і набряку тканини мозку, що можна вважати ознаками порушення мозкового кровообігу (рис. 6.12).

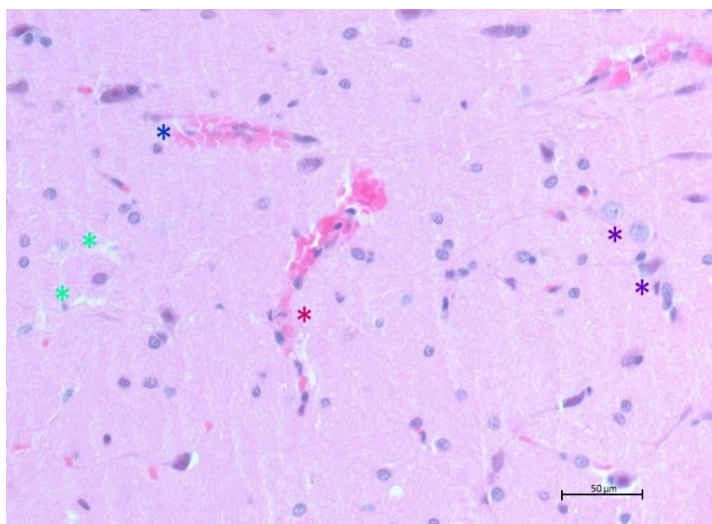


Примітки: 1. Забарвлення гематоксилином та еозином, scale bar =100 μm, 2. * - розриви капілярів, 3. * - екстравазальна агрегація еритроцитів, 4. * - перичелюлярний набряк, 5. * - паретично розширені судини.

Рисунок 6.12 - Гістологічне дослідження головного мозку щурів експериментальної групи (1-а доба посттравматичного періоду ВІТГМ).

Окрім розривів капілярів відмічається порушення контактів між судинами та гліальними клітинами, які також входять до комплексу гематоенцефалічного бар'єра.

Наряду із порушенням ГЕБ привертають увагу й неоднорідно забарвлені нейрони, що вважається ознакою метаболічних порушень, а також їх набухання і перицелюлярний набряк, які призводять до змін гомеостазу нейроцитів. При цьому не було масивних крововиливів у результаті ушкоджень судин більшого діаметра, осередки некрозу нейронів не зустрічались. Це свідчить про коректну роботу власного пристрою і про вірно обраний тиск вибухової хвилі, що призводить до вибухо-індукованої травми головного мозку легкого ступеня (рис. 6.13).

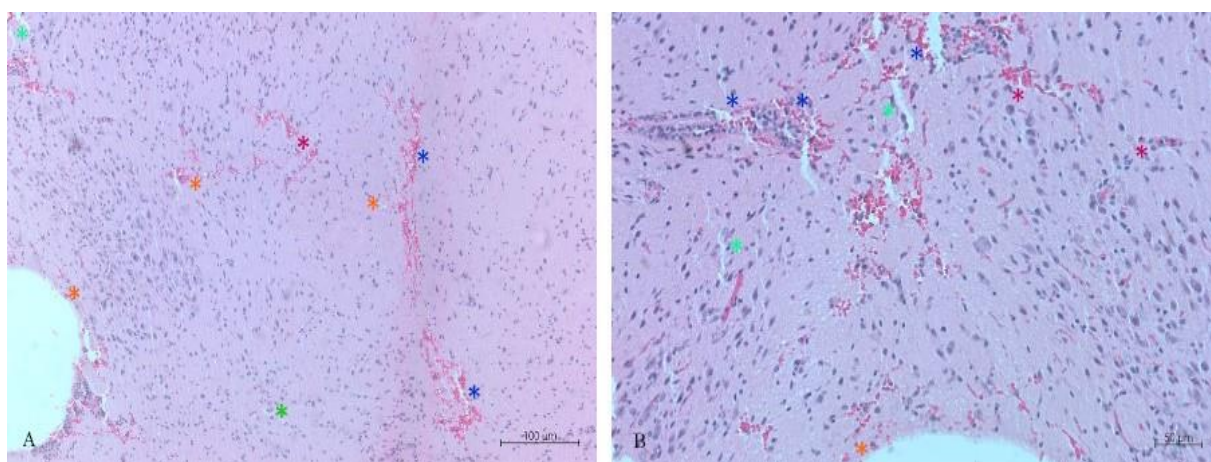


Примітки: 1. Забарвлення гематоксиліном та еозином, scale bar =50 μm, 2. * - розриви капілярів, 3. * - екстравазальна агрегація еритроцитів, 4. * - розриви нейропілія, 5. * - нерівномірно забарвлені нейрони.

Рисунок 6.13 - Гістологічне дослідження головного мозку щурів експериментальної групи (1-а доба посттравматичного періоду ВІТГМ).

Також, під час дослідження гістологічних препаратів головного мозку Експ тварин фіксували локалізацію вогнища ураження, вид та характер ушкодження.

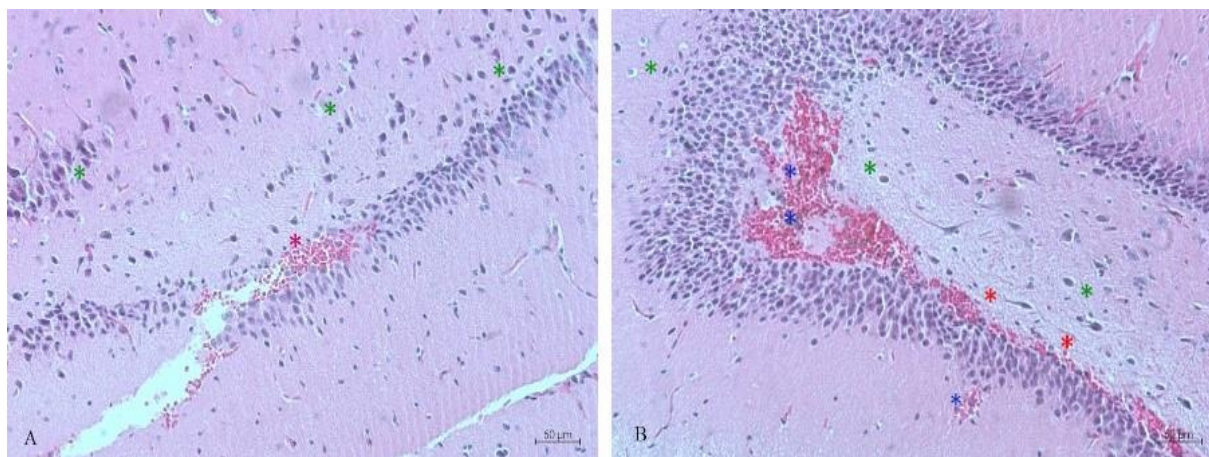
До найбільш візуальних та постійних первинних ушкоджень під час світлової мікроскопії відносили дрібновогнищеві мультифокальні крововиливи, розриви судин мозку та мікроскопічні розриви речовини головного мозку в різних ділянках. На рисунку 6.14 представлено таламус щура Експ групи у 1-у добу посттравматичного періоду, де виявлені розриви нейропіля, крововиливи та паретично розширену судину з мікророзривами і розшаруванням судинної стінки, скупчення гіперхромних нейронів.



Примітки: 1. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Таламус. 2. Літерами позначено: А - scale bar = 100 μm , В - scale bar = 50 μm), 3. * - розриви капілярів, 4. * - екстравазальна агрегація еритроцитів, 5. * - розриви нейропіля, * - перичелюлярний набряк, 6. * - паретично розширені судини.

Рисунок 6.14 - Гістологічне дослідження головного мозку щурів експериментальної групи (1-а доба посттравматичного періоду ВІТГМ).

Патогістологічне дослідження таламуса і вентрального гіпокампа показало також наявні мікроскопічні розриви нейропіля у порушення капілярів ГЕБ, при цьому великих крововиливів не виявили. Також чітко візуалізується перичелюлярний набряк, нерівномірна гіперхромія нейронів (рис. 6.15).



Примітки: 1. Забарвлення гематоксиліном та еозином, 2. Літерами позначено: А - таламус, В - вентральний гіпокамп, scale bar = 50 μ m, 3. * - розриви капілярів, 4. * - екстравазальна агрегація еритроцитів, 5. * - перичелюлярний набряк, * - набряк нейрона.

Рисунок 6.15 - Гістологічне дослідження головного мозку щурів експериментальної групи (1-а доба посттравматичного періоду ВІТГМ).

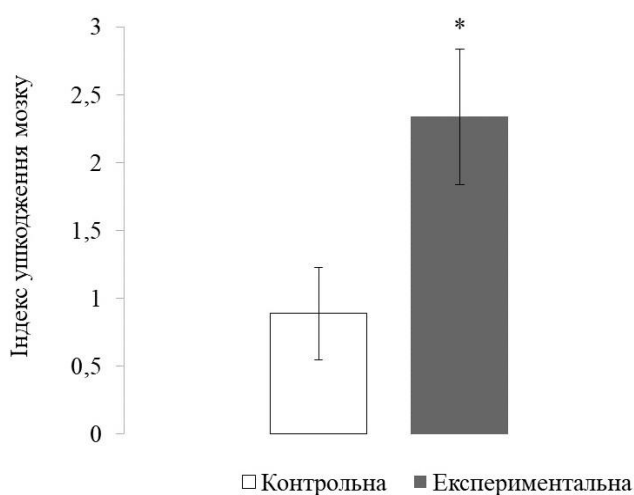
Оцінку первинного ураження речовини головного мозку щурів з ВІТГМ проводили з урахуванням виявлених у 1-у добу посттравматичного періоду в балах за розробленою шкалою оцінок (табл. 6.1).

Таблиця 6.1 - Шкала оцінки первинних гістоструктурних уражень головного мозку

Бал	Тип пошкодження	Описання пошкодження
1	Крововилив	Дрібновогнищева, локальна, внутрішньомозкова
	Розрив нейрона	Відсутні
2	Крововилив	Дрібновогнищевий, багатовогнищевий або великовогнищевий дифузний, внутрішньомозковий
	Розрив нейрона	Відсутні
3	Крововилив	Великовогнищеві, мультифокальні або субарахноїдальні, внутрішньополуничкові
	Розрив нейрона	Розрив сірої або білої речовини головного мозку, незалежно від розміру розриву

У жодному випадку не було виявлено порушення безперервності твердої мозкової оболонки. Слід зазначити, що стосовно до серединної умовної лінії при аналізі зрізів лобних відділів головного мозку Експ тварин ступінь і поширення ушкоджень (крововиливи, розриви мозкової тканини) були асиметричними, мали дифузний характер.

За результатами розрахунків відповідно шкалі оцінки первинних гістоструктурних змін головного мозку (табл. 6.1) було розраховано індекс ушкодження. За результатами проведених розрахунків були виявлені достовірні відмінності між показниками щурів Експ групи ($2,34 \pm 0,52$ од.) порівняно з Контр групою ($0,83 \pm 0,41$ од.), тобто індекс в Експ групі був значно вище - на 65%, при $p < 0,05$ у Експ тварин навіть після впливу ВХ з тиском, що призводить до розвитку легкої вибухо-індукованої травми головного мозку (рис. 6.16).



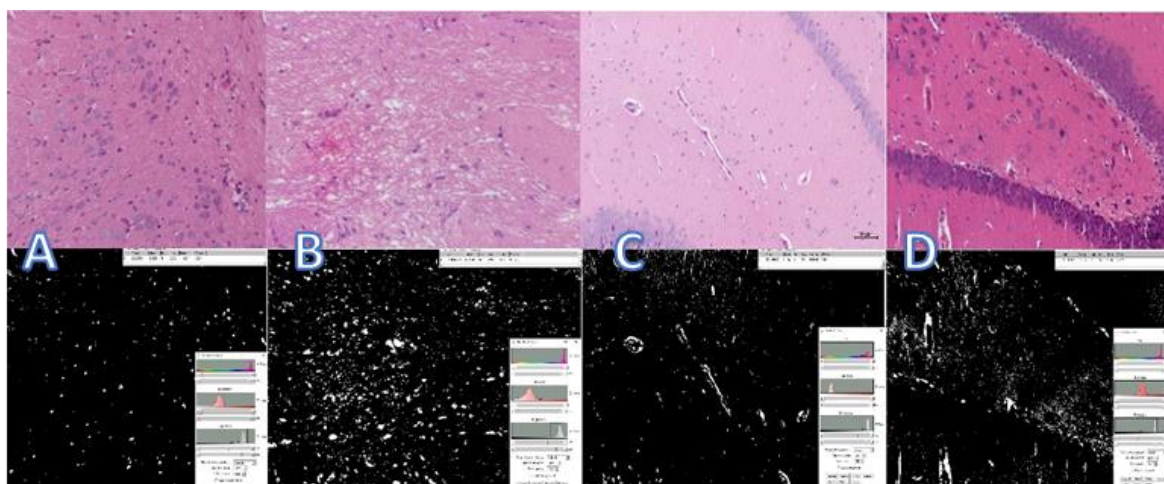
Примітки: 1. Вертикальна шкала - індекс ушкодження мозку, 2. * - випадки достовірної ($p < 0,05$) різниці між групами Експ ($n=24$) та Контр ($n=24$).

Рисунок 6.16 - Бальна оцінка первинних гістоструктурних уражень головного мозку щурів з ВІТГМ.

При подальшому аналізі змін головного мозку щурів встановлено, що відносна площа периваскулярного та перицелюлярного набряку у корі головного мозку щурів Контр групи становила $1,3 \pm 0,06\%$ (рис. 6.17 А).

Одночасно, відносна площа периваскулярного та перицелюлярного набряку у корі головного мозку тварин Експ групи становила $5,1 \pm 0,04\%$, що на 75% ($p < 0,01$) вище за показник Контр тварин (рис. 6.17 В).

В гіпокампі щурів Контр групи відносна площа набрякового компонента становила $1,9 \pm 0,05\%$ (рис. 6.17 С), у Експ щурів - $4,7 \pm 0,04\%$, що на 60% ($p < 0,01$) вище (рис. 6.17 D).

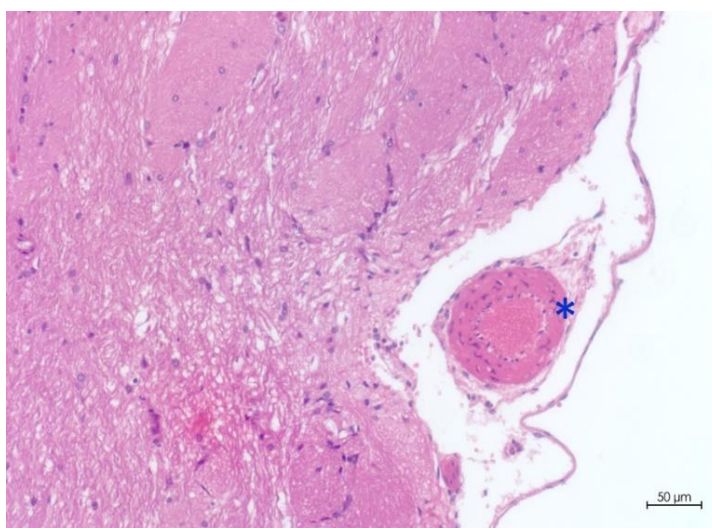


Примітки: 1. Забарвлення: гематоксилін та еозин, 2. Літерами позначено: А - кора головного мозку Контр щура, В - кора головного мозку Експ щура, С - Гіпокамп Контр щура (n=24), D - Гіпокамп Експ щура.

Рисунок 6.17 - Цифровий аналіз гістологічних препаратів кори головного мозку та гіпокампу щурів з використанням плагінів ImageJ.

Клітини головного мозку мають високий рівень метаболічних процесів, що вимагає адекватного артеріального кровопостачання і венозного відтоку. Судини головного мозку утворюють систему гематоенцефалічного бар'єра, що відокремлює його паренхіму від крові та забезпечує виключно вибіркове надходження речовин, в тому числі нейротоксичних компонентів, до головного мозку і чітко регулює надходження у кров речовин з мозку. ГЕБ

включає неперервний ендотелій гемокапілярів із щільними міжклітинними контактами, які власне й забезпечують вибірккову їх проникність, та щільну потовщену базальну мембрану, що є суцільною. Судини ГЕБ охоплюють ніжки астроцитів, формують неперервний шар та регулюють роботу ендотеліоцитів і також забезпечують особливу проникність цього бар'єру (рис. 6.18).



Примітки: 1. Забарвлення гематоксиліном та еозином, scale bar = 50 μm, 2. * - судина головного мозку.

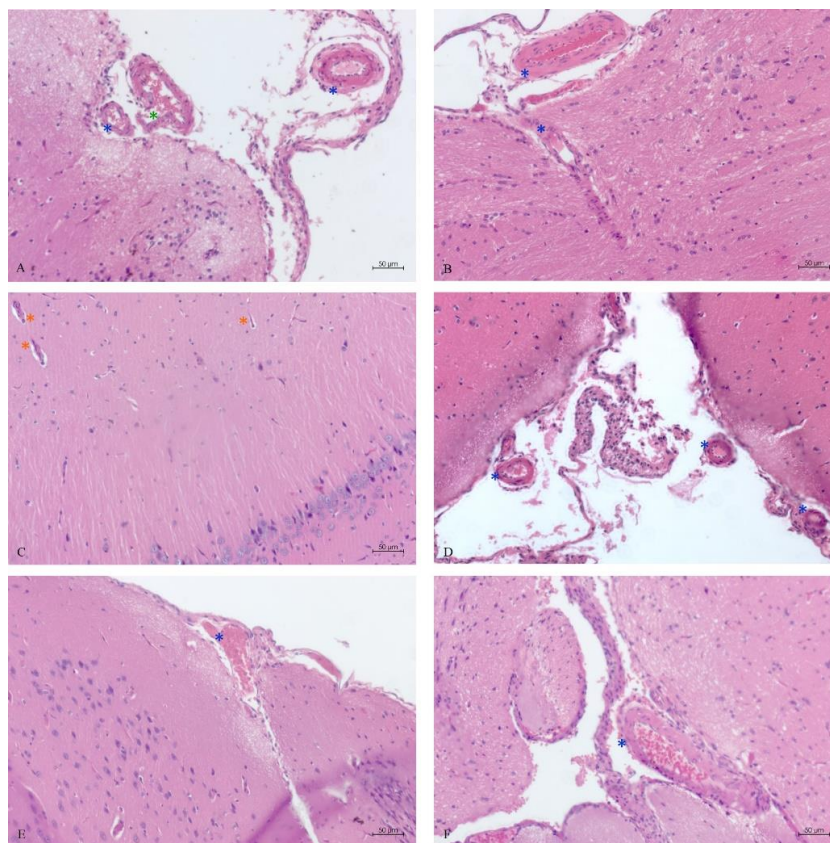
Рисунок 6.18 - Поперековий гістологічний зріз підоболонкової субпіальної артерії головного мозку щура контрольної групи.

Порушення судин головного мозку, стінка яких входить до складової гематоенцефалічного бар'єра, спостерігали у Експ щурів протягом усього періоду дослідження починаючи з 1-ї доби.

Серед змін, які виникали в судинах мозку після впливу ВХ упродовж посттравматичного періоду, провідне значення мали фокальні порушення цілісності судинної стінки в кортикальних та гіпокампальних гемокапілярах, венулярній ланці підоболонкових судин; зміни морфології ендотелію обмінних судин; нерівномірне кровонаповнення судин мозку.

Порушення цілісності стінки судин супроводжувалося появою діapedезних та дрібновогнищевих крововиливів, виходом нейтрофілів та

формуванням навколосудинних інфільтратів з поліморфноядерних клітин на 1-у добу (рис. 6.19 А) і збереглося на 3-ю (рис. 6.19 В) і на 7-у добу (рис. 6.19 С) в групі Експ тварин.

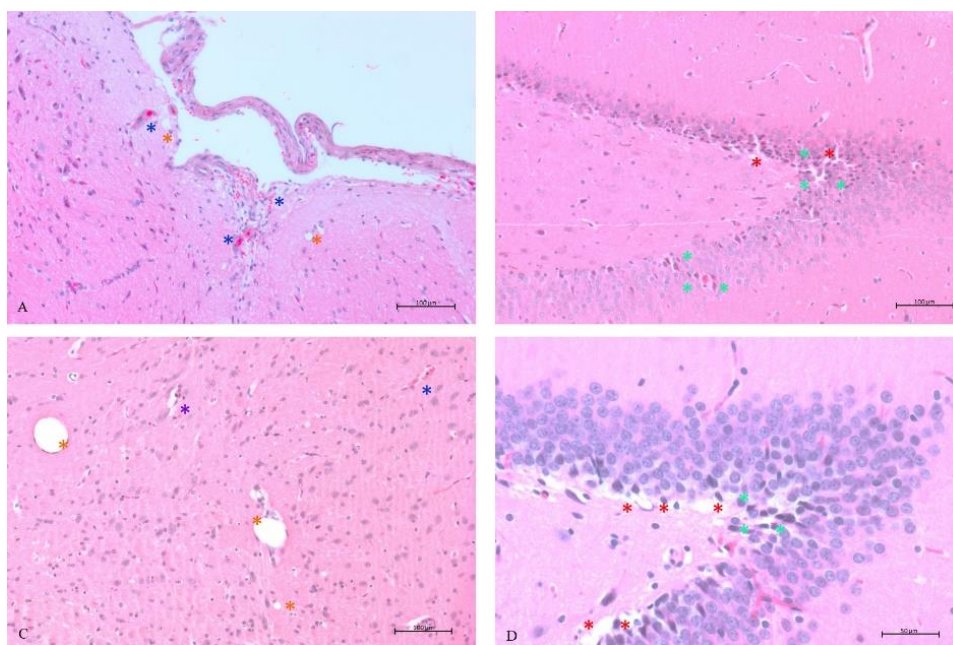


Примітки: 1. Забарвлення: гематоксилін та еозин, scale bar = 50 μm , 2. Літерами позначено: А - 1 доба (n=4), В - 3 доба (n=4), С - 7 доба (n=4), D - 14 доба (n=4), Е - 21 доба (n=4), F - 28 доба (n=4) посттравматичного періоду), 3. * - судина головного мозку, 4. * - розрив судини, 5. * - периваскулярний набряк.

Рисунок 6.19 - Субпіальні судини головного мозку щурів Експ групи.

До кінця третього тижня експерименту на гістопрепаратах головного мозку нами фіксувалося нерівномірне кровонаповнення судин мікроциркуляторного русла, яке було обумовлено порушенням прохідності гемокапілярів внаслідок набряку ендотеліальних клітин та порушенням реологічних властивостей крові з формуванням стазів та агрегацією формених елементів крові (рис. 6.19 D, E, F). Також на прохідність гемокапілярного русла впливав периваскулярний набряк, який зростав в перший тиждень посттравматичного періоду (рис. 6.19 С).

Найбільшу увагу, після впливу ВХ на головний мозок, привертають зміни в церебральній судинній системі. В ранньому періоді посттравматичного процесу виникають значні порушення кровообігу як регіонарного, так і дифузного характеру. На рисунку 6.20 (А) представлено зріз кори головного мозку Експ щура на 14-у добу посттравматичного періоду, де чітко візуалізуються нерівномірне кровонаповнення підболонкових та внутрішньомозкових судин, а також периваскулярний та перицелюлярний набряк.



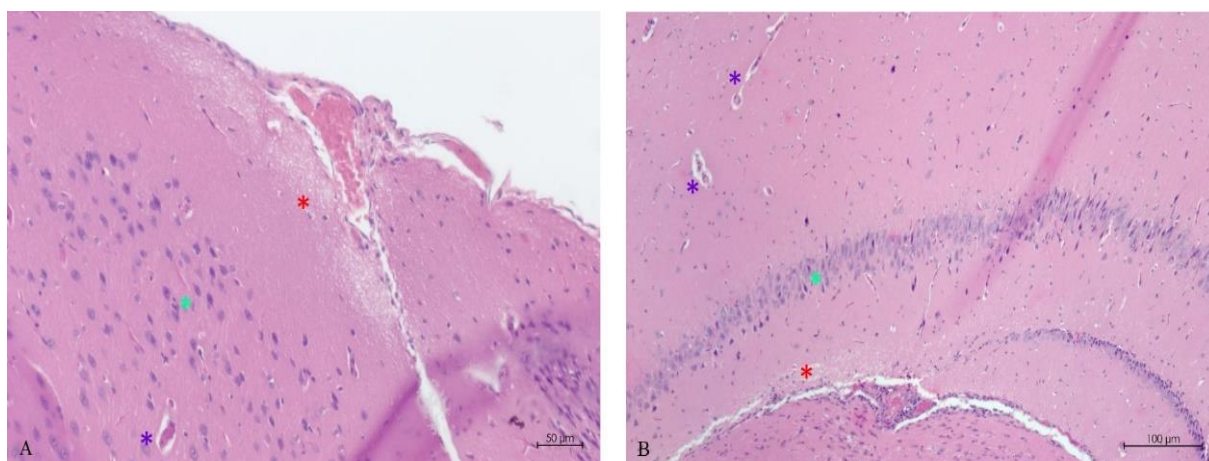
Примітки: 1. Забарвлення: гематоксилін та еозин, 2. Літерами позначено: А - кора головного мозку (14 доба (n=4), scale bar = 100 μm), В - гіпокамп (14 доба (n=4), scale bar = 100 μm), С - кора головного мозку (21 доба (n=4), scale bar = 100 μm), D - гіпокамп (21 доба (n=4), scale bar = 50 μm), 3. * - розриви капілярів, 4. * - паретично розширені судини, 5. * - набряк нейропілю, 6. * - нерівномірно забарвлені нейрони, 7. * - периваскулярний набряк.

Рисунок 6.20 - Гістологічне дослідження головного мозку щурів експериментальної групи.

Подібну гістологічну картину, а також неоднорідність забарвлення (гіперхромію) нейронів у 14-у добу встановили й в гіпокампі Експ тварин (рис. 6.20 В). На 21-у добу в корі гіпокампа Експ щурів (рис. 6.20 С) окрім порушення кровонаповнення судин, встановили наявні паретично розширені

внутрішньомозкові вени та венули. А у гіпокампі Експ тварин у 21-у добу додатково до збереженого порушення кровонаповнення судин помітили гіпереозинофільні нейрони та виразний набряк у субгранулярному шарі (рис. 6.20 D).

Подальше гістологічне дослідження також показало збереження й у 28-у добу посттравматичного періоду нерівномірного кровонаповнення підболонкових та внутрішньомозкових судин, периваскулярний та перицелюлярний набряк, паретичне розширення дренажних внутрішньомозкових судин, а також нерівномірно розташовані гіпереозинофільні нейрони у корі головного мозку (рис. 6.21 А) та у гіпокампі (рис. 6.21 В) тварин Експ групи.



Примітки: 1. Забарвлення: гематоксилін та еозин, 2. Літерами позначено: А - кора головного мозку (28 доба (n=4), scale bar = 50 μm), В - гіпокамп (28 доба (n=4), scale bar = 100 μm), 3. * - набряк нейропілю, 4. * - нерівномірно забарвлені нейрони, 5. * - периваскулярний набряк.

Рисунок 6.21 - Гістологічне дослідження головного мозку щурів експериментальної групи.

Як показали гістологічні зміни як в корі головного мозку, так і в гіпокампі експериментальних тварин підвищувалася проникність ГЕБ без їх механічного розриву, що було підтверджено наявністю клітинних елементів крові в нейропілі, які, вочевидь, проникали діapedезно. Також виявили значний перицелюлярний, паравазальний набряк, що пов'язаний в першу

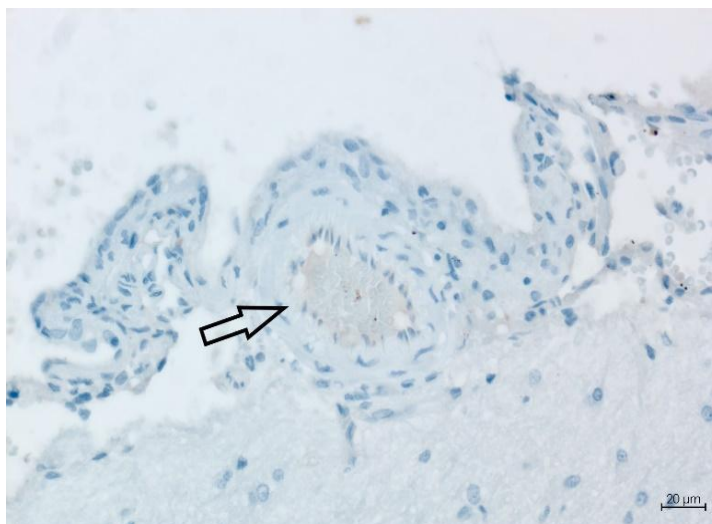
чергу з порушенням регуляції на рівні нервово-судинної одиниці головного мозку в наслідок прямої імпульсної механічної дії ВХ з подальшим зсувом, розтягненням та розшаруванням мозкових судин і розривом мозкової речовини. Нерівномірність накопичення фарбника (гематоксиліну та еозину) у клітинах головного мозку, а саме гіперхромія, вказують на тривалі порушення метаболізму цих клітин.

6.3 Аналіз експресії імуногістохімічних маркерів ушкодження головного мозку

В зв'язку із наявним порушенням проникності гематоенцефалічного бар'єра, цілісності судинної стінки, регіонального кровозабезпечення у щурів з легкою вибухово-індукованою травмою головного мозку було вирішено дослідити ступінь експресії маркеру гіпоксії та ішемії – eNOS. Адже відомо, що фізіологічно eNOS є ключовим ензимом для синтезу оксиду азоту (NO) в ендотелії судин. В свою чергу, NO відповідає за розширення судин, що сприяє покращенню кровопостачання до мозкових тканин. Адекватне функціонування eNOS є вкрай важливим для забезпечення адекватного кровотоку в головному мозку. Вивчення активності eNOS судин головного мозку при експериментальній ВІТГМ сприятиме поглибленню знань про його значення у регулюванні кровопостачання мозку та його вплив на циркуляцію крові і роль у патогенезі такого виду травми. Також, отримані результати допомагатимуть розробці профілактики та можливість використання фармакологічних агентів, що модулюють його активність, для корекції порушень судинного тонуусу та кровотоку при патології мозку, що досліджується.

Незначну експресію eNOS виявили у взірцях щурів Контр групи, що свідчить про збалансовану регуляцію судинного тонуусу здорових тварин та,

відповідно, про достатній рівень кровопостачання головного мозку, тобто є нормальним фізіологічним явищем (рис. 6.22).



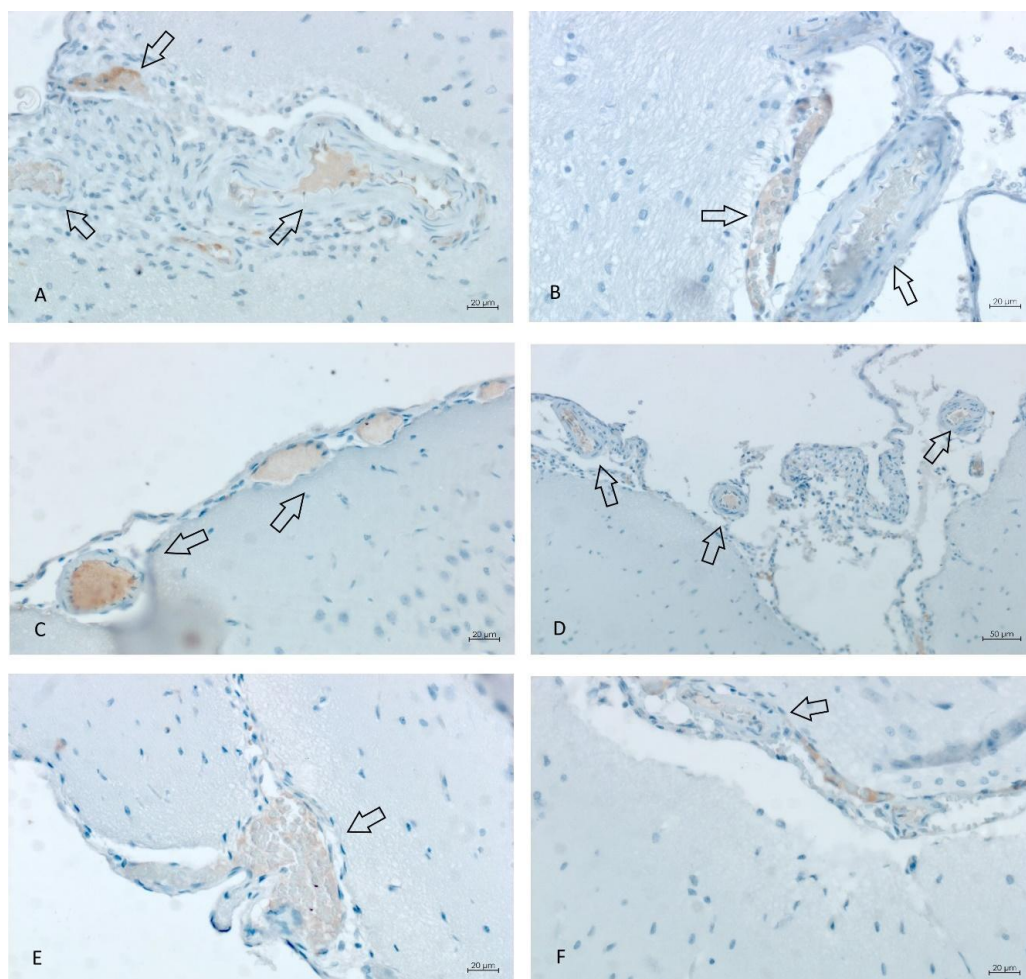
Примітка. Стрілкою указана наявна експресія eNOS, scale bar = 20 μ m.

Рисунок 6.22 - Експресія eNOS у субпіальній артерії головного мозку щура контрольної групи.

Візуальне порівняння отриманих результатів імуногістохімічного визначення eNOS в судинах головного мозку щурів Експ та Контр тварин показало значну експресію цього ензиму в судинах головного мозку щурів з ВІТГМ у 1-у (рис. 6.23 А) та 3-ю добу (рис. 6.23 В).

Форма судин, в яких нами відзначалась експресія eNOS, мала гофроподібний вигляд, шар ендотелію та базальна мембрана потовщені за рахунок набряку, частина судин була паретично розширена або колапсована (рис. 6.23 А, В).

В динаміці подальшого перебігу, з 7-14-ї доби (рис. 6.23 С, D) посттравматичного періоду ВІТГМ, експресія eNOS у судинах головного мозку щурів Експ групи поступово зменшувалася і на 21-у (рис. 6.23 Е) та 28-у (рис. 6.23 F) добу майже не відрізнялася від взірців щурів Контр групи. Проте збільшення діаметра судин все ще зберігалось.



Примітки: 1. Стрілками указана наявна експресія eNOS, scale bar = 20 μm , 2. Літерами позначено: А - 1 доба (n=4), В - 3 доба (n=4), С - 7 доба (n=4), D - 14 доба (n=4), Е - 21 доба (n=4), F - 28 доба (n=4) посттравматичного періоду, scale bar = 20 μm .

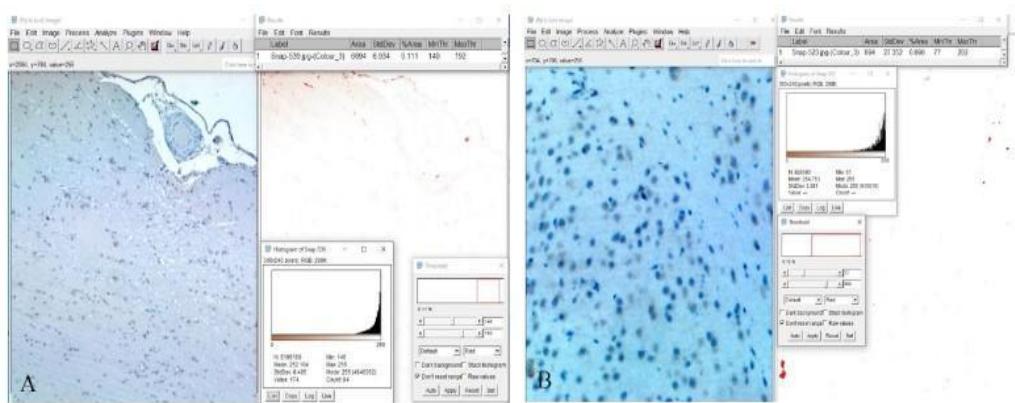
Рисунок 6.23 - Експресія eNOS у судинах головного мозку щурів експериментальної групи.

Такі зміни у період 1-3-я доба, з одного боку, можуть бути наслідком оксидативного стресу, активації запальних процесів, а з іншого, можуть спричинити їх розвиток через порушення кровообігу та живлення тканин. Вважаємо, що такі зміни можуть бути вагомою ланкою у патогенезі вторинного ушкодження нейронів та гліальних клітин. А порушення гемодинаміки через вазодилатацію також сприяє розвитку набряку мозкової речовини.

Також, у дослідженні була проведена оцінка інтенсивності забарвлення та відносної площі експресії маркеру MMP-2 в корі головного мозку та

гіпокампі щурів Експ та Контр груп. Це пов'язано із тим, що MMP-2 вважається маркером ушкодження судин, нейронів, набряку та запалення головного мозку. Відомо, що MMP-2 належить до сімейства матриксних металопротеїназ, які відіграють ключову роль у ремоделюванні позаклітинного матриксу, зокрема розщеплюючи компоненти базальної мембрани судин. За участю MMP-2, що експресується в цитоплазмі клітин кори головного мозку та гіпокампу, відбувається активація процесів протеолізу. В свою чергу, вільні радикали, які є факторами вторинної альтерації, зокрема й при ВІТГМ, можуть безпосередньо активувати латентну MMP-2. Тож, підвищена активність MMP-2 асоціюється з ушкодженням ГЕБ, деградацією судинних структур і розвитком набряку мозку.

Проведене дослідження показало значні відмінності у експресії MMP-2 у взірцях головного мозку Експ та Контр тварин, аналіз яких виконали за допомогою програми для обробки зображень ImageJ (рис. 6.24-6.30).



Примітка. Літерами позначено: А - кора головного мозку; В - гіпокамп.

Рисунок 6.24 - Оцінка інтенсивності забарвлення маркером MMP-2 та відносної площі експресії MMP-2 в корі головного мозку та гіпокампі щура контрольної групи.

На рисунку 6.24 чітко візуалізується незначна експресія MMP-2, що має регуляторне значення. Гістограма демонструє помірний розподіл яскравості (інтенсивності) помічених маркером структур.

Середнє значення інтенсивності забарвлення MMP-2 в корі головного мозку тварин Контр групи було на рівні $252,11 \pm 8,49$ од. В гіпокампі Контр тварин середнє значення інтенсивності забарвлення MMP-2 було на рівні $254,75 \pm 3,39$ од. В результаті проведеної оцінки відносної площі експресії MMP-2 в корі головного мозку щурів Контр групи встановили середню цього показника у межах $0,11 \pm 0,002$ од., а в гіпокампі Експ тварин цей показник був на рівні $0,10 \pm 0,001$ од.

Цей же аналіз показав, що у більшості експериментальних випадків забарвлення цитоплазми нейронів було рівномірним, але подекуди визначали вогнищеві реакції, особливо в місцях скупчення спеціалізованих нейронів, олігодендроцитів та астроцитів.

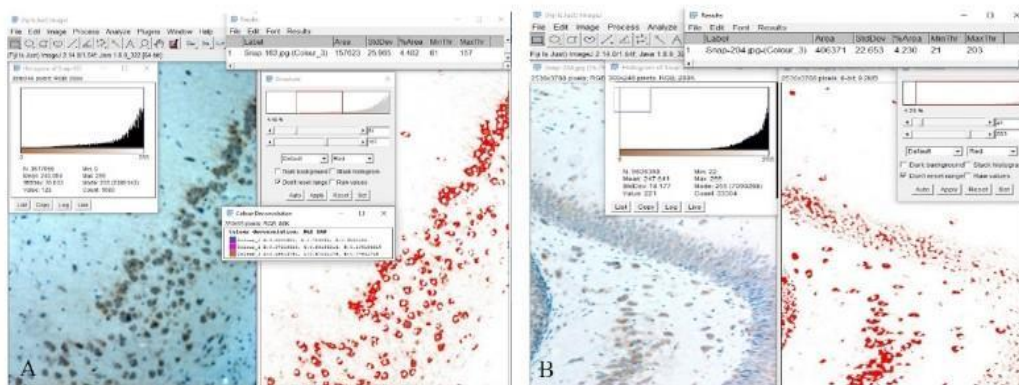
Оцінка інтенсивності забарвлення маркером MMP-2 у корі головного мозку щурів Експ групи показала коливання від $240,05 \pm 35,03$ од. (найсвітліший зразок) до $217,66 \pm 11,31$ од. (найтемніший) з 1-ї до 28-ї доби спостереження, тобто у 28-у добу встановили тенденцію до збільшення експресії MMP-2 (на 9%, $p > 0,05$).

Аналіз інтенсивності забарвлення клітин гіпокампа Експ тварин з 1-ї до 7-ї доби спостереження показав, що цифри коливалися від $247,64 \pm 18,18$ од. (найсвітліший зразок) до $199,58 \pm 26,97$ од. (найтемніший) відповідно й до $223,03 \pm 14,81$ од. у 28-у добу.

Оцінка відносної площі експресії MMP-2 в корі головного мозку тварин Експ групи показала коливання з 1-ї до 28-ї доби посттравматичного періоду у межах з $4,48 \pm 0,03$ од. до $3,96 \pm 0,02$ од., тобто мала тенденцію до зниження на 12% ($p > 0,05$), а в гіпокампі Експ тварин цей показник мав тенденцію до збільшення з $4,23 \pm 0,08$ од. до $7,27 \pm 0,81$ од., на 42%, при $p < 0,05$ (рис. 6.25-6.30).

В цілому встановили збільшення інтенсивності забарвлення та відносної площі експресії маркера MMP-2 в динаміці посттравматичного періоду в щурів Експ групи, що свідчить про зменшення запальної реакції, ушкодження нейронів та нейроваскулярного матриксу, що має прогностично позитивне значення. Проте, в окремі періоди встановили зростання показників, що визначали.

Аналіз рисунка 6.25 показав значну експресію MMP-2 в місцях локалізації спеціалізованих нейронів як кори головного мозку (А), так і у гіпокампі (В). Кількісна оцінка інтенсивності забарвлення маркером MMP-2 показала, що у 1-у добу середнє значення цього показника у корі головного мозку щурів Експ групи було у межах $240,05 \pm 35,03$ од., що мало тенденцію до збільшення на 5% ($p > 0,05$) порівняно із показниками тварин Контр групи. Проте, відносна площа експресії MMP-2 у корі головного мозку Експ щурів у 1-у добу перебігу ВІТГМ була у межах $4,48 \pm 0,03$ од., що на 98% ($p < 0,01$) вище за таку у щурів Контр групи.



Примітка. Літерами позначено: А - кора головного мозку; В - гіпокамп.

Рисунок 6.25 - Оцінка інтенсивності забарвлення маркером MMP-2 та відносної площі експресії MMP-2 в корі головного мозку та гіпокампі щура експериментальної групи у 1-у добу посттравматичного періоду.

В той самий час, у гіпокампі Експ тварин інтенсивність MMP-2 була в межах $247,64 \pm 18,18$ од., що мала тенденцію до збільшення на 3% ($p > 0,05$) за

цей показник у візрях гіпокампа Контр тварин. При цьому відносна площа ММР-2 у гіпокампі Експ тварин була на рівні $4,23 \pm 0,08$ од., що на 98% ($p < 0,001$) більше, ніж у гіпокампі щурів Контр групи.

Порівняння показника інтенсивності ММР-2 між корою головного мозку та гіпокампом Контр тварин показало, що у гіпокампі цей показник мав тенденцію до підвищення ніж у корі на 1% ($p > 0,05$).

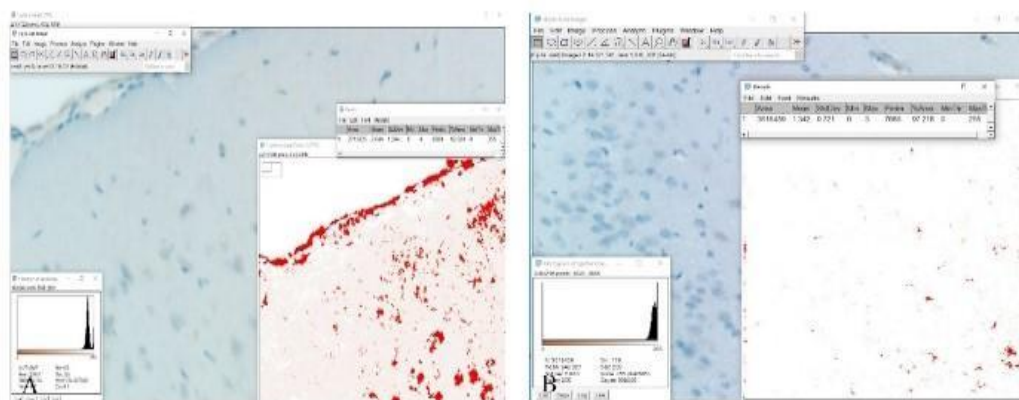
Також встановили, що у гіпокампі Експ щурів експресія ММР-2 мала тенденцію до зменшення на 3% ($p > 0,05$), порівняно з корою головного мозку. Зіставлення середніх відносної площі ММР-2 у корі головного мозку та гіпокампі Контр тварин показало тенденцію до збільшення інтенсивності експресії ММР-2 у корі (9%, $p > 0,05$).

Порівняння показників відносної площі ММР-2 у корі та гіпокампі Експ щурів у 1-у добу посттравматичного періоду показало тенденцію до підвищення її у корі головного мозку на 6% ($p > 0,05$).

Надалі, у 3-ю добу після впливу ВХ встановили інтенсивність забарвлення ММР-2 у корі головного мозку Експ щурів у межах $236,62 \pm 6,7$ од., що мала тенденцію до підвищення активності на 6% ($p < 0,05$) порівняно з показником Контр тварин.

А також інтенсивність ММР-2 у корі головного мозку Експ тварин у 3-ю добу мала тенденцію до підвищення на 1% ($p > 0,05$) порівняно зі значенням цього показника у 1-у добу посттравматичного періоду.

Відносна площа ММР-2 у корі головного мозку Експ тварин була на рівні $4,08 \pm 0,03$ од., тобто з тенденцією до зменшення на 9% ($p > 0,05$), ніж у 1-у добу спостереження та на 97% ($p < 0,001$) більше за таку в корі головного мозку Контр щурів (рис. 6.26).



Примітка. Літерами позначено: А - кора головного мозку; В - гіпокамп.

Рисунок 6.26 - Оцінка інтенсивності забарвлення маркером ММР-2 та відносної площі експресії ММР-2 в корі головного мозку та гіпокампі щура експериментальної групи у 3-ю добу посттравматичного періоду.

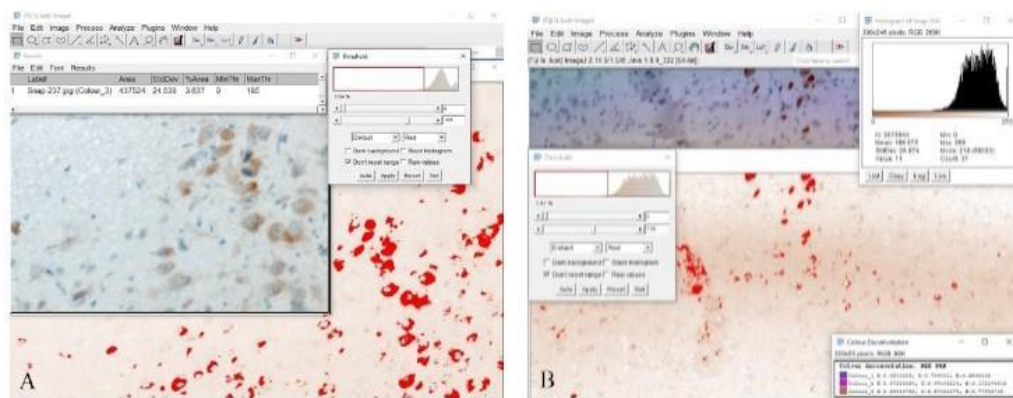
Середнє значення інтенсивності забарвлення ММР-2 у гіпокампі Експ тварин у 3-ю добу посттравматичного періоду була у межах $248,93 \pm 5,8$ од., тобто мала тенденцію до збільшення на 1,29 од. ($p > 0,05$) у порівнянні з 1-ою добою дослідження. Порівняння з Інт тваринами також показало тенденцію до збільшення інтенсивності ММР-2 у гіпокампі Експ щурів (2%, $p > 0,05$).

Відносна площа ММР-2 у Експ тварин у 3-ю добу була на рівні $2,77 \pm 0,06$ од. та мала тенденцію до зниження на 35% ($p < 0,05$) порівняно з 1-ю добою посттравматичного періоду. Проте, цей показник у гіпокампі Експ тварин був значно вищим за Контр показник - на 96%, при $p < 0,001$ (рис. 6.26).

Зіставлення значень інтенсивності забарвлення маркером ММР-2 у корі головного мозку та гіпокампі щурів Експ групи показало, що цей показник мав тенденцію до зменшення на 5% ($p > 0,05$) у гіпокампі. Відносна площа ММР-2 у гіпокампі Експ тварин також мала тенденцію до зменшення на 32% ($p < 0,05$), порівняно з показником у корі головного мозку тварин цієї ж групи.

В наступний етап спостереження - на 7-у добу встановили, що інтенсивність забарвлення маркером ММР-2 у корі головного мозку Експ тварин була в межах $222,03 \pm 18,82$ од., що мала тенденцію до підвищення на

8% ($p>0,05$) порівняно з 1-ю добою посттравматичного періоду і на 12% ($p<0,05$) більше порівняно з показником тварин Контр групи (рис. 6.27).



Примітка. Літерами позначено: А - кора головного мозку; В - гіпокамп.

Рисунок 6.27 - Оцінка інтенсивності забарвлення маркером ММР-2 та відносної площі експресії ММР-2 в корі головного мозку та гіпокампі щура експериментальної групи у 7-у добу посттравматичного періоду.

Відносна площа експресії ММР-2 у корі головного мозку Експ щурів у 7-у добу посттравматичного періоду була на рівні $3,63 \pm 0,02$ од., тобто встановили тенденцію до зменшення на 19% ($p<0,05$) порівняно з 1-ю добою спостереження та на 97% ($p<0,001$) збільшилась у порівнянні з Контр показниками.

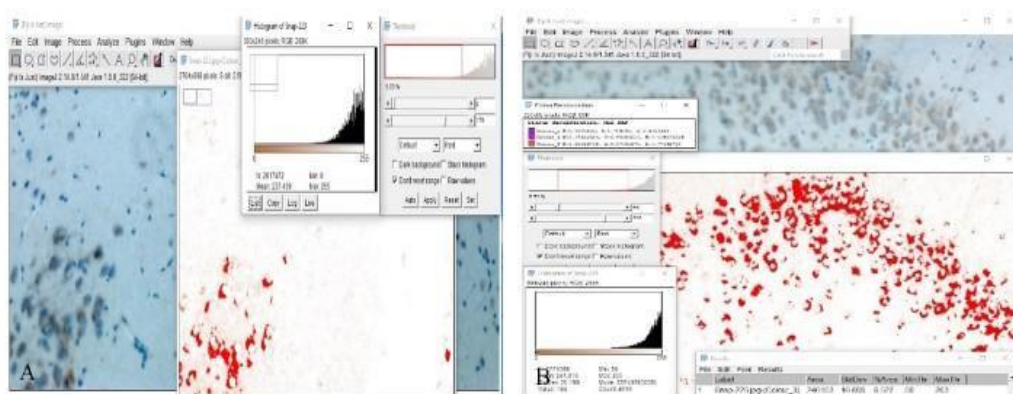
В цей же період, інтенсивність забарвлення ММР-2 у гіпокампі Експ тварин була на рівні $199,58 \pm 26,97$ од., тобто експресія збільшилась 52% ($p<0,01$) порівняно з показником у 1-у добу та на 22% ($p<0,01$) у порівнянні з інтенсивністю ММР-2 у гіпокампі Контр тварин.

Також, у гіпокампі травмованих щурів на 7-у добу відносна площа ММР-2 була у межах $1,31 \pm 0,07$ од., що зменшилась на 69% ($p<0,01$) порівняно з 1-ю добою посттравматичного періоду. Порівняння з Контр групою показало, що відносна площа ММР-2 у гіпокампі Експ щурів була статистично значно більшою - на 92% при $p<0,001$ (рис. 6.27).

Також, зіставлення інтенсивності забарвлення маркером MMP-2 між корою головного мозку та гіпокампом Експ щурів у 7-у добу дослідження показало у корі тенденцію до зниження на 10% ($p>0,05$).

Водночас відносна площа експресії MMP-2 була більшою на 64% ($p<0,01$) у корі головного мозку порівняно з гіпокампом у травмованих щурів.

За результатами проведеної оцінки інтенсивності забарвлення MMP-2 у 14-у добу посттравматичного періоду встановили також встановили значні зміни (рис. 6.28).



Примітка. Літерами позначено: А - кора головного мозку; В - гіпокамп.

Рисунок 6.28 - Оцінка інтенсивності забарвлення маркером MMP-2 та відносної площі експресії MMP-2 в корі головного мозку та гіпокампі щурів експериментальної групи у 14-у добу посттравматичного періоду.

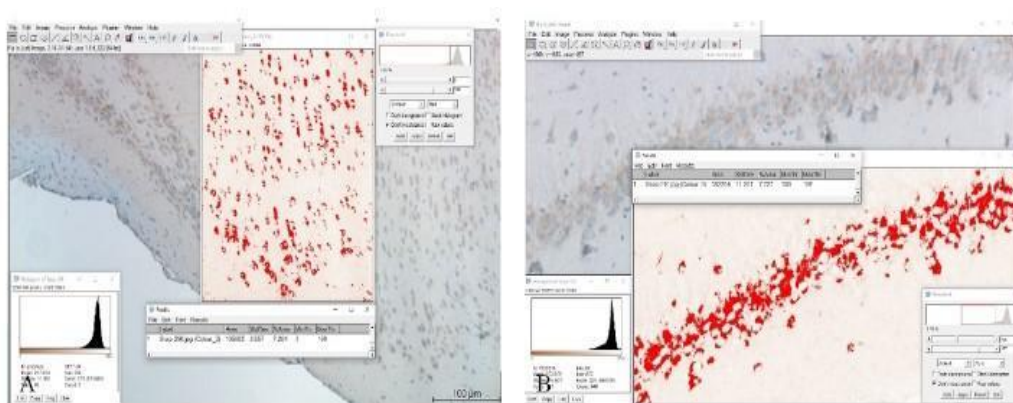
А саме у корі головного мозку цей показник був на рівні $237,46 \pm 24,56$ од., тобто встановили тенденцію до збільшення на 1% ($p>0,05$) за 1-у добу дослідження й на 6% ($p>0,05$) у порівнянні з показником у тварин Контр групи.

Відносна площа MMP-2 у корі головного мозку Експ тварин на 14-у добу дослідження була у межах $3,03 \pm 0,06$ од. та мала тенденцію до зменшення на 32% ($p<0,05$) порівняно з 1-ю добою у цій групі, й збільшилась порівняно з Контр показником на 96%, при $p<0,001$. Водночас у гіпокампі Експ тварин інтенсивність забарвлення MMP-2 у середньому була в межах

241,32±20,17 од., що свідчить про тенденцію до підвищення активності на 3% ($p>0,05$), ніж у 1-у добу посттравматичного періоду, а також тенденцію до зростання на 5% ($p>0,05$) у порівнянні з цим показником у гіпокампі щурів Контр групи. Також, у гіпокампі Експ тварин на 14-у добу спостереження середній показник відносної площі MMP-2 становив $6,53\pm0,17$ од., тобто виявили тенденцію до збільшення на 35% ($p<0,05$) у порівнянні з показником 1-ї доби посттравматичного періоду, а також був вище на 98% ($p<0,001$) порівняно з Контр групою.

Аналіз середніх значень інтенсивності забарвлення MMP-2 Експ щурів у 14-у добу посттравматичного періоду показав, що у гіпокампі вона мала тенденцію до зменшення на 2% ($p>0,05$) порівняно з корою головного мозку. При цьому відносна площа MMP-2 у гіпокампі Експ тварин була більшою на 54% ($p<0,01$) у порівнянні з експресією MMP-2 у корі головного мозку.

У 21-у добу дослідження встановили, що середнє значення інтенсивності забарвлення маркером MMP-2 у корі головного мозку Експ тварин мала значення у межах $217,66\pm11,31$ од., що свідчить про тенденцію до підвищення активності MMP-2 на 9% ($p>0,05$) порівняно з показником 1-ї доби посттравматичного періоду (рис. 6.29).



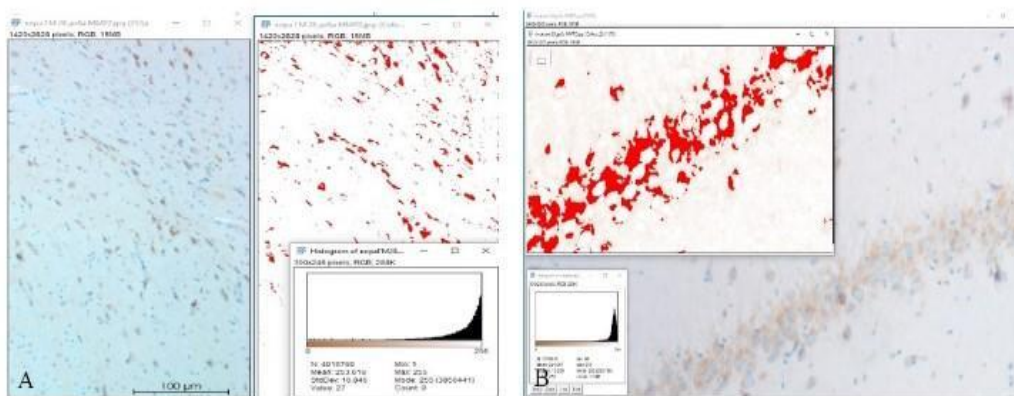
Примітка. Літерами позначено: А - кора головного мозку; В - гіпокамп.

Рисунок 6.29 - Оцінка інтенсивності забарвлення маркером MMP-2 та відносної площі експресії MMP-2 в корі головного мозку та гіпокампі щурів експериментальної групи у 21-у добу.

Також, цей показник у корі Експ тварин мав тенденцію до зменшення на 14% ($p>0,05$) у порівнянні з Контр щурами. Відносна площа ММР-2 у корі головного мозку щурів Експ групи мала тенденцію до підвищення на 38% ($p<0,05$) порівняно з 1-ю добою посттравматичного періоду й на 98% ($p<0,001$) вище за цей показник у корі головного мозку Контр тварин.

Подальший аналіз показав, що інтенсивність ММР-2 у гіпокампі Експ тварин у 21-у добу дослідження була на рівні $223,03 \pm 14,81$ од., тобто мала тенденцію до підвищення активності на 10% ($p>0,05$) порівняно із 1-ю добою. І також інтенсивність ММР-2 у гіпокампі щурів Експ групи мала тенденцію до підвищення на 12% ($p<0,05$) у порівнянні з показником Контр групи. При цьому відносна площа ММР-2 у гіпокампі Експ тварин у 21-у добу була більше на 45% ($p<0,01$) порівняно з показником у 1-у добу та на 99% ($p<0,0001$) у порівнянні з Контр групою.

Також збільшення інтенсивності ММР-2 у корі головного мозку та гіпокампі Експ тварин порівняно з Контр тваринами встановили й на 28-у добу (рис. 6.30).



Примітка. Літерами позначено: А - кора головного мозку; В - гіпокамп.

Рисунок 6.30 - Оцінка інтенсивності забарвлення маркером ММР-2 та відносної площі експресії ММР-2 в корі головного мозку та гіпокампі щурів експериментальної групи у 28-у добу.

А саме, інтенсивність у корі головного мозку Експ тварин мала тенденцію до підвищення на 3% ($p < 0,05$) та у гіпокампі на 5% ($p < 0,05$) за показники Контр тварин. Зіставлення цього показника у 28-у добу з 1-ю добою встановило, що інтенсивність ММР-2 у корі головного мозку мала тенденцію до зменшення на 1% ($p > 0,05$) та у гіпокампі, навпаки, тенденцію до збільшення на 3%, при $p > 0,05$.

Відносна площа експресії ММР-2 у корі головного мозку Експ щурів у 28-у добу спостереження мала тенденцію до зменшення на 12% ($p < 0,05$) порівняно із 1-ю добою перебігу ВІТГМ, що свідчить про підвищення експресії ММР-2. Порівняння з Контр значеннями показало, що відносна площа ММР-2 у корі головного мозку була більше у Експ тварин на 97% ($p < 0,001$). При цьому, відносна площа експресії ММР-2 у гіпокампі Експ тварин у 28-у добу збільшилась на 42% ($p < 0,01$) порівняно з 1-ю добою перебігу ВІТГМ та була більшою за показник Контр тварин на 99% ($p < 0,001$).

Розподіл значень експресії ММР-2 за термінами дослідження демонструє, що рівні інтенсивності експресії ММР-2 кори головного мозку були відмінними, ніж гіпокампа, незалежно від термінів дослідження, що може свідчити про різну тяжкість ураження структур головного мозку після впливу ВХ.

Аналіз отриманих результатів щодо відносної площі експресії в динаміці посттравматичного періоду показав, що в Експ групі площа експресії як в корі головного мозку, так і в гіпокампі суттєво перевищує показники інтактної групи. В корі головного мозку в пізньому посттравматичному періоді зафіксовані найбільші показники ділянок експресії, найменші – на 7-у та 14-у добу. Аналогічні тенденції спостерігалися й у гіпокампі.

Отримані результати вказують, що ММР-2 має розповсюджену експресію у головному мозку та, вочевидь, залучається до ушкодження ГЕБ.

Резюме

Встановлено, що виявлені ушкодження у вигляді крововиливів в речовину мозку та розривів стінок судин і тканини мозку, спричинені безпосередньою травматичною дією вибухової хвилі. В гострому посттравматичному періоді гістопатологічні та ультраструктурні зміни в головному мозку можуть проявлятися як змінами нейронів (нейрони з гіпереозинофілією цитоплазми та набряком, ушкодження мітохондрій й волокон) та змінами гематоенцефалічного бар'єра (розриви капілярів) і супроводжуються периваскулярними мульти- та дрібновогнищевими крововиливами, розривами нейроцитів, набряком перицелюлярного та периваскулярного просторів, що в сукупності може розглядатися як біомаркери первинних травматичних змін після впливу повітряної ударної хвилі. На основі цих змін запропоновано морфологічний алгоритм оцінки первинних гістоструктурних внутрішньочерепних ушкоджень головного мозку та їх наслідків після впливу вибухової хвилі.

За результатами імуногістохімічного аналізу встановлено підвищення експресії eNOS в судинах головного мозку щурів з вибухо-індукованою травмою у 1-у та 3-ю добу посттравматичного періоду при порівнянні з інтактними тваринами, при цьому вазодилатація зберігалась до 28-ї доби. Оцінка MMP-2 показала, що у експериментальних щурів інтенсивність і площа експресії як у корі головного мозку, так і в гіпокампі суттєво перевищує ($p < 0,001$) показники інтактних тварин. Отримані результати свідчать про те, що MMP-2 має розповсюджену експресію у головному мозку та, вочевидь, залучається до ушкодження ГЕБ.

Результати даного розділу опубліковані у наукових працях [287, 290, 296, 297, 300].

РОЗДІЛ 7

СТАТИСТИЧНИЙ АНАЛІЗ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

В даному розділі представлено ретельний сукупний аналіз отриманих результатів в динаміці ВІТГМ із застосуванням статистичних методів та представлені найбільш вагомні значення. При проведенні кореляційного аналізу Спірмена між показниками поведінки та емоційного профілю у тесті «Відкрите поле» встановили суттєві взаємні зв'язки (табл. 7.1.).

Таблиця 7.1 - Матриця кореляційних зв'язків (r) між показниками поведінки та емоційного профілю експериментальних щурів у тесті «Відкрите поле»

<i>Показник</i>	ГРА (n)	ВРА (n)	Нірки (n)	Н/п Гр (n)	Н/п Гр (с)
ГРА (n)		0,81*	0,59*	0,58*	0,65*
ВРА (n)	0,81*		0,54**	0,55**	0,58*
Нірки (n)	0,59*	0,54**		0,59*	0,44 ^Δ
Н/п Гр (n)	0,58*	0,55**	0,59*		0,87*
Н/п Гр (с)	0,65*	0,58*	0,44 ^Δ	0,87*	
АД (n)	0,69*	0,56*	0,53**	0,42 ^Δ	0,55**
БД (n)	0,64*	0,45 ^Δ	0,50 ^Δ	0,44 ^Δ	0,57*
Уринації (n)	0,58*	0,54**	0,31	0,25	0,44 ^Δ

Примітки: 1. (n) кількість, 2. (с) - тривалість, 3. Н/п Гр - неповний грумінг, 4. * - $p < 0,0001$, 5. ** - $p < 0,001$, 6. ^Δ - $p < 0,01$.

Позитивні кореляційні зв'язки вказують на однаково високий рівень та спільну регуляцію рухової активності й емоційності у щурів Експ групи, що, у сукупності, свідчать про страх, сильну тривожність, збудженість та дезадаптацію травмованих щурів [255, 256].

За допомогою Repeated Measures ANOVA провели кількісну оцінку впливу ВХ та галотану на поведінку щурів у тесті «Відкрите поле».

Встановили, що модифікації показників поведінки та емоційного профілю, які встановили, більшою мірою були результатом первинного впливу ВХ на головний мозок та динаміки перебігу посттравматичного періоду у щурів Експ групи, коли відбувались вторинні зміни. А також підтвердився вплив галотану на Контр тварин (табл. 7.2).

Таблиця 7.2 - Оцінка впливу ВІТГМ та галотану на динаміку змін поведінки щурів у тесті «Відкрите поле» за показниками аналізу Repeated Measures ANOVA

Показник	Зміни, пов'язані з часом (добою)			Додатковий вплив *			
				Вибухової травми		Галотану	
	Доба	K ² (%)	p	K ² (%)	p	K ² (%)	p
1	2	3	4	5	6	7	8
ГРА (n)	1-28	77,3	<0,001	6,3	<0,001	0,2	>0,05
ВРА (n)	1-28	42,8	<0,001	36,9	<0,001	0,9	>0,05
Нірки (n)	1-28	6,4	<0,001	55,5	<0,001	0,9	<0,05
Повний грумінг (n)	1-28	15,2	<0,001	26,0	<0,001	0,7	>0,05
Повний грумінг (с)	1-28	11,9	<0,001	50,8	<0,001	0,1	>0,05
Н/п грумінг (n)	1-7	2,0	>0,05	43,4	<0,001	0,4	>0,05
Н/п грумінг (с)	1-7	4,6	>0,05	35,4	<0,001	0,4	>0,05
АД (n)	1-7	6,5	>0,05	22,5	<0,001	2,2	>0,05
БД (n)	1-7	9,3	<0,01	27,8	<0,001	3,0	>0,05
Уринації (n)	1-7	5,2	>0,05	17,5	<0,001	4,3	>0,05

Примітки: 1. * – включно з добовими змінами на тлі вибухової травми або галотану, 2. K² – коефіцієнт детермінації; 3. p – рівень значущості відмінностей середніх на усіх етапах дослідження, 4. (n) - кількість, 5. (с) - тривалість, 6. Н/п грумінг - неповний грумінг.

Кореляційний аналіз Спірмена показав наявність не менш цікавих зв'язків між показниками, які визначили у ПХЛ, що вказує на суттєві зміни поведінкової моделі травмованих щурів (табл. 7.3).

Таблиця 7.3 - Матриця кореляційних зв'язків (r) між показниками поведінки та емоційного профілю експериментальних щурів у піднесеному хрестоподібному лабіринті

<i>Показник</i>	ВРА (n)	Відкриті рукави (с)	Закриті рукави (с)	Н/п Гр (n)	Н/п Гр (с)
1	2	3	4	5	6
ВРА (n)		0,64*	-0,62*	0,44 Δ	-0,07
Відкриті рукави (с)	0,64*		-0,71*	0,41 $\blacktriangle$	-0,06
Закриті рукави (с)	0,62*	-0,71*		-0,35 $\blacktriangle$	0,18
Н/п Гр (n)	0,44**	0,41 $\blacktriangle$	-0,35 $\blacktriangle$		0,56*
Н/п Гр (с)	-0,07	-0,06	0,18	0,56*	
Звішування (n)	0,38 $\blacktriangle$	0,37 $\blacktriangle$	-0,41 $\blacktriangle$	0,12	-0,22
АД (n)	-0,37 $\blacktriangle$	-0,32	0,15	-0,25	0,12
Уринації (n)	-0,37 $\blacktriangle$	-0,26	0,19	-0,36 $\blacktriangle$	-0,22

Примітки: 1. (n) кількість, 2. (с) - тривалість, 3. Н/п Гр - неповний грумінг, 4. * - $p < 0,0001$, 5. ** - $p < 0,001$, 6. Δ - $p < 0,01$, 7. $\blacktriangle$ - $p < 0,05$.

Встановлені негативні кореляційні зв'язки вказують на різноспрямованість й невпорядкованість рухової активності, а також на підвищення емоційності та тривожності у щурів з ВІТГМ під час перебування у відкритих рукавах ПХЛ. В той час, як позитивні кореляційні зв'язки чітко вказують на нормальний розподіл дослідницької поведінки у відкритих рукавах й, відповідно, протилежний у порівнянні з перебуванням у закритих рукавах.

Також наявність зв'язків між кількістю актів та болюсів дефекацій вказують на те, що збільшення цих показників пов'язано зі збудженням вегетативної нервової системи, а не з порушенням травлення чи перистальтики іншого генезу [257 - 259].

Наступні дані показують, що з впливом ВХ на головний мозок пов'язані 91% показників поведінки у ПХЛ, які також більшою мірою залежали від перебігу посттравматичного періоду у щурів Експ групи з мінімальним впливом галотану.

Водночас підтвердили, що деякі зміни поведінки у щурів Контр групи пов'язані саме з токсичним впливом галотану (табл. 7.4).

Таблиця 7.4 - Оцінка впливу ВІТГМ та галотану на динаміку змін поведінки щурів у ПХЛ за показниками аналізу Repeated Measures ANOVA

Показник	Зміни, пов'язані з часом (добою)			Додатковий вплив *			
				Вибухової травми		Галотану	
	Доба	K ² (%)	P	K ² (%)	P	K ² (%)	P
1	2	3	4	5	6	7	8
Відкриті рукави (с)	1-28	33,6	<0,001	16,5	<0,001	8,2	<0,001
Закриті рукави (с)	1-28	37,0	<0,001	30,2	<0,001	1,7	<0,05
ВРА (п)	1-28	40,9	<0,001	25,8	<0,001	16,8	<0,001
Звішування (п)	1-28	17,3	<0,001	27,1	<0,001	0,5	>0,05
Повний грумінг (п)	1-14	8,7	<0,01	25,7	<0,001	3,8	>0,05
Повний грумінг (с)	1-14	2,8	>0,05	25,4	<0,001	0,7	>0,05
Н/п грумінг (п)	1-14	12,0	<0,05	5,6	>0,05	6,0	>0,05
Н/п грумінг (с)	1-14	2,2	>0,05	8,3	<0,05	1,2	>0,05
АД (п)	7-28	6,7	<0,05	39,0	<0,001	1,5	>0,05

Продовження таблиці 7.4

1	2	3	4	5	6	7	8
БД (n)	7-28	3,2	>0,05	37,1	<0,001	0,8	>0,05
Уринації (n)	7-28	1,8	>0,05	19,3	<0,001	2,1	>0,05

Примітки: 1. * – включно з добовими змінами на тлі вибухової травми або галотану, 2. K^2 – коефіцієнт детермінації, 3. p – рівень значущості відмінностей середніх на усіх етапах дослідження, 4. (n) - кількість, 5. (с) - тривалість, 6. Н/п грумінг - неповний грумінг.

Порівняння однакових показників, які визначали у тесті «Відкрите поле» та у ПХЛ показало, що у Експ тварин у 1-у добу рівень ВРА у «Відкритому полі» був вище на 68% ($p < 0,01$) порівняно з ПХЛ, у 3-ю добу на 44% ($p < 0,01$), у 7-у добу на 84% ($p < 0,01$). Надалі ВРА у «Відкритому полі» був меншим, ніж у ПХЛ, а саме у 14-у добу на 69% ($p < 0,01$), у 21-у добу на 78% ($p < 0,01$) та у 28-у добу на 28% ($p < 0,01$). Ці результати вказують на динамічність змін у поведінкових тестах «Відкрите поле» та ПХЛ протягом нашого дослідження. Підвищена вертикальна активність Експ тварин у гострому періоді була у «Відкритому полі», що свідчить про більш гостру реакцію, тобто тривожність на тлі ВІТГМ у менш стресовому середовищі, а надалі відбувається адаптація. На відміну від «Відкритого поля», до ПХЛ тварини не адаптуються й у ранній посттравматичний період.

Також порівняли кількість обстежених нірок у тесті «Відкрите поле» та кількість звішувань у ПХЛ, адже ці рефлекси є показниками досліджувальної активності і тому зіставними. Тож, кількість обстежених нірок була більше у 1-у добу на 53% ($p < 0,01$), у 3-ю добу на 81% ($p < 0,01$), у 7-у добу на 82% ($p < 0,01$), у 14-у добу на 63% ($p < 0,01$) та у 28-у добу на 53% ($p < 0,05$), а у 21-у добу була меншою на 40% ($p < 0,01$) у порівнянні з кількістю звішувань у ПХЛ. Такі результати вказують на те, що Експ тварини відчували менший страх у «Відкритому полі», як у менш загрозливому середовищі, й через це проявляли вищу дослідницьку активність порівняно з ПХЛ.

Значущі відмінності встановили при порівнянні кількості актів повного грумінгу у Експ щурів у тесті «Відкрите поле», яка збільшилась у 1-у добу на 100% ($p<0,01$), у 3-ю добу на 90% ($p<0,05$), у 7-у добу на 78% ($p<0,05$), у 28-у добу на 91% ($p<0,01$) та у 28-у добу на 100% ($p<0,05$) порівняно із цим показником у ПХЛ. Такі відмінності також вказують на те, що Експ тварини почувались у більшій безпеці у тесті «Відкрите поле» й виконували комфортний грумінг для самозаспокоєння у відповідь на тривожність на тлі ВІТГМ.

Однак, порівняння тривалості актів повного грумінгу мала дещо різноспрямовані результати у тесті «відкрите поле» порівняно з ПХЛ, зокрема у «Відкритому полі» цей показник у 1-у добу був вище на 100% ($p<0,01$), у 3-ю добу на 6% ($p>0,05$) та у 7-у добу був нижче на 55% ($p<0,05$), а потім знову був вище: у 14-у добу на 100% ($p<0,01$), у 21-у добу на 72% ($p>0,05$) та у 28-у добу на 100% ($p<0,01$) порівняно з ПХЛ. Це підтверджує гіпотезу самозаспокоєння, проте сигнальною є 7-а доба посттравматичного періоду, у яку Експ тварини не змогли контролювати тривожність, ймовірно через розгортання вторинних механізмів у відповідь на первинне ушкодження ВХ.

При цьому, тривалість та кількість актів неповного грумінгу була майже у всі терміни посттравматичного періоду нижче у «Відкритому полі» за ПХЛ. Так, кількість актів неповного грумінгу у тесті «Відкрите поле» у 1-у добу була менше на 65% ($p<0,05$), у 3-ю добу, навпаки, встановили тенденцію до зменшення на 56% ($p>0,05$), а у 7-у добу знову підвищилась на 56% ($p<0,05$) і надалі відмічалась тенденція до зменшення, зокрема у 14-у добу на 17% ($p>0,05$), у 21-у добу на 67% ($p>0,05$) та у 21-у добу на 28% ($p>0,05$) порівняно з дослідженням у ПХЛ. Водночас тривалість актів неповного грумінгу була суттєво меншою у щурів у тесті «Відкрите поле» порівняно з ПХЛ: у 1-у добу на 65% ($p<0,05$), у 3-ю добу на 74% ($p<0,05$), у 7-у добу на 89% ($p<0,05$), у 14-у добу на 86% ($p<0,01$), у 21-у добу на 88%

($p < 0,05$) та у 28-у добу на 100% ($p > 0,05$). Враховуючи походження та значення кількості й тривалості актів неповного грумінгу, подібні результати вже чітко вказують на вищий ступінь тривожності Експ тварин у ПХЛ, на відміну від «Відкритого поля».

Відмінності у кількості актів та болюсів дефекацій у «Відкритому полі» та ПХЛ мали різноспрямований характер у різні терміни. Власне, рівень кількості актів дефекацій у «Відкритому полі» у 1-у добу посттравматичного періоду був вище на 43% ($p < 0,05$), у 3-ю добу на 75% ($p < 0,01$) та був нижче у 7-у добу на 28% ($p > 0,05$), у 14-у добу на 13% ($p > 0,05$), у 21-у добу на 46% ($p > 0,05$) та у 28-у добу значущо менше на 53% ($p < 0,01$) порівняно з ПХЛ. Такі зміни вказують на підвищення емоційної реакції у 1-у та 3-ю добу у Експ тварин при проведенні тесту «Відкрите поле», проте надалі щури почувалися більш комфортно, на відміну від ПХЛ. При цьому кількість болюсів дефекацій у щурів Експ групи, що проходили тестування у «Відкритому полі» була вища з 1-ї до 14-ї доби (у 1-у добу на 33% при $p > 0,05$, у 3-ю добу на 70% при $p < 0,01$, у 7-у добу на 13% при $p > 0,05$ та у 14-у добу на 12% при $p > 0,05$) й зменшилась у 21-у добу на 33% ($p > 0,05$) та у 28-у добу на 23% ($p > 0,05$) порівняно з тваринами, що були у ПХЛ. Зміни у кількості болюсів дефекацій також вказують на різні рівні емоційної реакції у відповідь на відмінні стресові ситуації.

Рівень уринацій у травмованих щурів у тесті «Відкрите поле» був нижче у 1-у добу на 38% ($p > 0,05$) та у 3-ю добу на 71% ($p < 0,05$), а подальша динаміка змін показала стійке зниження кількості уринацій: у 7-у добу на 82% ($p < 0,05$), у 14-у добу на 70% ($p > 0,05$), у 21-у добу на 77% ($p < 0,05$) та у 28-у добу на 82% ($p < 0,05$) порівняно з показниками у ПХЛ. Варто зазначити, що рівень уринацій Експ тварин значно вище у 3-ю добу у тесті «Відкрите поле», проте у ПХЛ очевидна триваліша тривожність.

Таким чином, проведений експеримент підтвердив, що в умовах ПХЛ тварини піддаються сильнішій провокації адаптивних можливостей, що

дозволяє виявити навіть мінімальні порушення функцій головного мозку у більш віддалених періодах, і тому тест «Відкрите поле» є більш результативним у гострому періоді порушень ЦНС.

Кореляційні зв'язки допомагають глибше зрозуміти, як само ВІТГМ впливає на поведінку та емоційність щурів у різних тестах. Для цього провели кореляційний аналіз Спірмена між показниками поведінки та емоційного профілю у тесті «Відкрите поле» та у ПХЛ (табл. 7.5).

Таблиця 7.5 - Матриця кореляційних зв'язків (r) між показниками поведінки та емоційного профілю експериментальних щурів у тесті «Відкрите поле» і ПХЛ

Піднесений хрестоподібний лабіринт	тест «Відкрите поле»								
	Показник	ГРА (n)	ВРА (n)	Нірки (n)	Н/п Гр (n)	Н/п Гр (с)	АД (n)	БД (n)	Ур-ії (n)
	ВРА (n)	0,54**	0,44 ^Δ	0,29	0,21	0,52**	0,61*	0,54**	0,64*
	Відкриті рукави (с)	0,42 ^Δ	0,36 [▲]	0,13	0,25	0,39 [▲]	0,40 [▲]	0,33 [▲]	0,47 ^Δ
	Закриті рукави (с)	- 0,50**	- 0,49 [▲]	0,02	-0,18	-0,38 [▲]	-0,29	-0,20	- 0,39 [▲]
	Н/п Гр (n)	0,35 [▲]	0,21	0,17	0,27	0,38 [▲]	0,38 [▲]	0,46 ^Δ	0,27
	Н/п Гр (с)	0,20	0,08	0,41 ^Δ	0,26	0,14	0,14	0,25	0,00
	Звішування (n)	0,01	-0,13	- 0,32 [▲]	-0,14	0,22	-0,19	-0,20	-0,10
	АД (n)	-0,23	-0,08	-0,15	-0,07	0,11	-0,32	-0,37 [▲]	-0,15
	Уринації (n)	-0,43 ^Δ	-0,17	-0,24	-0,20	-0,29	- 0,43 ^Δ	-0,46 ^Δ	- 0,30 [▲]

Примітки: 1. (n) кількість, 2. (с) - тривалість, 3. Н/п Гр - неповний грумінг, 4. ур-ії - уринації, 5. * - $p < 0,0001$, 6. ** - $p < 0,001$, 7. ^Δ - $p < 0,01$, 8. [▲] - $p < 0,05$.

Таким чином, отримані результати кореляційного аналізу вказують на високу дослідницьку діяльність, як у «Відкритому полі», так і у ПХЛ, порушення регуляції вродженої рефлексорної діяльності і адаптації, страх та високий рівень тривожності щурів з ВІТГМ у тесті «Відкрите поле» і ще вищий у ПХЛ, а також демонструють відповідність рухової активності у різних тестах.

Задля оцінки функціонального стану головного мозку травмованих щурів провели кореляційний аналіз між показниками поведінки у різних поведінкових тестах та больового сприйняття, як показника вищої нервової діяльності (табл. 7.6).

Таблиця 7.6 - Матриця кореляційних зв'язків (r) між силою току та показниками поведінки і емоційного профілю експериментальних щурів у тесті «Відкрите поле» і ПХЛ

Больове сприйняття	тест «Відкрите поле»					
<i>Показник</i>	ГРА (n)	ВРА (n)	Нірки (n)	Повний грумінг (с)	Н/п Гр (n)	Н/п Гр (с)
Сила току (мкА)	-0.86*	-0.61*	-0.50**	-0.35 [▲]	-0.53**	-0.44 ^Δ
Піднесений хрестоподібний лабіринт						
<i>Показник</i>	Відкриті рукави (с)		Закриті рукави (с)		Повний грумінг (n)	
Сила току (мкА)	-0,31 [▲]		0,36 [▲]		-0,30 [▲]	

Примітки: 1. (n) кількість, 2. (с) - тривалість, 3. Н/п Гр - неповний грумінг, 4. * - $p < 0,0001$, 5. ** - $p < 0,001$, 6. Δ - $p < 0,01$, 7. [▲] - $p < 0,05$.

За допомогою аналізу Спірмена виявили більшу кількість зв'язків між силою току, що отримували щури Експ групи для досягнення реакції вокалізації та індикаторами поведінки у тесті «Відкрите поле», аніж у ПХЛ. Отримані кореляції вказують на те, що у більш тривожних щурів

підвищується й чутливість до болю, тобто біль набуває центрального характеру.

За показниками аналізу Repeated Measures ANOVA встановлено, що зміни сприйняття болю у щурів Експ групи безпосередньо виникли в результаті первинного впливу ВХ та змінювались залежно від вторинних змін протягом усього посттравматичного періоду. В самий час, зміни, що встановили у Контр тварин пов'язані зі знеболювальною дією галотану (табл. 7.7).

Таблиця 7.7 - Оцінка впливу ВІТГМ та галотану на динаміку змін больового сприйняття за показниками аналізу Repeated Measures ANOVA

Показник	Зміни, пов'язані з часом (добою)			Додатковий вплив *			
				Вибухової травми		Галотану	
	Доба	K ² (%)	p	K ² (%)	p	K ² (%)	p
Сила току (мкА)	1-28	41,5	<0,001	26,6	<0,001	11,2	<0,001

Примітки: 1. * – включно з добовими змінами на тлі вибухової травми або галотану, 2. K² – коефіцієнт детермінації, 3. p – рівень значущості відмінностей середніх на усіх етапах дослідження.

Також, було проведено кореляційний аналіз Спірмена між показниками, що визначали у лабіринті Барнса з поведінкою у тесті «Відкрите поле», ПХЛ та силою току при дослідженні реакції вокалізації на біль.

Загалом, ці результати свідчать про подібну одна до одної поведінку щурів Експ групи у тесті «Відкрите поле» та лабіринті Барнса, а також поглиблюють знання про значну тривожність травмованих щурів й свідчать про те, що більш тривожні щури обстежують більшу кількість «фальшивих» притулків й демонструють типову стресову поведінку. А також підкреслюють епізоди відсутності страху Експ тварин при подовженні латентного часу обстеження.

Також показники поведінки й емоційності, особливо кількість вертикальних стійок, час перебування у відкритих рукавах та кількість актів неповного грумінгу, у ПХЛ мали середні позитивні зв'язки із часом завмирання та латентним часом пошуку «справжнього» притулку у лабіринті Барнса.

Це вказує на те, що більш тривалий час завмирання асоціюється з тривожною поведінкою Експ тварин (табл. 7.8).

Таблиця 7.8 - Матриця кореляційних зв'язків (r) між показниками просторової пам'яті експериментальних щурів у лабіринті Барнса та показниками їх поведінки

Лабіринт Барнса «Відкрите поле»	ЛЧ (с)	Притулки (n)	Завмирання (с)
1	2	3	4
ГРА (n)	0,68*	-0,18	-0,42 ^Δ
ВРА (n)	0,52**	-0,07	-0,23
Нірки (n)	0,80*	-0,08	-0,08
Н/п Гр (n)	0,75*	-0,07	-0,20
Н/п Гр (с)	0,62*	-0,14	-0,35 [▲]
АД (n)	0,59**	-0,31 [▲]	-0,27
БД (n)	0,61*	-0,34 [▲]	-0,22
Уринації (n)	0,39 [▲]	-0,33 [▲]	-0,21
ПХЛ	ЛЧ (с)	Притулки (n)	Завмирання (с)
ВРА (n)	0,38 [▲]	-0,39 [▲]	-0,31 [▲]
Відкриті рукави (с)	0,35 [▲]	-0,04	-0,36 [▲]
Н/п Гр (n)	0,36 [▲]	-0,08	-0,32 [▲]
Н/п Гр (с)	0,44 [▲]	0,03	-0,12

Продовження таблиці 7.8

1	2	3	4
Больове сприйняття	ЛЧ (с)	Притулки (n)	Завмирання (с)
Сила току (мкА)	-0,54**	-0,08	0,37▲

Примітки: 1. (n) кількість, 2. (с) - тривалість, 3. Н/п Гр - неповний грумінг, 4. * - $p < 0,0001$, 5. ** - $p < 0,001$, 6. Δ - $p < 0,01$, 7. ▲ - $p < 0,05$.

Встановлені кореляційні зв'язки між показниками у лабіринті Барнса та силою току, необхідної для отримання реакції вокалізації підтверджують наше припущення про те, що більш тривожні тварини виявляються також більш чутливими до впливу больового фактора.

Кількісна оцінка показників просторової пам'яті у лабіринті Барнса за допомогою аналізу Repeated Measures ANOVA також підтвердила, що у щурів з ВІТГМ виявлені порушення достеменно є наслідком впливу ВХ, при цьому латентний час значущо залежить ще й від перебігу посттравматичного періоду, а зміни у щурів Контр групи пов'язані з дією галотану (табл. 7.9).

Таблиця 7.9 - Оцінка впливу ВІТГМ та галотану на динаміку змін просторової пам'яті у лабіринті Барнса за показниками аналізу Repeated Measures ANOVA

Показник	Зміни, пов'язані з часом (добою)			Додатковий вплив *			
				Вибухової травми		Галотану	
	Доба	K ² (%)	p	K ² (%)	p	K ² (%)	p
ЛЧ (с)	1-28	29,5	<0,001	52,9	<0,001	0,0	>0,05
Завмирання (с)	1-28	7,2	>0,05	17,8	<0,001	0,2	>0,05
Притулки (n)	1-28	2,7	>0,05	50,3	<0,001	0,4	>0,05

Примітки: 1. * – включно з добовими змінами на тлі вибухової травми або галотану, 2. K² – коефіцієнт детермінації, 3. p – рівень значущості відмінностей середніх на усіх етапах дослідження, 4. (n) - кількість, 5. (с) - тривалість.

Проведення кореляційного аналізу між показниками у Ж-подібному лабіринті та іншими результатами не був можливим через особливості методики проведення навчання, а саме 5 днів, що є неспівставним з іншими термінами.

Проте, Repeated Measures ANOVA аналіз показав наявність основного впливу вибухової хвилі на показники просторового навчання, зокрема латентний час, та рухливості, й менше на емоційний стан (тривалість актів неповного грумінгу) у тварин Експ групи у Ж-подібному лабіринті. При чому виявлені зміни у Контр тварин достовірно пов'язані з токсичним впливом галотану (табл. 7.10).

Таблиця 7.10 - Оцінка впливу ВІТГМ та галотану на динаміку змін просторової пам'яті у Ж-подібному лабіринті за показниками аналізу Repeated Measures ANOVA

Показник	Зміни, пов'язані з часом (добою)			Додатковий вплив *			
				Вибухової травми		Галотану	
	Доба	K ² (%)	p	K ² (%)	p	K ² (%)	p
ЛЧ (с)	1-28	9,5	<0,001	27,0	<0,001	35,3	<0,001
ВРА (n)	1-28	18,8	<0,001	22,2	<0,001	23,9	<0,001
Повний грумінг (n)	1-28	0,7	>0,05	38,0	<0,001	16,5	<0,001
Повний грумінг (с)	1-28	6,6	<0,001	44,9	<0,001	18,5	<0,001
Н/п грумінг (n)	1-28	6,7	<0,05	31,4	<0,001	3,0	>0,05
Н/п грумінг (с)	1-28	19,8	<0,001	59,6	<0,001	0,4	>0,05

Примітки: 1. * – включно з добовими змінами на тлі вибухової травми або галотану, 2. K² – коефіцієнт детермінації, 3. p – рівень значущості відмінностей середніх на усіх етапах дослідження, 4. (n) - кількість, 5. (с) - тривалість.

Кореляційний аналіз Спірмена показав наявність зв'язків слабого ступеня між латентним часом при дослідженні УРПУ та показниками

поведінки. Але виявили позитивну кореляцію з силою току, необхідної для реакції вокалізації. Загалом такі результати свідчать про високий рівень тривожності, а також значну чутливість до болю у щурів з ВІТГМ (табл. 7.11).

Таблиця 7.11 - Матриця кореляційних зв'язків (r) між латентним часом УРПУ та показниками поведінки експериментальних щурів

Показник	Повний грумінг (с) у тесті «Відкрите поле»	Сила току (мкА) для визначення больового сприйняття
ЛЧ (с)	-0,36▲	0,33▲

Примітки: 1. (с) - тривалість, 2. ▲ - $p < 0,05$.

Багатофакторний дисперсійний аналіз Repeated Measures ANOVA показав, що динаміка порушення асоціативної пам'яті при дослідженні УРПУ є результатом однократного впливу ВХ (табл. 7.12).

Таблиця 7.12 - Оцінка впливу ВІТГМ та галотану на динаміку змін умовної реакції пасивного уникнення за показниками аналізу Repeated Measures ANOVA

Показник	Зміни, пов'язані з часом (добою)			Додатковий вплив *			
				Вибухової травми		Галотану	
	Доба	K ² (%)	p	K ² (%)	p	K ² (%)	p
ЛЧ (с)	1-28	17,4	<0,001	17,4	<0,001	0,0	=1,0

Примітки: 1. * – включно з добовими змінами на тлі вибухової травми або галотану, 2. K² – коефіцієнт детермінації, 3. p – рівень значущості відмінностей середніх на усіх етапах дослідження, 4. (с) - тривалість.

Надалі провели кореляційний аналіз Спірмена між біометалами у мозочку та передньому мозку й показниками поведінки у тесті «Відкрите поле», ПХЛ та больового сприйняття.

Подібні результати вказують на те, що дисбаланс Cu у мозочку залучається до регуляції емоційного стану тварин з ВІТГМ та є ланкою у патогенезі тривожності, а порушення гомеостазу Cu у передньому мозку впливає на рухову активність та емоційність щурів з ВІТГМ, тобто надлишок Cu порушує функціональну активність нейронів, особливо переднього мозку в наслідок нейротоксичного впливу цього біометалу.

Також, позитивний зв'язок із силою току вказує на те, що Cu залучений й до регуляції анти- та ноцицептивної системи (табл. 7.13).

Таблиця 7.13 - Матриця кореляційних зв'язків (r) між біометалами та показниками поведінки експериментальних щурів

Структура мозку	Мозочок			Передній мозок		
ω	Cu	Fe	Zn	Cu	Fe	Zn
1	2	3	4	5	6	7
тест «Відкрите поле»						
ГРА (n)	-0,07	0,61*	0,21	-0,81*	-0,86*	-0,55*
ВРА (n)	0,21	0,69*	0,29▲	-0,69*	-0,79	-0,71*
Нірки (n)	0,01	0,52**	0,31▲	-0,76*	-0,50 ^Δ	-0,32▲
Повний Гр (n)	-0,40▲	-0,08	-0,11	-0,23	-0,08	0,23
Повний Гр (с)	-0,75*	-0,43 ^Δ	-0,16	-0,03	0,00	0,42 ^Δ
Н/п Гр (n)	0,03	0,53**	0,26	-0,71*	-0,42 ^Δ	-0,27
Н/п Гр (с)	-0,13	0,37▲	0,01	-0,70*	-0,49 ^Δ	-0,39▲
АД (n)	0,08	0,50 ^Δ	-0,07	-0,74*	-0,63*	-0,55*
БД (n)	0,04	0,47*	-0,10	-0,69*	-0,57*	-0,50 ^Δ

Продовження таблиці 7.13

1	2	3	4	5	6	7
Уринації (n)	0,07	0,43 ^Δ	-0,19	-0,56*	-0,65*	-0,57*
Піднесений хрестоподібний лабіринт						
ВРА (n)	-0,32 [▲]	0,22	-0,53**	-0,57*	-0,57*	-0,44 ^Δ
Відкриті рукави (с)	-0,11	0,45 ^Δ	-0,48 ^Δ	-0,44 ^Δ	-0,53**	-0,40 [▲]
Закриті рукави (с)	0,17	-0,27	0,35 [▲]	0,30 [▲]	0,53*	0,43 ^Δ
Звішування	-0,48 ^Δ	-0,34 [▲]	-0,34 [▲]	0,10	0,03	0,20
Н/п Гр (n)	-0,19	0,19	-0,27	-0,34 [▲]	-0,29 [▲]	-0,17
Н/п Гр (с)	-0,02	0,19	0,23	-0,24	-0,14	-0,04
Больове сприйняття						
Сила току (мкА)	0,16	-0,44 ^Δ	-0,31 [▲]	0,58*	0,55**	0,16

Примітки: 1. (n) кількість, 2. (с) - тривалість, 3. ω - масова частка, 4. Н/п Гр - неповний грумінг, 5. * - $p < 0,0001$, 6. ** - $p < 0,001$, 7. Δ - $p < 0,01$, 8. ▲ - $p < 0,05$.

В свою чергу збільшення рівня Fe у мозочку викликає підвищення збудження й рухової активності, як у горизонтальній, так і у вертикальній площині, а також впливає на емоційний стан травмованих щурів та процеси пам'яті, тобто дисбаланс Fe у мозочку також є ланкою патогенезу як тривожності, так і епізодів втрати страху (анксіолітичності), а також порушення просторової пам'яті у щурів на тлі ВІТГМ.

Негативний помірний зв'язок масової частки (ω) Fe у мозочку встановили й з силою току, необхідною для реакції вокалізації, що вказує на підвищену збудливість нейронів мозочка у наслідок дисбалансу Fe, що збільшує чутливість цих клітин до сприйняття больового імпульсу.

Також встановили, що дисбаланс Fe у передньому мозку, залучається до патогенезу тривожності й розвитку стану, подібного до депресії і бере участь у механізмах сприйняття болю.

В свою чергу, Zn також збуджує нейрони мозочка, через це підвищується рухова активність й рівень тривожності Експ тварин, з епізодами анксіолітичності через [257, 258, 260 - 262].

Кореляційні зв'язки, представлені у таблиці 7.14 свідчать про те, що зміни співвідношення Cu/Fe та Zn/Fe, як у мозочку, так і у передньому мозку мають значущий вплив на реалізацію поведінкових і емоційних реакцій у щурів Експ, що, вочевидь, пов'язано з більш складними порушеннями метаболічних процесів, до яких залучаються визначені біометали [263].

Таблиця 7.14 - Матриця кореляційних зв'язків (r) між співвідношеннями біометалів та показниками поведінки експериментальних щурів

Структура мозку	Мозочок			Передній мозок		
<i>Співвідношення</i>	Cu/Fe	Cu/Zn	Zn/Fe	Cu/Fe	Cu/Zn	Zn/Fe
1	2	3	4	5	6	7
тест «Відкрите поле»						
ГРА (n)	-0,77*	0,01	-0,52**	-0,58*	-0,16	-0,32 [▲]
ВРА (n)	-0,59*	0,22	-0,58*	-0,43 ^Δ	0,12	-0,54**
Нірки (n)	-0,58*	-0,24	-0,08	-0,79*	-0,48 ^Δ	-0,21
Н/п Гр (n)	-0,50 ^Δ	-0,27	-0,11	-0,71*	-0,44 ^Δ	-0,17
Н/п Гр (с)	-0,53**	-0,06	-0,35 [▲]	-0,58*	-0,26	-0,25
АД (n)	-0,43 ^Δ	0,17	-0,46 ^Δ	-0,56*	-0,11	-0,38 [▲]
БД (n)	-0,50 ^Δ	0,09	-0,38 [▲]	-0,56*	-0,16	-0,34 [▲]
Уринації (n)	-0,37 [▲]	0,30 [▲]	-0,56*	-0,31 [▲]	0,11	-0,37 [▲]
Піднесений хрестоподібний лабіринт						
ВРА (n)	-0,52**	0,20	-0,65*	-0,27	0,02	-0,22
Відкриті рукави (с)	-0,48 ^Δ	0,21	-0,69*	-0,18	0,08	-0,20

Продовження таблиці 7.14

1	2	3	4	5	6	7
Закриті рукави (с)	0,42**	-0,36▲	0,78*	-0,04	-0,28▲	0,27
Н/п Гр (п)	-0,36▲	-0,01	-0,24	-0,38▲	-0,16	-0,04
Н/п Гр (с)	-0,28	-0,29▲	0,23	-0,30▲	-0,36▲	0,01
Больове сприйняття						
Сила току (мкА)	0,60*	0,31▲	0,18	0,51 ^Δ	0,36▲	-0,03

Примітки: 1. (п) кількість, 2. (с) - тривалість, 3. Н/п Гр - неповний грумінг, 4. * - $p < 0,0001$, 5. ** - $p < 0,001$, 6. Δ - $p < 0,01$, 7. ▲ - $p < 0,05$.

Також, можна вважати, що порушення метаболізму Cu та Fe у мозочку й передньому мозку призводять до підвищення збудливості й больової чутливості у Експ тварин, а також ймовірно про порушення синтезу медіаторів антиноцицептивної системи [264].

Головним висновком отриманих результатів є те, що зміни співвідношення Cu/Fe у мозочку щурів з ВІТГМ більшою мірою залучені у патогенез тривожності та поведінки, подібної до депресії.

Також зміни Cu і Fe, як окремо, так і у співвідношенні призводили до порушення мнестичних процесів, на що вказують кореляційні зв'язки між цими біометалами у мозочку та передньому мозку і показниками пам'яті, що визначали у відповідних лабіринтах. Привертають увагу сильні зв'язки більшою мірою негативні, що встановили між біометалами та їх співвідношеннями у передньому мозку з латентним часом пошуку «справжнього» притулку та часом завмирання у лабіринті Барнса, що вказує на залучення Cu, Fe та Zn до реалізації когнітивних функцій головного мозку, зокрема просторової пам'яті (табл. 7.15).

Таблиця 7.15 - Матриця кореляційних зв'язків (r) між біометалами, їх співвідношеннями та показниками когнітивного профілю експериментальних щурів

Структура мозку	Мозочок			Передній мозок		
ω	Cu	Fe	Zn	Cu	Fe	Zn
Лабіринт Барнса						
ЛЧ (с)	-0,07	0,63*	0,13	-0,87*	-0,59*	-0,27
Завмирання (с)	0,21	-0,04	0,00	0,38▲	0,28▲	0,06
Умовна реакція пасивного уникнення						
ЛЧ (с)	0,14	0,12	-0,31▲	0,06	0,01	-0,16
Мозочок			Передній мозок			
Співвідношення	Cu/Fe	Cu/Zn	Zn/Fe	Cu/Fe	Cu/Zn	Zn/Fe
Лабіринт Барнса						
ЛЧ (с)	-0,73*	-0,38▲	-0,11	-0,89*	-0,58*	-0,09

Примітки: 1. (с) - тривалість, 2. ω - масова частка, 3. Н/п Гр - неповний ґрумінг, 4. * - $p < 0,0001$, 5. ** - $p < 0,001$, 6. ▲ - $p < 0,05$.

Додатково провели аналіз взаємозв'язків між біометалами окремо у мозочку та у передньому мозку. (табл. 7.16).

Таблиця 7.16 - Матриця кореляційних зв'язків (r) між біометалами у мозочку та передньому мозку експериментальних щурів

Структура мозку		Передній мозок		
ω		Cu	Fe	Zn
Мозочок	Cu	0,02	-0,06	-0,53*
	Fe	-0,64*	-0,65*	-0,72*
	Zn	-0,12	-0,03	-0,06

Примітки: 1. ω - масова частка, 2. * - $p < 0,0001$.

Встановлені зв'язки значного ступеня між Cu та Fe вказують на спільні метаболічні та транспортні шляхи та сумісне їх залучення до розгортання оксидативного стресу; позитивний помірний зв'язок між Cu та Zn свідчить про стартове для оксидативного стресу значення, а також тенденція до зв'язку між Zn та Fe у мозочку вказує на окремі механізми регуляції та дії цих біометалів.

Порівняння співвідношень біометалів, як з окремими елементами, так і з їх співвідношеннями у мозочку та передньому мозку встановили значні й вкрай цікаві результати, що відкривають особливості порушень їх регуляції. Тож, кореляційне порівняння вказує на тісний метаболічний зв'язок між різними структурами головного мозку, а баланс у мозочку більшою мірою регулює передній мозок (табл. 7.17).

Таблиця 7.17 - Матриця кореляційних зв'язків (r) між біометалами та їх співвідношеннями у мозочку та передньому мозку експериментальних щурів

Структура мозку		Передній мозок (ω)			Передній мозок (співвідношення)		
		Cu	Fe	Zn	Cu/Fe	Cu/Zn	Zn/Fe
Мозочок (ω)	Cu	0,02	-0,06	-0,53 ^Δ	0,04	0,50 ^Δ	-0,67*
	Fe	-0,64*	-0,65*	-0,72*	-0,51**	0,10	-0,62*
	Zn	-0,12	-0,03	-0,06	-0,23	-0,09	-0,14
Мозочок (спів-ня)	Cu/Fe	0,67*	0,67*	0,34 [▲]	0,53**	0,27	0,12
	Cu/Zn	0,14	-0,21	-0,68*	0,41 ^Δ	0,83*	-0,74*
	Zn/Fe	0,35 [▲]	0,64*	0,78*	-0,03	-0,54	0,66*

Примітки: 1. ω - масова частка, 2. спів-ня - співвідношення, 3. * - $p < 0,0001$, 4. ** - $p < 0,001$, 5. Δ - $p < 0,01$, 6. $\blacktriangle$ - $p < 0,05$.

Провідним регуляторним біометалом у мозочку є Cu, порушення гомеостазу якого спричиняє дисбаланс Fe та Zn, що узгоджується з попередніми дослідженнями [265].

За результатами багатофакторного дисперсійного аналізу (Repeated Measures ANOVA) було встановлено, що ВХ суттєво впливає на метаболічні процеси у головному мозку через зміни масових часток (ω) Cu, Fe, Zn та їх співвідношень у мозочку. При цьому супутнього впливу галотану не було (табл. 7.18).

Таблиця 7.18 - Оцінка впливу ВІТГМ та галотану на динаміку змін біометалів у мозочку за показниками аналізу Repeated Measures ANOVA

Показник	Зміни, пов'язані з часом (добою)			Додатковий вплив *			
				Вибухової травми		Галотану	
	Доба	K ² (%)	p	K ² (%)	p	K ² (%)	p
Cu (ω)	1-28	0,0	>0,05	40,9	<0,001	0,93	>0,05
Fe (ω)	1-28	0,0	>0,05	49,9	<0,001	0,0	>0,05
Zn (ω)	1-28	0,0	>0,05	49,2	<0,001	0,3	>0,05
Cu/Fe	1-28	0,0	>0,05	41,1	<0,001	1,6	>0,05
Cu/Zn	1-28	0,0	>0,05	38,0	<0,001	0,2	>0,05
Zn/Fe	1-28	0,0	>0,05	41,1	<0,001	0,3	>0,05

Примітки: 1. * – включно з добовими змінами на тлі вибухової травми або галотану, 2. K² – коефіцієнт детермінації, 3. p – рівень значущості відмінностей середніх на усіх етапах дослідження, 4. ω - масова частка.

Подібні результати встановили й при оцінці впливу ВІТГМ та галотану на біометали у передньому мозку, тобто у всіх зазначених випадках провідною причиною порушення гомеостазу Cu, Fe, Zn безпосередньо був вплив ВХ на відміну від змін у 1-у добу спостереження у тварин Контр групи, що стали результатом токсичного впливу галотану (табл. 7.19).

Таблиця 7.19 - Оцінка впливу ВІТГМ та галотану на динаміку змін біометалів у передньому мозку за показниками аналізу Repeated Measures ANOVA

Показник	Зміни, пов'язані з часом (добою)			Додатковий вплив *			
				Вибухової травми		Галотану	
	Доба	K ² (%)	p	K ² (%)	p	K ² (%)	p
Cu (ω)	1-28	0,0	>0,05	65,7	<0,001	0,0	>0,05
Fe (ω)	1-28	0,0	>0,05	47,2	<0,001	0,0	>0,05
Zn (ω)	1-28	0,0	>0,05	64,7	<0,001	0,8	>0,05
Cu/Fe	1-28	0,0	>0,05	66,5	<0,001	0,0	>0,05
Cu/Zn	1-28	0,0	>0,05	53,6	<0,001	0,5	>0,05
Zn/Fe	1-28	0,0	>0,05	68,1	<0,001	1,2	>0,05

Примітки: 1. * – включно з добовими змінами на тлі вибухової травми або галотану, 2. K² – коефіцієнт детермінації, 3. p – рівень значущості відмінностей середніх на усіх етапах дослідження, 4. ω - масова частка.

В результаті кореляційного аналізу Спірмена з порівнянням рівнів біохімічних показників плазми крові Експ щурів встановили різноспрямовані залежності між активністю каталази та глутатіоредуктази і BDNF.

Очікуваним стало виявлення сильного негативного зв'язку глутатіонредуктази з каталазою, адже відомо, що ці ензими мають різну дію — глутатіонредуктаза відновлює глутатіон, а каталаза безпосередньо нейтралізує його незалежно від глутатіонової системи [266].

Також, сильні зв'язки між цими ензимами вказують на напруження антиоксидантної системи у відповідь на появу великої кількості вільних радикалів (табл. 7.20).

Таблиця 7.20 - Матриця кореляційних зв'язків (r) між біохімічними показниками плазми крові експериментальних щурів

Показник	Каталаза	ГР	ГП
Каталаза		-0,76*	-0,13
ГР	-0,76*		0,31
ГП	-0,13	0,31	
BDNF	-0,79*	0,87*	0,25

Примітки: 1. ГР - глутатіонредуктаза, 2. ГП - глутатіопероксидаза, 3. * - $p < 0,0001$.

Також, статистичний аналіз показав наявність більшою мірою зв'язків сильного ступеня між біохімічними показниками плазми крові та поведінкою у Експ тварин, а саме з руховою активністю та показниками емоційного профілю (табл. 7.21).

Таблиця 7.21 - Матриця кореляційних зв'язків (r) між біохімічними показниками плазми крові та поведінки експериментальних щурів

	Біохімічні показники плазми крові Експ щурів			
Показник	Каталаза	ГР	ГП	BDNF
1	2	3	4	5
тест «Відкрите поле»				
ГРА (n)	-0,91*	0,89*	0,26	0,81*
ВРА (n)	-0,77*	0,84*	0,31	0,85*
Н/п Гр (n)	-0,02	0,07	0,44 [▲]	0,26
Н/п Гр (с)	-0,41 [▲]	0,37 [▲]	0,02	0,57 ^Δ
АД (n)	-0,57 ^Δ	0,43 [▲]	0,22	0,47 [▲]
БД (n)	-0,48 [▲]	0,38 [▲]	0,20	0,41 [▲]
Уринації (n)	-0,69*	0,55 ^Δ	0,07	0,59 ^Δ
Піднесений хрестоподібний лабіринт				
ВРА (n)	-0,62 ^Δ	0,56 ^Δ	-0,09	0,63**

Продовження таблиці 7.21

1	2	3	4	5
Відкриті рукави (с)	-0,76*	0,68*	0,40 [▲]	0,78*
Закриті рукави (с)	0,82*	-0,79*	-0,08	-0,85*
Звішування	-0,27	0,21	-0,38 [▲]	0,25
Н/п Гр (с)	0,31	-0,54 ^Δ	0,09	-0,44 [▲]

Примітки: 1. (n) кількість, 2. (с) - тривалість, 3. ГР - глутатіонредуктаза, 4. ГП - глутатіопероксидаза, 5. Н/п Гр - неповний грумінг, 6. * - $p < 0,0001$, 7. ** - $p < 0,001$, 8. Δ - $p < 0,01$, 9. ▲ - $p < 0,05$.

Тобто, оксидативний стрес у травмованих щурів призводив до підвищення тривожності та емоційності, а позитивні кореляції з BDNF вказують на активацію нейропротекції відповідно до рівня ушкодження [267].

Залучення біометалів у патогенез оксидативного мозку, особливо у передньому мозку, встановили за допомогою кореляційного аналізу (табл. 7.22).

Таблиця 7.22 - Матриця кореляційних зв'язків (r) між біохімічними показниками плазми крові та біометалами і їх співвідношеннями у мозочку та передньому мозку експериментальних щурів

Структура мозку	Мозочок			Передній мозок		
	Cu	Fe	Zn	Cu	Fe	Zn
	2	3	4	5	6	7
Каталаза	-0,31	-0,28	0,17	0,47 [▲]	0,84*	0,80*
ГР	0,28	0,34 [▲]	-0,10	-0,52 ^Δ	-0,81*	-0,76*
ГП	0,78*	0,82*	0,21	-0,47 [▲]	-0,29	-0,34

Продовження таблиці 7.22

1	2	3	4	5	6	7
BDNF	0,36	0,37 [▲]	-0,18	-0,60 ^Δ	-0,82*	-0,86*
<i>Співвідношення</i>	Cu/Fe	Cu/Zn	Zn/Fe	Cu/Fe	Cu/Zn	Zn/Fe
Каталаза	0,30	-0,81*	0,78*	-0,24	-0,85*	0,80*
ГР	-0,52 ^Δ	0,75*	-0,84*	0,19	0,83*	-0,78*
ГП	-0,27	0,19	-0,25	-0,47 [▲]	0,21	-0,34
BDNF	-0,39	0,85*	-0,87*	0,10	0,86*	-0,88*

Примітки: 1. (n) кількість, 2. (с) - тривалість, 3. ω - масова частка, 4. Н/п Гр - неповний грумінг, 5. * - $p < 0,0001$, 6. ** - $p < 0,001$, 7. Δ - $p < 0,01$, 8. ▲ - $p < 0,05$.

Загалом, ці результати вказують на те, що зниження активності каталази сприяє дисбалансу біометалів, особливо Cu/Zn та Zn/Fe у мозочку, що призводить до оксидативного стресу.

Одночасно порушення гомеостазу Cu, Fe та Zn у передньому мозку є більшим джерелом вільних радикалів, на що указали наявні позитивні кореляційні зв'язки сильного ступеню з рівнем каталази крові Експ щурів (табл. 7.22).

Отже, дисбаланс визначених нами біометалів, особливо Fe та Zn, є потужним джерелом вільних радикалів, а також на тлі пошкоджених мітохондрій, де вони залучаються до переносу електронів й утворення енергії, через що виснажується депо каталази та запускається порушення гомеостазу цих біометалів і, вочевидь енергодефіцит, у мозочку з прогресуванням оксидативного стресу у цьому відділі головного мозку.

Але й добре відомо, що Cu, Fe та Zn є не тільки джерелом вільних радикалів, а й кофакторами ензимів антиоксидантної системи, тому зниження біометалів може свідчити про їх активне використання у процесі активації цих ензимів у відповідь на оксидативний стрес та для підтримання метаболічних процесів [268].

Також, отримані результати вказують, що з одного боку, більш активними біометалами у розвитку оксидативного стресу у мозочку є Fe та Cu, а з іншого - оксидативний стрес може сприяти накопиченню цих біометалів у тканині мозочка, що підвищує ризик нейродегенерації у віддаленому періоді ВІТГМ [265, 269].

В свою чергу, BDNF, вочевидь, залучає Cu, Fe та Zn до організації активності нейронів та синаптичної передачі, а також для забезпечення антиоксидантного захисту [270].

Подальший багатофакторний дисперсійний аналіз Repeated Measures ANOVA показав, що зміни активності біохімічних показників плазми крові у щурів Експ групи пов'язані більшою мірою внаслідок впливу ВХ на головний мозок й меншою мірою через галотан (табл. 7.23).

Таблиця 7.23 - Оцінка впливу ВІТГМ та галотану на динаміку змін активності біохімічних показників плазми крові за показниками аналізу Repeated Measures ANOVA

Показник	Зміни, пов'язані з часом (добою)			Додатковий вплив *			
				Вибухової травми		Галотану	
	Доба	K ² (%)	p	K ² (%)	p	K ² (%)	p
Каталаза	1-14	0,0	>0,05	53,0	<0,001	1,3	<0,05
ГР	1-14	0,0	>0,05	55,0	<0,001	0,0	>0,05
ГП	1-14	0,0	>0,05	61,1	<0,001	0,3	>0,05
BDNF	1-14	20,2	<0,001	57,8	<0,001	1,6	<0,01

Примітки: 1. * – включно з добовими змінами на тлі вибухової травми або галотану, 2. K² – коефіцієнт детермінації, 3. p – рівень значущості відмінностей середніх на усіх етапах дослідження, 4. ГР - глутатіонредуктаза, 5. ГП - глутатіонпероксидаза.

Резюме

За допомогою Repeated Measures ANOVA встановлено, що більшість виявлених в ході дослідження змін у щурів Експ групи є наслідком впливу вибухової хвилі, а не галотану, на відміну від тварин Контр групи.

Кореляційний аналіз Спірмена показав, що зміни показників поведінки мають сильні й позитивні зв'язки та свідчать про страх, сильну тривожність, збудженість і дезадаптацію травмованих щурів, а також впливають на процеси навчання, збереження та відтворення пам'яті. Встановлено, що більш тривожні тварини виявляються також більш чутливими до впливу больового фактора.

Найбільш вагому роль у патогенезі розвитку поведінково-когнітивних порушень у щурів з ВІТГМ відіграють зміни Cu, Fe та Zn у передньому мозку, а також порушення співвідношення Cu/Fe як у мозочку, так і у передньому мозку.

Порушення гомеостазу Cu та Zn відбуваються через накопичення Fe, про що свідчать негативні кореляційні зв'язки Fe з Cu ($r=-0,64$, $p<0,0001$) та Fe з Zn ($r=-0,72$, $p<0,0001$).

Встановлені сильні зв'язки між ензимами антиоксидантної системи вказують на напруження антиоксидантної системи у відповідь на появу великої кількості вільних радикалів, що також пов'язано зі змінами біометалів і у сукупності впливає на поведінково-когнітивні порушення у травмованих щурів.

Позитивні кореляційні зв'язки BDNF з показниками поведінки вказують на нейропротекцію після травми.

Результати даного розділу опубліковані у наукових працях [256-262, 267].

РОЗДІЛ 8

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Варто ще раз підкреслити небезпечність для здоров'я травми головного мозку, спричиненої вибухом, навіть легкого ступеня [271 - 273]. Такі травми відносять до «невидимих», адже зовнішніх ознак ушкодження немає, а сам пацієнт не надає належної уваги своєму стану після вибуху і через це вчасно не звертається за допомогою [7, 274]. Проте, порушення поведінки й когнітивних функцій головного мозку настають швидко і є тривалими й необоротними у віддаленому періоді. Серед поведінкових змін у людини з ВІТГМ відмічають проблеми з емоційною регуляцією [9]. Спостерігаються зміни настрою у вигляді збудження (дратівливість, тривожності) або, навпаки, гальмування (апатія, депресія), порушення сну [142]. До когнітивних відносять порушення пам'яті, концентрації уваги, швидкості мислення [275]. Перелічені вище неврологічні симптоми змінюють ставлення до свого здоров'я та оточення, тобто призводять до зниження мотивації та соціальної активності. Водночас погіршення фізичного стану через головний біль, порушення координації, запаморочення, у комплексі призводять до втрати працездатності [276]. Тож, ВІТГМ легкого ступеня призводить до стійкого погіршення якості життя.

Задля поглиблення розуміння ВІТГМ необхідні експериментальні дослідження, що є ключем до розкриття патогенезу такого виду травми [277, 278, 279]. Розкриті в ході експериментальних досліджень механізми допоможуть розробити ефективні стратегії профілактики, діагностики, лікування та реабілітації, що забезпечить покращення якості життя як військових, так і цивільного населення [23, 280, 281].

В свою чергу, будь-яке експериментальне дослідження вимагає чіткого планування зі встановленням мети, завдань та дизайну, що відповідатимуть сучасному рівню обізнаності з проблеми та біоетичним вимогам поводження

із тваринами. Представлена експериментальна робота виконана з дотриманням перелічених вимог до проведення експериментального дослідження, що підтверджено відповідними витягами та первинною документацією.

Окремим аспектом експериментальної роботи є визначення моделі індукції патологічного процесу або стану, а у нашому випадку - це відтворення ВІТГМ. Для цього ми розробили «Пристрій для дослідження дії на організм ударної хвилі вибуху», що захистили патентом України (№146858) [222]. Попередньо перед розробкою зазначеного пристрою був проведений ретельний аналіз сучасних методів генерації ВХ в експериментальних умовах, як у джерелах літератури, так і у патентах [282 - 285]. В результаті проведеного аналізу визначили переваги й недоліки кожного з пристроїв, а також з'ясовували рівень безпеки та економічну складову. В підсумку, за основу взяли загальновизнану та вже стандартизовану модель - «ударну трубу», яку ми удосконалили шляхом вбудовування між камерою низького та високого тиску електромагнітного клапана й фіксації одноразової гумової мембрани на дульному зрізі вихідного кінця труби. Такі технічні модифікації забезпечили можливість створення ВХ з найменшим реактивним ефектом та великим, контрольованим датчиками, діапазоном тиску на виході. Також, ці характеристики дозволили відтворити легку ВІТГМ без ушкодження інших органів, що було підтверджено на етапах апробації пристрою. Окрім відповідності до експериментального дослідження ВІТГМ, розроблений нами пристрій простий у використанні, безпечний для людини (без застосування вибухонебезпечних речовин, рівень шуму у допустимих межах) та має низьку собівартість (для проведення дослідження обов'язкові витрати лише на гуму).

Тож, після впливу ВХ ми спостерігали за динамікою поведінкових та когнітивних змін, а також визначили рівні біометалів та їх співвідношень у

головному мозку щурів, встановили активність ензимів крові, що є біохімічними маркерами оксидативного стресу, та простежили за рівнями нейротрофічного фактора. Також дослідили особливості перебігу посттравматичного періоду на ультраструктурному й гістологічному рівнях, а також, із застосуванням імуногістохімічних маркерів, визначили наявність і ступень ушкодження судин та клітин головного мозку. Значущість встановлених відмінностей встановили за допомогою статистично-математичного аналізу. В даному розділі представлено ретельний сукупний аналіз та узагальнення отриманих результатів в динаміці ВІТГМ. Наші терміни, а саме дослідження у 1-у, 3-ю, 7-у, 14-у, 21-у та 28-у доби, ми обрали з урахуванням розподілу на гострий (1-7-а доба) та ранній (14-28-а доба) посттравматичний період [286].

Задля виявлення первинних специфічних ознак ушкодження головного мозку вибуховою хвилею провели ультраструктурний та гістологічний аналіз взірців головного мозку через 1-у годину після впливу ВХ. Адже вважаємо, що більш пізні терміни дослідження вказують на вторинні зміни. В результаті застосування вказаних методів дослідження ми довели, що ВХ, з тиском, що призводить до легкої ВІТГМ, в умовах нашого експерименту призвела до дифузного ушкодження головного мозку на судинному, клітинному та субклітинному рівні. Ознаками цих змін стали дифузний та швидкий розвиток позаклітинного, перичелюлярного, внутрішньоклітинного (включно органели) набряку. Встановили ультраструктурні ознаки ушкодження й набряку гемокапілярів, аксо-аксональних синапсів та синаптичних мембран і міжсинаптичних щілин [287, 288]. Важливим для розкриття патогенезу стало виявлення ультраструктурних ознак ушкодження й набряку мітохондрій. Наявність та дифузний характер набряку й ушкодження нейронів підтверджено гістологічним аналізом із використанням плагінів ImageJ, при чому площа набряку була більша на 9% ($p < 0,05$) у корі головного мозку Експ тварин, на відміну від гіпокампа щурів

цієї ж групи [289, 290]. Легка за ступенем тяжкості травма головного мозку в сучасній медичній практиці діагностується за результатами клінічної картини потерпілого. Це пов'язано з відсутністю значущих специфічних лабораторних, інструментальних, візуальних (КТ, МРТ, ДТТ – дифузійна тензорна томографія) критеріїв для діагностики таких травм головного мозку [291]. Але, як показують експериментальні дослідження, авторами обговорюється низка біомаркерів молекулярного рівня ЧМТ, які можуть відігравати значну роль в діагностиці, моніторингу динаміки, прогнозуванні наслідків для ефективних терапевтичних заходів [167]. Наукова дискусія в площині відсутності кореляцій рівня плазмових біомаркерів ушкодження головного мозку (S-100 β , MBP та NSE) зі ступенем та динамікою розвитку ВІТГМ пов'язано, за думкою деяких дослідників, з неповним руйнуванням ГЕБ [204, 292]. Окрім специфічних для ушкодження нейронів маркерів, дослідники широко використовують для визначення перебігу альтеративних процесів різноманітні неспецифічні фактори запалення, цитокіни та хемокіни, які стимулюють проліферативні процеси в нервовій тканині [93, 65].

Патогенез ВІТГМ на цей момент має низку суперечливих гіпотез, які потребують подальшого дослідження, зокрема при використанні модельних станів на тваринах. Зменшення та відновлення неврологічних порушень, які виникають після ВІТГМ, є основною стратегією лікування, і тому вивчення патофізіологічних ланцюгів їх розвитку буде сприяти покращенню діагностики цих змін [278, 293, 294].

Окрім вивчення поведінкових та когнітивних порушень на експериментальній моделі ВІТГМ, можливо простежити етапи та динаміку патоморфологічних змін в головному мозку, зрозуміти механізм дії ВХ на клітино-тканинні та судинно-паренхіматозні відношення, визначити можливі біомаркери й оцінити їх прогностичну значущість. Як відомо, при патогістологічному дослідженні тканин мозку після травматичного впливу

завжди оцінюють об'єм ураження, визначають локалізацію ушкоджень, оцінюють набряк мозку та досліджують порушення ГЕБ [295]. В нашому дослідженні ми також застосовували такий підхід при патогістологічній оцінці наслідків дії ВХ [296, 297].

В Контр групі тварин нервова тканина мала типову будову і складалася з нейронів, клітин нейроглії, упорядкованих в шари. Описана нами гістологічна будова кори головного мозку та гіпокампу Контр щурів мала тотожну цито- та мієлоархітектоніку, описану в попередніх дослідженнях [298, 299].

В щурів Експ групи при гістологічному дослідженні м'яка мозкова оболонка місцями була потовщена та пухка. Речовина головного мозку в ділянці кори також мала переважно пухкий вигляд, визначений периваскулярний та перицелюлярний набряк стосувався переважно поверхневих шарів кори.

Судини м'якої мозкової оболонки та речовини головного мозку були розширені, мали нерівномірний просвіт. Стінки капілярів та артеріол з 1-ї доби спостереження мають атонічний вигляд, місцями з колбоподібними розширеннями, з 7-ї доби посттравматичного періоду потовщуються за рахунок набряку ендотеліоцитів, деформації просвітів капілярів. Також, на цей час формуються додатково периваскулярні крововиливи як у м'якій мозковій оболонці, так і у корі головного мозку. В нашому дослідженні ознаки атонії капілярів, розширення просвітів інших сегментів мікроциркуляторного русла зберігалися доволі тривалий час - до 21-ї доби посттравматичного періоду [287 - 289]. Також, імуногістохімічно було досліджено фактори регуляції тонусу судин - eNOS та MMP-2, максимальна експресія яких спостерігалась на 1-у та 3-ю добу посттравматичного періоду [297, 300]. Проте патогенез тривалої вазодилатації повністю не розкритий та потребує подальших досліджень [301].

Зміни з боку судинного компартменту головного мозку при ВІТГМ, як показано в низці експериментальних досліджень на тваринах, аутопсійних спостереженнях у ветеранів-учасників бойових дій, є одним із маркерів вибухо-індукованої травми [11, 43, 295].

В посттравматичному періоді цито- та мікроархітектоніка в корі та в гіпокампі Експ щурів була відмінна у порівнянні з Інт групою. Ці зміни мали переважно вогнищевий характер та були представлені патологічними змінами з боку нейронів, в яких з 3-ї доби зміни починалися зі зміщення ядер до периферії клітини, на 7-у добу в каріолемі ядер з'являлися заглиблення та випинання, в поодиноких нейронах формувалися вакуолі. На 14-у добу посттравматичного періоду в нейронах були ознаки розпаду нейрофібрил у вигляді зернистих включень в поодиноких нейроцитах. Реакції зі сторони нейронів головного мозку можуть свідчити про порушення ядерно-цитоплазматичних відношень обумовлених як прямим механічним впливом ВХ, так і ішемічним ураженням нейроцитів внаслідок порушення кровопостачання [288].

Синаптичні контакти, як найбільш важлива складова у проведенні та формуванні своєчасних та адекватних сигналів в нервовій системі, з 1-ї години після ураження потовщувалися в контактних ділянках, кількість їх з 7-ї доби дещо зменшувалася, контактні зони зазнавали деформації [288].

Також, було встановлено, що з найбільш чутливих до експериментальної ВІТГМ серед клітин нейроглії були астроцити, які з 1-ї години і впродовж наступних діб та тижнів спостереження зазнавали змін з боку відростків (набряк та деформації відростків впродовж усього посттравматичного періоду). Це узгоджується з останніми дослідженнями, присвяченим реактивності астроглії на дію вибухової хвилі [6, 302, 303].

Важливим для майбутніх порівнянь ультраструктурних та патогістологічних результатів, які були отримані після експериментальної ВІТГМ, слід визначити відмінності між механізмами, які призводять до

порушень в структурах головного мозку при різних видах ЧМТ. На відміну від ВІТГМ усі патологічні зміни при інших різновидах ЧМТ пов'язані з силами прискорення та уповільнення, які формуються у головному мозку внаслідок удару (імпресійна травма), стиску (компресійна травма), ротації (аксональна травма) [29]. При механічних різновидах ЧМТ патологічні зміни у головному мозку розташовані як в місцях прикладання сили (зона удару), так і в місцях протилежних їм (зона протиудару) [304]. При ротаційних травмах головного мозку переважна більшість ушкоджень зосереджені в ділянках між стволом та півкулями мозку. Як вже було неодноразово написано, ВХ діє не локально на головний мозок, а як предмет з необмеженою поверхнею з проходженням фронту ВХ через всі структури головного мозку з формуванням дифузних патологічних змін внаслідок стиску та розтягнення [33, 46, 304]. Підтвердженням тому були отримані нами морфологічні результати, а саме дифузні зміни в нейронах, нейропілі, судинах різних ділянок головного мозку, отримані в Експ групі тварин, після дії ВХ [287, 288]. В клінічній практиці до основних наслідків ВІТГМ відносяться, поряд з поведінковими та когнітивними порушеннями (патологічні зміни кори головного мозку, гіпокампу), прояви нейродегенеративних системних захворювань (хронічне дифузне посттравматичне запалення), цереброваскулярні зміни внаслідок травматичного ремоделювання судинного русла головного мозку [305]. Але, всупереч суттєвим досягненням в діагностиці, лікуванні та реабілітації ВІТГМ, залишаються невирішеними та дискусійними питаннями характерних специфічних маркерів посттравматичного процесу, які б дозволяли визначити тяжкість травми та прогностичні наслідки ВІТГМ.

Надалі, у зазначені терміни посттравматичного періоду, досліджували поведінкові функції головного мозку та оцінювали рівні збудливості, реактивності, настороженості, полохливості, страху, що віддзеркалюють тривожність тварин, та емоційності. Варто зауважити, що у жодному разі ми

не спостерігали порушення нервово-м'язової збудливості, тобто ні у кого з травмованих щурів не було судом, тремору, порушення ходи, що вказує на легкий ступінь травми [306].

В тесті «Відкрите поле», що дозволяє оцінити інтеграційну функцію головного мозку, визначали тривожність щурів за рівнями горизонтальної та вертикальної рухливостей [224, 307, 308].

Підсумовуючи отримані результати встановлено, що найбільш збудженими Експ тварини були у 1-у добу посттравматичного періоду й найменше - у 3-ю добу. Та у подальші терміни спостереження ГРА у щурів Експ групи була суттєво вищою за Контр та Інт показники. Також, у 1-у добу була високою й ВРА. Значне пригнічення ВРА установили з 14-ї до 28-ї доби. Нірковий рефлекс, який також є показником дослідницької активності, був сильно пригніченим у щурів Експ групи протягом усього періоду спостереження.

Наступний показник, що віддзеркалює вроджену «косметичну» поведінку, - грумінг, який оцінювали за кількісними та якісними характеристиками. Кількість й, так само, тривалість актів повного грумінгу в Експ тварин була зменшена протягом усього посттравматичного періоду порівняно з Контр та Інт тваринами. Водночас кількість й тривалість неповного грумінгу навпаки були статистично значущо високими у період з 1-ї до 21-ї доби посттравматичного періоду, на відміну від Контр та Інт тварин. Науковці вважають, що грумінгова поведінка пов'язана із ГРА, ВРА та нірковим рефлексом, що підтверджено й у нашому дослідженні шляхом кореляційного аналізу Спірмена. Ці результати вказують на тривожність тварин Експ групи у тесті «Відкрите поле» [309, 310].

За даними сучасних досліджень поведінки експериментальних тварин відомо, що високий рівень некомфортного грумінгу є проявом атипової поведінки, яка вказує на наявність порушення ЦНС [306].

Для характеристики емоційного профілю щурів у тесті «Відкрите поле» визначали кількість актів та болюсів дефекацій й кількість уринацій, що віддзеркалюють стан вегетативної нервової системи. Вважається, що поступове збільшення цих показників у динаміці вказує на адаптацію тварин до нової, маловідомої обстановки [309]. Підвищення емоційної реакції та порушення адаптації виявили у Експ тварин протягом усього періоду дослідження на відміну від тварин Контр та Інт груп, проявом чого стали значне зростання цих показників у 1-у та 3-ю добу та значна редукція їх з 7-ї до 28-ї доби [311, 312, 313, 314]. Таким чином, отримані нами результати у тесті «Відкрите поле» вказують на особливості динаміки поведінки у гострому та ранньому посттравматичному періоді, а саме розвиток тривожності, підвищення емоційної реактивності у гострому періоді (1-7-а доба) з подальшою резистентністю (14-а доба) та виснаженням компенсаторних механізмів й поведінкою, подібною до депресії у ранньому посттравматичному періоді (21-а та 28-а доба) [308, 315]. Цей висновок узгоджується як з експериментальними роботами, так й з клінічними даними [133, 316].

В результаті дослідження поведінки у ПХЛ, який за своєю конструкцією стимулює тварин до обстеження або уникнення небезпечних просторів [317], встановили, що щури Експ групи проводили менше часу у відкритих рукавах експериментальної установки у 1-у, 7-у та 14-у добу. Це свідчить про наявність тривожності та страху до перебування у добре освітлених ділянках. А у 3-ю добу, навпаки, Експ тварини проводили більше часу у світлих рукавах, що свідчить про відсутність страху, тобто про пригнічення захисних рефлексів [317].

З 1-ї до 21-ї доби включно змінювався й час перебування у закритих рукавах. В 1-у, 3-ю та 21-у добу цей показник у Експ тварин був менше, а у 7-у добу був вище за такий у Контр та Інт тварин. Тобто, у 7-у добу травмовані щури відчували найбільший страх [318, 257].

Водночас ВРА у щурів Експ групи була пригніченою у 1-у та 7-у добу й значно високою у 3-ю, 14-у, 21-у та 28-у добу посттравматичного періоду.

Про сильний страх Експ тварин також свідчило й значне зменшення кількості звішувань з кінців відкритих рукавів у період 1-14-а доба посттравматичного періоду. А у 21-у й 28-у добу навпаки спостерігали підвищення дослідницької активності, що вказує на відсутність страху [257 - 259]. Цей висновок узгоджується з дослідженнями, які повідомляли про те, що наявність закритих та відкритих зон у ПХЛ мотивують тварин до дослідження, тоді як наявність відкритих секторів є аверсивними стимулами не тільки за рахунок відсутності захисту, а й за рахунок властивого щурам страху висоти [319].

В ПХЛ також виявили порушення грумінгової поведінки у вигляді зменшення кількості й тривалості актів повного грумінгу з поодинокими епізодами у 3-ю, 7-у та 21-у добу. При цьому, у щурів Експ групи виявили незначне підвищення кількості актів неповного грумінгу зі значним подовженням часу його тривалості, особливо у 14-у добу посттравматичного періоду [34, 258].

Також, дослідження вегетативної складової поведінки показало, що емоційність була суттєво вище у щурів Експ групи протягом усього періоду спостереження, на відміну від показників Контр та Інт тварин, про що свідчили показники збільшення актів і болюсів дефекацій та кількість уринацій. Кількість актів дефекацій трималася на високому рівні у щурів Експ групи протягом усього терміну спостереження зі статистично значущим збільшенням у 7-у, 14-у та 28-у добу, порівняно з Контр та Інт групою. Також зафіксовано, що кількість болюсів дефекацій була високою протягом усього періоду дослідження, тобто з 1-ї до 28-ї доби, зі статистично значущим підвищенням у 7-у, 14-у та 28-у добу.

Третій показник емоційності - кількість уринацій, також був на високому рівні зі статистично значущим збільшенням у 7-у та 28-у добу.

Загалом, вплив факторів стресу відіграє важливу роль у розвитку тривожних станів й численні дослідження на щурах показують, що ВІТГМ проявляє себе тривожністю або станом, подібним до депресії [166]. В різних дослідженнях впливу ВХ на головний мозок із застосуванням ПХЛ визначали й широкий спектр параметрів поведінки [140]. Вважаємо, що саме через це деякі з досліджень не виявили ознак тривоги чи депресії [8]. Проте, в цілому, отримані нами у ПХЛ індикатори поведінки вказують на сильне порушення функції головного мозку [257 - 259].

Тварини в окремі періоди дослідження або сильно боялися, або навпаки втрачали почуття страху. Тож, порівняння з рядом досліджень у ПХЛ за умов впливу інших стресорів дало підґрунтя вважати, що поведінка щурів з ВІТГМ у представленому дослідженні вказувала на тривожність та страх, або на стан, подібний до депресії у різні фази перебігу травми головного мозку, зокрема, у гострому періоді тварини були більш тривожні, що змінилось на короткочасну відсутність страху й надалі станом, подібним до депресії [317, 320].

Загалом, результати поведінки у «Відкритому полі» та у ПХЛ вказують на тривожність щурів з ВІТГМ у 1-у, 7-у та 14-у добу з періодами протилежного стану - відсутності страху, переважно у 3-ю добу, та станом, подібним до депресії у 21-у та 28-у добу. Ці висновки узгоджуються з іншими експериментальними дослідженнями ВІТГМ, які виявили ці симптоми у різні посттравматичні періоди. А також збігаються із основними симптомами ВІТГМ у людей [133, 142]. Раніше повідомлялося про те, що страх та тривожність є захисними механізмами у відповідь на стрес, у реалізації яких залучені схожі між людьми та тваринами центри головного мозку, що дозволяє результати доклінічних досліджень впроваджувати у клінічну практику [321]. Розвиток тривожності пов'язують зі збудженням гіпоталамо-мозочково-мигдалеподіного контуру, через що ознакою тривожності є підвищення рухової активності [322]. Відсутність страху,

тобто анкіогенність, пояснюють з активацією гіпоталамуса й мигдаликів головного мозку [263]. Розвиток депресії асоціюють з порушенням різних структур головного мозку, що пояснює широкий спектр симптомів. Проте встановлено, що гіпокамп, таламус, мигдалини та лобна звивина беруть найактивнішу участь у реалізації цього розладу [323].

Всі ці девіації є небезпечними для життя тварини і людини. Так, під час тривожності, яка є емоційною ознакою стресу, підвищується продукція катехоламінів через порушення гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової вісі з відповідним підвищенням системних відповідей, у тому числі й рухової активності [324]. Це створює передумови для перевантаження організму в цілому. Відсутність страху через пригнічення вроджених захисних рефлексів, наражає на небезпеку. Водночас депресія також має негативні біохімічні й гормональні зміни, а пригнічення активності також знижує фізичну активність й соціалізацію як тварин, так і людей [325, 326]. Вважаємо, що встановлені нами порушення поведінки та емоційності у тесті «Відкрите поле» та ПХЛ уточнюють симптоми ВІТГМ залежно від періоду її перебігу, що націлює на розробку симптоматично-патогенетичного лікування.

З клінічних спостережень відомо, що в осіб, які мали ЧМТ різної етіології, у тому числі й вибухової, частою скаргою був головний біль, який являв собою джерело центрального болю й, відповідно до загального поняття про біль, знижував якість життя постраждалих [327, 328]. На сьогодні існує вкрай мало досліджень болю при ВІТГМ, хоча при класичній ЧМТ встановлено, що формування осередку центрального болю призводить до порушення нервової передачі від головного мозку на периферію [329, 330]. Також є вагомі підстави вважати, що відбуваються значні патологічні події в центральній ноцицептивній та антиноцицептивній системах [331]. Сприйняття основного подразника і відповідні реакції на дію болю суттєво впливають на процеси підвищеної нервової активності [228]. Біль є одним з еволюційно найдавніших нервових феноменів у ссавців і водночас процес,

механізми ініціації, передачі та сприйняття якого у разі зовнішніх та/або внутрішніх ушкоджень досить складно дослідити [227]. Крім того, слід зазначити, що не існує єдиного специфічного больового центру в головному мозку; низка різних структур у ЦНС об'єднані в ноцицептивну систему, що реагують на будь-які больові подразники [226]. На додаток до ноцицептивної системи, існує також центральна антиноцицептивна система, що забезпечує знеболювальні ефекти, яка включає опіоїдну та неопіоїдну підсистеми, які суттєво впливають на сприйняття больової стимуляції [332, 333].

Проведене дослідження показало досить цікаві й важливі особливості стану центральних анти- та ноцицептивної системи, який оцінювали за реакцією вокалізації на електробольовий вплив. Зокрема, в 1-у добу посттравматичного періоду у тварин з ВІТГМ сила електричного струму була вище у порівнянні з Інт, тобто больовий поріг підвищувався. А у порівнянні з Контр тваринами сила струму була меншою, тобто знеболювальний ефект галотану не проявлявся у Експ щурів. В той самий час ми помітили суттєві відмінності й між Контр та Інт групами: щурів Контр групи піддавали більшій силі електричного струму для отримання реакції вокалізації, що обумовлено дією галотану [334, 335].

На 3-ю добу після опроміненням ВХ сила струму, що призводила до реакції вокалізації на подразнення в Експ щурів збільшувалась у порівнянні з показником 1-ї доби цієї ж групи, що свідчить про активацію компенсаторних механізмів після ВІТГМ. Проте, цей показник був меншим у порівнянні з Контр та Інт тваринами. Загалом, ці результати вказують на те, що в Експ тварин больовий поріг все ще був досить низьким. Водночас у щурів Контр групи та надалі спостерігали знеболювальний ефект галотану, про що свідчили вищі показники сили електричного струму у порівнянні з Експ та Інт групами. Наші попередні дослідження поведінки, особливо у ПХЛ, показали наявність ефекту галотану у Контр тварин у 1-у та 3-ю добу дослідження, навіть за умов нетривалого впливу анестезії [334].

На 7-у добу після впливу ВХ встановили, що у тварин Контр групи сила току стала відповідною до Інт групи. При цьому, в Експ тварин виявили все ще низький больовий поріг у порівнянні як з Контр й Інт групами, так і з даними Експ групи у 1-у добу спостереження. Вважаємо, що отриманий результат свідчить про виснаження компенсаторних механізмів у щурів з ВІТГМ [334].

Надалі, у 14-у і 21-у добу сила струму для реакції вокалізації щурів Експ групи була меншою у порівнянні з Контр та Інт групами, проте поступово підвищувалась і вже на 28-у добу практично дорівнювала показникам груп порівняння. Взагалі, в усіх групах тварин виявили поступову адаптацію до електробольової стимуляції, про що свідчило градієнтне збільшення сили електричного струму з 1-ї до 28-ї доби дослідження [334].

Сучасні дані свідчать про те, що знеболювальний ефект галотану забезпечується активацією ендогенної опіатергічної медіаторної системи [336]. Завдяки цьому можливо припустити наступне. У щурів Контр групи у 1-у добу дослідження галотан призвів до активації опіатної системи мозку і синтезу ендорфінів та енкефалінів [337]. В свою чергу, це підвищило чутливість опіатних рецепторів та призвело до зворотного захвату даних сполук в пресинаптичних мембранах, що проявлялось у знеболенні та збільшенні сили струму, необхідної для отримання вокальної реакції [337, 338]. Проте цього ефекту ми не виявили у щурів Експ групи, які також піддавались наркотизації галотаном.

Враховуючи власні результати й дані попередніх досліджень, можна припустити, що можливими причинами відсутності знеболення у щурів з ВІТГМ можуть бути структурні та метаболічні порушення, які призводять до пригнічення антиноцицептивної системи головного мозку за рахунок порушення синтезу ендогенних опіатів (ендорфінів та енкефалінів) [334, 338].

Зазвичай при стресі (імобілізаційний, емоційно-больовий) або при травмах (експериментальна лапаротомія) спостерігають підвищення синтезу ендогенних опіатів [330, 339]. Проте, наші результати суперечать цим даним, на що вказує явна недостатність цієї системи протягом усього посттравматичного періоду.

Вважаємо, що це призводить до порушення формування компенсаторних механізмів у відповідь на ВІТГМ. Також, вкрай важливим є первинне ушкодження мітохондрій і, як наслідок, розвиток енергетичного дефіциту, через що синтез достатньої кількості медіаторів антиноцицептивної системи стає неможливим. Очевидно, що наслідком цих подій є розвиток оксидативного стресу [14].

Найбільш знакове пригнічення антиноцицептивної системи у Експ тварин спостерігали на 7-у добу посттравматичного періоду. Це можна пов'язати з максимальним розгортанням патобіохімічних процесів у головному мозку саме у цей термін.

Окрім того, у людей з ВІТГМ, а також і в експериментальних дослідженнях, в тому числі й в нашому, спостерігаються поведінкові порушення у вигляді тривожності, депресії [275]. Водночас літературний пошук показав, що ендогенні опіоїди залучені до реалізації цих функцій ЦНС, а нормалізація їх синтезу або застосування фармакологічної корекції призводить до покращення цих процесів [275].

Таким чином, вважаємо, що припущення про порушення саме опіоїдної системи у щурів з легкою ВІТГМ збігається з загальними даними і є однією з ланок патогенезу як регуляції ЦНС больових реакцій, так і поведінкових порушень.

В основі когнітивних функцій головного мозку є здатність до сприйняття зовнішнього подразника, зберігання та відтворення реакції на нього. Ці процеси поєднуються у поняття «пам'ять», а залежно від виду подразника формуються різні її види [340-342]. В головному мозку є різні

центри окремих видів пам'яті, такі як гіпокамп, кора, в яких є спеціалізовані нейрони, здатні до формування енграм пам'яті [343]. Порушення цих структур, в тому числі й в результаті ВІТГМ, призводить до стійких порушень пам'яті, проте ще й досі не встановлено, які саме процеси пам'яті зазнають найбільших змін та не встановлено їх патогенез.

Відомо, що у людини є різні види пам'яті, які збігаються з такими у щурів, проте людська пам'ять складніша за рахунок наявних її сигнальної системи, вербальних та аналітичних можливостей [344]. Але, подібність механізмів утворення деяких видів пам'яті між людиною і ссавцями інших видів, зокрема щурами, дозволяють дослідити особливості їх на тлі ВІТГМ [345].

Просторова пам'ять формується при пересуванні у просторі та дозволяє орієнтуватися та запам'ятовувати розташовані предмети й уникати небезпечних ситуацій. До формування і реалізації просторової пам'яті залучені багато різних структур головного мозку, проте основною є гіпокамп [337]. Тож, для встановлення специфіки перебігу ВІТГМ дослідили стан просторової пам'яті та навчання у нашому експерименті [339, 340].

Основною метою при застосуванні лабіринту Барнса є визначення просторової пам'яті, що створюється в результаті навчання ще до моделювання ВІТГМ. Тварина пересувається по відкритому та добре освітленому майданчику і знаходить лише одне надійне укриття серед багатьох імітацій («фальшивих» притулків). Ефективним вимірюванням пам'яті про наявність справжнього притулку вважається скорочення латентного часу та кількості обстежених притулків [346].

Дослідження просторової пам'яті у щурів з ВІТГМ, що відтворювали за допомогою власне розробленого пристрою показало значні та тривалі її порушення, що узгоджується з попередніми дослідженнями інших науковців [126]. Головною ознакою порушення пам'яті у травмованих щурів стало подовження латентного часу досягнення кінцевої мети у порівнянні з Контр

та Інт тваринами з 1-ї до 28-ї доби та особливо у 3-ю та 7-у добу. Також, щури з ВІТГМ обстежували більшу кількість «фальшивих» притулків, маршрут пересування по майданчику був складним, тварини часто оминали «справжній» притулок, часто, особливо у 1-у, 3-ю та 14-у добу посттравматичного періоду, проходили через центр майданчика, що вказує на відсутність страху. В Експ тварин зменшився у 1-у добу час завмирання порівняно з Контр та Інт тваринами, що свідчить про початкове підвищення рухової активності, бажання сховатися у «справжньому» притулку, про який, вочевидь, травмовані щури пам'ятали, а надалі, з 3-ї до 28-ї доби спостереження, навпаки подовжився, що свідчило про страх [347-349]. Такі відмінності у ознаках страху ймовірно свідчать про те, що травмовані щури відчували постійну тривожність, але пам'ятали, що при пересуванні на майданчику їм нічого не загрожувало й тому вільно переходили по центру установки [350].

Існує думка, що подовження латентного часу пошуку «справжнього» притулку у лабіринті Барнса свідчить про відсутність стресу у тварин, через що вони не бояться досліджувати майданчик лабіринту [351]. Водночас отримані у нашому дослідженні дані про високу тривожність, страх, що змінюється станом подібним до депресії узгоджуються з іншими дослідженнями ЧМТ, в тому числі й ВІТГМ [133, 352]. Також в ході аналізу літератури було знайдено публікації, в яких описані інші модифікації лабіринту Барнса з меншою або більшою кількістю «фальшивих» притулків і через це вони не отримували доказів порушення просторової пам'яті у експериментальних тварин [353]. В нашому дослідженні ми використали лабіринт Барнса з 20-а притулками та встановили чіткі ознаки порушення просторової пам'яті не тільки за латентним часом, а й за аналізом маршруту пересування, які до того ж корелювали зі змінами поведінки.

Надалі були отримані не менш цікаві й важливі результати дослідження у Ж-подібному лабіринті, що, як й інші розгалужені лабіринти,

використовується для визначення проблеми навчання [354-356]. Але Ж-подібний лабіринт вважається найскладнішим, за рахунок чого провокує глибші механізми вищої нервової регуляції [357].

В Ж-подібному лабіринті, який за протоколом проводиться протягом 5-и днів, також встановили високу рухливість, про що свідчило підвищення ВРА, значну тривожність зі збільшенням кількості й тривалості актів неповного грумінгу. При цьому, на 3-ю та 4-у добу спостереження щури з ВІТГМ демонстрували кращу пошукову діяльність. Це, ймовірно, відбувається за рахунок активізації компенсаторних механізмів [358]. Але надалі, без отримання лікування, відбувалась декомпенсація.

Також встановили порушення просторової орієнтації, про що свідчили маршрути пересування - Експ щури частіше відвідували 1-й, 4-й та 7-й сектори лабіринту порівняно з Контр та Інт тваринами, а всередині Експ групи зафіксували, що тварини найчастіше заходили у 1-й та 7-й сектори, що були паралельними сектору з годівничкою, про яку тварини ще не знали.

Тобто, така картина свідчить про те, що травмовані щури не були здатні вивчити й запам'ятати, що вже відвідували ці сектори. А за загальними результатами дослідження просторової пам'яті можна дійти висновку, що порушення її скоріш за все пов'язано із ушкодженням гіпокампа [303].

Умовна реакція пасивного уникнення (УРПУ) використовується для вивчення мнестичних процесів у щурів. Тварини навчаються реагувати на негативні стимули шляхом впливу певних негативних дій на вроджені рефлекси. Найбільш застосованим фактором, що використовують для вироблення умовного рефлексу, є електричний струм, що при невеликій інтенсивності та без ушкодження тканин призводить до значного больового відчуття. Водночас у тварин є можливість уникнути больового відчуття за рахунок переходу хоч і в освітлену камеру, проте без больової стимуляції. В результаті формуються умовно-рефлекторні зв'язки щодо негативного

стимулу та можливості уникнути його - асоціативна пам'ять, яка є вкрай важливою для функціонування пам'яті в цілому [231, 360].

У цьому дослідженні було продемонстровано, що вибухо-індуковане ушкодження головного мозку призводить до втрати пам'яті у щурів у 3-ю, 21-у та особливо у 28-у добу посттравматичного періоду, про що свідчило підвищення латентного часу заходу у темну камеру з електрифікованою підлогою, особливо наприкінці дослідження [361].

Цікаво відзначити, що існує гіпотеза щодо механізму порушення асоціативної пам'яті внаслідок ЧМТ, яка полягає у тому, що відбувається порушення кортикального сполучення через патологічне гальмування активності нейронів головного мозку [360]. Інші дослідження зі щурами показали залучення нейронів гіпокампа у процесі утворення сліду асоціативної пам'яті [362]. Тож, узагальнюючи наші результати з сучасними знаннями щодо асоціативної пам'яті можна припустити, що порушення пам'яті у щурів у більш віддалений період ВІТГМ пов'язано з патологічними явищами як у корі головного мозку, так і у гіпокампі.

Встановлені функціональні порушення головного мозку у вигляді поведінкових та когнітивних змін внаслідок впливу ВХ потребують розкриття патогенезу, задля чого було вирішено дослідити зміни життєво важливих біометалів у різних структурах головного мозку, а саме у мозочку та передньому мозку. Ми обрали саме такі ділянки головного мозку тому, що вони залучені у регуляцію поведінково-когнітивних, які ми власне й досліджували [363 - 366].

Зокрема, Cu є кофактором головних ензимів, що залучені у метаболічних процесах нейронів, перенесенні електронів та антиоксидантного захисту, а також входить до складу регуляторних та сигнальних молекул [367]. Добре відомою є функція Cu у відновно-окислювальних процесах, що відбуваються у мітохондріях за допомогою цитохромоксидази. Водночас Cu цього ензиму залучається у процес

перенесення електронів до молекули кисню та потім приймає їх від цитохрому. Для обміну Cu мітохондрії використовують металохаперони білкової природи [368]. Повідомляється, що Cu присутній у цитозолі й залучається до антиоксидантного захисту разом з Cu/Zn-залежною супероксиддисмутазою [369]. Важливим для нейронів головного мозку є Cu-залежний ензим - пептидил- α -монооксигеназа, який за допомогою Cu прискорює гідроксилювання нейропептидів, що підвищує функціональність нейронів через рецепторну чутливість. Повідомляється, що найбільша концентрація пептидил- α -монооксигенази знаходиться у гіпокампі [367]. Також Cu бере участь у забезпеченні активності дофамін- β -гідролази та моноаміноксидази, що регулюють баланс нейротрансмітерних катехоламінів у норадренергічних нейронах [370]. Цікаво, що Cu залучається й до регуляції Fe та Zn разом із церулоплазміном, гефаестином, супероксиддисмутазою та ін. [367]. Також Cu є забезпечує мієлінізацію нервових волокон, синаптичну передачу через вплив на GABA- та NMDA-рецептори і Ca^{2+} -ві канали [371]. Існування у двох окислювальних станах, а саме Cu^+ та Cu^{2+} , дозволяє іонам міді значно розширити спектр мідьзалежних метаболічних процесів як в нормі, так і при патології [250, 253]. Таким чином, зміни гомеостазу Cu чи у сторону збільшення, чи, навпаки, при його зменшенні, призводять до значних порушень функції нейронів та передачі імпульсу, клінічними проявами яких є поведінково-когнітивні порушення, а при тривалому дисбалансу - до розвитку нейродегенерації [372].

В представленому дослідженні було встановлено збільшення масової частки у відсотках (ω) Cu у мозочку у 7-у та 28-у добу та зменшення у 14-у та 21-у добу посттравматичного періоду. Водночас у передньому мозку масова частка у відсотках (ω) Cu поступово збільшувалась з 1-ї до 28-ї доби - це призвело до початкового збудження нейронів, що проявлялось тривожністю, а надалі виснаженням і порушенням збудливості нейронів, проявом чого стало гальмування травмованих щурів. Порівняння масових часток у

відсотках (ω) Cu у мозочку та передньому мозку показало відсутність значущих відмінностей у 1-у добу посттравматичного шоку, а у 3-ю добу цей показник був вище на 32% ($p < 0,05$) у мозочку, у 7-у добу також встановили, що у мозочку Cu був вище на 16% ($p > 0,05$), з 14-ї доби Cu у мозочку зменшився на 40% ($p < 0,05$), у 21-у добу на 46% ($p > 0,05$) та у 28-у добу на 8% ($p > 0,05$).

На сьогодні відомо про широкий спектр властивостей Fe в організмі людини. Більшість, в першу чергу, пов'язують функцію Fe із гемоглобіном та перенесення кисню. Проте, Fe є вкрай важливим біометалом не тільки через цю функцію, адже залізо є кофактором білків ланцюга дихального циклу та важливий у перенесенні електронів, залучений у реплікацію ДНК та, відповідно, є важливим для поділу клітин, а також регулює ферменти антиоксидантної системи (супероксиддисмутази, каталази) [373]. Також відомо, що Fe у нервовій тканині залучається до синтезу й метаболізму нейротрансмітерних катехоламінів у якості кофактора гідролаз ароматичних амінокислот [374], бере участь у мієлінізації нервових волокон, а гомеостаз його у головному мозку не залежить від такого в усьому організмі [252, 375]. Потрапляння Fe у головний мозок чітко регулюється ГЕБ [376].

Водночас відомо, що поведінково-когнітивні порушення ЦНС пов'язані більшою мірою з накопиченням заліза у головному мозку, яке існує у формі Fe^{2+} , а не Fe^{3+} . Порушення цієї окисно-відновної пари сильно сприяє оксидативному стресу і призводить до перекисного окиснення ліпідів та фероптозу [252], до яких вкрай чутливі нейрони, та запускає механізми порушення мієлінізації й нейродегенерацію [377, 378]. Накопичення Fe у головному мозку пов'язують із крововиливами та порушенням лізосом, які в нормі підтримують гомеостаз Fe шляхом трансформації мітохондріального окисно-активного заліза й феритину цитозолу через селективну аутофагію [373, 379]. Зменшення, не залежно від причин, Fe у головному мозку призводить до пригнічення когнітивних функцій та порушення сну [376].

В дослідженні було встановлено збільшення масової частки у відсотках (ω) Fe у мозочку у 1-у, 3-ю та 7-у добу і зменшення у 14-у та 21-у добу порівняно з Контр та Інт тваринами, й відновлення у 28-у добу. У передньому мозку, навпаки, у 1-у та 3-ю добу масова частка у відсотках (ω) Fe була меншою, а з 7-ї до 28-ї доби зростала порівняно з показниками Контр та Інт груп.

Кількісне порівняння масових часток (ω) Fe мозочка та переднього мозку показало більшу його концентрацію у 1-у добу у мозочку на 38% ($p < 0,01$), у 3-ю добу на 46% ($p < 0,01$), у 7-у добу на 31% ($p > 0,05$). Та надалі, навпаки, масова частка (ω) Fe збільшилася у передньому мозку, а саме, у 14-у добу на 32% ($p < 0,05$), у 21-у добу на 14% ($p < 0,05$) та у 28-у добу показники Fe майже не відрізнялись між відділами головного мозку, що досліджували. Вочевидь, що різниця у розподілу Fe між різними структурами головного мозку залежить від перебігу вторинних патобіохімічних реакцій, а також залежать як від механізму первинного походження, так і від особливостей регуляції та інтенсивності запалення у цих структурах. Враховуючи зміни поведінки, ми вважаємо, що підвищення Fe у мозочку на 1-му тижні призводить до збудження нейронів й відповідно до активації рухової активності щурів з ВІТГМ, а подальше підвищення є токсичним і призводить до гальмування, проявом якого став розвиток стану, подібного до депресії.

Не менш важливим біометалом для нормального функціонування головного мозку є Zn, що у фізіологічних умовах існує у вигляді двовалентного катіона Zn^{2+} . На відміну від заліза та міді, він не є редокс-активним біометалом, а бере активну участь у механізмах передачі збудження в синапсах центральної нервової системи [380]. В процесі вивільнення з пресинаптичної мембрани, Zn зв'язується з транспортними білками та рецепторами на постсинаптичній мембрані, таким чином модулюючи нейротрансмісію. Більшість Zn у мозку зв'язана з білками та є кофактором понад 300 ферментів, а також з ним пов'язана експресія

щонайменше 900 генів [251, 254, 381 - 383]. Крім того, це питання є дуже важливим і цікавим ще й тому, що певні зміни біометалів мозку спостерігаються при різних захворюваннях, як центральної нервової системи, так і соматичних, і можуть спричиняти порушення когнітивного компонента та активують нейродегенеративні процеси [384, 385].

Сучасні дослідження показують, що Zn-залежні ензими та білки у великій кількості знаходяться у пресинаптичних пухирцях глутамат-залежних аксонів [386]. Разом із ГАМК, Zn взаємодіє з NMDA (N-метил-D-аспартат) та AMPA (α -аміно-3-гідрокси-5-метил-4-ізоксазолпропіонова кислота) рецепторами та активує синаптичну передачу через відкриття кальцієвих каналів [387]. Також Zn є важливим у процесах формування пам'яті та сприйняття відчуттів (слух, нюх, зір), залучається до поділу клітин, репарації ДНК [388]. На сьогодні добре відомим є те, що Zn у передньому мозку, разом з глутаматом, бере участь у реалізації різноманітних поведінкових реакцій, зокрема у процесах навчання та пам'яті, які більшою мірою контролюються гіпокампом та мигдалинами й іншими структурами лімбічної системи, де визначаються фізіологічно великі концентрації Zn [389]. В нормі Zn у цих структурах головного мозку модулює синаптичну пластичність, що забезпечує зберігання та відтворення сліду пам'яті, зокрема просторової та асоціативної, через пригнічення МАРК (мітоген-активованої протеїнкінази) та тирозинфосфатази у закінченнях мохових волокон, з наступною активацією пресинаптичних позаклітинних сигнальних регуляторів - кіназ, що, своєю чергою, стабілізують пам'ять. З цього зрозуміло, що зміни гомеостазу Zn призводять до порушень цих процесів й, відповідно, пам'яті [390]. Ще однією важливою функцією Zn у головному мозку є взаємодія його із нейромедіаторами. В дослідженнях показано, що екзогенний надлишок Zn пригнічує активність холінергічних рецепторів, ГАМК та глутамату й, відповідно до їх ролі, впливає на здатність до навчання [391]. Водночас відомо, що дефіцит Zn призводить до

порушення розмноження та диференціації нейроцитів, а також запускає апоптоз клітин в областях підвищеної потреби у Zn, тобто у гіпокампі, що також лежить в основі порушень когнітивних функцій, які більшою мірою є незворотними [391].

Відомі й антиоксидантні властивості Zn, проте він не може віддавати або приймати електрони й не змінює валентність. У невеликих концентраціях Zn здійснює бактерицидний ефект через окиснення мембрани мікроорганізмів [392]. Зміни гомеостазу Zn сприяють порушенню функцій мітохондрій через зміни у метаболізмі білків та деструкцію матриці мітохондріальних металопротеїназ, що призводить до збільшення продукції АФК. Такий механізм лежить в основі нейродегенерації, зокрема при хворобі Альцгеймера [260].

В дослідженні встановили підвищення масової частки (ω) Zn у мозочку у 7-у, 14-у та 28-у добу й у передньому мозку у 7-у, 14-у, 21-у та 28-у добу посттравматичного періоду порівняно з Контр та Інт тваринами. В результаті порівняння масових часток (ω) Zn між відділами головного мозку, які досліджували, встановили, що у передньому мозку Експ тварин Zn було більше ніж у мозочку на 11% ($p > 0,05$) у 1-у добу дослідження, менше у 3-ю добу на 8% ($p < 0,05$), у 7-у добу на 23% ($p < 0,01$), а надалі знову збільшився: у 14-у добу на 40% ($p < 0,01$), у 21-у добу на 51% ($p < 0,01$) та у 28-у добу показники Zn були на однаково високому рівні як у передньому мозку, так і у мозочку.

Надалі порівняли співвідношення визначених біометалів для оцінки гомеостазу біохімічних реакцій, стану антиоксидантної системи та метаболічних процесів. Баланс між Cu та Fe більшою мірою забезпечує фізіологічний перебіг окисно-відновних процесів. Результати показали, що співвідношення Cu/Fe у мозочку Експ тварин зменшилось у 1-у, 3-ю, 7-у добу та значно підвищилось у 28-у добу. В той же час, у передньому мозку

співвідношення Cu/Fe був значно вищим протягом майже усього періоду дослідження у порівнянні з Контр та Інт тваринами.

При порівнянні співвідношення Cu/Fe між структурами головного мозку Експ щурів встановили, що у передньому мозку у 1-у добу воно було вище на 38% ($p < 0,01$), у 3-ю добу на 17% ($p < 0,05$), у 7-у добу на 15% ($p < 0,05$), у 14-у добу на 7% ($p > 0,05$), у 21-у добу на 35% ($p < 0,01$) та у 28-у добу співвідношення Cu/Fe у передньому мозку було нижче на 6% ($p > 0,05$).

Значне підвищення Cu/Fe вказує на реактивні зміни у метаболізмі нейронів головного мозку через вибухо-індуковане ушкодження, а також на розвиток оксидативного стресу й зниження цього показника свідчить про інгібування цих процесів за рахунок залучення антиоксидантної системи до 21-ї доби, з якої відбувається сплеск патобіохімічних реакцій із компенсацією цих порушень вже через тиждень. Загалом, тривале порушення взаємовідносин між Cu та Fe є нейротоксичним та може мати тривалі наслідки із поступовим розвитком нейродегенерації.

Оскільки Cu та Zn входять до складу ензиму дихального ланцюга — супероксиддисмутази, порушення балансу між ними також призводить до оксидативного стресу. За допомогою попарного порівняння встановили, що співвідношення Cu/Zn у мозочку травмованих щурів було вище у 1-у та 28-у добу й нижче у 7-у та 14-у добу порівняно з Контр та Інт групами. В передньому мозку зміни співвідношення Cu/Zn мали хвилеподібний характер, тобто були високими у 1-у, 3-ю та 7-у добу у порівнянні з Контр та Інт. В 14-у добу співвідношення Cu/Zn було на рівні Контр та Інт й знову підвищувалось у 21-у й 28-у добу посттравматичного періоду.

Зіставлення співвідношень Cu/Zn між різними структурами головного мозку виявило підвищення його у мозочку у 1-у добу на 33% ($p < 0,05$), у 3-ю добу на 26% ($p < 0,01$), у 7-у добу зменшилось на 4% ($p > 0,05$), у 14-у добу цей показник був на одному рівні у мозочку та передньому мозку, у 21-у добу знову був вище на 8% ($p > 0,05$) у мозочку, у 28-у добу співвідношення Cu/Zn

у мозочку було менше на 7% ($p > 0,05$). Збільшення співвідношення Cu/Zn вказує на сплески оксидативного стресу, а значення цих динамічних змін можна інтерпретувати як спроби компенсації оксидативного ушкодження. Тенденція до збільшення Cu/Zn у ранньому періоді ВІТГМ є прогностично несприятливим та ймовірно є тригером нейродегенеративного процесу у передньому мозку.

Загалом, ці результати вказують на те, що динаміка змін співвідношення Cu/Zn у передньому мозку у щурів з ВІТГМ призводить до порушення поведінково-когнітивних функцій головного мозку, що проявляється у пригніченні орієнтовно-дослідницької діяльності та зниженні адаптивних механізмів з порушеннями просторової пам'яті та антиноцицептивної системи.

Нормальний баланс між Zn та Fe забезпечує адекватне відтворення когнітивних функцій через нейропластичність та забезпечення мієлінізації нервових волокон, а також регулює антиоксидантну систему. Водночас співвідношення Zn/Fe у мозочку щурів з ВІТГМ було менше у 1-у та 3-ю добу й більше у 7-у, 14-у та 28-у добу посттравматичного періоду порівняно з показниками Контр та Інт тварин. Співвідношення Zn/Fe у передньому мозку градієнтно збільшувалось з 1-ї до 14-ї доби, а потім, у 21-у та 28-у добу зменшувалось, проте все одно було вище за Контр та Інт показники. Оцінка значень співвідношення Zn/Fe у різних відділах головного мозку Експ тварин дозволила виявити підвищення його у передньому мозку у 1-у добу дослідження на 44% ($p < 0,01$), у 3-ю добу на 41% ($p < 0,01$), у 7-у добу на 10% ($p < 0,05$), у 14-у добу на 12% ($p < 0,05$), у 21-у добу на 41% ($p < 0,01$) та у 28-у добу були на одному рівні.

Загалом, Cu, Fe та Zn є біометалами, що взаємодіють один з одним, через що порушення одного призводить до змін гомеостазу інших. А саме через пошкодження ГЕБ і вихід еритроцитів у нейропіль головного мозку відбулось накопичення заліза, яке стало пусковим для розвитку порушення

гомеостазу міді та цинку. Накопичення заліза та міді сприяло збудженню нейронів у гострий період, проявом чого став розвиток тривожності і страху, з подальшим виснаженням компенсаторних механізмів і гальмуванням у вигляді стану подібного до депресії. Також, дисбаланс Cu та Fe підтримував оксидативний стрес, що розвинувся внаслідок первинного пошкодження ВХ, зокрема мітохондрій.

Вважаємо, що фармакологічна корекція дисбалансу досліджених біометалів сприятиме зменшенню вторинного ушкодження головного мозку та поведінково-когнітивних проявів ВІТГМ, а також мінімізує ризик подальшої нейродегенерації.

З літературних джерел відомо, що оксидативний стрес розвивається внаслідок надмірного утворення вільних радикалів на тлі практично усіх патологічних процесів. Повідомлялося, що ЦНС вкрай чутлива до оксидативного стресу через ліпофільність та гідрофільність, а клінічними проявами є поведінково-когнітивні порушення [393]. В головному мозку оксидативний стрес може бути наслідком крововиливів, ішемії, а також ЧМТ, у тому числі й вибухо-індукованої [394]. Проте, окрім різниці у методах відтворення та термінах дослідження ВІТГМ, відрізнялись і маркери оксидативного стресу [395]. Додатковою мотивацією для дослідження рівня напруження антиоксидантної системи стало визначення змін біометалів, що безпосередньо залучені до її регуляції [396].

В проведеному експерименті оцінювали стан антиоксидантної системи за результатами дослідження активності каталази, глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази, які визначали в крові щурів [300, 347, 397 - 400].

Як зазначалося, каталаза є ферментом антиоксидантної системи, що знешкоджує перекис водню (H_2O_2) шляхом розкладання його на воду (H_2O) та молекулярний кисень (O_2) [14]. Власне, перекис водню, який утворюється в мітохондріях при порушенні дихального ланцюга з активних форм кисню через гіпоксію, запалення або фізичне ушкодження мітохондрій, є потужним

вільним радикалом, що окислює ліпіди мембран нейронів, протеїнів клітин, ще більше ушкоджує мітохондрії, результатом чого є енергодефіцит [401, 402]. Відомо також, що вільні радикали розповсюджуються з кров'ю по усьому організму й запускають системну запальну відповідь [403]. Цю властивість можна використовувати для прижиттєвої діагностики оксидативного стресу, в тому числі й при ВІТГМ.

Цікаво відзначити, що низка робіт присвячених дослідженню ефективності лікування оксидативного стресу в головному мозку та профілактики/лікування нейродегенерації шляхом інтраназального введення подібних до каталази інкапсульованих ферментів показали, що саме зниження активності каталази сприяє масивному вторинному ушкодженню та пов'язано з порушеннями поведінки [404, 405].

Дослідження показало зменшення активності каталази у 1-у, 3-ю та 7-у добу у щурів Експ групи порівняно з Контр та Інт тваринами, що свідчить про сильний оксидативний стрес у травмованих щурів.

Таким чином, результати роботи збігаються з численними попередніми дослідженнями, які вказують на значущу роль каталази не тільки в антиоксидантному захисті, що зберігає енергетичне забезпечення та функціональну активність нейронів, а й у регуляції вродженої поведінкової діяльності [405, 406]. Адже відомо, що недостатність каталази може призводити до порушення дофамінергічної системи, проявом чого є зміна рухливості, а також до змін у регуляції гіпоталамо-гіпофізарної вісі, ознаками яких є тривожність та порушення адаптації до впливу стресових чинників [407].

Враховуючи отримані результати, вважаємо, що визначення активності каталази крові можна використовувати для прижиттєвої діагностики оксидативного стресу, як маркера вторинного ушкодження при ВІТГМ.

Наступний ензим антиоксидантної системи - глутатіонредуктаза еритроцитів, який відновлює окиснений глутатіон із залученням НАДФН у

якості донору електронів. А також глутатіонредуктаза підтримує високий рівень самого глутатіону для участі його у нейтралізації перекису водню. Окрім цього, глутатіонредуктаза є необхідною для нормального функціонування й інших ензимів, що беруть участь у антиоксидантному захисті, серед яких глутатіонпероксидаза, глутатіон-S-трансфераза, тіоредоксинредуктаза та протеїндисульфідізомераза (відновлюють окиснені білки), альдегіддегідрогеназ (детоксикація альдегідів - продуктів окисного стресу), глутатіон-активовані протеази, ензими II фази детоксикації (біотрансформація токсинів), антиоксидантні ферменти (захист від АФК), ліпоаміддегідрогеназа (відновлення ліпоєвої кислоти та відновлення енергетичного забезпечення) й таким чином забезпечує безперервний цикл антиоксидантної системи [408 - 410]. Також відомо, що глутатіонредуктаза сприяє активізації протизапального захисту через Т-лімфоцити, а пригнічення її активності запускає апоптоз клітин [411].

Високу активність глутатіонредуктази у Експ щурів встановили у 1-у, 3-ю та 7-у добу посттравматичного періоду з повним відновленням до рівня Контр та Інт тварин.

Хоча в літературі не зустрічаються достеменні докази прямого впливу глутатіонредуктази на поведінку та пам'ять, вважаємо, що опосередковано, через мінімізацію оксидативного ушкодження та регуляцію енергетичного балансу, цей ензим забезпечує адекватне функціонування клітин головного мозку.

Тому вважаємо, що визначення активності глутатіонредуктази еритроцитів також можна використовувати як біомаркер ВІТГМ, особливо у гострому періоді.

Глутатіонпероксидаза - високоактивний селен-залежний ензим антиоксидантної системи, який каталізує деградацію перекису водню та органічних пероксидів за допомогою відновленого глутатіону. Здатність до функціонування глутатіонпероксидази залежить від інших ензимів, зокрема

глутатіонредуктази, та наявності глутатіону, коферментів, таких як НАДФН та селену. На сьогодні відомо, що порушення активності глутатіонпероксидази не тільки призводить до вільнорадикального ушкодження клітин, а і є одним з факторів розвитку нейродегенеративних захворювань [269, 412].

Дослідження активності глутатіонпероксидази крові також має важливе значення для оцінки стану антиоксидантної системи та діагностики оксидативного стресу при ВІТГМ, а у поєднанні з іншими ензимами дозволить глибше зрозуміти вторинні механізми ушкодження та компенсаторні реакції, що відбуваються у головному мозку після однократного впливу ВХ.

За результатами проведеного дослідження встановили, що активність глутатіонпероксидази в крові Експ тварин була високою у 1-у добу та підвищувалась до 7-ї доби посттравматичного періоду, а з 14-ї доби була на рівні показників Контр та Інт тварин. Дані попередніх досліджень вказують на відсутність прямої участі у регуляції поведінково-когнітивних процесів, проте це відбувається за рахунок захисту клітин головного мозку від оксидативного стресу та завдяки підтримці метаболічних процесів, що підтверджує й наше дослідження.

Таким чином, глутатіонпероксидаза крові також активно реагує на оксидативний стрес у гострому періоду ВІТГМ, що можна використовувати як біомаркера для своєчасної діагностики цієї травми, а знання щодо взаємозв'язків з біометалами поглиблюють уявлення про метаболічні зміни у нейронах, проявом чого здебільшого є порушення поведінки та ноцицептивної системи.

Розвиток підтвердженого оксидативного стресу починається в результаті ушкодження вибуховою хвилею ГЕБ та мітохондрій. Власне пошкодження ГЕБ призводить до розвитку ішемії та гіпоксії нервової

тканини, до яких приєдналися порушення мітохондрій та дисбаланс заліза та міді.

В умовах проведеного експерименту було визначено рівні нейротрофічного фактора BDNF в крові Експ щурів. З літературних джерел відомо, що BDNF є потужним регулятором розвитку та функціонування нейронів головного мозку, а також підтримує синаптичну пластичність. BDNF синтезується глутаматергічними нейронами, гліальними клітинами кори головного мозку та гіпокампу й діє через пов'язану з тропоміозином кіназу (TrkB-рецептор) [413 - 415]. Слід зазначити, що BDNF регулює й транспорт Ca^{2+} з внутрішньогліальних запасів після активації G-білка [416, 417]. Завдяки цим властивостям BDNF здійснює нейропротекторну та відновлювальну функцію у відповідь на ушкодження, в тому числі й при ЧМТ [418]. Дослідження показують, що при ЧМТ не вибухової етіології когнітивні порушення пов'язані з порушенням нейропластичності та енергодефіциту через ушкодження мітохондрій, а BDNF активує мітофагію для покращення процесу відновлення та відновлює енергетичний обмін [419].

З одного боку BDNF модулює йонні канали через активацію TrkB-рецепторів та підвищує збудливість нейронів, а з іншого BDNF може пригнічувати ГАМК-ергічні нейрони, які послаблюють больові відчуття. Також, з урахуванням того, що ми досліджували BDNF у плазмі крові Експ щурів, не виключаємо й вплив його на периферичні механізми сприйняття та передачі больового імпульсу, адже серед багатьох властивостей BDNF описано його залучення до підвищення експресії больових медіаторів у ноцицепторах, зокрема субстанції P [270, 420].

Ці результати так само підкреслюють значну роль BDNF у регуляції метаболічних процесів нейроцитів, а також вказують на роль Cu не тільки в залученні до антиоксидантного захисту, а й до підтримки самого BDNF. Водночас зміни рівнів цих біометалів у різних регіонах мозку можуть

свідчити про модифікації їх біодоступності за допомогою білків-транспортів [265].

Тож, визначення BDNF у крові тварин з у перші 2-а тижні після впливу ВХ також можна використовувати як біомаркер ВІТГМ.

Важливо зазначити у підсумку, що поведінка щурів з ВІТГМ має періоди збудження і тривожності, відсутності страху (анксіолітичність) у гострий період, що переходять у стан, подібний до депресії. Також вагомим є й те, що внаслідок ВІТГМ порушується просторова та асоціативна пам'ять, які суттєво не відновлюється.

Ці зміни залежать від первинного впливу вибухової хвилі, що призводить до ушкодження ГЕБ у вигляді розширення судин різного діаметра та пошкодження стінки дрібних судин вже через 1-у годину після травми. Також у цей період виявили наявність кавітаційних бульбашок, що свідчить про продовження травматичного процесу. Наслідком порушення ГЕБ є розвиток набряку та порушення перфузії головного мозку, що призводить до ішемії та гіпоксії, які запускають оксидативний стрес, що також підтримується через механічне ушкодження крист мітохондрій. Про це свідчили зменшення активності каталази, що вказує на залучення цього ензиму до інактивації вільних радикалів, збільшення активності глутатіонредуктази та глутатіонпероксидази, що вказує на посилення продукції цих ензимів для деактивації вільних радикалів і відновлення глутатіону до 7-ї доби посттравматичного періоду. Також в результаті порушення ГЕБ та виходу еритроцитів у нейропіль головного мозку відбувається накопичення Fe з 1-ї до 7-ї доби, що призводить до підтримання оксидативного стресу і дисбалансу заліозалежних біометалів - Cu та Zn, які також є кофакторами ензимів антиоксидантної системи. Усе це викликає енергодефіцит та метаболічні порушення, ознаками яких стали зміни співвідношень визначених біометалів, а також нерівномірно забарвлені нейрони. Враховуючи функцію біометалів вважаємо, що накопичення Fe

призводить до збудження нейронів, на це вказує тривожність та зменшення больового порогу експериментальних тварин у гострий період, а надалі масова частка Fe зменшується, енергодефіцит та метаболічні порушення зберігаються до 28-ї доби дослідження, що призводить до гальмування нейронів. Про це також свідчать тривалі розширення судин, без eNOS, як у гострий період, проте за участю MMP-2, нерівномірно забарвлені нейрони та дисбаланс біометалів і їх співвідношень, а травмовані тварини переходять у стан, подібний до депресії.

Встановили, що у відповідь на ушкодження головного мозку відбувається активація нейротрофічного фактора, нейропротекторну дію якого встановили за наявності анксіолітичного періоду.

За результатами змін біометалів встановили, що у передньому мозку, через значні зміни гомеостазу біометалів, патобіохімічні процеси були більш виразними у порівнянні з мозочком, що вказує на важливість урахування позиції тварини до джерела ВХ [421].

Таким чином, з використанням сучасних методик ми простежили динаміку морфологічних, поведінково-когнітивних, спектральних та біохімічних змін, що розкривають проблему патогенезу ВІТГМ, а також дозволяють розширити прижиттєву та постмортальну діагностичну панель. Встановлено, що порушення ГЕБ та регуляторних властивостей Cu, Fe та Zn, мають важливе значення у патогенезі вторинних змін поведінково-когнітивних функцій головного мозку в динаміці легкої ВІТГМ.

ВИСНОВКИ

Вибухо-індукована травма головного мозку – гостре ураження внаслідок дії вибухової хвилі (баротравма) на голову, що супроводжується структурним ушкодженням та фізіологічним розладом мозку, з подальшим тривалим порушенням функціональності, прогресуванням поведінкової та когнітивної неефективності й хронічної травматичної енцефалопатії. У дисертаційній роботі наведено експериментальне розв'язання наукової проблеми патологічної фізіології, що полягало у встановленні комплексу ключових патогенетичних механізмів змін функціонального стану головного мозку у щурів з ВІТГМ в гострому та ранньому посттравматичному періодах.

1. В гострому посттравматичному періоді у експериментальних щурів вже на 1-у добу в тесті «Відкрите поле» відмічається збільшення ГРА на 35% ($p < 0,0001$) та ВРА у 4 рази ($p < 0,0001$), зменшення кількості обстежених нірок на 47% ($p < 0,0001$). На 28-у добу, що відповідає ранньому посттравматичному періоду, навпаки відбувається зменшення ГРА на 123% ($p < 0,0001$) та ВРА 52% ($p < 0,05$) й кількості нірок на 80% ($p < 0,0001$) порівняно з інтактними. Емоційний стан у 1-у добу підвищується, на що вказує збільшення кількості актів (у 2 рази, $p < 0,05$), болюсів (на 50%, $p < 0,05$), дефекацій та кількості уринацій. Протягом посттравматичного періоду ці показники поступово зменшуються, залишаючись на високому рівні ($p > 0,05$) на 28-у добу. Прояви тривожності та страху у травмованих щурів з'являються вже на 1-у добу, через що при проведенні ПХЛ вони проводили менше часу у відкритих рукавах на 33% ($p < 0,01$), зменшилась ВРА на 20% ($p < 0,001$). Протягом 3-ї та 21-ї діб відбувається зміна страху на сміливу поведінку, коли травмовані щури проводять більше часу у відкритих рукавах на 166% ($p < 0,01$) та на 57% ($p < 0,01$) у відповідні терміни.

2. Стан центральних анти- та ноцицептивної систем, який оцінювали за реакцією вокалізації на електробольовий вплив, показав у експериментальних щурів на 1-у добу нижчу на 26% ($p < 0,0001$) силу струму за показники тварин контрольної групи і вище на 8% ($p < 0,0001$) порівняно з інтактними тваринами. В період з 3-ї до 21-ї доби сила току у експериментальних щурів ставала значно меншою (54,0 од. до 57,0 од.), у цей період сила току в контрольній групі була у межах 62,7-68,7 од. та в інтактних у межах 57,2-67,0 од.

3. В лабіринті Барнса у щурів з вибухо-індукованою травмою головного мозку розвивалося подовження латентного часу пошуку «справжнього» притулку на 1-у добу на 39% ($p < 0,0001$) з подальшим подовженням у 28-у добу на 53% ($p < 0,0001$) порівняно з інтактними тваринами, відбулося збільшення кількості обстежених «фальшивих» притулків: у 1-у добу в 2,7 рази ($p < 0,05$) й у 28-у в 17 разів ($p < 0,0001$). У Ж-подібному лабіринті латентний час пошуку годівнички збільшувався в експериментальних тварин у 1-у добу в 3 рази ($p < 0,0001$) і до 5-ї доби в 5,2 рази ($p < 0,0001$). Погіршення асоціативної пам'яті проявлялося збільшенням латентного часу заходу у темний відсік камери УРПУ з 3-ї доби посттравматичного періоду й становило подовження на 96% ($p < 0,05$) у 28-у добу.

4. Вибухо-індукована травма головного мозку супроводжується дисбалансом біометалів у мозочку, що проявляється накопичення Fe у 1-у та 3-ю добу та подальшим збільшенням на 7-у добу співвідношень залізо залежних Cu/Fe на 50% ($p < 0,0001$), Cu/Zn на 6% ($p < 0,001$) та Zn/Fe на 56% ($p < 0,0001$) на тлі зменшення Fe до 28-ї на 18% ($p < 0,0001$). В передньому мозку енергодисперсійний рентгенофлуоресцентний аналіз показав збільшення як самих біометалів - Cu на 44% ($p < 0,0001$), Fe на 26% ($p < 0,0001$) та Zn на 24% ($p < 0,0001$), так і їх співвідношень: Cu/Fe на 23% ($p < 0,0001$), Cu/Zn на 25% ($p < 0,0001$).

5. Розвиток оксидативного стресу на етапах посттравматичного періоду проявляється зміною активності ензимів антиоксидантної системи у період з 1-ї до 7-ї доби. Активність каталази стає меншою у 1-у добу на 35% ($p < 0,0001$), у 3-ю добу на 27% ($p < 0,0001$) і у 7-у добу на 12% ($p < 0,001$) порівняно з інтактними тваринами. Активність глутатіонредуктази стає вищою у 1-у добу на 74% ($p < 0,0001$), у 3-ю добу на 63% ($p < 0,0001$), у 7-у добу на 50% ($p < 0,0001$). Активність глутатіонпероксидази збільшується у 1-у добу на 31% ($p < 0,0001$), у 3-ю добу на 41% ($p < 0,0001$), у 7-у - на 47% ($p < 0,0001$).

6. Активація післятравматичної нейропротекції реалізовувалась значним підвищенням вмісту нейротрофічного фактора BDNF у плазмі щурів експериментальної групи у 1-у добу на 54% ($p < 0,0001$), у 3-ю добу на 48% ($p < 0,0001$), у 7-у на 23% ($p < 0,0001$) у порівнянні з інтактною групою.

7. Ультраструктурний аналіз кори головного мозку, гіпокампу та мозочку показав, що після однократної дії вибухової хвилі з пороговими характеристиками вже в першу годину посттравматичного періоду наявні в нейропілі діapedезні крововиливи, реактивний набряк нейропіля, порушення цілісності та розшарування базальної мембрани гемокапілярів, осередкові руйнування крист мітохондрій в нейроцитах. Гістопатологічний аналіз як в ранньому, так і в пізньому посттравматичному періодах виявив порушення цілісності окремих судин, осередкові та дифузні крововиливи в речовину головного мозку, поодинокі ділянки розшарування мозкової тканини, що супроводжувалися на всіх термінах спостереження набряком нейропілю, гіпереозинофілією цитоплазми окремих нейронів в ранніх термінах спостереження та атонією окремих судин у віддаленому періоді.

8. Вибухо-індукована травма призводить до значного підвищення експресії eNOS в судинах головного мозку щурів на 1-у та 3-ю добу посттравматичного періоду порівняно з контрольними тваринами із збереженням вазодилатації до 28-ї доби.

9. Відносна площа експресії MMP-2 у корі головного мозку і гіпокампі Експ щурів у 1-у добу посттравматичного періоду була вище на 98% ($p < 0,01$) в обох структурах, а у 28-у добу у корі головного мозку вище на 97% ($p < 0,001$) та у гіпокампі на 99% ($p < 0,001$) порівняно з показниками щурів Контр групи.

10. Аналіз Repeated Measures ANOVA показав, що більшість виявлених в ході дослідження змін у щурів Експ групи є наслідком впливу вибухової хвилі, а не галотану, на відміну від тварин Контр групи. Кореляційний аналіз Спірмена виявив, що порушення гомеостазу Cu та Zn залежні від накопичення Fe, про що свідчать негативні кореляційні зв'язки Fe з Cu ($r = -0,64$, $p < 0,0001$) та Fe з Zn ($r = -0,72$, $p < 0,0001$).

11. Вплив вибухової хвилі на головний мозок щурів призводить до дифузних структурних змін і набряку нейронів, їх органел, особливо мітохондрій, та нейропілю кори головного мозку і гіпокампу, порушення цілісності і набряк та розширення капілярів з наявними кавітаційними бульбашками вже через 1-у годину. Встановлені зміни призводять до оксидативного стресу і порушення гомеостазу Cu, Fe та Zn у мозочку та передньому мозку, проявом чого стали розвиток тривожності, страху, дезадаптація та підвищення емоційності, порушення просторової пам'яті та навчання вже у 1-у добу посттравматичного періоду. На 28-у добу посттравматичного періоду встановили порушення поведінки у вигляді стану, подібного до депресії, просторова пам'ять не відновила. Одними з важливих ланок патогенезу поведінково-когнітивних змін є дисбаланс Cu, Fe та Zn у мозочку і передньому мозку та тривале розширення судин головного мозку.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Hai T, Agimi Y, Stout K. Prevalence of comorbidities in active and reserve service members pre and post traumatic brain injury 2017-2019. *Military Medicine*. 2023 Jan;188(1-2):e270-e277. <https://doi.org/10.1093/milmed/usab342>
2. Zhang L, Yang Q, Yuan R, Li M, Lv M, Zhang L, et al. Single-nucleus transcriptomic mapping of blast-induced traumatic brain injury in mice hippocampus. *Scientific Data*. 2023 Sep;10(1):638. <https://doi.org/10.1038/s41597-023-02552-x>
3. Ge M, Wang Y, Wu T, Li H, Yang C, Wang Z, et al. Raman spectroscopic diagnosis of blast-induced traumatic brain injury in rats combined with machine learning. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2024 Jan;304:123419. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2023.123419>
4. Kundu S, Singh S. What happens in TBI? A wide talk on animal models and future perspective. *Curr Neuropharmacol*. 2023;21(5):1139-1164. <https://doi.org/10.2174/1570159x20666220706094248>
5. Peters ME, Hsu M, Rao V, Roy D, Narapareddy BR, Bechtold KT, et al. Influence of study population definition on the effect of age on outcomes after blunt head trauma. *Brain Injury*. 2018;32(13-14):1725–1730. <https://doi.org/10.1080/02699052.2018.1520301>
6. Guillaume-Correa F, Pickrell AM, VandeVord PJ. The imbalance of astrocytic mitochondrial dynamics following blast-induced traumatic brain injury. *Biomedicines*. 2023 Jan;11(2):329. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11020329>
7. Chen S, Siedhoff HR, Zhang H, Liu P, Balderrama A, Li R, et al. Low-intensity blast induces acute glutamatergic hyperexcitability in mouse hippocampus leading to long-term learning deficits and altered expression of proteins involved in synaptic plasticity and serine protease inhibitors. *Neurobiology of Disease*. 2022 Apr;165:105634. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2022.105634>

8. McNamara EH, Tucker LB, Liu J, Fu AH, Kim Y, Vu PA, et al. Limbic responses following shock wave exposure in male and female mice. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2022 Jun 7;16:863195. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2022.863195>
9. Han EX, Fernandez JM, Swanberg C, Shi R, Bartlett EL. Longitudinal auditory pathophysiology following mild blast-induced trauma. *Journal of Neurophysiology*. 2021 Oct ;126(4):1172-1189. <https://doi.org/10.1152/jn.00039.2021>
10. Kawa L, Arborelius UP, Hökfelt T, Risling M. Sex-specific differences in rodents following a single primary blast exposure: focus on the monoamine and galanin systems. *Frontiers in Neurology*. 2020 Oct;11:540144. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.540144>
11. Kawoos U, Abutarboush R, Gu M, Chen Y, Statz JK, Goodrich SY, et al. Blast-induced temporal alterations in blood-brain barrier properties in a rodent model. *Scientific Reports*. 2021 Mar;11(1):5906. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84730-8>
12. Cao R, Zhang C, Mitkin VV, Lankford MF, Li J, Zuo Z, et al. Comprehensive characterization of cerebrovascular dysfunction in blast traumatic brain injury using photoacoustic microscopy. *Journal of Neurotrauma*. 2019 May;36(10):1526-1534. <https://doi.org/10.1089/neu.2018.6062>
13. Norris C, Weatherbee J, Murphy SF, VandeVord PJ. Quantifying acute changes in neurometabolism following blast-induced traumatic brain injury. *Neuroscience Research*. 2024 Jan;198:47-56. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2023.06.008>
14. Kuriakose M, Younger D, Ravula AR, Alay E, Rama Rao KV, Chandra N. Synergistic role of oxidative stress and blood-brain barrier permeability as injury mechanisms in the acute pathophysiology of blast-induced neurotrauma. *Scientific Reports*. 2019 May;9(1):7717. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44147-w>

15. Wei T, Zhou M, Gu L, Zhou Y, Li M. How shockwaves open tight junctions of blood-brain barrier: comparison of three biomechanical effects. The Journal of Physical Chemistry B. 2022 Jul;126(27):5094-5102. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcb.2c02903>
16. Nguyen TT, Pearce AP, Carpanen D, Sory D, Grigoriadis G, Newell N, et al. Experimental platforms to study blast injury. Journal of Royal Army Medical Corps. 2019 Feb;165(1):33-37. <https://doi.org/10.1136/jramc-2018-000966>
17. Buchanan BJ. Gunpowder, explosives and the state. Aldershot: Ashgate, 2006. 449 p. <https://doi.org/10.4324/9781315253725>
18. Cirincione J. Bomb scare: the history and future of nuclear weapons. New York: Columbia University Press, 2008. 232 p. <http://dx.doi.org/10.1080/14702436.2012.661986>
19. DeGroot G. J. The bomb; a life. Cambridge: Harvard, 2004. 397 p. Available from: https://www.researchgate.net/publication/254945110_The_Bomb_A_Life_review
20. De Landa M. War in the age of intelligent machines. New York: Zone Books, 1991. 320 p. Available from: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://monoskop.org/images/c/c0/DeLanda_Manuel_War_in_the_Age_of_Intelligent_Machines.pdf
21. Jack K. Gunpowder: alchemy, bombards, and pyrotechnics: the history of the explosive that changed the world. New York: Basic Books, 2004. 272 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1353/tech.2005.0065>
22. Herta P. Alfred Nobel: king of dynamite – architect of peace. USA: L. B. Fischer Publishing Co., 1942. 323 p. Available from: <https://books.google.com.ua/books?id=u6dRAAAAMAAJ>
23. Мамедов ШМ, Ткаченко ОВ, Козлов СВ, Видиш КП, Козлова ЮВ, Лисиця О. Патоморфологічні аспекти вибухової травми (порівняльна характеристика ушкоджень, спричинених протипіхотними уламковими

мінами ОЗМ-72 та МОН-50). Судово-медична експертиза. 2017;1:102–106.
<https://doi.org/10.24061/2707-8728.1.2017.25>

24. Li X, Guo Y, Yang F. Modeling and simulation on spontaneous detonation of ammonium nitrate explosive induced by sulfide ores. *Environmental Science and Pollution Research*. 2024;31(16):23995–24013.
<https://doi.org/10.1007/s11356-024-32667-6>

25. Ferreri TG, Weir AJ. EMS improvised explosive devices and terrorist activity. [Updated 2022 Sep]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482191/>

26. Кусковець СЛ, Шаталов ОС, Турченко ВО. Основи теорії горіння та вибуху: Навчальний посібник. Рівне : НУВГП, 2012. 374 с. Доступно з:
<https://ep3.nuwm.edu.ua/2156/1/724303%20zah.pdf>

27. Via SM, Zinnert JC. Impacts of explosive compounds on vegetation: A need for community scale investigations. *Environmental Pollution*. 2016;208(B):495-505. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.10.020>

28. Song H, Konan LM, Cui J, Johnson CE, Hubler GK, DePalma RG, Gu Z. Nanometer ultrastructural brain damage following low intensity primary blast wave exposure. *Neural Regeneration Research*. 2018 Sep;13(9):1516-1519.
<https://doi.org/10.4103/1673-5374.237110>

29. Przekwas A, Somayaji MR, Gupta RK. Synaptic mechanisms of blast-induced brain injury. *Frontiers in Neurology*. 2016 Jan;7:2.
<https://doi.org/10.3389/fneur.2016.00002>

30. Choudhary S, Pasrija D, Mendez MD. Pulmonary Contusion. 2024 Jan 30. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK558914/>

31. Perumal V, Ravula AR, Shao N, Chandra N. Effect of minocycline and its nano-formulation on central auditory system in blast-induced hearing loss rat

model. Journal of Otology. 2023 Jan;18(1):38-48.
<https://doi.org/10.1016/j.joto.2022.09.002>

32. Liang SY, Jackson B, Kuhn J, Shaikh F, Blyth DM, Whitman TJ, et al. Urinary tract infections after combat-related genitourinary trauma. Surgical Infection (Larchmt). 2019 Dec;20(8):611-618.
<https://doi.org/10.1089/sur.2019.013>

33. Козлов СВ, Мішалов ВД, Сулоєв КМ, Козлова ЮВ. Патоморфологічні маркери вибухо-індукованої травми головного мозку. Морфологія. 2021;15(3):96–100. <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2021.3.96-100>

34. Rendeki S, Molnár TF. Pulmonary contusion. Journal of Thoracic Disease. 2019 Feb;11(2):S141-S151. <https://doi.org/10.21037/jtd.2018.11.53>

35. Mizutari K. Blast-induced hearing loss. Journal of Zhejiang University-Science B. 2019 Feb;20(2):111-115. <https://doi.org/10.1631/jzus.b1700051>

36. Kozlov SV, Korzachenko MA. Assessment of traumatic changes in the liver after exposure to air shock. Вісник проблем біології і медицини. 2022;165:81–88. [in English]. <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2022-2-2-165-81-88>

37. Galante N, Franceschetti L, Del Sordo S, Casali MB, Genovese U. Explosion-related deaths: An overview on forensic evaluation and implications. Forensic Science, Medicine and Pathology. 2021 Sep;17(3):437-448.
<https://doi.org/10.1007/s12024-021-00383-z>

38. Oh JS, Do NV, Clouser M, Galarneau M, Philips J, Katschke A, et al. Effectiveness of the combat pelvic protection system in the prevention of genital and urinary tract injuries: An observational study. Journal of Trauma and Acute Care Surgery. 2015 Oct;79(42):S193-S196.
<https://doi.org/10.1097/ta.0000000000000735>

40. Сайко ОВ. Неврологічна симптоматика в гострому періоді струсу головного мозку на етапі медичної евакуації з військово-мобільного

госпіталю. Міжнародний неврологічний журнал. 2018;96(2):12–18.
<https://doi.org/10.22141/2224-0713.2.96.2018.130477>

41. Mac Donald CL, Johnson AM, Wierzechowski L, Kassner E, Stewart T, Nelson EC, et al. Prospectively assessed clinical outcomes in concussive blast vs nonblast traumatic brain injury among evacuated US military personnel. JAMA Neurology. 2014 Aug;71(8):994-1002.
<https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2014.1114>

42. Бабкіна ОП, Сушков СВ, Миловидова ГЕ, Варуха КВ. Визначення давності виникнення ушкоджень нирок за динамікою змін гістологічних показників при механічній травмі в залежності від часу її заподіяння. Харківська хірургічна школа. 2016;3:19–22. Доступно з: <https://surgical-school.com.ua/index.php/journal/issue/view/18/3-2016-pdf>

43. Uzunalli G, Herr S, Dieterly AM, Shi R, Lyle LT. Structural disruption of the blood-brain barrier in repetitive primary blast injury. Fluids and Barriers of the CNS. 2021 Jan;18(1):2. <https://doi.org/10.1186/s12987-020-00231-2>

44. Rutter B, Song H, DePalma RG, Hubler G, Cui J, Gu Z, et al. Shock wave physics as related to primary non-impact blast-induced traumatic brain injury. Military Medicine. 2021 Jan;186(1):601-609.
<https://doi.org/10.1093/milmed/usaa290>

45. Pereira-Pedro AS, Bruner E. Craniofacial orientation and parietal bone morphology in adult modern humans. Journal of Anatomy. 2022 Feb;240(2):330-338. <https://doi.org/10.1111/joa.13543>

46. Bandak FA, Ling G, Bandak A, De Lanerolle NC. Injury biomechanics, neuropathology, and simplified physics of explosive blast and impact mild traumatic brain injury. Handbook of Clinical Neurology. 2015;127:89-104.
<https://doi.org/10.1016/b978-0-444-52892-6.00006-4>

47. Garcia-Gonzalez D, Race NS, Voets NL, Jenkins DR, Sotiropoulos SN, Acosta G, et al. Cognition based bTBI mechanistic criteria; a tool for preventive

and therapeutic innovations. *Scientific Reports*. 2018 Jul;8(1):10273. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28271-7>

48. Liu Y, Lu Y, Shao Y, Wu Y, He J, Wu C. Mechanism of the traumatic brain injury induced by blast wave using the energy assessment method. *Medical Engineering & Physics*. 2022 Mar;101:103767. <https://doi.org/10.1016/j.medengphy.2022.103767>

49. Fundamental critical care support: crisis management book. Chapter10. Burn and blast injury. USA. 2022;1–39. Available from: <https://sccm.org/ukraine>

50. Marsh JL, Bentil SA. Cerebrospinal fluid cavitation as a mechanism of blast-induced traumatic brain injury: A review of current debates, methods, and findings. *Frontiers in Neurology*. 2021 Mar;12:626393. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.626393>

51. Haniff S, Taylor PA. *In silico* investigation of blast-induced intracranial fluid cavitation as it potentially leads to traumatic brain injury. *Shock Waves*. 2017;27:929–945. <https://doi.org/10.1007/s00193-017-0765-1>

52. Zhang LT. Modeling of soft tissues interacting with fluid (blood or air) using the immersed finite element method. *Journal of Biomedical Science and Engineering*. 2014 Feb;7(3):130-145. <https://doi.org/10.4236/jbise.2014.73018>

53. Ganpule S, Alai A, Plougouven E, Chandra N. Mechanics of blast loading on the head models in the study of traumatic brain injury using experimental and computational approaches. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*. 2013 Jun;12(3):511-31. <https://doi.org/10.1007/s10237-012-0421-8>

54. Salzar RS, Treichler D, Wardlaw A, Weiss G, Goeller J. Experimental investigation of cavitation as a possible damage mechanism in blast-induced traumatic brain injury in post-mortem human subject heads. *Journal of Neurotrauma*. 2017 Apr;34(8):1589-1602. <https://doi.org/10.1089/neu.2016.4600>

55. Bryden DW, Tilghman JI, Hinds SR 2nd. Blast-related traumatic brain injury: current concepts and research considerations. *Journal of Experimental*

Neuroscience. 2019 Sep;13:1179069519872213.
<https://doi.org/10.1177/1179069519872213>

56. Sosa MA, De Gasperi R, Paulino AJ, Pricop PE, Shaughness MC, Maudlin-Jeronimo E, et al. Blast overpressure induces shear-related injuries in the brain of rats exposed to a mild traumatic brain injury. *Acta Neuropathologica Communications*. 2013 Aug 14;1:51. <https://doi.org/10.1186/2051-5960-1-51>

57. Canchi S, Kelly K, Hong Y, King MA, Subhash G, Sarntinoranont M. Controlled single bubble cavitation collapse results in jet-induced injury in brain tissue. *Journal of Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2017 Oct;74:261-273. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2017.06.018>

58. Flannigan DJ, Suslick KS. Plasma formation and temperature measurement during single-bubble cavitation. *Nature*. 2005 Mar;434(7029):52-55. <https://doi.org/10.1038/nature03361>

59. Arun P, Spadaro J, John J, Gharavi RB, Bentley TB, Nambiar MP. Studies on blast traumatic brain injury using in-vitro model with shock tube. *Neuroreport*. 2011 Jun;22(8):379-84. <https://doi.org/10.1097/wnr.0b013e328346b138>

60. Lau EY, Berkowitz ML, Schwegler E. Shock wave-induced damage of a protein by void collapse. *Biophysical Journal*. 2016 Jan;110(1):147-156. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2015.11.030>

61. Papadopoulou V, Tang MX, Balestra C, Eckersley RJ, Karapantsios TD. Circulatory bubble dynamics: from physical to biological aspects. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2014 Apr;206:239-49. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2014.01.017>

62. DePalma RG, Burris DG, Champion HR, Hodgson MJ. Blast injuries. *The New England Journal of Medicine*. 2005 Mar;352(13):1335-1342. <https://doi.org/10.1056/nejmra042083>

63. Wolf SJ, Bebarta VS, Bonnett CJ, Pons PT, Cantrill SV. Blast injuries. *Lancet*. 2009 Aug;374(9687):405-15. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(09\)60257-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(09)60257-9)
64. Benzinger TL, Brody D, Cardin S, Curley KC, Mintun MA, Mun SK, et al. Blast-related brain injury: imaging for clinical and research applications: report of the 2008 st. Louis workshop. *Journal of Neurotrauma*. 2009 Dec;26(12):2127-2144. <https://doi.org/10.1089/neu.2009.0885>
65. Rusiecki J, Levin LI, Wang L, Byrne C, Krishnamurthy J, Chen L, et al. Blast traumatic brain injury and serum inflammatory cytokines: a repeated measures case-control study among U.S. military service members. *Journal of Neuroinflammation*. 2020 Jan;17(1):20. <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1624-z>
66. Przekwas A, Garimella HT, Tan XG, Chen ZJ, Miao Y, Harrand V, et al. Biomechanics of blast tbi with time-resolved consecutive primary, secondary, and tertiary loads. *Military Medicine*. 2019 Mar 1;184(Suppl 1):195-205. <https://doi.org/10.1093/milmed/usy344>
67. Xia F, Ha Y, Shi S, Li Y, Li S, Luisi J, et al. Early alterations of neurovascular unit in the retina in mouse models of tauopathy. *Acta Neuropathologica Communication*. 2021 Mar;9(1):51. <https://doi.org/10.1186/s40478-021-01149-y>
68. Shirafuji N, Hamano T, Yen SH, Kanaan NM, Yoshida H, Hayashi K, et al. Homocysteine increases Tau phosphorylation, truncation and oligomerization. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018 Mar;19(3):891. <https://doi.org/10.3390/ijms19030891>
69. Pan J, Connolly ID, Dangelmajer S, Kintzing J, Ho AL, Grant G. Sports-related brain injuries: connecting pathology to diagnosis. *Neurosurgical Focus*. 2016 Apr;40(4):E14. <https://doi.org/10.3171/2016.1.focus15607>

70. Chang CW, Shao E, Mucke L. Tau: Enabler of diverse brain disorders and target of rapidly evolving therapeutic strategies. *Science*. 2021 Feb;371(6532):eabb8255. <https://doi.org/10.1126/science.abb8255>
71. Lucke-Wold BP, Logsdon AF, Turner RC, Huber JD, Rosen CL. Endoplasmic reticulum stress modulation as a target for ameliorating effects of blast induced traumatic brain injury. *Journal of Neurotrauma*. 2017 Sep;34(S1):S62-S70. <https://doi.org/10.1089/neu.2016.4680>
72. Moreno H, Morfini G, Buitrago L, Ujlaki G, Choi S, Yu E, et al. Tau pathology-mediated presynaptic dysfunction. *Neuroscience*. 2016 Jun;325:30-38. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.03.044>
73. De la Rosa A, Olaso-Gonzalez G, Arc-Chagnaud C, Millan F, Salvador-Pascual A, García-Lucerga C, et al. Physical exercise in the prevention and treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Sport and Health Science*. 2020 Sep;9(5):394-404. <https://doi.org/10.1016/j.jshs.2020.01.004>
74. Iadecola C. The neurovascular unit coming of age: a journey through neurovascular coupling in health and disease. *Neuron*. 2017;96:17–42. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.07.030>
75. Elder GA, Gama Sosa MA, De Gasperi R, Perez Garcia G, Perez GM, Abutarboush R, et al. The neurovascular unit as a locus of injury in low-level blast-induced neurotrauma. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024 Jan;25(2):1150. <https://doi.org/10.3390/ijms25021150>
76. Ando Y, Okada H, Takemura G, Suzuki K, Takada C, Tomita H, Zaikokuji R, et al. Brain-specific ultrastructure of capillary endothelial glycocalyx and its possible contribution for blood brain barrier. *Scientific Reports*. 2018;8:17523. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35976-2>
77. Daneman R., Prat A. The blood-brain barrier. *Cold Spring Harb. Perspectives in Biology and Medicine*. 2015;7:a020412. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a020412>

78. Heyburn L, Abutarboush R, Goodrich S, Urioste R, Batuure A, Statz J, et al. Repeated low-level blast overpressure leads to endovascular disruption and alterations in TDP-43 and Piezo2 in a rat model of blast TBI. *Frontiers in Neurology*. 2019 Jul;10:766. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.00766>

79. Kuriakose M, Rama Rao KV, Younger D, Chandra N. Temporal and spatial effects of blast overpressure on blood-brain barrier permeability in traumatic brain injury. *Scientific Reports*. 2018 Jun;8(1):8681. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26813-7>

80. Luo Z, Tong C, Cong P, Mao S, Xu Y, Hou M, et al. Silencing CD28 attenuated chest blast exposure-induced traumatic brain injury through the PI3K/AKT/NF- κ B signaling pathway in male mice. *Brain Research Bulletin*. 2024 Aug;214:110987. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2024.110987>

81. Varatharaj A, Galea I. The blood-brain barrier in systemic inflammation. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2017;60:1–12. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2016.03.010>

82. Logsdon AF, Meabon JS, Cline MM, Bullock KM, Raskind MA, Peskind ER, et al. Blast exposure elicits blood-brain barrier disruption and repair mediated by tight junction integrity and nitric oxide dependent processes. *Scientific Reports*. 2018 Jul;8(1):11344. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29341-6>

83. Gama Sosa MA, De Gasperi R, Perez Garcia GS, Perez GM, Searcy C, Vargas D, et al. Low-level blast exposure disrupts gliovascular and neurovascular connections and induces a chronic vascular pathology in rat brain. *Acta Neuropathologica Communications*. 2019 Jan;7(1):6. <https://doi.org/10.1186/s40478-018-0647-5>

84. Logsdon AF, Turner RC, Lucke-Wold BP, Robson MJ, Naser ZJ, Smith KE, et al. Altering endoplasmic reticulum stress in a model of blast-induced traumatic brain injury controls cellular fate and ameliorates neuropsychiatric

symptoms. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2014 Dec;8:421.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00421>

85. Diaz-Castro B, Robel S, Mishra A. Astrocyte endfeet in brain function and pathology: open questions. *Annual Review Neuroscience*. 2023;46:101-121.
<https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-091922-031205>

86. Michinaga S, Koyama Y. Dual roles of astrocyte-derived factors in regulation of blood-brain barrier function after brain damage. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20:571. <https://doi.org/10.3390/ijms20030571>

87. Fukuda AM, Badaut J. Aquaporin 4: a player in cerebral edema and neuroinflammation. *Journal of Neuroinflammation*. 2012;9:279.
<https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-279>

88. Michinaga S, Kimura A, Hatanaka S, Minami S, Asano A, Ikushima Y, et al. Delayed administration of BQ788, an ETB antagonist, after experimental traumatic brain injury promotes recovery of blood-brain barrier function and a reduction of cerebral edema in mice. *Journal of Neurotrauma*. 2018 Jul;35(13):1481-1494. <https://doi.org/10.1089/neu.2017.5421>

89. Luissint AC, Artus C, Glacial F, Ganeshamoorthy K, Couraud PO. Tight junctions at the blood brain barrier: physiological architecture and disease-associated dysregulation. *Fluids and Barriers of the CNS*. 2012 Nov;9(1):23.
<https://doi.org/10.1186/2045-8118-9-23>

90. Brown LS, Foster CG, Courtney JM, King NE, Howells DW, Sutherland BA. Pericytes and neurovascular function in the healthy and diseased brain. *Frontiers in Cell Neuroscience*. 2019;13:282.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00282>

91. Lu KT, Huang TC, Tsai YH, Yang YL. Transient receptor potential vanilloid type 4 channels mediate Na-K-Cl-co-transporter-induced brain edema after traumatic brain injury. *Journal of Neurochemistry*. 2017 Mar;140(5):718-727.
<https://doi.org/10.1111/jnc.13920>

92. Iida T, Yanai K, Yoshikawa T. Histamine and microglia. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*. 2022;59:241-259. https://doi.org/10.1007/7854_2022_322
93. Murugan M, Ravula A, Gandhi A, Vegunta G, Mukkamalla S, Mujib W, et al. Chemokine signaling mediated monocyte infiltration affects anxiety-like behavior following blast injury. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2020 Aug;88:340-352. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.03.029>
94. Ma J, Wang J, Cheng J, Xiao W, Fan K, Gu J, et al. Impacts of blast-induced traumatic brain injury on expressions of hepatic cytochrome P450 1A2, 2B1, 2D1, and 3A2 in rats. *Cellular and Molecular Neurobiology*. 2017 Jan;37(1):111-120. <https://doi.org/10.1007/s10571-016-0351-6>
95. Fernández-Arjona MDM, Grondona JM, Granados-Durán P, Fernández-Llebrez P, López-Ávalos MD. Microglia morphological categorization in a rat model of neuroinflammation by hierarchical cluster and principal components analysis. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2017 Aug;11:235. <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00235>
96. Andersen JV, Markussen KH, Jakobsen E, Schousboe A, Waagepetersen HS, Rosenberg PA, et al. Glutamate metabolism and recycling at the excitatory synapse in health and neurodegeneration. *Neuropharmacology*. 2021 Sep;196:108719. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2021.108719>
97. Gonçalves-Ribeiro J, Pina CC, Sebastião AM, Vaz SH. Glutamate transporters in hippocampal LTD/LTP: not just prevention of excitotoxicity. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2019 Aug;13:357. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00357>
98. Neves D, Salazar IL, Almeida RD, Silva RM. Molecular mechanisms of ischemia and glutamate excitotoxicity. *Life Sciences*. 2023 Sep;328:121814. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2023.121814>
99. Yang F, Wang Z, Wei X, Han H, Meng X, Zhang Y, et al. NLRP3 deficiency ameliorates neurovascular damage in experimental ischemic stroke.

Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism. 2014;34:660–667.
<https://doi.org/10.1038/jcbfm.2013.242>

100. Hernandez A, Tan C, Plattner F, Logsdon AF, Pozo K, Yousuf MA, et al. Exposure to mild blast forces induces neuropathological effects, neurophysiological deficits and biochemical changes. *Molecular Brain*. 2021 Nov;14(1):164. <https://doi.org/10.1186/s13041-021-00872-w>

101. Kobeissy FH, Liu MC, Yang Z, Zhang Z, Zheng W, Glushakova O, et al. Degradation of β II-spectrin protein by Calpain-2 and Caspase-3 under neurotoxic and traumatic brain injury conditions. *Mol Neurobiology*. 2015 Aug;52(1):696-709. <https://doi.org/10.1007/s12035-014-8898-z>

102. Шинкаренко ТВ, Шпонька ІС. Аналіз p53-імунореактивності в астроцитарних пухлинах головного мозку. *Медичні Перспективи*. 2016;21(4):72-73. Доступно з: <https://medpers.dmu.edu.ua/uk/archiv/2016-2005>

103. Ratliff WA, Mervis RF, Citron BA, Schwartz B, Rubovitch V, Schreiber S, et al. Effect of mild blast-induced TBI on dendritic architecture of the cortex and hippocampus in the mouse. *Scientific Reports*. 2020 Feb;10(1):2206. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59252-4>

104. Islam MT. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction-linked neurodegenerative disorders. *Neurological Research*. 2017 Jan;39(1):73-82. <https://doi.org/10.1080/01616412.2016.1251711>

105. Zhang Y, Zhang H, Zhao F, Jiang Z, Cui Y, Ou M, et al. Mitochondrial-targeted and ROS-responsive nanocarrier via nose-to-brain pathway for ischemic stroke treatment. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2023 Dec;13(12):5107-5120. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2023.06.011>

106. Gómez-Virgilio L, Luarte A, Ponce DP, Bruna BA, Behrens MI. Analyzing olfactory neuron precursors non-invasively isolated through NADH FLIM as a potential tool to study oxidative stress in Alzheimer's disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021 Jun;22(12):6311. <https://doi.org/10.3390/ijms22126311>

107. Zuo X, Zhou J, Li Y, Wu K, Chen Z, Luo Z, et al. TDP-43 aggregation induced by oxidative stress causes global mitochondrial imbalance in ALS. *Nature Structural & Molecular Biology*. 2021 Feb;28(2):132-142. <https://doi.org/10.1038/s41594-020-00537-7>
108. Qin C, Yang S, Chu YH, Zhang H, Pang XW, Chen L, et al. Signaling pathways involved in ischemic stroke: molecular mechanisms and therapeutic interventions. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2022 Jul;7(1):215. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01064-1>
109. Abdul-Muneer PM, Chandra N, Haorah J. Interactions of oxidative stress and neurovascular inflammation in the pathogenesis of traumatic brain injury. *Molecular Neurobiology*. 2015;51:966-979. <https://doi.org/10.1007/s12035-014-8752-3>
110. Zhang JY, Ding YP, Wang Z, Kong Y, Gao R, Chen G. Hydrogen sulfide therapy in brain diseases: from bench to bedside. *Medical Gas Research*. 2017;7:113-119. <https://doi.org/10.4103/2045-9912.208517>
111. Houldsworth A. Role of oxidative stress in neurodegenerative disorders: a review of reactive oxygen species and prevention by antioxidants. *Brain Communications*. 2024 Jan;6(1):fcad356. <https://doi.org/10.1093/braincomms/fcad356>
112. Rana P, Rama Rao KV, Ravula A, Trivedi R, D'Souza M, Singh AK, et al. Oxidative stress contributes to cerebral metabolomic profile changes in animal model of blast-induced traumatic brain injury. *Metabolomics*. 2020 Mar;16(3):39. <https://doi.org/10.1007/s11306-020-1649-4>
113. Giacomello M, Pyakurel A, Glytsou C, Scorrano L. The cell biology of mitochondrial membrane dynamics. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2020;21:204-224. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0210-7>
114. Rahman MH, Suk K. Mitochondrial dynamics and bioenergetic alteration during inflammatory activation of astrocytes. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2020;12:614410. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.614410>

115. Attilio PJ, Flora M, Kamnaksh A, Bradshaw DJ, Agoston D, Mueller GP. The effects of blast exposure on protein deimination in the brain. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017;2017:8398072. <https://doi.org/10.1155/2017/8398072>
116. Fitzgerald KA, Kagan JC. Toll-like receptors and the control of immunity. *Cell*. 2020 Mar;180(6):1044-1066. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.041>
117. Govindarajulu M, Patel MY, Wilder DM, Krishnan J, LaValle C, Pandya JD, et al. Upregulation of multiple toll-like receptors in ferret brain after blast exposure: Potential targets for treatment. *Neuroscience Letters*. 2023 Jul;810:137364. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2023.137364>
118. Straub RH. The brain and immune system prompt energy shortage in chronic inflammation and ageing. *Nature Reviews Rheumatology*. 2017 Dec;13(12):743-751. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2017.172>
119. Meier TB, Savitz J. The kynurenine pathway in traumatic brain injury: implications for psychiatric outcomes. *Biological Psychiatry*. 2022 Mar;91(5):449-458. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2021.05.021>
120. Acosta G, Race N, Herr S, Fernandez J, Tang J, Rogers E, Shi R. Acrolein-mediated alpha-synuclein pathology involvement in the early post-injury pathogenesis of mild blast-induced Parkinsonian neurodegeneration. *Molecular and Cellular Neuroscience*. 2019 Jul;98:140-154. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2019.06.004>
121. Wu X, Cui W, Guo W, Liu H, Luo J, Zhao L, et al. Acrolein aggravates secondary brain injury after intracerebral hemorrhage through drp1-mediated mitochondrial oxidative damage in mice. *Neuroscience Bulletin*. 2020 Oct;36(10):1158-1170. <https://doi.org/10.1007/s12264-020-00505-7>
122. Sanotra MR, Kao SH, Lee CK, Hsu CH, Huang WC, Chang TC, et al. Acrolein adducts and responding autoantibodies correlate with metabolic

disturbance in Alzheimer's disease. *Alzheimer's Research & Therapy*. 2023 Jun;15(1):115. <https://doi.org/10.1186/s13195-023-01261-2>

123. Ma J, Wang J, Deng K, Gao Y, Xiao W, Hou J, et al. The effect of MaxiK channel on regulating the activation of nlrp3 inflammasome in rats of blast-induced traumatic brain injury. *Neuroscience*. 2022 Feb;482:132-142. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2021.12.019>

124. Fan K, Ma J, Xiao W, Chen J, Wu J, Ren J, et al. Mangiferin attenuates blast-induced traumatic brain injury via inhibiting NLRP3 inflammasome. *Chemico-Biological Interaction*. 2017 Jun;271:15-23. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.04.021>

125. Невідкладна військова хірургія, пер. з англ. Львів, Наутітус; 2015. 500 с. Доступно з: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://sprotyvg7.com.ua/wp-content/uploads/2023/06/ebook-nevidkladna-vijskova-hirurgiya-622262.pdf>

126. Nonaka M, Taylor WW, Bukalo O, Tucker LB, Fu AH, Kim Y, et al. Behavioral and myelin-related abnormalities after blast-induced mild traumatic brain injury in mice. *Journal of Neurotrauma*. 2021 Jun;38(11):1551-1571. <https://doi.org/10.1089/neu.2020.7254>

127. Dean E. Anxiety. *Nursing Standard*. 2016 Jul;30(46):15. <https://doi.org/10.7748/ns.30.46.15.s17>

128. Dell'Osso L, Abelli M, Pini S, Carpita B, Carlini M, Mengali F, et al. The influence of gender on social anxiety spectrum symptoms in a sample of university students. *Rivista di Psichiatria*, 2015; 50(6):295–301. <https://doi.org/10.1708/2098.22688>

129. Nechita D, Nechita F, Motorga R. A review of the influence the anxiety exerts on human life. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*. 2018;59(4):1045-1051. Available from: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.rjme.ro/RJME/resources/files/59041810451051.pdf>

130. Williams AM, Prince P. How does anxiety influence fluid reasoning? *Applied Neuropsychology: Child.* 2017;6(3):248-254. <https://doi.org/10.1080/21622965.2017.1317493>
131. Dehn LB, Beblo T. Depressed, biased, forgetful: the interaction of emotional and cognitive dysfunctions in depression. *Neuropsychiatry Journal.* 2019 Sep;33(3):123-130. [German]. <https://doi.org/10.1007/s40211-019-0307-4>
132. Hellewell SC, Beaton CS, Welton T, Grieve SM. Characterizing the risk of depression following mild traumatic brain injury: a meta-analysis of the literature comparing chronic mTBI to non-mTBI populations. *Frontiers in Neurology.* 2020 May;11:350. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00350>
133. Aravind A, Ravula AR, Chandra N, Pfister BJ. Behavioral deficits in animal models of blast traumatic brain injury. *Frontiers in Neurology.* 2020 Sep;11:990. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00990>
134. Alessandro L, Ricciardi M, Chaves H, Allegri RF. Acute amnestic syndromes. *Journal of the Neurological Sciences.* 2020 Jun;413:116781. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2020.116781>
135. Howlett JR, Nelson LD, Stein MB. Mental health consequences of traumatic brain injury. *Biological Psychiatry.* 2022 Mar;91(5):413-420. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2021.09.024>
136. Nelson LD, Kramer MD, Joyner KJ, Patrick CJ, Stein MB, Temkin N, et al. TRACK-TBI Investigators. Relationship between transdiagnostic dimensions of psychopathology and traumatic brain injury (TBI): A TRACK-TBI study. *Journal of Abnormal Psychology.* 2021 Jul;130(5):423-434. <https://doi.org/10.1037/abn0000672>
137. Yurgil KA, Barkauskas DA, Vasterling JJ, Nievergelt CM, Larson GE, Schork NJ, et al. Marine resiliency study team. Association between traumatic brain injury and risk of posttraumatic stress disorder in active-duty Marines. *JAMA Psychiatry.* 2014 Feb;71(2):149-57. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2013.3080>

138. Stein MB, Jain S, Giacino JT, Levin H, Dikmen S, Nelson LD, et al. Risk of posttraumatic stress disorder and major depression in civilian patients after mild traumatic brain injury: A TRACK-TBI Study. *JAMA Psychiatry*. 2019 Mar;76(3):249-258. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2018.4288>
139. Brenner LA, Forster JE, Gradus JL, Hostetter TA, Hoffmire CA, Walsh CG, et al. Associations of military-related traumatic brain injury with new-onset mental health conditions and suicide risk. *JAMA Network Open*. 2023 Jul;6(7):e2326296. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2023.26296>
140. Sweis BM, Bachour SP, Brekke JA, Gewirtz JC, Sadeghi-Bazargani H, Hevesi M, et al. A modified beam-walking apparatus for assessment of anxiety in a rodent model of blast traumatic brain injury. *Behavioural Brain Research*. 2016 Jan;296:149-156. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.09.015>
141. Sajja VS, Hubbard WB, Hall CS, Ghoddoussi F, Galloway MP, VandeVord PJ. Enduring deficits in memory and neuronal pathology after blast-induced traumatic brain injury. *Scientific Reports*. 2015 Nov;5:15075. <https://doi.org/10.1038/srep15075>
142. Dickerson MR, Murphy SF, Urban MJ, White Z, VandeVord PJ. Chronic anxiety- and depression-like behaviors are associated with glial-driven pathology following repeated blast induced neurotrauma. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2021 Dec;15:787475. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2021.787475>
143. Pennisi M, Lanza G, Cantone M, Ricceri R, Spampinato C, Pennisi G, et al. Correlation between motor cortex excitability changes and cognitive impairment in vascular depression: pathophysiological insights from a longitudinal tms study. *Neural Plastiscity*. 2016;2016:8154969. <https://doi.org/10.1155/2016/8154969>
144. Northoff G, Scalabrini A. «Project for a spatiotemporal neuroscience» - brain and psyche share their topography and dynamic. *Frontiers in Psychology*. 2021 Oct;12:717402. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2021.717402>

145. Shively SB, Horkayne-Szakaly I, Jones RV, Kelly JP, Armstrong RC, Perl DP. Characterisation of interface astroglial scarring in the human brain after blast exposure: a post-mortem case series. *The Lancet Neurology*. 2016 Aug;15(9):944-953. [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(16\)30057-6](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(16)30057-6)
146. Yin TC, Voorhees JR, Genova RM, Davis KC, Madison AM, Britt JK, et al. Acute axonal degeneration drives development of cognitive, motor, and visual deficits after blast-mediated traumatic brain injury in mice. *eNeuro*. 2016 Oct;3(5):0220-16.2016. <https://doi.org/10.1523/eneuro.0220-16.2016>
147. Boehme NA, Hedberg-Buenz A, Tatro N, Bielecki M, Castonguay WC, Scheetz TE, et al. Axonopathy precedes cell death in ocular damage mediated by blast exposure. *Scientific Reports*. 2021 Jun;11(1):11774. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90412-2>
148. Zhuo J, Keledjian K, Xu S, Pampori A, Gerzanich V, Simard JM, et al. Changes in diffusion kurtosis imaging and magnetic resonance spectroscopy in a direct cranial blast traumatic brain injury (dc-bTBI) model. *PLoS One*. 2015 Aug;10(8):e0136151. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136151>
149. Xu S, Zhuo J, Racz J, Shi D, Roys S, Fiskum G, et al. Early microstructural and metabolic changes following controlled cortical impact injury in rat: a magnetic resonance imaging and spectroscopy study. *Journal of Neurotrauma*. 2011 Oct;28(10):2091-102. <https://doi.org/10.1089/neu.2010.1739>
150. Zhu Y. Editorial: Terahertz technologies for biosensing and biomedical analysis. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2023 Aug;11:1268427. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1268427>
151. Wang Y, Wang G, Xu D, Jiang B, Ge M, Wu L, et al. Terahertz spectroscopic diagnosis of early blast-induced traumatic brain injury in rats. *Biomedical Optics Express*. 2020 Jul 6;11(8):4085-4098. <https://doi.org/10.1364/boe.395432>
152. Rodriguez UA, Zeng Y, Parsley MA, Hawkins BE, Prough DS, DeWitt DS. Effects of blast-induced neurotrauma on pressurized rodent middle cerebral

arteries. JoVe: Journal of Visualized Experiments. 2019 Apr;(146).
<https://doi.org/10.3791/58792>

153. Rodriguez UA, Zeng Y, Deyo D, Parsley MA, Hawkins BE, Prough DS, DeWitt DS. Effects of mild blast traumatic brain injury on cerebral vascular, histopathological, and behavioral outcomes in rats. *Journal of Neurotrauma*. 2018 Jan;35(2):375-392. <https://doi.org/10.3791/58792>

154. Kabu S, Jaffer H, Petro M, Dudzinski D, Stewart D, Courtney A, Courtney M, et al. Blast-associated shock waves result in increased brain vascular leakage and elevated ROS levels in a rat model of traumatic brain injury. *PLoS One*. 2015 May;10(5):e0127971. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127971>

155. Herculano-Houzel S. The glia/neuron ratio: how it varies uniformly across brain structures and species and what that means for brain physiology and evolution. *Glia*. 2014 Sep;62(9):1377-91. <https://doi.org/10.1002/glia.22683>

156. Lundgaard I, Osório MJ, Kress BT, Sanggaard S, Nedergaard M. White matter astrocytes in health and disease. *Journal of Neuroscience*. 2014 Sep;276:161-173. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.10.050>

157. Zhou B, Zuo YX, Jiang RT. Astrocyte morphology: Diversity, plasticity, and role in neurological diseases. *CNS Neuroscience & Therapeutics*. 2019 Jun;25(6):665-673. <https://doi.org/10.1111/cns.13123>

158. Ceyzériat K, Ben Haim L, Denizot A, Pommier D, Matos M, Guillemaud O, et al. Modulation of astrocyte reactivity improves functional deficits in mouse models of Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica Communications*. 2018 Oct;6(1):104. <https://doi.org/10.1186/s40478-018-0606-1>

159. Smith AM, Davey K, Tsartsalis S, Khozoie C, Fancy N, Tang SS, et al. Diverse human astrocyte and microglial transcriptional responses to Alzheimer's pathology. *Acta Neuropathologica*. 2022 Jan;143(1):75-91. <https://doi.org/10.1007/s00401-021-02372-6>

160. Rodriguez-Vieitez E, Kumar A, Malarte ML, Ioannou K, Rocha FM, Chiotis K. Imaging neuroinflammation: quantification of astrocytosis in a

multitracer PET approach. *Methods in Molecular Biology*. 2024;2785:195-218.
https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3774-6_13

161. Tschiffely AE, Statz JK, Edwards KA, Goforth C, Ahlers ST, Carr WS, et al. Assessing a blast-related biomarker in an operational community: glial fibrillary acidic protein in experienced breachers. *Journal of Neurotrauma*. 2020 Apr;37(8):1091-1096. <https://doi.org/10.1089/neu.2019.6512>

162. Brenner M, Messing A. Regulation of GFAP expression. *ASN Neuro*. 2021 Jan-Dec;13:1759091420981206. <https://doi.org/10.1177/1759091420981206>

163. Bishop P, Rocca D, Henley JM. Ubiquitin C-terminal hydrolase L1 (UCH-L1): structure, distribution and roles in brain function and dysfunction. *Biochemical Journal*. 2016 Aug;473(16):2453-2462.
<https://doi.org/10.1042/bcj20160082>

164. Thelin EP, Zeiler FA, Ercole A, Mondello S, Büki A, Bellander BM, et al. Serial sampling of serum protein biomarkers for monitoring human traumatic brain injury dynamics: a systematic review. *Frontiers in Neurology*. 2017 Jul;8:300. <https://doi.org/10.3389/fneur.2017.00300>

165. Boutté AM, Thangavelu B, LaValle CR, Nemes J, Gilsdorf J, Shear DA, et al. Brain-related proteins as serum biomarkers of acute, subconcussive blast overpressure exposure: A cohort study of military personnel. *PLoS One*. 2019 Aug;14(8):e0221036. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221036>

166. Jitsu M, Niwa K, Suzuki G, Obara T, Iwama Y, Hagsawa K, et al. Behavioral and histopathological impairments caused by topical exposure of the rat brain to mild-impulse laser-induced shock waves: impulse dependency. *Frontiers in Neurology*. 2021 May;12:621546. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.621546>

167. Arun P, Wilder DM, Morris AJ, Sabbadini R, Long JB. Cerebrospinal fluid levels of lysophosphatidic acids can provide suitable biomarkers of blast-induced traumatic brain injury. *Journal of Neurotrauma*. 2023 Jul 21.
<https://doi.org/10.1089/neu.2023.0087>

168. Coppens S, Lehmann S, Hopley C, Hirtz C. Neurofilament-light, a promising biomarker: analytical, metrological and clinical challenges. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023 Jul24(14):11624. <https://doi.org/10.3390/ijms241411624>
169. Karantali E, Kazis D, McKenna J, Chatzikonstantinou S, Petridis F, Mavroudis I. Neurofilament light chain in patients with a concussion or head impacts: a systematic review and meta-analysis. *European Journal of Trauma and Emergency Surgery*. 2022 Jun;48(3):1555-1567. <https://doi.org/10.1007/s00068-021-01693-1>
170. Lucke-Wold BP, Logsdon AF, Smith KE, Turner RC, Alkon DL, Tan Z, et al. Bryostatin-1 restores blood brain barrier integrity following blast-induced traumatic brain injury. *Molecular Neurobiology*. 2015 Dec;52(3):1119-1134. <https://doi.org/10.1007/s12035-014-8902-7>
171. Demers-Marcil S, Coles JP. Cerebral metabolic derangements following traumatic brain injury. *Current Opinion in Anaesthesiology*. 2022 Oct;35(5):562-569. <https://doi.org/10.1097/aco.0000000000001183>
172. Magistretti PJ, Allaman I. Lactate in the brain: from metabolic end-product to signalling molecule. *Nature Reviews Neuroscience*. 2018 Apr;19(4):235-249. <https://doi.org/10.1038/nrn.2018.19>
173. Carteron L, Solari D, Patet C, Quintard H, Miroz JP, Bloch J, et al. Hypertonic lactate to improve cerebral perfusion and glucose availability after acute brain injury. *Critical Care Medicine*. 2018 Oct;46(10):1649-1655. <https://doi.org/10.1097/ccm.0000000000003274>
174. O'Brien WT, Symons GF, Bain J, Major BP, Costello DM, Sun M, et al. Elevated serum Interleukin-1 β levels in male, but not female, collision sport athletes with a concussion history. *Journal of Neurotrauma*. 2021 May;38(10):1350-1357. <https://doi.org/10.1089/neu.2020.7479>
175. Kochanek PM, Dixon CE, Shellington DK, Shin SS, Bayır H, Jackson EK, et al. Screening of biochemical and molecular mechanisms of secondary injury

and repair in the brain after experimental blast-induced traumatic brain injury in rats. *Journal of Neurotrauma*. 2013 Jun;30(11):920-37. <https://doi.org/10.1089/neu.2013.2862>

176. Gayger-Dias V, Vizuite AF, Rodrigues L, Wartchow KM, Bobermin L, Leite MC, et al. How S100B crosses brain barriers and why it is considered a peripheral marker of brain injury. *Experimental Biology and Medicine* (Maywood). 2023 Nov;248(22):2109-2119. <https://doi.org/10.1177/15353702231214260>

177. Chen HJ, Xu C, Li Y, Chen ZQ, Li GH, Duan ZX, et al. An open air research study of blast-induced traumatic brain injury to goats. *Chinese Journal of Traumatology*. 2015;18(5):267-274. <https://doi.org/10.1016/j.cjtee.2015.11.006>

178. Donato R, Sorci G, Riuzzi F, Arcuri C, Bianchi R, Brozzi F, et al. S100B's double life: intracellular regulator and extracellular signal. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2009 Jun;1793(6):1008-1022. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2008.11.009>

179. Chen W, Wang G, Yao C, Zhu Z, Chen R, Su W, et al. The ratio of serum neuron-specific enolase level to admission glasgow coma scale score is associated with diffuse axonal injury in patients with moderate to severe traumatic brain injury. *Frontiers in Neurology*. 2022 Sep;13:887818. <https://doi.org/10.3389/fneur.2022.887818>

180. Mansour NO, Shama MA, Werida RH. The effect of doxycycline on neuron-specific enolase in patients with traumatic brain injury: a randomized controlled trial. *Therapeutic Advances in Chronic Disease*. 2021;12:364072938. <https://doi.org/10.1177/20406223211024362>

181. Xu C-M, Luo Y-L, Li S, Li Z-X, Jiang L, Zhang G-X, et al. Multifunctional neuron-specific enolase: Its role in lung diseases. *Bioscience Reports*. 2019;39:BSR20192732. <https://doi.org/10.1042/bsr20192732>

182. Hu J, Xie S, Xia W, Huang F, Xu B, Zuo Z, et al. Meta-analysis of evaluating neuron specific enolase as a serum biomarker for sepsis-associated

encephalopathy. *International Immunopharmacology*. 2024;131:111857. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2024.111857>

183. Mochetti MM, Silva EGP, Correa AAF, Cabette MR, Perissinotti IN, Silva LOJE, et al. Neuron-specific enolase at admission as a predictor for stroke volume, severity and outcome in ischemic stroke patients: A prognostic biomarker review. *Scientific Reports*. 2024;14:2688. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-53080-6>

184. Dagonnier M, Donnan GA, Davis SM, Dewey HM, Howells DW. Acute stroke biomarkers: are we there yet? *Frontiers in Neurology*. 2021;12:619721. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.619721>

185. Rowe RK, Rumney BM, May HG, Permana P, Adelson PD, Harman SM, et al. Diffuse traumatic brain injury affects chronic corticosterone function in the rat. *Endocrine Connections*. 2016 Jul;5(4):152-66. <https://doi.org/10.1530/ec-16-0031>

186. Baxter D, Sharp DJ, Feeney C, Papadopoulou D, Ham TE, Jilka S, et al. Pituitary dysfunction after blast traumatic brain injury: The UK BIOSAP study. *Annals of Neurology*. 2013 Oct;74(4):527-36. <https://doi.org/10.1002/ana.23958>

187. Russell AL, Richardson MR, Bauman BM, Hernandez IM, Saperstein S, Handa RJ, et al. Differential responses of the HPA axis to mild blast traumatic brain injury in male and female mice. *Endocrinology*. 2018 Jun;159(6):2363-2375. <https://doi.org/10.1210/en.2018-00203>

188. VandeVord PJ, Sajja VS, Ereifej E, Hermundstad A, Mao S, Hadden TJ. Chronic hormonal imbalance and adipose redistribution is associated with hypothalamic neuropathology following blast exposure. *Journal of Neurotrauma*. 2016 Jan;33(1):82-88. <https://doi.org/10.1089/neu.2014.3786>

189. Lendvai D, Whittemore R, Womack JA, Fortier CB, Milberg WP, Fonda JR. The impact of blast exposure-with or without traumatic brain injury-on metabolic abnormalities in post-9/11 veterans. *The Journal of Head Trauma*

Rehabilitation. 2023 Sep-Oct;38(5):380-390.
<https://doi.org/10.1097/htr.0000000000000874>

190. Kim J, Lee S, Fang Y-Y, Shin A, Park S, Hashikawa SB, et al. Rapid, biphasic CRF neuronal responses encode positive and negative valence. *Nature Neuroscience*. 2019;22, 576-585. <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0342-2>

191. Kelestimur F. Antibodies against the pituitary and hypothalamus in boxers. *Handbook of Clinical Neurology*. 2021;181:187-191.
<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-820683-6.00014-2>

192. Mele C, Pagano L, Franciotta D, Caputo M, Nardone A, Aimaretti G, et al. Thyroid function in the subacute phase of traumatic brain injury: a potential predictor of post-traumatic neurological and functional outcomes. *Journal of Endocrinological Investigation*. 2022 Feb;45(2):379-389.
<https://doi.org/10.1007/s40618-021-01656-8>

193. Mishra V, Skotak M, Schuetz H, Heller A, Haorah J, Chandra N. Primary blast causes mild, moderate, severe and lethal TBI with increasing blast overpressures: Experimental rat injury model. *Scientific Reports*. 2016 Jun;6:26992. <https://doi.org/10.1038/srep26992>

194. Tümer N, Svetlov S, Whidden M, Kirichenko N, Prima V, Erdos B, et al. Overpressure blast-wave induced brain injury elevates oxidative stress in the hypothalamus and catecholamine biosynthesis in the rat adrenal medulla. *Neuroscience Letters*. 2013 Jun;544:62-7.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2013.03.042>

195. Mizoguchi A, Higashiyama M, Wada A, Nishimura H, Tomioka A, Ito S, et al. Visceral hypersensitivity induced by mild traumatic brain injury via the corticotropin-releasing hormone receptor: An animal model. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*. 2023 Oct;35(10):e14634.
<https://doi.org/10.1111/nmo.14634>

196. Matsuura H, Ohnishi M, Yoshioka Y, Togami Y, Hosomi S, Umemura Y, et al. Original experimental rat model of blast-induced mild traumatic brain

injury: a pilot study. *Brain Injury*. 2021;35(3):368-381.
<https://doi.org/10.1080/02699052.2020.1861653>

197. Clemenson CJ, Criborn CO. A detonation chamber for physiological blast research. *Journal of Aviation Medicine*. 1955;26(5):373-381. Available from:
<https://asma.kglmeridian.com/view/journals/joam/26/5/article-p373.xml?body=PDF>

198. Goldstein LE, McKee AC, Stanton PK. Considerations for animal models of blast-related traumatic brain injury and chronic traumatic encephalopathy. *Alzheimers Research & Therapy*. 2014;6(5):64.
<https://doi.org/10.1186/s13195-014-0064-3>

199. Courtney A, Courtney M. The complexity of biomechanics causing primary blast-induced traumatic brain injury: a review of potential mechanisms. *Frontiers in Neurology*. 2015;6:221. <https://doi.org/10.3389/fneur.2015.00221>

200. Godinez VG, Morar V, Carmona C, Gu Y, Sung K, Shi LZ, et al. Laser-Induced Shockwave (LIS) to study neuronal Ca²⁺ responses. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2021 Feb;9:598896.
<https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.598896>

201. Weiss C, Lendacki FR, Rigby PH, Wyrwicz AM, Disterhoft JF, Spiess J. Conditioned contextual freezing is a neurobehavioral biomarker of axonal injury indicated by reduced fractional anisotropy in a mouse model of blast-induced mild traumatic brain injury. *Shock*. 2020 Jun;53(6):744-753.
<https://doi.org/10.1097/shk.0000000000001424>

202. Shin MK, Vázquez-Rosa E, Cintrón-Pérez CJ, Riegel WA, Harper MM, Ritzel D, et al. Characterization of the Jet-Flow overpressure model of traumatic brain injury in mice. *Neurotrauma Reports*. 2021 Jan;2(1):1-13.
<https://doi.org/10.1089/neur.2020.0020>

203. Newman AJ, Hayes SH, Rao AS, Allman BL, Manohar S, Ding D, et al. Low-cost blast wave generator for studies of hearing loss and brain injury: blast

wave effects in closed spaces. *Journal of Neuroscience Methods*. 2015 Mar;242:82-92. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2015.01.009>

204. Liu M, Zhang C, Liu W, Luo P, Zhang L, Wang Y, et al. A novel rat model of blast-induced traumatic brain injury simulating different damage degree: implications for morphological, neurological, and biomarker changes. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2015;9:168. <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00168>

205. Unnikrishnan G, Mao H, Sajja VSSS, van Albert S, Sundaramurthy A, Rubio JE, Subramaniam DR, et al. Animal orientation affects brain biomechanical responses to blast-wave exposure. *Journal of Biomechanical Engineering*. 2021;143(5):051007. <https://doi.org/10.1115/1.4049889>

206. Cernak I, Merkle AC, Koliatsos VE, Bilik JM, Luong QT, Mahota TM, et al. The pathobiology of blast injuries and blast-induced neurotrauma as identified using a new experimental model of injury in mice. *Neurobiology of Disease*. 2011 Feb;41(2):538-51. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2010.10.025>

207. Kawa L, Kamnaksh A, Long JB, Arborelius UP, Hökfelt T, Agoston DV, et al. A comparative study of two blast-induced traumatic brain injury models: changes in monoamine and galanin systems following single and repeated exposure. *Frontiers in Neurology*. 2018 Jun;9:479. <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00479>

208. Zhang L, Jackson WJ, Bentil SA. Deformation of an airfoil-shaped brain surrogate under shock wave loading. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2021 Aug;120:104513. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2021.104513>

209. Sundaramurthy A, Alai A, Ganpule S, Holmberg A, Plougonven E, Chandra N. Blast-induced biomechanical loading of the rat: an experimental and anatomically accurate computational blast injury model. *Journal of Neurotrauma*. 2012 Sep;29(13):2352-64. <https://doi.org/10.1089/neu.2012.2413>

210. Sajja V, Shoge R, McNeil E, Van Albert S, Wilder D, Long J. Comparison of biomechanical outcome measures from characteristically different

blast simulators and the influence of exposure location. *Military Medicine*. 2023 Nov;188(6):288-294. <https://doi.org/10.1093/milmed/usad111>

211. Ritzel DV, Van Albert S, Sajja V, Long J. Acceleration from short-duration blast. *Shock Waves*. 2018;28:101-114. <https://doi.org/10.1007/s00193-017-0768-y>

212. Kim C, Choi WJ, Ng Y, Kang W. Mechanically induced cavitation in biological systems. *Life* (Basel). 2021 Jun;11(6):546. <https://doi.org/10.3390/life11060546>

213. Zimmerlin JA, McManus JJ, Crosby AJ. Cavitation rheology of the vitreous: Mechanical properties of biological tissue. *Soft Matter*. 2010;6:3632–3635. <https://doi.org/10.1039/B925407B>

214. Izadifar Z, Babyn P, Chapman D. Ultrasound cavitation/microbubble detection and medical applications. *Journal of Medical and Biological Engineering*. 2019;39:259-276. <https://doi.org/10.1007/s40846-018-0391-0>

215. Mancia L, Yang J, Spratt J-S, Sukovich JR, Xu Z, Colonius T, et al. Acoustic cavitation rheometry. *Soft Matter*. 2021;17:2931-2941. <https://doi.org/10.1039/d0sm02086a>

216. Estrada JB, Barajas C, Henann DL, Johnsen E, Franck C. High strain-rate soft material characterization via inertial cavitation. *Journal of the Mechanical and Physics of Solids*. 2018;112:291-317. <https://doi.org/10.1016/j.jmps.2017.12.006>

217. Kang W, Chen Y, Bagchi A, O'Shaughnessy TJ. Characterization and detection of acceleration-induced cavitation in soft materials using a drop-tower-based integrated system. *Review of Scientific Instruments*. 2017;88:125113. <https://doi.org/10.1063/1.5000512>

218. Fu Y, Lu H, Nian G, Wang P, Lin N, Hu X, et al. Size-dependent inertial cavitation of soft materials. *Journal of the Mechanical and Physics of Solids*. 2020;137:103859. <https://doi.org/10.1016/j.jmps.2019.103859>

219. Kang W, Robitaille MC, Merrill M, Teferra K, Kim C, Raphael MP. Mechanisms of cell damage due to mechanical impact: An in vitro investigation. *Scientific Reports*. 2020;10:12009. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68655-2>
220. Miranda EG, Nascimento VP, Waisberg DR, Sousa MW, Lima MF, Silva Ddos S, et al. Inhalation anesthesia equipment for rats with provision of simultaneous anesthetic and oxygen. *Acta Cirúrgica Brasileira*. 2011 Apr;26(2):140-143. <https://doi.org/10.1590/s0102-86502011000200012>
221. Ozsoy HZ. Carbonic anhydrase enzymes: Likely targets for inhalational anesthetics. *Medical Hypotheses*. 2019;123:118-124. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2019.01.005>
222. Козлова ЮВ, Абдул-Огли ЛВ, Кошарний АВ, Китова ІВ, Корзаченко МА. Пристрій для дослідження дії на організм ударної хвилі вибуху. – Патент на корисну модель;146858 U. бюл.12:24.03.2021. Доступно з: <https://sis.nipo.gov.ua/uk/search/detail/1584578/>
223. Cui B, Wu M, She X, Liu H. Impulse noise exposure in rats causes cognitive deficits and changes in hippocampal neurotransmitter signaling and tau phosphorylation. *Brain Research*. 2012 Jan;1427:35-43. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.08.035>
224. Bureš J, Burešová O, Huston JP. Techniques and basic experiments for the study of brain and behavior. Second edition. Elsevier science publishers B.V Amsterdam - New York; 1983. 400 p. [https://doi.org/10.1016/0149-7634\(84\)90064-2](https://doi.org/10.1016/0149-7634(84)90064-2)
225. Kraeuter AK, Guest PC, Sarnyai Z. The elevated plus maze test for measuring anxiety-like behavior in rodents. *Methods in Molecular Biology*. 2019;1916:69-74. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2_4
226. Ari C, D'Agostino DP, Diamond DM, Kindy M, Park C, Kovács Z. Elevated plus maze test combined with video tracking software to investigate the anxiolytic effect of exogenous ketogenic supplements. *JoVe: Journal of Visualized Experiments*. 2019 Jan;(143). <https://doi.org/10.3791/58396>

227. Gurba KN, Chaudhry R, Haroutounian S. Central neuropathic pain syndromes: current and emerging pharmacological strategies. *CNS Drugs*. 2022 May;36(5):483-516. <https://doi.org/10.1007/s40263-022-00914-4>
228. Armstrong SA, Herr MJ. Physiology, Nociception. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing;2023. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551562/>
229. Pitts MW. Barnes maze procedure for spatial learning and memory in mice. *Bio-protocol Journal*. 2018 Mar;8(5):e2744. <https://doi.org/10.21769/bioprotoc.2744>
230. Seo J, Hwang H, Sohn H, Cho E, Jung S, Kim S, et al. Cyclin Y regulates spatial learning and memory flexibility through distinct control of the actin pathway. *Molecular Psychiatry*. 2023;28(3):1351-1364. <https://doi.org/10.1038/s41380-022-01877-0>
231. Пашинська ОС, Степанюк ГІ, Денисюк ОМ, Волощук НІ. Застосування вінборону для корекції когнітивного дефіциту за експериментальної алкогольної кардіоміопатії. *Фармакологія та Лікарська Токсикологія*. 2022;16(3):176-186. <https://doi.org/10.33250/16.03.176>
232. Lippi SLP, Neely CLC, Amaya AL. Trace concentrations, heavy implications: Influences of biometals on major brain pathologies of Alzheimer's disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2022 Feb;143:106136. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2021.106136>
233. Rojekar S, Abadi LF, Pai R, Prajapati MK, Kulkarni S, Vavia PR. Mannose-anchored nano-selenium loaded nanostructured lipid carriers of etravirine for delivery to HIV reservoirs. *AAPS PharmSciTech*. 2022 Aug;23(7):230. <https://doi.org/10.1208/s12249-022-02377-8>
234. Xu M, Li L, Liu H, Lu W, Ling X, Gong M. Rutaecarpine attenuates oxidative stress-induced traumatic brain injury and reduces secondary injury via the PGK1/KEAP1/NRF2 signaling pathway. *Frontiers in Pharmacology*. 2022 Apr;13:807125. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.807125>

235. Hadwan MH, Hussein MJ, Mohammed RM, Hadwan AM, Saad Al-Kawaz H, et al. An improved method for measuring catalase activity in biological samples. *Biology Methods and Protocols*. 2024 Mar;9(1):bpae015. <https://doi.org/10.1093/biomethods/bpae015>

236. Gidske G, Solvik UO, Sandberg S, Kristensen GBB. Hemolysis interference studies: freeze method should be used in the preparation of hemolyzed samples. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2018;56(9):220-222. <https://doi.org/10.1515/cclm-2018-0193>

237. Yang W, Burkhardt B, Fischer L, Beirow M, Bork N, Wönne EC, et al. Age-dependent changes of the antioxidant system in rat livers are accompanied by altered MAPK activation and a decline in motor signaling. *EXCLI Journal*. 2015 Dec;14:1273-90. <https://doi.org/10.17179/excli2015-734>

238. Gueroui M, Kechrid Z. Evaluation of some biochemical parameters and brain oxidative stress in experimental rats exposed chronically to silver nitrate and the protective role of vitamin E and Selenium. *Toxicological Research*. 2016 Oct;32(4):301-309. <https://doi.org/10.5487/tr.2016.32.4.301>

239. Kuo J. *Electron microscopy: methods and protocols*. Totowa, New Jersey: Humana Press Inc; 2007. 608 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-59745-294-6>

240. Беліменко М.С., Кошарний В.В., Абдул-Огли Л.В., Кушнарѡва К.А. Ультрaструктурні зміни міокарда при дії загальної гіпотермії. *Вісник Проблем Біології і Медицини*. 2021; 1(159):197-201. <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2021-1-159-197-201>

241. Багрій ММ, Діброва ВА, Попадинець ОГ, Грищук МІ. *Методики морфологічних досліджень: монографія*. Нова Книга, Вінниця, Україна; 2016. Доступно з: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Morphology_2016_10_1_20

242. Rhodes A. Fixation of tissues. Suvarna SK, Layton C., Bancroft JD, editors. *Bancroft's theory and practice of histological techniques* (seventh edition),

Livingstone C; 2013:637. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-7020-4226-3.00004-4>

243. Bancroft JD, Layton C. The hematoxylin and eosin. Suvarna SK, Layton C, Bancroft JD, editors. Bancroft's theory and practice of histological techniques (seventh edition), Livingstone C; 2013:173-186. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-4226-3.00010-X>

244. Highley JR, Sullivan N. Neuropathology and muscle biopsy techniques. Suvarna SK, Layton C, Bancroft JD, editors. Bancroft's theory and practice of histological techniques (seventh edition), Livingstone C; 2013:311-313. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6864-5.00018-9>

245. Jackson P, Blythe D. Immunohistochemical techniques. Suvarna SK, Layton C, Bancroft JD, editors. Bancroft's theory and practice of histological techniques (seventh edition), Livingstone C; 2013:381-426. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-4226-3.00018-4>

246. Бабаджан ВД, Бакуменко НС, Кадикова ОІ, та ін. Методологія наукових досліджень в медицині: навч. посібник, Кравчун ПГ, Бабаджан ВД, М'ясоєдов ВВ, ред. Харків : ХНМУ; 2020:386.

247. Кашуба МО, Корда ММ. Основи медичної статистики та проведення комп'ютерного статистичного аналізу даних статистичними програмами: навч.-метод. посіб. Тернопіль : ТНМУ; Укрмедкнига; 2022:160.

248. National advisory committee for laboratory animal research. Guidelines on the care and use of animals for scientific purpose. Singapore; 2022:145. Available from: [chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.nparks.gov.sg/-/media/naclar-guidelines-\(second-edition\)_v2.pdf](chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.nparks.gov.sg/-/media/naclar-guidelines-(second-edition)_v2.pdf)

249. Estanislau C, Veloso AWN, Filgueiras GB, Maio TP, Dal-Cól MLC, Cunha DC, et al. Rat self-grooming and its relationships with anxiety, dearousal and perseveration: Evidence for a self-grooming trait. Physiology & Behavior. 2019 Oct;209:112585. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2019.112585>

250. An Y, Li S, Huang X, Chen X, Shan H, Zhang M. The role of Copper homeostasis in brain disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022 Nov;23(22):13850. <https://doi.org/10.3390/ijms232213850>
251. Krall RF, Tzounopoulos T, Aizenman E. The function and regulation of Zinc in the brain. *Neuroscience*. 2021 Mar;457:235-258. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2021.01.010>
252. Acevedo K, Masaldan S, Opazo CM, Bush AI. Redox active metals in neurodegenerative diseases. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*. 2019 Dec;24(8):1141-1157. <https://doi.org/10.1007/s00775-019-01731-9>
253. Moynier F, Creech J, Dallas J, Le Borgne M. Serum and brain natural copper stable isotopes in a mouse model of Alzheimer's disease. *Scientific Reports*. 2019 Aug;9(1):11894. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47790-5>
254. Liu HY, Gale JR, Reynolds IJ, Weiss JH, Aizenman E. The multifaceted roles of zinc in neuronal mitochondrial dysfunction. *Biomedicines*. 2021 Apr;9(5):489. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9050489>
255. Козлова ЮВ, Бондаренко МО, Сутирін ДО. Статеві відмінності у поведінці щурів у ранньому періоді легкої вибухо-індукованої травми головного мозку. *Перспективи та Інновації Науки*. 2024;1(35):946-956. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-16\(34\)](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-16(34))
256. Козлова ЮВ. Дослідницька діяльність щурів у гострому періоді легкої вибухо-індукованої травми головного мозку. *Актуальні Проблеми Сучасної Медицини: Вісник Української Медичної Стоматологічної Академії*. 2024;24(1):89-93. <https://doi.org/10.31718/2077-1096.24.1.89>
257. Kozlova YuV, Kozlov SV. Changes of trace elements in cerebellum and their influence on the rats behavior in elevated plus maze in the acute period of mild blast-induced brain injury. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2023;78(127189):1-6. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2023.127189>
258. Kozlova YuV. Influence of trace elements changes in cerebellum on rat's behavior in elevated plus maze in the early period of mild blast-induced

traumatic brain injury. Патологія. 2024;21(1):28-33. [in English].
<https://doi.org/10.14739/2310-1237.2024.1.296887>

259. Козлова ЮВ. III наук.-практ. internet-конф. з міжнар. уч. Зміни орієнтовно-дослідницької активності щурів з експериментальною вибухо-індукованою нейротравмою в піднятому хрестоподібному лабіринті. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція, 19 листопада 2020 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2020:130. Доступно з:
<https://pat.nuph.edu.ua/iii-naukovo-praktychna-internet-konferentsiia-z/>

260. Khan SMA, Kozlova YuV, Koldunov VV. XXII наук. конф. студ. та молодих учених. Changes of Cu/Fe ratio in the cerebellum in first day after experimental blast-induced traumatic brain injury. Новини і Перспективи Медичної Науки. Дніпро, 2022:36. [in English]. Доступно з:
<https://drive.google.com/file/d/1hguap1qwTXecAJVOX7e2nyCGPV0l6Le7/view>

261. Kozlova YuV. Trace elements changes in forebrain and their influence on the rats behavior in elevated plus maze in acute period of mild blast traumatic brain injury. Медичні Перспективи. 2023;28(2):10-20. [in English].
<https://doi.org/10.26641/2307-0404.2023.2.283151>

262. Kozlova YuV. Changes of biometals in the rat forebrain in the early period of blast-induced traumatic brain injury. Актуальні Проблеми Сучасної Медицини: Вісник Української Медичної Стоматологічної Академії. 2023;23(3):94-98. [in English]. <https://doi.org/10.31718/2077-1096.23.3.94>

263. Dickerson MR, Bailey ZS, Murphy SF, Urban MJ, VandeVord PJ. Glial activation in the thalamus contributes to vestibulomotor deficits following blast-induced neurotrauma. Frontiers in Neurology. 2020 Jul;11:618.
<https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00618>

264. Kawahara M, Tanaka KI, Kato-Negishi M. Zinc, Copper, and Calcium: a triangle in the synapse for the pathogenesis of vascular-type senile dementia. Biomolecules. 2024 Jun;14(7):773. <https://doi.org/10.3390/biom14070773>

265. Mezzaroba L, Alfieri DF, Colado Simão AN, Vissoci Reiche EM. The role of Zinc, Copper, manganese and iron in neurodegenerative diseases. *Neurotoxicology*. 2019 Sep;74:230-241. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2019.07.007>
266. Guggilla S, Karthik M, Shylendra B. Regulation of antioxidant enzyme levels in rat brain. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2021;1339:21-26. https://doi.org/10.1007/978-3-030-78787-5_3
267. Козлова ЮВ, Маслак ГС, Нетроніна ОВ, Абраїмова ОЄ. Експресія BDNF у щурів в динаміці вибухо-індукованої травми головного мозку. *Перспективи та Інновації Науки*. 2024;8(42):1075-1084. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-8\(42\)](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-8(42))
268. Gupta R, Verma N, Tewari RK. Micronutrient deficiency-induced oxidative stress in plants. *Plant Cell Reports*. 2024 Aug;43(9):213. <https://doi.org/10.1007/s00299-024-03297-6>
269. Woo MS, Mayer C, Binkle-Ladisich L, Sonner JK, Rosenkranz SC, Shaposhnykov A, et al. STING orchestrates the neuronal inflammatory stress response in multiple sclerosis. *Cell*. 2024 Jul;187(15):4043-4060.e30. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.05.031>
270. Ishola IO, Olubodun-Obadun TG, Bakre OA, Ojo ES, Adeyemi OO. Kolaviron ameliorates chronic unpredictable mild stress-induced anxiety and depression: involvement of the HPA axis, antioxidant defense system, cholinergic, and BDNF signaling. *Drug Metabolism and Personalized Therapy*. 2022 Feb;37(3):277-287. <https://doi.org/10.1515/dmpt-2021-0125>
271. Korshniak VO. The impact of the blast wave on the formation of neurological symptoms in patients with battle traumatic brain injury. *International Neurological Journal*. 2016;83(5):83-87. [in English]. Available from: <http://dx.doi.org/10.22141/2224-0713.5.83.2016.78475>
272. Mac Donald CL, Barber J, Patterson J, Johnson AM, Dikmen S, Fann JR, et al. Association between 5-year clinical outcome in patients with

nonmedically evacuated mild blast traumatic brain injury and clinical measures collected within 7 days postinjury in combat. JAMA Network Open. 2019 Jan;2(1):e186676. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2018.6676>

273. Baker MT, Moring JC, Hale WJ, Mintz J, Young-McCaughan S, Bryant RA, et al. Acute assessment of traumatic brain injury and post-traumatic stress after exposure to a deployment-related explosive blast. Military Medicine. 2018 Nov;183(11-12):e555-e563. <https://doi.org/10.1093/milmed/usy100>

274. Івах ОО, Козлова ЮВ. XXI конф. студ. та мол. учених. Епідеміологія вибухо-індукованої нейротравми. Новини і Перспективи Медичної Науки. Дніпро; 2021:60. Доступно з: <https://drive.google.com/file/d/1attk8qlH3nfVqushUNyb8VfKBwdPvIaM/view>

275. Shi QX, Chen B, Nie C, Zhao ZP, Zhang JH, Si SY, et al. Improvement in cognitive dysfunction following blast induced traumatic brain injury by thymosin $\alpha 1$ in rats: Involvement of inhibition of tau phosphorylation at the Thr205 epitope. Brain Research. 2020 Nov;1747:147038. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2020.147038>

276. Zhang JK, Botterbush KS, Bagdady K, Lei CH, Mercier P, Mattei TA. Blast-related traumatic brain injuries secondary to thermobaric explosives: implications for the war in Ukraine. World Neurosurgery. 2022 Nov;167:176-183.e4. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2022.08.073>

277. Козлов СВ, Корзаченко МА, Козлова ЮВ. Оцінка механізмів та диференційна діагностика закритих ушкоджень внутрішніх органів (головний мозок, печінка, нирки) при дії фізичних чинників. SWorld Journal. 2021;7(3):41-45. <https://doi.org/10.30888/2663-5712.2021-07-03-075>

278. Козлова ЮВ, Корзаченко МА, Агарков СФ, Радіонов ВК, Башта ІГ. Механізми первинного і вторинного пошкодження головного мозку в умовах впливу вибухової хвилі (огляд літератури). Перспективи та Інновації Науки. 2024;7(41): 1059-1073. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-7\(41\)](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-7(41))

279. Нескородева КС, Козлова ЮВ. XXI конф. студ. та мол. учених. Експериментальні маркери вибухо-індукованої нейротравми. Новини і перспективи медичної науки. Дніпро; 2021:69-70. Доступно з: <https://drive.google.com/file/d/1attk8qlH3nfVqusHUNyb8VfKBwdPvlaM/view>

280. Зейналова АМ, Козлова ЮВ. XXI конф. студ. та мол. учених. Загальні клінічні ознаки легкої вибухо-індукованої нейротравми. Новини і перспективи медичної науки. Дніпро; 2021:59. Доступно з: <https://drive.google.com/file/d/1attk8qlH3nfVqusHUNyb8VfKBwdPvlaM/view>

281. Гур'єв СО, Шкатула ЮВ, Печиборщ ВП та ін. Медичний захист військ: навч. посібник. Суми : Сумський державний університет; 2017:175.

282. Kozlova YuV, Kosharnij AV, Korzachenko MA, Kytova IV. Retrospective analysis and current state of experimental models of blast-induced trauma. Український журнал медицини, біології та спорту. 2020;5(6):66-71. [in English]. [10.26693/jmbs05.06.066](https://doi.org/10.26693/jmbs05.06.066)

283. Kozlova YuV, Koldunov VV, Klopotskyi GA. Method and device for shock wave modeling (literature review). Одеський Медичний Журнал. 2023;2(183):108-110. [in English]. <https://doi.org/10.54229/2226-2008-2023-2-20>

284. Козлов СВ, Козлова ЮВ, Кошарний АВ, Снісар ОС. Всеукраїнська наукова конф. Моделювання ударно-хвильового впливу на організм лабораторної тварини. Актуальні питання біології та медицини, 16-17 листопада 2017 р. Суми; 2017:35-37. Доступно з: <https://repo.dma.dp.ua/view/divisions/00026/2017.default.html>

285. Козлов СВ, Козлова ЮВ, Кошарний АВ, Корзаченко МА. III Всеукраїнська наук.-практ. конф. з міжнар. участю. Вибухо-індукована травма (пристрій та експериментальна модель). Теорія та практика сучасної морфології, 9-11 жовтня 2019 р. Дніпро; 2019:53-54. Доступно з: <https://sites.google.com/a/dsma.dp.ua/confmorphology/>

286. Wang Q, Li L, Wang H, Fan XL, Gao JH, Ma N. Neurobehavioral effects of explosion exposure on acute and chronic traumatic brain injury in rats

[Chinese]. Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi. 2023 Nov;41(11):808-813. <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn121094-20221103-00528>

287. Kozlov SV, Kozlova YuV, Bondarenko NS, Bondarenko OO. Histopathological and ultrastructural changes in the rats brain after air shock wave impact. Медичні Перспективи. 2024;29(1):16-26. [in English]. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2024.1.300497>

288. Козлов СВ, Козлова ЮВ, Бондаренко НС, Бондаренко ОО. Всеукр. конф. з нейронаук м. Київ, присвячена 90 річчю від дня народження академіка Володимира Скока. Гістопатологічні та ультраструктурні зміни головного мозку щурів після дії повітряної ударної хвилі. 25-27 липня 2022 р. Київ, 2022:28-29. Доступно з: <https://fz.kiev.ua/index.php?list1=147>

289. Козлов СВ, Козлова ЮВ, Шаповал ДО, Кошарний АВ, Корзаченко МА. Наук.-практ. конф. Ультраструктурні та гістопатологічні зміни внутрішніх органів щурів після експериментальної легкої вибухо-індукованої травми. Актуальні питання сучасної морфології. 3-4 жовтня 2020 р. Запоріжжя : ЗДМУ МОЗ України, 2020:66-67. Доступно з: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/http://dspace.zsmu.edu.ua/bitstream/123456789/12261/1/anatomy-65-66.pdf>

290. Козлова ЮВ. V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнарод. участю Патоморфологічні зміни головного мозку щурів у гострому періоді легкої вибухо-індукованої нейротравми. Теорія та практика сучасної морфології. 20-22 жовтня 2021 р. Дніпро, 2021:59-60. Доступно з: <https://repo.dma.dp.ua/7262/>

291. Gudigar VV, Raghavendra A, Hegde U, Menon A, Molinari GR, et al. Automated detection and screening of traumatic brain injury (tbi) using computed tomography images: a comprehensive review and future perspectives. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2021 Jun;18(12):6499. <https://doi.org/10.3390/ijerph18126499>

292. Li Y, Lv W, Cheng G, Wang S, Liu B, Zhao H, et al. Effect of early normobaric hyperoxia on blast-induced traumatic brain injury in rats. *Neurochemical Research*. 2020 Nov;45(11):2723-2731. <https://doi.org/10.1007/s11064-020-03123-x>

293. Козлов СВ, Козлова ЮВ. Наук.-практ. конф. Патоморфологічні маркери дії вибухової хвилі на мозок людини. Прикладні аспекти морфології. 21-22 вересня 2017 р. Вінниця, 2017:96-97. Доступно з: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.vnmu.edu.ua/downloads/pdf/konf_asp_morf_20170426-110013.pdf

294. Ніколайчик АМ, Козлова ЮВ. VII Пленум Українського наук. товариства патофізіологів та наук.-практ. конф., присвячених 110-річчю з дня народж. чл.-кор. АМН СРСР, проф. Зайка М.Н. Ударна хвиля як сучасний фактор ураження ЦНС. 11 жовтня 2018 р. Полтава, 2018:64-65. Доступно з: <https://repo.dma.dp.ua/id/eprint/4694>

295. Cash A, Theus MH. Mechanisms of blood-brain barrier dysfunction in traumatic brain injury. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020 May;21(9):3344. <https://doi.org/10.3390/ijms21093344>

296. Kozlova YuV, Trysak NS, Klopotskyi GA, Kozlova KS. Morphological characteristics of the blood-brain barrier in 1 day of experimental blast-induced traumatic brain injury. *Морфологія*. 2022;16(3):148-152. [in English]. <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2022.3.148-152>

297. Kozlova YuV, Kozlov SV, Maslak HS, Bondarenko OO, Dunaev OV, Oberemok MH. Changes of rat's brain vessels after air shock wave exposure. *Вісник Морфології*. 2024;30(1):55-60. [in English]. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(1\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(1)-07)

298. Dudás B. Anatomy and cytoarchitectonics of the human hypothalamus. *Handbook of Clinical Neurology*. 2021;179:45-66. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819975-6.00001-7>

299. Zachlod D, Palomero-Gallagher N, Dickscheid T, Amunts K. Mapping cytoarchitectonics and receptor architectonics to understand brain function and connectivity. *Biological Psychiatry*. 2023 Mar;93(5):471-479. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2022.09.014>

300. Козлова ЮВ, Козлов СВ, Маслак ГС, Нетроніна ОВ, Абраїмова ОЄ. Оцінка експресії MMP2 в структурах головного мозку щурів в динаміці посттравматичного періоду після впливу ударної повітряної хвилі. *Перспективи та Інновації Науки*. 2024;4(38):1293-1302. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-4\(38\)](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-4(38))

301. Mughal A, Sackheim AM, Sancho M, Longden TA, Russell S, Lockette W, et al. Impaired capillary-to-arteriolar electrical signaling after traumatic brain injury. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2021 Jun;41(6):1313-1327. <https://doi.org/10.1177/0271678x20962594>

302. Chen B, Tjahja J, Malla S, Liebman C, Cho M. Astrocyte viability and functionality in spatially confined microcavitation zone. *ACS Applied Materials & Interfaces Journal*. 2019 Feb;11(5):4889-4899. <https://doi.org/10.1021/acsami.8b21410>

303. Miller AP, Shah AS, Aperi BV, Kurpad SN, Stemper BD, Glavaski-Joksimovic A. Acute death of astrocytes in blast-exposed rat organotypic hippocampal slice cultures. *PLoS One*. 2017 Mar;12(3):e0173167. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173167>

304. Kawon K, Setkowicz Z, Drozd A, Janeczko K, Chwiej J. The methods of vibrational microspectroscopy reveals long-term biochemical anomalies within the region of mechanical injury within the rat brain. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy Journal*. 2021 Dec;263:120214. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.120214>

305. Козлова ЮВ, Колдунов ВВ, Алексєєнко ОА, Козлова КС, Гончаренко СО. Вибухо-індукована нейротравма (патофізіологічні та

патоморфологічні особливості). Український Журнал Медицини, Біології та Спорту. 2021;6(5):83-88. <https://doi.org/10.26693/jmbs06.05.083>

306. Золотарьова ТА, Насібуллін БА, Алексеєнко НО. Методичні рекомендації з методів досліджень біологічної дії природних лікувальних ресурсів та преформованих лікувальних засобів: мінеральні природні лікувально-столові та лікувальні води, напої на їхній основі; штучно-мінералізовані води; пелоїди, розсоли, глини, воски та препарати на їхній основі. К : 2009:118.

307. Козлова ЮВ, Худяков ОС, Колдунов ВВ, Клопоцький ГА. III наук.-практ. internet-конф. з міжнар. уч. Інформативність поведінкових тестів в експериментальному дослідженні функції головного мозку за умов дії екстремальних факторів. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція, 19 листопада 2020 р. Харків : Вид-во НФау, 2020:128-129. <https://pat.nuph.edu.ua/iii-naukovo-praktychna-internet-konferentsiia-z/>

308. Kozlova YuV Behavior of rats in the open field within the early period after light-degree blast-induced neurotrauma. Neurophysiology. 2022;53(2):101-108. <https://doi.org/10.1007/s11062-022-09921-z>

309. Мамотенко АВ, Комісова ТЄ. Дослідження поведінкових реакцій самиць щурів, які утримувалися в умовах природного та зміненого режиму освітлення. Український Журнал Медицини, Біології та Спорту. 2018;3,4(13):293-299. Доступно з: <http://dspace.hnpu.edu.ua/handle/123456789/2710>

310. Vásquez-Celaya L, Marín-Márquez G, Manzo J, Carrillo-Castilla P, Martínez AJ, Ortiz Pulido R, et al. Electrophysiological characterization of cerebellar responses during exploration and grooming behaviors in a rat model of Parkinsonism. Brain Scies. 2023 Mar;13(4):537. <https://doi.org/10.3390/brainsci13040537>

311. Blizard DA, Eldridge JC, Jones BC. The defecation index as a measure of emotionality: questions raised by HPA axis and prolactin response to stress in the maudsley model. Behavior Genetics. 2015 May;45(3):368-73. <https://doi.org/10.1007/s10519-015-9722-x>

312. Сбітнєв ІВ, Козлова КС, Козлова ЮВ, Колдунов ВВ. І наук.-практ. конф. студентів і молодих вчених з міжнар. уч. Зміни емоційного стану щурів у тесті «Відкрите поле» на тлі вибухо-індукованої нейротравми легкого ступеня важкості. Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації, 15 травня 2019 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2019:159-160. Доступно з: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://pat.nuph.edu.ua/pdf/zbirn_t_ez.pdf

313. Козлова ЮВ, Худяков ОЄ, Колдунов ВВ, Клопоцький ГА. VIII Національний конгрес патофізіологів України. Емоційний стан щурів з експериментальною легкою вибухо-індукованою нейротравмою. Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України» присвячений 120-річчю Одеської патофізіологічної школи, 6-8 жовтня 2021 р. Одеса, 2021:113-114. Доступно з: <https://www.researchgate.net/profile/Yuliia-Kozlova>

314. Козлова ЮВ, Козлов СВ, Трясак НС, Кістриця ДВ. Наук.-практ. конф. Спонтанна індивідуальна поведінкова активність щурів у тесті «Відкрите поле» за умов ударно-хвильового ураження головного мозку легкого ступеня важкості. XVIII-і читання В.В. Підвисоцького, 21–22 травня 2019 р. Одеса : УкрНДІ медицини транспорту, 2019:96-97. Доступно з: <https://www.researchgate.net/profile/Yuliia-Kozlova>

315. Солтані РЕ. Особливості емоційно-поведінкових реакцій у щурів при моделюванні в них синдрому апное сну. Вісник Медичних і Біологічних Досліджень. 2020;4(6):63-68. <http://dx.doi.org/10.11603/bmbr.2706-6290.2020.4.11811>

316. Osborn AJ, Mathias JL, Fairweather-Schmidt AK, Anstey KJ. Anxiety and comorbid depression following traumatic brain injury in a community-based sample of young, middle-aged and older adults. *Journal of Affective Disorders*. 2017 Apr;213:214-221. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2016.09.045>
317. Knight P, Chellian R, Wilson R, Behnood-Rod A, Panunzio S, Bruijnzeel AW. Sex differences in the elevated plus-maze test and large open field test in adult Wistar rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2021 May;204:173168. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2021.173168>
318. Козлова ЮВ, Демченко ОМ, Козлов СВ, Родинський ОГ, Трясак НС. Оцінка компонентів поведінки в піднесеному хрестоподібному лабіринті після дії зовнішніх та внутрішніх чинників. *Експериментальна і Клінічна Медицина*. 2022;91(1):5-12. <https://doi.org/10.35339/ekm.2022.91.1.kmk>
319. Pentkowski NS, Rogge-Obando KK, Donaldson TN, Bouquin SJ, Clark BJ. Anxiety and Alzheimer's disease: behavioral analysis and neural basis in rodent models of Alzheimer's-related neuropathology. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2021 Aug;127:647-658. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.05.005>
320. Danduga RCSR, Kola PK. Elevated plus maze for assessment of anxiety and memory in rodents. *Methods in Molecular Biology*. 2024;2761:93-96. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3662-6_8
321. Koskinen MK, Hovatta I. Genetic insights into the neurobiology of anxiety. *Trends in Neurosciences*. 2023 Apr;46(4):318-331. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2023.01.007>
322. Zhang XY, Wu WX, Shen LP, Ji MJ, Zhao PF, Yu L, et al. A role for the cerebellum in motor-triggered alleviation of anxiety. *Neuron*. 2024 Apr;112(7):1165-1181.e8. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2024.01.007>
323. Zacková L, Jáni M, Brázdil M, Nikolova YS, Marečková K. Cognitive impairment and depression: Meta-analysis of structural magnetic resonance imaging studies. *Neuroimage: Clinical*. 2021;32:102830. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2021.102830>

324. Salpekar JA, Basu T, Thangaraj S, Maguire J. The intersections of stress, anxiety and epilepsy. *International Review of Neurobiology*. 2020;152:195-219. <https://doi.org/10.1016/bs.irm.2020.02.001>

325. Kandola A, Ashdown-Franks G, Hendrikse J, Sabiston CM, Stubbs B. Physical activity and depression: Towards understanding the antidepressant mechanisms of physical activity. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2019 Dec;107:525-539. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.09.040>

326. Wickramaratne PJ, Yangchen T, Lepow L, Patra BG, Glicksburg B, Talati A, et al. Social connectedness as a determinant of mental health: A scoping review. *PLoS One*. 2022 Oct;17(10):e0275004. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0275004>

327. Ord AS, Lad SS, Shura RD, Rowland JA, Taber KH, Martindale SL. Pain interference and quality of life in combat veterans: Examining the roles of posttraumatic stress disorder, traumatic brain injury, and sleep quality. *Rehabilitation Psychology*. 2021 Feb;66(1):31-38. <https://doi.org/10.1037/rep0000333>

328. Dwyer B, Zasler N. Post-traumatic cephalalgia. *NeuroRehabilitation*. 2020;47(3):327-342. <https://doi.org/10.3233/nre-208006>

329. Anderson LM, Samineni S, Wilder DM, Lara M, Eken O, Urioste R, et al. The neurobehavioral effects of Buprenorphine and Meloxicam on a blast-induced traumatic brain injury model in the rat. *Frontiers in Neurology*. 2021;12:746370. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.746370>

330. Fitzcharles MA, Cohen SP, Clauw DJ, Littlejohn G, Usui C, Häuser W. Nociceptive pain: towards an understanding of prevalent pain conditions. *Lancet*. 2021 May;397(10289):2098-2110. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(21\)00392-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(21)00392-5)

331. Bouferguène S, Lapierre A, Houzé B, Rainville P, Arbour C. Chronic central pain among community-dwelling survivors of moderate-to-severe traumatic brain injury: a quantitative sensory testing study. *Biological Research For Nursing*. 2019 Oct;21(5):519-531. <https://doi.org/10.1177/1099800419859078>

332. Stefanowski B, Antosik-Wójcińska A, Świącicki Ł. The use of buprenorphine in the treatment of drug-resistant depression - an overview of the studies [English, Polish]. *Psychiatria Polska*. 2020 Apr;54(2):199-207. <https://doi.org/10.12740/pp/102658>

333. Duque-Díaz E, Alvarez-Ojeda O, Coveñas R. Enkephalins and ACTH in the mammalian nervous system. *Vitamins and Hormones*. 2019;111:147-193. <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2019.05.001>

334. Kozlova YuV, Demchenko OM. Excitability of the nociceptive system in rats after blast-induced traumatic brain injury. *Neurophysiology*. 2022;54(3-4):136-142. <https://doi.org/10.1007/s11062-024-09945-7>

335. Kozlova YuV, Kozlov SV. Всеукр. конф. з нейронаук м. Київ, присвячена 90 річчю від дня народження академіка Володимира Скока. Changes in the pain threshold in rats in 1-week development of experimental blast traumatic brain injury, 25-27 липня 2022 р. Київ, 2022:31-32. [in English]. Доступно з: <https://fz.kiev.ua/index.php?list1=147>

336. Shih HC, Yang JW, Lee CM, Shyu BC. Spontaneous cingulate high-current spikes signal normal and pathological pain states. *Journal of Neuroscience*. 2019 Jun;39(26):5128-5142. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.2590-18.2019>

337. Freye E. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of opioids, taking fentanyl as a model substance. in: opioid agonists, antagonists and mixed narcotic analgesics. Springer, Berlin, Heidelberg. 1987. https://doi.org/10.1007/978-3-642-71854-0_4

338. Zhou M, Zhang Q, Huo M, Song H, Chang H, Cao J, et al. The mechanistic basis for the effects of electroacupuncture on neuropathic pain within the central nervous system. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2023 May;161:114516. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114516>

339. Nakamoto K, Tokuyama S. Stress-induced changes in the endogenous opioid system cause dysfunction of pain and emotion regulation. *International*

Journal of Molecular Sciences. 2023 Jul;24(14):11713.
<https://doi.org/10.3390/ijms241411713>

340. Eichenbaum H. Memory: organization and control. *Annual Review of Psychology*. 2017 Jan;68:19-45. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-010416-044131>

341. Ortega-de San Luis C, Ryan TJ. Understanding the physical basis of memory: Molecular mechanisms of the engram. *Journal of Biological Chemistry*. 2022 May;298(5):101866. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.101866>

342. Eustache F, Guillery B, Peschanski D. Memory and traumatism: From biology to humanities. *Biologie Aujourd'hui*. 2023;217(1-2):35-38. [French]. <https://doi.org/10.1051/jbio/2023021>

343. Rolls ET. The hippocampus, ventromedial prefrontal cortex, and episodic and semantic memory. *Progress in Neurobiology*. 2022 Oct;217:102334. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2022.102334>

344. Fassihi A, Akrami A, Esmaeili V, Diamond ME. Tactile perception and working memory in rats and humans. *Proceedings of National Academy of Sciences*. 2014 Feb;111(6):2331-2336. <https://doi.org/10.1073/pnas.1315171111>

345. Glikmann-Johnston Y, Fink KD, Deng P, Torrest A, Stout JC. Spatial memory in Huntington's disease: A comparative review of human and animal data. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2019;98:194-207. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.01.015>

346. Peris LR, Scheuber MI, Shan H, Braun M, Schwab ME. Barnes maze test for spatial memory: A new, sensitive scoring system for mouse search strategies. *Behavioural Brain Research*. 2024 Feb;458:114730. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2023.114730>

347. Kozlova YuV, Maslak HS, Abraimova OE, Koldunov VV, Khudyakov OE. State of spatial memory and antioxidant system activity of rats in the dynamics of development of Blast-induced traumatic brain injury. *Медичні*

Перспективи. 2022;27(3):27-32. [in English]. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.3.265769>

348. Козлова ЮВ, Козлов СВ. XII Всеукр. наук.-практ. конф. Стан просторової пам'яті щурів у гострому та ранньому періодах легкої баротравми головного мозку. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», присвяченої Ювілейним датам засновників кафедри патофізіології ТДМІ 110-річчю проф. Бергера Е.Н. і 90-річчю проф. Маркової О.О., 29–30 жовтня 2020 р. Тернопіль, 2020:55-56. Доступно з: <https://www.researchgate.net/profile/Yuliia-Kozlova>

349. Сбітнєв ІВ, Логвінова ТО, Козлова ЮВ. Всеукр. студ. наук.-практ. конф. Стан просторової пам'яті щурів у гострому та ранньому періодах легкої вибухо-індукованої нейротравми. Теоретичні та прикладні аспекти фундаментальних медико-біологічних наук, 20 травня 2021 р. Львів : Вид-во Львівської політехніки, 2021:156-158. Доступно з: <https://www.researchgate.net/profile/Yuliia-Kozlova>

350. Ghofrani-Jahromi Z, Nouri-Darehno S, Rahimi-Danesh M, Talaee N, Jasemi E, Razmi A, et al. Psilocybe cubensis extract potently prevents fear memory recall and freezing behavior in short- but not long-term in a rat model of posttraumatic stress disorder. Behavioral Neuroscience. 2024 Apr;138(2):73-84. <https://doi.org/10.1037/bne0000579>

351. Gawel K, Gibula E, Marszalek-Grabska M, Filarowska J, Kotlinska JH. Assessment of spatial learning and memory in the Barnes maze task in rodents- methodological consideration. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology. 2019 Jan;392(1):1-18. <https://doi.org/10.1007/s00210-018-1589-y>

352. Siddiqi SH, Kandala S, Hacker CD, Bouchard H, Leuthardt EC, Corbetta M, Morey RA, et al. Precision functional MRI mapping reveals distinct connectivity patterns for depression associated with traumatic brain injury. Science Translational Medicine. 2023 Jul;15(703):eabn0441. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abn0441>

353. Riedel G, Robinson L, Crouch B. Spatial learning and flexibility in 129S2/SvHsd and C57BL/6J mouse strains using different variants of the Barnes maze. Behavioural Pharmacology. 2018 Dec;29(8):688-700. <https://doi.org/10.1097/fbp.0000000000000433>

354. Kozlova YuV, Trysak NS, Zakharova DO, Kozlova KS. Learning ability and spatial memory status in rats during the acute period of mild blast-induced traumatic brain injury. Експериментальна і Клінічна Медицина. 2023;92(1):6-12. [in English]. <https://doi.org/10.35339/ekm.2023.92.1.ktz>.

355. Козлова ЮВ. Рухова активність щурів із вибухо-індукованою травмою головного мозку в Ж-подібному лабіринті. Буковинський Медичний Вісник. 2024;28(1,109):35-40. <https://doi.org/10.24061/2413-0737.28.1.109.2024.6>

356. Козлова ЮВ, Колдунов ВВ, Клопоцький ГА. Наук.-практ. конф. Вплив вибухо-індукованої травми головного мозку на здатність до навчання в Ж-подібному лабіринті. XXII читання ім. В.В. Підвисоцького, 18–19 травня 2023 р. Одеса : УкрНДІ медицини транспорту, 2023:89-90. Доступно з: <https://www.researchgate.net/profile/Yuliia-Kozlova>

357. Hayashi T, Sato N. Contribution of the retrosplenial cortex to route selection in a complex maze. Neuroscience Research. 2023;1:S0168-0102(23)00206-7. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2023.11.011>

358. Hosgorler F, Koc B, Kizildag S, Canpolat S, Argon A, Karakilic A, et al. Magnesium acetyl taurate prevents tissue damage and deterioration of prosocial behavior related with vasopressin levels in traumatic brain injured rats. Turkish Neurosurgery. 2020;30(5):723-733. <https://doi.org/10.5137/1019-5149.jtn.29272-20.1>

359. Ramos JMJ. Rapid decay of spatial memory acquired in rats with ventral hippocampus lesions. Behavioural Brain Research. 2022 Aug;431:113962. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2022.113962>

360. Mallas EJ, Gorgoraptis N, Dautricourt S, Pertzov Y, Scott G, Sharp DJ. Pathological slow-wave activity and impaired working memory binding in post-traumatic amnesia. *Journal of Neuroscience*. 2022 Dec;42(49):9193-9210. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.0564-22.2022>

361. Kozlova YuV, Kozlova KS. The impact of blast-induced traumatic brain injury on passive avoidance response. *Клінічна Анатомія та Оперативна Хірургія*. 2022;21(1,77):15-19. [in English]. <https://doi.org/10.24061/1727-0847.21.1.2022.03>

362. Liu C, Todorova R, Tang W, Oliva A, Fernandez-Ruiz A. Associative and predictive hippocampal codes support memory-guided behaviors. *Science*. 2023 Oct;382(6668):ead8237. <https://doi.org/10.1126/science.adi8237>

363. De Zeeuw CI, Lisberger SG, Raymond JL. Diversity and dynamism in the cerebellum. *Nature Neuroscience*. 2021 Feb;24(2):160-167. <https://doi.org/10.1038/s41593-020-00754-9>

364. Qu W, Suazo KF, Liu W, Cheng S, Jeong A, Hottman D, et al. Neuronal protein farnesylation regulates hippocampal synaptic plasticity and cognitive function. *Molecular Neurobiology*. 2021 Mar;58(3):1128-1144. <https://doi.org/10.1007/s12035-020-02169-w>

365. Leão LKR, Bittencourt LO, Oliveira AC, Nascimento PC, Miranda GHN, Ferreira RO, et al. Long-term lead exposure since adolescence causes proteomic and morphological alterations in the cerebellum associated with motor deficits in adult rats. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020 May;21(10):3571. <https://doi.org/10.3390/ijms21103571>

366. Gao FJ, Klinedinst D, Fernandez FX, Cheng B, Savonenko A, Devenney B, et al. Forebrain Shh overexpression improves cognitive function and locomotor hyperactivity in an aneuploid mouse model of Down syndrome and its euploid littermates. *Acta Neuropathologica Communications*. 2021 Aug;9(1):137. <https://doi.org/10.1186/s40478-021-01237-z>

367. Lutsenko S, Washington-Hughes C, Ralle M, Schmidt K. Copper and the brain noradrenergic system. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*. 2019 Dec;24(8):1179-1188. <https://doi.org/10.1007/s00775-019-01737-3>

368. Timón-Gómez A, Nývltová E, Abriata LA, Vila AJ, Hosler J, Barrientos A. Mitochondrial cytochrome c oxidase biogenesis: Recent developments. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. 2018 Apr;76:163-178. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2017.08.055>

369. Auclair JR, Johnson JL, Liu Q, Salisbury JP, Rotunno MS, Petsko GA, et al. Post-translational modification by cysteine protects Cu/Zn-superoxide dismutase from oxidative damage. *Biochemistry*. 2013 Sep;52(36):6137-44. <https://doi.org/10.1021/bi4006122>

370. Klinman JP. The copper-enzyme family of dopamine beta-monooxygenase and peptidylglycine alpha-hydroxylating monooxygenase: resolving the chemical pathway for substrate hydroxylation. *Journal of Biological Chemistry*. 2006 Feb;281(6):3013-6. <https://doi.org/10.1074/jbc.r500011200>

371. Gromadzka G, Tarnacka B, Flaga A, Adamczyk A. Copper dyshomeostasis in neurodegenerative diseases-therapeutic implications. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020;21(23):9259. <https://doi.org/10.3390/ijms21239259>

372. Xu J, He K, Zhang K, Yang C, Nie L, Dan D, et al. Low-dose copper exposure exacerbates depression-like behavior in ApoE4 transgenic mice. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2021 Mar;2021:6634181. <https://doi.org/10.1155/2021/6634181>

373. Galaris D, Barbouti A, Pantopoulos K. Iron homeostasis and oxidative stress: An intimate relationship. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*. 2019 Dec;1866(12):118535. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2019.118535>

374. Berthou C, Iliou JP, Barba D. Iron, neuro-bioavailability and depression. *Haematology Journal*. 2021 Dec;3(1):263-275. <https://doi.org/10.1002/jha2.321>
375. Thirupathi A, Chang YZ. Brain iron metabolism and CNS diseases. *Advances in experimental Medicine and Biology*. 2019;1173:1-19. https://doi.org/10.1007/978-981-13-9589-5_1
376. Baringer SL, Simpson IA, Connor JR. Brain iron acquisition: An overview of homeostatic regulation and disease dysregulation. *Journal of Neurochemistry*. 2023 Jun;165(5):625-642. <https://doi.org/10.1111/jnc.15819>
377. Depp C, Sun T, Sasmita AO, Spieth L, Berghoff SA, Nazarenko T, et al. Myelin dysfunction drives amyloid- β deposition in models of Alzheimer's disease. *Nature*. 2023 Jun;618(7964):349-357. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06120-6>
378. Cobley JN, Fiorello ML, Bailey DM. 13 reasons why the brain is susceptible to oxidative stress. *Redox Biology*. 2018;15:490-503. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.01.008>
379. Rand D, Ravid O, Atrakchi D, Israelov H, Bresler Y, Shemesh C, et al. Endothelial iron homeostasis regulates blood-brain barrier integrity via the HIF2 α -Ve-cadherin pathway. *Pharmaceutics*. 2021;13(3):311. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13030311>
380. Takeda A. Brain function and pathophysiology focused on Zn²⁺ Dynamics. *Yakugaku Zasshi*. 2022;142(8):855-866. [Japanese]. <https://doi.org/10.1248/yakushi.22-00074>
381. Frederickson CJ, Suh SW, Silva D, Frederickson CJ, Thompson RB. Importance of zinc in the central nervous system: the zinc-containing neuron. *The Journal of Nutrition*. 2000 May;130(5S Suppl):1471S-83S. <https://doi.org/10.1093/jn/130.5.1471s>
382. Raj K, Kaur P, Gupta GD, Singh S. Metals associated neurodegeneration in Parkinson's disease: Insight to physiological, pathological

mechanisms and management. *Neuroscience Letters*. 2021 May;753:135873. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2021.135873>

383. Wandt VK, Winkelbeiner N, Bornhorst J, Witt B, Raschke S, Simon L, Ebert F, et al. A matter of concern - Trace element dyshomeostasis and genomic stability in neurons. *Redox Biology*. 2021 May;41:101877. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.101877>

384. Cilliers K, Muller CJF. Effect of human immunodeficiency virus on trace elements in the brain. *Biological Trace Element Research*. 2021 Jan;199(1):41-52. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02129-4>

385. Zhang J, Li X, Shen L, Khan NU, Zhang X, Chen L, et al. Trace elements in children with autism spectrum disorder: A meta-analysis based on case-control studies. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2021 Sep;67:126782. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2021.126782>

386. Kumar V, Kumar A, Singh K, Avasthi K, Kim JJ. Neurobiology of zinc and its role in neurogenesis. *European Journal of Nutrition*. 2021 Feb;60(1):55-64. <https://doi.org/10.1007/s00394-020-02454-3>

387. Gottesman N, Asraf H, Bogdanovic M, Sekler I, Tzounopoulos T, Aizenman E, et al. ZnT1 is a neuronal Zn²⁺/Ca²⁺ exchanger. *Cell Calcium*. 2022 Jan;101:102505. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2021.102505>

388. Goldberg JM, Lippard SJ. Mobile zinc as a modulator of sensory perception. *FEBS Letters | Experimental & Molecular Biology Journal*. 2023 Jan;597(1):151-165. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.14544>

389. Takeda A, Tamano H. The impact of synaptic Zn²⁺ dynamics on cognition and its decline. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017 Nov;18(11):2411. <https://doi.org/10.3390/ijms18112411>

390. Sikora J, Di Bisceglie Caballero S, Reiss D, Kieffer BL, Paoletti P, Jacob PY, et al. Zn²⁺ inhibits spatial memory and hippocampal place cell representation through high-affinity binding to the NMDA receptor GluN2A

subunit. iScience. 2022 Oct;25(11):105355.
<https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.105355>

391. McAllister BB, Pochakom A, Fu S, Dyck RH. Effects of social defeat stress and fluoxetine treatment on neurogenesis and behavior in mice that lack zinc transporter 3 (ZnT3) and vesicular zinc. *Hippocampus*. 2020 Jun;30(6):623-637.
<https://doi.org/10.1002/hipo.23185>

392. Lee HJ, Lee YG, Kang J, Yang SH, Kim JH, Ghisaidoobe ABT, et al. Monitoring metal-amyloid- β complexation by a FRET-based probe: design, detection, and inhibitor screening. *Chemical Science*. 2018 Dec;10(4):1000-1007.
<https://doi.org/10.1039/c9sc90118c>

393. Salim S. Oxidative stress and the central nervous system. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2017;360(1):201-205.
<https://doi.org/10.1124/jpet.116.237503>

394. Oh SK, Park HJ, Yu GG, Jeong SH, Lee SW, Kim H. Secondary hypoxic ischemia alters neurobehavioral outcomes, neuroinflammation, and oxidative stress in mice exposed to controlled cortical impact. *Clinical and Experimental Emergency Medicine*. 2021 Sep;8(3):216-228.
<https://doi.org/10.15441/ceem.20.124>

395. Niu X, Zheng S, Liu H, Li S. Protective effects of taurine against inflammation, apoptosis, and oxidative stress in brain injury. *Molecular Medicine Reports*. 2018;18(5):4516-4522. <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.9465>

396. Valko M, Jomova K, Rhodes CJ, Kuča K, Musílek K. Redox- and non-redox-metal-induced formation of free radicals and their role in human disease. *Archives of Toxicology*. 2016 Jan;90(1):1-37. <https://doi.org/10.1007/s00204-015-1579-5>

397. Галець АА, Козлова ЮВ. XXI конф. студ. та мол. учених. Вплив оксидативного стресу на нервову систему. Новини і перспективи медичної науки. Дніпро, 2021:57. Доступно з: <https://repo.dma.dp.ua/7075/>

398. Kozlova YuV, Kozlova KS. Наук.-практ. конф. Catalase activity of rats in the 1 week of blast-induced traumatic brain injury. XXI читання ім. В.В. Підвисоцького, 23-24 червня 2022 р. Одеса : УкрНДІ медицини транспорту, 2022:7-8. [in English]. Доступно з: <https://www.researchgate.net/profile/Yuliia-Kozlova>

399. Козлова ЮВ, Маслак ГС, Нетроніна ОВ, Абраїмова ОЄ. Міжнарод. конф. з нейронаук та Наукових читань, присвячених вісцеральній фізіології та патофізіології. Глутатіонредуктаза - маркер оксидативного стресу при вибухо-індукованій травмі головного мозку, 19-21 листопада 2024 р. Київ : ВД «Академперіодика» НАН України, 2024:46-47. Доступно з: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://fz.kiev.ua/journals/2024_V.70/5S/Fzh-5S_2024.pdf

400. Kozlova YuV, Maslak YS, Netronina OV, Abraimova OYe, Kozlov SV. The state of antioxidant system end emotional status in rats with mild blast-induced traumatic brain injury. Запорізький Медичний Журнал. 2024;26(1):53-58. [in English]. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2024.1.291777>

401. Reyhani A, McKenzie TG, Fu Q, Qiao GG. Fenton-chemistry-mediated radical polymerization. Macromolecular Rapid Communications. 2019 Sep;40(18):e1900220. <https://doi.org/10.1002/marc.201900220>

402. Wang J, Fröhlich H, Torres FB, Silva RL, Poschet G, Agarwal A, et al. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress contribute to cognitive and motor impairment in FOXP1 syndrome. The Proceeding of the National Academy of Sciences. 2022;119(8):e2112852119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2112852119>

403. Closa D, Folch-Puy E. Oxygen free radicals and the systemic inflammatory response. IUBMB Life. 2004 Apr;56(4):185-91. <https://doi.org/10.1080/15216540410001701642>

404. Hayes SH, Liu Q, Selvakumaran S, Haney MJ, Batrakova EV, Allman BL, et al. Brain targeting and toxicological assessment of the extracellular vesicle-

packaged antioxidant catalase-SKL following intranasal administration in mice. *Neurotoxicity Research*. 2021;39(5):1418-1429. <https://doi.org/10.1007/s12640-021-00390-6>

405. Xu J, Zhu C, Jin P, Sun W, Yu E. Agomelatine prevented depression in the chronic restraint stress model through enhanced catalase activity and halted oxidative stress. *PLoS One*. 2024;19(2):e0289248. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0289248>

406. Alsanie WF, Alamri AS, Abdulaziz O, Salih MM, Alamri A, Asdaq SMB, et al. Antidepressant effect of crocin in mice with chronic mild stress. *Molecules*. 2022;27(17):5462. <https://doi.org/10.3390/molecules27175462>

407. Okwuofu EO, Ogundepo GE, Akhigbemen AM, Abiola AL, Ozolua RI, Igbe I, et al. Creatine attenuates seizure severity, anxiety and depressive-like behaviors in pentylenetetrazole kindled mice. *Metabolic Brain Disease*. 2021 Apr;36(4):571-579. <https://doi.org/10.1007/s11011-021-00684-w>

408. Averill-Bates DA. The antioxidant glutathione. *Vitamins and Hormones*. 2023;121:109-141. <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2022.09.002>

409. Chakraborty S, Sircar E, Bhattacharyya C, Choudhuri A, Mishra A, Dutta S, et al. S-Denitrosylation: a crosstalk between glutathione and redoxin systems. *Antioxidants (Basel)*. 2022 Sep;11(10):1921. <https://doi.org/10.3390/antiox11101921>

410. Dos Santos PF, Moreira DS, Baba EH, Volpe CMO, Ruiz JC, Romanha AJ, et al. Molecular characterization of lipoamide dehydrogenase gene in *Trypanosoma cruzi* populations susceptible and resistant to benznidazole. *Experimental Parasitology*. 2016 Nov;170:1-9. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2016.08.006>

411. Yi L, Luo M, Wang M, Dong Z, Du Y. Fangchinoline alleviates cognitive impairments through enhancing autophagy and mitigating oxidative stress in Alzheimer's disease models. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2023 Dec;11:1288506. <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1288506>

412. Kipp AP. Selenium-dependent glutathione peroxidases during tumor development. *Advances in Cancer Research*. 2017;136:109-138. <https://doi.org/10.1016/bs.acr.2017.07.004>
413. Colucci-D'Amato L, Speranza L, Volpicelli F. Neurotrophic factor BDNF, physiological functions and therapeutic potential in depression, neurodegeneration and brain cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020 Oct;21(20):7777. <https://doi.org/10.3390/ijms21207777>
414. Wang Y, Liang J, Xu B, Yang J, Wu Z, Cheng L. TrkB/BDNF signaling pathway and its small molecular agonists in CNS injury. *Life Sciences*. 2024 Jan;336:122282. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2023.122282>
415. Brigadski T, Leßmann V. The physiology of regulated BDNF release. *Cell and Tissue Research*. 2020 Oct;382(1):15-45. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2023.122282>
416. Albin M, Krawczun-Rygmaczewska A, Cesca F. Astrocytes and brain-derived neurotrophic factor (BDNF). *Neuroscience Research*. 2023 Dec;197:42-51. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2023.02.001>
417. Kowiański P, Lietzau G, Czuba E, Waśkow M, Steliga A, Moryś J. BDNF: a key factor with multipotent impact on brain signaling and synaptic plasticity. *Cellular and Molecular Neurobiology*. 2018 Apr;38(3):579-593. <https://doi.org/10.1007/s10571-017-0510-4>
418. Failla MD, Wagner AK. Models of posttraumatic brain injury neurorehabilitation. in: kobeissy fh, editor. *brain neurotrauma: molecular, neuropsychological, and rehabilitation aspects*. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis; 2015. Chapter 35. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK299220/>
419. Thapak P, Smith G, Ying Z, Paydar A, Harris N, Gomez-Pinilla F. The BDNF mimetic R-13 attenuates TBI pathogenesis using TrkB-related pathways and bioenergetics. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*. 2023 Oct;1869(7):166781. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2024.167217>

420. Merighi A. Brain-derived neurotrophic factor, nociception, and pain. *Biomolecules*. 2024 Apr;14(5):539. <https://doi.org/10.3390/biom14050539>

421. Махонько КЄ, Козлова ЮВ. ХХІ конф. студ. та мол. учених. Особливості ушкодження головного мозку в залежності від напрямку дії вибухової хвилі. Новини і перспективи медичної науки. Дніпро, 2021:65.

Доступно

3:

<https://drive.google.com/file/d/1attk8qlH3nfVqusHUNyb8VfKBwdPvlaM/view>

ДОДАТОК А1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
Вінницького національного медичного університету
ім. М.І. Пирогова,
д. мед. н., професор

Інна АНДРУШКО

20 25 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції:** функціональні, гістопатологічні, та мікроелементні зміни головного мозку щурів з легкою вибухо-індукованою травмою.
2. **Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса:** Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, вул. В. Вернадського, 9. Доцент кафедри патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології Козлова Ю. В.
3. **Джерело інформації:**
 1. Kozlova Yu. V., Kozlov S. V. Changes of trace elements in cerebellum and their influence on the rats behavior in elevated plus maze in the acute period of mild blast-induced brain injury. *Journal of trace elements in medicine and biology*. 2023. Vol. 78. 127189. P. 1–6. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2023.127189>.
 2. Kozlova Yu. V. Trace elements changes in forebrain and their influence on the rats behavior in elevated plus maze in acute period of mild blast traumatic brain injury. *Medicni perspektivi*. 2023;28(2):10-20. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2023.2.283151>.
 3. Kozlova Yu. V., Kozlov S. V., Maslak H. S., Bondarenko O. O., Dunaev O. V., Oberemok M. H. Changes of rat's brain vessels after air shock wave exposure *Вісник морфології*. 2024; 30 (1). 55-60. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(1\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(1)-07).
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра патологічної фізіології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.
5. **Форма впровадження:** використовується під час освітнього процесу з дисципліни «Патологічна фізіологія».
6. **Ефективність впровадження:** підвищення якості знань здобувачів з питань особливостей патогенного впливу фізичних факторів, а саме патогенезу вибухової травми головного мозку.
7. **Зауваження та пропозиції.** Не виносилися. Обговорено на кафедрі патологічної фізіології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, протокол № 6 від 7 лютого 2025 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної фізіології
ВНМУ, к. мед. н., доцент



Вікторія ПІЛПОНОВА

ДОДАТОК А2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з науково-педагогічної роботи
Одеського національного медичного університету,
Едуард БУРЯЧКІВСЬКИЙ
« 3 » жовтня 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції:** функціональні, гістопатологічні, та мікроелементні зміни головного мозку щурів з легкою вибухо-індукованою травмою.
2. **Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса:** Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, вул. В. Вернадського, 9. Доцент Козлова Ю.В.
3. **Джерело інформації:**
 1. Kozlova Yu. V., Kozlov S. V. Changes of trace elements in cerebellum and their influence on the rats behavior in elevated plus maze in the acute period of mild blast-induced brain injury. *Journal of trace elements in medicine and biology*. 2023. Vol. 78. 127189. P. 1–6. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2023.127189>.
 2. Kozlova Yu.V. Trace elements changes in forebrain and their influence on the rats behavior in elevated plus maze in acute period of mild blast traumatic brain injury. *Medicni perspektivi*. 2023;28(2):10-20. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2023.2.283151>.
 3. Kozlova Yu. V., Kozlov S. V., Maslak H. S., Bondarenko O. O., Dunaev O. V., Oberemok M. H. Changes of rat's brain vessels after air shock wave exposure *Вісник морфології*. 2024; 30 (1). 55-60. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(1\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(1)-07).
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра загальної та клінічної патологічної фізіології Одеського національного медичного університету МОЗ України.
5. **Форма впровадження:** використовується під час освітнього процесу з дисциплін «Патологічна фізіологія».
6. **Ефективність впровадження:** підвищення якості знань здобувачів з питань особливостей патогенного впливу фізичних факторів, а саме патогенезу вибухової травми головного мозку.
7. **Зауваження та пропозиції.** Не виносилися. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології Одеського національного медичного університету, протокол №3 від 04 жовтня 2024 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри загальної та клінічної
патологічної фізіології Одеського національного
медичного університету МОЗ України,
Заслужений діяч науки і техніки України
д.мед.н., професор



Руслан ВАСТЬЯНОВ

ДОДАТОК АЗ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Проректор з наукової роботи та інновацій
 Національного медичного університету
 імені О.О. Богомольця,
 д. мед. н., професор

Сергій ЗЕМСКОВ

«19 лютого» 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Назва пропозиції:** функціональні, гістопатологічні, та мікроелементні зміни головного мозку щурів з легкою вибухо-індукованою травмою.
- 2. Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса:** Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, вул.В.Вернадського,9. Доцент Козлова Ю.В.
- 3. Джерело інформації:**
 1. Kozlova Yu. V., Kozlov S. V. Changes of trace elements in cerebellum and their influence on the rats behavior in elevated plus maze in the acute period of mild blast-induced brain injury. *Journal of trace elements in medicine and biology*. 2023. Vol. 78. 127189. P. 1–6. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2023.127189>.
 2. Kozlova Yu.V. Trace elements changes in forebrain and their influence on the rats behavior in elevated plus maze in acute period of mild blast traumatic brain injury. *Medicni perspektivi*. 2023;28(2):10-20. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2023.2.283151>.
 3. Kozlova Yu. V., Kozlov S. V., Maslak H. S., Bondarenko O. O., Dunaev O. V., Oberemok M. H. Changes of rat's brain vessels after air shock wave exposure *Вісник морфології*. 2024; 30 (1). 55-60. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(1\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(1)-07).
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра патофізіології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.
- 5. Форма впровадження:** використовується під час освітнього процесу з дисципліни «Патологічна фізіологія» за темами «Патофізіологія нервової системи», «Порушення обміну речовин», «Патофізіологія термінальних станів».
- 6. Ефективність впровадження:** підвищення якості знань здобувачів з питань особливостей патогенного впливу фізичних факторів, а саме патогенезу вибухової травми головного мозку.
- 7. Зауваження та пропозиції.** Не виносилися. Обговорено на засіданні кафедри патофізіології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, протокол № 19 від «06» лютого 2025 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патофізіології НМУ
 імені О.О. Богомольця, д. мед. н., проф.

Сергій ЗЯБЛИЦЕВ

ДОДАТОК А4

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти з науково-педагогічної роботи Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України,
д. мед. н., професор

Аркадій ШУЛЬГАЙ

« 20 » грудня 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції: функціональні, гістопатологічні, та мікроелементні зміни головного мозку щурів з легкою вибухо-індукованою травмою.

2. Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса: Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, вул. В. Вернадського, 9. Доцент Козлова Ю.В.

3. Джерело інформації:

1. Kozlova Yu. V., Kozlov S. V. Changes of trace elements in cerebellum and their influence on the rats behavior in elevated plus maze in the acute period of mild blast-induced brain injury. *Journal of trace elements in medicine and biology*. 2023. Vol. 78. 127189. P. 1–6. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2023.127189>.
2. Kozlova Yu. V. Trace elements changes in forebrain and their influence on the rats behavior in elevated plus maze in acute period of mild blast traumatic brain injury. *Medicni perspektivi*. 2023;28(2):10-20. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2023.2.283151>.
3. Kozlova Yu. V., Kozlov S. V., Maslak H. S., Bondarenko O. O., Dunaev O. V., Oberemok M. H. Changes of rat's brain vessels after air shock wave exposure *Вісник морфології*. 2024; 30 (1). 55-60. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(1\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(1)-07).

4. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра патологічної фізіології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України.

5. Термін впровадження: травень - листопад 2024 року.

6. Форма впровадження: використовується під час освітнього процесу з дисципліни «Патологія», «Патофізіологія невідкладних станів».

7. Ефективність впровадження: підвищення якості знань здобувачів вищої освіти з питань особливостей патогенного впливу фізичних факторів, а саме патогенезу вибухової травми головного мозку.

8. Зауваження та пропозиції. Не виносилися. Обговорено на кафедрі патологічної фізіології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського, протокол № 11 від 19 грудня 2024 р.

Відповідальна за впровадження:

Завідувачка кафедри патологічної фізіології
Тернопільського національного медичного
університету Імені І.Я. Горбачевського
Міністерства охорони здоров'я України,
д. мед. н., професорка

Ольга ДЕНЕФІЛЬ

ДОДАТОК А5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Проректор закладу вищої освіти з науково-педагогічної роботи
Запорізького державного медико-фармацевтичного
університету, д.мед.н., проф.

Вадим ВІЗІР

» грудень 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції: функціональні, гістопатологічні, та мікроелементні зміни головного мозку щурів з легкою вибухо-індукованою травмою.

2. Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса: Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, вул.В.Вернадського,9. Доцент Козлова Ю.В.

3. Джерело інформації:

1. Kozlova Yu. V., Kozlov S. V. Changes of trace elements in cerebellum and their influence on the rats behavior in elevated plus maze in the acute period of mild blast-induced brain injury. *Journal of trace elements in medicine and biology*. 2023. Vol. 78. 127189. P. 1–6. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2023.127189>.
2. Kozlova Yu.V. Trace elements changes in forebrain and their influence on the rats behavior in elevated plus maze in acute period of mild blast traumatic brain injury. *Medicni perspektivi*. 2023;28(2):10-20. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2023.2.283151>.
3. Kozlova Yu. V., Kozlov S. V., Maslak H. S., Bondarenko O. O., Dunaev O. V., Oberemok M. H. Changes of rat's brain vessels after air shock wave exposure *Вісник морфології*. 2024; 30 (1). 55-60. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(1\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(1)-07).

4. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.

5. Форма впровадження: використовується під час освітнього процесу з дисципліни «Патологічна фізіологія».

6. Ефективність впровадження: підвищення якості знань здобувачів з питань особливостей патогенного впливу фізичних факторів, а саме патогенезу вибухової травми головного мозку.

7. Зауваження та пропозиції. Не виносилися. Обговорено на кафедрі патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету, протокол № 8 від 05 грудня 2024 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної фізіології
з курсом нормальної фізіології ЗДМФУ,
д. мед. н., професор

Ольга ГАНЧЕВА

ДОДАТОК А6

ЗАТВЕРДЖУЮ
 Перший проректор з науково-педагогічної роботи
 Львівського національного медичного університету
 імені Данила Галицького
 к.біол.н., доцентка Ірина СОЛОНИНКО

« 9 » * 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції:** функціональні, гістопатологічні, та мікроелементні зміни головного мозку щурів з легкою вибухо-індукованою травмою.
2. **Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса:** Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, вул.В.Вернадського,9. Доцент Козлова Ю.В.
3. **Джерело інформації:**
 1. Kozlova Yu. V., Kozlov S. V. Changes of trace elements in cerebellum and their influence on the rats behavior in elevated plus maze in the acute period of mild blast-induced brain injury. *Journal of trace elements in medicine and biology*. 2023. Vol. 78. 127189. P. 1–6. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2023.127189>.
 2. Kozlova Yu. V. Trace elements changes in forebrain and their influence on the rats behavior in elevated plus maze in acute period of mild blast traumatic brain injury. *Medicni perspektivi*. 2023;28(2):10-20. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2023.2.283151>.
 3. Kozlova Yu. V., Kozlov S. V., Maslak H. S., Bondarenko O. O., Dunaev O. V., Oberemok M. H. Changes of rat's brain vessels after air shock wave exposure *Вісник морфології*. 2024; 30 (1). 55-60. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(1\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(1)-07).
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра патологічної фізіології Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького.
5. **Термін впровадження:** січень-лютий 2025 року.
6. **Форма впровадження:** використовується під час освітнього процесу з дисципліни «Патологічна фізіологія».
7. **Ефективність впровадження:** підвищення якості знань здобувачів з питань особливостей патогенного впливу фізичних факторів, а саме вибухової хвилі на головний мозок.
7. **Зауваження та пропозиції.** Не виносилися. Обговорено на засіданні кафедри патологічної фізіології Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького, протокол № 5 від 9 01 2025р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної фізіології
 Львівського національного медичного
 університету ім. Данила Галицького,
 доктор медичних наук, професор



Михайло РЕГЕДА

ДОДАТОК А7

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи Дніпровського
державного медичного університету,
д. мед. н., професор

Олександр ГУДАР'ЯН

« 24 » 06 20 25 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Назва пропозиції:** функціональні, гістопатологічні, та мікроелементні зміни головного мозку щурів з легкою вибухо-індукованою травмою.
- 2. Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса:** Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, вул.В.Вернадського,9. Доцент Козлова Ю.В.
- 3. Джерело інформації:**
 1. Kozlova Yu. V., Kozlov S. V. Changes of trace elements in cerebellum and their influence on the rats behavior in elevated plus maze in the acute period of mild blast-induced brain injury. *Journal of trace elements in medicine and biology*. 2023. Vol. 78. 127189. P. 1–6. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2023.127189>.
 2. Kozlova Yu.V. Trace elements changes in forebrain and their influence on the rats behavior in elevated plus maze in acute period of mild blast traumatic brain injury. *Medicni perspektivi*. 2023;28(2):10-20. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2023.2.283151>.
 3. Kozlova Yu. V., Kozlov S. V., Maslak H. S., Bondarenko O. O., Dunaev O. V., Oberemok M. H. Changes of rat's brain vessels after air shock wave exposure *Вісник морфології*. 2024; 30 (1). 55-60. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(1\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(1)-07).
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології Дніпровського державного медичного університету.
- 5. Форма впровадження:** використовується під час освітнього процесу з дисципліни «Патологічна анатомія».
- 6. Ефективність впровадження:** підвищення якості знань здобувачів з питань особливостей патоморфології головного мозку, в тому числі при вибухо-індукованій травмі головного мозку.
- 7. Зауваження та пропозиції.** Не виносилися. Обговорено на кафедрі патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології Дніпровського державного медичного університету, протокол №18 від 27 червня 2024 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувачка кафедри патологічної
анатомії, судової медицини та
патологічної фізіології ДДМУ,
д. мед. н., професор

Олександра ПОСЛАВСЬКА

ДОДАТОК А8

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
закладу вищої освіти

Буковинського державного

медичного університету

доц.

Володимир ХОДОРОВСЬКИЙ

« 25 »

2025 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Функціональні, гістопатологічні, ультраструктурні, біохімічні та мікроелементні зміни головного мозку щурів з легкою вибухо-індукованою травмою головного мозку.
2. **Ким запропонована, адреса, виконавець:** Дніпровський державний медичний університет (м. Дніпро, вул. В. Вернадського, 9), доцент Козлова Ю.В.
3. **Джерела інформації:**
 - 1) Kozlova Yu. V., Kozlov S. V. Changes of trace elements in cerebellum and their influence on the rats behavior in elevated plus maze in the acute period of mild blast-induced brain injury. *Journal of trace elements in medicine and biology*. 2023. Vol. 78. 127189. P. 1–6. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2023.127189>.
 - 2) Kozlova Yu. V. Trace elements changes in forebrain and their influence on the rats behavior in elevated plus maze in acute period of mild blast traumatic brain injury. *Medicni perspektivi*. 2023;28(2):10-20. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2023.2.283151>.
 - 3) Kozlova Yu. V., Kozlov S. V., Maslak H. S., Bondarenko O. O., Dunaev O. V., Oberemok M. H. Changes of rat's brain vessels after air shock wave exposure *Вісник морфології*. 2024; 30 (1). 55-60. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(1\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(1)-07).
4. **Впроваджено:** кафедра патологічної фізіології Буковинського державного медичного університету.
5. **Термін впровадження:** 2024-2025 навчальний рік.
6. **Форма впровадження:** У навчальний процес кафедри – лекційний курс та практичні заняття при розгляді тем з патологічної фізіології.
7. **Ефективність впровадження:** підвищення якості знань студентів з питань особливостей патогенного впливу фізичних факторів, а саме патогенезу вибухової травми головного мозку.

Відповідальний за впровадження:Завідувач кафедри патологічної фізіології
Буковинського державного медичного
університету, д.мед.н., проф.

Юрій РОГОВИЙ

ДОДАТОК А9

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи Дніпровського
державного медичного університету,
д. мед. н., професор

Олександр ГУДАР'ЯН

« 04 » 10 2025 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції:** функціональні, гістопатологічні, та мікроелементні зміни головного мозку щурів з легкою вибухо-індукованою травмою.
2. **Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса:** Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, вул.В.Вернадського,9. Доцент Козлова Ю.В.
3. **Джерело інформації:**
 1. Kozlova Yu. V., Kozlov S. V. Changes of trace elements in cerebellum and their influence on the rats behavior in elevated plus maze in the acute period of mild blast-induced brain injury. *Journal of trace elements in medicine and biology*. 2023. Vol. 78. 127189. P. 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2023.127189>.
 2. Kozlova Yu.V. Trace elements changes in forebrain and their influence on the rats behavior in elevated plus maze in acute period of mild blast traumatic brain injury. *Medicni perspektivi*. 2023;28(2):10-20. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2023.2.283151>.
 3. Kozlova Yu. V., Kozlov S. V., Maslak H. S., Bondarenko O. O., Dunaev O. V., Oberemok M. H. Changes of rat's brain vessels after air shock wave exposure *Вісник морфології*. 2024; 30 (1). 55-60. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(1\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(1)-07).
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра фізіології Дніпровського державного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** використовується під час освітнього процесу з дисципліни «Фізіологія».
6. **Ефективність впровадження:** підвищення якості знань здобувачів з питань особливостей функціонування головного мозку.
7. **Зауваження та пропозиції.** Не виносилися. Обговорено на засіданні кафедри фізіології Дніпровського державного медичного університету, протокол № 2 від 3 10 2025 р.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри фізіології ДДМУ,
д. мед. н., професор

Олександр РОДИНСЬКИЙ

ДОДАТОК Б

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковано основні наукові результати дисертації:

1. Козлов СВ, Мішалов ВД, Сулоєв КМ, Козлова ЮВ. Патоморфологічні маркери вибухо-індукованої травми головного мозку. Морфологія. 2021;15(3):96–100. <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2021.3.96-100>

(Козлова Ю.В. аналіз літератури, аналіз та узагальнення результатів, редагування та підготовка до друку, Козлов С.В. написання статті, Мішалов В.Д. аналіз епідеміологічних даних, Сулоєв К.М. аналіз гістологічних препаратів).

2. Козлова ЮВ, Колдунов ВВ, Алексеєнко ОА, Козлова КС, Гончаренко СО. Вибухо-індукована нейротравма (патофізіологічні та патоморфологічні особливості). Український Журнал Медицини, Біології та Спорту. 2021;6(5):83-88. <https://doi.org/10.26693/jmbs06.05.083>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, статистична обробка та аналіз отриманих результатів, написання статті, Колдунов В.В. остаточне затвердження статті, Алексеєнко О.А. аналіз гістологічних препаратів, Козлова К.С. аналіз літератури, Гончаренко С.О. підготовка до друку).

3. Козлова ЮВ, Демченко ОМ, Козлов СВ, Родинський ОГ, Трясак НС. Оцінка компонентів поведінки в піднесеному хрестоподібному лабіринті після дії зовнішніх та внутрішніх чинників. Експериментальна і Клінічна Медицина. 2022;91(1):5-12. <https://doi.org/10.35339/ekm.2022.91.1.kmk>

(Козлова Ю.В. концептуалізація статті, планування та проведення експериментального дослідження у щурів з вибухо-індукованою травмою головного мозку, статистична обробка, аналіз та узагальнення отриманих результатів, аналіз літератури, написання статті, Демченко О.М.

планування та проведення експериментального дослідження у щурів з експериментальним гіпертиреозом, статистична обробка та аналіз отриманих результатів, написання статті, Козлов С.В. остаточне затвердження статті, Родинський О.Г. остаточне затвердження статті, Трясак Н.С. підготовка до друку).

4. Kozlova YuV, Kozlova KS. The impact of blast-induced traumatic brain injury on passive avoidance response. Клінічна Анатомія та Оперативна Хірургія. 2022;21(1,77):15-19. <https://doi.org/10.24061/1727-0847.21.1.2022.03>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, статистична обробка, аналіз та узагальнення отриманих результатів, написання та остаточне затвердження статті, Козлова К.С. аналіз літератури, підготовка статті до друку).

5. Kozlova YuV, Maslak HS, Abraimova OE, Koldunov VV, Khudyakov OE. State of spatial memory and antioxidant system activity of rats in the dynamics of development of Blast-induced traumatic brain injury. Медичні Перспективи. 2022;27(3):27-32. (SCOPUS) <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.3.265769>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, статистична обробка, аналіз та узагальнення отриманих результатів, написання статті, Маслак Г.С. остаточне затвердження статті, Абраїмова О.Є. проведення біохімічного дослідження, Колдунов В.В. редагування статті, Худяков О.Є. аналіз літератури).

6. Kozlova YuV, Tryasak NS, Klopotskyi GA, Kozlova KS. Morphological characteristics of the blood-brain barrier in 1 day of experimental blast-induced traumatic brain injury. Морфологія. 2022;16(3):148-152. <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2022.3.148-152>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, аналіз гістологічних препаратів, узагальнення отриманих результатів, написання статті, Трясак Н.С. редагування статті,

Клопоцький Г.А. остаточне затвердження статті, Козлова К.С. аналіз літератури, підготовка до друку).

7. Kozlova YuV, Tryasak NS, Zakharova DO, Kozlova KS. Learning ability and spatial memory status in rats during the acute period of mild blast-induced traumatic brain injury. *Експериментальна і Клінічна Медицина*. 2023;92(1):6-12. <https://doi.org/10.35339/ekm.2023.92.1.ktz>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, статистична обробка, аналіз та узагальнення отриманих результатів, написання та остаточне затвердження статті, Трясак Н.С. редагування статті, Захарова Д.О. підготовка до друку, Козлова К.С. аналіз літератури).

8. Kozlova YuV, Kozlov SV. Changes of trace elements in cerebellum and their influence on the rats behavior in elevated plus maze in the acute period of mild blast-induced brain injury. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2023;78(127189):1-6. **(SCOPUS)**
<https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2023.127189>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, аналіз літератури, статистична обробка, узагальнення отриманих результатів, написання та підготовка статті до друку, Козлов С.В. Енергодисперсійний рентгенофлуоресцентний аналіз, остаточне затвердження статті).

9. Kozlova YuV. Trace elements changes in forebrain and their influence on the rats behavior in elevated plus maze in acute period of mild blast traumatic brain injury. *Медичні Перспективи*. 2023;28(2):10-20. **(SCOPUS)**
<https://doi.org/10.26641/2307-0404.2023.2.283151>

10. Kozlova YuV, Koldunov VV, Klopotskyi GA. Method and device for shock wave modeling (literature review). *Одеський Медичний Журнал*. 2023;2(183):108-110. **(SCOPUS)** <https://doi.org/10.54229/2226-2008-2023-2-20>

(Козлова Ю.В. відбір, аналіз та узагальнення літератури, написання статті, Колдунов В.В. остаточне затвердження статті, Клопоцький Г.А. підготовка статті до друку).

11 Kozlova YuV. Changes of biometals in the rat forebrain in the early period of blast-induced traumatic brain injury. Актуальні Проблеми Сучасної Медицини: Вісник Української Медичної Стоматологічної Академії. 2023;23(3):94-98. <https://doi.org/10.31718/2077-1096.23.3.94>

12. Козлова ЮВ, Бондаренко МО, Сутирін ДО. Статеві відмінності у поведінці щурів у ранньому періоді легкої вибухо-індукованої травми головного мозку. Перспективи та Інновації Науки. 2024;1(35):946-956. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-16\(34\)](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2023-16(34))

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, статистична обробка, аналіз та узагальнення отриманих результатів, написання статті, Бондаренко М.О. підготовка до друку, Сутирін Д.О. аналіз літератури).

13. Kozlova YuV, Maslak YS, Netronina OV, Abraimova OYe, Kozlov SV. The state of antioxidant system end emotional status in rats with mild blast-induced traumatic brain injury. Запорізький Медичний Журнал. 2024;26(1):53-58. **(WEB OF SCIENCE)** <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2024.1.291777>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, статистична обробка, аналіз та узагальнення отриманих результатів, написання статті, Маслак Г.С. остаточне затвердження статті, Нетроніна О.В. статистична обробка результатів біохімічного дослідження, Абраїмова О.Є. біохімічне дослідження, Козлов С.В. підготовка статті до друку).

14. Kozlova YuV, Kozlov SV, Maslak HS, Bondarenko OO, Dunaev OV, Oberemok MH. Changes of rat`s brain vessels after air shock wave exposure. Вісник Морфології. 2024;30(1):55-60. **(SCOPUS)** [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30\(1\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2024-30(1)-07)

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, аналіз та узагальнення отриманих результатів, написання статті, Козлов С.В. редагування статті, Маслак Г.С. остаточне затвердження статті, Бондаренко О.О. аналіз гістологічних препаратів, Дунаєв О.В. аналіз літератури, підготовка статті до друку, Оберемок М.Г. підготовка гістонпрепаратів головного мозку щурів).

15. Козлова ЮВ. Рухова активність щурів із вибухо-індукованою травмою головного мозку в Ж-подібному лабіринті. Буковинський Медичний Вісник. 2024;28(1,109):35-40. <https://doi.org/10.24061/2413-0737.28.1.109.2024.6>

16. Kozlova YuV. Influence of trace elements changes in cerebellum on rat's behavior in elevated plus maze in the early period of mild blast-induced traumatic brain injury. Патологія. 2024;21(1):28-33. **(WEB OF SCIENCE)** <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2024.1.296887>

17. Козлова ЮВ. Дослідницька діяльність щурів у гострому періоді легкої вибухо-індукованої травми головного мозку. Актуальні Проблеми Сучасної Медицини: Вісник Української Медичної Стоматологічної Академії. 2024;24(1):89-93. <https://doi.org/10.31718/2077-1096.24.1.89>

18. Kozlov SV, Kozlova YuV, Bondarenko NS, Bondarenko OO. Histopathological and ultrastructural changes in the rats brain after air shock wave impact. Медичні Перспективи. 2024;29(1):16-26. **(SCOPUS)** <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2024.1.300497>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, аналіз та узагальнення отриманих результатів, написання та підготовка до друку статті, Козлов С.В. редагування та остаточне затвердження статті, Бондаренко Н.С. проведення електронної мікроскопії, Бондаренко О.О. підготовка гістонпрепаратів головного мозку щурів).

19. Козлова ЮВ, Козлов СВ, Маслак ГС, Нетроніна ОВ, Абраїмова ОЄ. Оцінка експресії MMP2 в структурах головного мозку щурів в динаміці посттравматичного періоду після впливу ударної повітряної хвилі. *Перспективи та Інновації Науки*. 2024;4(38):1293-1302. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-4\(38\)](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-4(38))

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, статистична обробка, аналіз за допомогою програми ImageJ, узагальнення отриманих результатів, написання статті, Козлов С.В. редагування статті, Маслак Г.С. остаточне затвердження статті, Нетроніна О.В. аналіз літератури, Абраїмова О.Є. підготовка статті до друку).

20. Козлова ЮВ, Маслак ГС, Нетроніна ОВ, Абраїмова ОЄ. Експресія BDNF у щурів в динаміці вибухо-індукованої травми головного мозку. *Перспективи та Інновації Науки*. 2024;8(42):1075-1084. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-8\(42\)](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-8(42))

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, статистична обробка, аналіз та узагальнення результатів, написання статті, підготовка до друку, Маслак Г.С. остаточне затвердження статті, Нетроніна О.В. аналіз літератури, Абраїмова О.Є. біохімічне дослідження).

21. Козлова ЮВ, Корзаченко МА, Агарков СФ, Радіонов ВК, Башта ІГ. Механізми первинного і вторинного пошкодження головного мозку в умовах впливу вибухової хвилі (огляд літератури). *Перспективи та Інновації Науки*. 2024;7(41): 1059-1073. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-7\(41\)](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-7(41))

(Козлова Ю.В. відбір, аналіз та узагальнення літератури, написання статті, Корзаченко М.А. остаточне затвердження статті, Агарков С.Ф. оформлення списку літератури, Радіонов В.К. редагування статті, Башта І.Г. підготовка статті до друку).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

22. Козлов СВ, Козлова ЮВ. Наук.-практ. конф. Патоморфологічні маркери дії вибухової хвилі на мозок людини. Прикладні аспекти морфології. 21-22 вересня 2017 р. Вінниця, 2017:96-97. Доступно з: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.vnmu.edu.ua/downloads/pdf/konf_asp_morf_20170426-110013.pdf

(Козлова Ю.В. аналіз літератури, узагальнення результатів, редагування та підготовка тез до публікації, Козлов С.В. затвердження тез).

23. Ніколайчик АМ, Козлова ЮВ. VII Пленум Українського наук. товариства патофізіологів та наук.-практ. конф., присвячених 110-річчю з дня народж. чл.-кор. АМН СРСР, проф. Зайка М.Н. Ударна хвиля як сучасний фактор ураження ЦНС. 11 жовтня 2018 р. Полтава, 2018:64-65. Доступно з: <https://repo.dma.dp.ua/id/eprint/4694>

(Козлова Ю.В. аналіз літератури, узагальнення результатів, затвердження тез, Ніколайчик А.М. написання та підготовка тез до публікації)

24. Сбітнєв ІВ, Козлова КС, Козлова ЮВ, Колдунов ВВ. І наук.-практ. конф. студентів і молодих вчених з міжнар. уч. Зміни емоційного стану щурів у тесті «Відкрите поле» на тлі вибухо-індукованої нейротравми легкого ступеня важкості. Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації, 15 травня 2019 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2019:159-160. Доступно з: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://pat.nuph.edu.ua/pdf/zbirn_t_ez.pdf

(Козлова Ю.В. планування та проведення експерименту, аналіз та узагальнення результатів, написання тез, Сбітнєв І.В. аналіз літератури, Козлова К.С. статистична обробка результатів, Колдунов В.В. затвердження тез).

25. Козлова ЮВ, Козлов СВ, Трясак НС, Кістриця ДВ. Наук.-практ. конф. Спонтанна індивідуальна поведінкова активність щурів у тесті «Відкрите поле» за умов ударно-хвильового ураження головного мозку легкого ступеня важкості. XVIII–і читання В.В. Підвисоцького, 21–22 травня 2019 р. Одеса : УкрНДІ медицини транспорту, 2019:96-97. Доступно з: <https://www.researchgate.net/profile/Yuliia-Kozlova>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експерименту, аналіз та узагальнення результатів, написання тез, Козлов С.В. затвердження тез, Трясак Н.С. підготовка тез до публікації, Кістриця Д.В. аналіз літератури).

26. Козлова ЮВ, Козлов СВ. XII Всеукр. наук.-практ. конф. Стан просторової пам'яті щурів у гострому та ранньому періодах легкої баротравми головного мозку. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», присвяченої Ювілейним датам засновників кафедри патофізіології ТДМІ 110-річчю проф. Бергера Е.Н. і 90-річчю проф. Маркової О.О., 29–30 жовтня 2020 р. Тернопіль, 2020:55-56. Доступно з: <https://www.researchgate.net/profile/Yuliia-Kozlova>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експерименту, аналіз та узагальнення результатів, написання та підготовка тез, Козлов С.В. аналіз літератури, затвердження тез).

27. Козлова ЮВ. III наук.-практ. internet-конф. з міжнар. уч. Зміни орієнтовно-дослідницької активності щурів з експериментальною вибухо-індукованою нейротравмою в піднятому хрестоподібному лабіринті. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція, 19 листопада 2020 р. Харків : Вид-во НФау, 2020:130. Доступно з: <https://pat.nuph.edu.ua/iii-naukovo-praktychna-internet-konferentsiia-z/>

28. Сбітнєв ІВ, Логвінова ТО, Козлова ЮВ. Всеукр. студ. наук.-практ. конф. Стан просторової пам'яті щурів у гострому та ранньому періодах легкої вибухо-індукованої нейротравми. Теоретичні та прикладні аспекти фундаментальних медико-біологічних наук, 20 травня 2021 р. Львів : Вид-во

Львівської політехніки, 2021:156-158. Доступно з:
<https://www.researchgate.net/profile/Yuliia-Kozlova>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експерименту, аналіз та узагальнення результатів, затвердження тез, Сбітнєв І.В. написання та підготовка тез, Логвінова Т.О. аналіз літератури,).

29. Зейналова АМ, Козлова ЮВ. XXI конф. студ. та мол. учених. Загальні клінічні ознаки легкої вибухо-індукованої нейротравми. Новини і перспективи медичної науки. Дніпро; 2021:59. Доступно з:
<https://drive.google.com/file/d/1attk8qlH3nfVqusHUNyb8VfKBwdPvlaM/view>

(Козлова Ю.В. аналіз та узагальнення літератури, затвердження тез, Зейналова А.М. написання та підготовка тез до друку).

30. Козлова ЮВ, Худяков ОЄ, Колдунов ВВ, Клопоцький ГА. VIII Національний конгрес патофізіологів України. Емоційний стан щурів з експериментальною легкою вибухо-індукованою нейротравмою. Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України» присвячений 120-річчю Одеської патофізіологічної школи, 6-8 жовтня 2021 р. Одеса, 2021:113-114. Доступно з: <https://www.researchgate.net/profile/Yuliia-Kozlova>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, аналіз літератури, написання тез, Худяков О.Є. підготовка тез до публікації, Колдунов В.В. затвердження тез, Клопоцький Г.А. узагальнення результатів).

31. Козлова ЮВ. V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнарод. участю Патоморфологічні зміни головного мозку щурів у гострому періоді легкої вибухо-індукованої нейротравми. Теорія та практика сучасної морфології, 20-22 жовтня 2021 р. Дніпро, 2021:59-60. Достуно з:
<https://repo.dma.dp.ua/7262/>

32. Khan SMA, Kozlova YuV, Koldunov VV. XXII наук. конф. студ. та молодих учених. Changes of Cu/Fe ratio in the cerebellum in first day after experimental blast-induced traumatic brain injury. Новини і перспективи

медичної науки. Дніпро, 2022:36. Доступно з:
<https://drive.google.com/file/d/1hguap1qwTXecAJVOX7e2nyCGPV0l6Le7/view>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, аналіз та узагальнення літератури, написання тез, Кхан С.М.А. підготовка тез до публікації, Колдунов В.В. затвердження тез).

33. Kozlova YuV, Kozlov SV. Всеукр. конф. з нейронаук м. Київ, присвячена 90 річчю від дня народження академіка Володимира Скока. Changes in the pain threshold in rats in 1-week development of experimental blast traumatic brain injury, 25-27 липня 2022 р. Київ, 2022:31-32. Доступно з:
<https://fz.kiev.ua/index.php?list1=147>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, аналіз та узагальнення результатів, написання та підготовка тез до публікації, Козлов С.В. затвердження тез).

34. Kozlova YuV, Kozlova KS. Наук.-практ. конф. Catalase activity of rats in the 1 week of blast-induced traumatic brain injury. XXI читання ім. В.В. Підвисоцького, 23-24 червня 2022 р. Одеса : УкрНДІ медицини транспорту, 2022:7-8. Доступно з: <https://www.researchgate.net/profile/Yuliia-Kozlova>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, аналіз та узагальнення результатів, написання та підготовка тез до публікації, Козлова К.С. затвердження тез).

35. Козлова ЮВ, Колдунов ВВ, Клопоцький ГА. Наук.-практ. конф. Вплив вибухо-індукованої травми головного мозку на здатність до навчання в Ж-подібному лабіринті. XXII читання ім. В.В. Підвисоцького, 18–19 травня 2023 р. Одеса : УкрНДІ медицини транспорту, 2023:89-90. Доступно з:
<https://www.researchgate.net/profile/Yuliia-Kozlova>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, аналіз літератури, написання підготовка тез до публікації, Колдунов В.В. затвердження тез, Клопоцький ГА. узагальнення результатів).

36. Козлова ЮВ, Маслак ГС, Нетроніна ОВ, Абраїмова ОЄ. Міжнарод. конф. з нейронаук та Наукових читань, присвячених вісцеральній фізіології та патофізіології. Глутатіонредуктаза - маркер оксидативного стресу при вибухо-індукованій травмі головного мозку, 19-21 листопада 2024 р. Київ : ВД «Академперіодика» НАН України, 2024:46-47. Доступно з: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://fz.kiev.ua/journals/2024_V.70/5S/Fzh-5S_2024.pdf

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, аналіз літератури, написання тез, Маслак Г.С. затвердження тез, Нетроніна О.В. узагальнення результатів, Абраїмова О.Є. підготовка тез до публікації,).

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

37. Мамедов ШМ, Ткаченко ОВ, Козлов СВ, Видиш КП, Козлова ЮВ, Лисиця О. Патоморфологічні аспекти вибухової травми (порівняльна характеристика ушкоджень, спричинених протипіхотними уламковими мінами ОЗМ-72 та МОН-50). Судово-медична експертиза. 2017;1:102–106. <https://doi.org/10.24061/2707-8728.1.2017.25>

(Козлова Ю.В. аналіз літератури, узагальнення результатів, редагування та підготовка статті до публікації, Мамедов Ш.М. судово-медичне дослідження тіл загиблих, Ткаченко О.В. судово-медичне дослідження тіл загиблих, Козлов С.В. написання статті, Видиш К.П. дослідження ушкоджень шкіри).

38. Козлова ЮВ, Абдул-Огли ЛВ, Кошарний АВ, Китова ІВ, Корзаченко МА. Пристрій для дослідження дії на організм ударної хвилі вибуху. – Патент на корисну модель;146858 У. бюл.12:24.03.2021. Доступно з: <https://sis.nipo.gov.ua/uk/search/detail/1584578/>.

(Козлова Ю.В. аналіз вітчизняної та міжнародної бази патентів, огляд літератури, концептуалізація шляхів удосконалення та розробка пристрою, Абдул-Огли Л.В. аналіз літератури, Кошарний А.В. апробація пристрою, Китова М.А. оформлення супровідної документації, Корзаченко М.А. підготовка документації для подання)

39. Kozlova YuV Behavior of rats in the open field within the early period after light-degree blast-induced neurotrauma. Neurophysiology. 2022;53(2):101-108. <https://doi.org/10.1007/s11062-022-09921-z>

40. Kozlova YuV, Demchenko OM. Excitability of the nociceptive system in rats after blast-induced traumatic brain injury. Neurophysiology. 2022;54(3-4):136-142. <https://doi.org/10.1007/s11062-024-09945-7>

(Козлова Ю.В. планування та проведення експериментального дослідження, аналіз літератури, статистична обробка, узагальнення отриманих результатів, написання та підготовка статті до друку, Демченко О.М. остаточне затвердження статті).

ДОДАТОК В

ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Науково-практична конференція «Прикладні аспекти морфології» (м. Вінниця, 21–22 вересня 2017 р.) - *публікація тез.*
2. VII Пленум Українського наукового товариства патофізіологів та науково-практична конференція, присвячені 110-річчю з дня народж. чл.-кор. АМН СРСР, проф. Зайка М.Н. (м. Полтава, 11 жовтня 2018 р.) - *публікація тез.*
3. I науково-практична конференція студентів і молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (м. Харків, 15 травня 2019 р.) - *публікація тез.*
4. Науково-практична конференція «XVIII–і читання В.В. Підвисоцького» (м. Одеса, 21–22 травня 2019 р.) - *публікація тез.*
5. XII Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», присвяченої Ювілейним датам засновників кафедри патофізіології ТДМІ 110-річчю проф. Бергера Е.Н. і 90-річчю проф. Маркової О.О.» (м. Тернопіль, 29–30 жовтня 2020 р.) - *усна доповідь та публікація тез.*
6. III науково-практична internet-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (м. Харків, 19 листопада 2020 р.) - *публікація тез.*
7. Всеукраїнська студентська науково-практична конференція «Теоретичні та прикладні аспекти фундаментальних медико-біологічних наук» (м. Львів, 20 травня 2021 р.) - *усна доповідь та публікація тез.*

8. XXI конференція студентів та молодих учених «Новини і перспективи медичної науки» (м. Дніпро, 2021 р.) - *публікація тез.*

9. VIII Національний конгрес патофізіологів України «Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України» присвячений 120-річчю Одеської патофізіологічної школи» (м. Одеса, 6-8 жовтня 2021 р.) - *публікація тез.*

10. V Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології» (м. Дніпро, 20–22 жовтня 2021 р.) - *публікація тез.*

11. XXII наукова конференція студентів та молодих учених «Новини і перспективи медичної науки» (м. Дніпро, 2022) - *публікація тез.*

12. Всеукраїнська конференція з нейронаук м. Київ, присвячена 90 річчю від дня народження академіка Володимира Скока (м. Київ, 25–27 липня 2022 р.) - *публікація тез.*

13. Науково-практична конференція «XXI читання ім. В.В. Підвисоцького» (м. Одеса, 23–24 червня 2022 р.) - *публікація тез.*

14. Науково-практична конференція «XXII читання ім. В.В. Підвисоцького» (м. Одеса, 18–19 червня 2023 р.) - *публікація тез.*

15. Міжнародна конференція з нейронаук та Наукових читань, присвячених вісцеральній фізіології та патофізіології (м. Київ, 19-21 листопада 2024 р.) - *публікація тез.*