

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

**«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н. Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»**

Кафедра физиологии человека и животных

**КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ФОТОСТИМУЛЯЦИИ
ЛИМФАТИЧЕСКОГО ВЫВЕДЕНИЯ ПРОДУКТОВ КРОВИ ИЗ
ГОЛОВНОГО СОЗГА**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 4 курса 421 группы
Направления 06.03.01 Биология
Биологического факультета
Котовой Анастасии Юрьевны

Научный руководитель:

доцент, док. биол. наук

О. В. Семячкина-Глушковская

(подпись, дата)

Зав. кафедрой:

доцент, док. биол. наук

О. В. Семячкина-Глушковская

(подпись, дата)

Саратов 2023

ВВЕДЕНИЕ

Внутрижелудочковое кровоизлияние (ВЖК) является наиболее смертельной формой черепно-мозговой травмы у взрослых и младенцев. ВЖК имеет самую высокую заболеваемость и смертность во всем мире [1-3].

Внутрижелудочковое кровоизлияние - это кровотечение в желудочковую систему головного мозга, где вырабатывается спинномозговая жидкость (ликвор), которая циркулирует по направлению к субарахноидальному пространству. Около 30% из них являются первичным результатом травмы, а 70% являются вторичными, т.е. возникают в результате спонтанного внутричерепного кровоизлияния [4-6]. У взрослых смертность составляет от 50% до 80%, а вероятность неблагоприятных исходов в два раза выше [2,7-9]. Внутричерепное кровоизлияние возникает у 45% недоношенных младенцев [10] и у 46-50% зрелых младенцев [11,12], а также у 45-85% недоношенных младенцев.

Однако существующие способы лечения и терапии не дают желаемого результата, и необходимы новые стратегии для уменьшения распространения гематомы.

Недавно были открыты менингеальные лимфатические сосуды, которые играют важную роль в выведении продуктов крови из желудочков в периферическую лимфатическую систему, что может стимулироваться фотостимуляцией [13,14]. Показано, что фотостимуляция может оказывать повышать лимфатической выведение из тканей головного мозга токсинов [15,16]. Эти новые фундаментальные знания проливают свет на понимание возможности влияния фотостимуляция на восстановление мозга в зрелом и неонатальном периоде после ВЖК и позволяют предположить, что фотостимуляция может стать новой, легко применимой и коммерчески значимой технологией для современного лечения ВЖК и других типов кровотечений в головном мозге.

Целью работы являлось изучение клинической значимости применения фотостимуляции менингеальных лимфососудов для лечения последствий после развития ВЖК на крысах в неонатальный период.

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить эффекты фотовоздействия на процесс лимфатического выведения различных трейсеров (эритроцитов, золотых наночастиц и красителя Evans Blue) из ликворной системы головного мозга новорожденных крыс с применением конфокальной микроскопии, оптической когерентной томографии и флуоресцентной микроскопии;
2. Провести морфологический анализ тканей головного мозга новорожденных мышей с ВЖК без и после 7-дневного курса фототерапии;
3. Оценить выживаемость и рефлексы новорожденных крыс с ВЖК без и после 7-дневного курса фототерапии.

Материалы и методы исследования

Материалы исследования

Работа выполнена на базе кафедры физиологии человека и животных Саратовского Государственного Университета имени Н. Г. Чернышевского, ЦКП «Симбиоз» ИБФРМ РАН и Саратовского Государственного Медицинского Университета имени В. И. Разумовского.

Объекты исследования

Во всех экспериментах использовали, новорожденных крыс Wistar в возрасте 10 дней (8-10 г) и крыс Wistar в возрасте 21 дня (20-22 г). Животные содержались в стандартных лабораторных условиях, с доступом к пище и воде неограниченно. Все процедуры проводились в соответствии с “Руководством по уходу и использованию лабораторных животных”. Протоколы экспериментов были одобрены Местной комиссией по биоэтике Саратовского государственного университета (Протокол № 7);

Группы животных

Исследования проводились на следующих группах животных:

- 1) контроль (n=10);
- 2) модель ВЖК 3 дня (n=10);
- 4) модель ВЖК 11 дней (n=10);
- 3) модель ВЖК 11 дней + ФС (n=10).

Методы исследования

Для создания модели внутрижелудочкового кровоизлияния использовали новорожденных крыс и вводили аутологичную кровь (7 мкл) в правый боковой желудочек (AD=1,2 мм; ML=1,8 мм;). Кровь брали из хвостовой вены той же крысы и собирали в стерильный эппендорф, предварительно промытый гепарином, чтобы избежать свертывания во время забора крови и инъекции. Во всех хирургических вмешательствах использовались асептические методы. Перед операцией была проведена дезинфекция стереотаксического аппарата и хирургических инструментов бетадином и 70%-ным этанолом [57-59].

На протяжении всей операции и периода эксперимента контролировали ректальную температуру до тех пор, пока крысу полностью не восстановилась и не проявила нормальную двигательную активность. Для обезболивания внутривенно вводили кетамин (100 мг/кг) и ксилазин (10 мг/кг). Крысу укладывали на термоодеяло и выбривали кожу головы. Нанеслась офтальмологическая мазь на оба глаза. Был сделан разрез кожи головы по средней линии длиной 1 см лезвием скальпеля толщиной 10 мм. Шприц Hamilton (25 мкл), был установлен на инъекционный насос, и игла (25 калибра) была направлена с использованием стеротаксиса над брегмой. Затем иглу позиционировали в соответствии с координатами с помощью стереотаксического манипулятора (Stoelting, Нью-Йорк, США). Небольшое черепное отверстие для заусенцев было просверлено в черепе с помощью дрели с переменной скоростью вращения и сверлом диаметром 1 мм. Хвост животного продезинфицировали 70%-ным этанолом и прокололи центральную хвостовую вену стерильной иглой (25 калибра) [60-62].

После этого артериальную кровь собирали в стерильный эппендорф. Кровь была быстро перелита из эппендорфа в стеклянный цилиндр шприца "Гамильтон" и введена в поршень. Игла была введена в правый боковой желудочек. Артериальную кровь вводили со скоростью 2 мкл/мин. Иглу оставляли в желудочке на 10 мин, а затем удаляли со скоростью 1 мм/мин, чтобы предотвратить отток крови. Отверстие для заусенцев и разрез на коже головы были закрыты костным воском (Ethicon, Сомервилл, Нью-Джерси) и цианоакрилатным клеем (Henkel Consumer Adhesive Inc., Скоттсдейл, Аризона) соответственно. Контрольным крысам вводили равный объем (10 мкл) физиологического раствора [63-65].

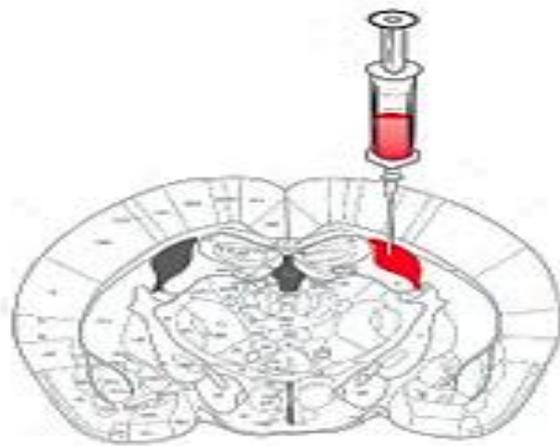


Рисунок 3 – Схематическое изображение введения необходимого раствора

Результаты

Изучение клинического значения ФС-опосредованного лимфатического выведения эритроцитов из головного мозга

Таблица 1 – Температура на внешней поверхности черепа и коры головного мозга до и после ФС у новорожденных крыс

Номер крысы	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Среднее значение	Средняя ошибка
Без ФС												
Внешняя поверхность черепа	36,4	35,48	35,62	35,21	35,35	35,71	35,28	35,29	36,03	35,41	35,552	0,1020
Под черепом на поверхности коры головного мозга	37,03	37,12	37,22	37,19	37,14	37,09	37,10	37,18	37,15	37,20	37,142	0,018
ФС 9 Дж/см ²												
Внешняя поверхность черепа	36,22	36,20	36,23	36,19	36,10	36,00	36,02	36,12	36,01	36,04	36,113	0,029
Под черепом на поверхности коры головного мозга	37,15	37,19	37,31	37,28	37,01	37,05	37,02	37,09	37,02	37,04	37,116	0,035

Поскольку в предыдущих экспериментах на взрослых мышах доза ФС 9 Дж/см² была признана оптимальной, мы использовали эту дозу ФС у новорожденных крыс с адаптацией к прозрачности их черепа. Не было никаких изменений температуры на поверхности коры головного мозга (однократная доза ФС) и никаких морфологических изменений (течение ФС) в тканях головного мозга после ФС 9 Дж/см².

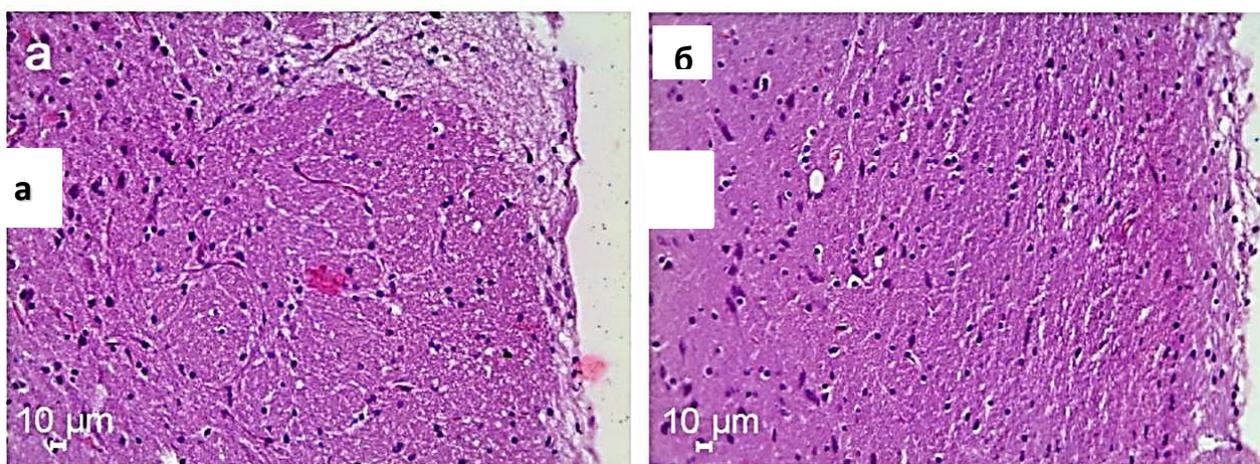


Рисунок 5 – Гистологический анализ тканей головного мозга до (а) и после однократной дозы ФС 9 Дж/см² (б)

В экспериментах *in vivo* на здоровых новорожденных крыс мы продемонстрировали, что применение ФС в однократной дозе 9 Дж/см² значительно стимулировало удаление Evans Blue и ЗНЧ из правого бокового желудочка в ГШЛУ.

Действительно, интенсивность флуоресценции Evans Blue в ГШЛУ на 60 мин наблюдения была в 2,1 раза выше ($3,06 \pm 0,41$ а.е. против $1,43 \pm 0,76$ а.е., $p=0,04$, Т-тест независимых выборок) у крысят после ФС по сравнению с крысятами без ФС. Скорость накопления ЗНЧ в ГШЛУ была значительно выше у крыс после ФС по сравнению с крысятами без ФС ($0,27 \pm 0,01$ ед. против $0,10 \pm 0,02$ у.е., $p < 0,05$, $n=6$ для контрольной группы без ФС и $n=7$ для группы ФС, тест Уилкоксона).

Результаты, представленные на рис 6., показывают, что количество эритроцитов в ГШЛУ было в 4,7 раза выше в группе ВЖК+ФС по сравнению с группой ВЖК ($(0,52 \pm 0,03) \times 10^5$ на мм³ против $(0,11 \pm 0,01) \times 10^5$ на мм³, $p < 0,001$, ЛСД-тест).

Таким образом, эти серии экспериментов *in vivo* и *ex vivo* продемонстрировали, что ФС эффективно стимулирует лимфатический клиренс

эритроцитов и макромолекул (ЗНЧ и Evans Blue) из головного мозга новорожденных крыс.

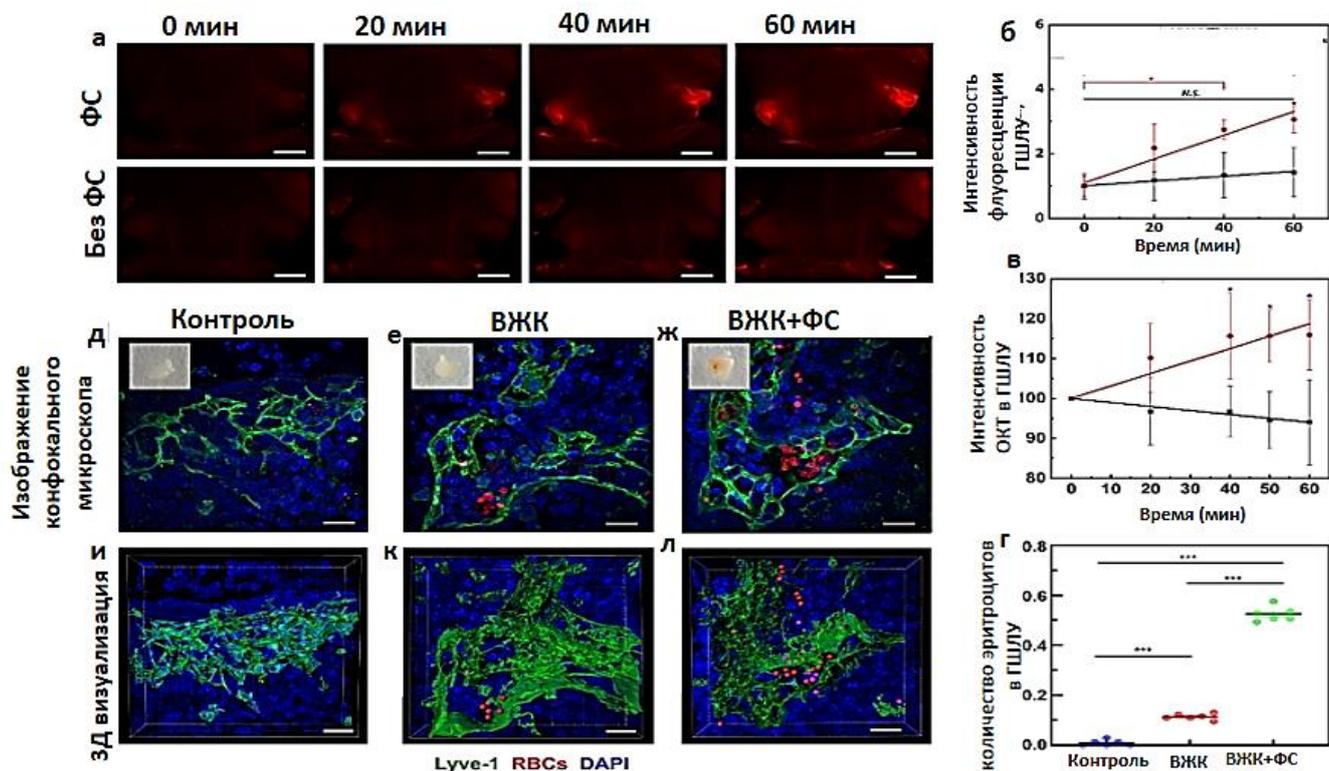


Рисунок 6 - Стимуляция лимфатического клиренса эритроцитов и макромолекул из головного мозга новорожденных крыс при PS 9 Дж/см²; (а) Репрезентативные флуоресцентные изображения клиренса Evans Blue из правого бокового желудочка в ГШЛУ с ФС и без ФС у здоровых новорожденных крыс; (б) количественный анализ интенсивности флуоресценции накопления Evans Blue в ГШЛУ у здоровых новорожденных крыс с ФС и без ФС: * - $p < 0,05$ и ** - $p < 0,01$, $n=4$ в каждой группе, тест Тьюки; (в) ОКТ данные о накоплении ЗНЧ в ГШЛУ после его внутрижелудочковой инъекции с ФС и без него у здоровых новорожденных крыс, * - $p < 0,05$, $n=10$ в каждой группе, Т-тест независимых выборок; (г) количество эритроцитов в ГШЛУ через 1 час после инъекции крови в правый задний желудочек с ФС и без него, *** - $p < 0,001$, $n=6$ в каждой группе, ЛСД-тест. ЛС были помечены Lyve-1 (зеленый цвет) и Prox-1 (желтый цвет), а эритроциты были визуализированы с помощью их автофлуоресценции (красный цвет). (д-е) репрезентативные конфокальные изображения ГШЛУ через 1 час после

инъекции физиологического раствора (д), кровь без ФС (е) и ВЖК + ФС (ж) в правый задний желудочек. Вставки в (д-ж) представляют фотографии ГШЛУ; (и-л) 3D-рендеринг ГШЛУ через 1 час после инъекции физиологического раствора (и), крови без ФС (к) и ВЖК + ФС (л) в правый задний желудочек (объем ГШЛУ составил $135 \times 135 \times 40$ мкм³);

3.2 Терапевтическое воздействие ФС-курса на выздоровление новорожденных крыс и взрослых мышей после внутривенного вливания

Результаты, представленные на рис.7, демонстрируют снижение смертности от ФС у новорожденных крыс. Действительно, уровень смертности новорожденных крыс составил 20,0 % (6 из 30) в группе ВЖК. В контрольных группах ни одно животное не погибло (n=30 из 30). Курс ФС увеличивал выживаемость новорожденных крыс.

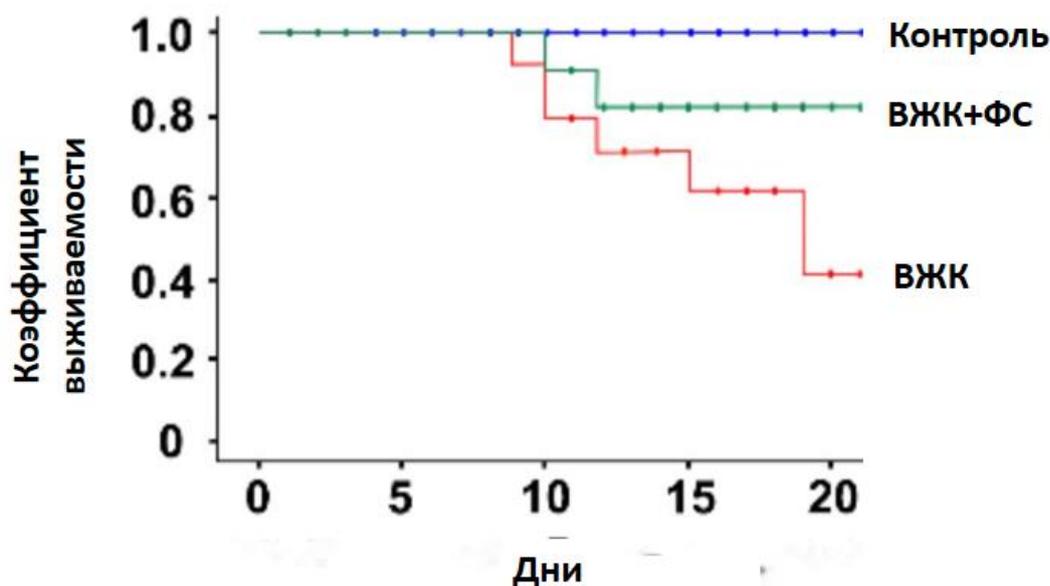


Рисунок 7 - Графики общей выживаемости Каплана-Мейера в тестируемых группах с курсом ФС и без него; число выживших крыс к 21-му дню наблюдения было значительно выше в группе ВЖК+ФС, чем в группе ВЖК

Таким образом, смертность в группе ВЖК+ФС составила 6,6% (2 из 30). Количество выживших крысят было выше в группе ВЖК+ФС по сравнению с группой ВЖК ($p=0,032$, логарифмический ранг теста X^2 (Мантел-Кокс) = 6,877, метод Каплана-Мейера).

Курс ФС значительно уменьшил размер ВЖК. Действительно, размер внутрижелудочкового кровоизлияния через 11 дней по сравнению с 3 днями после ВЖК был в 4,1 раза меньше в группе ВЖК+ФС ($0,10 \pm 0,02$ мм² против $0,41 \pm 0,64$ мм², $p=0,0001$, $n=10$ в каждой группе, тест Уэлча) и был всего в 1,5 раза меньше в группе без ФС ($0,27 \pm 0,04$ мм² против $0,41 \pm 0,64$ мм², $p=0,001$, $n=10$ в каждой группе, группа Уэлча).

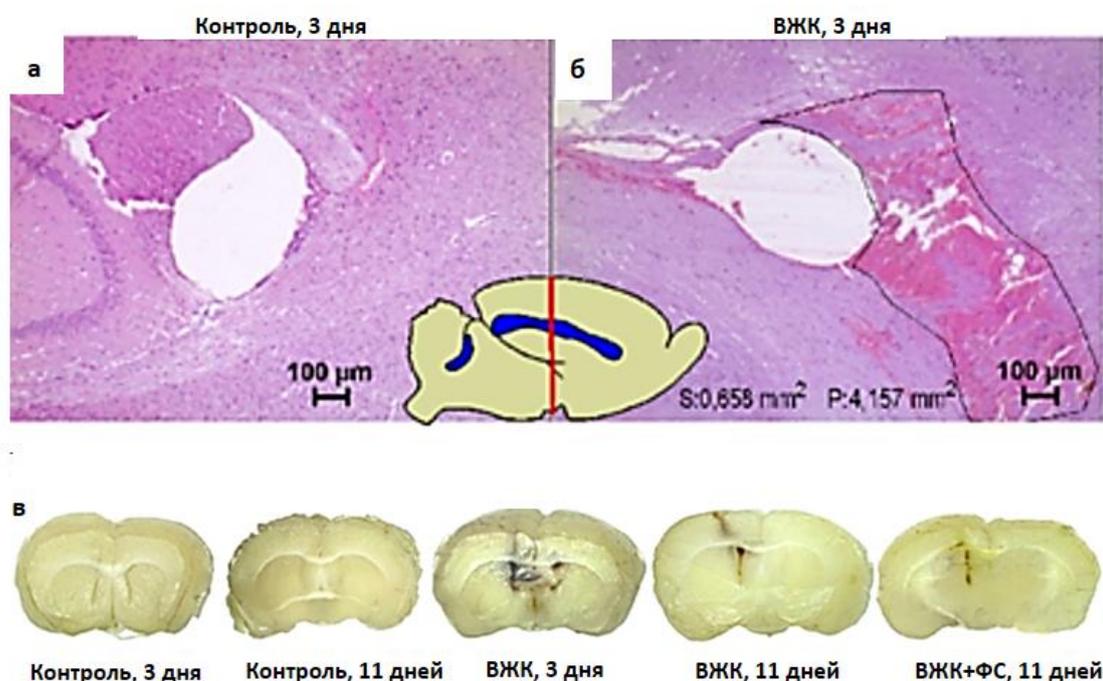


Рисунок 4 – а, б - Гистологическое изображение нормальных тканей головного мозга вокруг правого левого желудочка и перивентрикулярной гематомы, образовавшейся через 3 дня после внутривенной трансплантации, $n=10$ в каждой группе; в - Репрезентативные 2D-изображения нормального головного мозга через 3 и 11 дней после внутривенного введения с курсом ФС и без него, $n=10$ в каждой группе.

Введение крови в правый желудочек не сопровождалось образованием периваскулярной гематомы (рис. 4). Этот факт можно объяснить более высокой устойчивостью гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) к травмам у новорожденных крыс, чем у взрослых.

ФС-курс способствует полному восстановлению желудочков, которые расширены после ВЖК. Действительно, через 3 дня после внутривенного вливания размер правого бокового желудочка был в 4,9 раза больше в группе внутривенного вливания по сравнению с фиктивной группой ($0,54 \pm 0,12$ мм² против $0,11 \pm 0,07$ мм², $p=0,00001$, $n=10$ в каждой группе, тест Уэлча).

После курса ФС размер правого бокового желудочка не различался между группами ВЖК+ФС и контрольной группой ($0,15 \pm 0,02$ мм² и $0,13 \pm 0,03$ мм² соответственно, $n=10$ в каждой группе, тест Уэлча).

Однако в группе ВЖК без ФС размер правого бокового желудочка был только уменьшен и был в 1,8 раза меньше по сравнению с ВЖК через 3 дня после внутрижелудочковой инъекции крови ($0,29 \pm 0,06$ мм² против $0,54 \pm 0,12$ мм², $p=0,0000025$, $n=10$ в каждой группе, количество испытуемых, получавших внутрижелудочковую инъекцию крови).

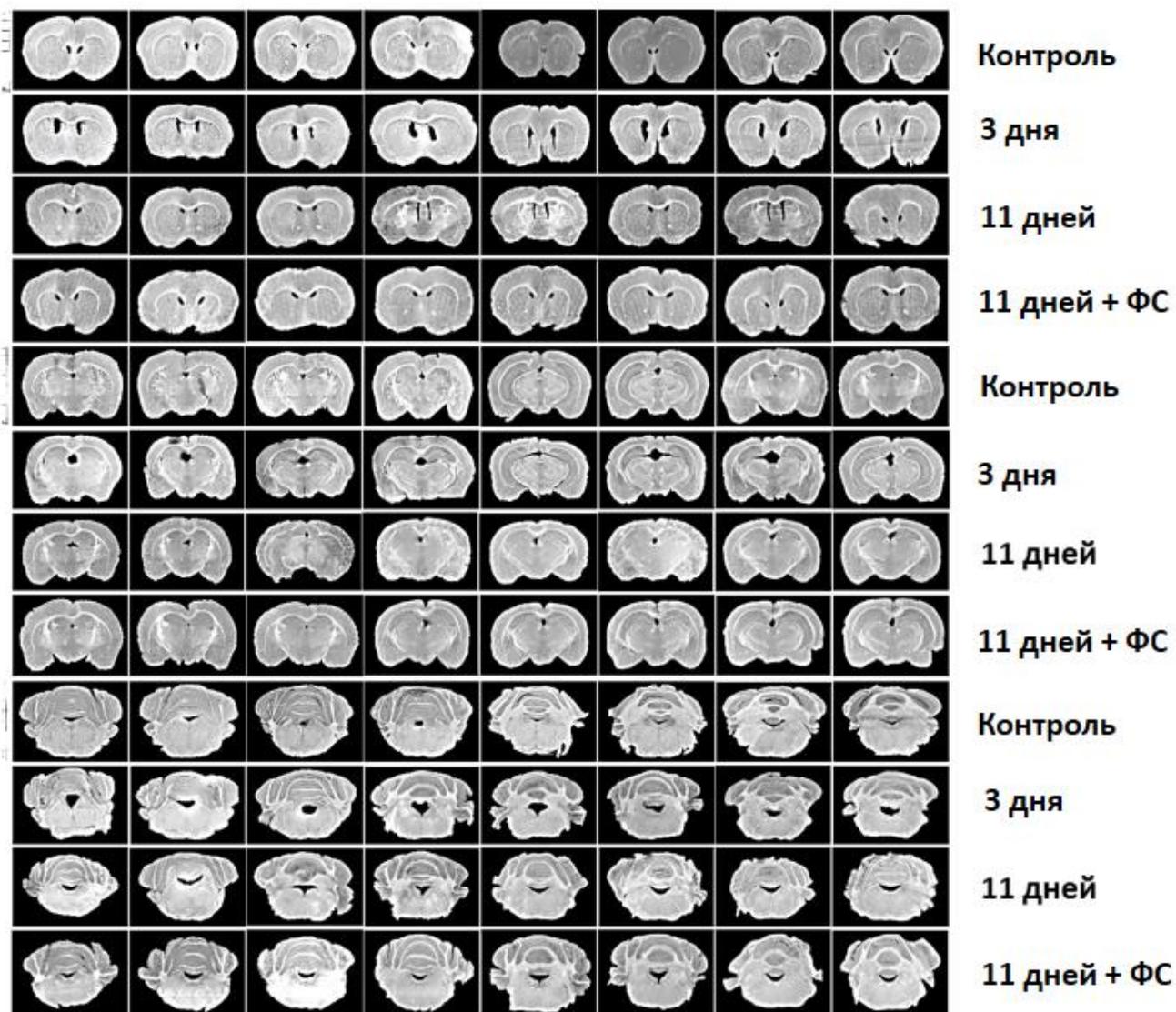


Рисунок 10 – 2D-изображения размера правого бокового желудочка (в трех проекциях) у новорожденных крыс контрольной (фиктивной) группы, через 3 дня и 11 дней после внутривенной анестезии без и после курса ФС-9 Дж/см²

После курса ФС новорожденные крысы продемонстрировали полное избавление от вазогенного отека, который мы наблюдали у крыс через 3 дня после ВЖК по сравнению с контрольной группой.

Через три дня после ВЖК размер увеличился в 2,3 раза в группе ВЖК по сравнению с контрольной группой. фиктивная группа ($0,021 \pm 0,005$ мкм против $0,009 \pm 0,001$, $p=0000002$, $n=10$ в каждой группе, тест Уэлча).

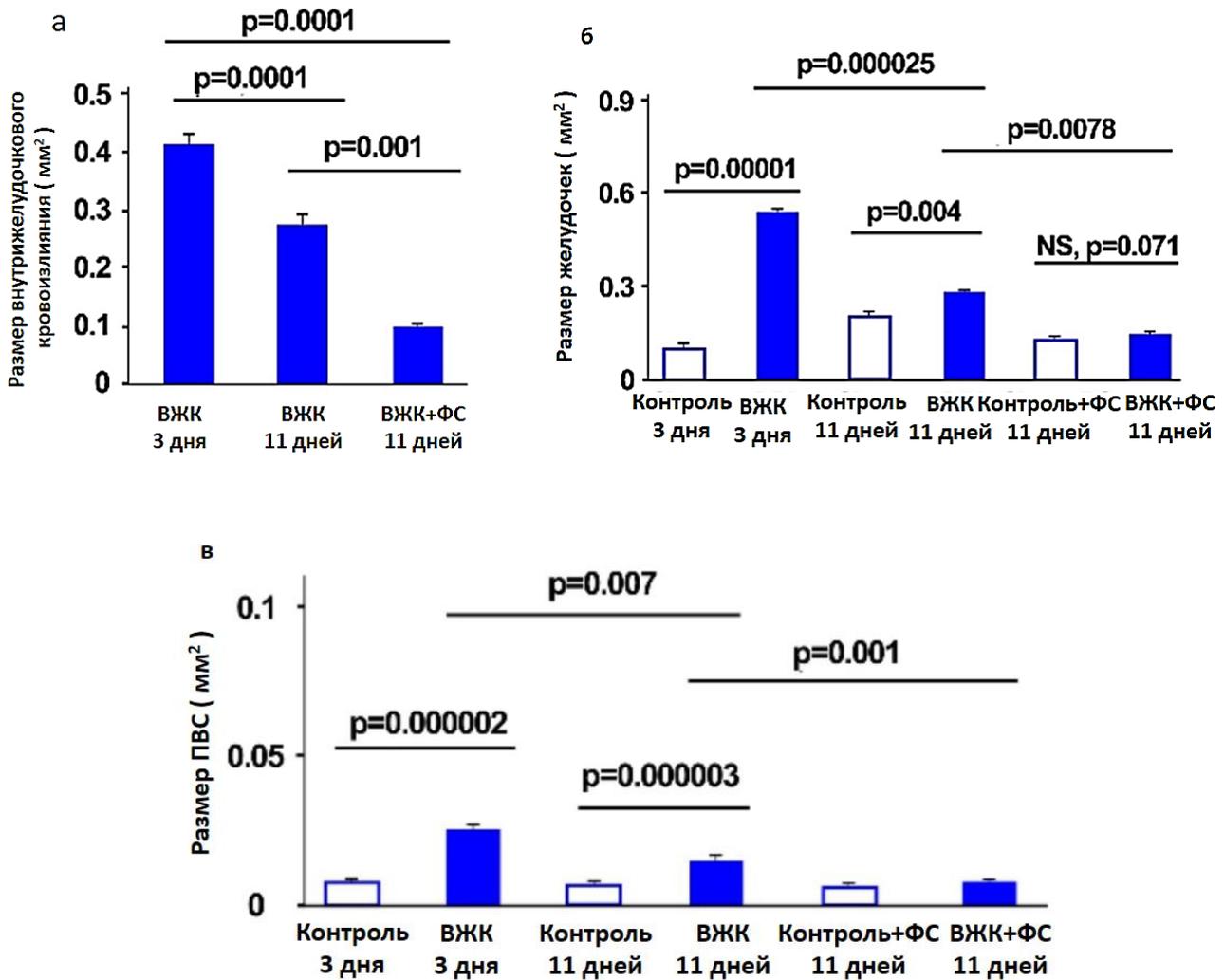


Рисунок 11 – (а) Количественный анализ внутрижелудочкового кровоизлияния (мм²), образовавшегося на 3-й день и 11-й день после ВЖК с курсом ФС и без него, n=10 в каждой группе, среднее значение ± SD, тест Уэлча);
 (б) количественный анализ размера правого бокового желудочка (мм³) на 3-й день, 11 дней ВЖК и 11 дней после ВЖК с курсом ФС и без него, n=10 в каждой группе, среднее значение ± SD, тест Уэлча);
 (в) количественный анализ размера ПВП (мкм) на 3-й день и 11-й день после ВЖК с курсом ФС и без него, n=10 в каждой группе, среднее значение ± SD, тест Уэлча)

Через одиннадцать дней после ВЖК размер ПВП был полностью восстановлен в группе ВЖК + ФС ($0,009 \pm 0,003$ мкм в группе ВЖК + ФС и $0,007 \pm 0,002$ мкм, NS, $n=10$ в каждой группе, тест Уэлча), в то время как размер ПВП был уменьшен не полностью и был в 1,4 раза меньше по сравнению с 3 днями после в/в введения ($0,015 \pm 0,033$ мкм против $0,021 \pm 0,005$ мкм, $p=0,007$, $n=10$ в каждой группе, тест Уэлча).

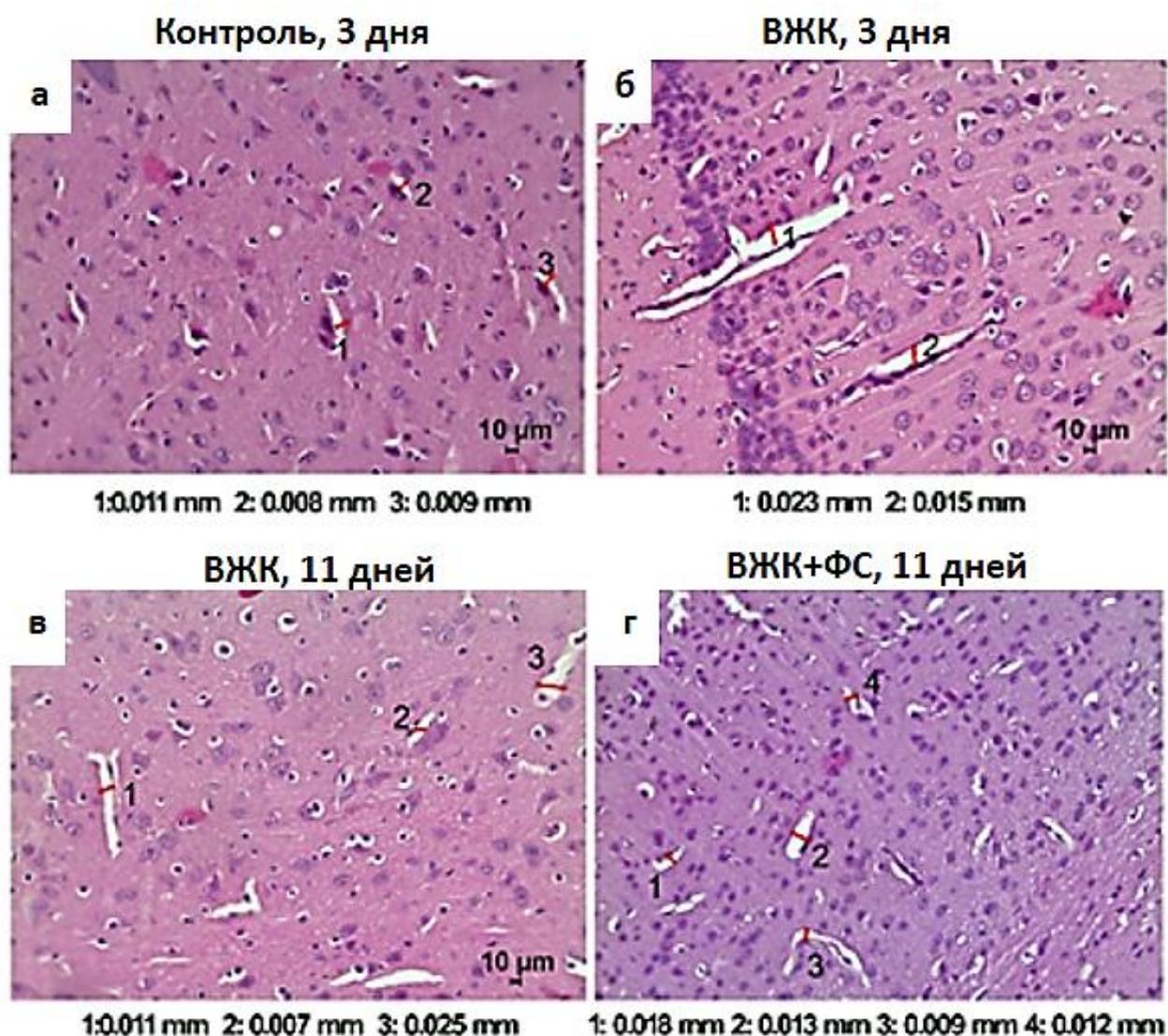


Рисунок 12 – (а) Гистологические изображения, иллюстрирующие нормальные ткани головного мозга без вазогенного отека; (б) Значительное увеличение размера ПВП через 3 дня после ВЖК; (в) Уменьшение размера ПВП через 11 дней после ВЖК, (г) уменьшение размера ПВП через 11 дней после ВЖК + ФС

Однократная доза ФС в 9 Дж/см² увеличивала время восстановления ВЧД, которое значительно увеличивалось после внутрижелудочкового введения крови. Введение крови в правый боковой желудочек вызывало немедленное повышение ВЧД ($4,10 \pm 0,05$ мм рт.ст. против $1,83 \pm 0,02$ мм рт.ст., $p=0,007813$, $n=10$ в каждой группе, тест Уилкоксона).

Впоследствии ВЧД постепенно снижалось гораздо быстрее в группе ВЖК+ФС, чем в группе ВЖК. Действительно, через 60 минут наблюдения ВЧД достигло базальных значений в группе ВЖК+ФС и не отличалось от фиктивной группы ($1,86 \pm 0,02$ мм рт.ст. и $1,82 \pm 0,02$ мм рт.ст. соответственно). Напротив, в группе ВЖК ВЧД был статистически выше по сравнению с группой фиктивная группа ($1,97 \pm 0,04$ мм рт.ст. против $1,82 \pm 0,02$ мм рт.ст., $p=0,05$, $n=10$ в каждой группе, тест Уилкоксона).

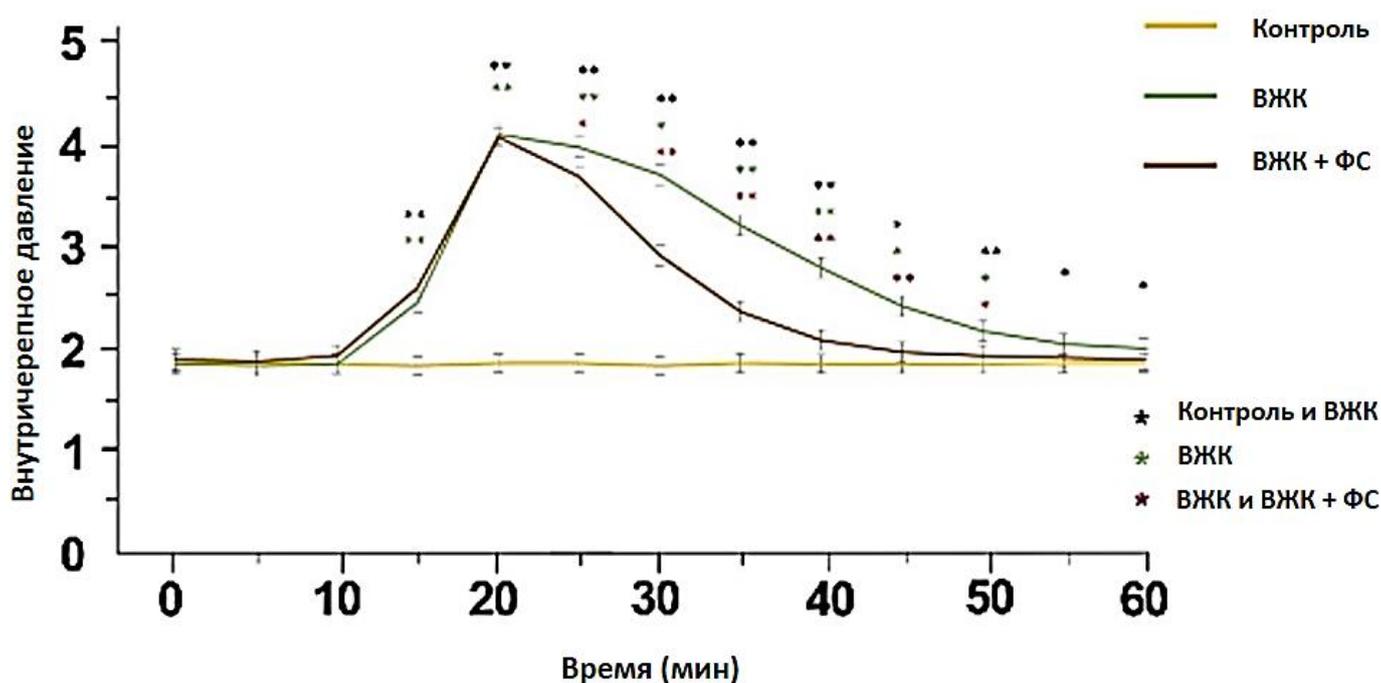


Рисунок 13 - Мониторинг ВЧД у контрольных крыс и у крыс после ВЖК + ФС и без него (однократная доза лазера 9 Дж/см²), * - $p<0,05$; ** - $p<0,01$; *** - $p<0,001$; * - между контрольной группой и ВЧД; * - между контрольной группой и группой ВЖК+ФС; * - между группами ВЖК и ВЖК+ФС

Курс ФС 9 Дж/см² улучшил неврологический статус после ВЖК у новорожденных крыс. График тестирования двигательных рефлексов и нервно-психического развития представлен на рисунке.

Таким образом, оценка двигательных тестов, таких как подвешивание задних и передних конечностей, снизилась в группе ВЖК по сравнению с группой фиктивная группа, предполагающая нарушение двигательной функции после внутривенного введения (n=10 в каждой группе, p=0,0001688, тест Уилкоксона). Однако результаты этих тестов были существенно увеличены после ФС по сравнению с крысами без терапии ФС (n=10 в каждой группе, p=0,0001566 для теста на задние конечности и p = 0,0001216 для теста на передние конечности, теста Уилкоксона).

Рефлексы развития нервной системы были нарушены у крысят с ВЖК, о чем свидетельствует снижение баллов по тестам "Избегание обрыва" и "походка" в группе ВЖК по сравнению с контрольной группой (n=10 в каждой группе, p=0,0001688 для теста "Избегание обрыва" и p=0,0001746 для теста "походка" Уилкоксона). тест). После курса ФС щенки выполняли эти тесты намного лучше, чем животные без ФС-терапии (n=10 в каждой группе, p= 0,0001736 для теста на избегание обрывов и p= 0,0002019 для теста на походку, теста Уилкоксона).

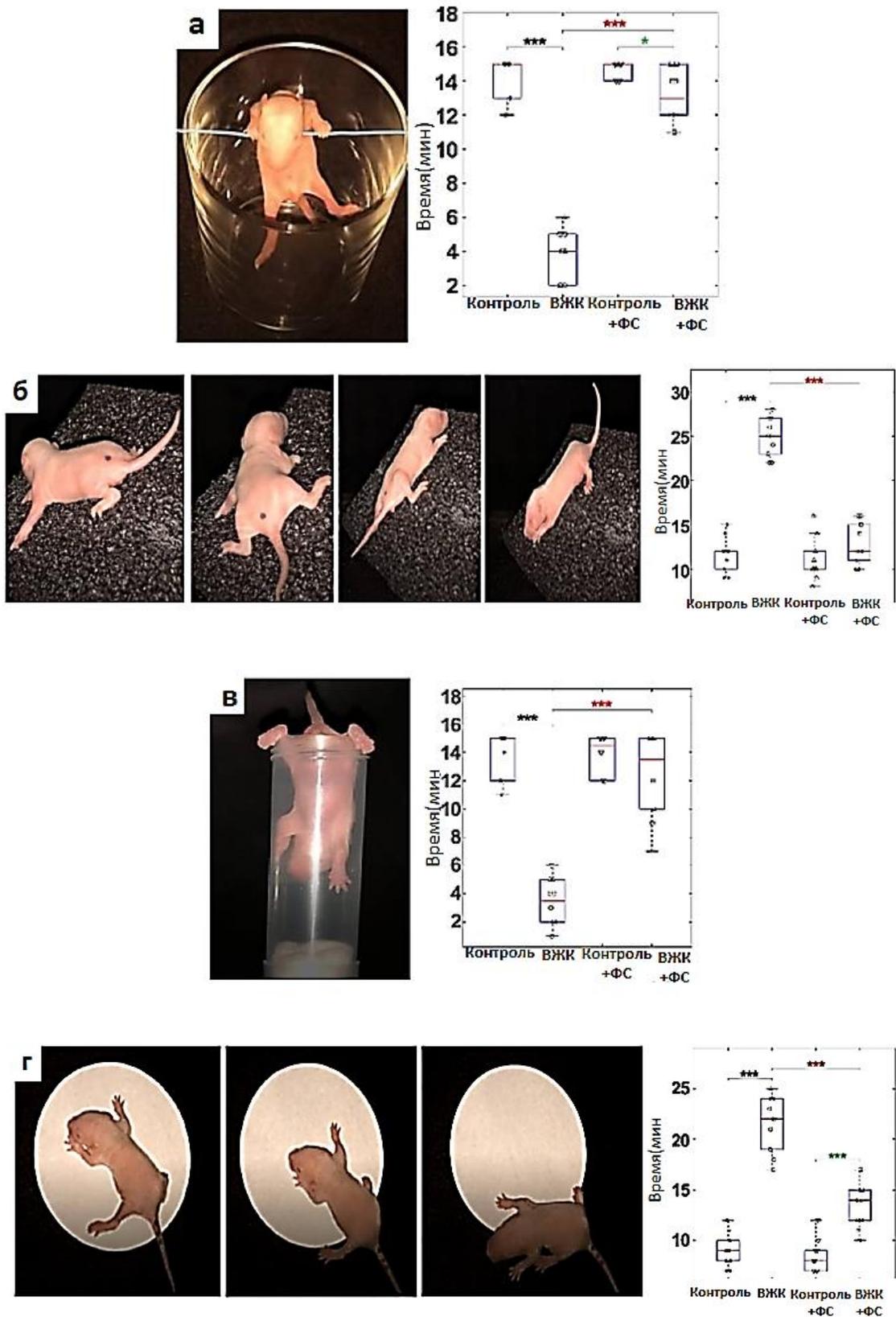


Рисунок 8 - (а, б) – оценка двигательных тестов, включая тест задних конечностей (а) и тест передних конечностей (б); (в, г) – оценка рефлекторных тестов на развитие нервной системы, включая тест на избегание обрыва (в) и тест на походку (г); n=10 в каждой группы для а-г

ВЫВОДЫ

1. Лимфатическая система головного мозга новорожденных крыс играет важную роль в выведении продуктов крови из ликворной системы в периферическую лимфатическую систему;
2. Фотостимуляция в инфракрасном диапазоне существенно повышает эффективность лимфатического выведения продуктов крови из ликворной системы головного мозга новорожденных крыс;
3. Фотостимуляция лимфатических сосудов оказывает терапевтические эффекты на новорожденных крыс с ВЖК, повышая их выживаемость и улучшая нейрокогнитивный статус у животных.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Abbott, N. J. Evidence for bulk flow of brain interstitial fluid: significance for physiology and pathology / N. J. Abbott // *Neurochemistry international*. – 2004. – V. 45. – №. 4. – P. 545-552.
2. Abbott, N. J. The role of brain barriers in fluid movement in the CNS: is there a ‘glymphatic’ system? / N. J. Abbott, M. E. Pizzo, J. Preston [et al.] // *Acta neuropathologica*. – 2018. – V. 135. – №. 3. – P. 387-407.
3. Absinta, M. Human and nonhuman primate meninges harbor lymphatic vessels that can be visualized noninvasively by MRI / M. Absinta, S. Ha, G. Nair [et al.] // *Elife*. – 2017. – V. 6. – P. e29738
4. Ahn, J. H. Meningeal lymphatic vessels at the skull base drain cerebrospinal fluid / J. H. Ahn, H. Cho, J. Kim [et al.] // *Nature*. – 2019. – V. 572. – №. 7767. – P. 62-66.
5. Antila, S. Development and plasticity of meningeal lymphatic vessels / S. Antila, S. Karaman, H. Nurmi [et al.] // *Journal of Experimental Medicine*. – 2017. – V. 214. – №. 12. – P. 3645-3667
6. Arbel-Ornath, M. Interstitial fluid drainage is impaired in ischemic stroke and Alzheimer’s disease mouse models / M. Arbel-Ornath, E. Hudry, K. Eikermann-Haerter [et al.] // *Acta neuropathologica*. – 2013. – V. 126. – №. 3. – P. 353-364.
7. Arnold, W. Qualitative untersuchungen der verbindungswege des subarachnoidalraumes mit dem lymphatischen system des kopfes und des halses / W. Arnold, H. R. Nitze, R. Ritter [et al.] // *Acta Oto-Laryngologica*. – 1972. – V. 74. – №. 1-6. – P. 411-424.
8. Asano, Y. Cerebrospinal fluid absorption into lymphatic system in condition of increased intracranial pressure / Y. Asano, M. Hasuo, M. Teraoka [et al.] // *Brain and nerve*. – 1981. – V. 33. – №. 7. – P. 673-678

9. Asgari, M. Glymphatic solute transport does not require bulk flow / M. Asgari, D. De Zélicourt, V. Kurtcuoglu // *Scientific reports*. – 2016. – V. 6. – №. 1. – P. 1-11.
10. Aspelund, A. A dural lymphatic vascular system that drains brain interstitial fluid and macromolecules / A. Aspelund, S. Antila, S. Proulx [et al.] // *Journal of Experimental Medicine*. – 2015. – V. 212. – №. 7. – P. 991-999.
11. Baluk, P. Functionally specialized junctions between endothelial cells of lymphatic vessels / P. Baluk, J. Fuxe, H. Hashizume [et al.] // *The Journal of experimental medicine*. – 2007. – V. 204. – №. 10. – P. 2349-2362.
12. Bedussi, B. Paravascular spaces at the brain surface: Low resistance pathways for cerebrospinal fluid flow / B. Bedussi, M. Almasian, J. de Vos [et al.] // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. – 2018. – V. 38. – №. 4. – P. 719-726.
13. Benilova, I. The toxic A β oligomer and Alzheimer's disease: An emperor in need of clothes / I. Benilova, E. Karran, B. De Strooper // *Nat. Neurosci.* – 2012. – V. 15. – P. 349-357.
14. Bergsteiner, M. Evolving concepts of cerebrospinal fluid. / M. Bergsteiner // *Neurosurg Clin N Am*. – 2001. – V. 36. – P. 631-638.
15. Bilston, L. E. Arterial pulsation-driven cerebrospinal fluid flow in the perivascular space: a computational model / L. E. Bilston, D. F. Fletcher, A. R. Brodbelt [et al.] // *Computer Methods in Biomechanics & Biomedical Engineering*. – 2003. – V. 6. – №. 4. – P. 235-241.
16. Bolte, A. C. Meningeal lymphatic dysfunction exacerbates traumatic brain injury pathogenesis / A. C. Bolte, A. B. Dutta, M. E. Hurt [et al.] // *Nature communications*. – 2020. – V. 11. – №. 1. – P. 1-18.
17. Bowsher, D. Pathways of absorption of protein from the cerebrospinal fluid: an autoradiographic study in the cat / D. Bowsher // *The Anatomical record*. – 1957. – V. 128. – №. 1. – P. 23-39.

18. Bradbury, M. W. Drainage of cerebral interstitial fluid into deep cervical lymph of the rabbit / M. W. Bradbury, H. F. Cserr, R. J. Westrop // *Am J Physiol Renal Fluid Electrolyte Physiol.* – 1981. – V. 240. – P. F329-F336.
19. Bradbury, M. W. Drainage of cerebrospinal fluid and brain interstitial fluid into cervical lymphatics / M. W. Bradbury, H. F. Cserr // *Experimental Biology of the Lymphatic Circulation.* – 1985. – V. 355. – P. 394.
20. Bradbury, M. W. The role of the lymphatic system in drainage of cerebrospinal fluid and aqueous humour / M. W. Bradbury, D. F. Cole // *The Journal of Physiology.* – 1980. – V. 299. – №. 1. – P. 353-365.