

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
**«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н. Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»**

Кафедра физиологии человека и животных

**ФОТОТЕРАПИЯ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВЫХ ТРАВМ У
МЫШЕЙ**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 2 курса 243 группы

Направления подготовки магистратуры 06.04.01 Биология

Биологического факультета

Елизаровой Инны Владимировны

Научный руководитель

доцент, док. биол. наук _____ О. В. Семячкина – Глушковская
(подпись, дата)

Зав. кафедрой человека и животных,

доцент, док. биол. наук _____ О. В. Семячкина – Глушковская
(подпись, дата)

Саратов 2026

Введение. Черепно-мозговая травма (ЧМТ) признана глобальным приоритетом в области здравоохранения ввиду долгосрочных последствий, высоких затрат на лечение, высоких показателей инвалидизации (около 50% при средней и тяжелой ЧМТ) и 30% смертности от всех случаев ЧМТ. Наиболее высокий уровень ЧМТ отмечается среди спортсменов, военнослужащих и детей, то есть активного, молодого и трудоспособного населения планеты, что кардинально меняет их жизнь на длительное время. Важно отметить, что наиболее сложной задачей является предотвращение и лечение последствий ЧМТ, которые часто приводят к нейродегенеративным заболеваниям, когнитивным нарушениям, инсульту и психическим расстройствам.

Повреждение лимфатического пути оттока из мозга приводит к снижению выведения токсинов из тканей мозга, усугубляя посттравматические последствия в виде повышенной проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) и активации нейровоспаления. Поэтому разработка методов стимуляции лимфатических механизмов дренажа мозга рассматривается как высокоприоритетная и перспективная стратегия терапии ЧМТ.

Однако с физиологической точки зрения менингеальные лимфатические сосуды (МЛС) не имеют прямой связи с кровеносной системой. Следовательно, фармакологические методы доставки лекарств к МЛС через кровь неприменимы. Это также объясняет, почему в ранее предложенном новом методе улучшения иммунотерапии болезни Альцгеймера препарат для стимуляции роста МЛС необходимо вводить интратекально, что является крайне инвазивным методом, может выполняться только высококвалифицированными врачами и не может быть реализован в рутинной клинической практике.

Поэтому разработка нефармакологических методов улучшения лимфатического дренажа и клиренса мозга будет способствовать прогрессу в лечении заболеваний мозга, связанных с избыточным накоплением жидкости

в мозге, что наиболее часто наблюдается после ЧМТ.

В этом отношении наиболее перспективными являются технологии фотобиомодуляции (ФБМ). ФБМ является неинвазивным методом, основанным на использовании света низкой интенсивности. Его действие направлено на стимуляцию клеточных процессов, включая уменьшение воспаления, активацию нейропротекторных механизмов и улучшение кровотока. В последние годы ФБМ демонстрирует многообещающие результаты в лечении нейродегенеративных заболеваний, в том числе травм головного мозга, что делает ее перспективным инструментом для терапии ЧМТ.

Целью данной работы является исследование терапевтической эффективности ФБМ у мышей с ЧМТ, а также оценка влияния ФБМ на структурные, функциональные и клеточные параметры восстановления мозга.

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Провести гистологический и статистический анализы тканей головного мозга мышей для изучения влияния ФБМ на восстановление от посттравматического отека, включающих содержание объема жидкости и состояние периваскулярных пространств;
2. Оценить терапевтический эффект ФБМ на восстановление объема желудочковой системы в мозге мышей после ЧМТ;
3. Рассмотреть механизм терапевтических эффектов ФБМ у мышей с ЧМТ при помощи конфокальной визуализации пути оттока ликвора по лимфодренажной системе мозга мышей;
4. Изучить влияние курса ФМБ во сне и бодрствовании на диаметр МЛС после ЧМТ.

Структура и объем работы. Работа включает в себя обозначения и сокращения, введение, 3 главы, выводы и список использованных источников. Работа проиллюстрирована 19 рисунками. Список использованных источников включает в себя 59 наименований.

Основное содержание работы. Данная работа выполнена на базе лаборатории “Умного сна” кафедры физиологии человека и животных медицинского центра Саратовского Государственного Университета Н. Г. Чернышевского.

Объект исследования

В качестве объекта исследования использовались молодые самцы мышей C57Bl/6 (20-25 гр.) в возрасте 6-8 месяцев, приобретенные в питомнике лабораторных животных в г. Пущино.

Животные были разделены на следующие группы (n=10 в группе):

1. Контроль: интактные мыши без вмешательств;
2. ЧМТ 24 часа: мыши с контузионной закрытой черепно–мозговой травмой на 24 часа;
3. ЧМТ 10 дней: мыши с контузионной закрытой черепно–мозговой травмой на 10 день;
4. ЧМТ + ФБМ в бодрствовании: мыши с ЧМТ, получавшие 10–дневный курс фотобиомодуляции в состоянии бодрствования под контролем ЭЭГ;
5. ЧМТ + ФБМ во сне: мыши с ЧМТ, получавшие 10–дневный курс фотобиомодуляции во время NREM–сна под контролем ЭЭГ;
6. Ложнооперированная группа: мыши, получавшие процедуры ЭЭГ-мониторинга и подключения к светодиодной платформе, но без фотобиомодуляции.

Модель контузионной травмы головного мозга мышей. Для создания модели контузионной травмы головного мозга у мышей применяли модифицированный на базе лаборатории «Умный сон» метод на основе коммерческого устройства для контролируемого кортикального удара.

В работе применялась имплантация системы регистрации электроэнцефалографии (ЭЭГ) с установкой серебряных электродов для мониторинга состояний сна и бодрствования. Через две недели после имплантации проводился 10-дневный курс фотобиомодуляции под контролем ЭЭГ с использованием светодиода с длиной волны 1050 нм. Для оценки

дренажной функции мозга выполнялось внутрижелудочковое введение FITC-декстрана с последующей конфокальной визуализацией распределения красителя. Морфологические изменения тканей головного мозга и размеры периваскулярных пространств оценивались методом гистологического анализа на парафиновых срезах, окрашенных гематоксилином и эозином. Степень отёка головного мозга определялась по содержанию воды в мозговой ткани методом влажно-сухого взвешивания. Площадь желудочковой системы измерялась на срезах головного мозга с использованием программного обеспечения Fiji. Для исследования менингеальных лимфатических сосудов применялся иммуногистохимический анализ с использованием маркера LYVE-1 и последующей конфокальной микроскопией. Статистическая обработка данных проводилась в программах Microsoft Excel и SPSS 17.0 с использованием однофакторного дисперсионного анализа ANOVA и апостериорного теста Дункана при уровне значимости $p < 0,05$.

Отек головного мозга является частым и наиболее опасным осложнением ЧМТ, которое значительно повышает риск летального исхода и ухудшает функциональное состояние головного мозга. Поэтому на первом этапе исследования проводилась оценка влияния ФБМ на посттравматический отек в тканях головного мозга мышей при помощи гистологического анализа.

Гистологические изображения демонстрируют развитие выраженного периваскулярного отека после ЧМТ, который сохраняется до 10-го дня наблюдения. Применение ФБМ, особенно в режиме сна (ЧМТ+ФБМ во сне), продемонстрировало значительный терапевтический эффект. В этой группе отмечалось уменьшение площади повреждения и зоны отёка, и частичное восстановление структуры нейронов. Кроме того, наблюдалась нормализация периваскулярных пространств, что указывало на улучшение дренажной функции мозга. Важно отметить, что группа ЧМТ+ФБМ во сне показала лучшие результаты по сравнению с группой, где ФБМ проводилась в бодрствовании, включая более выраженное уменьшение зоны повреждения.

С целью объективной оценки выявленных морфологических различий был

выполнен количественный анализ размера ПВП и показателя содержания воды в тканях головного мозга у мышей. Уже через 24 часа после ЧМТ размер периваскулярных пространств увеличивался в 2,4 раза по сравнению с ложнооперированной группой, а признаки отёка сохранялись и на 10-е сутки наблюдения. Повышение размеров периваскулярных пространств сопровождалось увеличением содержания воды в мозге на 7% через 1 сутки и на 6% через 10 суток после травмы. Применение фотобиомодуляции способствовало уменьшению выраженности отёка, однако наиболее эффективным оказался курс, проводимый во время сна. Фотобиомодуляция во сне обеспечивала более выраженное восстановление размеров периваскулярных пространств и полностью нормализовала содержание воды в мозге. При этом статистически значимых различий между контрольной и ложнооперированной группами выявлено не было.

На втором этапе исследования была проведена оценка влияния фотобиомодуляции на восстановление размеров желудочковой системы после ЧМТ. Было показано, что в отсутствие терапии вентрикуломегалия прогрессировала с 1-х по 10-е сутки посттравматического периода. Наиболее выраженные изменения наблюдались в левом боковом желудочке на стороне нанесения травмы. Применение 10-дневного курса фотобиомодуляции способствовало уменьшению размеров всех желудочков, при этом терапевтический эффект был значительно выше при проведении процедур во время сна. Размеры желудочков у животных, получавших фотобиомодуляцию во сне, были существенно ближе к значениям ложнооперированной группы по сравнению с животными, получавшими лечение в период бодрствования. Между контрольной и ложнооперированной группами статистически значимых различий также не выявлено.

На третьем этапе исследования был изучен механизм терапевтического действия фотобиомодуляции, связанный с восстановлением дренажной функции мозга. После ЧМТ наблюдалось выраженное снижение распределения FITC-декстрана в структурах мозга и глубоких шейных лимфатических узлах, что

свидетельствовало о нарушении лимфатического оттока. Проведение фотобиомодуляции в период бодрствования не приводило к существенному улучшению исследуемых показателей. В то же время курс фотобиомодуляции во время сна сопровождался значительным усилением дренажа мозга и увеличением накопления маркера в глубоких шейных лимфатических узлах. Полученные результаты подтвердили, что выраженные терапевтические эффекты фотобиомодуляции на восстановление дренажной функции реализуются преимущественно во время сна.

На четвёртом этапе исследования оценивалось влияние фотобиомодуляции на состояние менингеальных лимфатических сосудов. Было установлено, что через 10 суток после ЧМТ диаметр базальных менингеальных лимфатических сосудов достоверно уменьшался, что свидетельствовало о нарушении лимфатического дренажа мозга. Оба режима фотобиомодуляции способствовали восстановлению диаметра сосудов, однако проведение процедур во время сна обеспечивало более выраженный терапевтический эффект по сравнению с бодрствованием. Полученные данные свидетельствуют о том, что фотобиомодуляция во сне способствует восстановлению структуры менингеальных лимфатических сосудов и улучшению дренажной функции мозга после черепно-мозговой травмы.

Выводы. 1. ЧМТ вызывала выраженное нарушение водного баланса мозга: через 24 часа размер ПВП увеличивался в 2,4 раза, а содержание воды возрастало на 7%; к 10-м суткам отёк сохранялся. Курс ФБМ уменьшал периваскулярный отёк, при этом ФБМ во время сна эффективнее восстанавливала размер ПВП и нормализовала содержание воды в мозге по сравнению с ФБМ в бодрствовании.

2. После ЧМТ отмечалось значительное расширение желудочковой системы, что указывает на нарушение циркуляции и оттока спинномозговой жидкости. Без терапии вентрикуломегалия сохранялась и усиливалась к 10-м суткам. ФБМ способствовала уменьшению размеров боковых, третьего и

четвёртого желудочков, причём при проведении процедуры во время сна показатели были в 1,5–2,4 раза ближе к норме, чем при ФБМ в бодрствовании.

3. Анализ распределения FITC-декстрана показал, что ЧМТ подавляет дренажную функцию мозга: снижался флуоресцентный сигнал на дорсальной и вентральной поверхностях мозга, а также в ГШЛУ. ФБМ в бодрствовании обеспечивала только частичное восстановление, тогда как ФБМ во сне достоверно усиливала выведение маркера: в 1,9 раза в дорсальной части, в 2,3 раза в вентральной части и в 2,2 раза в ГШЛУ.

4. Через 10 дней после ЧМТ уменьшался диаметр базальных МЛС, что подтверждает нарушение дренажной системы мозга. Оба режима ФБМ способствовали восстановлению диаметра МЛС, однако ФБМ во время сна была эффективнее примерно в 1,2 раза. Полученные результаты демонстрируют, что сон усиливает терапевтический эффект ФБМ и способствует более выраженному восстановлению дренажной функции мозга после ЧМТ.