

СТРУКТУРНЫЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЭПИЦЕНТРЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ И В ОТДАЛЁННЫХ СЕКМЕНТАХ СПИННОГО МОЗГА КРЫСЫ НА ФОНЕ РЕАБИЛИТАЦИОННОЙ ДВИГАТЕЛЬНОЙ НАГРУЗКИ

Сабиров Д.Х.¹,
Агеева Т.В.¹,
Тимофеева А.В.¹,
Плотникова Е.А.¹,
Архипова С.С.¹,
Давлетшин Э.Ф.¹,
Мухамедшина Я.О.^{1,2}

¹ ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» (420008, г. Казань, ул. Кремлевская, 18, Россия)

² ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России (420012, г. Казань, ул. Бултерова, 49, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Сабиров Давран Худайшукурович,
e-mail: davraniwe@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Травма спинного мозга (ТСМ) приводит к полной или частичной потере чувствительных и/или двигательных функций ниже уровня повреждения вследствие гибели нейронов и нейроглии, дегенерации аксонов и нарушению гемато-спинномозгового барьера (ГСМБ). Двигательная реабилитация является перспективной стратегией для восстановления после ТСМ, но её молекулярные и клеточные механизмы малоизучены, особенно вдали от эпицентра повреждения в области центрального генератора паттерна.

Цель работы. Оценить структурные и молекулярные изменения, происходящие в областях, приближенных (Th_7) и отдалённых (L_2) от эпицентра (Th_8) травмы спинного мозга крысы, на фоне реабилитационной двигательной нагрузки.

Методы. В исследовании моделировали ТСМ крысы на уровне Th_8 . Животные были разделены на контрольную группу (ТСМ) и группу, подвергавшуюся реабилитационной двигательной нагрузке (ТСМ + ДРеаб). Оценка структурных и молекулярных изменений проводилась в грудном (Th_7) и поясничном (L_2) отделах. Количество сохранных миелиновых волокон оценивали с помощью гистологического окрашивания метиленовым синим, степень повреждения ГСМБ – по эпифлуоресценции красителя Эванса. Для анализа экспрессии матричной РНК (мРНК) генов, кодирующих синтез белков перисинаптических отростков астроцитов, использовали количественную полимеразную цепную реакцию.

Результаты. В поясничном отделе (L_2) при реабилитации наблюдалось большее количество миелиновых волокон в кортикоспинальном тракте по сравнению с контрольной группой. Выявлена сильная отрицательная корреляция ($r = -0,761$) между эпифлуоресценцией красителя Эванса и площадью сохранный ткани в области Th_7 – Th_8 у реабилитированных животных, однако эта связь не является статистически значимой. Молекулярный анализ показал, что реабилитация не влияет на поляризацию астроцитов в нейротоксический фенотип и изменения перисинаптических отростков как в приближенных, так и в удалённых областях.

Заключение. Двигательная реабилитация способствует сохранению миелиновых волокон в поясничном отделе и уменьшению повреждения ГСМБ в области, приближенной к ТСМ. Однако проводимая реабилитация не влияет на поляризацию астроцитов и изменения экспрессии мРНК генов, кодирующих синтез белков перисинаптических отростков астроцитов.

Ключевые слова: травма спинного мозга, двигательный тренинг, сегменты Th_7 и L_2 , гемато-спинномозговой барьер, миелиновые волокна, перисинаптические отростки астроцитов

Для цитирования: Сабиров Д.Х., Агеева Т.В., Тимофеева А.В., Плотникова Е.А., Архипова С.С., Давлетшин Э.Ф., Мухамедшина Я.О. Структурные и молекулярные изменения в эпицентре повреждения и в отдалённых сегментах спинного мозга крысы на фоне реабилитационной двигательной нагрузки. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 248-259. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.26

Статья поступила: 25.07.2024

Статья принята: 28.01.2025

Статья опубликована: 13.03.2025

STRUCTURAL AND MOLECULAR CHANGES IN THE EPICENTER OF INJURY AND DISTANT SEGMENTS OF THE RAT SPINAL CORD IN RESPONSE TO REHABILITATIVE MOTOR TRAINING

Sabirov D.Kh.¹,
Ageeva T.V.¹,
Timofeeva A.V.¹,
Plotnikova E.A.¹,
Arkipova S.S.¹,
Davletshin E.F.¹,
Mukhamedshina Ya.O.^{1,2}

¹ Kazan (Volga Region) Federal University
(Kremlevskaya str. 18, Kazan 420008,
Russian Federation)

² Kazan State Medical University
(Butlerova str. 1, Kazan 420012,
Russian Federation)

Corresponding author:
Davran Kh. Sabirov,
e-mail: davraniwe@gmail.com

ABSTRACT

Background. Spinal cord injury (SCI) leads to partial or complete loss of sensory and/or motor functions below the injury site due to neuron and glial cell death, axonal degeneration, and disruption of the blood-spinal cord barrier (BSCB). Motor rehabilitation presents a promising strategy for recovery after SCI, but its molecular and cellular mechanisms remain poorly understood, particularly in regions distant from the injury epicenter within the central pattern generator.

The aim of the study. To assess structural and molecular changes occurring in regions proximal (Th_7) and distal (L_2) to the epicenter of SCI in rats (Th_8) during rehabilitation motor load.

Materials and methods. SCI was induced in rats at the Th_8 level. Animals were divided into a control group (SCI) and a group subjected to motor rehabilitation (SCI + Rehab). Structural and molecular changes were evaluated in the thoracic (Th_7) and lumbar (L_2) regions. The number of preserved myelinated fibers was assessed using methylene blue staining, and BSCB disruption was evaluated through the epifluorescence of Evans blue dye. Quantitative PCR was used to analyze the mRNA expression of genes encoding proteins specific to perisynaptic astrocytic processes. **Results.** In the lumbar region (L_2), motor rehabilitation led to a greater number of myelinated fibers in the corticospinal tract compared to the control group. A strong negative correlation ($r = -0.761$) was observed between Evans blue fluorescence and the area of preserved tissue in the Th_7 – Th_9 region in rehabilitated animals; however, this relationship is not statistically significant. Molecular analysis revealed that rehabilitation did not affect astrocyte polarization into a neurotoxic phenotype or the alteration of perisynaptic processes in both proximal and distal regions.

Conclusion. Motor rehabilitation promotes the preservation of myelinated fibers in the lumbar region and reduces BSCB damage in the area proximal to the SCI. However, rehabilitation does not affect astrocyte polarization or the expression of mRNA genes encoding proteins characteristic of perisynaptic astrocyte processes.

Key words: spinal cord injury, motor training, Th_9 and L_2 segments, blood-spinal cord barrier, myelinated fibers, perisynaptic astrocyte processes

Received: 25.07.2024
Accepted: 28.01.2025
Published: 13.03.2025

For citation: Sabirov D.Kh., Ageeva T.V., Timofeeva A.V., Plotnikova E.A., Arkipova S.S., Davletshin E.F., Mukhamedshina Ya.O. Structural and molecular changes in the epicenter of injury and distant segments of the rat spinal cord in response to rehabilitative motor training. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 248-259. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.26

ВВЕДЕНИЕ

Травма спинного мозга (ТСМ) приводит к серьёзному повреждению нервной ткани и, как следствие, к нарушению двигательной и чувствительной функции. ТСМ характеризуется двухфазным процессом, включающим первичное механическое повреждение с последующим каскадом вторичных событий. Нейроны и глиальные клетки в непосредственной близости от эпицентра травмы подвергаются быстрой гибели в течение нескольких минут и часов. Тем не менее, на значительном удалении от области повреждения также происходят отсроченные процессы дегенерации и апоптоза, опосредованные воспалительными реакциями, окислительным стрессом и эксайтотоксичностью. Указанное выше может приводить к прогрессирующему расширению зоны повреждения и усугублению функциональных дефицитов [1]. В дистальных областях наблюдается дегенерация аксонов, проходящих через зону первичного повреждения и простирающихся в удалённые области, что приводит к утрате синапсов и разрушению нейронных цепей. Такие реакции могут усугубляться нейротоксическими молекулами, проникающими в спинномозговую жидкость, а также инфильтрацией иммунных клеток вследствие нарушения гемато-спинномозгового барьера (ГСМБ). Исследование областей, отдалённых от эпицентра повреждения, может помочь раскрыть механизмы вторичных процессов дегенерации и указать на необходимые стратегии терапии для разработки более эффективных терапевтических подходов.

Несмотря на достижения в области фундаментальной и клинической медицины, восстановление после ТСМ остаётся сложной задачей, часто приводящей к стойкой инвалидизации. Реабилитационные стратегии, особенно дозированные двигательные нагрузки, на сегодняшний день играют основную роль в улучшении функциональных исходов после ТСМ и демонстрирует высокую эффективность у пациентов с лёгкой степенью повреждения, способствуя улучшению или восстановлению нервных функций благодаря активации нейропластичности спинного мозга [2]. Хотя в клинической реабилитационной практике достигнут значительный прогресс, точное понимание взаимосвязи между интенсивностью двигательной нагрузки, степенью тяжести ТСМ и вторичными деструктивными процессами, происходящими в отдалённых от эпицентра травмы областях, требует дальнейшего изучения с учётом понимания уже имеющихся данных [1].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка структурных и молекулярных изменений, происходящих в областях, отдалённых от эпицентра травмы, в том числе на фоне проведения реабилитационной двигательной нагрузки.

Мы проанализировали поясничный отдел спинного мозга (L_2) на модели ТСМ в грудном отделе (Th_8), чтобы исследовать патологические сдвиги на удалении

и сравнить с интенсивностью посттравматических процессов в области, приближенной к эпицентру повреждения (Th_7). Особое внимание мы решили уделить оценке сохранности миелиновых волокон, проницаемости ГСМБ, реактивности астроцитов и микроглии, а также молекулярным изменениям со стороны синаптического компартмента.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Моделирование травмы спинного мозга

Эксперименты проведены на крысах линии Wistar в возрасте 4 мес. (самки весом 200–250 г) из питомника ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства». Животных содержали в условиях вивария с неограниченным доступом к пище и воде при 12-часовом световом режиме. Проведение экспериментального исследования одобрено локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» (протокол № 5 от 22.09.2023).

Крыс оперировали под общим наркозом с использованием золетила (Virbac) (20 мг/кг, внутримышечно) после предварительной премедикации гидрохлоридом ксилазина (10 мг/кг). Разрез кожи производили параллельно позвоночнику, выделяли позвоночный столб и проводили ламинэктомию на уровне Th_8 . Экспериментальная модель дозированной контузионной травмы спинного мозга была осуществлена с помощью импактора Impact One Stereotaxic Impactor (Leica, Германия). Скорость воздействия составляла 1,5 м/с, что соответствует лёгкой степени повреждения. Далее рану послойно зашивали, и в течение 7 суток после операции всем экспериментальным животным внутримышечно вводили энрофлоксацин (10 мг/кг) 1 раз в сутки. В послеоперационном периоде в связи с развитием у животных нарушений мочеиспускания дважды в день проводили механическое опорожнение мочевого пузыря до восстановления его функции.

При развитии паралича задних конечностей животные были случайно распределены на две экспериментальные группы (рис. 1). Опытная группа включала животных с проведённой дозированной контузионной ТСМ и последующей двигательной реабилитацией (ТСМ + ДРеаб; $n = 15$). Контрольной группе животных (ТСМ; $n = 15$) двигательную реабилитацию после ТСМ не проводили. Крысы интактной группы (без моделирования травмы спинного мозга; $n = 15$) были использованы в качестве стандартного контроля.

Двигательный тренинг на беговой дорожке

Физическую нагрузку на беговой дорожке осуществляли на тредмиле Treadmill for Mice and Rats 800 Series (ИИТC Life Science, США). Реабилитацию начинали на 8-й день после ТСМ и проводили в течение 5 дней каждую неделю. Тренировки выполняли в течение 20 мин 2 раза в день с интервалом как минимум 2 ч. Уровень поддержки тела устанавливали в зависи-

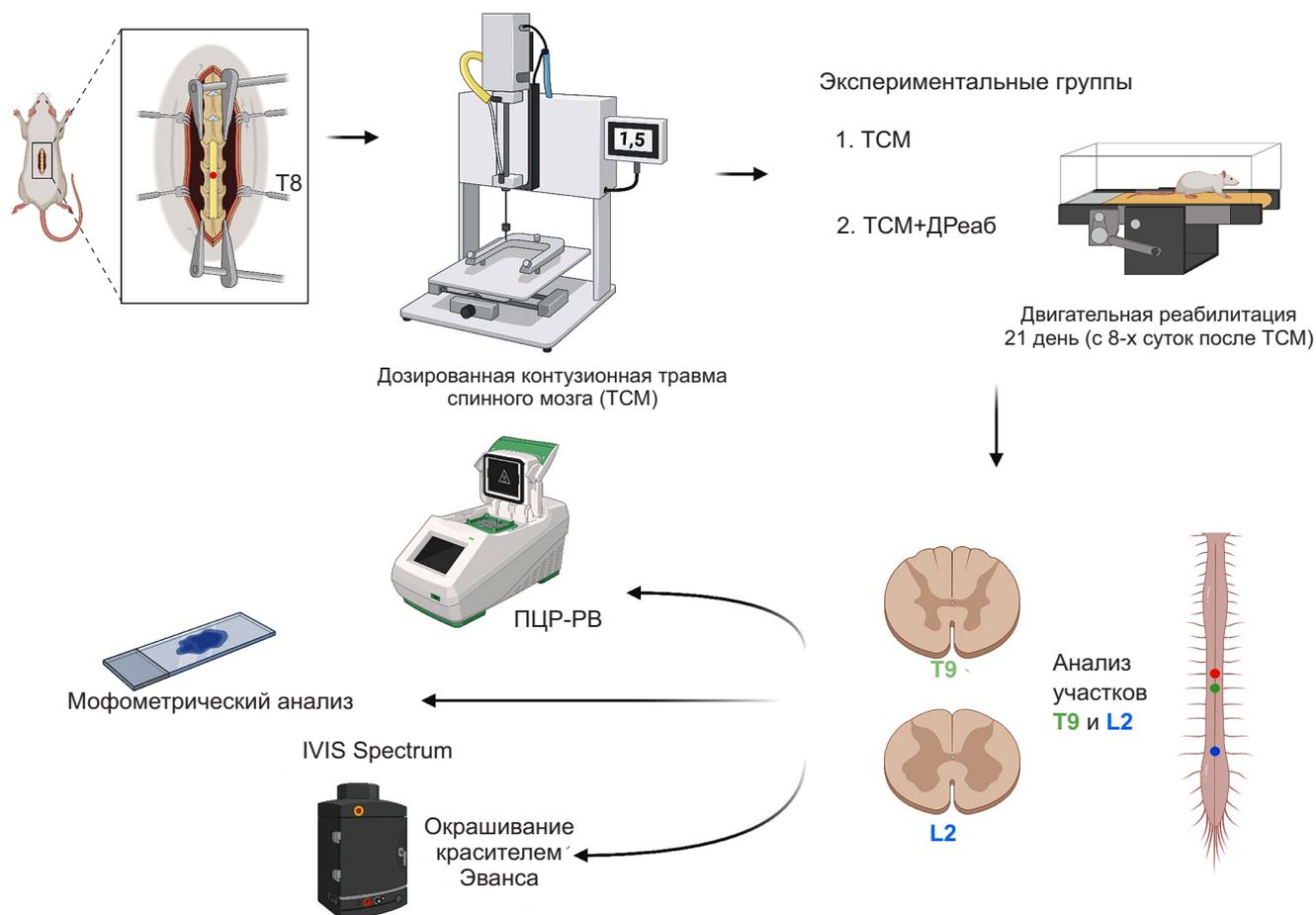


РИС. 1.
Схематическое изображение эксперимента на крысах (рисунок авторов)

FIG. 1.
Schematic representation of the experiment on rats (authors' figure)

мости от функционального восстановления по шкале оценки опорно-двигательной активности Basso, Beattie and Bresnahan (BBB) [3]. Крыс тренировали при скорости от 6 см/с (3,6 м/мин) до 21 см/с (12,6 м/мин) в зависимости от функционального состояния животных, постепенно увеличивая нагрузку. Реабилитация длилась 3 недели. При отсутствии плантарной постановки стопы проводили принудительную плантарную постановку задних лап во время тренировки на беговой дорожке по методу M. Hayashibe и соавт. [4].

Анализ сохранных миелиновых волокон

Через 28 суток после нанесения ТСМ часть животных из интактной и экспериментальных групп ($n = 4$ в каждой группе) были анестезированы и подвергнуты перфузии через левый желудочек сердца 4%-м раствором глутарового альдегида (neoFroxx GmbH, Германия) для последующей подготовки полутонких срезов. После перфузии спинной мозг извлекали, из сегментов Th₉ и L₂ вырезали блоки ткани толщиной 1 мм. Эти тканевые образцы фиксировали в 1%-м растворе глутарового альдегида в течение 12–18 ч, а затем постфиксировали в 1%-м растворе четырёхоксида осмия в течение 1,5 ч. Промывки образцов в буферном растворе (pH = 7,3–7,4) производили в течение 15–30 мин для удаления остатков глутарового

альдегида и четырёхоксида осмия соответственно. Обезживание образцов проводили поэтапно, начиная с растворов этилового спирта с концентрацией от 30 % до 100 % в течение 4–6 ч для полной замены воды в ткани на этиловый спирт, за которым последовала обработка 99,9%-й окисью пропилена в течение 40–60 мин. Пропитка образцов эпоновыми смолами в окиси пропилена проводилась поэтапно с повышением соотношения смола : окись пропилен (1 : 2, 1 : 1, 2 : 1) с непрерывным перемешиванием на протяжении 3 суток. Полимеризацию капсул с образцами в чистой смоле осуществляли в термостате при постепенном повышении температуры от 37 до 60° в течение 3 суток.

Полимерные блоки нарезали на микротоме Leica Ultracut UC7 (Leica, Германия) для получения срезов толщиной 500 нм, необходимых для микроскопического анализа. Полутонкие срезы спинного мозга, окрашенного метиленовым синим (БиоВитрум, Россия), анализировали для подсчёта количества миелиновых волокон. Фотографии были сделаны под микроскопом ZEISS Axio Scope A1 (Carl Zeiss, Германия) при увеличении $\times 100$ (объектив EC Plan-neofluar 100 \times /1.30 Oil M27) с использованием цифровой камеры Zeiss AxioCam 105 Color (Carl Zeiss, Германия). Для подсчёта количества миелиновых волокон были получены изображения трёх раз-

личных областей, а именно главного кортикоспинального тракта (CST, corticospinal tract), вентральных (VF, ventral funiculus) и латеральных (LF, lateral funiculus) канатиков спинного мозга на уровне сегментов Th₉ и L₂. От каждого животного было оцифровано и проанализировано по 5 срезов каждого сегмента. Все измерения повторяли 3 раза с последующим использованием среднего значения.

Оценка сохранности гемато-спинномозгового барьера

Для животных интактной и экспериментальной групп (*n* = 5 в каждой группе) проводили внутривенное болюсное введение 80 мг/кг красителя Эванса (Диаэм) (2 % мас./об. В изотоническом физиологическом растворе). Красителю давали циркулировать в течение 30 мин перед эвтаназией животных. Впоследствии крысам проводили транскардиальную перфузию 0,9%-м раствором NaCl, а затем 4%-м параформальдегидом. Спинной мозг изолировали и постфиксировали в 4%-м параформальдегиде в течение 24 ч.

Далее с помощью системы IVIS Spectrum (Caliper Life Science, США) были получены оптические изображения спинного мозга. Для всех изображений использовались одинаковые настройки съёмки (напряжение лампы, фильтры, апертура, поле зрения и биннинг). Эпифлуоресценцию (эмиссия 660 нм, возбуждение 605 нм для красителя Эванса голубой) измеряли в фотонах в секунду на квадратный сантиметр на стерадиан (γ/с/см²/ср). Количественные данные в каждой интересующей области (ROI, region of interest) собирали и анализировали с помощью программного обеспечения Living Image 2.5 (Caliper Life Sciences, США). Тканевую аутофлуоресценцию (TAF, tissue autofluorescence) измеряли путём визуализации интактного спинного мозга. Исследуемые участки грудного отдела с эпицентром повреждения и поясничного отдела определялись от Th₇ до Th₉ и от L₁ до L₃ соответственно.

Количественная оценка экспрессии матричной РНК генов с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени

Выделяли тотальную РНК из ткани интактного (*n* = 6) и травмированного (*n* = 6 в каждой группе) спинного мозга крыс. Затем выделенную РНК (100 нг) подвергали обратной транскрипции, а синтезированную комплементарную ДНК (кДНК) использовали в качестве матрицы для полимеразной цепной реакции (ПЦР). ПЦР с обратной транскрипцией проводили на термоциклере CT1000 Thermal Cycler (Bio-Rad, США) с использованием 100 ЕД обратной транскриптазы RevertAid (Thermo Fisher Scientific, США), dNTP (Евроген, Россия), 5× реакционного буфера (Евроген, Россия), 100 пмоль случайных гексамерных праймеров и 5 ЕД ингибитора РНКазы по протоколу производителя (25 °С – 10 мин; 42 °С – 60 мин; терминация транскрипции 70 °С – 10 мин). Количественный анализ матричной РНК (мРНК) генов *Olig2*, *CNPase*, *GFAP*, *C3*, *GLT1*, *Ezr*, *Grm3* и *Grm5* проводили с использованием системы ПЦР в реальном времени CFX384 Real-Time System (Bio-Rad, США). Условия амплификации были следующими: 95 °С – 3 мин; 39 циклов: 95 °С – 10 с, 55 °С – 30 с.

Использованные ген-специфичные праймеры представлены в таблице 1.

Каждую реакцию проводили в трёх повторностях. Реакционная смесь для каждой реакции составляла 10 мкл и включала 100 нг разведённой кДНК, 5× qPCRmix-HS SYBR (Евроген, Россия) и 200 нМ каждого праймера. Экспрессию мРНК нормализовали относительно GAPDH.

Статистический анализ

Полученные данные анализировали с использованием программного обеспечения Origin 9.9 SR1 (OriginLab Corp., США). Для анализа полученных результатов использовали ANOVA с критерием Тьюки для множественных сравнений между всеми исследуемыми группами. Все анализы проводились вслепую по отношению к группе с двигательной реабилитацией. Опи-

ТАБЛИЦА 1
ГЕН-СПЕЦИФИЧНЫЕ ПРАЙМЕРЫ, ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ ДЛЯ ПЦР В ИССЛЕДОВАНИИ

TABLE 1
GENE-SPECIFIC PRIMERS USED FOR PCR IN THE STUDY

| Ген | Полное название гена | Прямой праймер (5'-3') | Обратный праймер (5'-3') |
|---------------|--|-----------------------------|--------------------------------|
| <i>GAPDH</i> | Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase | ATG ACT CTA CCC ACG GCA AG | TGG AAG ATG GTG ATG GGT TT |
| <i>Olig2</i> | Oligodendrocyte transcription factor 2 | AGT GCG CGA TGC TAA GCT CT | TGG GCC ACG ACA CAG AAA GA |
| <i>CNPase</i> | 2',3'-Cyclic-nucleotide 3'-phosphodiesterase | AGA CAT AGT GCC CGC AAA G | GCT TGT CCT TAG CTC CTG AG |
| <i>GFAP</i> | Glial fibrillary acidic protein | CCA AAG CCT CAA GGA GGA GA | CGA TGT CCA GGG CTA GCT TA |
| <i>C3</i> | Complement | TAT CCT GCA CTC AGG TAG CG | CAT GAG GTC GAA AGG CAT GG |
| <i>GLT1</i> | Glutamate transporter | AAG CTG ATG GTG GAG TTC TTC | TGC CTA GCA ACC ACT TCT AAG |
| <i>Ezr</i> | Ezrin | GTC ACT CTT GGC TCT TTA GT | TAC TAT TGG AAG CAA CCA GG |
| <i>Grm3</i> | Glutamate metabotropic receptor 3 | GGG TGA GTT TCT ACG TTG TAT | AGG TTT TAT TCC CAT TAT CTT GA |
| <i>Grm5</i> | Glutamate metabotropic receptor 5 | CTC AGC CTA GTT TAT CCA GC | TCA GAG CTC CAA TAG GTA CA |

сательная статистика для количественных переменных представлена как среднее (стандартное отклонение). Для анализа экспрессии мРНК (ПЦР) использовалась средняя стандартная ошибка. Различия между средними значениями экспериментальных групп считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Для оценки сохранности гемато-спинномозгового барьера статистический анализ выполняли с использованием языка программирования Python и его библиотек SciPy и NumPy для вычисления корреляции Пирсона и расчёта 95%-х доверительных интервалов. Коэффициенты корреляции Пирсона и соответствующие им p -значения были рассчитаны с помощью функции Pearson r из библиотеки SciPy.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе гистологического анализа были выявлены изменения в структуре миелиновых нервных волокон в грудном (Th_9) и поясничном (L_2) сегментах обеих экспериментальных групп (ТСМ и ТСМ + ДРеаб). В анализируемых областях наблюдалась деструкция части миелиновых волокон (расслоение и дезинтеграция миелина, образование крупных вакуолей в волокнах большого

диаметра) и формирование на месте дегенерирующих волокон полостей различного диаметра, что отмечено в обеих экспериментальных группах преимущественно в сегменте Th_9 . В части аксонов, кроме выраженной дегенерации миелиновой оболочки, наблюдались признаки деструкции: помутнение и уплотнение содержимого, появление вакуолей с компактным материалом. Чтобы установить, влияет ли двигательная реабилитация на сохранность/ремиелинизацию аксонов после травматического повреждения спинного мозга, мы провели подсчёт количества сохранных миелиновых аксонов у животных на 28-е сутки в экспериментальных группах. Статистически значимых различий по данному критерию не было обнаружено в исследуемых областях (CST, VF и LF) сегмента Th_9 , наиболее приближенного к эпицентру травмы (Th_8) (рис. 2а). Анализ сегмента L_2 экспериментальных групп выявил наличие обширных областей, содержащих сохранные/ремиелинизированные волокна, однако деструкция части миелиновых волокон была также обнаружена. Количество сохранных миелиновых волокон в области CST спинного мозга на уровне сегмента L_2 группы ТСМ + ДРеаб ($69,47 \pm 6,3$) было статистически значимо выше ($p < 0,0005$) при сравнении с группой ТСМ ($55,14 \pm 3,53$) (рис. 2б, в).

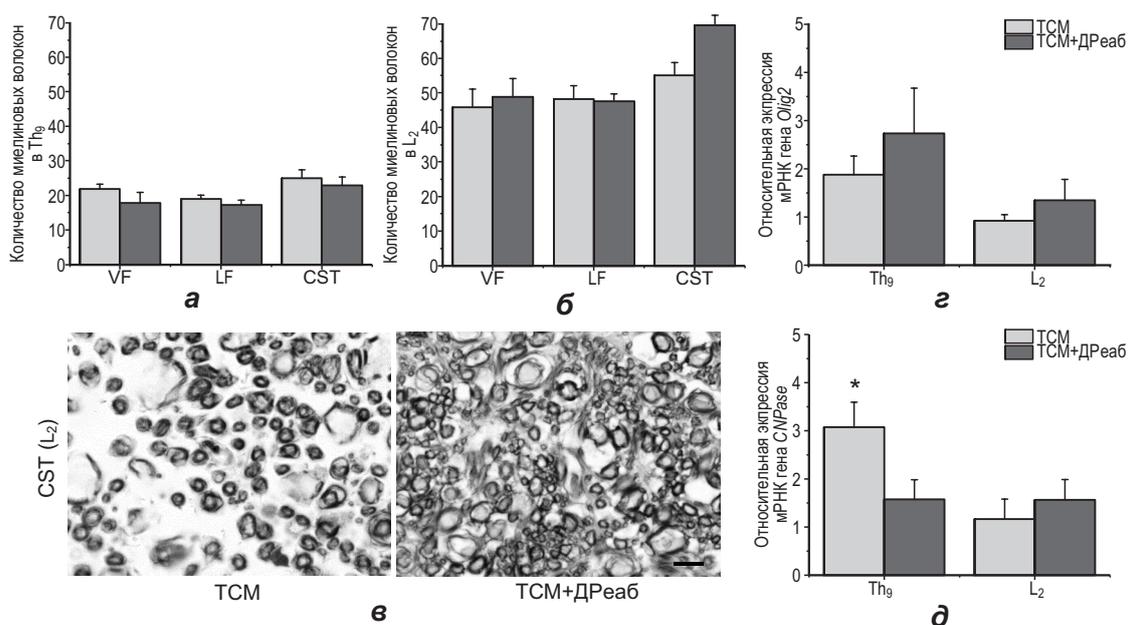


РИС. 2. Количество миелиновых волокон (ось ординат) в сегментах Th_9 (а) и L_2 (б) в зонах подсчёта (VF, LF, CST – оси абсцисс) к 28-м суткам после травмы спинного мозга в группах ТСМ (серые столбцы) и ТСМ + ДРеаб (чёрные столбцы); горизонтальной линией указано $p < 0,05$. в – поперечные срезы спинного мозга контрольной (ТСМ) и экспериментальной (ТСМ + ДРеаб) групп в области CST сегмента L_2 на 28-е сутки после повреждения; окрашивание метиленовым синим, масштаб 20 мкм. Относительная экспрессия мРНК генов Olig2 (з) и CNPase (д) в сегментах Th_9 и L_2 спинного мозга на 28-е сутки после травмы в группах ТСМ (серые столбцы) и ТСМ + ДРеаб (чёрные столбцы). Количество РНК было нормализовано по GAPDH; * – $p < 0,05$ при сравнении с аналогичной группой сегмента L_2

FIG. 2. The number of myelinated fibers (y-axis) in Th_9 (а) and L_2 (б) segments in the counting zones (x-axis: VF – ventral funiculi, LF – lateral funiculi, CST – corticospinal tract) by day 28 after spinal cord injury in the SCI (grey bars) and SCI + Rehab (black bars) groups; horizontal line indicates $p < 0.05$. в – transverse sections of the spinal cord in the control (SCI) and experimental (SCI + Rehab) groups in the CST region of the L_2 segment on day 28 after the injury; stained with methylene blue; scale bar 20 μ m. Relative mRNA expression of Olig2 (з) and CNPase (д) genes in Th_9 and L_2 segments of the spinal cord on day 28 after the injury in the SCI (grey bars) and SCI + Rehab (black bars) groups. RNA levels were normalized with GAPDH; * – $p < 0.05$ compared to the L_2 segment of the corresponding group

Оценка относительной экспрессии мРНК генов *Olig2* и *CNPase*, кодирующих транскрипционный фактор и миелин-ассоциированный фермент олигодендроцитов соответственно, не показала статистически значимых межгрупповых различий ($p > 0,6$ и $p > 0,67$ соответственно) в исследуемых сегментах травмированного спинного мозга на 28-е сутки после повреждения (рис. 2г, д). Стоит отметить, что для молекулярного анализа брали гомогенаты травмированного спинного мозга исследуемых групп в сегментах Th₉ и L₂ без диссекции на зоны VF, LF и CST.

Оптическая визуализация *ex vivo* выявила усиленные сигналы красителя Эванса в спинном мозге крыс группы TCM на 28-е сутки после повреждения (рис. 3а). Статистически значимое увеличение показателя эпифлуоресценции красителя Эванса было обнаружено в эпицентре травмы (между Th₇ и Th₉ сегментами), где в группе TCM концентрация красителя была на 84 % выше ($p < 0,05$) по сравнению с группой TCM + ДРеаб (рис. 3б). В поясничном сегменте (L₁-L₃) значительных различий в уровне эпифлуоресценции красителя Эванса между группами обна-

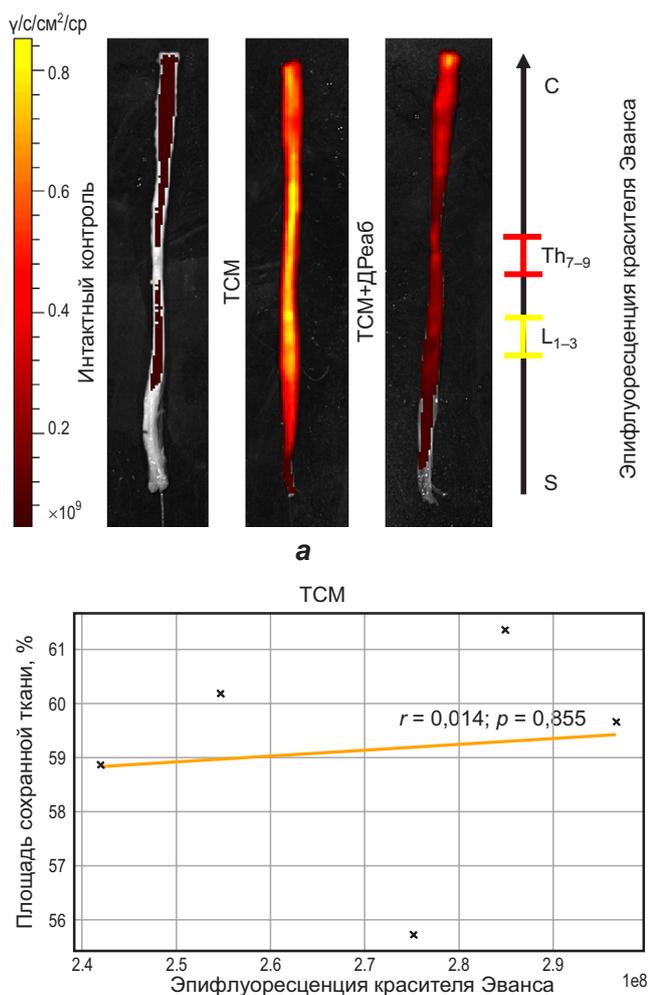


РИС. 3. **а** – оптические изображения спинного мозга крыс контрольных и экспериментальной групп (интактный контроль, TCM и TCM + ДРеаб) с помощью системы IVIS Spectrum (Caliper Life Science, США) при анализе эпифлуоресценции красителя Эванса; **б** – средние значения показателя эпифлуоресценции красителя Эванса в сегментах Th₇-Th₉ и L₁-L₃ контрольной (TCM) и экспериментальной (TCM + ДРеаб) групп (горизонтальная линия указано $p < 0,05$); **в** – количественная оценка взаимосвязи (коэффициент корреляции Пирсона) между морфометрическими данными по сохранности ткани спинного мозга (ось ординат) и средним показателем эпифлуоресценции красителя Эванса (ось абсцисс) в области Th₇-Th₉ контрольной (TCM) и экспериментальной (TCM + ДРеаб) групп

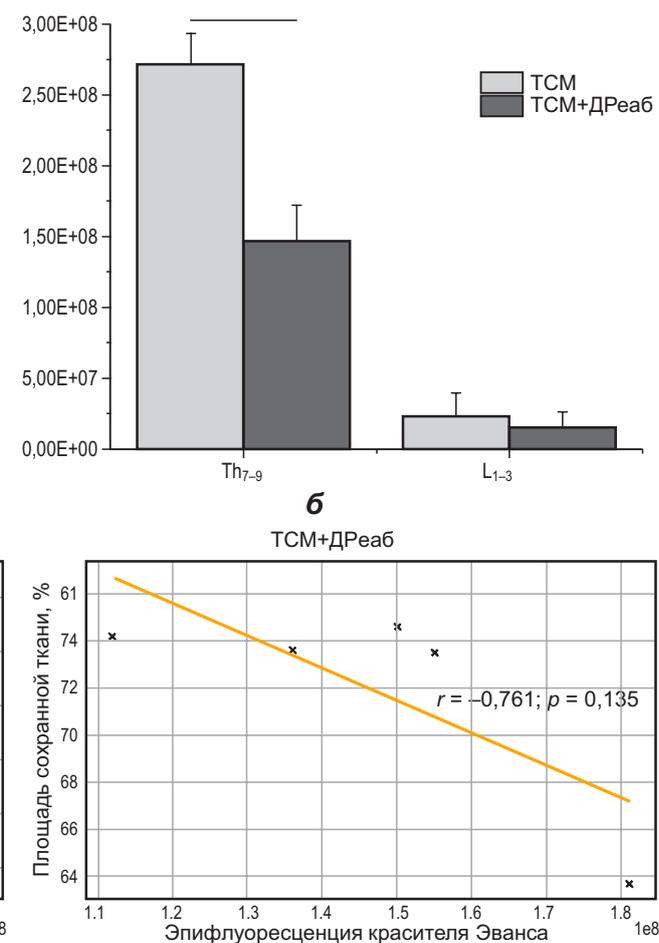


FIG. 3. **a** – optical images of the rat spinal cord in control and experimental groups (intact control, SCI, and SCI + Rehab) using the IVIS Spectrum system (Caliper Life Science, USA) for analysis of Evans blue epifluorescence; **b** – mean values of Evans blue epifluorescence in Th₇-Th₉ and L₁-L₃ segments in the control (SCI) and experimental (SCI + Rehab) groups (horizontal line indicates $p < 0.05$); **c** – quantitative assessment of the correlation (Pearson correlation coefficient) between morphometric data on spinal cord tissue preservation (y-axis) and mean Evans blue epifluorescence (x-axis) in the Th₇-Th₉ region in the control (SCI) and experimental (SCI + Rehab) groups

ружено не было, однако в группе TCM + ДРеаб наблюдалась тенденция к снижению данного показателя (рис. 3б).

Корреляция Пирсона была проведена для количественной оценки взаимосвязи между средним показателем эпифлуоресценции красителя Эванса и морфометрическими данными по сохранности ткани спинного мозга в области Th₇–Th₉ (опубликованные данные [5]). Для контрольной группы (ТСМ) коэффициент корреляции Пирсона составил $r = 0,014$ при $p = 0,855$, что указывает на очень слабую положительную линейную связь между указанными выше показателями, не достигающую статистической значимости (рис. 3в). Для группы TCM + ДРеаб коэффициент корреляции Пирсона был равен $r = -0,761$ при $p = 0,135$, что указывает на сильную отрицательную линейную связь между средним показателем эпифлуоресценции красителя Эванса и площадью сохранённой ткани в области Th₇–Th₉, однако эта связь также не является статистически значимой (рис. 3в). Полученные результаты свидетельствуют о том, что в опытной группе (ТСМ + ДРеаб) по мере снижения показателя эпифлуоресценции площадь сохранной ткани спинного мозга имеет тенденцию к увеличению, тогда как в контрольной группе (ТСМ) нет подобной линейной зависимости между двумя указанными переменными.

В ходе данного исследования мы также решили обратить внимание на реактивность астроцитов и возможные изменения со стороны их перисинаптических отростков как в области, приближенной к TCM (Th₉), так и на удалении (L₂) (табл. 2). Оценка относительной экспрессии мРНК гена *GFAP*, кодирующего синтез белка пан-маркера астроцитов, показала повышение данно-

го показателя в области, приближенной к TCM (Th₉) обеих исследуемых групп (рис. 4а). На удалении в сегменте L₂ мы не обнаружили межгрупповых различий по экспрессии мРНК гена *GFAP*, однако в данной области исследуемый показатель был значительно ниже ($p < 0,016$) в группе TCM + ДРеаб при сравнении с той же группой, но в сегменте Th₉. Оценка экспрессии мРНК гена *C3*, характерного для астроцитов нейротоксического фенотипа, не установила возможность влияния двигательного тренинга на данный показатель (рис. 4б). Анализ экспрессии мРНК генов *GLT1*, *Ezr*, *Grm3* и *Grm5*, кодирующих экспрессию белков, характерных для перисинаптических отростков астроцитов, также не показал статистически значимых изменений между исследуемыми группами как в области, приближенной к эпицентру TCM (Th₉), так и на удалении (L₂) (рис. 4в–е).

ОБСУЖДЕНИЕ

В области, приближенной к эпицентру TCM (Th₉), мы отметили значительное разрушение миелиновых волокон в обеих экспериментальных группах. TCM приводит к быстрой потере олигодендроцитов и дегенерации аксонов, преимущественно каудальнее эпицентра повреждения. Исследования показывают, что при неполном поражении спинного мозга неврологической дисфункции частично обусловлена именно потерей олигодендроцитов [6]. Демиелинизированные аксоны более уязвимы к дегенерации, и своевременная ремиелинизация важна не только для восстанов-

ТАБЛИЦА 2
УРОВНИ ЭКСПРЕССИИ ИССЛЕДУЕМЫХ ГЕНОВ В СЕГМЕНТАХ TH₉ И L₂ СПИННОГО МОЗГА У КРЫС ИЗ ГРУПП TCM И TCM + ДРеаб.

TABLE 2
GENE EXPRESSION LEVELS IN TH₉ AND L₂ SPINAL CORD SEGMENTS IN RATS FROM THE SCI AND SCI + Rehab GROUPS

| Ген | Th ₉ | | L ₂ | |
|---------------|-----------------|--------------|----------------|-------------|
| | ТСМ | ТСМ + ДРеаб | ТСМ | ТСМ + ДРеаб |
| <i>Olig2</i> | 1,88 (0,38) | 2,74 (0,94) | 0,92 (0,12) | 1,35 (0,43) |
| <i>CNPase</i> | 3,07 (0,52) | 1,57 (0,41) | 1,17 (0,41) * | 1,56 (0,42) |
| <i>GFAP</i> | 3,01 (0,86) | 4,56 (0,7) * | 0,97 (0,23) | 1,52 (0,17) |
| <i>C3</i> | 2,40 (0,46) | 2,52 (0,35) | 1,7 (0,46) | 2,35 (0,4) |
| <i>GLT1</i> | 0,82 (0,16) | 0,62 (0,04) | 0,67 (0,11) | 0,99 (0,16) |
| <i>Ezr</i> | 1,78 (0,56) | 1,14 (0,29) | 0,39 (0,05) | 1,28 (0,32) |
| <i>Grm3</i> | 0,8 (0,12) | 1,68 (0,56) | 1,46 (0,22) | 2,27 (1,07) |
| <i>Grm5</i> | 1,85 (0,42) | 2,23 (0,68) | 0,98 (0,25) | 2,21 (0,94) |

Примечание. * – $p < 0,05$ в сравнении с той же группой в другом сегменте.

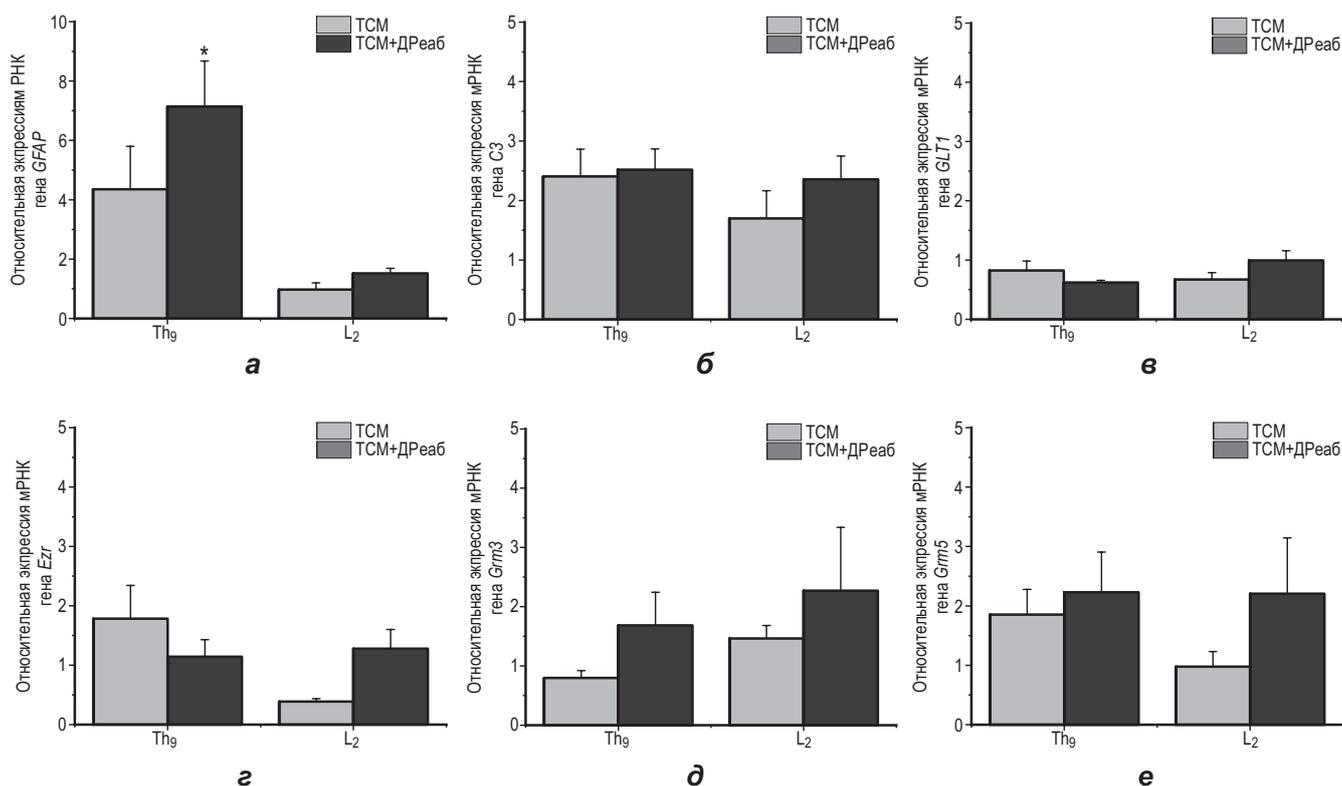


РИС. 4. Относительная экспрессия мРНК генов GFAP (а), C3 (б), GLT1 (в), Ezr (г), Grm3 (д) и Grm5 (е) в сегментах Th₉ и L₂ спинного мозга на 28-е сутки после травмы в группах TCM (серые столбцы) и TCM + ДРеаб (чёрные столбцы); количество РНК было нормализовано по GAPDH; * – $p < 0,05$ при сравнении с аналогичной группой сегмента L₂

FIG. 4. Relative mRNA expression of GFAP (a), C3 (б), GLT1 (в), Ezr (г), Grm3 (д), and Grm5 (е) genes in Th₉ and L₂ segments of the spinal cord on day 28 after the injury in the SCI (grey bars) and SCI + Rehab (black bars) groups; RNA levels were normalized with GAPDH; * – $p < 0.05$ compared to the L₂ segment of the corresponding group

ления проводимости, но и для предотвращения дальнейшей нейродегенерации [7, 8]. В этой связи одной из целей двигательной реабилитации являются сохранение и ремиелинизация уязвимых аксонов, что критично для функционального восстановления [9]. Отсутствие статистически значимых различий в количестве сохранных миелиновых волокон между группами TCM и TCM + ДРеаб в сегменте Th₉ свидетельствует о том, что двигательная реабилитация не оказывает заметного влияния на данный показатель в области, приближенной к эпицентру повреждения, вследствие значительных структурных изменений, опосредованных вторичным повреждением [10].

Деструкция части миелиновых волокон обнаружена нами и на значительном удалении от эпицентра повреждения в сегменте L₂, где в зоне CST выявлено большее количество сохранных миелиновых волокон в группе с двигательной реабилитацией (TCM + ДРеаб), в отличие от контрольной группы (TCM). Ранее было показано, что аксоны CST могут прорасти и образовывать новые контакты с сохранными супраспинальными или неповреждёнными проприоспинальными нейронами [11, 12]. В то же время пластичность и реорганизация как сохранных, так и повреждённых проприоспинальных связей оказываются значимыми для восстановления функции нейронных сетей при TCM [13, 14].

Молекулярный анализ показал отсутствие значительных межгрупповых различий в экспрессии мРНК генов *Olig2* и *CNPase*. С одной стороны, это позволяет предположить, что двигательные тренировки могут не оказывать существенного влияния на экспрессию генов, связанных с олигодендроцитами, через 28 дней после TCM, а с другой стороны, эти результаты лишь показывают картину в целом без динамических и региональных (т. е. по трактам белого вещества спинного мозга) особенностей.

Дезинтеграция ГСМБ в эпицентре TCM способствует усиленной трансмиграции иммунных клеток и высвобождению цитотоксических молекул [15, 16]. Однако следует учитывать, что проницаемость барьера возрастает не только в эпицентре повреждения, но и практически по всей длине спинного мозга. Указанное обстоятельство может быть значимым и для поясничного отдела спинного мозга, где локализуются нейроны центрального генератора паттерна, критически важные для поддержания и восстановления двигательной функции [1]. Краситель Эванса используется как маркер для оценки проницаемости ГСМБ и целостности сосудов. Увеличение эпифлуоресценции красителя Эванса в эпицентре повреждения спинного мозга указывает на повышенную проницаемость барьера в этой области для крыс контрольной группы (TCM) на 28-е сутки после трав-

мы. Наши результаты подтвердили полученные ранее данные о том, что двигательная реабилитация играет роль в защите ГСМБ, предотвращая его дальнейшее повреждение [17], что объясняет снижение концентрации красителя в сегментах Th₇–Th₉ в группе TCM + ДРеаб. В то же время стоит отметить, что в поясничном отделе (L₁–L₃) статистически значимых различий в уровне эпифлуоресценции красителя Эванса между группами TCM и TCM + ДРеаб не было обнаружено, но проницаемость ГСМБ всё же была выше при сравнении с интактной группой.

Наблюдаемая отрицательная корреляция между эпифлуоресценцией красителя Эванса и площадью сохранной ткани в группе TCM + ДРеаб ($r = -0,761$; $p = 0,135$) указывает на тенденцию к положительному влиянию двигательной реабилитации на поддержание целостности ГСМБ и уменьшение воспаления, опосредующего вторичное повреждение. Однако данная корреляция не является статистически значимой ($p > 0,05$), что ограничивает возможность делать однозначные выводы. Ранее проведенные исследования показывают, что двигательная активность способствует ремиелинизации и нейропластичности [18, 19]. Тем не менее, в литературе отсутствуют исследования, определяющие корреляцию между проницаемостью ГСМБ и сохранностью нервной ткани. Это подчёркивает уникальность и значимость наших результатов, указывая на необходимость дальнейшего изучения этого аспекта. Измерение эпифлуоресценции может служить полезным индикатором проницаемости ГСМБ и уровня воспаления, что имеет прямое отношение к сохранности ткани после ТСМ. Тем не менее, будущие исследования должны быть направлены на выяснение молекулярных и клеточных механизмов, опосредующих указанный положительный эффект, а также на воплощение полученных результатов в эффективные реабилитационные стратегии для пациентов с ТСМ. Раннее начало реабилитационных программ, способствующих развитию двигательной активности, может помочь минимизировать вторичные повреждения, поддержать ремиелинизацию и улучшить функциональные результаты. Однако необходимы дальнейшие исследования для определения оптимальных сроков, интенсивности и продолжительности мероприятий по двигательной реабилитации для достижения максимального протективного эффекта для нервной ткани.

Повышение экспрессии мРНК гена *GFAP* в области, приближенной к эпицентру повреждения (Th₉), в обеих исследуемых группах указывает на возникшую реактивность астроцитов в ответ на ТСМ. Этот эффект известен и согласуется с результатами предшествующих исследований, в которых сообщалось о повышении экспрессии *GFAP* после ТСМ, что связано с астроглиозом и формированием глиального рубца [20, 21]. В отличие от увеличения реактивности астроцитов в целом, экспрессия мРНК гена *C3*, характерного для астроцитов с нейротоксическим фенотипом, не показала значительных различий между группами TCM и TCM + ДРеаб в сегментах Th₉ и L₂. Двигательная реабилитация, по всей видимости, не может оказывать существенного влияния на поляри-

зацию астроцитов в сторону нейротоксического фенотипа. Этот вывод заслуживает внимания, поскольку реактивные астроциты вовлечены в усугубление нейровоспаления и вторичного повреждения после ТСМ [22].

Травма спинного мозга инициирует сложную последовательность патофизиологических процессов, которые можно разделить на острый, подострый и хронический этапы. В острой фазе происходит первичное механическое повреждение тканей и нарушение гемато-спинномозгового барьера, за которым следует подострая фаза с активным участием астроцитов в процессах воспаления и ремоделирования [23]. Астроциты играют ключевую роль в регуляции нейровоспаления и формировании глиального рубца, влияя на восстановление после травмы [24]. Наше исследование, проведенное через 28 дней после ТСМ, соответствует переходу от подострой к хронической фазе, когда влияние астроцитов на восстановительные процессы остаётся значимым.

Отсутствие значимых изменений в экспрессии мРНК генов *GLT1*, *Ezr*, *Grm3* и *Grm5* между исследуемыми группами позволяет предположить, что двигательная реабилитация может не оказывать существенного влияния на ремоделирование перисинаптических отростков астроцитов в травмированном спинном мозге как в области, приближенной (Th₉), так и в области, удаленной (L₂) от эпицентра повреждения. Перисинаптические отростки астроцитов играют важную роль в синаптической передаче, поглощении нейротрансмиттеров и модуляции синаптической пластичности [25, 26]. Однако стоит отметить, что внимание исследователей на перисинаптические отростки астроцитов в спинном мозге направлено в большей степени в случае нейропатической боли, в развитии которой они играют ключевую роль [27]. Ранее нами показано, что ТСМ крысы приводит к усилению экспрессии протоплазматическими астроцитами NG2 протеогликана, в том числе в области их перисинаптических отростков, к 7-м и 30-м суткам повреждения и на удалении от эпицентра повреждения [28]. В связи с активно разрабатываемой концепцией о роли глии в функционировании синапсов несомненный интерес представляет продолжение исследований перисинаптических отростков астроцитов и их роли в регулировании синаптической активности при ТСМ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наше исследование показывает, что двигательная реабилитация может способствовать сохранности миелинизированных аксонов в области CST на значительном удалении от области повреждения. Несмотря на то, что наблюдалась тенденция к отрицательной корреляции между проницаемостью гемато-спинномозгового барьера и сохранностью ткани спинного мозга в группе TCM + ДРеаб, данная связь не была статистически значимой. Это подчёркивает необходимость проведения дальнейших исследований с большим размером выборки для подтверждения потенциального протек-

тивного эффекта двигательной реабилитации на гемато-спинномозговой барьер и его связь с сохранностью ткани. Хотя двигательная реабилитация может оказывать ограниченное влияние на экспрессию мРНК генов, связанных с реактивностью астроцитов и их перисинаптическими отростками, важно признать, что позитивные эффекты двигательной реабилитации могут быть опосредованы другими механизмами. Дальнейшие исследования потенциального синергетического эффекта при сочетании двигательной реабилитации с другими целевыми мероприятиями, направленными на модулирование функции глиальных клеток и синаптической пластичности, могут представить ценные сведения для оптимизации функционального восстановления после ТСМ.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-75-10041; <https://rscf.ru/project/23-75-10041/>).

Конфликт интересов

Авторы подтверждают отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Chelyshev Yu. More attention on segments remote from the primary spinal cord lesion site. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2022; 27(8): 235. doi: 10.31083/j.fbl2708235
- Duan R, Qu M, Yuan Y, Lin M, Liu T, Huang W, et al. Clinical benefit of rehabilitation training in spinal cord injury. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2021; 46(6): E398-E410. doi: 10.1097/BRS.0000000000003789
- Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J Neurotrauma*. 1995; 12(1): 1-21. doi: 10.1089/neu.1995.12.1
- Hayashibe M, Homma T, Fujimoto K, Oi T, Yagi N, Kashi-hara M, et al. Locomotor improvement of spinal cord-injured rats through treadmill training by forced plantar placement of hind paws. *Spinal Cord*. 2016; 54(7): 521-529. doi: 10.1038/sc.2015.186
- Ageeva T, Sabirov D, Sufianov A, Davletshin E, Plotnikova E, Shigapova R, et al. The impact of treadmill training on tissue integrity, axon growth, and astrocyte modulation. *Int J Mol Sci*. 2024; 25(7): 3772. doi: 10.3390/ijms25073772
- Pukos N, Goodus MT, Sahinkaya FR, McTigue DM. Myelin status and oligodendrocyte lineage cells over time after spinal cord injury: What do we know and what still needs to be unwrapped? *Glia*. 2019; 67(11): 2178-2202. doi: 10.1002/glia.23702
- Alizadeh A, Dyck SM, Karimi-Abdolrezaee S. Myelin damage and repair in pathologic CNS: Challenges and prospects. *Front Mol Neurosci*. 2015; 8: 35. doi: 10.3389/fnmol.2015.00035
- Mei F, Lehmann-Horn K, Shen YAA, Rankin KA, Stebbins KJ, Lorrain DS, et al. Accelerated remyelination during inflammatory demyelination prevents axonal loss and improves functional recovery. *Elife*. 2016; 5: e18246. doi: 10.7554/eLife.18246
- Zawadzka M, Yeghiazaryan M, Niedziółka S, Miazga K, Kwaśniewska A, Bekisz M, et al. Forced remyelination promotes axon regeneration in a rat model of spinal cord injury. *Int J Mol Sci*. 2022; 24(1): 495. doi: 10.3390/ijms24010495
- Anwar MA, Al Shehabi TS, Eid AH. Inflammogenesis of secondary spinal cord injury. *Front Cell Neurosci*. 2016; 10. URL: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fncel.2016.00098/abstract> [date of access: 17.07.2024].
- Martin J. Harnessing neural activity to promote repair of the damaged corticospinal system after spinal cord injury. *Neural Regen Res*. 2016; 11(9): 1389-1391. doi: 10.4103/1673-5374.191199
- Jiang YQ, Zaaimi B, Martin JH. Competition with primary sensory afferents drives remodeling of corticospinal axons in mature spinal motor circuits. *J Neurosci*. 2016; 36(1): 193-203. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3441-15.2016
- Flynn JR, Graham BA, Galea MP, Callister RJ. The role of propriospinal interneurons in recovery from spinal cord injury. *Neuropharmacology*. 2011; 60(5): 809-822. doi: 10.1016/j.neuropharm.2011.01.016
- Bareyre FM, Kerschensteiner M, Raineteau O, Mettenleiter TC, Weinmann O, Schwab ME. The injured spinal cord spontaneously forms a new intraspinal circuit in adult rats. *Nat Neurosci*. 2004; 7(3): 269-277. doi: 10.1038/nn1195
- Noble LJ, Donovan F, Igarashi T, Goussev S, Werb Z. Matrix metalloproteinases limit functional recovery after spinal cord injury by modulation of early vascular events. *J Neurosci*. 2002; 22(17): 7526-7535. doi: 10.1523/JNEUROSCI.22-17-07526.2002
- Wells JEA, Rice TK, Nuttall RK, Edwards DR, Zekki H, Rivest S, et al. An adverse role for matrix metalloproteinase 12 after spinal cord injury in mice. *J Neurosci*. 2003; 23(31): 10107-10115. doi: 10.1523/JNEUROSCI.23-31-10107.2003
- Ying X, Xie Q, Li S, Yu X, Zhou K, Yue J, et al. Water treadmill training attenuates blood-spinal cord barrier disruption in rats by promoting angiogenesis and inhibiting matrix metalloproteinase-2/9 expression following spinal cord injury. *Fluids Barriers CNS*. 2020; 17(1): 70. doi: 10.1186/s12987-020-00232-1
- Faw TD, Lakhani B, Schmalbrock P, Knopp MV, Lohse KR, Kramer JLK, et al. Eccentric rehabilitation induces white matter plasticity and sensorimotor recovery in chronic spinal cord injury. *Exp Neurol*. 2021; 346: 113853. doi: 10.1016/j.expneurol.2021.113853
- Cheng J, Shen W, Jin L, Pan J, Zhou Y, Pan G, et al. Treadmill exercise promotes neurogenesis and myelin repair via upregulating Wnt/ β -catenin signaling pathways in the juvenile brain following focal cerebral ischemia/reperfusion. *Int J Mol Med*. 2020; 45(5): 1447-1463. doi: 10.3892/ijmm.2020.4515
- Mukhamedshina YO, Akhmetzyanova ER, Kostennikov AA, Zakirova EY, Galieva LR, Garanina EE, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cell application combined with fibrin matrix promotes structural and functional recovery following spinal cord injury in rats. *Front Pharmacol*. 2018; 9: 343. doi: 10.3389/fphar.2018.00343
- Kabdeshe IM, Mukhamedshina YO, Arkhipova SS, Sabirov DK, Kuznecov MS, Vyshtakalyuk AB, et al. Cellular and molecular gradients in the ventral horns with increasing distance from the injury site after spinal cord contusion. *Front Cell Neurosci*. 2022; 16: 817752. doi: 10.3389/fncel.2022.817752
- Yu G, Zhang Y, Ning B. Reactive astrocytes in central nervous system injury: Subgroup and potential therapy. *Front Cell Neurosci*. 2021; 15: 792764. doi: 10.3389/fncel.2021.792764
- Hu X, Xu W, Ren Y, Wang Z, He X, Huang R, et al. Spinal cord injury: Molecular mechanisms and therapeutic interven-

tions. *Signal Transduct Target Ther.* 2023; 8(1): 245. doi: 10.1038/s41392-023-01477-6

24. Lima R, Monteiro A, Salgado AJ, Monteiro S, Silva NA. Pathophysiology and therapeutic approaches for spinal cord injury. *Int J Mol Sci.* 2022; 23(22): 13833. doi: 10.3390/ijms232213833

25. Bernardinelli Ya, Muller D, Nikonenko I. Astrocyte-synapse structural plasticity. *Neural Plast.* 2014; 2014: 232105. doi: 10.1155/2014/232105

26. Schiweck J, Eickholt BJ, Murk K. Important shapeshifter: Mechanisms allowing astrocytes to respond to the changing

nervous system during development, injury and disease. *Front Cell Neurosci.* 2018; 12: 261. doi: 10.3389/fncel.2018.00261

27. Ko HG, Chun H, Han S, Kaang BK. Role of spinal astrocytes through the perisynaptic astrocytic process in pathological pain. *Mol Brain.* 2023; 16(1): 81. doi: 10.1186/s13041-023-01069-z

28. Kabdesh IM, Arkhipova SS, Mukhamedshina YO, James V, Rizvanov AA, Chelyshev YA. The function of NG2/CSPG4-expressing cells in the rat spinal cord injury: An immunoelectron microscopy study. *Neuroscience.* 2021; 467: 142-149. doi: 10.1016/j.neuroscience.2021.05.031

Сведения об авторах

Сабиров Давран Худайшукурович – младший научный сотрудник НИЛ «Генные и клеточные технологии», ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», e-mail: davraniwe@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0770-7167>

Агеева Татьяна Вячеславовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник НИЛ «Генные и клеточные технологии», ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», e-mail: t.povysheva@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3384-1450>

Тимофеева Анна Викторовна – младший научный сотрудник НИЛ «Генные и клеточные технологии», ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», e-mail: anua_tima@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3393-6775>

Плотникова Елизавета Александровна – младший научный сотрудник НИЛ «Генные и клеточные технологии», ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», e-mail: liza.plotnikova0@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0001-4041-2435>

Архипова Светлана Сергеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник НИЛ «Генные и клеточные технологии», ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», e-mail: svetlanaarkhipova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4082-515X>

Давлетшин Эльдар Фанилевич – младший научный сотрудник НИЛ «Генные и клеточные технологии», ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», e-mail: eldar.davletschin@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8784-3200>

Мухамедшина Яна Олеговна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник НИЛ «Генные и клеточные технологии», ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»; доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: yana.k-z-n@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9435-340X>

Information about the authors

Davran Kh. Sabirov – Junior Research Officer at the Laboratory of Gene and Cell Technologies, Kazan (Volga Region) Federal University, e-mail: davraniwe@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0770-7167>

Tatyana V. Ageeva – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Gene and Cell Technologies, Kazan (Volga Region) Federal University, e-mail: t.povysheva@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3384-1450>

Anna V. Timofeeva – Junior Research Officer at the Laboratory of Gene and Cell Technologies, Kazan (Volga Region) Federal University, e-mail: anua_tima@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3393-6775>

Elizaveta A. Plotnikova – Junior Research Officer at the Laboratory of Gene and Cell Technologies, Kazan (Volga Region) Federal University, e-mail: liza.plotnikova0@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0001-4041-2435>

Svetlana S. Arkhipova – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Gene and Cell Technologies, Kazan (Volga Region) Federal University, e-mail: svetlanaarkhipova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4082-515X>

Eldar F. Davletschin – Junior Research Officer at the Laboratory of Gene and Cell Technologies, Kazan (Volga Region) Federal University, e-mail: eldar.davletschin@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8784-3200>

Yana O. Mukhamedshina – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Laboratory of Gene and Cell Technologies, Kazan (Volga Region) Federal University; Associate Professor at the Department of Histology, Cytology, and Embryology, Kazan State Medical University, e-mail: yana.k-z-n@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9435-340X>

Вклад авторов

Сабиров Д.Х. – моделирование травмы спинного мозга и сбор материала; статистическая обработка данных; анализ полученных данных; работа с иллюстрациями.

Агеева Т.В. – концепция и дизайн исследования; написание текста статьи.

Тимофеева А.В. – молекулярный анализ полученных образцов; статистическая обработка данных.

Плотникова Е.А. – проведение двигательного тренинга; сбор материала.

Архипова С.С. – морфометрический анализ.

Давлетшин Э.Ф. – оценка проницаемости гемато-спинномозгового барьера; анализ полученных данных.

Мухамедшина Я.О. – концепция и дизайн исследования; написание текста статьи.

Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.