

На правах рукописи



Вадюхин Матвей Анатольевич

**Нейроваскулярные и иммунные аспекты клеточно-тканевого ответа при инфаркте
головного мозга в разные периоды постнатального онтогенеза**

1.5.23. Биология развития, эмбриология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2026

Работа выполнена на базе федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет).

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

Демяшкин Григорий Александрович

Официальные оппоненты:

Салмина Алла Борисовна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Российский центр неврологии и нейронаук», главный научный сотрудник

Зиматкин Сергей Михайлович – доктор биологических наук, профессор, Учреждение образования «Гродненский государственный медицинский университет», кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии, заведующий кафедрой

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «22» мая 2026 года в 15:00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.37 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2.

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной учебной библиотеке ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) (119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д. 37/1) и на сайте организации: <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан « » _____ 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

кандидат медицинских наук



Миронцев Артем Владимирович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Ишемический инсульт остается одной из наиболее значимых медицинских и социально-экономических проблем современности, занимая одну из лидирующих позиций по уровню заболеваемости, инвалидизации и смертности взрослого населения. По данным ВОЗ, ежегодно инсульт поражает более 15 миллионов человек. Несмотря на активное развитие методов реперфузионной терапии (включая тромболитические / эндоваскулярные вмешательства) и нейропротекции, эффективность лечения ишемического инсульта остается ограниченной, что связано, в том числе, с высокой гетерогенностью патологических процессов, происходящих в ишемизированной ткани. Важную роль в определении прогноза и исходов ИИ исследователи отводят мультимодальному вторичному повреждению, уровням компенсаторно-адаптационного потенциала, пластичности нервной ткани, нейро- и ангиогенеза в пенумбре.

Понимание закономерностей эмбрионального развития компонентов нейроваскулярной единицы позволяет раскрыть механизмы физиологической регуляции нейрогенеза и ангиогенеза в постнатальном онтогенезе, а также возраст-ассоциированных особенностей клеточно-тканевого ответа при ишемическом повреждении. После рождения сохраняется сопряженная регуляция пролиферации / миграции нейрональных предшественников и ангиогенеза под контролем каскадов Notch, Wnt/ β -catenin, Sonic hedgehog, VEGF, TGF- β , и др., участвующих в поддержании локального гомеостаза и обновлении клеточного пула, определяя компенсаторно-адаптационный и пластический потенциал нервной ткани в течение всей жизни.

Конкретные механизмы изменений в головном мозге, обуславливающие более тяжелое клиническое течение ишемического инсульта среди пожилых пациентов, остаются дискуссионными и малоизученными. Увеличение количества сопутствующих заболеваний по мере старения сопровождается дисрегуляцией сигнальных путей, ответственных за модуляцию клеточно-тканевого ответа и степень воспалительной реакции и др. Кроме того, с возрастом замедляется трансформация стволовых клеток нейрогенной ниши, формирование новых нейронов и элементов нейроглии, что служит морфологическим субстратом снижения пластической функции головного мозга у пожилых пациентов. Однако, на молекулярном уровне взаимоотношения перечисленных возраст-ассоциированных физиологических механизмов с элементами патогенеза ишемического повреждения противоречивы.

Заложенные еще на эмбриональном этапе механизмы регуляции нейрогенеза, ангиогенеза и клеточно-тканевого ответа, ответственные за реализацию компенсаторно-адаптационного потенциала и нейропластичности в постнатальном онтогенезе как в нормальных условиях, так и при ишемическом инсульте, наиболее полно раскрываются в контексте фундаментальных положений биологии развития.

Степень разработанности темы исследования

В настоящее время, экспериментальные исследования играют ключевую роль в изучении патогенеза ишемического повреждения головного мозга (модели окклюзии основных артерий, фотохимические и термические индукторы ишемии). Несмотря на условную возможность трансляции полученных у лабораторных животных данных на человека, некоторые механизмы патогенеза, включая таксис и миграцию иммунных клеток, активацию микроглии, очаговую нейрональную гибель, отек, и др. могут существенно различаться вследствие межвидового несоответствия геномики, протеомики, метаболомики и др. Это может служить причиной низкой воспроизводимости результатов, полученных в исследованиях на животных, при переходе к клиническим испытаниям, включая многочисленные неудачи применения нейропротекторных субстратов. В связи с этим, уникальным представляется получение новых данных в комплексных исследованиях, проведенных на аутопсийных образцах головного мозга человека, что позволит изучить ключевые звенья патогенеза ишемического инсульта, а также определить вероятные причины неэффективности апробированных на животных нейротропных лекарственных средств и конкретные молекулярные мишени для разработки таргетной нейропротективной терапии.

По данным мировой литературы, при ишемическом инсульте в зоны некроза и пенумбры мигрируют различные популяции иммунных клеток (субпопуляции Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов, клеток макрофагального ряда, нейтрофилы и др.) в сочетании с активацией микроглии, однако практически отсутствуют исследования, посвященные иммунофенотипированию клеточного воспалительного инфильтрата и изменению локального гомеостаза нервной ткани в зависимости от его популяционного состава. Ряд авторов отводит особую роль в патогенезе ишемического инсульта эндотелиальным клеткам кровеносных сосудов и связанной с ними регуляции проницаемости гематоэнцефалического барьера. Так, двойственные эффекты этих сложно регулируемых систем по-прежнему остаются предметом дискуссий и заключаются как в повышении проницаемости гемокapилляров, отеке и усугублении ишемии, так и в активации ангиогенеза в рамках компенсаторно-адаптационной реакции, что приводит к усилению прорегенераторных эффектов и улучшению клинического течения ишемического инсульта. Кроме того, комплексные исследования, посвященные анализу взаимодействия компонентов нейроваскулярной единицы и иммунных аспектов клеточно-тканевой реакции в ответ на ишемическое повреждение немногочисленны и противоречивы. При этом, в большинстве опубликованных на сегодняшний день экспериментальных и клинических исследований отсутствует распределение выборки по возрасту, что приводит к большому количеству ложноположительных результатов и низкой трансляционной эффективности большинства нейротропных препаратов, что может быть связано с возраст-ассоциированными различиями в степени нейрогенеза и ангиогенеза.

Таким образом, понимание взаимоотношений между различными популяциями клеток как ключевого звена регуляции локального гомеостаза в коре головного мозга, а также влияние на них возрастных изменений нейрогенеза и ангиогенеза в норме и при ишемическом инсульте может способствовать не только пониманию молекулярных механизмов этих изменений, но и разработке персонализированных стратегий нейротропной терапии и реабилитации при различных состояниях, связанных с нейродегенерацией и нейровоспалением.

Цель и задачи исследования

Цель исследования – выявление взаимодействия нейроваскулярных и иммунных факторов при инфаркте коры головного мозга в разные периоды постнатального онтогенеза.

Задачи исследования:

1. Провести сравнительный морфологический анализ возрастных изменений вещества головного мозга в разные периоды постнатального онтогенеза в норме и при ишемии.
2. Провести количественную и качественную оценку ко-локализации маркеров NeuN⁺NSE⁺caspase-3, а также экспрессии *PIK3CA*, *AKT2*, *MTOR*, *FOXO3A* в веществе головного мозга в разные периоды постнатального онтогенеза в норме и при ишемии.
3. Оценить количественные и качественные характеристики эндотелиальных клеток (CD31, CD105), продуцирующих VEGF-A и TGF- β , в веществе головного мозга в разные периоды постнатального онтогенеза в норме и при ишемии.
4. Провести иммунофенотипическую оценку макрофагов на основании ко-локализации маркеров CD68⁺CD163⁺TGF- β , анализ уровней экспрессии генов *IL-1*, *IL-6*, *IL-10*, *TNF- α* , участников триггерных сигнальных путей TGF- β (*SMAD2*, *SMAD3*, *MMP2*, *MMP9*) и NF κ B (*RELA(p65)*) в веществе головного мозга в разные периоды постнатального онтогенеза в норме и при ишемии.
5. Провести анализ ко-локализации маркеров иммунных клеток CD3⁺CD45⁺CD56 и уровней экспрессии *IFN- γ* в веществе головного мозга в разные периоды постнатального онтогенеза в норме и при ишемии.

Научная новизна

В данном диссертационном исследовании на основании сравнительного морфологического анализа особенностей гистоархитектоники коры головного мозга в норме и при ишемическом инсульте выявлены закономерности нейрогенеза, ангиогенеза и клеточно-тканевого ответа в постнатальном онтогенезе.

Впервые на основании ко-локализации маркеров зрелых и метаболически активных нейронов (NeuN, NSE) и апоптотической гибели (caspase-3) показана модуляция интенсивности нейрогенетического потенциала и пластичности нервной ткани в норме и в условиях нейродегенерации. Установлено, что при ишемии коры головного мозга снижается экспрессия

NeuN и NSE на фоне резкого увеличения доли caspase-3⁺ нейронов, что указывает на «скрытое» повреждение клеток с сохраненной цитоархитектоникой и истощение механизмов нейрогенеза, особенно выраженные в старших возрастных группах. Был разработан индекс caspase-3⁺/NeuN⁺ нейронов, отражающий угнетение нейрогенетического потенциала в зоне пенумбры в когорте пожилых пациентов. Кроме того, при анализе экспрессии ключевых генов PI3K/Akt-сигналинга обнаружено преобладание проапоптотических и провоспалительных эффектов вследствие активации оси PI3K/Akt/FOXO3A у пожилых людей, что указывает на возрастную инволюцию нейрогенетического, пластического и репаративного потенциала нервной ткани.

Впервые при анализе ко-локализации CD31⁺CD105⁺TGF-β, экспрессии участников триггерных сигнальных путей TGF-β (*SMAD2*, *SMAD3*, *MMP2*, *MMP9*) и NFκB (*RELA(p65)*) показана активация эндотелиальных клеток, приводящая к выраженному ангиогенезу, регулируемому VEGF-A, особенно у лиц молодого возраста. Это сопровождается увеличением продукции TGF-β и NFκB как ключевых триггеров синтеза провоспалительных цитокинов и миграции иммунных клеток в рамках клеточно-тканевого ответа на ишемическое повреждение.

Впервые, у молодых обнаружено доминирование CD68⁺CD163⁺ фенотипа макрофагов в воспалительном инфильтрате, что указывает на высокий потенциал тканевой пластичности и репарации нервной ткани. Напротив, преобладание провоспалительного CD68⁺CD163⁻ фенотипа макрофагов у пожилых способствует вторичному повреждению нейронов. Среди других участников иммунного воспаления обнаружили увеличение количества НК и НКТ клеток у лиц молодого возраста, возраст-ассоциированную потерю IFN-опосредованной цитотоксичности, усиленную миграцию Т-лимфоцитов у пожилых. Установленные различия в соотношении НК/НКТ/Т-клеток и степени ко-локализации CD3⁺CD45⁺CD56 при инфаркте мозга отражают механизмы возрастной модуляции клеточно-тканевого ответа, в том числе определяя характер вторичного повреждения нейронов.

Теоретическая и практическая значимость работы

В диссертационном исследовании продемонстрирована возраст-ассоциированная динамика нейрогенеза и ангиогенеза, а также раскрыты компенсаторно-адаптационные механизмы клеточно-тканевого ответа вещества головного мозга в условиях ишемии, значимость которых, в том числе, важна для понимания патогенеза нейродегенеративных и нейровоспалительных заболеваний. Дополнены фундаментальные знания о биологии развития нервной ткани, а именно способности элементов нейроваскулярной единицы к поддержанию локального гомеостаза, регулирующего нейрогенез, выживаемость, адекватный метаболизм и репарацию нейронов (NeuN, NSE, caspase-3). Направленность модуляции сигнальных путей PI3K/Akt/mTOR и PI3K/Akt/FOXO3a в нервной ткани различается в зависимости от периода постнатального онтогенеза. Так, у лиц пожилого возраста наблюдается угнетение нейрогенеза и метаболической

активности нейронов, нейродегенерация, активация участников каскада апоптотической гибели и смещение PI3K/Akt-сигналинга в сторону FOXO3A-зависимых проапоптотических программ, что отражает возрастную инволюцию нейропластичности, особенно усугубляемую в условиях ишемии. Не менее важным теоретическим результатом является описание возрастных особенностей биологии развития кровеносных сосудов, компенсаторного потенциала ангиогенеза, в том числе его роли при реализации пластичности нервной ткани в физиологических условиях и при ишемическом повреждении. При старении в нервной ткани происходит дисрегуляция нейроваскулярных взаимодействий и угнетение эмбриональных программ нейрогенеза и ангиогенеза, которые можно рассматривать в качестве предрасполагающих факторов развития нейродегенеративных состояний. Установленная роль TGF- β как медиатора, связывающего повреждение компонентов гематоэнцефалического барьера с запуском воспалительного каскада и миграцией иммунных клеток различных фенотипов (NK- и NKT-клетки, Т-лимфоциты, макрофаги), раскрывает единую возраст-модулированную систему клеточно-тканевого ответа головного мозга, в которой изменения степени нейро- и ангиогенеза, нейровоспаления, дегенерации и клеточной гибели формируют взаимосвязанный патогенетический континуум.

Практическая значимость исследования заключается в повышении точности морфологической диагностики и клинического прогнозирования у пациентов с ишемическим инсультом: применение оценки ко-локализации маркеров NeuN⁺NSE⁺caspase-3 для выявления скрытого нейронального повреждения, а также иммунных маркеров CD3, CD45, CD56, CD68, CD163 для верификации фенотипов воспалительных, уточняет объем ишемического повреждения и характер нейровоспаления. Полученные в настоящем исследовании данные являются фундаментом для формирования персонализированных подходов к лечению и реабилитации пациентов с ишемическим инсультом, а также при других состояниях, связанных с нейродегенерацией и нейровоспалением.

В результате проведенного исследования решена актуальная научная задача – выявлены возрастные особенности нейроваскулярных взаимодействий, раскрыты механизмы клеточно-тканевого ответа, определяющие направление и выраженность пластических и репаративных процессов коры головного мозга в норме и при ишемическом инсульте.

Методология и методы исследования

Диссертационное исследование проведено ретроспективно с использованием архивного аутопсийного материала (парафиновых блоков) и цифровой медицинской документации. Фрагменты лобной доли коры головного мозга получены от 154 пациентов с установленным диагнозом МКБ-10: I63.3 / I63.4 Инфаркт мозга, подтвержденного клинико-anamнестическими данными, методами нейровизуализации (КТ / МРТ головного мозга), а также результатами

патологоанатомического исследования. Кроме того, для сравнения, от 30 пациентов были получены фрагменты головного мозга, которые можно считать условно интактными. Методология исследования соответствует принципам, изложенным в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации.

В исследовании применяли следующие методы: гистологический, морфометрический, иммуногистохимический (в том числе иммунофлуоресцентный), молекулярно-генетический и статистический.

Личный вклад автора

Все этапы проведенного научного исследования: постановка цели и задач, выбор методов, получение, анализ и статистическая обработка результатов, формулирование основных положений и выводов, теоретической и практической значимости, а также новизны полученных результатов, выполнены автором самостоятельно. Автором лично проведен подбор и анализ научной литературы в русле выбранной темы, разработан дизайн исследования, скомплектованы базы данных и цифровой архив изображений, к анализу привлечен комплекс современных методов биологии развития, эмбриологии. В ходе реализации научной работы диссертант лично выполнял анализ медицинской документации, гистологическое (окрашивание гематоксилином и эозином, окрашивание по Нисслю), иммуногистохимическое (с антителами к CD31, VEGF), морфометрическое исследования, мультиплексный иммунофлуоресцентный анализ (ко-локализация NeuN⁺NSE⁺Caspase 3, CD31⁺TGF- β ⁺CD105, CD68⁺CD163⁺TGF- β ⁺Vimentin, CD45⁺CD56⁺CD3), молекулярно-генетический анализ (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10, IFNG, RELA/p56, SMAD2, SMAD3, MMP2, MMP9, PI3KCA, AKT2, MTOR, FOXO3A), интерпретировал полученные результаты и проводил статистический анализ. Диссертантом в соавторстве подготовлены к печати публикации по теме диссертационной работы.

Положения, выносимые на защиту

1. Возрастные различия нейрогенеза и пластичности коры головного мозга как в норме, так и при ишемическом инсульте формируются как результат сочетанного изменения нейрональной метаболической активности (NeuN, NSE), интенсивности апоптотической гибели (caspase-3) и профиля сигнальных путей PI3K/Akt/mTOR и PI3K/Akt/FOXO3a: в молодом возрасте сохраняется пул NeuN⁺NSE⁺ нейронов на фоне сбалансированной активации mTOR и FOXO3A, обеспечивая более высокий репаративный потенциал, тогда как у пожилых наблюдается практически полная утрата NeuN/NSE-сигналинга, резкое увеличение доли caspase-3⁺ нейронов и доминирование проапоптотической оси PI3K/Akt/FOXO3A, что отражает истощение механизмов нейрогенеза и пластичности пенумбры.

2. Ишемическое повреждение коры головного мозга у лиц молодого возраста сопровождается усилением компенсаторного ангиогенеза, что проявляется увеличением

количества CD31⁺/CD105⁺ эндотелиальных клеток и экспрессией проангиогенного VEGF-A в эндотелии и нейронах. Ишемия вызывает активацию участников сигнальных путей TGF- β и NF- κ B, что приводит к гиперпродукции провоспалительных цитокинов, наиболее выраженной у пожилых.

3. Характер нейровоспаления при ишемическом инсульте определяется возраст-ассоциированным смещением баланса: у молодых в коре головного мозга доминируют CD68⁺CD163⁺ макрофаги, CD45⁺CD56⁺CD3⁻ NK- и CD45⁺CD56⁺CD3⁺ NKT-клетки, что указывает на высокий потенциал тканевой пластичности и репарацию нервной ткани. В коре головного мозга пожилых пациентов NK/NKT-клетки замещаются профилем CD45⁺CD56⁻CD3⁺ Т-лимфоцитов. Установленные различия формируют единую концепцию возрастной модуляции нейровоспаления и определяют характер иммунно-опосредованного повреждения нейронов зоны пенумбры после ишемического инсульта.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует отрасли медицинских наук, паспорту научной специальности 1.5.23. Биология развития, эмбриология, областям исследования согласно пунктам: 1, 2, 3, 13.

Внедрение результатов диссертации в практику

Результаты диссертационного исследования внедрены в лечебный процесс Клиники нервных болезней им. А.Я. Кожевникова Университетской клинической больницы № 3 Клинического центра ФГАОУ ВО Первый МГМУ И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) (акт № 726 от 17.10.2025), а также внедрены в учебный процесс Института трансляционной медицины и биотехнологии Научно-технологического парка биомедицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) при изучении дисциплины «Биология развития, эмбриология», читаемой аспирантам по научной специальности 1.5.23. Биология развития, эмбриология (акт № 745 от 17.10.2025).

Степень достоверности и апробация результатов

Степень обоснованности результатов обеспечена достаточным объемом репрезентативного материала. В работе применены современные методы статистического анализа. Выполнено сопоставление собственных данных с результатами, полученными другими исследователями по изучаемой проблеме. На основании разработанных критериев включения и исключения сформированы группы пациентов, от которых получен архивный аутопсийный материал (n=184).

В работе использованы методы оценки достоверности различий, зарекомендовавшие себя как наиболее эффективные статистические модели, чаще всего используемые в медицине. Данные были формализованы и внесены в электронные таблицы Microsoft Excel, сформированы базы данных клинических характеристик пациентов, включенных в исследование, а также

результатов проведенного комплекса исследований, содержащие всю необходимую информацию согласно дизайну.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программного пакета TIBCO Statistica версии 14.0.1 (TIBCO Software Inc., USA). Распределение количественных переменных оценивали с использованием критерия Шапиро-Уилка. Гомогенность дисперсий проверяли критерием Левена. При нормальном распределении и равенстве дисперсий для сравнения двух групп применяли двусторонний t-критерий Стьюдента; для сравнения трех и более независимых групп использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с апостериорным тестом Тьюки. При распределении данных, отличном от нормального, применяли критерий Краскела-Уоллиса с post-hoc критерием Данна с поправкой на множественные сравнения. Для категориальных переменных использовали χ^2 -критерий Пирсона при соблюдении условий применимости; при ожидаемых частотах <5 применяли точный критерий Фишера. В исследованиях морфологического блока для парных сравнений использовали U-тест Манна-Уитни с поправкой Бонферрони. Данные с нормальным распределением представляли в виде среднего \pm стандартного отклонения (SD); данные с ненормальным распределением – в виде медианы и межквартильного размаха (IQR). Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$. Фактический материал, проанализированный в диссертации, полностью соответствует первичной документации.

Основные результаты диссертационного исследования были доложены и всесторонне обсуждены на международных и всероссийских конференциях: Всероссийской научной конференции с международным участием «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии» (г. Москва, 2025 г.); Международной научно-практической конференции «Инновационные технологии в образовательном процессе морфологических дисциплин» (г. Минск, 2025 г.); LXX Международной научно-практической конференции «Advances in Science and Technology» (г. Москва, 2025 г.).

Апробация работы состоялась 16 декабря 2025 (протокол №13) на заседании межкафедральной конференции Института трансляционной медицины и биотехнологии Научно-технологического парка биомедицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет).

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования автором опубликовано 7 работ, в том числе 2 научные статьи в научных изданиях, индексируемых в наукометрической базе данных RSCI; 2 статьи в издании, индексируемом в международных базах Web of Science, Scopus, PubMed, 3 публикации в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций (из них 1 зарубежной конференции).

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа представляет собой рукопись на русском языке объемом 244 страницы машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы описания материалов и методов, главы с результатами собственного исследования, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа иллюстрирована 10 таблицами и 62 рисунками. Список цитируемой литературы включает 303 источника, из которых 33 отечественных, 270 – зарубежных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Общая характеристика исследования

Диссертационное исследование проведено на базе федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

Ретроспективное исследование проведено на аутопсийном материале (парафиновых блоках) лобной доли коры головного мозга. В соответствии с классификацией ВОЗ, пациенты с верифицированным ишемическим инсультом ($n = 154$) и пациенты с условно интактной корой головного мозга ($n = 30$) были распределены на возрастные группы: молодые (18 – 44 лет), средние (45 – 59 лет) и пожилые (60 – 74 лет).

Критерии включения в группу ишемического инсульта: подтвержденный диагноз МКБ-10: I63.3, I63.4 Инфаркт мозга с поражением лобной доли коры головного мозга, установленный прижизненно клинично-anamnestически, методами нейровизуализации и / или верифицированный патологоанатомически при аутопсии; подтвержденный или высоковероятный кардиоэмболический и/или атеротромботический подтип по TOAST; острейший или острый период (до 7-х суток); смерть наступила в условиях оказания стационарной помощи (стандартные протоколы реперфузионной, нейропротективной, симптоматической терапии).

Критерии включения в группу условного контроля: травма, несовместимая с жизнью, разрыв аневризмы сердца / аорты, разрыв варикозно расширенных вен пищевода, летальные нарушения ритма сердца, электротравма – без морфологических признаков ишемического повреждения коры головного мозга.

Критерии исключения для обеих групп: ОНМК по геморрагическому типу любой локализации, черепно-мозговая травма, инфаркт мозга без вовлечения лобной доли коры головного мозга; неустановленная этиология повреждения головного мозга; сопутствующая патология ЦНС; активный системный – гематологический, аутоиммунный и / или опухолевый

процесс, острое инфекционное заболевание (синдром системной воспалительной реакции, сепсис / септический шок) бактериальной и / или вирусной этиологии; отягощенный токсико-нарколологический анамнез; повреждение аутопсийного материала.

Проведение исследования одобрено на заседании Локального этического комитета ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (протокол № 13-25 от 05.06.2025 г.).

Методы исследования

В исследовании применен комплекс морфологических, иммуногистохимических (в т.ч. иммунофлуоресцентных), молекулярно-генетических и статистических методов. Гистологическое исследование выполняли на серийных срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, а также крезилвиолетом по Нисслию по стандартной методике. Анализ ангиогенеза проводили при иммуногистохимических реакциях с антителами к CD31 и VEGF-A. Для мультиплексного иммунофлуоресцентного исследования оценивали ко-локализацию маркеров NeuN⁺NSE⁺Caspase-3 (характеристика ишемического повреждения нейронов), CD45⁺CD56⁺CD3⁻ (иммунофенотипирование NK-, NKT- и T-клеток), CD105⁺CD31⁺TGF- β (ангиогенез и активация эндотелия), CD68⁺CD163⁺TGF- β ⁺Vimentin (структурно-функциональный анализ макрофагов). Подсчитывали количество окрашенных клеток и вычисляли соотношения: Caspase-3⁺/NeuN⁺, CD105⁺/CD31⁺, CD68⁺CD163⁺/CD68⁺CD163⁻ и CD45⁺CD56⁺CD3⁺/CD45⁺CD56⁺CD3⁻ с использованием систем Vectra® Polaris, Olympus BX43, ZEISS Axio Imager.Z2 и программного обеспечения inForm®, ZEN и QuPath. Молекулярно-генетическое исследование включало оценку относительной экспрессии мРНК цитокинов TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10 и IFN- γ , а также компонентов сигнальных путей TGF- β (*SMAD2*, *SMAD3*, *MMP2*, *MMP9*), NF- κ B (*RELA/p65*) и PI3K/Akt (*PIK3CA*, *AKT2*, *MTOR*, *FOXO3A*) методом ПЦР-РВ. Статистическую обработку полученных данных выполняли с использованием программного обеспечения TIBCO Statistica 14.0.1., значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Клиническая характеристика пациентов, отобранных для настоящего исследования, позволяет говорить о высокой степени однородности выборки (Таблица 1). Следует особенно подчеркнуть, что старение неразрывно связано с накоплением сопутствующих системных заболеваний, вносящих вклад в нарушение морфологии и функций головного мозга даже при отсутствии острого ишемического повреждения. В совокупности клинические данные пациентов с ишемическим инсультом (группа I) демонстрируют четкую возрастную стратификацию как факторов риска, так и тяжести заболевания: по мере увеличения возраста существенно возрастали частота встречаемости гиподинамии, гиперлипидемии, тромботических осложнений, ИБС, ХОБЛ, анемии и деменции, что сопровождалось более тяжелой клинической

манифестацией, повышенными значениями по шкале NIHSS, увеличением времени до госпитализации и высокой ранней летальностью. В когорте молодых пациентов отмечали относительно более легкий дебют заболевания и низкую раннюю летальность, что может быть связано с высокими компенсаторными и репаративными возможностями головного мозга на данном этапе постнатального онтогенеза. У пациентов с условно интактным головным мозгом так же отмечали значительное увеличение встречаемости перечисленных сопутствующих заболеваний по мере старения, что не противоречит концепции возраст-ассоциированной редукции пластической функции.

Таблица 1 – Распределение пациентов, включенных в выборку, по полу и возрасту

| Параметр | n (%), M ± SD (95% ДИ) | | | p |
|---|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-----------------------|
| | молодые, n = 38 | средние, n = 51 | пожилые, n = 65 | |
| Группа I – пациенты с ишемическим инсультом | | | | |
| Возраст, лет | 34,8 ± 4,2 (33,42 – 36,18) | 51,1 ± 4,8 (49,75 – 52,45) | 69,3 ± 5,4 (67,96 – 70,64) | < 0,0001 ¹ |
| Мужчины | 30 (78,9 %) | 34 (66,7 %) | 47 (72,3 %) | 0,315 ² |
| Женщины | 8 (21,1 %) | 17 (33,3 %) | 18 (27,7 %) | |
| Группа II – пациенты с условно интактной корой | | | | |
| Возраст, лет | 31,4 ± 3,9 (27,57 – 35,13) | 53,6 ± 4,9 (49,98 – 55,73) | 67,7 ± 5,8 (63,1 – 72,39) | < 0,0001 ¹ |
| Мужчины | 6 (60 %) | 5 (50 %) | 5 (50 %) | 0,315 ² |
| Женщины | 4 (40 %) | 5 (50 %) | 5 (50 %) | |

Примечание: ¹ – однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с апостериорным тестом Тьюки; ² – χ^2 -критерий Пирсона; полужирным выделены значения $p \leq 0,05$

Полученные данные в обеих группах демонстрируют стабильную возрастную тенденцию – от более благоприятных исходных условий у молодых к выраженной соматической отягощенности и высокой смертности у пожилых, что создает объективный клинический контекст для выявляемых далее различий в нейропластичности, нейрогенезе и ангиогенном ответе в зависимости от периода постнатального онтогенеза.

Морфологическая оценка нейрогенеза

При гистологическом анализе коры головного мозга пациентов с ишемическим инсультом выявили типичные признаки инфаркта: зону паннекроза (ядро инфаркта) с практически полным отсутствием нейронов, локальные нарушения микроциркуляции и менее выраженные изменения в области пенумбры, сопровождающиеся преимущественно периваскулярной воспалительной инфильтрацией и реактивным глиозом (Рисунок 1). Наиболее яркие изменения гистоархитектоники наблюдали в коре головного мозга пожилых пациентов, в которой ядро инфаркта расширялось вплоть до 7 суток, вероятно за счет продолжающейся гибели нейронов пенумбры. В противоположность этому, у молодых пациентов на поздних сроках отмечали частичное ограничение зоны инфаркта, в том числе благодаря формированию глиального рубца, что отражает высокую степень компенсаторного клеточно-тканевого ответа и пластичности коры

головного мозга в этой возрастной группе. Структурные изменения стенки кровеносных сосудов обычно соответствовали подтипу инсульта по классификации SSS-TOAST и были наиболее выражены в пожилом возрасте.

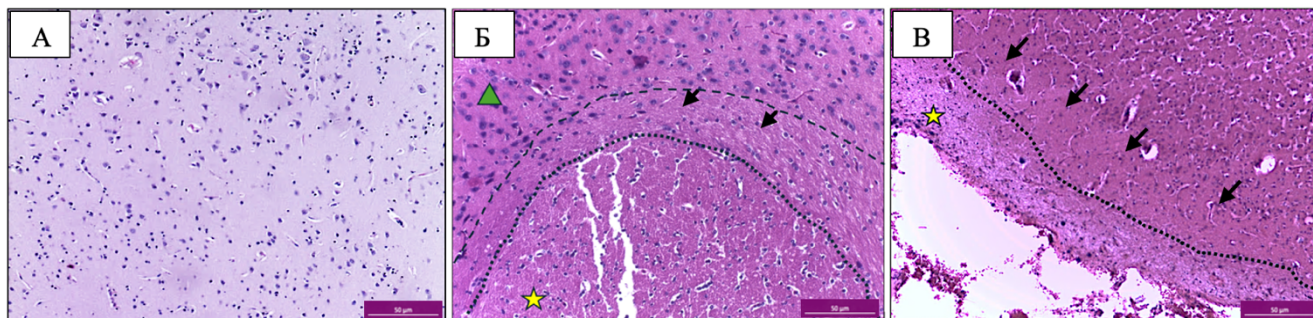


Рисунок 1 – Кора головного мозга в условно интактной группе (А) и в группе ишемического инсульта у лиц молодого (Б) и пожилого (В) возрастов. Окрашивание – гематоксилином и эозином, увелич. $\times 200$. Звезда – ядро инфаркта ограничено точечным пунктиром, треугольник – зона пенумбры. Черные стрелки – область некротической трансформации части пенумбры за пределами первичной зоны паннекроза

При окрашивании микропрепаратов коры головного мозга крезилвиолетом по Нисслю также обнаружили возраст-ассоциированные различия в степени сохранности нейронов и выраженности структурных изменений. В большинстве нейронов зоны пенумбры интенсивность перечисленных изменений была ниже, однако сохранялись признаки неполного хроматолиза, периферического смещения и фрагментации хроматофильной субстанции, а также умеренная гипохромия цитоплазмы (Рисунок 2).

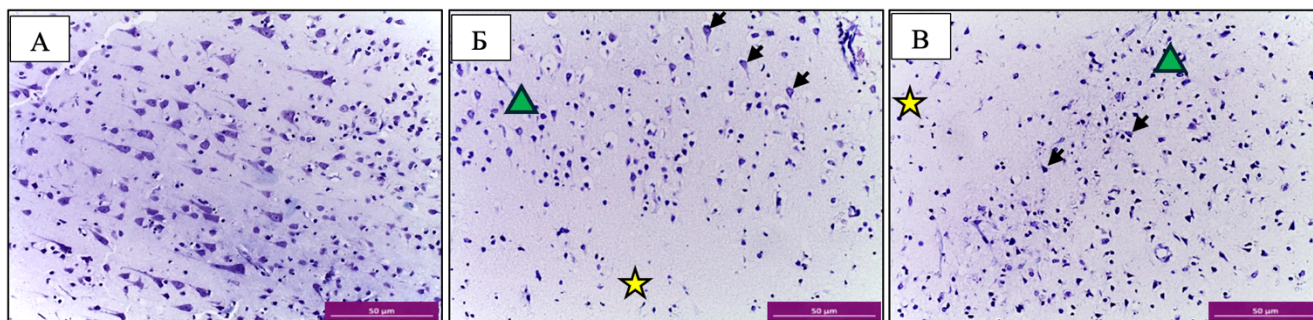


Рисунок 2 – Кора головного мозга в условно интактной группе (А) и в группе ишемического инсульта у лиц молодого (Б) и пожилого (В) возрастов. Окрашивание крезилвиолетом по Нисслю, увелич. $\times 400$. Звезда – ядро инфаркта ограничено точечным пунктиром, треугольник – зона пенумбры. При ишемическом повреждении в зоне пенумбры отмечали единичные нейроны с признаками хроматолиза, периферического смещения и фрагментации хроматофильной субстанции, гипохромией цитоплазмы (черные стрелки)

В ряде случаев обнаружили нейроны с вакуолизацией перикариона, отражающей развитие дистрофических изменений. При сравнительной оценке отмечали, что у молодых пациентов в пенумбре сохраняется большая доля нейронов с относительной сохраненной структурой хроматофильной субстанции, тогда как в пожилом возрасте все чаще наблюдали клетки с выраженным хроматолизом и редукцией гранулярности.

При анализе данных мультиплексного иммунофлуоресцентного исследования фрагментов головного мозга выявили выраженные возраст-зависимые различия в метаболической активности и степени гибели нейронов (Таблица 2). В условно интактной коре отмечали интенсивную экспрессию NeuN и NSE в ядрах и перикарионе нейронов при слабом окрашивании дендритных отростков, что отражает преимущественно центральную локализацию этих маркеров. Даже в интактной ткани обнаруживались единичные Caspase-3-позитивные нейроны, отражающие базальный уровень апоптоза, при этом наибольшую долю апоптотически погибающих клеток выявляли у лиц пожилого возраста (Рисунок 3).

При ишемическом повреждении наиболее выраженные изменения отмечали в зоне пенумбры, где уже в первые сутки снижалось количество метаболически активных NeuN⁺NSE⁺ нейронов (Таблица 2). Мультиплексный анализ выявлял большее число Caspase-3⁺ нейронов по сравнению с рутинными морфологическими методами, что свидетельствует о наличии «скрытого» повреждения цитологически сохранных клеток с уже активированным апоптотическим каскадом. У молодых пациентов в пенумбре преобладали нейроны с сохраненной цитологией и выраженной экспрессией NeuN и NSE на ранних сроках (Рисунок 4). Менее выраженный сигналинг этих маркеров при поздней гибели пациента отражает нейрональную гиперактивацию метаболических (гликолитических и белок-синтетических) и пластических механизмов, направленных на адаптацию (на ранних сроках) и репарацию.

Таблица 2 – Среднее количество нейронов NeuN⁺, NSE⁺ и Caspase 3⁺ в пенумбре на первой неделе после ишемического инсульта, в п/з при увелич. ×400

| возраст | NeuN ⁺ | NSE ⁺ | Caspase 3 ⁺ | Caspase ⁺ / NeuN ⁺ , % |
|---------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--|
| День 1 | | | | |
| 18 – 44 лет | 11,3 ± 0,5 | 11,9 ± 0,5 | 4,8 ± 0,2 | 42,5 % |
| 45 – 59 лет | 7,9 ± 0,3* | 8,2 ± 0,4* | 6,5 ± 0,3* | 82,3 % |
| 60 – 74 лет | 4,4 ± 0,2 ^{#!} | 4,6 ± 0,1 ^{#!} | 3,9 ± 0,1 ^{#!} | 88,6 % |
| День 4 | | | | |
| 18 – 44 лет | 12,6 ± 0,6 | 12,9 ± 0,6 | 5,1 ± 0,2 | 40,5 % |
| 45 – 59 лет | 8,8 ± 0,4* | 9,0 ± 0,4* | 6,9 ± 0,3* | 78,4 % |
| 60 – 74 лет | 3,5 ± 0,1 ^{#!} | 4,4 ± 0,2 ^{#!} | 3,2 ± 0,1 ^{#!} | 91,4 % |
| День 7 | | | | |
| 18 – 44 лет | 14,1 ± 0,6 | 14,4 ± 0,7 | 3,3 ± 0,1 | 23,4 % |
| 45 – 59 лет | 8,3 ± 0,3* | 8,9 ± 0,4* | 5,6 ± 0,2* | 67,5 % |
| 60 – 74 лет | 2,7 ± 0,1 ^{#!} | 4,0 ± 0,1 ^{#!} | 2,6 ± 0,1 ^{#!} | 96,3 % |

Примечание: Статистически значимые различия: * – «45–59» против «18–44»; # – «60–74» против «18–44»; ! – «60–74» против «45–59»; p < 0,05

У лиц пожилого возраста выявили наименьшее количество функционально сохранных метаболически активных нейронов. В течение всей первой недели после манифестации ишемического инсульта отмечали увеличение доли Caspase-3⁺ клеток при прогрессирующем уменьшении числа NeuN⁺NSE⁺ нейронов в единичных сохранившихся клетках зоны пенумбры.

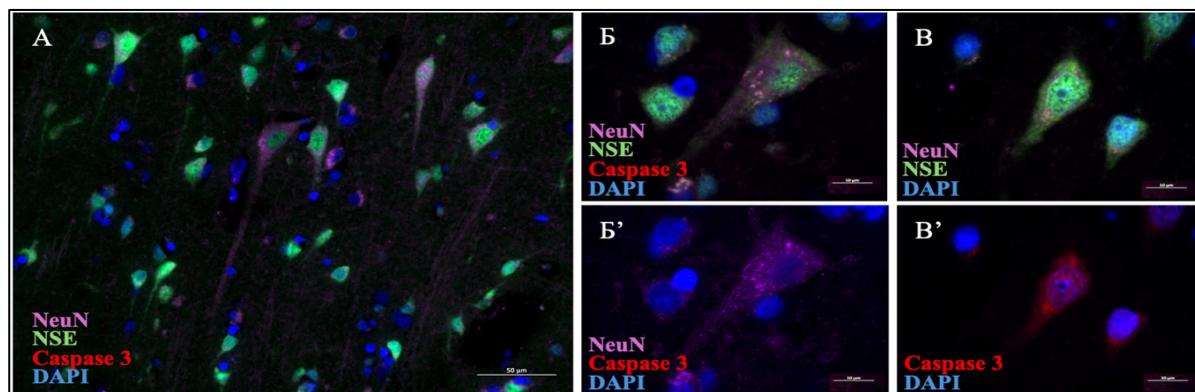


Рисунок 3 – Условно интактная кора головного мозга. Мультиплексное иммунофлуоресцентное исследование с антителами к NeuN (Opal 647), NSE (Opal 488) и Caspase 3 (Opal 540), докрасивание ядер – DAPI. А – Пациент М., 44 лет, в поле зрения – зрелые нейроны, идентифицированные на основании характерной цитологии и специфического сигналинга, увелич. $\times 400$; Б (Б') – Пациент Ф., 48 лет, в поле зрения – Caspase 3⁻ зрелый пирамидный нейрон, увелич. $\times 1000$; В (В') – Пациент М., 70 лет, в поле зрения – Caspase 3⁺ нейрон, диффузно окрашенный на NeuN и NSE, увелич. $\times 1000$

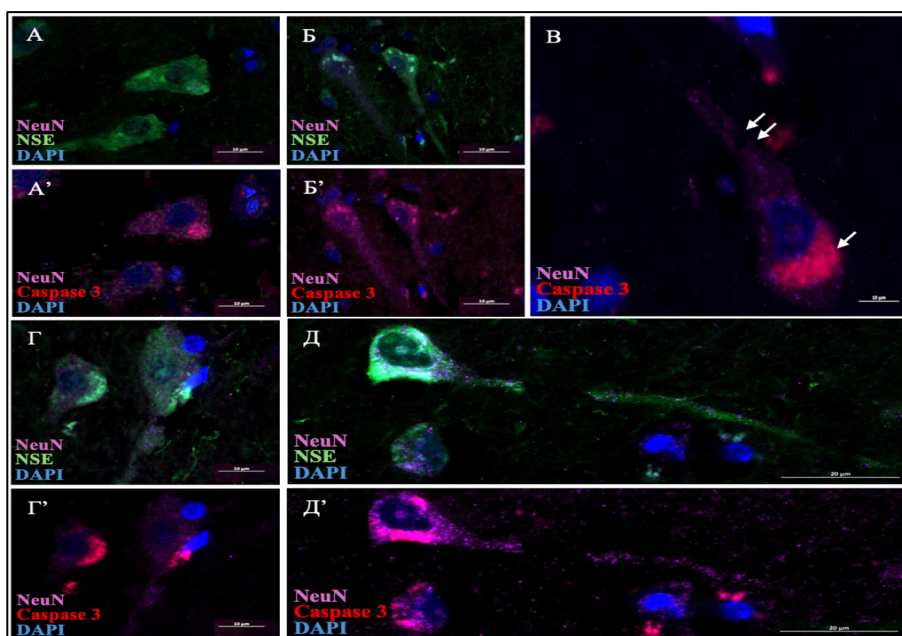


Рисунок 4 – Кора головного мозга пациентов с ишемическим инсультом, зона пенумбры. Мультиплексное иммунофлуоресцентное исследование с антителами к NeuN (Opal 647), NSE (Opal 488) и Caspase 3 (Opal 540), докрасивание ядер – DAPI. А, А' – Пациент М., 44 лет, увелич. $\times 400$; Б, Б' – Пациент С., 68 лет, увелич. $\times 1000$; В – Пациент Ж., 69 лет, увелич. $\times 1000$; Г, Г' – Пациент З., 74 лет, увелич. $\times 1000$; Д, Д' – Пациент Т., 53 лет, увелич. $\times 1000$

Таким образом, результаты мультиплексного анализа демонстрируют четкую возраст-ассоциированную динамику: у молодых пациентов отмечается выраженная компенсаторная активация NeuN и NSE при относительно низкой степени апоптоза, у пожилых не происходит значимого восстановления метаболической активности единичных сохранившихся нейронов зоны пенумбры, в которых, тем не менее, уже инициирована программированная клеточная гибель. Выявленный паттерн отражает утрату метаболической активности нейронов, снижение

нейрогенетического и пластического потенциала, неспособность коры головного мозга к адекватной компенсации и репарации по мере старения. Полученные данные сочетаются с результатами гистологического анализа: наиболее резкое снижение численности нейронов в молодом возрасте происходит в первые дни после дебюта заболевания, преимущественно на ишемически-некротической и воспалительно-деструктивной морфологических стадиях. В отсроченном периоде у лиц молодого возраста наблюдается активация механизмов репарации, усиление нейрогенетического сигналинга и метаболической активности нейронов в зоне пенумбры, в то время как у пожилых эти процессы остаются резко ограниченными.

Морфологическая оценка ангиогенеза

При сопоставлении результатов иммуногистохимического исследования (CD31, VEGF-A) и мультиплексного иммунофлуоресцентного анализа (CD31, CD105, TGF- β) обнаружили снижение степени ангиогенеза с возрастом: редукцию сети кровеносных сосудов и угнетение проангиогенного потенциала эндотелиальных клеток и нейронов. Перечисленные изменения значительно усугубляются при развитии цереброваскулярной патологии (Рисунок 5).

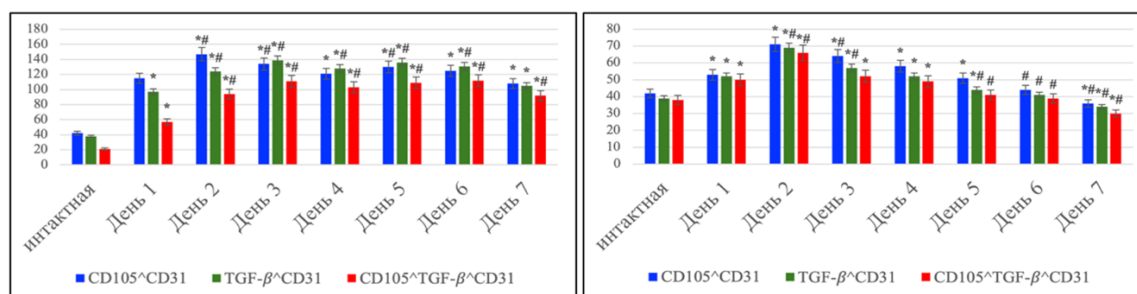


Рисунок 5 – Количество эндотелиальных клеток, окрашенных при мультиплексном флуоресцентном исследовании с антителами к CD105, TGF- β и CD31 в фрагментах коры головного мозга в условно интактной группе и у пациентов с ишемическим инсультом молодого (слева) и пожилого (справа) возрастов в течение первой недели от начала заболевания, график. Статистически значимые различия: * – «интактная» против «День 1», # – по сравнению с «День 1»; $p \leq 0,05$

Так, у лиц молодого возраста в зоне пенумбры формируется компенсаторная активация ангиогенеза как одного из ключевых механизмов адаптации к ишемии, направленного на трофическую поддержку и сохранение обратимо поврежденных нейронов (Рисунок 6). Этот процесс характеризуется ранним выраженным увеличением количества CD31⁺ кровеносных сосудов, активацией CD105⁺ эндотелиальных клеток и двухфазным усилением сигналинга TGF- β : ранняя провоспалительная фаза (2 – 3 сутки), соответствующая воспалительно-деструктивной стадии ишемического повреждения, и последующая ремоделирующая фаза (5 – 6 сутки), совпадающая с переходом к репаративной стадии. Детектируемая в нейронах экспрессия VEGF-A указывает на участие нейронов в регуляции проангиогенного ответа и отражает тесное нейроваскулярное сопряжение в условиях клеточно-тканевого ответа на ишемическое повреждение.

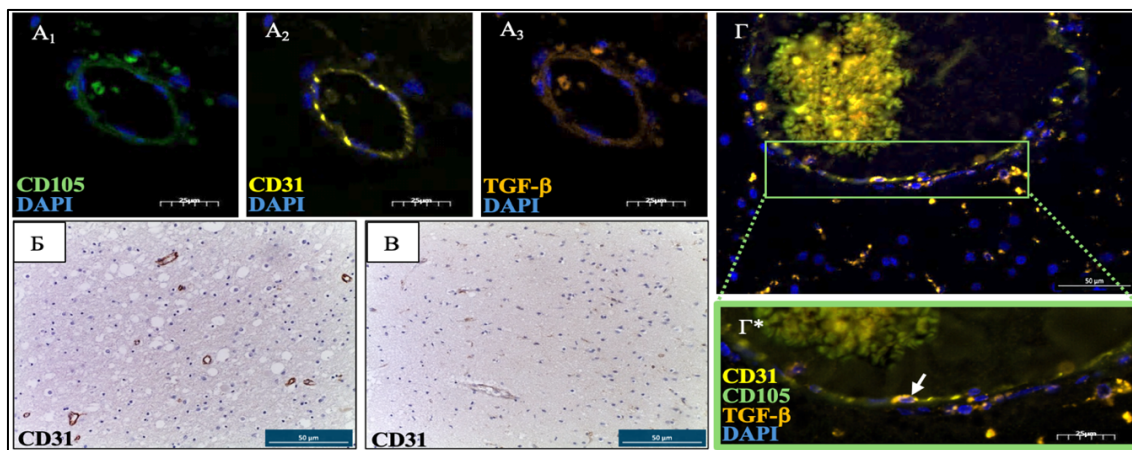


Рисунок 6 – Кора головного мозга в условно интактной группе (A₁ – A₃) и после ишемического инсульта у лиц молодого (Б) и пожилого (В, Г) возрастов. А, Г – мультиплексный иммунофлуоресцентный анализ с антителами к CD31 (Opal 540), CD105 (Opal 488), TGF-β (Opal 647), докрасивание ядер – DAPI; увелич. ×400 и ×800 (Г*). Б, В – иммуногистохимические реакции с антителами к CD31, увелич. ×200

В группе пожилого возраста наблюдали наиболее выраженное снижение проангиогенного сигналинга и прогрессирующую редукцию сети кровеносных сосудов (Рисунок 5, Рисунок 6). Для этой группы характерно уменьшение количества CD31⁺ и CD105⁺ эндотелиальных клеток на фоне кратковременного монофазного увеличения экспрессии TGF-β (2 – 4 сутки), соответствующего преимущественно провоспалительному этапу без последующей активации на поздних сроках с целью ремоделирования микроциркуляторного русла. При этом уже на 3-и сутки наблюдали лишь незначительное увеличение доли CD31- и VEGF-позитивных клеток с последующим снижением их числа, что свидетельствует об отсутствии адекватной реактивации проангиогенных механизмов. Полученные данные указывают на возраст-ассоциированное истощение ангиогенного резерва и дисрегуляцию нейроваскулярного взаимодействия, что приводит к снижению трофической поддержки и метаболической активности нейронов, способствуя угнетению нейрогенеза и сокращению пластического потенциала коры головного мозга при ишемическом инсульте.

Имунофенотипирование клеточного воспалительного инфильтрата

В настоящем исследовании продемонстрирована функционально-фенотипическая характеристика и особенности распределения макрофагов, являющихся одними из ключевых регуляторов ремоделирования нервной ткани в рамках реализации ее пластического потенциала. По мере старения происходит его угнетение, а макрофаги (преимущественно M1-фенотипа) становятся одними из ключевых элементов инфламмаджинга. В совокупности полученные данные демонстрируют принципиально различные паттерны распределения макрофагов как crucialного регулятора клеточно-тканевого ответа на ишемическое повреждение в зависимости от возраста. В головном мозге лиц молодого возраста отмечали интенсивную

раннюю фазу с доминированием М1-фенотипа, с последующим автономно контролируемым «переключением» на М2-репаративную программу, заложенную еще в процессе иммуногенеза, с постепенным снижением в них провоспалительного TGF- β -сигналинга, потенцированием ремоделирования нервной ткани. Следует отметить, что перечисленные фазы соответствовали таковым при гистологическом и иммунофлуоресцентном исследованиях, а экспрессия TGF- β была обнаружена в эндотелиальных клетках (см. выше), на основании чего можно полагать, что TGF- β является одним из наиболее важных факторов межклеточной коммуникации между различными компонентами нейроваскулярной единицы, особенно в условиях ишемического повреждения. Перечисленные изменения отражают высокую чувствительность этого взаимодействия в зависимости от состояния локального гомеостаза и микроокружения, а также достаточности репаративного потенциала.

В среднем возрасте сохраняются аналогичные тенденции клеточно-тканевого ответа, однако активация М2-фенотипа макрофагов при переходе к репаративной фазе была менее выраженной. У лиц пожилого возраста, напротив, отмечали устойчивое преобладание М1-макрофагов с деформированной цитоархитектоникой в течение всей первой недели после ишемического повреждения, а также длительно сохраняющийся сигналинг TGF- β в этих клетках на фоне низкого количества М2-репаративных макрофагов (Рисунок 7). Особенно интересным представляется сопоставление полученных данных с результатами иммунофлуоресцентного исследования эндотелиальных клеток, в которых экспрессия TGF- β значительно снижалась, начиная уже с 4-го дня после ишемического повреждения, что может свидетельствовать о разобщении регуляторного взаимодействия между клетками кровеносных сосудов и микроглией / рекрутированными макрофагами. В совокупности, обнаруженные данные подтверждают усугубление и длительную потенциацию нейровоспаления в коре головного мозга пожилых пациентов после ишемического повреждения. Эти особенности указывают на утрату адекватной иммунной пластичности и преобладание провоспалительного статуса в нервной ткани, что способствует прогрессирующему повреждению нейронов пенумбры и частично объясняет более тяжелое течение ишемического инсульта у пациентов старших возрастных групп. Кроме того, при иммунофенотипировании клеточного воспалительного инфильтрата в зоне пенумбры можно выделить два принципиально различающихся паттерна клеточно-тканевого ответа. У молодых пациентов НК, НКТ и Т-клетки формируют относительно сбалансированную систему регуляции нейровоспаления: уровень НК остается высоким в течение первых трех суток и повторно незначительно увеличивается на 4 – 5 сутки, что соответствует описанным ранее двум фазам (провоспалительной и прорепаративной) (Рисунок 8). Кроме того, в первые сутки после клинической манифестации ишемического инсульта резко увеличивается количество Т-лимфоцитов, однако уже на 3 – 4 сутки происходит значимое снижение этого показателя

примерно в 2 – 3 раза относительно первого дня. Это отражает регулирующую воспалительную реакцию, способствующую ауторегулируемому переходу от воспалительно-деструктивной стадии к репарации нервной ткани, направленной на сохранение жизнеспособных нейронов и ограничение вторичного (иммунного) повреждения сохранившихся нейронов пенумбры.

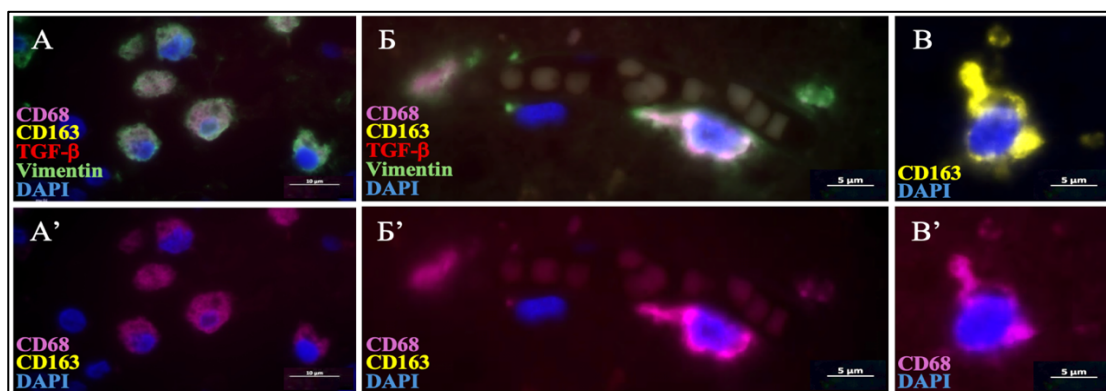


Рисунок 7 – Кора головного мозга лиц пожилого возраста после ишемического инсульта. Мультиплексное иммунофлуоресцентное исследование с антителами к CD68 (Opal 647), CD163 (Opal 780), TGF- β (Opal 540) и Vimentin (Opal 488), докрасивание ядер – DAPI. **А** – Пациент М., 62 лет, в поле зрения скопление CD68⁺CD163⁻ макрофагов (**А'**), увелич. $\times 400$. **Б** – Пациент Т., 69 лет, активированный CD68⁺CD163⁻ макрофаг (**Б'**), взаимодействующий со стенкой кровеносного сосуда, увелич. $\times 800$. **В** – активированный CD68⁺CD163⁺ M2-макрофаг (**В'**), увелич. $\times 800$

Напротив, у лиц пожилого возраста формируется устойчивый провоспалительный статус: количество Т-лимфоцитов резко увеличивается относительно значений условно интактной группы и остается стабильно высоким в течение всей первой недели от клинической манифестации заболевания. В то же время, увеличение количества NK- и NKT-клеток не соответствовало темпам миграции Т-клеток, а с 4-го дня неуклонно уменьшалось, что исключает возможность эффективной регуляции воспалительной реакции этими клетками. Таким образом, у пожилых пациентов формируется устойчивая цитотоксическая среда, способствующая прогрессирующей гибели нейронов повреждающими факторами иммунных клеток и некротической трансформации зоны пенумбры. Более того, разрушение нервных клеток, в свою очередь, приводит к накоплению высоких концентраций провоспалительных цитокинов и цитотоксических факторов, что потенцирует миграцию новых популяций Т-лимфоцитов, замыкая порочный круг иммунного повреждения зоны пенумбры.

Полученные в настоящем исследовании результаты дополняют современные фундаментальные данные в области биологии развития головного мозга. Описанные закономерности нейроваскулярных и иммунных взаимодействий подтверждают, что нервная ткань человека сохраняет черты развивающейся системы на протяжении всего постнатального онтогенеза. Основные программы, заложенные еще на эмбриональном этапе развития организма – нейрогенез, ангиогенез, клеточная миграция и межклеточная сигнализация – продолжают функционировать в зрелом мозге, обеспечивая его пластичность и способность к репарации. Эти

процессы реализуются через активность сигнальных каскадов PI3K/Akt/mTOR, TGF- β /SMAD, VEGF и Notch, которые остаются ключевыми регуляторами межклеточных взаимодействий и гомеостаза НВЕ в постнатальном периоде.

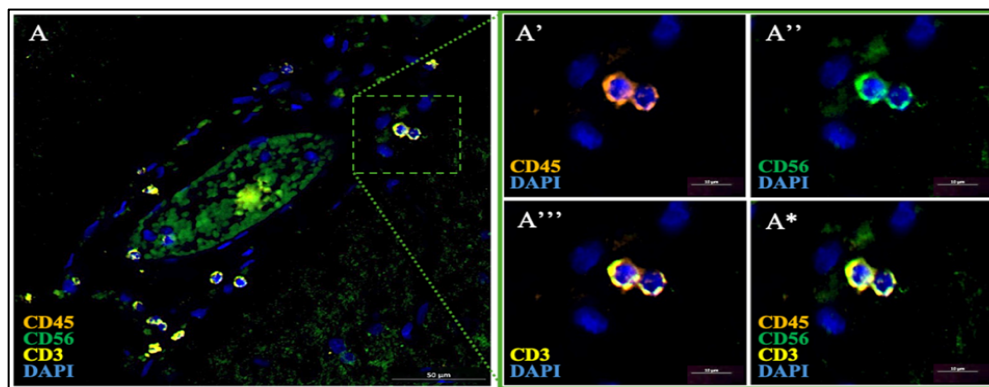


Рисунок 8 – Кора головного мозга лиц молодого возраста после ишемического инсульта. Мультиплексное иммунофлуоресцентное исследование с антителами к маркерам иммунных клеток CD45 (Opal 647), CD56 (Opal 488) и CD3 (Opal 540), докрасивание ядер – DAPI. А – Пациент С., 43 лет, периваскулярно расположенные NK и NKT клетки, увелич. $\times 400$; А* – взаимодействие двух CD45⁺CD56⁺CD3⁺ NKT клеток (А' – А'''), увелич. $\times 800$

Установлено, что структура и функции НВЕ зависят от возраста и отражают степень сохранности эмбриональных регуляторных программ. В молодом мозге сохраняется высокая активность PI3K/Akt/mTOR- и VEGF-звеньев, обеспечивающих эффективный ангиогенез, нейропротекцию и метаболическую адаптацию. В многочисленных исследованиях было показано, что астроциты, перициты и эндотелий формируют межклеточные контакты, обеспечивая стабильность ГЭБ, в то время как микроглия обладает фазовой пластичностью, переходя из провоспалительного в репаративное состояние. Эти особенности определяют высокий компенсаторно-регенеративный потенциал нервной ткани после ишемического повреждения. В пожилом возрасте выявлено смещение молекулярного и клеточного равновесия в сторону катаболизма и хронического воспаления. Снижается активность PI3K/Akt/mTOR и VEGF-каскадов, возрастает экспрессия FOXO3A, NF κ B и SMAD2/3, что сопровождается апоптозом нейронов, нарушением ангиогенеза и дестабилизацией гематоэнцефалического барьера. Хроническая активация микроглии и дискоординация TGF- β /SMAD-сигналинга приводят к потере репаративных свойств нейровоспаления и формированию структурных дефектов НВЕ (Рисунок 9). Возраст-ассоциированные различия в экспрессии маркеров NeuN, NSE, Caspase-3, CD31, CD105, CD68, CD163 и TGF- β отражают снижение нейрогенетического и ангиогенного потенциала, особенно выраженное в старших возрастных группах. Сохранность VEGF-зависимых механизмов у молодых пациентов и угнетение PI3K/Akt/MTOR-оси у пожилых подтверждают ключевую роль возрастной регуляции в исходах ишемического повреждения.

Результаты исследования показывают, что эффективность клеточно-тканевого ответа при инфаркте мозга определяется не только степенью ишемии, но и биологическим возрастом ткани.

Головной мозг у лиц молодого возраста способен реактивировать эмбриональные программы нейро- и ангиогенеза, тогда как стареющий теряет способность к синхронной активации этих процессов.

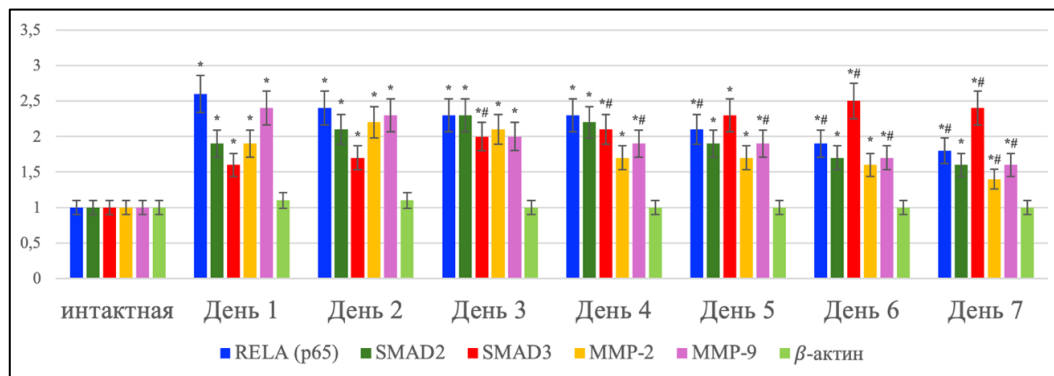


Рисунок 9 – Относительная экспрессия мРНК *RELA / p65*, *SMAD2*, *SMAD3*, *MMP-2* и *MMP-9* в фрагментах коры головного мозга в условно интактной группе и у пациентов с ишемическим инсультом пожилого возраста в течение 1-й недели от начала заболевания, график. Статистически значимые различия: * – «интактная» против «День 1», # – по сравнению с «День 1»; $p \leq 0,05$

Нарушение межклеточной координации между нейронами, глией и эндотелием, ослабление ангиогенной реакции и фиксация микроглии в провоспалительном состоянии формируют основу возрастной уязвимости мозга к ишемическому повреждению. Ишемический инсульт в настоящем исследовании является лишь моделью частичной реактивации эмбриональных морфогенетических программ в постнатальном мозге. С возрастом способность к их координированному запуску прогрессивно утрачивается, что ведет к снижению нейро- и ангиогенного потенциала, нарушению межклеточных взаимодействий, истощению компенсаторно-адаптационных механизмов, редукции пластического потенциала нервной ткани. Совокупность полученных данных позволяет заключить, что возрастная модуляция взаимодействия нейроваскулярных и иммунных компонентов отражает закономерности биологии развития и представляет собой континуум от эмбриональной пластичности к постнатальной инволюции. Изучение этих закономерностей открывает возможности для разработки таргетных стратегий нейропротекции, направленных на восстановление межклеточной интеграции и регенераторного потенциала мозга с учетом периода постнатального онтогенеза.

ВЫВОДЫ

1. В динамике постнатального онтогенеза отмечается снижение количества нейронов при сохранной структурной организации коры головного мозга. У лиц молодого возраста с ишемическим инсультом обнаружено, что уменьшение количества нейронов в пенумбре продолжается до 3 суток, а затем замедляется. В то же время, у пожилых людей гибель нейронов сохраняется вплоть до 7 суток.

2. Репаративный и пластический потенциал нейронов у лиц молодого возраста сохраняется даже при ишемическом инсульте, что подтверждается преобладанием в пенумбре пула NeuN⁺NSE⁺-нейронов при относительно меньшей доле caspase-3⁺ клеток. В то же время, в пожилом возрасте обнаружено истощение механизмов нейрогенеза и пластичности, что подтверждается низкими уровнями экспрессии NeuN и NSE на фоне резкого увеличения доли caspase-3⁺ нейронов.

3. Гибель нейронов зависит от равновесия PI3K/Akt/mTOR и PI3K/Akt/FOXO3a осей. Ишемия приводит к дисбалансу PI3K/Akt-сигналинга и доминированию оси FOXO3A и ее проапоптотических и провоспалительных эффектов. Это способствует возрастной инволюции пластического потенциала и нейрогенеза в пенумбре.

4. Нервная ткань реагирует на ишемическое повреждение усилением синтеза в нейронах и сосудистой стенке VEGF-A, регулирующего компенсаторную активацию эндотелиальных клеток и образование новых кровеносных сосудов, в совокупности направленных на индукцию коллатерального кровообращения, наиболее выраженную у лиц молодого возраста. С возрастом происходит уменьшение интенсивности ангиогенеза: в головном мозге снижается количество кровеносных сосудов и экспрессия проангиогенных факторов.

5. В динамике постнатального онтогенеза меняется характер клеточно-тканевого ответа на ишемическое повреждение, что связано с дисрегуляцией сигнальных путей TGF- β и NF κ B в эндотелиальных клетках, синтезом провоспалительных цитокинов и миграцией иммунных клеток, развитием выраженной клеточной инфильтрации, ключевыми участниками которой являются макрофаги. Нейровоспаление и дисрегуляция провоспалительных каскадов связана с преобладанием фенотипа CD68⁺CD163⁻ макрофагов у лиц старших возрастных групп. Напротив, доминирование противовоспалительного CD68⁺CD163⁺ фенотипа макрофагов в молодом возрасте связано с индукцией механизмов репарации и пластичности нервной ткани.

6. Важными участниками клеточной воспалительной реакции при ишемическом повреждении нервной ткани у лиц молодого возраста являются CD45⁺CD56⁺CD3⁻ NK- и CD45⁺CD56⁺CD3⁺ NKT-субпопуляции иммунных клеток, которые обладают умеренным цитотоксическим потенциалом (IFN- γ \uparrow). В старших возрастных группах происходит вторичное повреждение нейронов и расширение ядра инфаркта вследствие смены доминирующего иммунного звена клеточно-тканевого ответа с преобладанием CD45⁺CD56⁻CD3⁺ Т-лимфоцитов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Результаты проведенного исследования позволяют предложить разработанную панель мультиплексных иммуногистохимических и молекулярных маркеров для повышения чувствительности и специфичности патологоанатомической диагностики инфаркта головного мозга. Полученные данные об особенностях возрастной модуляции нейроваскулярных и

иммунных механизмов обосновывают необходимость персонализированного подхода к терапии и реабилитации пациентов с ишемическим инсультом. Исследованные молекулярные мишени могут быть использованы для разработки таргетных терапевтических средств, направленных на восстановление нейроваскулярного сопряжения и репаративного потенциала головного мозга. Следует отметить, что раскрытые механизмы актуальны и для других заболеваний, сопровождающихся нейродегенерацией и нейровоспалением.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Клиническая характеристика пациентов с ишемическим инсультом: распределение предрасполагающих факторов в зависимости от возраста / **М.А. Вадюхин**, А.В. Давыдова, А.А. Журавлева, Х.М. Халматова, Г.А. Демяшкин // **Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии**. – 2025. – Т. 18. – № 10. – С. 1314-1327. – DOI: 10.33920/med-01-2510-09 [RSCI]

2. Возрастные особенности неоангиогенеза в коре головного мозга при ишемическом инсульте / **М. А. Вадюхин**, В. В. Тарасов, Н. В. Пятигорская, Н.Б. Парамонова, В.В. Ростовская, И.А. Бичерова, А.В. Шестопапов, А.Ю. Цибулевский, А.А. Хайитов, С.Д. Амрахов, Г.А. Демяшкин // **Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии**. – 2025. – Т. 18. – № 12. – С. 1400-1414. – DOI: 10.33920/med-01-2511-02 [RSCI]

3. Age-Related Features of Neuroinflammation: Hidden Association of Neuronal Damage with Activation of Natural Killers in Patients with Ischemic Stroke / **M. Vadyukhin**, T. Demura, E. Kogan, V. Shchekin, P. Shegai, A. Kaprin, G. Demyashkin // **International Journal of Molecular Sciences**. – 2025. – Vol. 26. – № 23. – P. 11452. – DOI: 10.3390/ijms262311452 [Scopus]

4. Aging Rewires Neuronal Metabolism, Exacerbating Cell Death After Ischemic Stroke: A Hidden Reason for the Failure of Neuroprotection / **M. Vadyukhin**, V. Shchekin, P. Shegai, A. Kaprin, G. Demyashkin // **International Journal of Molecular Sciences**. – 2026. – Vol. 27. – № 1. – P. 81. – DOI 10.3390/ijms27010081 [Scopus]

5. **Вадюхин, М. А.** Особенности метаболизма нейронов на ранних сроках инфаркта коры головного мозга у пациентов разных возрастных групп / **М. А. Вадюхин**, Д. В. Болдырев, Г. А. Демяшкин // Всероссийская научная конференция «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и при патологии»: сборник научных трудов. – Москва, 2025. – С. 76-78.

6. **Вадюхин М. А.** Влияние VEGF на распределение кровеносных сосудов у пациентов с ишемическим инсультом // Международная научно-практическая конференция «Инновационные технологии в образовательном процессе морфологических дисциплин»: сборник научных статей. – Минск, БГМУ, 2025. – С. 314-317.

7. **Вадюхин, М. А.** Возрастные особенности неоангиогенеза в коре головного мозга у пациентов с ишемическим инсультом // LXX Международная научно-практическая конференция «Advances in Science and Technology»: сборник статей. – Москва, 2025. – С. 28-30.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ИИ – ишемический инсульт

НВЕ – нейроваскулярная единица

CD – кластер дифференцировки (от англ. *cluster of differentiation*)

FOXP3A – фактор транскрипции семейства FOXP, изоформа 3A (от англ. *forkhead box O3A*)

IFN- γ – интерферон гамма (от англ. *interferon gamma*)

IL – интерлейкин (от англ. *interleukin*)

MMP – матриксная металлопротеиназа (от англ. *matrix metalloproteinase*)

mTOR – мишень рапамицина у млекопитающих (от англ. *mechanistic target of rapamycin*)

NF κ B – ядерный фактор каппа-би (от англ. *nuclear factor kappa -enhancer of activated B cells*)

NeuN – нейрональный ядерный белок (от англ. *neuronal nuclear antigen*)

NSE – нейронспецифическая енолаза (от англ. *neuron-specific enolase*)

PI3K – фосфатидилинозитол-3-киназа (от англ. *phosphoinositide 3-kinase*)

SMAD – сигнальные молекулы семейства SMAD (от англ. *Sma and Mad-related proteins*)

VEGF – васкулярный эндотелиальный фактор роста (от англ. *vascular endothelial growth factor*)

TGF- β – трансформирующий фактор роста бета (от англ. *transforming growth factor beta*)

TNF- α – фактор некроза опухоли альфа (от англ. *tumor necrosis factor alpha*)