

На правах рукописи

Грицаенко Ольга Семеновна

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕОКОРТЕКСА И ТАЛАМУСА В
ПОСТИШЕМИЧЕСКОМ ПЕРИОДЕ НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОГО
СТРЕССА И ИХ КОРРЕКЦИЯ ЦЕРЕПРО
(экспериментальное исследование)

03.00.25 – гистология, цитология, клеточная биология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Томск – 2009

Работа выполнена в ГОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор
Валерий Васильевич Семченко

Официальные оппоненты:
доктор медицинских наук Потапов Алексей Валерьевич
доктор медицинских наук Солонский Анатолий Владимирович

Ведущее учреждение:
ГОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет
Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Защита диссертации состоится «__» _____ 2009 года в __ часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.03 при Сибирском государственном медицинском университете Росздрава по адресу: 634050, г. Томск, Московский тракт, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке Сибирского государственного медицинского университета (634050, г. Томск, пр. Ленина, 107).

Автореферат разослан «__» _____ 2009 года.

Ученый секретарь диссертационного совета

А.В.Герасимов

I. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Изучение закономерностей реализации деструктивных и компенсаторно-восстановительных процессов головного мозга после острой ишемии является одним из ведущих направлений современной нейроморфологии (Ярыгин Н.Е., Ярыгин В.Н., 1973; Сотников О.С. и др., 1994; Аврущенко М.Ш. и др., 2000; Боголепов Н.Н. и др., 2001; Martone M.E. et al. 1999; Leker R.R., Shohami E., 2002).

Несмотря на большое количество работ по изучению патофизиологических аспектов развития хронической церебральной ишемии, недостаточно полно освещены вопросы структурно-функционального изменения головного мозга в отдаленном периоде после перенесенного ишемического инсульта в эксперименте (Семченко В.В. и др., 1999, 2008). Имеются единичные работы по отдаленному постреанимационному периоду (Десятниченко А.К., 1998). Слабо изучено влияние внешних стрессовых воздействий на функциональную активность поврежденного головного мозга и целенаправленная коррекция последствий этого влияния. Особенно это касается одновременного изучения нескольких отделов головного мозга, объединенных в единую систему.

Широко обсуждаются вопросы защиты головного мозга в отдаленном постишемическом периоде (Фишер М., Шебитц В., 2001; Бабаян Е. и др., 2005; Пирадов М.А., 2007; Клигуненко Е.Н., Емельянова Е.А., 2008; Виничук С.М., 2009). В этом плане перспективным может быть использование церебро, препарата из группы ноотропов, который обеспечивает синтез ацетилхолина и фосфатидилхолина в нейрональных мембранах, оказывая нейропротективное действие.

Таким образом, выявление в отдаленном постишемическом периоде закономерностей реорганизации цито- и синаптоархитектоники сенсомоторной коры и таламуса в эксперименте, выделение этапов восстановления структурно-функционального состояния мозга и определение потенциальных возможностей репаративной нейропластичности на уровне "неокортекс-таламус", расширят наши представления о возможностях нейропротективной коррекции и послужат обоснованием для разработки методов нейрореабилитации с учетом компенсаторно-приспособительных механизмов и структурно-функциональной реорганизации мозга в восстановительном периоде после перенесенных ишемических эпизодов.

Необходимость проведения подобных работ связана с увеличением частоты ишемических инсультов, особенно в молодом возрасте, высокой степенью инвалидизации (Гусев Е.И., Скворцова В.И., 2001). Поэтому изучение теоретического обоснования использования различных методов восстановительного лечения в отдаленном постишемическом периоде является не только важной нейробиологической, но и медико-социальной проблемой.

Цель работы. Выявить структурно-функциональные изменения сенсомоторной коры и вентробазального комплекса таламуса головного мозга белых крыс в отдаленном постишемическом периоде на фоне хронического аудиогенного стрессового воздействия и обосновать возможность их целенаправленной коррекции с помощью препарата церебро.

Задачи исследования:

1. Провести морфометрический анализ изменений цито- и синаптоархитектоники сенсомоторной коры большого мозга и вентробазального комплекса таламуса белых крыс в отдаленном постишемическом периоде (через 1, 3, 5 и 9 месяцев).

2. Осуществить морфометрический анализ изменений цито- и синаптоархитектоники сенсомоторной коры большого мозга и вентробазального комплекса таламуса белых крыс в отдаленном постишемическом периоде на фоне хронического аудиогенного стрессового воздействия.

3. Изучить психоневрологический статус белых крыс в отдаленном постишемическом периоде и его изменения на фоне хронического аудиогенного стрессового воздействия.

4. Выявить структурно-функциональные изменения цито- и синаптоархитектоники сенсомоторной коры большого мозга и вентробазального комплекса таламуса и психоневрологического статуса белых крыс в отдаленном постишемическом периоде на фоне хронического аудиогенного стрессового воздействия при использовании препарата церебро.

Новизна исследования. Впервые в эксперименте на белых крысах изучены изменения цито- и синаптоархитектоники сенсомоторной коры большого мозга и вентробазального комплекса таламуса в течение 9 месяцев после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий и хроническом аудиогенном раздражении.

Доказано, что через 9 месяцев после ишемии на фоне хронического стресса общая численная плотность нейронов в слоях III-IV, V сенсомоторной коры большого мозга и вентробазальном комплексе таламуса меньше на 6,5, 9,4 и 12,4% соответственно. При хроническом стрессе в большей степени страдают нервные клетки слоев III-IV сенсомоторной коры (дефицит 51,4% нейронов) и вентробазального комплекса таламуса (дефицит 36,9% нейронов). Выявлено, что хронический стресс приводит к более значительному увеличению содержания деструктивно измененных нейронов (на 16%), синапсов (на 34%) через 3 и 5 месяцев постишемического периода и сопровождается реорганизацией нейроглиальных и межнейронных отношений.

Установлено наличие положительных корреляционных связей между выраженностью психоневрологических изменений и степенью реорганизации цито- и синаптоархитектоники сенсомоторной коры большого мозга и таламуса животных, подвергнутых стрессовому

воздействию. Показано, что увеличение содержания нейроглиальных комплексов в таламусе положительно коррелирует с судорожной готовностью головного мозга.

Выявлено, что использование препарата церебро при хроническом аудиогенном стрессовом воздействии в отдаленном постишемическом периоде приводит к более быстрому и полному восстановлению ориентировочно-исследовательской деятельности и структурно-функционального состояния сенсомоторной коры большого мозга и вентробазального комплекса таламуса экспериментальных животных.

Теоретическое и практическое значение работы. Полученные новые данные о структурно-функциональном состоянии сенсомоторной коры и вентробазального комплекса таламуса позволяют расширить представление о пластичности нервной ткани и выявить изменения таламокортикальных взаимоотношений в отдаленном постишемическом периоде на фоне хронического стресса.

В отдаленном постишемическом периоде при хроническом стрессе усиливаются механизмы повреждения нейронов и межнейронных синапсов, активируются компенсаторно-восстановительные процессы, существенно перестраиваются кортико-кортикальные и таламокортикальные взаимоотношения. Межнейронные синапсы гипертрофируются, затем в результате структурной рекомбинации их компонентов существенно усложняется пространственная организация синаптических устройств и увеличивается их эффективность. Чрезмерная интенсификация компенсаторных процессов может быть причиной появления гиперактивных неконтролируемых нейронных сетей, из которых впоследствии формируются патологические системы головного мозга. В специфических ядрах таламуса, кроме усложнения синаптоархитектоники в отдаленном постишемическом периоде на фоне хронического стресса, увеличивается содержание специфических нейроглиальных комплексов.

Результаты исследования позволяют установить, что церебро, действуя как нейрометаболический стимулятор, предотвращает повреждение и гибель значительного количества нейронов, межнейронных синаптических контактов, стимулирует компенсаторно-восстановительные процессы, улучшает психоневрологический статус экспериментальных животных в отдаленном постишемическом периоде. Результаты проведенного исследования доказывают высокую эффективность нейропротективной терапии препаратом церебро в восстановительном периоде ишемического инсульта и служат обоснованием для его клинического внедрения в стандарты лечения постинсультных больных в неврологических и нейрореабилитационных отделениях.

Полученные данные послужат фундаментальной базой для дальнейших исследований в изыскании способов восстановления и защиты головного мозга в отдаленном постишемическом периоде с помощью нейропротекции и стимуляции репаративных процессов.

Внедрение полученных результатов. Результаты исследования структурно-функционального состояния сенсомоторной коры большого мозга и вентробазального комплекса таламуса в отдаленном постишемическом периоде внедрены в курс лекций и практических занятий по темам: "Нервная ткань", "Гистофизиология органов центральной нервной системы"; в научно-исследовательскую работу кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, кафедры медицинской биологии с основами генетики и экологии Омской государственной медицинской академии; использованы при изложении материалов в разделе «Пластичность синапсов при острой ишемии головного мозга и в постишемическом периоде» монографии: В.В. Семченко, С.С. Степанов, Н.Н. Боголепов «Синаптическая пластичность головного мозга» (Омск: Омская областная типография, 2008 – 408 с.), рекомендованной НИИ неврологии РАМН РФ нейростологам, нейробиологам, нейрофизиологам, патологоанатомам, патофизиологам, фармакологам, невропатологам, нейрохирургам, терапевтам, анестезиологам-реаниматологам и студентам медицинских вузов ([www. neurology. ru](http://www.neurology.ru)).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. В отдаленном постишемическом периоде происходит уменьшение общей численной плотности нейронов и компенсаторная реорганизация межнейронных взаимоотношений в сенсомоторной коре большого мозга и в вентробазальном комплексе таламуса белых крыс. Хроническое аудиогенное стрессовое воздействие в отдаленном постишемическом периоде усиливает повреждение популяции нейронов, препятствует восстановлению синаптоархитектоники этих отделов головного мозга и ориентировочно-исследовательской деятельности животных.

2. Использование церебро в отдаленном постишемическом периоде приводит к активации компенсаторно-восстановительных процессов, уменьшению количества деструктивно измененных нейронов и синапсов, способствует сохранению общей численной плотности нейронов и восстановлению межнейронных связей в сенсомоторной коре большого мозга и вентробазальном комплексе таламуса белых крыс, обеспечивает более полную нормализацию психоневрологического статуса.

Апробация работы. Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на Всероссийской конференции «Структурно-функциональные и нейрохимические закономерности асимметрии и пластичности мозга» (Москва, 2006), VIII-ом конгрессе международной ассоциации морфологов (Орел, 2006), 6-й Всероссийской конференции «Бабухинские чтения в Орле» (Орел, 2007), Всероссийской конференции «Структурно-функциональные и нейрохимические закономерности асимметрии и пластичности мозга» (Москва, 2007), II-ой научно-практической конференции «Клинические и фундаментальные аспекты критических состояний» (Омск, 2007), Всероссийском научном конгрессе с международным участием «В.М. Бехтерев – основоположник нейронаук» (Казань, 2007), международной научной конференции (Астрахань, 2007),

Всероссийской конференции с международным участием (Москва, 2007), IX-ом конгрессе Международной ассоциации морфологов «Медико-экологические проблемы возрастной морфологии. Адаптационные процессы органов и систем» (Бухара, 2008), международной гистологической конференции «Морфогенезы в эволюции, индивидуальном развитии и эксперименте» (Тюмень, 2008), научной конференции морфологов (Москва, 2008), научно-практической конференции «Клинические и фундаментальные аспекты критических состояний» (Омск, 2008), региональной научно-практической конференции «Инновационные медицинские технологии в многопрофильной клинике» (Омск, 2008), всероссийской научной конференции «Нейробиологические аспекты морфогенеза и регенерации» (Оренбург, 2008), Российском симпозиуме с международным участием «Патофизиология и клиника экстремальных и терминальных состояний» (Уфа, 2009), Российской научно-практической конференции «Нарушение мозгового кровообращения. Патофизиология, клиника, диагностика, лечение» (Барнаул, 2009), 7-й Всероссийской научной конференции «Бабухинские чтения в Орле» (Орел, 2009), VI-ом съезде анатомов, гистологов и эмбриологов России (Саратов, 2009).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 19 научных работ, из них в изданиях перечня ВАК – 9.

Объем и структура диссертации. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания методик исследования, 2 глав собственных исследований, заключения и выводов. Общий объем диссертации составляет 162 страницы, фактические данные иллюстрированы 38 рисунками, 22 таблицами. Указатель литературы включает 146 источников, из них иностранных – 96. Весь материал, представленный в диссертации, получен, обработан и проанализирован лично автором.

II. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основу работы составили результаты хронических экспериментов, выполненных на половозрелых белых крысах-самцах. Используемые в эксперименте животные содержались в условиях вивария ЦНИЛ ОмГМА, регламентируемых приказом МЗ СССР № 1179 от 10.10.1983 г. Опыты проводили в соответствии с приказами МЗ СССР № 755 от 12.08.77 и № 701 от 27.07.78 об обеспечении принципов гуманного обращения с животными.

Моделирование острой 20-минутной ишемии головного мозга путем пережатия общих сонных артерий проведено на беспородных крысах самцах массой 250-300 г после внутрибрюшинного введения тиопентал-натрия в дозе 7,5 мг/кг и дополнения эфиром (при необходимости) при достижении хирургической стадии наркоза (Губенко А.В. и др., 2007). Выживших и пронумерованных животных с помощью рандомизации

(использование генератора случайных чисел) делили на три группы: 1) животные группы I (n=20) два раза в неделю подвергались прерывистому аудиогенному воздействию (70-80 децибел) (по две минуты) в течение 2-го и 3-го месяца после острой ишемии; 2) животные группы II (n=20) содержались в тех же условиях, но без стрессового воздействия; 3) животным группы III (n=20) на фоне аудиогенного воздействия проводилось лечение с помощью препарата церебро, который вводили внутрибрюшинно через день в течение второго и третьего месяца после острой ишемии до звукового воздействия (в дозе 20 мг/кг). Животные группы IV (n=20, без ишемии), как и животные группы I, два раза в неделю подвергались аудиогенному воздействию в течение 3 месяцев. Контролем (группа V) служили ложноперированные животные (наркоз, рассечение кожи, n=20, без ишемии и стрессового воздействия).

Для морфологического исследования головной мозг животных забирали через 1, 3, 5 и 9 месяцев после острой ишемии и фиксировали путем транскардиальной перфузии смесью 4% раствора параформальдегида, 1% раствора глутарового альдегида, 5% раствора сахарозы на 0,1 М фосфатном буфере (pH=7,4). Материал заключали в парафин (светооптические препараты) или смесь эпона и аралдита (электронномикроскопические препараты). Для светооптического исследования готовили фронтальные серийные срезы толщиной 5-7 мкм на уровне сенсомоторной коры большого мозга и вентробазального комплекса таламуса, окрашивали по Ниссию (Семченко В.В. и др., 2006). В ходе морфометрического анализа определяли общую численную плотность нейронов, абсолютное и относительное (%) содержание нормохромных, гиперхромных несморщенных, гиперхромных сморщенных, гипохромных нейронов и клеток-теней (Semchenko V.V. et al., 1996; Miller M.W., Potempa G., 1990). На цифровых изображениях исследуемых областей с помощью встроенных инструментов "Photoshop CS" при увеличении $\times 1000$ измеряли площадь тел нейронов (нейроны, в которых дифференцировалось ядрышко), рассчитывали ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО).

Ультратонкие срезы сенсомоторной коры и вентробазального комплекса таламуса готовили на ультрамикротоме «Ultracut-E» (фирма Reichert-Jung), помещали на сетки без подложки и контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца. Просмотр и фотографирование ультратонких срезов производили на электронном микроскопе «Hitachi-600H». Анализировали динамику общей численной плотности синапсов (на 100 мкм^2 нейропиля), содержания деструктивно измененных синапсов, синапсов с митохондриями, синапсов с различной формой и размерами активной зоны контакта, толщиной постсинаптического уплотнения, различной плотностью синаптических пузырьков, перфорированных синапсов (Семченко В.В. и др., 2008).

Для оценки общего состояния животных использовали 100-балльную систему С.П.Лысенкова с соавт. (1982), для оценки судорожной

готовности – 5-балльную систему Л.В.Крушинского (1960). Ориентировочно-исследовательское поведение и эмоционально-психические реакции крыс изучали в тесте открытое поле (Буреш Я. и др., 1991).

Полученные количественные данные обработаны с помощью общепринятых в медико-биологических исследованиях методов системного анализа (Лакин Г.Ф., 1980; Славин М.Б., 1989) с привлечением программ "EXCEL" и "Statistica-5" (Боровиков В., 2001; Реброва О.Ю., 2002), согласно современным требованиям к проведению анализа медицинских данных (Гланц С., 1998). Различия между независимыми выборками количественных признаков определяли с помощью рангового дисперсионного анализа Краскела-Уоллиса, критериев Манна-Уитни и Колмогорова-Смирнова. Для категориальных переменных (% от числа) применяли Хи-квадрат (χ^2) и точный критерий Фишера двусторонний.

Все эксперименты и исследования выполнены на базе Омской государственной медицинской академии (ЦНИЛ, кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии) и частично в лаборатории ультраструктуры и патоморфологии института молекулярной биологии научного центра "Вектор" МЗ РФ (зав. лабораторией доктор биологических наук Е.И.Рябчикова). Эксперимент выполнен совместно с канд. мед. наук С.В. Максимишиным, А.А. Бутиным, Д.Д. Поташевым. Статистический анализ проведен при консультативной помощи д-ра мед. наук С.С. Степанова.

III. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Структурно-функциональные изменения сенсомоторной коры большого мозга и вентробазального комплекса таламуса в отдаленном постиншемическом периоде без и на фоне хронического стресса

Нейроны сенсомоторной коры. По данным дисперсионного анализа (ANOVA Краскела-Уоллиса), у контрольных животных (группа V) в течение 9 месяцев наблюдения не выявлено статистически значимых изменений морфометрических параметров (критерий $H < 4,0$, $p > 0,05$).

У животных I, II и IV групп обнаружены статистически значимые изменения всех показателей цитоархитектоники слоев III-IV (критерий $H > 6,0$, $p < 0,05$). В слое V общая численная плотность нейронов статистически значимо уменьшалась только у животных группы I.

Через 1 и 3 месяца после ишемии статистически значимые различия между группами (ANOVA Краскела-Уоллиса) выявлялись по всем изученным показателям цитоархитектоники. Через 5 месяцев в слоях III-IV различия между группами отсутствовали только по показателю содержания клеток-теней. В слое V не отличалось содержание нормохромных, гиперхромных, гипохромных нейронов и клеток-теней. Через 9 месяцев в слоях III-IV различия между группами не выявлены по показателю содержания гиперхромных нейронов и клеток-теней. В слое V различалась только общая численная плотность нейронов ($H = 8,6$; $p = 0,03$).

Общая численная плотность нейронов через 9 месяцев после ишемии в слоях III-IV сенсомоторной коры у животных группы I уменьшилась на 50,7%, группы II – на 44,0% по сравнению с соответствующим контролем, в слое V – на 33,1 и 23,9% соответственно, а у животных группы IV статистически значимых изменений этого показателя выявлено не было (табл. 1).

У животных группы I в отдаленном постишемическом периоде в слоях III-IV и V сенсомоторной коры, по данным дисперсионного анализа, статистически значимо изменялось содержание нормохромных, гиперхромных несморщенных, гиперхромных сморщенных, гипохромных нейронов и клеток-теней. Кривая, отражающая изменение содержания вышеназванных типов нейронов, по форме приближалась к параболической: минимальное содержание нормохромных нейронов – через 3 месяца после ишемии, а максимальное содержание остальных типов нейронов – через 3 месяца постишемического периода.

Таблица 1

Общая численная плотность нейронов (на 1 мм³) в слоях III-IV и V сенсомоторной коры большого мозга белых крыс в отдаленном постишемическом периоде и при аудиогенном воздействии, M±s

Группа	Постишемический период, мес.			
	1	3	5	9
Слои III-IV				
I	44160±2890**	42640±3580 ***	40510±2500 ***	35440±3170 ***#
II	47450±4550 **	46500±5500 ***	47840±3580 **^	40220±2880 ***^#
IV	73150±3520 ^^^	73400±4850 ^^^	64650±4280 *^^#	61860±5160 *^^##
V (контроль)	72950±2750	72600±2660	72860±4840	71840±3450
Слой V				
I	34155±2550 *	32110±4120 **	30290±3310 **	29170±3230 ***#
II	36850±2550 *	36380±4350 **	32090±3200 **	33190±2880 **
IV	43560±3430 ^	44560±2880 ^	43850±5250 ^^	41270±6030 ^^
V (контроль)	42360±3280	42450±3150	41890±2950	43630±3330

Примечание. * – статистически значимые различия в сравнении с группой IV (контроль) при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$ и *** – при $p < 0,001$; ^ – статистически значимые различия в сравнении с группой I при $p < 0,05$, ^^ – при $p < 0,01$; # – статистически значимые различия в сравнении с 1 месяцем при $p < 0,05$, ## – при $p < 0,01$ (критерий Манна-Уитни и Колмогорова-Смирнова).

У животных группы II в отдаленном постишемическом периоде в слоях III-IV сенсомоторной коры статистически значимо изменялось содержание нормохромных, гиперхромных несморщенных и гиперхромных сморщенных нейронов, а в слое V – содержание нормохромных и гиперхромных несморщенных нейронов. Кривая, отражающая изменение содержания вышеназванных типов нейронов, по форме приближалась к синусоиде: минимальное содержание нормохромных нейронов – через 1 и 5 месяцев, максимальное – через 3 и 9 месяцев после ишемии; минимальное содержание гиперхромных нейронов – через 3 и 9 месяцев, максимальное – через 1 и 5 месяцев постишемического периода. Наиболее четко подобная динамика содержания нейронов проявлялась в слоях III-IV сенсомоторной коры.

У животных группы IV в слоях III-IV сенсомоторной коры на фоне хронического стрессового воздействия статистически значимо изменялось содержание нормохромных, гипохромных, гиперхромных несморщенных и гиперхромных сморщенных нейронов, а в слое V – содержание нормохромных и гиперхромных несморщенных нейронов. Кривая, отражающая изменение содержания различных типов нейронов, по форме, как и в группе I, приближалась к параболе.

Аудиогенное воздействие приводило к увеличению количества необратимо измененных нейронов (клетки-тени, гиперхромные сморщенные нейроны) и более выраженной редукции общей численной плотности нейронов, оказывало существенно меньшее влияние на структурно-функциональное состояние нейронов сенсомоторной коры.

Таким образом, в отдаленном постишемическом периоде в сенсомоторной коре наибольшее изменение содержания реактивно измененных нейронов и уменьшение общей численной плотности нейронов, по сравнению с соответствующим контролем и первым месяцем, было характерно для животных группы I через 3 месяца после ишемии и 2 месяца аудиогенного воздействия. При этом в большей степени страдали мелкие нейроны слоев III-IV – вторичный проекционно-ассоциативный комплекс, специализированный на восприятии, переработке и распределении по коре специфической афферентной таламической импульсации.

Межнейронные синапсы сенсомоторной коры. В отдаленном постишемическом периоде на фоне аудиогенного стресса (группа I) в молекулярном слое сенсомоторной коры появлялись участки нейропиля с высоким содержанием синаптических терминалей, измененных по светлomu типу деструкции (до 27%). По всем показателям (кроме общей численной плотности через 1 месяц) имелись статистически значимые различия (ANOVA Краскела-Уоллиса). Наибольшие различия в сравнении с соответствующим контролем характерны для животных группы I (табл. 2).

Таблица 2
Синаптоархитектоника молекулярного слоя сенсомоторной коры большого мозга белых крыс в отдаленном постишемическом периоде, $M \pm s$

Группа	Постипшемический период, мес			
	1	3	5	9
Общая численная плотность синапсов (сенсомоторная кора, молекулярный слой)				
I	32,2±2,1	19,5±3,2***##	27,2±2,8***#	34,5±2,5#
II	31,8±2,5	25,3±2,1*^#	32,5±3,1#	34,6±3,8
IV	34,8±2,7	36,6±4,5^^	32,4±2,7	31,3±3,8
V (контроль)	36,0±3,5	35,7±4,5	34,2±2,8	33,6±3,2
Содержание деструктивно измененных синапсов (сенсомоторная кора, молекулярный слой)				
I	10,0±2,1**	22,5±4,4***##	16,7±3,2***#	4,8±1,2*##
II	9,8±1,1**	11,1±2,2*^	5,1±2,2*^	2,2±1,0*^
IV	3,8±1,1	8,5±2,1*^	7,8±1,4*^	7,2±1,5*^
V (контроль)	3,0±1,0	2,5±2,0	3,2±1,6	2,6±1,8
Пространственная организация синаптических устройств, баллы				
I	21±4*	29±4*#	28±7*	30±9*
II	19±3*	22±4*^	16±5^^#	15±3^^
IV	15±4^	19±4*^	18±3*^	19±3*^^
V (контроль)	14±2	13±3	12±2	14±3

Примечание. * – статистически значимые различия в сравнении с контролем при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$ и *** – при $p < 0,001$; ^ – статистически значимые различия в сравнении с группой I при $p < 0,05$ и ^^ – при $p < 0,01$; # – статистически значимые различия в сравнении с предыдущим сроком при $p < 0,05$ и ## – при $p < 0,01$ (критерий Манна-Уитни и Колмогорова-Смирнова).

В группе I через 3 месяца после ишемии дефицит общей численной плотности синапсов составил 45,4, через 5 месяцев – 20,5%. В группе II – 29,1 и 5% соответственно. В группе IV общая численная плотность синапсов статистически значимо не изменялась. В группе I происходило более значительное усложнение пространственной организации синаптических устройств (табл. 2).

Все вышеизложенное свидетельствует о существенной роли хронического стрессового раздражения для реорганизации межнейронных отношений в отдаленном постишемическом периоде.

Нейроны вентробазального комплекса таламуса. Дефицит общей численной плотности нейронов в вентробазальном комплексе таламуса увеличивался только на фоне хронического аудиогенного стрессового раздражения (группа I) (ANOVA Краскела-Уоллиса). При сравнении с контролем различия статистически значимы в группе I и II через 1, 3, 5 и 9 месяцев. За 9 месяцев наблюдения в группе I общая численная плотность

нейронов в вентробазальном комплексе таламуса уменьшилась, в сравнении с контролем, на 32,7%, а в группе II – только на 19,6% (табл. 3).

Таблица 3

Общая численная плотность нейронов (на 1 мм³) вентробазального комплекса таламуса белых крыс в отдаленном постишемическом периоде, $M \pm s$

Группа	Постишемический период, мес.			
	1	3	5	9
I &(N=7,3; p=0,04)	8140±1120 *	8270±1240 **	7140±1120 ***#	6850±1090 ***#
II	8325±1010 *	8290±1155 **	8240±1110 ***^	8190±1270 ***^
IV	10120±1230	10085±1480	11010±1940	10895±2150
V (контроль)	10850±1550	11630±1990	10090±1850	10180±2540

Примечание. * – статистически значимые различия в сравнении с группой IV (контроль) при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$ и *** – при $p < 0,001$; ^ – статистически значимые различия в сравнении с группой I при $p < 0,05$; # – статистически значимые различия в сравнении с предыдущим сроком при $p < 0,05$ (критерий Манна-Уитни и Колмогорова-Смирнова). & – статистически значимые изменения показателя в течение 9 месяцев (ANOVA Краскела-Уоллиса, N – соответствующий критерий).

На фоне стресса выявлено изменение содержания всех типов реактивно измененных нейронов вентробазального комплекса таламуса. Число нормохромных нейронов через 3 месяца уменьшалось до 41% и сохранялось на этом уровне после его прекращения (5 месяцев). Через 9 месяцев содержание нормохромных нейронов увеличивалось до контрольного уровня.

Установлено, что статистически значимые различия между группой I и II, I и IV по содержанию нормо- и гипохромных нейронов имелись через 3 и 5 месяцев, а по количеству гиперхромных нейронов – только через 5 месяцев отдаленного постишемического периода. Между группой II и IV значимых различий не обнаружено.

В отдаленном постишемическом периоде на фоне аудиогенного раздражения, очень часто, кроме сателлитоза, выявлялись особые комплексы глиоцита и нейрона, которые характеризовались следующими особенностями: 1) глиоцит, лежащий на поверхности тела нейрона, определялся всегда один в отличие от сателлитоза, когда на поверхности нейрона наблюдалось несколько глиоцитов, расположенных в различных частях перикариона и на крупных, проксимальных частях дендритов; 2) глиоцит всегда располагался над центральными зонами тела нейрона – напротив клеточного ядра нейрона; 3) формирование комплекса нейрона с глиоцитом изменяло конфигурацию тела и ядра нейрона; 4) клеточные ядра укрупнялись, вокруг них оставалась только узкая полоска перикариона.

Увеличение двигательной активности и судорожной готовности головного мозга животных в отдаленном постишемическом периоде на фоне хронических аудиогенных раздражений, возможно, обусловлено накоплением описанных выше комплексов нейрон-глиоцит в вентробазальном комплексе таламуса.

Межнейронные синапсы вентробазального комплекса таламуса. В течение отдаленного постишемического периода общая численная плотность синапсов статистически значимо изменялась только в группе I (ANOVA Краскела-Уоллиса).

Через 3 месяца после ишемии в группе I дефицит синапсов в вентробазальном комплексе таламуса составил 36,4%, через 5 месяцев – 44,6 и через 9 месяцев – 29,9%. В группе II различия с контролем отсутствовали, а в группе IV только через 3 месяца дефицит синапсов составил 21,9% (табл. 4).

Содержание деструктивно измененных синапсов в течение всего отдаленного постишемического периода (1-9 месяцев) изменялось в группе I, II и IV. Максимальное число синапсов, измененных по светлому типу деструкции, отмечалось в группе I через 3 и 5 месяцев эксперимента (табл. 4).

В группе I и IV через 3 месяца наблюдения существенно увеличивался показатель суммарной балльной оценки пространственной организации синаптических устройств. Однако в группе I этот показатель сохранялся на высоком уровне через 5 и 9 месяцев (табл. 4).

Таблица 4

Синаптоархитектоника вентробазального комплекса таламуса белых крыс в отдаленном постишемическом периоде, $M \pm s$

Группа	Постишемический период, мес.			
	1	3	5	9
Общая численная плотность синапсов				
I	37,6±3,5	25,3±2,8***##	22,5±3,6**	26,5±2,5**
II	34,3±2,8	36,8±3,5^^	31,8±2,9^^	32,6±3,1^
IV	32,7±5,2	31,1±3,5*^	37,2±4,8^^	35,7±5,5^
V (контроль)	38,8±4,6	39,8±4,2	40,6±5,8	37,8±4,2
Содержание деструктивно измененных синапсов				
I	9,5±1,8**	15,6±3,1***##	12,7±2,8***	11,5±1,2*
II	10,0±2,1***	4,5±0,6^^^##	3,8±0,5^^^	3,2±0,8^^^
IV	9,0±1,5**	14,4±2,2***##	6,9±1,1*^^#	4,2±1,3^^
V (контроль)	3,0±1,0	2,5±2,0	3,2±1,6	2,6±1,8
Пространственная организация синаптических устройств, баллы				
I	15±3*	21±4***##	23±5***	20±4**
II	14±2*	15±3*^	14±3*^^	12±4^^
IV	11±3	19±4*##	12±3^#	9±3^^^
V (контроль)	10±2	11±3	9±2	10±3

Примечание. * – статистически значимые различия в сравнении с группой V (контроль) при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$ и *** – при $p < 0,001$; ^ – статистически значимые различия в сравнении с группой I при $p < 0,05$, ^^ – при $p < 0,01$ и ^^ ^ – при $p < 0,001$; # – статистически значимые различия в сравнении с предыдущим сроком при $p < 0,05$ и ## – при $p < 0,01$ (критерий Манна-Уитни и Колмогорова-Смирнова).

Таким образом, в отдаленном постишемическом периоде на фоне хронического аудиогенного раздражения деструктивные и компенсаторно-восстановительные изменения нейронов и межнейронных синапсов сенсомоторной коры и вентробазального комплекса таламуса существенно изменяют структурную основу таламокортикальных взаимоотношений. Уменьшение общей численной плотности нейронов и синапсов сопровождается компенсаторной реорганизацией межнейронных отношений по пути увеличения эффективности активных синаптических устройств, а также усложнением нейроглиальных отношений.

3.2. Психоневрологический статус белых крыс в отдаленном постишемическом периоде без и на фоне хронического стресса

В отдаленном постишемическом периоде при дисперсионном (сравнение трех групп или более двух сроков) и парном (сравнение двух групп или сроков) анализе групп I, II и IV выявлены статистически значимые различия по всем изученным показателям между группами и внутри групп по всем срокам исследования.

Через 1 мес. после острой ишемии головного мозга различия выявлялись только в сравнении с группой IV (в данном случае – исходный контроль). Между группами I и II различий не было.

Через 3 месяца после ишемии в группе I и IV у животных, подвергнутых аудиогенному воздействию, психоневрологические нарушения усилились и затрагивали эмоциональную сферу и ориентировочно-исследовательскую деятельность. У животных группы II сохранялись признаки, свидетельствовавшие лишь о нарушениях в эмоциональной сфере без выраженной динамики в отдаленном периоде наблюдения.

Максимальные изменения параметров, характеризующих эмоциональную сферу и ориентировочно-исследовательскую деятельность, характерны для группы I. У этой группы животных, по сравнению с животными через 1 месяц после ишемии, статистически значимо увеличивалась общая двигательная активность (в 1,58 раза, $p < 0,01$), а также, соответственно, горизонтальная и вертикальная активность. При этом снижалось количество норок (в 2,29 раза, $p < 0,01$), увеличивалась продолжительность латентного периода (в 1,53 раза ($p < 0,05$), возрастало количество грумингов (в 1,82 раза ($p < 0,01$), снижалось количество дефекаций (в 2,17 раза ($p < 0,01$)).

У животных группы IV аудиогенные раздражения также приводили к увеличению двигательной активности, однако другие показатели ориентировочно-исследовательской деятельности и эмоциональной сферы

оставались в рамках контрольных значений. У животных группы IV не выявлены признаки снижения судорожной готовности головного мозга.

В отличие от группы IV, у 3 из 20 животных группы I после иницированного звуковым воздействием двигательного возбуждения, появлялись кратковременные судорожные пароксизмы и признаки адинамии. Кроме того, у животных группы I, в структуре двигательной активности чаще отмечались агрессивность, повышенная возбудимость, защитные движения, принятие позы беспокойства – негативные эмоциональные проявления. Животные этой группы во время сеанса звукового воздействия вздрагивали, забивались в угол клетки, принимали защитную позу, у них появлялась пугливость и агрессивность с повышенной чувствительностью к прикосновениям.

Установлено, что у животных группы I ответная двигательная реакция на сильный звук варьировала от 1 до 3 баллов ($2,35 \pm 1,20$ балла), а у животных группы IV – от 0 до 1 балла ($0,85 \pm 0,70$ балла, $p < 0,01$).

Таким образом, сочетание острой ишемии в анамнезе и последующего хронического стресса приводило к патологическому изменению психоневрологического статуса белых крыс с нарушением ориентировочно-исследовательской деятельности, эмоциональной сферы и снижением порога судорожной готовности мозга.

3.3. Корреляционные связи между основными показателями структурно-функционального состояния сенсомоторной коры большого мозга, вентробазального комплекса таламуса и ориентировочно-исследовательской деятельностью в отдаленном постишемическом периоде

Корреляционный анализ морфологических и психоневрологических изменений проведен в группе I за 1-9 месяцев после начала эксперимента. Вариационные ряды формировали из бинарных показателей («есть – нет» различия в сравнении с контролем) для сенсомоторной коры и вентробазального комплекса таламуса.

В отдаленном постишемическом периоде для животных, перенесших ишемию и стрессовое аудиогенное воздействие, установлено наличие большого количества средних и сильных корреляционных связей между показателями психоневрологического статуса и изученных морфометрических показателей структурно-функционального состояния нейронов и синапсов сенсомоторной коры большого мозга.

В сенсомоторной коре в основе выявленных в отдаленном постишемическом периоде изменений ориентировочно-исследовательской деятельности и эмоционального статуса лежат реактивные изменения нейронов, приводящие к их чрезмерной активации (например, гипохромия без ультраструктурных нарушений) и реорганизация межнейронных отношений по типу увеличения эффективности синаптических устройств за счет компенсаторно-восстановительной активации механизмов синаптической пластичности.

В сенсомоторной коре в отдаленном периоде после ишемии и аудиогенного стресса, общая численная плотность эффекторных (пирамидных) нейронов уменьшается, а их активность и функционирование системы межнейронной коммуникации усиливается. Это требует соответствующей реорганизации взаимоотношений возбуждающей и тормозной систем сенсомоторной коры, что на фоне аудиогенного стресса (дополнительный источник возбуждающих импульсов) и деструкции части нейронов не всегда возможно в полной мере. В вентробазальном комплексе таламуса характер корреляционных отношений между изученными признаками во многом схож с таковыми в сенсомоторной коре.

Особо следует отметить то, что в вентробазальном комплексе таламуса, в отличие от сенсомоторной коры, выявляется статистически значимая средняя коореляционная зависимость между количеством комплексов нейрон-глиоцит и высоким баллом по шкале Л.В.Крушинского (1960). Это может свидетельствовать о том, что в вентробазальном комплексе таламуса данные комплексы участвуют в повышении судорожной готовности головного мозга на фоне аудиогенного стрессового раздражения.

3.4. Коррекция структурно-функциональных изменений сенсомоторной коры большого мозга и вентробазального комплекса таламуса в отдаленном постишемическом периоде на фоне хронического аудиогенного стресса с помощью препарата церебро

Нейроны. В слоях III-IV и V сенсомоторной коры статистически значимые различия между группой I и III (лечение) отмечались только через 9 месяцев (на 14,7 и 15,6% соответственно), а в вентробазальном комплексе таламуса – через 5 (на 12,2%) и 9 (на 17,2%) месяцев после перенесенной острой ишемии.

Церебро нивелирует последствия воздействия стресса на поврежденный при острой ишемии головной мозг, обеспечивая условия для сохранения нейронов и, как следствие, более полноценное восстановление корково-подкорковых взаимоотношений в отдаленном постишемическом периоде.

Межнейронные синапсы. Использование препарата церебро способствовало сохранению общей численной плотности синапсов и снижало содержание поврежденных контактов. В молекулярном слое сенсомоторной коры общая численная плотность синапсов в группе III превышала таковую в группе I через 3 месяца на 46,7%. В вентробазальном комплексе таламуса статистически значимые различия между группами выявлялись через 3 и 5 месяцев. В группе III общая численная плотность синапсов была больше, чем в группе I, на 32,5 и 30,6% соответственно. Деструктивно измененных синапсов в сенсомоторной коре животных группы III было меньше, чем у животных группы I через 3 и 5 месяцев

после острой ишемии (на 75,9 и 62,8% соответственно). В нейропиле вентробазального комплекса таламуса животных группы III деструктивно измененных синапсов меньше, чем у животных группы I через 3, 5 и 9 месяцев после острой ишемии на 71,8, 70,1 и 80,7% соответственно.

Следовательно, церебро, снижая дефицит синапсов и активируя механизмы компенсаторной синаптической пластичности, влияет и на межнейронные взаимоотношения.

Таким образом, препарат церебро оказывает положительное действие на структурно-функциональное состояние сенсомоторной коры большого мозга и вентробазальных ядер таламуса экспериментальных животных в отдаленном постишемическом периоде. Очевидно, что при длительном применении препарата церебро исчезают структурные предпосылки нарушения таламокортикальных взаимоотношений, что, в свою очередь, препятствует формированию патологических изменений головного мозга в отдаленном постишемическом периоде.

Психоневрологический статус. При использовании церебро (группа III) после инициированного звуковым воздействием двигательного возбуждения не выявлялись судорожные пароксизмы и признаки адинамии. Кроме того, у животных группы III в структуре двигательной активности существенно реже отмечались негативные эмоциональные проявления. Если у животных группы I (без лечения) ответная двигательная реакция на сильный звук варьировала от 1 до 3 баллов ($2,35 \pm 1,20$ балла), то у животных группы III (лечение церебро) – от 0 до 2 баллов ($1,23 \pm 0,45$ балла, $p < 0,01$).

Таким образом, использование церебро в отдаленном постишемическом периоде на фоне хронического аудиогенного воздействия снижало степень выраженности повреждения нейронов и межнейронных синапсов, а также психоневрологических нарушений.

ВЫВОДЫ

1. Через 9 месяцев постишемического периода после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий общая численная плотность нейронов в слое III-IV сенсомоторной коры большого мозга белых крыс уменьшается на 44,9%, в слое V - на 21,7%, в вентробазальном комплексе таламуса - на 24,5%. На фоне хронического аудиогенного раздражения у животных, перенесших острую ишемию, происходит увеличение дефицита общей численной плотности нейронов соответственно до 51,4, 31,1 и 36,9%. Аудиогенное раздражение у контрольных животных приводит к уменьшению общей численной плотности нейронов на 15,2% только в слое III-IV.

2. Максимальное уменьшение содержания нормохромных нейронов в сенсомоторной коре большого мозга (до 35%) и вентробазальном комплексе таламуса (41%) наблюдалось у животных, перенесших острую ишемию головного мозга, при аудиогенном раздражении через 3 месяца отдаленного постишемического периода.

3. В вентробазальном комплексе таламуса при аудиогенном раздражении в отдаленном постишемическом периоде происходит усложнение нейроглиальных взаимоотношений, возрастает содержание комплексов нейрон-глия (5-15% в популяции нейронов). Имеется прямая корреляционная связь между увеличением содержания комплексов нейрон-глия и уровнем судорожной готовности мозга животных.

4. На фоне хронического аудиогенного раздражения в отдаленном постишемическом периоде значительно уменьшается общая численная плотность синапсов. Через 3 месяца после ишемии в молекулярном слое сенсомоторной коры большого мозга общая численная плотность синапсов снижается на 39,4% по сравнению с контролем, а содержание деструктивно измененных синапсов увеличивается до 63,0%. В вентробазальном комплексе - на 36,4 и 39,2% соответственно.

5. При хроническом аудиогенном воздействии в отдаленном постишемическом периоде в сенсомоторной коре большого мозга и вентробазальном комплексе таламуса происходит более выраженная, чем без стресса, активация механизмов компенсаторной синаптической пластичности, в результате чего увеличивается содержание гипертрофированных, перфорированных и более сложных синапсов. Выявлена прямая корреляционная связь между степенью усложнения межнейронных синапсов и уровнем судорожной готовности мозга.

6. Использование церебро в отдаленном постишемическом периоде снижает степень повреждения нейронов и синапсов сенсомоторной коры большого мозга и вентробазального комплекса таламуса, способствует более полноценному восстановлению таламокортикальных взаимоотношений, нормализации ориентировочно-исследовательского поведения, эмоционально-психических реакций и повышает порог судорожной готовности головного мозга.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Грицаенко О.С. Циклические патологические и компенсаторно-восстановительные процессы в коре большого мозга в отдаленном постишемическом периоде: материалы конф. / О.С. Грицаенко, Н.А. Новицкий, В.В. Семченко // Морфология. – 2006. – № 5. – С. 38.
2. Грицаенко О.С. Структурно-функциональные основы циклических постишемических патологических процессов в головном мозгу белых крыс: материалы VIII конгр. междунар. ассоц. морфологов, Орел, 2006 / О.С. Грицаенко, Н.А. Новицкий // Морфология. – 2006. – № 4. – С.41.
3. Пато-саногенетические изменения нейронов и синапсов как структурно-функциональная основа цикличности процесса реорганизации межнейронных отношений и асимметрии коры большого мозга белых крыс в отдаленном постишемическом периоде / В.В. Семченко, О.С. Грицаенко, Н.А. Новицкий, С.С. Степанов // Структурно-функциональные и нейрохимические закономерности

- асимметрии и пластичности мозга: материалы всерос. конф. с междунар. участием. – М., 2006. – С. 299-301.
4. Закономерности развития быстрых и медленных морфофункциональных перестроек коры большого мозга в постишемическом периоде / О.С. Грицаенко, Н.А. Новицкий, А.Р. Черба, В.В. Семченко // Бабухинские чтения: материалы 6-й всерос. научн. конф., Орел, 2007. – М., 2007. – С. 21-23. – (Альманах «Ретиноиды; вып. 25).
 5. Реорганизация межнейронных отношений в коре большого мозга в отдаленном постишемическом периоде и прикладные аспекты регуляции механизмов синаптической пластичности / О.С. Грицаенко, Н.А. Новицкий, С.С. Степанов, В.В. Семченко // Клинические и фундаментальные аспекты критических состояний: материалы науч. конф. – Омск, 2007. – С. 216-219.
 6. Различные типы реорганизации нейрона коры большого мозга белых крыс в отдаленном постишемическом периоде: материалы междунар. науч. конгр., Казань, 2007 / О.С. Грицаенко, В.В. Семченко, Н.А. Новицкий, С.С. Степанов // Неврол. вестн. – 2007. – №1. – С. 98.
 7. Репаративная и адаптивная реорганизация межнейронных отношений в коре большого мозга в отдаленном постишемическом периоде как основа усиления межполушарной асимметрии / О.С. Грицаенко, В.В. Семченко, А.Р. Черба, Н.А. Новицкий, С.С. Степанов // Структурно-функциональные, нейрхимические и иммунохимические закономерности асимметрии и пластичности мозга: материалы всерос. конф. с междунар. участием. – М., 2007. – С. 202-206.
 8. Роль ультраструктурных изменений дистальных и проксимальных отделов дендритного дерева в морфо-функциональной перестройке афферентного входа пирамидных нейронов сенсомоторной коры большого мозга в постишемическом периоде : материалы междунар. науч. конф., Астрахань, 2007 / В.В. Семченко, О.С. Грицаенко, С.С. Степанов, Н.А. Новицкий // Астраханский мед. журн. – 2009. – № 2. – С. 168.
 9. Грицаенко О.С. Реорганизация кортико-таламических отношений как основа усиления функциональной асимметрии мозга в отдаленном постишемическом периоде: материалы IX конгр. МАМ / О.С. Грицаенко, С.С. Степанов, В.В. Семченко // Морфология. – 2008. – № 2. – С. 36.
 10. Грицаенко О.С. Клинико-статистические характеристики ишемического инсульта / О.С. Грицаенко, Н.А. Новицкий // Инновационные медицинские технологии в многопрофильной клинике : материалы регион. науч.-практ. конф. – Омск, 2008. – С. 219-220. – (прил. к журн. «Омский науч. вестн.»; № 1 (65)).
 11. Грицаенко О.С. Структурно-функциональная реорганизация вентробазального ядра таламуса в отдаленном постишемическом

- периоде: материалы междунаро. гистол. конф. / О.С. Грицаенко // Морфология. – 2008. – № 3. – С. 36.
12. Грицаенко О.С. Очаговая активация неосинаптогенеза в сенсомоторной коре большого мозга белых крыс в отдаленном постишемическом периоде: материалы конф. / О.С. Грицаенко // Морфология. – 2008. – № 4. – С. 63-64.
 13. Грицаенко О.С. Влияние глиятилина на изменение синаптоархитектоники неокортекса белых крыс в отдаленном постишемическом периоде: материалы всерос. науч. конф. / О.С. Грицаенко, С.С. Степанов // Морфология. – 2008. – № 5. – С. 64.
 14. Пластичность синапсов при острой ишемии головного мозга и в постишемическом периоде / С.В. Максимишин, Н.А. Новицкий, О.С. Грицаенко, З.М. Золотарева, С.С. Степанов, В.В. Семченко // Синаптическая пластичность головного мозга (фундаментальные и прикладные аспекты) / В.В. Семченко, С.С. Степанов, Н.Н. Боголепов. – Омск, 2008. – Гл. 4, п. 4.6. – С. 207-217.
 15. Грицаенко О.С. Мелко- и крупноклеточные популяции нейронов сенсомоторной коры большого мозга белых крыс в отдаленном постишемическом периоде на фоне хронического стресса : материалы рос. симп. с междунар. участием, Уфа, 2009 / О.С. Грицаенко, В.В. Семченко, С.С. Степанов // Мед. вестн. Башкортостана. – 2009. – № 2. – С. 77-79.
 16. Грицаенко О.С. Клинико-патогенетическое обоснование этапного лечения больных с острым нарушением мозгового кровообращения : материалы рос. науч.-практ. конф., Барнаул, 2009 / О.С. Грицаенко, Н.А. Новицкий, В.В. Семченко // Рос. клиничко-фармацевт. вестн. – 2009. – №1. – С. 54.
 17. Грицаенко О.С. Циклическая активация синаптической пластичности как структурная основа реорганизации межнейронных отношений в отдаленном постишемическом периоде у белых крыс / О.С. Грицаенко, С.С. Степанов, В.В. Семченко // Бабухинские чтения: материалы 7-й всерос. науч. конф., Орел, 2009. – М., 2009. – С. 41-45. – (Альманах «Ретиноиды»; вып. 29).
 18. Грицаенко О.С. Роль стресса в развитии структурно-функциональных перестроек межнейронных отношений сенсомоторной коры большого мозга и таламуса в отдаленном постишемическом периоде: материалы VI всерос. съезда анатомов, гистологов и эмбриологов, Саратов, 2009 / О.С. Грицаенко // Морфология. – 2009. – №4. – С. 43.
 19. Грицаенко О.С. Экспериментальное обоснование использования препарата церебро в отдаленном постишемическом периоде на фоне хронического стресса / О.С. Грицаенко, В.В. Семченко // Мед. наука и образование Урала. – 2009. – № 3 (59). – С. 7-9.