

МОДЕЛИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ  
У ЗЕБРАДАНИО (*ZEBRAFISH*, *DANIO RERIO*)

© 2021 г. В. Я. Бабченко<sup>1, 2, \*</sup>, А. С. Белова<sup>1, 2</sup>, А. А. Баширзаде<sup>1</sup>,  
М. А. Тихонова<sup>1, 2</sup>, К. А. Демин<sup>3, 4, 5</sup>, К. Н. Забегалов<sup>6</sup>,  
Е. В. Петерсен<sup>7</sup>, А. В. Калувев<sup>1, 2, 6, 8</sup>, Т. Г. Амстиславская<sup>1, 2, \*\*</sup>

<sup>1</sup>Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт нейронаук и медицины, Новосибирск, Россия

<sup>3</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup>Российский научный центр радиологии и хирургических технологий  
им. акад. А.М. Гранова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

<sup>5</sup>Национальный медицинский исследовательский центр  
им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия

<sup>6</sup>Научно-технологический университет «Сириус», Сочи, Россия

<sup>7</sup>Московский физико-технический институт, Москва, Россия

<sup>8</sup>Уральский федеральный университет, Екатеринбург, Россия

\*E-mail: v.babchenko@g.nsu.ru

\*\*E-mail: amstislavskayatg@physiol.ru

Поступила в редакцию 16.04.2021 г.

После доработки 02.06.2021 г.

Принята к публикации 21.06.2021 г.

В современной медицине отмечается повышенный интерес к изучению патогенеза черепно-мозговой травмы (ЧМТ). Это продиктовано, прежде всего, высоким уровнем госпитализаций пациентов с данной патологией, большой летальностью, а также несовершенством существующих методов лечения. Для большего понимания патогенеза ЧМТ необходима правильная постановка эксперимента, которая, в свою очередь, начинается с правильного подбора модели на животных. Рыба зебраданио (*Danio rerio*) показала себя как перспективный организм для исследований молекулярных событий, лежащих в основе патогенеза ЧМТ. Среди преимуществ данного модельного организма – высокая степень генетической гомологии с человеком, относительно низкая стоимость, высокий нейрорегенераторный потенциал. Патогенез ЧМТ включает в себя ряд процессов: первичное травматическое повреждение, нейровоспаление, нейродегенерацию, отек мозга, и нейрорегенерацию. На сегодняшний день уже установлены многие важнейшие события вышеперечисленных процессов на грызунах. Однако молекулярные процессы патогенеза ЧМТ во многом остаются загадкой для нашего понимания. В данном обзоре рассмотрены экспериментальные модели ЧМТ на рыбах зебраданио, их преимущества и недостатки по отношению к другим модельным организмам. Также в обзоре представлены сводные данные по патофизиологии, молекулярной биологии каждого из вышеперечисленных процессов патогенеза ЧМТ. Приведен ряд примеров экспериментальной терапии ЧМТ на зебраданио, отражающих перспективу развития этого направления. Сделан вывод о перспективах использования зебраданио в качестве модельного объекта для исследований патогенеза ЧМТ.

**Ключевые слова:** нейровоспаление, нейродегенерация, нейрорегенерация, отек мозга, черепно-мозговая травма, зебраданио, терапия черепно-мозговой травмы

**DOI:** 10.31857/S0869813921090028

**Таблица 1.** Экспериментальные модели ЧМТ на животных

Модель	Преимущества	Ссылки
Мыши	Удобный объект для молекулярно-генетических исследований Генетическая гомология с человеком 80% Существование многих линий с различными характеристиками ЦНС	106
Крысы	Большой размер головы является удобным для моделирования падением свободного груза Удобство для когнитивных исследований Прочный череп Плотные структуры черепа	101
Рыбы зebraданио	Низкая стоимость особей по отношению к другим животным Высокий нейрорегенераторный потенциал после ЧМТ, что позволяет исследовать его механизмы Генетическая гомология с человеком 70% Удобство отслеживания и документации течения ЧМТ в режиме реального времени Сходство с млекопитающими в организации генов, участвующих в функционировании иммунной системы и потенциально вовлеченных в нейровоспаление при ЧМТ	10 6 107 7 8

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) представляет собой совокупность патофизиологических и морфологических изменений функции мозга, вызванных внешним воздействием, например – ударом, пенетрацией или сотрясением [1]. ЧМТ является острой проблемой мирового здравоохранения, число госпитализаций и посещений отделений неотложной помощи пациентами данного профиля составило 100 и 247 посещений, соответственно, на 100 000 населения [2]. В США ежегодно 1.7 млн человек страдают от ЧМТ, около 80% из них классифицируются как легкая ЧМТ, а смертность достигает 3% [3]. Необходимость курации пациентов с ЧМТ ставит перед исследователями задачу поиска механизмов развития клинической картины ЧМТ, а также ее потенциальной терапии. Для этого важна адекватная постановка эксперимента, которая невозможна без правильного подбора экспериментальной модели. По этическим причинам возможности исследований на человеке сильно ограничены, поэтому большая часть научных работ выполнена на животных, в первую очередь, на грызунах. Таким образом, полученные на модельных организмах данные являются ключом к пониманию патофизиологии ЧМТ и разработке новых подходов к ее лечению [4, 5]. В табл. 1 приведены характеристики различных экспериментальных моделей ЧМТ.

Клиническая картина ЧМТ включает в себя общемозговую симптоматику (головную боль, тошноту, головокружение, нарушения сознания) и фокальную неврологическую симптоматику.

### МОДЕЛИ ЧМТ НА ЗЕБРАДАНИО

Зебраданио является удобным экспериментальным животным в нейробиологии в силу высокой генетической гомологии с геномом человека (порядка 70%) и физиологического сходства основных систем органов и тканей. Большой спектр молекулярно-генетических средств манипуляции создает этому животному конкурентное преимущество по сравнению с другими модельными животными в данной сфере исследований. В частности, появилась возможность отслеживания и документации течения ЧМТ в режиме реального времени благодаря использованию рыб с конкретными и легко идентифицируемыми флуоресцентными репортерными трансгенами. Помимо сходства в организации генов, потенциально вовлечен-

ных в процесс нейровоспаления, зебраданио обладает высоким нейрорегенераторным потенциалом, что закономерно делает ее привлекательным объектом для исследований вопросов нейрорегенерации при различного рода неврологических заболеваниях [6–8], в том числе ЧМТ.

Один из первых, наиболее распространенных и простых методов индукции ЧМТ у зебраданио – игольчатая травма [9, 10]. Согласно данной методике, после анестезии рыбу помещают в разрез пропитанной раствором анестетика трикаина губки. Под диссекционным микроскопом инсулиновым шприцем вертикально (не глубже 2 мм) пронизывают медиальный отдел теленцефалона, а травмированную рыбу помещают в отдельный контейнер для восстановления. Выживаемость при данной модели ЧМТ обычно составляет 97%. С ее помощью были оценены клеточный ответ и молекулярные механизмы, вовлеченные в процесс репарации и регенерации мозга [9].

В другом похожем протоколе канюля диаметром 300 мкм вводится через ноздрю (на глубину 6–8 мм), вдоль рострокаудальной оси тела, принимая через обонятельную луковицу в каудальную часть теленцефалона [11]. Выживаемость в данной модели составляет более 90%, и с ее помощью была произведена оценка реактивной пролиферации и миграции нейроглии в ответ на механическое повреждение ткани мозга [11].

Модель ЧМТ мозжечка у зебраданио сходна с предыдущими, а ориентиром для введения инсулиновой иглы в данном случае служит пигментация кожи. Игла погружается в пластиковую трубку (край которой служит ограничителем глубины погружения). Игла устанавливается в полностью вертикальное положение и вводится на глубину 1.5 мм. При помощи данной методики формирования ЧМТ изучены молекулярные сети белок-белковых сигнальных взаимодействий, вовлеченных в процессы аксонального роста, репарации, ангиогенеза, нейрогенеза и нейровоспаления [12].

Высокоинтенсивный сфокусированный ультразвук для индукции механического повреждения мозга рыбы оказывает термические и механические эффекты на ткани. Апертура ультразвукового трансдюсера составляет 125 мм в диаметре и 100 мм в длину. Встроенный в систему сканер Sonix RP Scanner (BK Ultrasound, Richmond, Канада) позволяет отслеживать в реальном времени критические для ткани параметры воздействия. Для выравнивания головы и трансдюсера используют ультразвуковой визуализационный модуль. Фокальный пик акустического давления при максимальной силе испускания может составлять 20 Мпа. В данной модели вызываются значительные нарушения поведения рыб, в том числе гиполокомоция (снижение дистанции плавания и скорости), а также изменения в паттерне экспрессии ряда генов мозга. Так, например, установлено реактивное усиление экспрессии каспазы-3 и  $\beta$ -APP, а также изменение экспрессии генов микротрубочек ( $\beta$ -III tubulin) и нейрофиламентов (NF200), что приводит к нарушению аксонального транспорта и аксональному отеку [13].

Еще один эффективный метод постановки ЧМТ на зебраданио был адаптирован с модели на крысах и основывается на падении свободного груза (в качестве механического воздействия) на голову рыбы [14]. Данная модель позволила реализовать диффузную, не пенетрирующую (т.е., без деструкции кости и точечного, глубокого разрушения ткани мозга) модель ЧМТ. Для этого был сконструирован аппарат, представляющий собой пластиковую трубку (с наружным диаметром 12.7 мм и внутренним 4.7 мм), удерживающуюся с помощью зажима на штативе. На основание штатива ставится аквариум, заполненный водой, на который помещается губка, в которой фиксируется рыба. После анестезии, голова рыбы помещается под трубку и выравнивается, а 4.5-миллиметровый стальной груз весом 0.33 г, выпадая из трубки и развивая скорость 1.5 м/с, достигает черепа рыбы с ударной силой 35 мДж. После данной процедуры рыба сразу выпускается в аквариум под губ-

кой. На данной модели проанализированы молекулярные механизмы, вовлекаемые в ответ на повреждение, и установлено, что на 3-й день после ЧМТ приходится пик воспалительного ответа, а на 21-й день запускается процесс нейрорегенерации [14].

Помимо взрослых рыб, описаны также модели ЧМТ у личинок зебр аданио. Так, вторичное повреждение ткани мозга продемонстрировано на трехдневных личинках зебр аданио, которые выдерживались в растворах с концентрациями глутамата 5, 10 и 20 мкМ, а также в растворах антагониста рецепторов глутамата МК-801 в концентрациях 100, 200 и 400 нМ. Были оценены характеристики выживаемости, поведения и нейроапоптоза в разных группах, и отмечен значительный эффект в отношении выживаемости нейронов и поведения рыб при концентрациях МК-801 равных 200 и 400 нМ [4].

Еще одна химически обусловленная модель ЧМТ на личинках зебр аданио основана на применении аторвастатина (1 мкМ) в опытах на эмбрионах, что приводило к разрушению мозговых сосудов и формированию у личинок внутримозговой гематомы, напоминая клиническую ЧМТ, осложненную внутримозговой геморрагией [15].

Наконец, еще один подход к моделированию осложненной гематомой ЧМТ на личинках зебр аданио основан на генетических манипуляциях гена *arhgef7*, который кодирует белок Ras GEF  $\beta$ PIX, вовлеченный в регуляцию ангиогенеза и структурной целостности сосудистой стенки [16]. В этой модели используются линии с мутацией в данном гене, что приводит к разрушению стенок мозговых сосудов и развитию гематомы. На данной модели изучена роль посттравматического кровоизлияния в процессах апоптоза, нейровоспаления, повреждения ткани мозга, а также в изменении локомоторной функции [15].

## ПАТОГЕНЕЗ ЧМТ

Патогенез ЧМТ включает в себя ряд неспецифических компонентов, таких как нейровоспаление, отек, нейродегенерация, нейрорегенерация, которые характерны и для других патологий ЦНС, в частности, ишемического повреждения. Неспецифические компоненты патогенеза ЧМТ определяют отсроченное течение заболевания и составляют вторичное повреждение ткани. Однако существует и ряд специфических компонентов, отличающих патогенез ЧМТ от других патологий любого рода, они будут рассмотрены в конце раздела на примере сравнения с ишемией.

### 1. Нейровоспаление

Нейровоспаление является одним из ведущих компонентов патогенеза ЧМТ. Значительную роль в ЧМТ-индуцированном нейровоспалении играет продукция провоспалительных цитокинов. Например, у крыс показана роль интерлейкина (ИЛ) ИЛ-1 $\beta$  как одного из ключевых участников ЧМТ-индуцированного нейровоспаления, поскольку выброс данного цитокина стимулировал синтез и усиление активности матриксных металлопротеаз 2-го и 9-го типов (ММП-2 и -9) в зоне повреждения [17], и продемонстрирована важная роль ИЛ-1 в усилении проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) и нейроапоптоза при ЧМТ [18].

Микроглия, являясь мозговым резидентным макрофагом, обладает способностью к фагоцитозу, продукции цитокинов и презентации антигенов [19]. В контексте воспаления микроглия существует в 2-х формах (фенотипах) – М1 и М2. М1-микроглия продуцирует провоспалительные цитокины, например, фактор некроза опухоли (ФНО- $\alpha$ ), ИЛ-1, ИЛ-6 и индуцибельную синтазу оксида азота (iNOS), тогда как М2-микроглия выделяет противовоспалительные факторы (ИЛ-6, ИЛ-4 и ИЛ-13, а также трансформирующий фактор роста (ТФР $\beta$ )). Данное явление называется функциональной поляризацией микроглии и является ключевым компонентом нейровоспаления, отека и в некоторой мере нейродегенерации [20]. М1-микро-

глия способна к продукции оксида азота и реактивных форм кислорода (РФК), обладая цитотоксическими свойствами [21]. Функциональная поляризация в сторону М1-подтипа микроглии обеспечивается действием внешних (липосахарид, факторы транскрипции IRF 7, 8) [22, 23] и внутренних сигнальных молекул (LSN2, miRNA-155) [28]. В то же время фактор транскрипции IRF 3 [24], miRNA-124 [25] и Rho-киназа обеспечивают функциональную поляризацию в сторону М2-микроглии [26]. При ЧМТ в окружающую ткань выбрасывается большое количество фрагментов клеточных и внеклеточных структур, что является молекулярным профилем биологической опасности (danger-associated molecular patterns, DAMP). Микроглия обладает определенным набором рецепторов (TLR), распознающих молекулы, к которым относятся липосахарид, осколки РНК, ДНК, шапероны, HMGB1 и CpG-мотивы (обычно ассоциированные с микробным геномом), что активирует микроглию, наработку провоспалительных цитокинов и, в итоге, запускает каскад нейровоспаления [27, 28]. Стимуляция TLR приводит к активации микроглии и высвобождению провоспалительных цитокинов (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6, CXCL1), а блокировка TLR – к снижению или полному прекращению их высвобождения [29]. Активированная микроглия за счет выброса провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 и ФНО- $\alpha$ ) воздействует на астроциты, приводя к их активации, усилению экспрессии TLR и выбросу провоспалительных цитокинов [30]. На данный момент известно, что стимуляция TLR3 ведет к продукции ИЛ-6, 10, 12, CXCL-10, интерферона (ИНФ) $\beta$  и ФНО $\alpha$ , TLR4 – продукции ИЛ-10, CXCL10, а TLR2 – продукции ИЛ-6 и ИЛ-10 [31]. Помимо этого, активированная микроглия высвобождает М-CSF, мозговой нейротрофин BDNF, нейротрофин-3, что способствует трансмиграции лейкоцитов из системного кровотока [32–34].

Астроциты являются участниками нейровоспалительного каскада и содержат RIG-подобные рецепторы (RLR), активация которых ведет к фосфорилированию транскрипционного фактора IRF3 и высвобождению интерферона 1-го типа (ИНФ-1). Помимо этого, усиливается экспрессия маркеров активированных астроцитов GFAP (глиальный фибриллярный кислый белок) и виментина [35]. Активированные астроциты становятся источниками провоспалительных цитокинов, в том числе ИЛ-1, ИЛ-6, MIP-2, MCP-1, ФНО- $\alpha$ , ИНФ $\gamma$ , CCL 2, 3, 5, а также Ig-подобных адгезивных молекул (ICAM-1, VCAM-1) и главного комплекса гистосовместимости МНСII на своей поверхности в ответ на активацию TLR [36–38]. Передача сигнала от рецепторов внутрь астроцитов осуществляется через JAK1–STAT1, MyD88, NF- $\kappa$ B, MAPK-опосредованные сигнальные пути, которые активируются в ответ на стимуляцию TLR4. Активация данных сигнальных путей ведет к усилению транскрипции провоспалительных цитокинов, MMP-9, VCAM-1 [39]. Параллельно, активированные астроциты морфологически изменяются, пролиферируют и заполняют собой зону поражения. Данный процесс называется астроглиозом, а сформированная таким образом структура – глиальным рубцом [40]. Показано, что реактивный глиоз в зоне поражения спинного мозга мыши способствовал репаративным процессам и функциональному восстановлению [41].

Активированный провоспалительными цитокинами (преимущественно ИЛ-1 и ФНО- $\alpha$ , ИНФ $\gamma$ ) эндотелий усиливает экспрессию Ig-подобных адгезивных белков (VCAM-1, ICAM-1, PECAM-1) на своей поверхности, что служит возможностью для лейкоцитов проникнуть через ГЭБ в зону деструкции [42–44]. Проникающий клеточный состав представлен лимфоцитами (Т и В), моноцитами и нейтрофилами [44–46]. Самыми ранними клетками являются нейтрофилы, которые появляются в мозговой паренхиме на 3-и–5-е сутки, однако в виде периваскулярного инфильтрата они видны уже через 24 ч [45]. Количество CD14<sup>+</sup> клеток (моноцитарные макрофаги) в мозговой паренхиме достигает пика на 4-е–8-е сутки после травмы и удерживается таковым недели [46]. При этом нейтрофилы инфильтриру-

ют в первую очередь ворсинчатые сплетения желудочков. Ворсинчатые сплетения желудочков активно продуцируют большое количество хемокинов после травмы (CINC-1, CXCL1, CINC-2 $\alpha$  или CXCL3, и CINC-3 или CXCL2), которые, в свою очередь, служат хемоаттрактантами для нейтрофилов. Предположительно, из этой зоны нейтрофилы мигрируют к очагу поражения [47]. Связывание ICAM-1 с белком LFA-1 на поверхности лейкоцита приводит к активации протеинкиназы C, которая фосфорилирует белки цитоскелета, обеспечивая их реорганизацию, что необходимо для трансмиграции клетки через ГЭБ [48].

Система комплемента, компоненты которой проникают через поврежденный ГЭБ в зону нейровоспаления, оказывает цитотоксический и деструктивный эффект на клетки и ткань. В цереброспинальной жидкости повышены уровни C3-компонента, комплекса C5b-C9 и фактора B [49, 50]. Молекула CD59 является ключевым регулятором формирования МАК (мембраноатакующего комплекса), защищающим ткань от излишнего повреждения. Выключение молекулы CD59 приведет к ухудшению состояния ткани после ЧМТ [51]. Таким образом, комплемент является важным компонентом нейровоспаления.

Роль ММР в ЦНС сводится к регуляции нейрональной миграции в зону повреждения, деградации ингибирующих аксональный рост протеогликанов и регуляции построения олигодендроглиоцитарных отростков вдоль растущих аксонов в период миелогенеза [52, 53]. В контексте нейровоспалительного процесса установлена роль ММР-2 и -9 как факторов, способствующих повышению проницаемости ГЭБ и трансмиграции лейкоцитов в зону воспаления. Продукция ММР осуществляется сосудистым эндотелием и резидентными глиальными клетками. Механизм действия ММР на ГЭБ основан на снижении экспрессии адгезивных белков между эндотелиоцитами, в частности ZO-1 [55, 56]. Однако на данный момент сведения о роли ММР в нейровоспалении на моделях зебр аданио отсутствуют.

## 2. Нейрорегенерация

Зебр аданио обладают высоким потенциалом к нейрорегенерации (по сравнению с млекопитающими), что делает их подходящими объектами для исследований нейрорегенераторных процессов при ЧМТ и нейродегенеративных заболеваниях. Это обусловлено и большим количеством зон нейрогенеза в мозге зебр аданио, в том числе обонятельные луковицы, дорзальный теленцефалон (регион, гомологичный гиппокампу млекопитающих), преоптическая область, дорзальная зона перивентрикулярного гипоталамуса, оптический тектум, продольный валик, вагальная доля, паренхима вокруг ромбэнцефалического желудочка и в области продолговатого мозга, расположенной латерально от дорзального моторного ядра блуждающего нерва, а также в мозжечке. Напротив, у млекопитающих существуют лишь две основные зоны нейрогенеза во взрослом состоянии — субвентрикулярная (в боковых желудочках) и субгранулярная (в зубчатой извилине) [56–59]. В отличие от млекопитающих, у которых пролиферативный процесс носит глиальный характер и превалирует в зоне поражения, у зебр аданио преобладает пролиферация в нейрогенных зонах, откуда нейрональные предшественники впоследствии мигрируют в зону поражения. Глиоз (усиленная пролиферация глии в зоне поражения) у рыб не выражен и не несет патологического характера, в отличие от млекопитающих [58, 60]. Радиальные глиоциты зебр аданио несут на себе маркерный белок *her4.1*, а нейрональные клетки-предшественники экспрессируют другой набор маркерных белков, по которым их возможно распознать (*asc 11a*, *delta D*, и *T-box brain protein/Tbr1*). У взрослых рыб *her 4.1*-позитивные радиальные глиоциты обладают потенциалом дифференцировки в нейробласты [10, 61, 62].

В целом, воспаление имеет сложные взаимоотношения с нейрорегенерацией. С одной стороны, нейровоспаление препятствует нейрорегенерации, усугубляя повреждение ткани, но с другой, может служить стимулятором для процесса нейрогенеза. Установлены сложные взаимодействия между сигнальными путями нейрогенеза, ангиогенеза, воспаления и аксонального роста. Как указывалось ранее, воспаление служит стимулятором нейрогенеза. Среди этих сигнальных путей наибольшее количество опосредовано PI3K, PAK2 и PLXNA3 [12]. BDNF – давно известный нейротрофин, мишенями которого являются TgkB- и p75NTR-рецепторы, через которые данный фактор реализует свое участие в процессах аксонального роста, нейрогенеза, нейронального выживания, нейрональной миграции, миелинизации, дифференцировки и синаптической пластичности [63]. Отмечается повышенная экспрессия BDNF в регенеративных зонах мозга зебраданио, а его мРНК обнаружена в радиальных глиоцитах и пролиферирующих нейробластах [64].

Анализ экспрессии большого количества мозговых генов выявил изменения экспрессии на разные сроки (на 3-и и 21-е дни) после ЧМТ, в том числе генов сигнальных путей MAPK, Notch, цАМФ и других. Практически все эти гены относятся к регуляторам выживаемости нейронов, аксонального роста, апоптоза и репарации ткани. Третий день после повреждения является пиковым для экспрессии генов, связанных со стресс-реакцией на повреждение (MAPK, p53, Notch1), а на 21-й день отмечается преобладание экспрессии генов, связанных с нейрорегенеративными процессами, к которым относятся гены компонентов промежуточных филаментов, Notch1 и Junb [14]. Наконец, MMP-2 и -9 также важны для развития нейровоспаления (см. выше) и у взрослых зебраданио усиливают аксональный рост [65].

### *3. Нейродегенерация*

В клинике показано наличие корреляционной связи между ЧМТ и развитием болезни Альцгеймера (БА) [66–68]. На моделях у крыс показано, что ЧМТ провоцирует снижение количества нейронов в гиппокампе, что может объяснить ретроградную амнезию после ЧМТ [69]. Нейроапоптоз складывается из ряда событий, в том числе протеолиза белков цитоскелета [70] и оксидативного стресса, который возникает в течение первого часа после ЧМТ как следствие митохондриальной дисфункции и нарушения внутриклеточного кальциевого баланса. Свободные радикалы повреждают генетический материал, белковые молекулы, липидные молекулы мембран [71–74]. Основой митохондриальной дисфункции служат нарушения транспорта электронов электронотранспортной цепи, снижение утилизации глюкозы и снижение экспрессии белков комплекса цитохром С-оксидазы I, II, III [75]. Другим событием становится отложение белков ( $\beta$ -амилоида, нейрофиламентных белков и  $\alpha$ -синуклеина) вдоль всего белого вещества и в других компартментах пораженного мозга, что еще раз подтверждает роль ЧМТ как фактора риска в развитии БА и паркинсонизма [76].

Хроническая травматическая энцефалопатия, сопровождаемая таупатией, атрофическими изменениями в лобной и височной долях и аксонопатией, была зарегистрирована у солдат и спортсменов, чей спорт был связан с травматизацией головы [77]. Таупатии и аккумуляция белка TDP-43, наряду с аккумуляцией  $\beta$ -амилоида, являются важнейшими событиями в патогенезе нейродегенеративных расстройств БА. Зебраданио, экспрессирующие мутантную форму tau-белка, демонстрируют все патологические особенности таупатии на поведенческом, тканевом и клеточном уровнях [78]. Используя ультразвуковую установку (см. выше) для вызова ЧМТ у зебраданио, показано, что в мозге рыб повышаются содержание каспазы-3, NF160 (нейрофиламента, обеспечивающего структурную поддержку аксонов),

микротрубочкового  $\beta$ -III тубулина (цитоскелетного белка, задействованного в аксональном росте и транспорте) в зоне аксонального отека и деструкции, а также накопление  $\beta$ -амилоида [13].

Накопление внеклеточного глутамата при ЧМТ возникает как следствие снижения экспрессии его транспортеров (GLT-1, GLAST) в астроцитах, нарушения их работы (на фоне снижения градиента ионов  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ), а также усиленного высвобождения глутамата из аксональных терминалей во внеклеточное пространство. Гиперстимуляция ионотропных NMDA-рецепторов глутамата приводила к усиленному (или даже бесконтрольному) поступлению ионов  $\text{Ca}^{2+}$  внутрь клетки и эксайтотоксичности. Также нейротоксичность может осуществляться и через метаботропные рецепторы глутамата (mGluR 1-8), в итоге формируя отек, ацидоз клетки, оксидативный стресс и вазоспазм. Данный каскад имеет положительную обратную связь, а следовательно, склонен к формированию порочного круга и вовлечению все большего объема поражения ткани [79, 80]. На личинках зебрании показано, что МК-801 и ингибитор кальпаина MDL-28170 улучшают локомоторную функцию рыб, свидетельствуя об эксайтотоксичности как о значимом событии в патогенезе вторичного повреждения ткани мозга при ЧМТ [81].

#### 4. Отек мозга

Главные концептуальные представления о роли отека мозга при ЧМТ начали развиваться еще в середине 20 века, когда отек мозга был поделен на цитотоксический и вазогенный подтипы [82]. В клинической картине ЧМТ за зоной травматического поражения сразу следует зона перифокального отека мозга, которая может расширяться на все полушарие и компримировать весь мозг, что может стать причиной комы. Развивается отек мозга в первые 24 ч после ЧМТ. В зоне травматического поражения наблюдается раневой канал или очаг контузии (некроз и деструкция ткани) с геморрагической трансформацией в этой зоне. Далее следуют организация содержимого зоны поражения и образование глиального рубца. Через 48 ч в зоне отека появляются макрофаги. В белом веществе появляются участки отека в виде вакуолей, а в области нейропиля наблюдаются реактивные астроциты. Долгосрочный отек (несколько месяцев) ведет к периваскулярному появлению крупных, разбухших реактивных астроцитов – гемистоцитов. Нейронофагия развивается на 12-й–24-й час после ЧМТ, на 24-й–48-й час развивается отек и разбухание аксонов вокруг поражения и даже на отдалении (аналогично диффузному аксональному повреждению). На 5-й–6-й месяцы развивается отек (разбухание) и дегенерация нейронов [83].

Отек мозга способствует демиелинизации, тем самым усугубляя нейродегенерацию [84]. Повреждение ГЭБ является основной причиной накопления жидкости в межклеточной ткани и как следствие – увеличения объема мозга [85].

В 2000-х годах в структуру концепций патогенеза отека входят представления о количественных и функциональных изменениях со стороны ионных каналов и белков плотных межклеточных соединений ГЭБ. Так, повышенная экспрессия белка аквапорина 4 (AQP4) в астроцитах периишемизированной зоны, эндимотицах является патогенетическим фактором вазогенного отека [86]. Вода, свободные ионы и белки плазмы под действием гидравлического давления внутри капилляров, а также осмотического и онкотического градиентов давлений подвергаются транссудации из просвета сосуда в межклеточное пространство [86–88].

Отмечается также значимость SUR1-рецепторов в патогенезе цитотоксического отека при ЧМТ, так как активации этих каналов способствует истощение запасов АТФ внутри клетки, а результатом их активации становится неконтролируемое поступление ионов и воды внутрь клетки. Экспрессируются SUR1-рецепторы в аст-

роцитах, нейронах и капиллярах [89]. Эндотелиальный  $\text{Ca}^{+}$ -канал TRPV4 также задействован в каскаде отека и экссудации плазмы в интерстиций. Его активация приводит к снижению экспрессии молекул межклеточных соединений (claudin-1, -3, -4, -5, -7 и -8) на эндотелиальных клетках, что служит еще одним фактором развития вазогенного отека [90]. Установлена повышенная экспрессия AQP4 в астроцитах как причина цитотоксического отека: через водный канал, который образует данный белок в мембране, внутрь астроцитов устремляются компоненты плазмы (вода, ионы и белки) [91]. На примере модели гипергликемии крыс установлено, что усиление деградации белка окклюдина ведет к нарастанию отека [92]. Определена значимость провоспалительных цитокинов в зоне повреждения (ИЛ-1, -6, ФНО- $\alpha$ ) для усиления экспрессии белка AQP4. Как указано выше, усиленная экспрессия AQP4 является молекулярным маркером отека, подчеркивая взаимосвязь нейровоспаления и отека мозга [93]. На модели ЧМТ у крыс также проведена оценка проницаемости ГЭБ, его структурной целостности и экспрессии белков межклеточных соединений (окклюдина, клаудин-5, ZO-1). Экспрессия белков межклеточных соединений после ЧМТ была заметно ниже, чем в контрольной группе, а проницаемость ГЭБ и отек мозга – выше [94].

Несомненно, патогенезы ЧМТ и церебральной ишемии во много сходны. Но в отличие от ишемического повреждения при ЧМТ происходит одномоментное воздействие механического фактора или силы ускорения. В результате возникает одномоментное механическое разрушение ткани или первичное травматическое повреждение. В зоне поражения разрушаются мембраны клеток и стенки сосудов, а также возникают разрывы аксонов. Последнее особенно характерно для воздействия силы ускорения. Весь этот комплекс изменений при травматическом поражении наблюдается за мгновение. При ишемизации нарастает дефицит энергетического субстрата, местный метаболический ацидоз и ионные нарушения. Некроз в зоне развивается лишь несколько минут спустя. Однако установлено, что через некоторое время в перитравматической зоне (пенумбре) развивается ишемия, это позволяет нам говорить о последней как об одном из механизмов вторичного повреждения ткани [95].

### ТЕРАПИЯ ЧМТ У ЗЕБРАДАНИО

Возможность реконструкции структуры поврежденной ткани изучена на модели игловой ЧМТ у зебрании, в которой рыбам в место повреждения в виде гидрогелевой смеси вводился нанопептидный каркас для облегчения ангиогенеза и нейrogenеза. Нанопептид RADA16-SVVYGLR претерпевал самосборку, образуя сети нанопептида, которые контролировали физико-химические факторы микросреды в зоне поражения (рН, ионный состав), и такой каркас поддерживал эндотелиоциты, образуя трубчатую структуру и облегчая ангиогенез и миграцию нейронных стволовых клеток [96]. Другая подобная методика основывалась на трехмерной печати, при которой нейрональные клетки-предшественники погружаются в гидрогель, который распечатывается и встраивается в головной мозг рыб, способствуя нейрональному росту и регенерации ЦНС после ЧМТ [97].

Используемое в лечении БА и паркинсонизма вещество Cytidine 5'-Diphosphocholine (CDP-choline) продемонстрировало широкий спектр терапевтической активности на модели ЧМТ, индуцируемой у личинок зебрании методом введения иглы в дорзальную часть правой стороны заднего мозга. Данный препарат индуцировал умеренную экспрессию провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в зоне поражения, что стимулировало миграцию микроглиальных клеток в эту зону и аккумуляцию в ней. Активированные микроглиальные клетки осуществляли клиренс в зоне поражения, а противовоспалительные цитокины спо-

способствовали снижению воспаления и процессам нейрорегенерации в пораженной области, также подавляя нейроапоптоз [96].

Наконец, определенные надежды возлагаются на стволовые клеточные технологии в сфере регенеративной медицины. Одним из возможных направлений работы в этой среде – это периваскулярные клетки пупочного тяжа. На модели ЧМТ, индуцированной ультразвуком у зебрании, показано, что посадка данных клеток улучшает показатели локомоторной активности и снижает тревожное поведение, астроглиоз и апоптоз [97].

### СОПОСТАВЛЕНИЕ ЗЕБРАНИИ И ГРЫЗУНОВ КАК МОДЕЛЬНЫХ ОРГАНИЗМОВ

На сегодняшний день модель латерального гидродинамического удара (LFP) на грызунах является классической. Данный метод позволяет смоделировать структурно-функциональные, поведенческие и неврологические изменения, аналогичные наблюдаемым в клинической практике. Данный метод позволяет выбирать угол, силу и точку приложения воздействия [98, 99]. В работе Shalini Das Gupta и соавт. продемонстрирована возможность использования микроРНК (miR-9-3p, miR-136-3p) как маркеров ЧМТ, при этом концентрация данных маркеров в плазме повышалась как среди пациентов, так и среди группы травмированных животных [100]. С помощью этого метода экспериментально была вызвана эпилептиформная ЭЭГ-активность у животных, которая соответствовала таковой у пациентов после ЧМТ по данным метода электрокортикографии [101]. Это доказывает валидность модели LFP для прямой двунаправленной трансляции в клинику.

Модель индуцируемой ультразвуком ЧМТ у зебрании также позволяет менять угол, точку приложения и силу воздействия [13]. На модели ультразвук-индуцируемой ЧМТ у зебрании была успешно вызвана эпилептиформная ЭЭГ-активность, записанная с поверхности мозга рыбы [102]. Специфические поведенческие тесты позволяют оценить функциональные изменения в работе головного мозга животного путем скрининга таких параметров как двигательная активность, пространственная память, тревожность [14]. Таким образом, зебранию также может претендовать на звание валидной модели ЧМТ для прямой двунаправленной трансляции в клинику.

Отличительной особенностью, ограничивающей прямые трансляционные возможности зебрании, является менее четкая дифференцировка мозга на отделы по сравнению с млекопитающими. Однако все же существует достаточная для молекулярно-клеточных исследований гомология между имеющимися структурами головного мозга зебрании и млекопитающих. Так, субпалеум является гомологом стриарных образований у млекопитающих, а дорзальный палеум – гиппокамп [103]. Помимо того, в силу высокой регенераторной способности не возникает четкой картины отдаленных последствий вторичного травматического повреждения мозга, таких как глиальный рубец, гибель нейронов. При этом именно вторичное травматическое повреждение составляет основу стойкого неврологического дефицита у пациентов.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современные тренды в трансляционной биомедицине ставят в приоритет задачу корректного подбора модельного организма. При этом необходимо принимать во внимание расход финансовых средств на приобретение и содержание животного, его анатомо-физиологические особенности, корректность трансляции полученных результатов с модельного животного на человека, молекулярно-генетические особенности вида, а также биоэтические аспекты работы *in vivo*. Как модельный

**Таблица 2.** Отдельные открытые вопросы моделирования ЧМТ у рыб

Как решить проблему недостаточной корреляции между зоной поражения и видимой клинической картиной?
Каким методом лучше всего моделировать ЧМТ у рыб?
Как провести связь между поведенческими тестами и клинической картиной ЧМТ?
В какой области мозга лучше создавать область поражения?
Влияет ли на развитие ЧМТ вид анестезии?
Каково оптимальное время экспозиции в растворе анестетика?
Каковы причины индивидуальных различий у рыб при вызове ЧМТ? Какова летальность разных моделей ЧМТ и ее причины?
Какова временная динамика течения процессов нейровоспаления, нейродегенерации, отека и нейрорегенерации?
Каковы геномные ответы при ЧМТ? Игруют ли роль эпигенетические факторы в патогенезе ЧМТ?
Каковы оптимальные подходы к терапии при разных моделях ЧМТ у зебр аданио?
Какова роль процессов нейровоспаления, отека, нейродегенерации, нейрорегенерации в изменениях поведения и когнитивных функций у рыб?
Какова роль активации M1- и M2-микроглии в нейровоспалении на моделях зебр аданио? Какова роль A1- и A2-подтипов астроцитов в данных процессах?
Насколько корректна трансляция результатов исследований нейровоспаления, нейродегенерации, отека с моделей ЧМТ зебр аданио на человека?
Как повлияет повышенный потенциал к нейрорегенерации у зебр аданио на корректность трансляции результатов исследований данного процесса на человека?
Каковы особенности цитокинового спектра нейровоспаления у рыб?
Какой метод индукции ЧМТ на модели зебр аданио наиболее оптимален для изучения процессов нейровоспаления, отека, нейродегенерации, нейрорегенерации?
Существуют ли линейные, половые и возрастные особенности развития ЧМТ у зебр аданио?
Как стресс влияет на динамику патогенеза (и восстановления) при ЧМТ у зебр аданио?
Какие физиологические (эндокринные) и биохимические биомаркеры ЧМТ у зебр аданио?

организм зебр аданио обладает рядом неоспоримых преимуществ. Большое количество разработанных поведенческих тестов и методик работы с геномом, хорошая возможность трансляции результатов молекулярно-генетических и даже поведенческих исследований на человека, высокая регенераторная способность, биоэтическая дозволенность в сочетании с относительно небольшими затратами на содержание делают данный модельный организм крайне актуальным для большинства перспективных направлений в современных исследованиях. Как было показано выше, моделирование ЧМТ не стало исключением из этого тренда. Зебр аданио является оптимальным организмом для исследований тонких молекулярно-генетических и клеточных механизмов патогенеза ЧМТ, в частности, механизмов нейрорегенерации, поиска молекулярных мишеней для терапии. Главная цель, которая может быть достигнута с помощью зебр аданио – это разработка терапевтических подходов, направленных на усиление восстановительных возможностей мозга у пациентов.

Существует много открытых вопросов (табл. 2), которые только предстоит решить с использованием моделей ЧМТ на зебр аданио. Например, важным новым направлением в моделировании ЧМТ у зебр аданио может стать выявление корре-

ляционной связи между локализацией травмы и паттернами молекулярных и поведенческих изменений, что позволит установить взаимосвязь клинической картины с конкретными молекулярными факторами, которые, в свою очередь, могут стать мишенью для патогенетической терапии.

#### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана грантом Российского научного фонда (проект № 20-65-46006).

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### ВКЛАД АВТОРОВ

Написание текста рукописи – В. Я. Б., обзор публикаций по теме статьи – В. Я. Б., А. С. Б., А. А. Б., М. А. Т., К. А. Д., К. Н. З., Е. В. П. Рецензирование и редактирование – А. В. К. и Т. Г. А.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Centers for Disease Control and Prevention (CDC), National Center for Injury Prevention and Control. Report to Congress on mild traumatic brain injury in the United States: steps to prevent a serious public health problem. Atlanta (GA): Centers for Disease Control and Prevention (2003). <http://www.cdc.gov/traumaticbraininjury/pdf/mtbireport-a.pdf>. Accessed April 14, 2021
- Reid LD, Fingar KR (2020) Inpatient Stays and Emergency Department Visits Involving Traumatic Brain Injury, 2017: Statistical Brief #255. In: Healthcare Cost and Utilization Project (HCUP) Statistical Briefs [Internet]. Rockville (MD): Agency for Healthcare Res and Quality (US); 2006 Feb – PMID: 32379407.
- Georges A, McDas J (2021) Traumatic Brain Injury. In: Stat Pearls [Internet] Treasure Island (FL): StatPearls Publishing 2021 Jan PMID: 29083790.
- McCutcheon V, Park E, Liu E, Wang Y, Wen XY, Baker AJ (2016) A Model of Excitotoxic Brain Injury in Larval Zebrafish: Potential Application for High-Throughput Drug Evaluation to Treat Traumatic Brain Injury. *Zebrafish* 13(3): 161–169. <https://doi.org/10.1089/zeb.2015.1188>
- O'Connor WT, Smyth A, Gilchrist MD (2011) Animal models of traumatic brain injury: a critical evaluation. *Pharmacol Ther* 130(2): 106–113. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2011.01.001>
- Howe K, Clark MD, Torroja CF, Torrance J, Berthelot C, Muffato M, Collins JE, Humphray S, McLaren K, Matthews L, McLaren S, Sealy I, Caccamo M, Churcher C, Scott C, Barrett JC, Koch R, Rauch GJ, White S, Chow W, Kilian B, Quintais LT, Guerra-Assunção JA, Zhou Y, Gu Y, Yen J, Vogel JH, Eyre T, Redmond S, Banerjee R, Chi J, Fu B, Langley E, Maguire SF, Laird GK, Lloyd D, Kenyon E, Donaldson S, Sehra H, Almeida-King J, Loveland J, Trevanion S, Jones M, Quail M, Willey D, Hunt A, Burton J, Sims S, McLay K, Plumb B, Davis J, Clee C, Oliver K, Clark R, Riddle C, Elliot D, Threadgold G, Harden G, Ware D, Begum S, Mortimore B, Kerry G, Heath P, Phillimore B, Tracey A, Corby N, Dunn M, Johnson C, Wood J, Clark S, Pelan S, Griffiths G, Smith M, Glithero R, Howden P, Barker N, Lloyd C, Stevens C, Harley J, Holt K, Panagiotidis G, Lovell J, Beasley H, Henderson C, Gordon D, Auger K, Wright D, Collins J, Raisen C, Dyer L, Leung K, Robertson L, Ambridge K, Leongamornlert D, McGuire S, Gilderthorp R, Griffiths C, Manthravadi D, Nichol S, Barker G, Whitehead S, Kay M, Brown J, Murnane C, Gray E, Humphries M, Sycamore N, Barker D, Saunders D, Wallis J, Babbage A, Hammond S, Mashreghi-Mohammadi M, Barr L, Martin S, Wray P, Ellington A, Matthews N, Ellwood M, Woodmansey R, Clark G, Cooper J, Tromans A, Grafham D, Skuce C, Pandian R, Andrews R, Harrison E, Kimberley A, Garnett J, Fosker N, Hall R, Garner P, Kelly D, Bird C, Palmer S, Gehring I, Berger A, Dooley CM, Ersan-Ürün Z, Eser C, Geiger H, Geisler M, Karoiki L, Kirn A, Konantz J, Konantz M, Oberländer M, Rudolph-Geiger S, Teucke M, Lanz C, Raddatz G, Osoegawa K, Zhu B, Rapp A, Widaa S, Langford C, Yang F, Schuster SC, Carter NP, Harrow J, Ning Z, Herrero J, Searle SM, Enright A, Geisler R, Plasterk RH, Lee C, Westerfield M, de Jong PJ, Zon LI, Postlethwait JH, Nüsslein-Volhard C, Hubbard TJ, Crollius HR, Rogers J, Stemple DL (2014) The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. *Nature* 496(7446): 498–503. <https://doi.org/10.1038/nature12111>
- Kalueff AV, Stewart AM, Gerlai R (2014) Zebrafish as an emerging model for studying complex brain disorders. *Trends Pharmacol Sci*. 35(2): 63–75. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2013.12.002>

8. *de Abreu MS, Giacomini ACVV, Zanandrea R, Dos Santos BE, Genario R, de Oliveira GG, Friend AJ, Amstislavskaya TG, Kalueff AV* (2018) Psychoneuroimmunology and immunopsychiatry of zebrafish. *Psychoneuroendocrinology* 92: 1–12.  
<https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2018.03.2014>
9. *Schmidt R, Beil T, Strähle U, Rastegar S* (2014) Stab wound injury of the zebrafish adult telencephalon: a method to investigate vertebrate brain neurogenesis and regeneration. *J Vis Exp* (90): e51753.  
<https://doi.org/10.3791/51753>
10. *Kishimoto N, Shimizu K, Sawamoto K* (2012) Neuronal regeneration in a zebrafish model of adult brain injury. *Dis Model Mech* 5(2): 200–209.  
<https://doi.org/10.1242/dmm.007336>
11. *Kroehne V, Freudenreich D, Hans S, Kaslin J, Brand M* (2011) Regeneration of the adult zebrafish brain from neurogenic radial glia-type progenitors. *Development* 138(22): 4831–4841.  
<https://doi.org/10.1242/dev.072587>
12. *Wu CC, Tsai TH, Chang C, Lee TT, Lin C, Cheng IH, Sun MC, Chuang YJ, Chen BS* (2014) On the crucial cerebellar wound healing-related pathways and their cross-talks after traumatic brain injury in *Danio rerio*. *PLoS One* 9(6): e97902.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097902>
13. *McCutcheon V, Park E, Liu E, Sobhebidari P, Tavakkoli J, Wen XY, Baker AJ* (2017) A Novel Model of Traumatic Brain Injury in Adult Zebrafish Demonstrates Response to Injury and Treatment Comparable with Mammalian Models. *J Neurotrauma* 34(7): 1382–1393.  
<https://doi.org/10.1089/neu.2016.4497>
14. *Maheras AL, Dix B, Carmo OMS, Young AE, Gill VN, Sun JL, Booker AR, Thomason HA, Ibrahim AE, Stanislaw L, Dallego JC, Ngo CN, Chen A, Fortini BK, Spence RD* (2018) Genetic Pathways of Neuroregeneration in a Novel Mild Traumatic Brain Injury Model in Adult Zebrafish. *eNeuro* 5(1): ENEURO.0208-17.2017.  
<https://doi.org/10.1523/ENEURO.0208-17.2017>
15. *Crilly S, Njagic A, Laurie SE, Fotiou E, Hudson G, Barrington J, Webb K, Young HL, Badrock AP, Hurlstone A, Rivers-Auty J, Parry-Jones AR, Allan SM, Kasher PR* (2018) Using zebrafish larval models to study brain injury, locomotor and neuroinflammatory outcomes following intracerebral haemorrhage. *F1000Res* 7: 1617.  
<https://doi.org/10.12688/f1000research.16473.2>
16. *Liu J, Fraser SD, Faloon PW, Rollins EL, Vom Berg J, Starovic-Subota O, Laliberte AL, Chen JN, Serluca FC, Childs SJ* (2007) A betaPix Pak2a signaling pathway regulates cerebral vascular stability in zebrafish. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104 (35): 13990–13995.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.0700825104>
17. *Vecil GG, Larsen PH, Corley SM, Herx LM, Besson A, Goodyer CG, Yong VW* (2000) Interleukin-1 is a key regulator of matrix metalloproteinase-9 expression in human neurons in culture and following mouse brain trauma in vivo. *J Neurosci Res* 61(2): 212–224.  
[https://doi.org/10.1002/1097-4547\(20000715\)61:2<212::AID-JNR12>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/1097-4547(20000715)61:2<212::AID-JNR12>3.0.CO;2-9)
18. *Lu KT, Wang YW, Yang JT, Yang YL, Chen HI* (2005) Effect of interleukin-1 on traumatic brain injury-induced damage to hippocampal neurons. *J Neurotrauma* 22(8): 885–895.  
<https://doi.org/10.1089/neu.2005.22.885>
19. *Hanisch UK, Kettenmann H* (2007) Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain. *Nat Neurosci* 10(11): 1387–1394.  
<https://doi.org/10.1038/nn1997>
20. *Jha MK, Lee WH, Suk K* (2016) Functional polarization of neuroglia: Implications in neuroinflammation and neurological disorders. *Biochem Pharmacol* 103: 1–16.  
<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2015.11.003>
21. *MacMicking J, Xie QW, Nathan C* (1997) Nitric oxide and macrophage function. *Annu Rev Immunol* 15: 323–350.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.15.1.323>
22. *Masuda T, Tsuda M, Yoshinaga R, Tozaki-Saitoh H, Ozato K, Tamura T, Inoue K* (2012) IRF8 is a critical transcription factor for transforming microglia into a reactive phenotype. *Cell Rep* 1(4): 334–340.  
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2012.02.014>
23. *Tanaka T, Murakami K, Bando Y, Yoshida S* (2015) Interferon regulatory factor 7 participates in the M1-like microglial polarization switch. *Glia* 63(4): 595–610.  
<https://doi.org/10.1002/glia.22770>
24. *Cai X, Yin Y, Li N, Zhu D, Zhang J, Zhang CY, Zen K* (2012) Re-polarization of tumor-associated macrophages to pro-inflammatory M1 macrophages by microRNA-155. *J Mol Cell Biol* 4(5): 341–343.  
<https://doi.org/10.1093/jmcb/mjs044>
25. *Ponomarev ED, Veremeyko T, Barteneva N, Krichevsky AM, Weiner HL* (2011) MicroRNA-124 promotes microglia quiescence and suppresses EAE by deactivating macrophages via the C/EBP- $\alpha$ -PU.1 pathway. *Nat Med* 17(1): 64–70.  
<https://doi.org/10.1038/nm.2266>
26. *Zhao YF, Zhang X, Ding ZB, Yang XW, Zhang H, Yu JZ, Li YH, Liu CY, Zhang Q, Zhang HZ, Ma CG, Xiao BG* (2015) The therapeutic potential of Rho kinase inhibitor fasudil derivative

- FaD-1 in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Mol Neurosci* 55(3): 725–732.  
<https://doi.org/10.1007/s12031-014-0411-7>
27. *Bsibsi M, Ravid R, Gveric D, van Noort JM* (2002) Broad expression of Toll-like receptors in the human central nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol* 61(11): 1013–1021.  
<https://doi.org/10.1093/jnen/61.11.1013>
  28. *Marsh BJ, Williams-Karnesky RL, Stenzel-Poore MP* (2009) Toll-like receptor signaling in endogenous neuroprotection and stroke. *Neuroscience* 158(3): 1007–1020.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.07.067>
  29. *Fellner L, Irschick R, Schanda K, Reindl M, Klimaschewski L, Poewe W, Wenning GK, Stefanova N* (2013) Toll-like receptor 4 is required for  $\alpha$ -synuclein dependent activation of microglia and astroglia. *Glia* 61(3): 349–360.  
<https://doi.org/10.1002/glia.22437>
  30. *Holm TH, Draeby D, Owens T* (2012) Microglia are required for astroglial Toll-like receptor 4 response and for optimal TLR2 and TLR3 response. *Glia* 60(4): 630–638.  
<https://doi.org/10.1002/glia.22296>
  31. *Jack CS, Arbour N, Manusow J, Montgrain V, Blain M, McCrea E, Shapiro A, Antel JP* (2005) TLR signaling tailors innate immune responses in human microglia and astrocytes. *J Immunol* 175(7): 4320–4330.  
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.7.4320>
  32. *Hicks RR, Numan S, Dhillon HS, Prasad MR, Seroogy KB* (1997) Alterations in BDNF and NT-3 mRNAs in rat hippocampus after experimental brain trauma. *Brain Res Mol Brain Res* 48(2): 401–406.  
[https://doi.org/10.1016/s0169-328x\(97\)00000-0](https://doi.org/10.1016/s0169-328x(97)00000-0)
  33. *Mitrasinovic OM, Perez GV, Zhao F, Lee YL, Poon C, Murphy GM Jr* (2001) Overexpression of macrophage colony-stimulating factor receptor on microglial cells induces an inflammatory response. *J Biol Chem* 276(32): 30142–30149.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M104265200>
  34. *Bianco F, Ceruti S, Colombo A, Fumagalli M, Ferrari D, Pizzirani C, Matteoli M, Di Virgilio F, Abbracchio MP, Verderio C* (2006) A role for P2X7 in microglial proliferation. *J Neurochem* 99(3): 745–748.  
<https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.04101.x>
  35. *de Rivero Vaccari JP, Minkiewicz J, Wang X, De Rivero Vaccari JC, German R, Marcillo AE, Dietrich WD, Keane RW* (2012) Astroglial activation involves activation of retinoic acid-inducible gene-like signaling in the innate immune response after spinal cord injury. *Glia* 60(3): 414–421.  
<https://doi.org/10.1002/glia.22275>
  36. *Esen N, Tanga FY, DeLeo JA, Kielian T* (2004) Toll-like receptor 2 (TLR2) mediates astrocyte activation in response to the Gram-positive bacterium *Staphylococcus aureus*. *J Neurochem* 88(3): 746–758.  
<https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2003.02202.x>
  37. *Bowman CC, Rasley A, Tranguch SL, Marriott I* (2003) Cultured astrocytes express toll-like receptors for bacterial products. *Glia* 43(3): 281–291.  
<https://doi.org/10.1002/glia.10256>
  38. *Carpentier PA, Begolka WS, Olson JK, Elhofy A, Karpus WJ, Miller SD* (2005) Differential activation of astrocytes by innate and adaptive immune stimuli. *Glia* 49(3): 360–374.  
<https://doi.org/10.1002/glia.20117>
  39. *Gorina R, Font-Nieves M, Márquez-Kisinousky L, Santalucia T, Planas AM* (2011) Astrocyte TLR4 activation induces a proinflammatory environment through the interplay between MyD88-dependent NF $\kappa$ B signaling, MAPK, and Jak1/Stat1 pathways. *Glia* 59(2): 242–255.  
<https://doi.org/10.1002/glia.21094>
  40. *Eng LF, Ghirnikar RS* (1994) GFAP and astroglial activation. *Brain Pathol* 4(3): 229–237.  
<https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.1994.tb00838.x>
  41. *Faulkner JR, Herrmann JE, Woo MJ, Tansey KE, Doan NB, Sofroniew MV* (2004) Reactive astrocytes protect tissue and preserve function after spinal cord injury. *J Neurosci* 24(9): 2143–2155.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3547-03.2004>
  42. *Chen H, Liu C, Sun S, Mei Y, Tong E* (2001) Cytokine-induced cell surface expression of adhesion molecules in vascular endothelial cells in vitro. *J Tongji Med Univ* 21(1): 68–71.  
<https://doi.org/10.1007/BF02888042>
  43. *Fabry Z, Waldschmidt MM, Hendrickson D, Keiner J, Love-Homan L, Takei F, Hart MN* (1992) Adhesion molecules on murine brain microvascular endothelial cells: expression and regulation of ICAM-1 and Lgp 55. *J Neuroimmunol* 36(1): 1–11.  
[https://doi.org/10.1016/0165-5728\(92\)90026-h](https://doi.org/10.1016/0165-5728(92)90026-h)
  44. *Carlos TM, Clark RS, Francica-Higgins D, Schiding JK, Kochanek PM* (1997) Expression of endothelial adhesion molecules and recruitment of neutrophils after traumatic brain injury in rats. *J Leukoc Biol* 61(3): 279–285.  
<https://doi.org/10.1002/jlb.61.3.279>

45. *Holmin S, Söderlund J, Biberfeld P, Mathiesen T* (1998) Intracerebral inflammation after human brain contusion. *Neurosurgery* 42(2): 291–298.  
<https://doi.org/10.1097/00006123-199802000-00047>
46. *Beschorner R, Nguyen TD, Gözalan F, Pedal I, Mattern R, Schluesener HJ, Meyermann R, Schwab JM* (2002) CD14 expression by activated parenchymal microglia/macrophages and infiltrating monocytes following human traumatic brain injury. *Acta Neuropathol* 103(6): 541–549.  
<https://doi.org/10.1007/s00401-001-0503-7>
47. *Szmydynger-Chodobska J, Strazielle N, Zink BJ, Ghersi-Egea JF, Chodobski A* (2019) The role of the choroid plexus in neutrophil invasion after traumatic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab* 29(9): 1503–1516.  
<https://doi.org/10.1038/jcbfm.2009.71>
48. *Etienne-Manneville S, Manneville JB, Adamson P, Wilbourn B, Greenwood J, Couraud PO* (2000) ICAM-1-coupled cytoskeletal rearrangements and transendothelial lymphocyte migration involve intracellular calcium signaling in brain endothelial cell lines. *J Immunol* 165(6): 3375–3383.  
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.165.6.3375>
49. *Kossmann T, Stahel PF, Morganti-Kossmann MC, Jones JL, Barnum SR* (1997) Elevated levels of the complement components C3 and factor B in ventricular cerebrospinal fluid of patients with traumatic brain injury. *J Neuroimmunol* 73(1–2): 63–69.  
[https://doi.org/10.1016/s0165-5728\(96\)00164-6](https://doi.org/10.1016/s0165-5728(96)00164-6)
50. *Stahel PF, Morganti-Kossmann MC, Perez D, Redaelli C, Gloor B, Trentz O, Kossmann T* (2001) Intrathecal levels of complement-derived soluble membrane attack complex (sC5b-9) correlate with blood-brain barrier dysfunction in patients with traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 18(8): 773–781.  
<https://doi.org/10.1089/089771501316919139>
51. *Stahel PF, Flierl MA, Morgan BP, Persigehl I, Stoll C, Conrad C, Touban BM, Smith WR, Beauchamp K, Schmidt OI, Ertel W, Leinase I* (2009) Absence of the complement regulatory molecule CD59a leads to exacerbated neuropathology after traumatic brain injury in mice. *J Neuroinflammation* 6:2.  
<https://doi.org/10.1186/1742-2094-6-2>
52. *Zuo J, Ferguson TA, Hernandez YJ, Stetler-Stevenson WG, Muir D* (1998) Neuronal matrix metalloproteinase-2 degrades and inactivates a neurite-inhibiting chondroitin sulfate proteoglycan. *J Neurosci* 18(14): 5203–5211.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.18-14-05203.1998>
53. *Uhm JH, Dooley NP, Oh LY, Yong VW* (1998) Oligodendrocytes utilize a matrix metalloproteinase, MMP-9, to extend processes along an astrocyte extracellular matrix. *Glia* 22(1): 53–63.  
[https://doi.org/10.1002/\(sici\)1098-1136\(199801\)22:1<53::aid-glia5>3.0.co;2-9](https://doi.org/10.1002/(sici)1098-1136(199801)22:1<53::aid-glia5>3.0.co;2-9)
54. *Harkness KA, Adamson P, Sussman JD, Davies-Jones GA, Greenwood J, Woodroffe MN* (2000) Dexamethasone regulation of matrix metalloproteinase expression in CNS vascular endothelium. *Brain* 123 (Pt 4): 698–709.  
<https://doi.org/10.1093/brain/123.4.698>
55. *Song J, Wu C, Korpos E, Zhang X, Agrawal SM, Wang Y, Faber C, Schäfers M, Körner H, Opdenakker G, Hallmann R, Sorokin L* (2015) Focal MMP-2 and MMP-9 activity at the blood-brain barrier promotes chemokine-induced leukocyte migration. *Cell Rep* 10(7): 1040–1054.  
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.01.037>
56. *Seri B, García-Verdugo JM, Collado-Morente L, McEwen BS, Alvarez-Buylla A* (2004) Cell types, lineage, and architecture of the germinal zone in the adult dentate gyrus. *J Comp Neurol* 478(4): 359–378.  
<https://doi.org/10.1002/cne.20288>
57. *Doetsch F, Caillé I, Lim DA, García-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A* (1999) Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. *Cell* 97(6): 703–716.  
[https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80783-7](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80783-7)
58. *Kizil C, Kaslin J, Kroehne V, Brand M* (2012) Adult neurogenesis and brain regeneration in zebrafish. *Dev Neurobiol* 72(3): 429–461.  
<https://doi.org/10.1002/dneu.20918>
59. *Tallafuss A, Kelly M, Gay L, Gibson D, Batzel P, Karfilis KV, Eisen J, Stankunas K, Postlethwait JH, Washbourne P* (2015) Transcriptomes of post-mitotic neurons identify the usage of alternative pathways during adult and embryonic neuronal differentiation. *BMC Genomics* 16: 1100.  
<https://doi.org/10.1186/s12864-015-2215-8>
60. *März M, Schmidt R, Rastegar S, Strähle U* (2011) Regenerative response following stab injury in the adult zebrafish telencephalon. *Dev Dyn* 240(9): 2221–2231.  
<https://doi.org/10.1002/dvdy.22710>
61. *Kroehne V, Freudenreich D, Hans S, Kaslin J, Brand M* (2011) Regeneration of the adult zebrafish brain from neurogenic radial glia-type progenitors. *Development* 138(22): 4831–4841.  
<https://doi.org/10.1242/dev.072587>
62. *Kyrítis N, Kizil C, Zoicher S, Kroehne V, Kaslin J, Freudenreich D, Iltzsche A, Brand M* (2012) Acute inflammation initiates the regenerative response in the adult zebrafish brain. *Science* 338(6112): 1353–1356.  
<https://doi.org/10.1126/science.1228773>

63. *Huang EJ, Reichardt LF* (2001) Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annu Rev Neurosci* 24: 677–736.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.24.1.677>
64. *Cacialli P, Gueguen MM, Coumilleau P, D'Angelo L, Kah O, Lucini C, Pellegrini E* (2016) BDNF Expression in Larval and Adult Zebrafish Brain: Distribution and Cell Identification. *PLoS One*. 11(6): e0158057.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158057>
65. *Lemmens K, Bollaerts I, Bhumika S, de Groef L, Van Houcke J, Darras VM, Van Hove I, Moons L* (2016) Matrix metalloproteinases as promising regulators of axonal regrowth in the injured adult zebrafish retinotectal system. *J Comp Neurol* 524(7): 1472–1493.  
<https://doi.org/10.1002/cne.23920>
66. *Mortimer JA, van Duijn CM, Chandra V, Fratiglioni L, Graves AB, Heyman A, Jorm AF, Kokmen E, Kondo K, Rocca WA et al* (1991) Head trauma as a risk factor for Alzheimer's disease: a collaborative re-analysis of case-control studies. EURODEM Risk Factors Research Group. *Int J Epidemiol* 20 Suppl 2: S28–S35.  
[https://doi.org/10.1093/ije/20.supplement\\_2.s28](https://doi.org/10.1093/ije/20.supplement_2.s28)
67. *Fleminger S, Oliver DL, Lovestone S, Rabe-Hesketh S, Giora A* (2003) Head injury as a risk factor for Alzheimer's disease: the evidence 10 years on; a partial replication. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 74(7): 857–862.  
<https://doi.org/10.1136/jnnp.74.7.857>
68. *Mehta KM, Ott A, Kalmijn S, Slooter AJ, van Duijn CM, Hofman A, Breteler MM* (1999) Head trauma and risk of dementia and Alzheimer's disease: The Rotterdam Study. *Neurology* 53(9): 1959–1962.  
<https://doi.org/10.1212/wnl.53.9.1959>
69. *Hicks RR, Smith DH, Lowenstein DH, Saint Marie R, McIntosh TK* (1993) Mild experimental brain injury in the rat induces cognitive deficits associated with regional neuronal loss in the hippocampus. *J Neurotrauma* 10(4): 405–414.  
<https://doi.org/10.1089/neu.1993.10.405>
70. *Kupina NC, Detloff MR, Bobrowski WF, Snyder BJ, Hall ED* (2003) Cytoskeletal protein degradation and neurodegeneration evolves differently in males and females following experimental head injury. *Exp Neurol* 180(1): 55–73.  
[https://doi.org/10.1016/s0014-4886\(02\)00048-1](https://doi.org/10.1016/s0014-4886(02)00048-1)
71. *Awasthi D, Church DF, Torbati D, Carey ME, Pryor WA* (1997) Oxidative stress following traumatic brain injury in rats. *Surg Neurol* 47(6): 575–581.  
[https://doi.org/10.1016/s0090-3019\(96\)00461-2](https://doi.org/10.1016/s0090-3019(96)00461-2)
72. *Xiong Y, Peterson PL, Muizelaar JP, Lee CP* (1997) Amelioration of mitochondrial function by a novel antioxidant U-101033E following traumatic brain injury in rats. *J Neurotrauma* 14(12): 907–917.  
<https://doi.org/10.1089/neu.1997.14.907>
73. *Mendez DR, Cherian L, Moore N, Arora T, Liu PK, Robertson CS* (2004) Oxidative DNA lesions in a rodent model of traumatic brain injury. *J Trauma* 56(6): 1235–1240.  
<https://doi.org/10.1097/01.ta.0000130759.62286.0e>
74. *Singh IN, Sullivan PG, Deng Y, Mbye LH, Hall ED* (2006) Time course of post-traumatic mitochondrial oxidative damage and dysfunction in a mouse model of focal traumatic brain injury: implications for neuroprotective therapy. *J Cereb Blood Flow Metab* 26(11): 1407–1418.  
<https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600297>
75. *Dai W, Cheng HL, Huang RQ, Zhuang Z, Shi JX* (2009) Quantitative detection of the expression of mitochondrial cytochrome c oxidase subunits mRNA in the cerebral cortex after experimental traumatic brain injury. *Brain Res* 1251: 287–295.  
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.11.034>
76. *Smith DH, Uryu K, Saatman KE, Trojanowski JQ, McIntosh TK* (2003) Protein accumulation in traumatic brain injury. *Neuromolecular Med* 4(1-2): 59–72.  
<https://doi.org/10.1385/NMM:4:1-2:59>
77. *McKee AC, Daneshvar DH, Alvarez VE, Stein TD* (2014) The neuropathology of sport. *Acta Neuropathol* 127(1): 29–51.  
<https://doi.org/10.1007/s00401-013-1230-6>
78. *Paquet D, Bhat R, Sydow A, Mandelkow EM, Berg S, Hellberg S, Fälting J, Distel M, Köster RW, Schmid B, Haass C* (2009) A zebrafish model of tauopathy allows in vivo imaging of neuronal cell death and drug evaluation. *J Clin Invest* 119(5): 1382–1395.  
<https://doi.org/10.1172/JCI37537>
79. *Stokum JA, Kurland DB, Gerzanich V, Simard JM* (2015) Mechanisms of astrocyte-mediated cerebral edema. *Neurochem Res* 40(2): 317–328.  
<https://doi.org/10.1007/s11064-014-1374-3>
80. *Yi JH, Hazell AS* (2006) Excitotoxic mechanisms and the role of astrocytic glutamate transporters in traumatic brain injury. *Neurochem Int* 48(5): 394–403.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuint.2005.12.001>
81. *McCutcheon V, Park E, Liu E, Wang Y, Wen XY, Baker AJ* (2016) A Model of Excitotoxic Brain Injury in Larval Zebrafish: Potential Application for High-Throughput Drug Evaluation to

- Treat Traumatic Brain Injury. *Zebrafish* 13(3): 161–169.  
<https://doi.org/10.1089/zeb.2015.1188>
82. *Klatzo I* (1967) Presidential address. Neuropathological aspects of brain edema. *J Neuropathol Exp Neurol* 26(1): 1–14.  
<https://doi.org/10.1097/00005072-196701000-00001>
  83. *Cervós-Navarro J, Lafuente JV* (1991) Traumatic brain injuries: structural changes. *J Neurol Sci* 103 Suppl: S3–S14.  
[https://doi.org/10.1016/0022-510x\(91\)90002-o](https://doi.org/10.1016/0022-510x(91)90002-o)
  84. *Nevin NC* (1967) Neuropathological changes in the white matter following head injury. *J Neuropathol Exp Neurol* 26(1): 77–84.  
<https://doi.org/10.1097/00005072-196701000-00006>
  85. *Povlishock JT, Becker DP, Sullivan HG, Miller JD* (1978) Vascular permeability alterations to horseradish peroxidase in experimental brain injury. *Brain Res* 153(2): 223–239.  
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(78\)90404-3](https://doi.org/10.1016/0006-8993(78)90404-3)
  86. *Taniguchi M, Yamashita T, Kumura E, Tamatani M, Kobayashi A, Yokawa T, Maruno M, Kato A, Ohnishi T, Kohmura E, Tohyama M, Yoshimine T* (2000) Induction of aquaporin-4 water channel mRNA after focal cerebral ischemia in rat. *Brain Res Mol Brain Res* 78(1–2): 131–137.  
[https://doi.org/10.1016/s0169-328x\(00\)00084-x](https://doi.org/10.1016/s0169-328x(00)00084-x)
  87. *Rapoport SI* (1978) A mathematical model for vasogenic brain edema. *J Theor Biol* 74(3): 439–467.  
[https://doi.org/10.1016/0022-5193\(78\)90224-2](https://doi.org/10.1016/0022-5193(78)90224-2)
  88. *Klatzo I* (1987) Pathophysiological aspects of brain edema. *Acta Neuropathol* 72(3): 236–239.  
<https://doi.org/10.1007/BF00691095>
  89. *Simard JM, Chen M, Tarasov KV, Bhatta S, Ivanova S, Melnitchenko L, Tsybalyuk N, West GA, Gerzanich V* (2006) Newly expressed SUR1-regulated NC(Ca-ATP) channel mediates cerebral edema after ischemic stroke. *Nat Med* 12(4): 433–440.  
<https://doi.org/10.1038/nm1390>
  90. *Reiter B, Kraft R, Günzel D, Zeissig S, Schulzke JD, Fromm M, Harteneck C* (2006) TRPV4-mediated regulation of epithelial permeability. *FASEB J* 20(11): 1802–1812.  
<https://doi.org/10.1096/fj.06-5772com>
  91. *Fu X, Li Q, Feng Z, Mu D* (2007) The roles of aquaporin-4 in brain edema following neonatal hypoxia ischemia and reoxygenation in a cultured rat astrocyte model. *Glia* 55(9): 935–941.  
<https://doi.org/10.1002/glia.20515>
  92. *Huang J, Liu B, Yang C, Chen H, Eunice D, Yuan Z* (2013) Acute hyperglycemia worsens ischemic stroke-induced brain damage via high mobility group box-1 in rats. *Brain Res* 1535: 148–155.  
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2013.08.057>
  93. *Tang G, Liu Y, Zhang Z, Lu Y, Wang Y, Huang J, Li Y, Chen X, Gu X, Wang Y, Yang GY* (2014) Mesenchymal stem cells maintain blood-brain barrier integrity by inhibiting aquaporin-4 up-regulation after cerebral ischemia. *Stem Cells* 32(12): 3150–3162.  
<https://doi.org/10.1002/stem.1808>
  94. *Zhiyuan Q, Qingyong L, Shengming H, Hui M* (2016) Protective effect of rhEPO on tight junctions of cerebral microvascular endothelial cells early following traumatic brain injury in rats. *Brain Inj* 30(4): 462–467.  
<https://doi.org/10.3109/02699052.2015.1080386>
  95. *Bramlett HM, Dietrich WD* (2004) Pathophysiology of cerebral ischemia and brain trauma: similarities and differences. *J Cereb Blood Flow Metab* 24(2): 133–150.  
<https://doi.org/10.1097/01.WCB.0000111614.19196.04>
  96. *Wang TW, Chang KC, Chen LH, Liao SY, Yeh CW, Chuang YJ* (2017). Effects of an injectable functionalized self-assembling nano-peptide hydrogel on angiogenesis and neurogenesis for regeneration of the central nervous system. *Nanoscale* 9(42): 16281–16292.  
<https://doi.org/10.1039/c7nr06528k>
  97. *Hsieh FY, Hsu SH* (2015). 3D bioprinting: A new insight into the therapeutic strategy of neural tissue regeneration. *Organogenesis* 11(4): 153–158.  
<https://doi.org/10.1080/15476278.2015.1123360>
  98. *Kabadi SV, Hilton GD, Stoica BA, Zapple DN, Faden AI* (2010). Fluid-percussion-induced traumatic brain injury model in rats. *Nat Protoc* 5(9): 1552–1563.  
<https://doi.org/10.1038/nprot.2010.112>
  99. *Chiu CC, Liao YE, Yang LY, Wang JY, Tweedie D, Karnati HK, Greig NH, Wang JY* (2016) Neuroinflammation in animal models of traumatic brain injury. *J Neurosci Methods* 272: 38–49.  
<https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2016.06.018>
  100. *Das Gupta S, Ciszek R, Heiskanen M, Lapinlampi N, Kukkonen J, Leinonen V, Puhakka N, Pitkänen A* (2021) Plasma miR-9-3p and miR-136-3p as Potential Novel Diagnostic Biomarkers for Experimental and Human Mild Traumatic Brain Injury. *Int J Mol Sci* 22(4): 1563.  
<https://doi.org/10.3390/ijms22041563>
  101. *Komoltsev IG, Sinkin MV, Volkova AA, Smirnova EA, Novikova MR, Kordonskaya OO, Talypov AE, Guekht AB, Krylov VV, Gulyaeva NV* (2020) A Translational Study on Acute Traumatic Brain Injury: High Incidence of Epileptiform Activity on Human and Rat Electroencephalograms and

- Histological Correlates in Rats. *Brain Sci* 10(9): 570.  
<https://doi.org/10.3390/brainsci10090570>
102. *Cho SJ, Park E, Telliyan T, Baker A, Reid AY* (2020) Zebrafish model of posttraumatic epilepsy. *Epilepsia* 61(8): 1774–1785.  
<https://doi.org/10.1111/epi.16589>
  103. *Cheng RK, Jesuthasan SJ, Penney TB* (2014) Zebrafish forebrain and temporal conditioning. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 369(1637): 20120462.  
<https://doi.org/10.1098/rstb.2012.0462>
  104. *Gan D, Wu S, Chen B, Zhang J* (2020) Application of the Zebrafish Traumatic Brain Injury Model in Assessing Cerebral Inflammation. *Zebrafish* 17(2): 73–82.  
<https://doi.org/10.1089/zeb.2019.1793>
  105. *Liu XYE, Park E, Barretto T, Liu E, Ferrier GA, Tavakkoli J, J Baker A* (2020) Effect of Human Umbilical Cord Perivascular Cell-Conditioned Media in an Adult Zebrafish Model of Traumatic Brain Injury. *Zebrafish* 2020 May 20.  
<https://doi.org/10.1089/zeb.2020.1859>
  106. *Chinwalla A* (2002) Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature* 420: 520–562.  
<https://doi.org/10.1038/nature01262>
  107. *Carbonell WS, Maris DO, McCall T, Grady MS* (1998) Adaptation of the fluid percussion injury model to the mouse. *J Neurotrauma* 15(3): 217–229.  
<https://doi.org/10.1089/neu.1998.15.217>

#### Models of Traumatic Brain Injury in Zebrafish (*Danio rerio*)

V. Ya. Babchenko<sup>a, b, \*</sup>, A. S. Belova<sup>a, b</sup>, A. A. Bashirzade<sup>a, b</sup>, M. A. Tikhonova<sup>a, b</sup>,  
 K. A. Demin<sup>c, d, e</sup>, K. N. Zabegalov<sup>f</sup>, E. V. Petersen<sup>g</sup>,  
 A. V. Kalueff<sup>a, b, f, h</sup>, and T. G. Amstislavskaya<sup>a, b, \*\*</sup>

<sup>a</sup> Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

<sup>b</sup> Research Institute of Neurosciences and Medicine, Novosibirsk, Russia

<sup>c</sup> Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

<sup>d</sup> Granov Russian Scientific Center for Radiology and Surgical Technologies, St. Petersburg, Russia

<sup>e</sup> Almazov National Medical Research Center, St. Petersburg, Russia

<sup>f</sup> Science and Technology University “Sirius”, Sochi, Russia

<sup>g</sup> Moscow Institute of Physics and Technology, Moscow, Russia

<sup>h</sup> Ural Federal University, Yekaterinburg, Russia

\*e-mail: v.babchenko@g.nsu.ru

\*\*e-mail: amstislavskayatg@physiol.ru

In modern medicine, there is an increased interest in the study of the pathogenesis of traumatic brain injury (TBI). This is dictated primarily by the high level of hospitalizations of patients with this pathology, high mortality, as well as imperfect methods of supervision. To achieve a more in-depth understanding of the pathogenesis of TBI, it is necessary to correctly design the experiment, which in turn begins with the correct selection of an animal model. The zebrafish is considered as a promising organism for studies of molecular events underlying the pathogenesis of TBI. Its advantages as a model organism include a high degree of genetic homology with humans, a relatively low cost, and a high neuroregenerative potential. The pathogenesis of TBI includes a number of processes: primary traumatic injury, neuroinflammation, neurodegeneration, cerebral edema, and neuroregeneration. To date, many of the most important events of the above-mentioned processes have already been established in rodent models. However, the molecular processes of TBI pathogenesis largely remain a mystery to our understanding. This review discusses the experimental models of TBI in zebrafish, their advantages and disadvantages in relation to other model organisms. The review also provides summary data on the pathophysiology and molecular biology of each of the pathogenetic processes of TBI. A number of examples of experimental therapy of TBI in zebrafish are given, reflecting the progress in this area. A conclusion is made about the prospects of using zebrafish as a model object for studies of the pathogenesis of TBI.

**Keywords:** neuroinflammation, neurodegeneration, neuroregeneration, cerebral edema, traumatic brain injury, zebrafish, traumatic brain injury therapy