

Количественные изменения ферритинсодержащей глии в структурах черного вещества головного мозга при старении и болезни Паркинсона

В.Н. Сальков, Д.Н. Воронков, В.С. Сухоруков

ФГБНУ Научный центр неврологии, Москва, Россия

Резюме. Введение. При старении и болезни Паркинсона (БП) в черном веществе (ЧВ, *substantia nigra*) головного мозга накапливается железо. Тем не менее об изменении при старении и БП метаболизма ферритина – протеина, связывающего железо в клетках ЧВ, сведений недостаточно. Цель настоящего исследования – количественно оценить изменение числа Н- и L-ферритинсодержащей глии в структурах ЧВ головного мозга человека при физиологическом старении и БП.

Материалы и методы. На аутопсийном материале головного мозга пациентов с БП (пять случаев), людей зрелого и пожилого возраста (шесть случаев), старческого возраста (пять случаев) методами иммуногистохимии и световой микроскопии исследовали локализацию тяжелой (Н) и легкой (L) цепей ферритина в структурах ЧВ головного мозга. При помощи компьютерной морфометрии определяли плотность расположения Н- и L-ферритинсодержащей нейроглии в изучаемых структурах.

Результаты. Установлено, что во всех случаях ферритин накапливался преимущественно в ретикулярной части ЧВ в непигментированных нейронах и клетках нейроглии. Плотность расположения Н- и L-ферритинсодержащей нейроглии в ЧВ мозга пациентов с БП и людей старческого возраста по сравнению с людьми зрелого и пожилого возраста была статистически значимо выше. Отличия между группами пациентов с БП и людьми старческого возраста обнаружены только по показателю плотности расположения Н-ферритинсодержащей нейроглии.

Заключение. Выявленные между возрастными группами отличия по показателям плотности расположения Н- и L-ферритинсодержащей нейроглии характеризуют их увеличение с возрастом и соответствуют накоплению железа в ЧВ при физиологическом старении. Отличия, продемонстрированные по этим же показателям между пациентами с БП и пациентами из обеих групп сравнения, характеризуют дисбаланс процессов накопления и окисления железа в ферритинсодержащих глиальных клетках у данной категории пациентов.

Ключевые слова: старение, болезнь Паркинсона, черное вещество, иммуногистохимия, морфометрия, ферритин, нейроглия

Для корреспонденции: Владимир Николаевич Сальков. E-mail: vla-salkov@yandex.ru

Для цитирования: Сальков В.Н., Воронков Д.Н., Сухоруков В.С. Количественные изменения ферритинсодержащей глии в структурах черного вещества головного мозга при старении и болезни Паркинсона. Клин. эксп. морфология. 2024;13(2):20–25. DOI: 10.31088/CEM2024.13.2.20-25.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания Научного центра неврологии (№ ААА-А17-122041800156-8).

Статья поступила 14.08.2023. Получена после рецензирования 15.10.2023. Принята в печать 20.11.2023.

Quantitative changes in ferritin-containing glia in the structures of the substantia nigra in aging and Parkinson's disease

V.N. Salkov, D.N. Voronkov, V.S. Sukhorukov

Research Center of Neurology, Moscow, Russia

Abstract. Introduction. Iron accumulates in the substantia nigra (SN) in aging and Parkinson's disease (PD). However, there is a distinct lack of information about the changes in the metabolism of ferritin—an iron-binding protein in nigral cells—in aging and PD. The aim of the study was to quantify the changes in the number of H- and L-ferritin glia in the SN structures in aging and PD.

Materials and methods. We examined autopsies of PD patients (5 cases), mature and elderly people (6 cases), as well as senile people (5 cases). Immunohistochemistry and light microscopy were used to study the location of H- and L-ferritin chains in the SN structures. The density of H- and L-ferritin-containing neuroglia was determined with computer morphometry.

Results. In all cases, ferritin was accumulated predominantly in the reticular part of the SN in unpigmented neurons and neuroglial cells. The density of H- and L-ferritin-containing neuroglia in the SN of PD patients and senile people was significantly higher compared to that in mature and elderly people. The same differences between the groups of PD patients and elderly people were found only for the density of H-ferritin-containing neuroglia.

Conclusion. The differences revealed between the age groups in the density of H- and L-ferritin-containing neuroglia characterize their increase with age and correspond to the accumulation of iron in the SN during aging. The differences revealed with the same parameters between patients with PD and mature, elderly, and senile patients characterize the imbalance of iron accumulation and oxidation processes in ferritin-containing glial cells of patients with PD.

Keywords: aging, Parkinson's disease, substantia nigra, immunohistochemistry, morphometric, ferritin, neuroglia

Corresponding author: Vladimir N. Salkov. E-mail: vla-salkov@yandex.ru

For citation: Salkov V.N., Voronkov D.N., Sukhorukov V.S. Quantitative changes in ferritin-containing glia in the structures of the substantia nigra in aging and Parkinson's disease. Clin. exp. morphology. 2024;13(2):20–25 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2024.13.2.20–25.

Funding. The study was carried out within the framework of State Assignment to Research Center of Neurology (No. AAA-A17-122041800156-8).

Received 14.08.2023. **Received in revised form** 15.10.2023. **Accepted** 20.11.2023.

Введение

Накопление соединений железа в компактной части черного вещества (ЧВ, *substantia nigra*) головного мозга является одним из основных морфохимических признаков болезни Паркинсона (БП) [1] – ассоциированного с пожилым возрастом нейродегенеративного заболевания [2], которым в мире страдают свыше 8,5 миллиона человек [3]. Вместе с тем указанный морфологический признак характерен не только для БП, его выявляют и при физиологическом старении [4], но при БП в черном веществе железа накапливается вдвое больше, чем у пожилых людей того же возраста, не имеющих неврологической симптоматики [1].

Железо в пигментированных нейронах компактной части ЧВ связывается с нейромеланином, а в непигментированных нейронах и клетках глии (преимущественно в олигодендроцитах и микроглии) с ферритином – белком, содержащим переменное количество двух типов полипептидных цепей: тяжелой (H) и легкой (L) [5]. H-цепь является ферроксидазным центром, в котором двухвалентная форма железа (II) окисляется до его трехвалентной формы (III), в то время как L-цепи ферритина отводят роль хранилища железа. Другие функции глиальных форм ферритина в обмене негемового железа в нервной ткани подробно не изучены, и их роль в патогенезе БП до конца не выяснена [6]. В то же время в литературе описаны случаи накопления ферритина в ЧВ при физиологическом старении [7], тогда как по вопросу его накопления в этом же образовании головного мозга при БП единого мнения нет. Согласно одним данным, при БП концентрация ферритина в ЧВ уменьшается [8], согласно другим, она существенно не изменяется [9]. В связи с изложенным выше целью настоящей работы состояла в том, чтобы количественно оценить изменение числа H- и L-ферритинсодержащей

глии в структурах ЧВ головного мозга человека при физиологическом старении и БП.

Материалы и методы

Исследовали аутопсийный материал головного мозга пациентов с БП, умерших от интеркуррентных заболеваний в возрасте 57, 60, 61, 63 и 70 лет (пять случаев: два мужчины и три женщины). Во всех случаях прижизненно была диагностирована смешанная форма БП. Группы сравнения были представлены аутопсийным материалом головного мозга людей второго периода зрелого и пожилого возраста (от 48 и до 75 лет), у которых при жизни не выявляли неврологической симптоматики, – группа I (шесть случаев: три мужчины и три женщины), а также старческого возраста (старше 75 лет) – группа II (пять случаев: два мужчины и три женщины). Все этапы исследования соответствовали законодательству Российской Федерации и были одобрены локальным этическим комитетом Научного центра неврологии (протокол № 26/2022 от 20.05.2022).

Аутопсийный материал фиксировали в 4% растворе формалина, подвергали стандартной гистологической обработке и заключали в парафиновые блоки, которые на уровне среднего мозга раскладывали на серии фронтальных срезов толщиной 10 мкм. Для выявления H- и L-цепей ферритина проводили иммуногистохимическую реакцию с использованием первичных антител к этим белкам: кроличьи рекомбинантные моноклональные антитела к H-цепи ферритина (ab75972, Abcam, Великобритания) и мышинные моноклональные антитела к L-цепи ферритина (ab201975, Abcam, Великобритания). Для выявления продуктов реакции применяли вторичные антитела из набора Sigma EXTRA-3 (Sigma-Aldrich, США) и 3,3-диаминобензи-

дин (Acros Organics BVBA, Бельгия). Срезы дополнительно окрашивали гематоксилином для определения клеточных ядер.

Локализацию обеих цепей ферритина в клеточных структурах ЧВ оценивали под микроскопом Leica DMLB (Leica Microsystems, Германия), оснащенным цифровой фотокамерой и программным обеспечением для обработки и анализа изображений Leica QWin (Leica Microsystems, Германия). Плотность расположения клеток нейроглии, содержавших Н- и L-цепи ферритина, в структурах ЧВ головного мозга подсчитывали, ориентируясь на их морфологические признаки и определяя их число в поле зрения микроскопа ($\times 400$), выводимого на монитор компьютера. Площадь поля зрения микроскопа пересчитывали на площадь, равную $0,01 \text{ мм}^2$ гистологического препарата, используя программу анализа изображений. В каждом случае исследовали не менее 30 полей зрения.

Статистическую обработку полученных количественных данных проводили при помощи программы Statistica 6.0 (StatSoft, США). Различия между выборками по показателям плотности расположения Н- и L-ферритинсодержащей нейроглии устанавливали методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), апостериорный анализ для проверки равенства средних значений между выборками проводили, используя метод группирования выборок с наименее значимой разницей, – LSD-тест. Пороговая величина α -ошибки составляла $0,05$.

Результаты

В области среднего мозга ЧВ располагалось в виде тяжа, который залегал между красным ядром и основанием ножек мозга и разделялся на две части – редкоклеточную ретикулярную и густоклеточную компактную. Клетки, содержащие Н- (рис. 1) и L-цепи ферритина (рис. 2), выявляли преимущественно в ретикулярной части ЧВ во всех случаях как в контрольных группах, так и в группе БП. Они были представлены непигментированными нейронами и клетками нейроглии. В непигментированных нейронах обе цепи ферритина обнаруживали в виде диффузного окрашивания цитоплазмы. В клетках нейроглии Н-цепь ферритина визуализировали в виде ободка, охватывающего ядро, тогда как L-цепь выявляли также и в отростках микроглии.

Методами компьютерной морфометрии обнаружили, что показатель плотности расположения Н-ферритинсодержащей нейроглии у пациентов с БП и в группе сравнения II был существенно выше, чем у людей в группе сравнения I (табл.). Он превосходил аналогичный показатель в группе I: у пациентов с БП на 62%, а у людей группы сравнения II на 45%. Кроме того, отметили небольшое, но статистически значимое увеличение этого показателя у пациентов с БП по сравнению с людьми из группы сравнения II (на 11%).

Сопоставление выборочных значений плотности расположения L-ферритинсодержащей нейроглии в ЧВ между исследуемыми группами продемонстри-

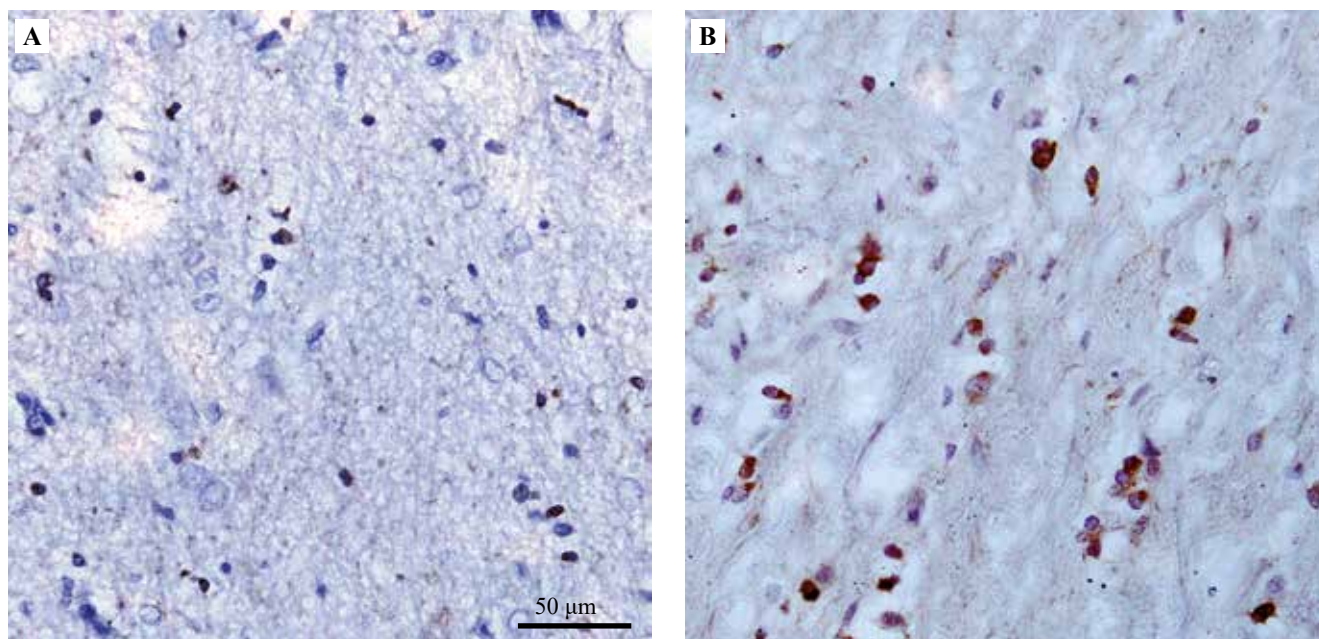


Рис. 1. Н-ферритинсодержащая глия в ретикулярной части черного вещества головного мозга (окрашена в коричневый цвет). А – у человека, не имевшего при жизни неврологической симптоматики, 60 лет, В – у пациента с болезнью Паркинсона, 57 лет. Иммуногистохимическая реакция с антителами к Н-ферритину, докрасивание гематоксилином, $\times 400$, масштабная линейка 50 мкм

Fig. 1. H-ferritin-containing glia in the substantia nigra pars reticulata (stained brown). А – the brain of the 60-year-old man with no neurological antemortem symptoms, В – the brain of the 57-year-old patient with Parkinson's disease. IHC assay with antibodies to H-ferritin, hematoxylin stain, $\times 400$, scale bar 50 μm

ровало статистически значимые отличия по этому показателю между группой пациентов с БП и группой сравнения I, а также между группами сравнения I и II (табл.). В обеих группах показатель плотности расположения L-ферритинсодержащей нейроглии был выше,

чем в группе сравнения I: у пациентов с БП на 53%, а у людей группы сравнения II на 49%. Вместе с тем мы не выявили существенных отличий по этому показателю между группой пациентов с БП и группой сравнения II (табл.).

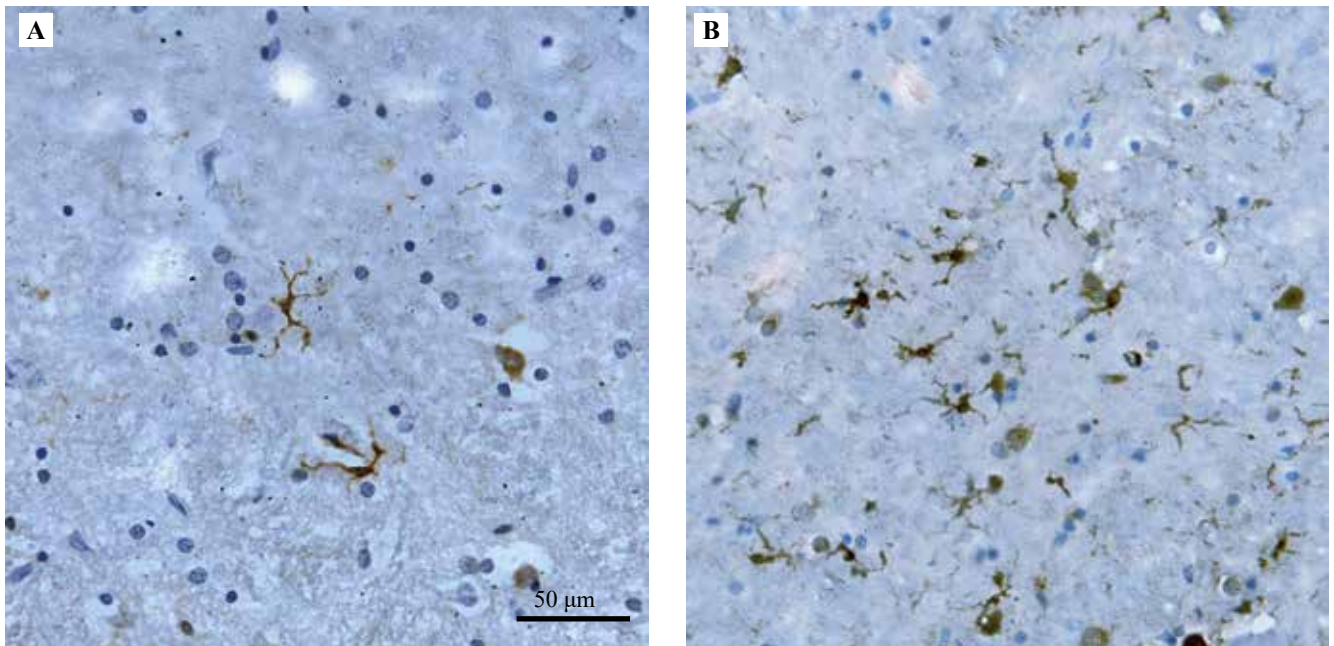


Рис. 2. L-ферритинсодержащая глия в ретикулярной части черного вещества головного мозга (окрашена в коричневый цвет). А – у человека, не имевшего при жизни неврологической симптоматики, 61 год, В – у пациента с болезнью Паркинсона, 60 лет. Иммуногистохимическая реакция с антителами к L-ферритину, докрасивание гематоксилином, $\times 400$, масштабная линейка 50 мкм

Fig. 2. L-ferritin-containing gliosis in the substantia nigra pars reticulata (stained brown). А – the brain of the 61-year-old man with no neurological antemortem symptoms, В – the brain of the 60-year-old patient with Parkinson's disease. IHC assay with antibodies to L-ferritin, hematoxylin stain, $\times 400$, scale bar – 50 μm

Таблица | Table

Плотность расположения ферритинсодержащей нейроглии на 0,01 мм² площади среза черного вещества головного мозга у пациентов с болезнью Паркинсона (БП), людей зрелого и пожилого возраста (группа сравнения I) и людей старческого возраста (группа сравнения II)

Density of ferritin-containing neuroglia per 0.01 mm² of the substantia nigra section area in Parkinson's disease (PD) patients, mature and elderly subjects (control I), and senile subjects (control II)

Группы Groups	Плотность расположения нейроглии Density of neuroglia		Статистическая значимость в группах p-level in the groups
	Н-ферритинсодержащей (M \pm m) N-ferritin-containing (M \pm m)	L-ферритинсодержащей (M \pm m) L-ferritin-containing (M \pm m)	
Группа сравнения I (n=5) Control I (n=5)	11,87 \pm 0,19	11,85 \pm 0,2	p=0,476
Группа сравнения II (n=6) Control II (n=6)	17,24 \pm 0,26	17,87 \pm 0,28	p=0,065
Группа БП (n=5) PD group (n=5)	19,21 \pm 0,16	18,11 \pm 0,19	p=0,0013
Статистическая значимость между группами p-level between the groups	p1–2<0,001 p1–3<0,001 p2–3<0,001	p1–2<0,001 p1–3<0,001 p2–3=0,487	–

Использован метод ANOVA, дополненный LSD-тестом | ANOVA Post-hoc LSD test used

При сопоставлении выборочных значений плотности расположения Н- и L-ферритинсодержащей нейроглии в каждой из групп (табл.) мы не обнаружили статистически значимых отличий по этим показателям в группах сравнения, но выявили их в группе пациентов с БП, у которых была выше на 6% плотность расположения Н-ферритинсодержащей нейроглии.

Обсуждение

Проведенное исследование показало, что при физиологическом старении существенно возрастает плотность расположения как Н-ферритинсодержащей, так и L-ферритинсодержащей нейроглии в ЧВ головного мозга. Равномерное увеличение этих показателей у людей зрелого и пожилого возраста по сравнению с таковыми у людей старческого возраста (для Н-ферритинсодержащей нейроглии на 45%, а для L-ферритинсодержащей нейроглии на 49%) может свидетельствовать об адаптации структур ЧВ к постепенному увеличению поступления в них соединений железа. Следовательно, в условиях физиологического старения одновременно с постепенным увеличением поступления железа в клеточные структуры ЧВ [10] постепенно усиливается экспрессия в них ферритина. Равномерность возрастания числа Н- и L-ферритинсодержащих глиальных клеток в ЧВ с возрастом может быть связана с тем, что процессы накопления железа и его окисления при физиологическом старении протекают сбалансированно.

Наряду с изложенным выше проведенное исследование позволило обнаружить, что у пациентов с БП плотность расположения клеток нейроглии, содержащих Н- и L-ферритин, была существенно выше, чем у людей того же возраста, не имевших при жизни неврологической симптоматики (группа сравнения I), что согласуется с результатами других исследователей, изучавших аналогичные клеточные параметры как у пациентов с БП [11], так и при моделировании этой патологии у животных [12]. Кроме того, у пациентов с БП показатель плотности расположения клеток нейроглии, содержащих Н-ферритин, был выше, чем у людей старческого возраста (группа сравнения II), и он был выше, чем показатель плотности расположения клеток нейроглии, содержащих L-ферритин, что хорошо согласуется с данными других авторов [13]. Такая избыточная экспрессия Н-цепи ферритина у пациентов с БП может быть обусловлена дисбалансом процессов депонирования и окисления железа при данном заболевании в пользу последнего. В результате этого дисбаланса избыточное количество окисленного железа, образующегося в глиальных клетках, не утилизируется своевременно, а накапливается в них [14]. Очевидно, что при БП превышает возможность связывать железо не только для ферритина глиальных клеток и не пигментированных нейронов, но и для нейромеланина, содержащегося в пигментированных нейронах [15]. Это обстоятельство инициирует разви-

тие железоиндуцированного окислительного стресса и способствует деструктивным клеточным процессам, а также накоплению патологической формы альфа-синуклеина [16].

Таким образом, как при физиологическом старении, так и при БП плотность расположения ферритинсодержащей нейроглии в ЧВ увеличивается, но в отличие от физиологического старения при БП возрастание числа глиальных клеток, содержащих ферритин, свидетельствует не об адаптации структур головного мозга к избыточному накоплению железа, а о нарушении механизмов регуляции его метаболизма.

Заключение

Сравнительное морфометрическое исследование клеточных структур черного вещества головного мозга, проведенное на аутопсийном материале пациентов с болезнью Паркинсона и людей зрелого, пожилого и старческого возраста, у которых при жизни не выявляли неврологической симптоматики, позволило установить, что у последних плотность расположения Н- и L-ферритинсодержащей глии с возрастом увеличивалась. При болезни Паркинсона плотность расположения Н-ферритинсодержащей глии была статистически значимо выше, чем у людей зрелого, пожилого и старческого возраста без неврологической симптоматики, что, очевидно, связано с дисбалансом процессов накопления и окисления железа в этих клетках у данной категории пациентов. Показатель плотности расположения L-ферритинсодержащей глии при болезни Паркинсона был статистически значимо выше, чем у людей зрелого и пожилого возраста без неврологической симптоматики, но он существенно не отличался от аналогичного показателя у неврологически здоровых людей старческого возраста.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – В.Н. Сальков, В.С. Сухоруков.

Сбор и обработка материала – В.Н. Сальков, Д.Н. Воронков.

Написание текста – В.Н. Сальков, Д.Н. Воронков.

Редактирование – В.С. Сухоруков.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – V.N. Salkov, V.S. Sukhorukov.

Collected the data and performed the analysis – V.N. Salkov, D.N. Voronkov.

Wrote the paper – V.N. Salkov, D.N. Voronkov.

Edited the manuscript – V.S. Sukhorukov.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

1. *Соболев В.Б., Худоерков Р.М.* Роль альфа-синуклеина в нейродегенеративном процессе. Клиническая и экспериментальная морфология. 2019;8(3):5–12. DOI: 10.31088/CEM2019.8.3.5-12.

- Sobolev VB, Khudoerkov RM.* The role of alpha-sinuclein in the neurodegenerative process. *Clinical and experimental morphology.* 2019;8(3):5–12 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2019.8.3.5-12.
2. *Ершова М.В., Иванова Е.О., Иллариошкин С.Н.* Болезнь Паркинсона и нейротрофический гомеостаз. *Нервные болезни.* 2018;1:3–9. DOI: 10.24411/2071-5315-2018-11991.
Ershova MV, Ivanova EO, Illarioshkin SN. Parkinson's disease and neurotrophic homeostasis. *Nervnye bolezni = Nervous Diseases.* 2018;1:3–9 (In Russ.). DOI: 10.24411/2071-5315-2018-11991.
 3. World Health Organization. *World Health Statistics 2022.* Geneva: World Health Organization, 2022. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240051157> (accessed 10.08.2023).
 4. *Hare DJ, Double KL.* Iron and dopamine: a toxic couple. *Brain.* 2016;139(Pt. 4):1026–35. DOI: 10.1093/brain/aww022.
 5. *Zhang N, Yu X, Xie J, Xu H.* New insights into the role of ferritin in iron homeostasis and neurodegenerative diseases. *Mol Neurobiol.* 2021;58(6):2812–23. DOI: 10.1007/s12035-020-02277-7.
 6. *Riederer P, Monoranu C, Strobel S, Iordache T, Sian-Hülsmann J.* Iron as the concert master in the pathogenic orchestra playing in sporadic Parkinson's disease. *J Neural Transm (Vienna).* 2021;128(10):1577–98. DOI: 10.1007/s00702-021-02414-z.
 7. *Zucca FA, Segura-Aguilar J, Ferrari E, Muñoz P, Paris I, Sulzer D et al.* Interactions of iron, dopamine and neuromelanin pathways in brain aging and Parkinson's disease. *Prog Neurobiol.* 2017;155:96–119. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2015.09.012.
 8. *Snyder AM, Connor JR.* Iron, the substantia nigra and related neurological disorders. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1790(7):606–14. DOI: 10.1016/j.bbagen.2008.08.005.
 9. *Mann VM, Cooper JM, Daniel SE, Srai K, Jenner P, Marsden CD et al.* Complex I, iron, and ferritin in Parkinson's disease substantia nigra. *Ann Neurol.* 1994;36(6):876–81. DOI: 10.1002/ana.410360612.
 10. *Li K, Reichman H.* Role of iron in neurodegenerative diseases. *J Neural Transm.* 2016;123(4):389–99. DOI: 10.1007/s00702-016-1508-7.
 11. *de Farias CC, Maes M, Bonifacio KL, Matsumoto AK, Bortolasci CC, Nogueira AS et al.* Parkinson's disease is accompanied by intertwined alterations in iron metabolism and activated immune-inflammatory and oxidative stress pathways. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2017;16(4):484–91. DOI: 10.2174/1871527316666170223161004.
 12. *Zhang N, Yu X, Song L, Xiao Z, Xie J, Xu H.* Ferritin confers protection against iron-mediated neurotoxicity and ferroptosis through iron chelating mechanisms in MPP⁺-induced MES23.5 dopaminergic cells. *Free Radic Biol Med.* 2022;193(Pt. 2):751–63. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2022.11.018.
 13. *Koziorowski D, Friedman A, Arosio P, Santambrogio P, Dziejulska D.* ELISA reveals a difference in the structure of substantia nigra ferritin in Parkinson's disease and incidental Lewy body compared to control. *Parkinsonism Relat Disord.* 2007;13(4):214–8. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2006.10.002.
 14. *Ward RJ, Zucca FA, Duyn JH, Crichton RR, Zecca L.* The role of iron in brain ageing and neurodegenerative disorders. *Lancet Neurol.* 2014;13(10):1045–60. DOI: 10.1016/S1474-4422(14)70117-6.
 15. *Friedman A, Galazka-Friedman J.* The history of the research of iron in parkinsonian substantia nigra. *J Neural Transm (Vienna).* 2012;119(12):1507–10. DOI: 10.1007/s00702-012-0894-8.
 16. *Riederer P, Nagatsu T, Youdim MBH, Wulf M, Dijkstra JM, Sian-Huelsmann J.* Lewy bodies, iron, inflammation and neuromelanin: pathological aspects underlying Parkinson's disease. *J Neural Transm (Vienna).* 2023;130(5):627–46. DOI: 10.1007/s00702-023-02630-9.

Информация об авторах

Владимир Николаевич Сальков – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории нейроморфологии Научного центра неврологии.

Дмитрий Николаевич Воронков – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории нейроморфологии Научного центра неврологии.

Владимир Сергеевич Сухоруков – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией нейроморфологии Научного центра неврологии.

Author information

Vladimir N. Salkov – Dr. Sci. (Med.), Senior Researcher, Laboratory of Neuromorphology, Research Center of Neurology. <https://orcid.org/0000-0002-1580-0380>

Dmitry N. Voronkov – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Laboratory of Neuromorphology, Research Center of Neurology. <https://orcid.org/0000-0001-5222-5322>

Vladimir S. Sukhorukov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Laboratory of Neuromorphology, Research Center of Neurology. <https://orcid.org/0000-0002-0552-6939>