

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**На правах рукописи**

**АВДЕЕВ Дмитрий Борисович**

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ПОСТИШЕМИЧЕСКАЯ  
РЕОРГАНИЗАЦИЯ РАЗНЫХ ОТДЕЛОВ  
ГОЛОВНОГО МОЗГА  
(экспериментальное исследование)**

**1.5.22 – клеточная биология**

**ДИССЕРТАЦИЯ**

**на соискание ученой степени  
доктора биологических наук**

**Научный консультант:  
доктор медицинских наук, профессор  
Виктор Александрович Акулинин**

**Омск – 2023**

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	4
-----------------------	---

## ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

<b>Глава 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О МЕХАНИЗМАХ ПОВРЕЖДЕНИЯ, ЗАЩИТЫ, АДАПТАЦИИ И ВОССТАНОВЛЕНИЯ НЕРВНОЙ ТКАНИ</b> .....	15
1.1. Закономерности структурной-функциональной реорганизации нервной ткани головного мозга крыс после ишемического воздействия .....	15
1.2. Нейроглиальные взаимоотношения .....	26
1.3. Нейропластичность как основа компенсаторно-восстановительных изменений .....	39
1.4. Феномены пре- и посткондиционирования, анастаза, селективной чувствительности и устойчивость нервной ткани головного мозга к гипоксическим и ишемическим воздействиям .....	41
1.5. Плейотропность структурно-функциональных изменений нервной ткани в постишемическом периоде .....	43
1.6. Резюме .....	46

## СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

<b>Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b> .....	48
2.1. Дизайн исследования .....	48
2.2. Объект и предмет исследования .....	51
2.3. Методы исследования .....	53
2.4. Статистический анализ .....	58
<b>Глава 3. МОРФОЛОГИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПОСЛЕ ДВУСТОРОННЕЙ ОККЛЮЗИИ ОБЩИХ СОННЫХ АРТЕРИЙ</b> .....	61
3.1. Неокортекс, гиппокамп, миндалевидное тело головного мозга белых крыс в контроле и постишемическом периоде после 20- и 40-минутной двусторонней окклюзии общих сонных артерий .....	61
3.1.1. Особенности постишемической реорганизации нейро-глио-цитопархитектоники нервной ткани разных отделов головного мозга крыс после окклюзии общих сонных артерий .....	61
3.1.2. Проллиферативная активность клеток нейро-глио-сосудистых комплексов головного мозга белых крыс в постишемическом периоде .....	76

3.1.3. Тинкториальные свойства клеток нервной ткани и тёмные нейроны в аспекте нейроглиальных взаимоотношений после острой ишемии .....	80
3.1.4. Изменения пространственной организации астроцитов после окклюзии общих сонных артерий .....	89
3.1.5. Изменения ядерно-цитоплазматических отношений, образование гетеро- и дикарионов, нейронов с несколькими ядрышками как механизмы усиления адаптивного и репаративного потенциала после окклюзии общих сонных артерий .....	98
3.1.6. Иммуноцитохимическое исследование реорганизации структур межнейронной коммуникации в зависимости от продолжительности острой ишемии и отдела головного мозга .....	111
3.1.7. Феномен плеiotропности и нейропластичность после окклюзии общих сонных артерий .....	116
3.2. Неокортекс, гиппокамп, миндалевидное тело головного мозга белых крыс после односторонней 30-минутной окклюзии общих сонных артерий .....	124
<b>Глава 4. ОДНОСТОРОННЯЯ И ДВУСТОРОННЯЯ ОККЛЮЗИЯ ОБЩИХ СОННЫХ АРТЕРИЙ В СРАВНЕНИИ С ПОЛНОЙ ПЕРЕВЯЗКОЙ ОБЩИХ СОННЫХ АРТЕРИЙ .....</b>	<b>127</b>
4.1. Отёк-набухание как проявления гидропической дистрофии в контексте формирования тёмных нейронов и активации механизмов саногенеза в неокортексе после ишемии головного мозга .....	127
4.1.1. Морфометрические проявления де- и гипергидратации зубчатой фасции гиппокампа .....	136
4.1.2. Морфометрические проявления де- и гипергидратации полей СА <sub>1</sub> и СА <sub>3</sub> гиппокампа .....	146
4.1.3. Морфометрическая характеристика проявлений отёка-набухания миндалевидного тела .....	156
<b>Глава 5. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ .....</b>	<b>162</b>
<b>ВЫВОДЫ .....</b>	<b>177</b>
<b>ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ И ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ .....</b>	<b>180</b>
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ .....</b>	<b>182</b>
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ .....</b>	<b>234</b>

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность проблемы.** Ишемия головного мозга является основной причиной повреждения нейронов при инсультах, травмах, дегенеративных заболеваниях, а также причиной смерти пострадавших. В связи с этим в нейроморфологии активно разрабатывается направление изучения структурно-функциональных механизмов изменения нервной ткани в ответ на уменьшение поступления кислорода к клеткам головного мозга [Яковлев А.А., Гуляева Н.В., 2011; Чефранова Ж.Ю. и др., 2019; Turovskaya M.V. et al., 2020]. В частности, изучается реакция на экспериментальную ишемию в неокортексе, гиппокампе и миндалевидном теле (МТ) различных млекопитающих. От успешности реализации цели данного направления зависит появление новых концепций и разработка способов защиты нейронов при ишемии и в постишемическом периоде. По сути это связано с глобальными вопросами нейробиологии и перманентным пополнением научных данных и представлений о возможном спектре химических реакций нейронов и реорганизации межнейронных отношений в повреждённом головном мозге [Baron J.-C. et al., 2014; Orellana J.A. et al., 2014; Fluss J. et al., 2016; Sandvig I. et al., 2018; Sun C. et al., 2020].

В последнее время изменился тренд экспериментальных морфологических исследований – больше внимания стали уделять изучению феноменов нейропротекции, посткондиционирования и репаративного восстановления уже существующих нейронных сетей после ишемических и нейродегенеративных повреждений. Причина этого в том, что, по данным некоторых авторов, не исчерпана возможность восстановления и успешного протезирования функций уже имеющихся зрелых нейронов, эволюционно заложенных в нервной ткани. Кроме того, не увенчались успехом надежды на использование потенциала стволовых клеток в этом направлении.

С помощью трансплантации незрелых клеток пока не удаётся, и вряд ли удастся в ближайшее время, конструировать нормально функционирующие нейронные сети [Квачева З.Б. и др., 2005; Зайцев А.Ю., Брюховецкий А.С., 2007; Ратушняк М.Г. и др., 2021].

Разработка эффективных способов коррекции постишемических нарушений и дисфункций головного мозга является приоритетным направлением нейронаук. Оно базируется на комплексных иммуноцитохимических и морфометрических исследованиях, которые позволяют изучить и структуры, и

механизмы, активирующиеся после ишемии головного мозга [Острова И.В. и др., 2019; Lorente I.L. 2017].

Во многих случаях не удается установить четких границ между нормой и патологическими процессами, поэтому особое значение имеет изучение взаимосвязей нейронов, глиальных структур и микрососудов. Именно это позволяет понять структурные проявления процессов защиты, смерти и утилизации конкретной клетки [Zille M. et al., 2012]. В экспериментальных моделях изучены последствия влияния ишемии на нервные клетки головного мозга млекопитающих [Hu Z. et al., 2015]. Однако при этом преобладало изучение морфопатогенетических механизмов изменения нервной ткани в постишемическом периоде, а особенности реализации механизмов защиты и восстановления структурно-функциональной организации нервной ткани головного мозга менее изучены. Например, мало известно о роли тормозных нейронов, синапсов, реорганизации белоксинтетического аппарата (ядро, ядрышки, рибосомы), митохондрий, лизосомального аппарата, цитоскелета нейронов, роли астроцитов, олигодендроцитов и микроглиоцитов, гипергидратации и дегидратации. Слабо изучен феномен плейотропности структурных изменений [Яковлев А.А., Гуляева Н.В., 2015; Peña-Blanco A. et al., 2017; Zirpoli N. et al., 2020].

Таким образом, имеющиеся фундаментальные исследования и социальная значимость проблемы определяют актуальность исследования структуры нервной ткани и с точки зрения феноменов регенерации, адаптации, повреждения нервной системы к различным факторам. Знания в этой области позволят расширить понимание и возможности регуляции процессов восстановления нарушенных функций и повреждений нервной системы после ишемии головного мозга. Возникает необходимость реализации возможностей современных методических подходов к изучению данной проблемы в аспекте направления структуры нервной ткани. В связи с вышеизложенным были определены цель и задачи.

**Цель работы** – изучить закономерности и особенности структурно-функциональной реорганизации головного мозга при разной продолжительности и тяжести экспериментального ишемического поражения.

**Задачи исследования:**

1. Изучить общие закономерности и особенности морфологических изменений нейронов в разных отделах головного мозга после 30-минутной

односторонней и 20-, 40-минутной двусторонней ишемии у крыс после окклюзии общих сонных артерий.

2. Изучить изменения численной плотности и пространственной организации клеток нейроглии (астроцитов, олигодендроцитов, микроглиоцитов) в постишемическом периоде при помощи методов классического и фрактального морфометрического анализа.

3. Оценить динамику изменений нейроглиальных взаимоотношений в головном мозге после окклюзии общих сонных артерий.

4. Изучить экспрессию ферментов апоптоза (bcl-2, p53 и каспаза 3) в разных отделах головного мозга крыс в постишемическом периоде.

5. Исследовать динамику синаптической пластичности и микроструктурную организацию в разных отделах головного мозга после окклюзии общих сонных артерий.

6. Установить степень гидратации нервной ткани после окклюзии общих сонных артерий у крыс.

7. Выявить и изучить структуры головного мозга, в разной степени чувствительные к полной или неполной ишемии.

8. Оценить выраженность компенсаторно-приспособительных и репаративных процессов в головном мозге крыс после полной или неполной ишемии.

9. Сравнить выраженность структурной реорганизации нейроглии в разных полушариях головного мозга в постишемическом периоде.

10. Проанализировать характер и выраженность нейроглиальных взаимоотношений в головном мозге с позиций единого структурно-функционального комплекса, обеспечивающего защитные и санирующие эффекты в постишемическом периоде.

**Научная новизна исследования.** Установлены возможности использования для изучения повреждения, компенсации и восстановления структуры нервной ткани головного мозга белых крыс моделей с различной продолжительностью одно- и двусторонней окклюзии общих сонных артерий.

Впервые, в сравнительном аспекте, с помощью комплекса гистологических и иммуногистохимических методов установлены количественные и качественные изменения нейронов, микроглии, макроглии, а также получены новые данные о динамике изменения нейроглиальных взаимоотношений и их роли в восстановлении повреждённых нейронов сенсомоторной коры, гиппокампа и миндалевидное тело головного мозга белых крыс через 1, 3, 7, 14 и

30 сут после окклюзии общих сонных артерий и перевязки общих сонных артерий.

Впервые установлено, что после окклюзии общих сонных артерий каспаза 3 локализовалась преимущественно в аксонах и синаптических терминалях.

Впервые при проведении сравнительного иммуногистохимического исследования астроцитарных отростков при помощи глиального фибриллярного кислого белка и фрактального анализа получена новая информация о структурно-функциональном преобразовании и усложнении организации астроцитов. Установлено, что у крыс в постишемическом периоде происходит диффузно-очаговая реактивная пространственная реорганизация отростков астроцитов во всех изучаемых отделах, но особенно в субпиальной зоне и периваскулярных пространствах. Подобные изменения астроцитов трактуются как плейотропные, связанные с пато- и саногенетическими процессами.

Впервые показано, что после односторонней (правой и левой) окклюзии общих сонных артерий развиваются слабые и умеренные, а после двусторонней 40-минутной окклюзии общих сонных артерий умеренные и даже сильные мелкоочаговые структурно-функциональные изменения с появлением больших зон просветления нейропиля, выраженного периваскулярного и перинейронального отёка отростков астроцитов. Получены новые данные о структурно-функциональных изменениях зон максимальной яркости (отёка-набухания) на цветных изображениях при помощи плагина Find Foci.

Впервые после окклюзии общих сонных артерий с помощью комплекса иммуногистохимических и гистологических методов исследования показаны особенности реорганизации ядрышкового аппарата, образования ди- и гетерокарионов.

**Теоретическая и научно-практическая значимость.** Получены новые знания о структурно-функциональной реорганизации архи- и неокортекса головного мозга белых крыс в норме и после острой субтотальной глобальной ишемии, которые вносят вклад в понимание общих специфических и неспецифических реакций нервной ткани на реперфузию. Установлены адаптивные возможности, пути повышения толерантности нейронов к действию неблагоприятных факторов, а также прогнозирования исходов ишемии.

Полученные знания о повреждении и восстановлении нервной ткани могут быть использованы для решения задач регенеративной медицины и биологии. Подобные исследования феномена нейропластичности способствуют

разработке новых направлений биомедицинских технологий нейробиологического и неврологического направления.

**Методология и методы исследования.** Методологической основой данного экспериментально-морфологического исследования составляет сопоставление степени тяжести и динамический анализ микроструктурной организации экранных и ядерных центров головного мозга центральной нервной системы (ЦНС) млекопитающих, проведённое на серийных фронтальных срезах в норме и после субтотальной окклюзии общих сонных артерий различной продолжительности. В работе применён комплекс гистологических, иммуногистохимических и морфометрических методов, адекватный для исследования структурных элементов (нейроны, глиальные клетки, их отделы) головного мозга экспериментальных белых крыс Wistar с помощью светового микроскопа. Дана полная комплексная характеристика патологических и компенсаторно-восстановительных изменений головного мозга после различных ишемических воздействий.

#### **Основные положения диссертации, выносимые на защиту:**

1. В постишемическом периоде развиваются типовые дозозависимые патологические и компенсаторно-восстановительные процессы. После 20- и 30-минутной окклюзии общих сонных артерий превалирует смещение баланса в сторону активации репаративных процессов повреждённых нейронов. После 40-минутной окклюзии общих сонных артерий и перевязки общих сонных артерий отмечен срыв этих механизмов с увеличением содержания необратимо изменённых астроцитов и нейронов на фоне выраженных проявлений отёка-набухания.

2. В комплекс структурных компартментов адаптивного и репаративного потенциала головного мозга после окклюзии общих сонных артерий входят компоненты, связанные с гидратацией нервной ткани, синаптической пластичностью, образованием гетеро- и дикарионов, нейронов с несколькими ядрышками, пролиферацией и гипертрофией астроцитов, олигодендроцитов и микроглиоцитов. Наиболее наглядно это проявляется в неокортексе.

3. После окклюзии общих сонных артерий максимально используются все потенциальные биологические возможности для усиления нейропластичности. В синаптических компартментах увеличивается содержание ключевого фермента апоптоза каспазы 3, которое положительно коррелирует с содержанием в синаптических терминалях синаптофизина, связанного с транссинаптической передачей нервного импульса и синаптической пластичностью.



4. По данным классического и фрактального морфометрического анализа, после окклюзии общих сонных артерий происходит сначала частичная дистрофия и атрофия, а затем пространственная реорганизация отростков астроцитов и увеличение экспрессии GFAP (глиального фибриллярного кислого белка), что свидетельствует об активации астроцитарной глии. Реактивный астроцитоз, гипертрофия и пролиферация астроцитов, сопровождаются увеличением количества активных микроглиоцитов и олигодендроцитов, что наиболее активно происходит в пограничных зонах.

**Степень достоверности полученных результатов исследования.** Достоверность полученных данных обусловлена достаточным количеством экспериментальных животных ( $n=264$ ), а также репрезентативным подбором необходимого количества полей зрения и зон интересов для морфометрического анализа. Статистический анализ проведён с использованием непараметрических методов, учтены поправки на множественность сравнений. Применены стандартные алгоритмы получения количественных данных. Обоснованность применения и точность измерения характеристик изучаемых структур обусловлены возможностями программ ImageJ 1.46-1.53, Photoshop, Statistica 8.0.

**Внедрение результатов работы.** Основные разделы, данные, теоретические положения, разработанные на их основе, практические рекомендации настоящего исследования внедрены в процесс преподавания на кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России в курсе изучения вопросов морфологии и функционирования нервной ткани, органов ЦНС млекопитающих в условиях нормы и при диффузно-очаговых ишемических повреждениях.

**Апробация работы.** Основные положения диссертации доложены на 47th Annual meeting, NEUROSCIENCE (Washington, 2017); научной конференции, посвящённой 145-летию со дня рождения В.Н. Шевкуненко (Санкт-Петербург, 2017); Всероссийская конференция с международным участием «Жизнеобеспечение при критических состояниях» (Москва, 2018); XIV Конгрессе Международной ассоциации морфологов (Астрахань, 2018); VIII съезде научного медицинского общества анатомов, гистологов и эмбриологов (Воронеж, 2019); XV конгрессе Международной ассоциации морфологов (Ханты-Мансийск, 2020); Национальной научно-практической онлайн-конференции факультета ветеринарной медицины ИВМиБ ФГБОУ ВО Омский ГАУ (Омск, 2020); Всероссийской научной конференции с международным участием

«Регенеративная биология и медицина» (Москва, 2021); Всероссийской конференции с международным участием «Жизнеобеспечение при критических состояниях» (Москва, 2021); на расширенном заседании кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Омского государственного медицинского университета» (Омск, 2023).

Представленные в диссертации результаты связаны с научно-исследовательской работой по внутреннему гранту ОмГМУ (приказ № 654-о от 21.12.2017 г.).

**Публикация результатов исследования.** По теме диссертации опубликованы 38 работ, в том числе 20 статей в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для публикации материалов диссертационных работ и входящих в международные реферативные базы данных, 1 патент и 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ:

1. Степанов А.С., Акулинин В.А., Степанов С.С., **Авдеев Д.Б.** Клеточные системы восстановления и утилизации повреждённых нейронов головного мозга белых крыс после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий // **Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.** - 2017. - Т. 103, № 10. - С. 1135-1147. **Международная реферативная база данных СА(pt)**

2. Степанов А.С., Акулинин В.А., Мыщик А.В., Степанов С.С., Авдеев Д.Б. Нейро-глио-сосудистые комплексы головного мозга после острой ишемии // **Общая реаниматология.** – 2017. – Т. 13, № 6. – С. 6-17. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2017-6-6-17> **Международная реферативная база данных Scopus**

3. Akulinin V., Mytsik A., Stepanov A., **Avdееv D.**, Stepanov S., Sergeev A. The structural & functional reorganization of neuro-glio-vascular complexes of the perifocal zones in focal damage of the human neocortex // 47-th Annual Meeting Neuroscience book of abstracts. 11-15 ноября 2017. 201.02 S

4. Акулинин В.А., Степанов С.С., **Авдеев Д.Б.**, Степанов А.С., Разумовский В.С., Артюхов А.В., Горбунова А.В. Особенности изменений неокортекса, архикортекса и миндалевидного тела белых крыс после острой ишемии // **Журнал анатомии и гистопатологии.** – 2018. – Т. 7, № 2. – С. 9–17.

5. Степанов А.С., Акулинин В.А., **Авдеев Д.Б.**, Горбунова А.В. Функциональная и пролиферативная активность клеток нейро-глио-сосудистых комплексов сенсомоторной коры, гиппокампа и миндалевидного тела головного мозга белых крыс в раннем постишемическом периоде // **Журнал анатомии и гистопатологии.** – 2018. – Т. 7, № 2. – С. 85–89.

6. Степанов А.С., **Авдеев Д.Б.**, Акулинин В.А., Степанов С.С. Структурно-функциональные изменения нейронов неокортекса белых крыс после 20-минутной окклюзии

общих сонных артерий // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2018. – Т. 62, № 2. – С. 30-38. DOI: 10.25557/0031-2991.2018.02.30-38

7. Акулинин В.А., Степанов А.С., **Авдеев Д.Б.** Особенности повреждения и восстановления ядерных и экранных центров головного мозга после острой транзиторной ишемии // **Морфология.** – 2018. – Т. 153, № 3. – С. 13-14.

8. Степанов А.С., Акулинин В.А., Степанов С.С., **Авдеев Д.Б.**, Горбунова А.В. Коммуникация нейронов поля СА3 гиппокампа головного мозга белых крыс после острой ишемии // **Общая реаниматология.** – 2018. – Т. 14, № 5. – С. 38–49. DOI: 10.15360/1813-9779-2018-5-38-49 **Международная реферативная база данных Scopus**

9. **Авдеев Д.Б.**, Акулинин В.А., Степанов А.С., Горбунова А.В., Степанов С.С. Плейотропные ферменты апоптоза и синаптическая пластичность гиппокампа белых крыс после окклюзии общих сонных артерий // Сибирский медицинский журнал. – 2018. – Т. 33, № 3. – С. 102–110. DOI: 10.29001/2073-8552-2018-33-3-102-110

10. Степанов С.С., Акулинин В.А., **Авдеев Д.Б.**, Степанов А.С., Горбунова А.В. Структурно-функциональная реорганизация ядрышкового аппарата нейронов неокортекса, архикортекса и базальных ганглиев головного мозга белых крыс после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий // **Журнал анатомии и гистопатологии.** – 2018. – Т. 7, № 4. – С. 67–74.

11. Степанов А.С., Акулинин В.А., **Авдеев Д.Б.**, Горбунова А.В. Плейотропность каспазы-3, её возможная роль в адаптационных и восстановительных процессах нервной ткани головного мозга в период реперфузии // Всероссийская конференция с международным участием «Жизнеобеспечение при критических состояниях». – Москва, 2018. – С. 103–104.

12. Степанов С.С., Акулинин В.А., **Авдеев Д.Б.**, Степанов А.С., Горбунова А.В. Реорганизация астроцитов неокортекса белых крыс после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий // **Российский физиологический журнал имени И.М. Сеченова.** – 2019. – Т. 105, № 5. - С. 578–590. DOI:10.1134/S086981391905011X **Международная реферативная база данных СА(pt)**

13. Акулинин В.А., **Авдеев Д.Б.**, Степанов А.С., Горбунова А.В. Синаптическая пластичность и ферменты апоптоза // **Морфология.** – 2019. – Т. 155, № 2. – С. 12.

14. Stepanov A.S., Akulinin V.A., Stepanov S.S., **Avdeev D.B.** Methodological features of the morphometric characterization of the synaptoarchitectonics of the human neocortex by immunofluorescent detection of neuromodulin // **Neuroscience and Behavioral Physiology.** – 2019. – Vol. 49, No 1. – P. 103-108. DOI 10.1007/s11055-018-0701-6. **Международная реферативная база данных Scopus**

15. **Авдеев Д.Б.**, Степанов С.С., Акулинин В.А., Степанов А.С., Шоронова А.Ю., Самсонов А.А. Реорганизация астроцитов гиппокампа белых крыс после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2019. – Т. 63, № 4. – С. 13–22. DOI: 10.25557/0031-2991.2019.04.13-22

16. **Авдеев Д.Б.**, Степанов С.С., Горбунова А.В., Акулинин В.А., Шоронова А.Ю.

Иммуногистохимические проявления апоптоза и нейропластичности коры головного мозга белых крыс после окклюзии общих сонных артерий // **Морфология.** - 2019. - Т. 156, № 6. – С. 19-24.

17. Горбунова А.В., **Авдеев Д.Б.**, Степанов С.С., Акулинин В.А., Степанов А.С., Шоронова А.Ю., Самсонов А.А. Глиоцитоархитектоника зубчатой фасции и поля СА4 гиппокампа головного мозга белых крыс после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий // **Общая реаниматология.** – 2019. – Т. 15, № 6. – С. 26–37. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-6-26-37 **Международная реферативная база данных Scopus**

18. Akulinin V.A., **Avdeev D.B.**, Stepanov A.S., Gorbunova A.V., Stepanov S.S., Tsuskman I.G. Cytoarchitectonic features of the neocortex, archicortex and amygdala of white rats after a 20-minute occlusion of the common carotid arteries // **Bulletin of Siberian Medicine.** – 2019. – Vol. 18, No 4. – P. 7-15. DOI 10.20538/1682-0363-2019-4-7-15. **Международная реферативная база данных Scopus**

19. **Авдеев Д.Б.**, Степанов С.С., Акулинин В.А., Шоронова А.Ю., Макарьева Л.М., Цускман И.Г. **Свидетельство о государственной регистрации программы** для ЭВМ №2019666200 «Neuropat 1.0. Определение степени ишемии нервной ткани по снимкам гистологических препаратов». Дата регистрации – 06 декабря 2019 г.

20. **Авдеев Д.Б.**, Горбунова А.В., Шоронова А.Ю., Акулинин В.А. Единство утилизации и нейропластичности повреждённых нейронов после острой ишемии головного мозга // **Морфология.** – 2020. – Т. 157, № 2-3. – С. 8-9.

21. **Авдеев Д.Б.**, Акулинин В.А., Коржук М.С., Заболотных М.В. Естественные системы защиты повреждённых нейронов после острой ишемии головного мозга // **Актуальные проблемы ветеринарной науки и практики: Материалы национальной научно-практической онлайн-конференции факультета ветеринарной медицины ИВМиБ ФГБОУ ВО Омский ГАУ.** – Омск: ФГБОУ ВО Омский ГАУ, 2020. – С. 64-67.

22. Горбунова А.В., Кошман И.П., Шоронова А.Ю., **Авдеев Д.Б.**, Акулинин В.А., Степанов С.С., Степанов А.С., Макарьева Л.М., Коржук М.С. Сравнительная характеристика структурно-функциональных изменений поля СА3 гиппокампа после острой ишемии и травмы головного мозга белых крыс // **Журнал анатомии и гистопатологии.** – 2020. – Т. 9, № 4. – С. 19–30. DOI: 10.18499/2225-7357-2020-9-4-19-30

23. Степанов С.С., Кошман И.П., Шоронова А.Ю., Калиничев А.Г., Акулинин В.А., Степанов А.С., **Авдеев Д.Б.**, Маркелова М.В. Структурные основы изменения межнейронной коммуникации нейронов поля СА3 гиппокампа белых крыс после тяжёлой черепно-мозговой травмы // **Патологическая физиология и экспериментальная терапия.** – 2021. – Т. 65, № 1. – С. 22–34. DOI: 10.25557/0031-2991.2021.01.22-34

24. **Avdeev D.B.**, Stepanov S.S., Gorbunova A.V., Akulinin V.A., Shoronova A.Y. Immunohistochemical Signs of Apoptosis and Neuroplasticity in the Cerebral Cortex of White Rats after Occlusion of the Common Carotid Arteries // **Neuroscience and Behavioral Physiology.** – 2020. – Vol. 50, No 6. – P. 804-809. DOI 10.1007/s11055-020-00969-0. **Международная реферативная база данных Scopus**

25. **Патент на изобретение № 2731649** «Способ оценки степени влияния экспериментальной ишемии на нервную ткань головного мозга белых крыс при окрашивании препаратов гематоксилином и эозином». Дата регистрации – 07 сентября 2020 г.

26. **Авдеев Д.Б.**, Акулинин В.А., Степанов С.С., Шоронова А.Ю., Макарьева Л.М., Горбунова А.В., Коржук М.С., Маркелова М.В. Влияние окклюзии общих сонных артерий на двуядерные клеточные образования сенсомоторной коры большого мозга крыс // **Общая реаниматология.** – 2021. – Т. 17, № 2. – С. 55-71. DOI: 10.15360/1813-9779-2021-2-55-71 **Международная реферативная база данных Scopus**

27. **Авдеев Д.Б.**, Степанов С.С., Горбунова А.В., Шоронова А.Ю., Макарьева Л.М., Акулинин В.А., Коржук М.С., Заболотных М.В. Темные нейроны сенсомоторной коры белых крыс после острой неполной ишемии в аспекте артефактов фиксации и нейроглиальных взаимоотношений // **Журнал анатомии и гистопатологии.** – 2021. – Т. 10, № 2. – С. 9-22. DOI: 10.18499/2225-7357-2021-10-2-9-22

28. Горбунова А.В., Акулинин В.А., Степанов С.С., **Авдеев Д.Б.**, Шоронова А.Ю., Макарьева Л.М., Коржук М.С. Закономерности реорганизации нейроглиальных взаимоотношений в гиппокампальной формации белых крыс после кратковременной окклюзии общих сонных артерий // *Children's Medicine of the North-West.* – 2021. – Т. 9, № 1. – С. 434.

29. **Авдеев Д.Б.**, Акулинин В.А., Горбунова А.В., Степанов С.С., Шоронова А.Ю., Макарьева Л.М., Кучерук А.Н., Коржук М.С. Отек-набухание как стандартная дозозависимая реакция зубчатой извилины гиппокампальной формации на острую ишемию // **Журнал анатомии и гистопатологии.** – 2021. – Т. 10, № 3. – С. 15-26. DOI: 10.18499/2225-7357-2021-10-3-15-26

30. Горбунова А.В., **Авдеев Д.Б.**, Степанов С.С., Шоронова А.Ю., Акулинин В.А., Макарьева Л.М. Закономерности реорганизации нейроглиальных взаимоотношений в гиппокампальной формации белых крыс после кратковременной окклюзии общих сонных артерий // *Forcipe.* – 2021. – Т. 4, № 2. – С. 26-34.

31. Степанов С.С., **Авдеев Д.Б.**, Акулинин В.А., Шоронова А.Ю., Макарьева Л.М., Коржук М.С. Проявление отека-набухания сенсомоторной коры большого мозга крыс в зависимости от длительности окклюзии общих сонных артерий (морфометрическое исследование) // **Общая реаниматология.** – 2021. – Т. 17, № 5. – С. 111-128. DOI: 10.15360/1813-9779-2021-5-111-128 **Международная реферативная база данных Scopus**

32. Горбунова А.В., Степанов С.С., Акулинин В.А., **Авдеев Д.Б.**, Шоронова А.Ю., Макарьева Л.М., Конев В.П. Гидропическая дистрофия сенсомоторной коры белых крыс в контексте формирования темных нейронов и изменения нейроглиальных взаимоотношений после краткосрочной окклюзии общих сонных артерий // *Journal of Siberian Medical Sciences.* – 2021. – № 3. – С. 66-81. DOI 10.31549/2542-1174-2021-3-66-81

33. Макарьева Л.М., **Авдеев Д.Б.**, Акулинин В.А., Степанов С.С., Коржук М.С., Шоронова А.Ю. Проявления гипер- и дегидратации нервной ткани полей СА1 и СА3 гиппокампа после непродолжительной окклюзии и пережатия общих сонных артерий //

Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2022. – Т. 66, № 1. – С. 17-27.  
DOI: 10.25557/0031-2991.2022.01.17-27

34. Макарьева Л.М., Акулинин В.А., Степанов С.С., Шоронова А.Ю., **Авдеев Д.Б.**, Коржук М.С. Морфологическое и морфометрическое описание нейронов сенсомоторной коры головного мозга крыс после перевязки общих сонных артерий // **Журнал анатомии и гистопатологии.** – 2022. – Т. 11, № 1. – С. 49-58. DOI: 10.18499/2225-7357-2022-11-1-49-58

35. Степанов А.С., Акулинин В.А., **Авдеев Д.Б.** Роль нейроглии в защите, восстановлении и утилизации поврежденных нейронов головного мозга белых крыс после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий // Научная конференция морфологических кафедр Санкт-Петербурга, посвященная 145-летию со дня рождения В.Н. Шевкуненко «Методология научно-исследовательской работы кафедр морфологического профиля». Вестник Российской Военно-Медицинской Академии. – 2017. – № S3. – С. 140.

36. **Авдеев Д.Б.**, Акулинин В.А., Шоронова А.Ю., Горбунова А.В., Макарьева Л.М. Двухядерные клеточные образования сенсомоторной коры большого мозга половозрелых белых крыс после 40-минутной окклюзии общих сонных артерий // Сборник научных трудов всероссийской научной конференции с международным участием «Регенеративная биология и медицина» – Москва, 2021. – С. 20-21.

37. **Авдеев Д.Б.**, Степанов С.С., Акулинин В.А., Шоронова А.Ю., Макарьева Л.М., Коржук М.С. Характеристика проявлений отёка-набухания коры головного мозга половозрелых белых крыс после ишемии // Сборник тезисов XXIII Всероссийской конференции с международным участием «Жизнеобеспечение при критических состояниях». – Москва, 2021. – С. 18-19.

38. **Авдеев Д.Б.** Сравнительная морфометрическая характеристика проявлений отёка-набухания миндалевидного тела половозрелых белых крыс после 20-, 30-, 40-минутной окклюзии общих сонных артерий // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2022. – Т. 66, № 2. – С. 18-27. DOI: 10.25557/0031-2991.2022.02.18-27

**Личный вклад автора в проведенное исследование.** Автором самостоятельно предложена основная идея научно-исследовательской работы, определены направление, цель и задачи. Представленные научные данные, составившие основное содержание глав диссертации, получены автором самостоятельно или при его непосредственном участии. Анализ собственных результатов, статистическая обработка, подготовка научных статей, тезисов и докладов (на всероссийских и международных конференциях) по полученным материалам были выполнены автором лично.

Автор выражает признательность за помощь в проведении исследования сотрудникам кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии и руководителям Омского государственного медицинского университета.

## ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### Глава 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О МЕХАНИЗМАХ ПОВРЕЖДЕНИЯ, ЗАЩИТЫ, АДАПТАЦИИ И ВОССТАНОВЛЕНИЯ НЕРВНОЙ ТКАНИ

#### 1.1. Закономерности структурно-функциональной реорганизации нервной ткани головного мозга крыс после ишемического воздействия

Гистоморфологические аспекты функционирования всех отделов головного мозга белой крысы в норме разрабатываются в течение последних 60 лет [Светухина В.М., 1962; Чиженкова Р.А., 1986; Оленев С.Н., 1987; Обухов Д.К., 2009; Трушель Н.А., 2009; Paxinos G., Watson C., 2005]. Проанализированы и изучены различные практические подходы к нейроанатомической идентификации нервных клеток [Jordan W.H. et al., 2011] и к их топографической организации [Mayhew T.M., 1979; Weibel E.R., 1979].

Вопросами ишемического повреждения головного мозга с точки зрения морфологии занимались многие зарубежные и отечественные исследователи [Коржевский Д.Э. и др., 2007; Семченко В.В. и др., 2008; Шляхто Е.В. и др., 2012; Дробленков, А.В. и др. 2013; Рева И.В. и др., 2016; Баширова А.Р. и др., 2020; Бонь Е.И. и др., 2020; Janardhan V., Qureshi A.I., 2004; Doyle K.P. et al., 2008; Chavez J.C. et al., 2009; Hagberg H. et al., 2009; Ferriero D.M., Miller S.P., 2010; Niizuma K. et al., 2010; Pandya R.S. et al., 2011; Schweizer S. et al., 2013; Shichita T. et al., 2014; Granger D.N., Kvietys P.R., 2015; Kawabori M., Yenari M.A., 2015; Cuartero M.I. et al., 2016; Quillinan N. et al., 2016; Thornton C. et al., 2017; Soontornniyomkij V. et al., 2020].

Результаты изучения постишемического разрушения и репарации нейронов, нейроглии ЦНС белых крыс при разнообразных экспериментах по снижению кровообращения суммированы и проанализированы в разных тематических литературных обзорах и научных трудах [Back T. et al., 2004; Galluzzi L. et al., 2009; Merino J.G., Warach S., 2010; Bahmani P. et al., 2011; Zille M. et al., 2012; Saab A.S. et. al., 2013; Burda J.E., Sofroniew M.V., 2014; Zuchero J.B., Barres B.A., 2015].

С помощью некоторых исследований установлено, что степень ишемической патологии не всегда коррелирует со степенью тяжести неврологических проявлений, причём неврологические повреждения нередко проявляются

более яркой картиной, чем изменения структуры [Шмонин А.А., 2011; Дайнеко А.С. и др., 2014; Shmonin A.A. et al., 2012].

В результате многолетних многодисциплинарных исследований ишемического повреждения головного мозга [Максимович Н.Е., 2004; Chalmers G.R. et al., 1992; White B.C. et al., 2000; Arundine M. et al., 2004; Chan P.H., 2004; Chen H. et al., 2005; Нео С.Н. et al., 2018] получены данные о том, что кратковременная ишемия головного мозга ведёт к глубоким нарушениям нервной ткани.

Установлено, что признаки разрушения нейронов при ишемии головного мозга обнаруживаются уже спустя 2 минуты после снижения энергообразования [Chalmers G.R. et al., 1992; Zavodnik I.V. et al., 2013], нарушения транспорта ионов, изменения кислотного состояния и нитрозативного стресса [Sacco S.E. et al., 1991; White B.C. et al., 2000].

Показано, что при недостатке кислорода всех отделов головного мозга одним из звеньев патогенеза является энергодефицит, а также увеличение продуктов метаболизма в различных зонах ишемии нервной ткани, что ведёт к уменьшению неотделимых нейропластических процессов, перестройке объёмов нейроцитов и интенсивности окрашивания структур цитоплазмы [White B.C. et al., 2000].

Существуют данные, что при острой гипоксии при пониженном содержании кислорода морфологические изменения нейронов обычно более выражены, чем при долгой хронической форме [Ryosuke M.D. et al., 2002].

К альтерации эндогенных нервных процессов приводит дисбаланс биогенных аминов и уровня нейромедиаторов в структурах мозга, что в качестве патогенных факторов определяет степень тяжести ишемического повреждения [Романова Г.А., 2002; Романова Г.А. и др., 2002; Бонь Е.И. и др., 2018; Бонь Е.И. и др., 2019].

В ряде работ по изучению структуры коры головного мозга белых крыс после ООСА показано, данное состояние не сопровождается появлением крупных очагов необратимого повреждения [Семченко В.В. и др., 2014; Nudo R.J. 2003; Lopez M.S., Vemuganti R., 2018; Вавилова В.А., Гуцин Я.А., 2019; Gennaro M. et al., 2019].

Кора больших полушарий – одна из структур ЦНС, отвечающая за сложные формы поведения, по филогенетическому возрасту она разделяется на неокортекс, или новую кору (фронтальная, париетальная, темпоральная и окципитальная кора), архикортекс (кора обонятельных бугорков) и палеокортекс



(грушевидная кора, миндалина, зубчатая извилина и гиппокамп) [Арушанян Э.Б., Бейер Э.В., 2007; Бонь Е.И. и др., 2018; Raven F. et al., 2018].

Важность изучения именно гиппокампальной формации обусловлена её участием в ключевых функциях головного мозга – когнитивные, память, эмоции, ориентация в пространстве [Spitz G. et al., 2003; Salmond CH. et al., 2005]. Фундаментальная нейроанатомическая организация гиппокампальной формации хорошо изучена. Гиппокампальная формация включает в себя зубчатую извилину (зубчатая фасция – ЗФ, dentate gyrus), субикулум, а также парасубикулум, пресубикулум и энторинальную кору (которые представляют из себя парагиппокамповую область) [Amaral DG. et al., 2007; Ramachandran VS., 2012; Schultz C, Engelhardt M., 2014]. ЗФ обеспечивает основной вход сенсорной информации от энторинальной коры в гиппокампальной формации, осуществляя первый этап обработки, и передаёт результат в поле CA<sub>3</sub>, а затем в CA<sub>1</sub> [Amaral DG. et al., 2007].

Проведённые исследования [Фрумкина Л.Е. и др., 2018] показывают, что могут происходить и обнаруживаться усложнённые аксодендритные и аксошипиковые синапсы и гигантские митохондрии через 24 ч после внутривенного введения гомологичной внеклеточной ДНК. Все пластические компенсаторные восстановительные перестройки происходят и показаны на ультраструктуре III–V слоя нейропиле теменно-височной области коры крыс.

По современному представлению, изменения нейронных сетей после ишемии коры головного мозга являются причиной многих нарушений. Часто обращают внимание на повреждения магистральных артерий головного мозга [Гусев Е. И. и др., 2013; Семченко В.В. и др., 2014; Wehman, J.C. et al., 2004; Nguyen-Huynh M.N. et al., 2005]. Имеются исследования, в которых анализировалось структурное функциональное состояние нервной ткани коры головного мозга при полной, неполной, локальной и тотальной транзиторной ишемии сосудистого фактора [Шертаев М.М. и др., 2015; Lipton P. 1999; Back T. et al., 2004]. Есть работы, посвящённые изучению коры головного мозга белых крыс после пережатия общих сонных артерий [Nudo, R.J., 2003]. Однако морфологические пространственно-временные механизмы реорганизации нервной ткани коры головного мозга в период пережатия во многом остаются неясными [Winkelmann E.R. et al., 2006; Zille M. et al., 2012]. Изучается ультраструктура различных изменений нейронов, что ведёт к пониманию причины гибели конкретной клетки от некроза или от апоптоза [Zille M. et al., 2012].

Для выявления различных этапов постишемической апоптозной и некротической трансформации ядра используют окраска DAPI [Ullah I. et al., 2012], которая даёт информацию о пространственном и структурном распределении ДНК в ядре и степени её конденсации.

Поиск биологических маркеров нарушения функции нейронов, а также разработка новых технологий коррекции защитных постишемических нарушений функций мозга являются приоритетными направлениями современной науки [Острова И.В. и др., 2019; Huang L. et al., 2014; Failla M.D. et al., 2016; Lorente I.L., 2017]. К внутренним нейропротективным относятся секретлируемые белки (нейротрофины). Они имеют большую роль в функционировании структур нервной системы, а также в механизмах эндогенной пластичности [Крыжановская С.Ю. и др., 2020]. Одним из представителей этого семейства нейротропных факторов является мозговой нейротрофический фактор. Он считается одним из медиаторов восстановления нейронов [Chen A.I. et al., 2013; Gray J.D. et al., 2013; Kimura A. et al., 2016].

Ишемия головного мозга является одной из наиболее распространённых неврологических патологий, когда остановка кровотока может привести к серьёзным нарушениям жизнедеятельности. Если своевременно принять меры, то возможно восстановление нервной ткани мозга с сохранением функций [Савченко Е.С. и др., 2016; Candelario-Jalil, 2009].

При изучении ишемии мозга большое значение уделяется всем компонентам клеток, например, ядрышку. Его структурно-функциональная организация хорошо изучена [Fedorova E. et al., 2008; Richter K. et al., 2008; Yang S., 2008]. Функциональная активность ядрышка коррелирует с активностью других составляющих синтетического аппарата клетки [Ходюченко Т.А. и др., 2014; Morris G.E., 2008; Voss T.C. et al., 2008]. Имеются исследования роли ядрышка и при патологических процессах в нервной системе [Шевцов, В.И. и др., 2005; Зиматкин С.М. и др., 2017; Зиматкин С.М., Бонь Е.И., 2019; Kriehoff-Henning E. et al., 2008; Woulfe J., 2008].

В большинстве случаев гипертрофия ядрышка, а также приближение ядрышка к ядерной оболочке свидетельствуют о восстановительных процессах. Реакция Перлса позволяет выявить накопление железа в ядрышке нейрона и, если концентрация оказывается высокой, то это говорит о повреждении нервных клеток. При помощи окраски по Нисслию можно обнаружить хроматолиз, что наблюдается в основном при обратимых повреждениях нервной клетки, а

также смещение к периферии ядра клетки, что свидетельствует о повреждении аксонов нервных клеток. При гиперхромии отмечается уменьшение объёма цитоплазмы и клеточного ядра, что сопровождается сморщиванием клетки [Сухорукова Е.Г. и др., 2012; Коржевский Д.Э. и др., 2013; Коржевский Д.Э. и др., 2015].

Получены результаты изменения структуры ядрышка и его белков (нуклеофосмин, тельца Кахаля и AgNOR) в нейронах головного мозга человека при нейроденерации [Гусельникова В.В. и др., 2020]. Показано, что при гипобарической гипоксии уровни метилирования гистона H3 по Lys4 (meH3K4), по Lys9 (meH3K9) и ДНК (meDNA) различаются в нейронах коры головного мозга и гиппокампе у крыс, но уровень метилирования в новой эволюционирующей части коры возвращаются к исходному уровню вне зависимости от сеансов ПостК [Ветровой О.В. и др., 2019].

До сих пор наиболее актуальным и сложным вопросом является причина образования «тёмных нейронов», которые могут быть как результатом прижизненных дегенеративных изменений в ответ на патологическое воздействие, так и артефактами забора материала даже при перфузионной фиксации контрольного интактного головного мозга [Jortner B.S., 2011].

Например, количественные изменения тёмных нейронов в головном мозге могут свидетельствовать о влиянии хирургического стресса при моделировании септопластики на изменения цитоархитектоники в различных отделах гиппокампа [Торшин В.И. и др., 2020].

По литературным данным, «тёмные» сморщенные гиперхромные нейроны отражают разные функциональные состояния и делятся на три типа [Попова Э.Н., 2010; Galiyas F. et al., 2009]. Первый тип нейронов в цитоплазме содержит расширение многих внутриклеточных структур (эндоплазматическая сеть, митохондрии и т.д.). Второй тип нейронов приобретает неправильную форму за счёт накопления мелкогранулярного вещества, а в третьем типе происходит повреждение органелл. Имеются тёмные нейроны с хромофилией и необходимым запасом белка, но не отличающиеся от нормохромных нейронов по размеру. Крайняя степень изменения – сморщенные штопорообразные нейроны с ядрами – отчётливо отличается от нормальных нейронов [Емельянчик С.В., Зиматкин С.М., 2011, 2012].

При окклюзии средней мозговой артерии у крыс тёмные сморщенные нейроны выявлены во многих структурах головного мозга с характерными

изменёнными сморщенными клетками и расцениваются как ишемические. При субтотальной ишемии мозга при двустороннем пережатии общих сонных артерий во фронтальной коре мозга значительно возрастает число тёмных и тёмных сморщенных нейронов [Черкасова Л.В., Давлетчикова Р.Ф., 1988; Рукан Т.А. и др., 2012; Мартынова О.В. и др., 2016; Czurko A., Nishino H., 1993].

Установлено, что внутри тёмных клеток происходит накопление базофильного вещества с приостановкой активности метаболизма [Einarson L., Krogh E., 1955]. Другие авторы считают, с точки зрения морфологии, что наоборот происходит процесс защиты [Попова Э.Н. и др., 1976; Орловская Д.Д., Клешинов В.Н., 1986]. Показано, как может меняться через несколько стадий нормохромный нейрон от набухания до хромофилии [Клосовский Б.Н., Космарская Е.Н., 1961]. Отдельные структуры нейронов могут быть подвержены гиперхромии [Попова Э.Н. и др., 1976].

Некоторые авторы считают, что процесс активности и амплификации тёмных нейронов зависит от транслокации синтезированной РНК из ядра в цитоплазму [Рублева З.Я. и др., 1977]. Другие авторы показали, что сморщенные нейроны могут быть с признаками низкой гидропической активности, что приводит к коагуляции [Калиниченко С.Г., Матвеева Н.Ю., 2007]. Отмечаются приспособительные возможности данных клеток [Ярыгин Н.Е., Ярыгин В.Н., 1973; Gallyas F., 2007]. Показано, что в гиперхромных нейронах происходит увеличение числа свободных рибосом, и это ведёт к снижению синтеза белка, и, вероятно, приводит к срыву адаптации нервной ткани коры головного мозга [Зиматкин С.М., Бонь Е.И., 2016].

Сморщивание гиперхромных нейронов относят также к расстройству питания, патологическому состоянию, некробиотическим процессам, состоянию физиологической дегенерации [Снесарев А.Е., 1950; Жаботинский Ю.М., 1965; Ермохин П.Н., 1969; Войно-Ясенецкий М.В., Жаботинский Ю.М., 1970; Ионтов А.С, Шефер В.Ф., 1981; Попова Э.Н., 1984; Коржевский Д.Э. и др., 2015]. Согласно современным литературным данным, жизненный цикл и судьба гиперхромных нейронов могут происходить по-разному. В одних случаях нейроны восстанавливаются до нормохромных, в других – переходят к программируемой клеточной гибели [Волянский Ю.Л. и др., 1994; Зенков Н.К. и др., 1999; Калимуллина Л.Б., 2002]. Также тёмные нейроны могут не восстанавливаться из-за блокирования функции митохондрий, что отрицательно влияет на нейроны [Gallyas F. et al., 2006].

Проведённые исследования показывают, что нейральный маркер Fox3 (neuronal nuclear antigen – ядерный антиген нейронов) в тёмных гиперхромных нейронах свидетельствует о том, это может быть предвестником дальнейшего развития нейродегенерации нейронов [Васильев Д.С. и др., 2013], а по другим данным, ядерный белок neuronal nuclear antigen исчезает из повреждённых и погибающих пирамидных нейронов гиппокампа [Коржевский Д.Э. и др., 2006].

По данным ультраструктурных исследований [Kövesdi E. et al., 2007; Gallyas F. et al., 2009; Garman R.H., 2011; Soontornniyomkij V. et al., 2020], отличительной особенностью начальных изменений всех типов тёмных нейронов является уплотнение элементов и структур в области перикариона и дендритов.

Современные исследования [Ooigawa H. et al., 2006; Ahmadpour S. et al., 2019] свидетельствуют о том, что тёмные нейроны при умеренных воздействиях отражают обратимый динамический процесс без признаков дегенеративных патологий, а вот когнитивные функции нужно ещё будет дополнительно исследовать.

До конца не изучены также особенности глиальных реакций на формирование патологических тёмных нейронов. Однако с большой уверенностью можно сказать, что применение разных моделей ишемии, её динамики и количества эпизодов влияют на содержание тёмных нейронов и исход восстановления нервной ткани. Полная глобальная ишемия приводит к крупноочаговым некротическим изменениям, а неполная глобальная ишемия ведёт к обратимым дистрофическим и диффузно-очаговым альтерациям [Шляхто Е.В. и др., 2012; Шертаев М.М. и др., 2015; Яковлев А.А., Гуляева Н.В., 2015; Chen Z. et al., 2006].

Показано, что белок теплового шока повышает антиоксидантную защиту, происходят фундаментальные клеточные процессы, что помогает правильной сборке белка и является важным диагностическим маркером при воздействии гипоксии, металлов, молекул кислорода и других факторов [Коржевский Д.Э. 2015; Бонь Е.И. и др., 2018; Ганковская Л.В. и др., 2019; Максимович Н.Е., Бонь Е.И., 2020; Schlesinger M.J., 1990; Bernardo B.C. et al., 2016]. Исследования [Fredduzzi S. et al., 2001; Giffard R. et al., 2004] показали, что белок теплового шока (HSP70) играет немаловажную роль в саногенезе, адаптационной пластичности и репарации клеток. Изучены особенности реализации нейропротективных свойств HSP70 в зависимости от индивидуальных свойств

организма, они являются одним из факторов формирования неодинаковой устойчивости мозга к постреанимационным нарушениям [Аврущенко М.Ш. и др., 2008]. Установлено, что высокое содержание HSP70 является одним из важных факторов устойчивости к последующей ишемии: чем выше число иммунореактивных нейронов тем больше изменённых нейронов в работе [Аврущенко М.Ш. и др., 2012].

Белок теплового шока-70 влияет на активность и экспрессию HIF-1 $\alpha$  и НАД-МДГ-мх, что опосредует запуск компенсаторных механизмов в головном мозге после ишемии и поддержание малат-аспартатного механизма [Беленичев И.Ф. и др., 2012].

Согласно современным представлениям, при умеренном травматическом поражении коры и после ишемического поражения мозга у лабораторных животных обнаружено уменьшение содержания белка MAP2, а уже через сутки отмечено некоторое восстановление, и при дальнейшей регенерации – медленное увеличение уровня данного белка, ассоциированного с микротрубочками. Также отмечено, что основными функциями MAP2 являются стабилизация микротрубочек (и, возможно, микрофиламентов), регуляция транспорта органелл внутри аксонов и дендритов, а также закрепление регуляторных белков, таких как протеинкиназы, которые могут быть важны для передачи сигнала [Яшкичев В.И., 2015; Коржевский Д.Э. и др., 2014; Борисова К.Н. и др., 2019].

Процесс апоптоза и нейропластичности в постишемическом периоде зависит от характера и степени тяжести острой ишемии [McLaughlin V. et al., 2003; Launay S. et al., 2005; Vecerra-Khalil H. et al., 2012; Khalil H. et al., 2012]. После острой ишемии через активацию c-Jun N-terminal kinase активируются и инициируются механизмы апоптоза, отдалённого вторичного некроза и нейропластичности [Наумов Н.Г. и др., 2014; Zeng Y.S. et al., 2000; Muller G.J. et al., 2004; Winkelmann E.R. et al., 2006]. Показана важная роль эффекторной (эксекUTORной) каспазы 3, которая является плеiotропным ферментом, обладающим проапоптотической и антиапоптотической активностью, но о её функции до сих пор не существует единого мнения в аспекте выживания и нормального функционирования нейронов или их гибели [Яковлев А.А., Гуляева Н.В., 2011, 2015]. Однако установлено, что после 30-минутной ООСА на третий день происходит возрастание экспрессии каспазы 3 и каспазы 8, что ведет к реализации программы апоптоза [Разуваев Г.А. и др., 2018].

Хорошо изучена уникальная структурно-функциональная организация гиппокампальной формации млекопитающих – ЗФ (зубчатая фасция) и гиппокампа. В гиппокампе выделяют три слоя: краевой, пирамидный и молекулярный [Ryosuke M.D. et al., 2002]. Уникальность этой формации связана с тем, что выявлены две зоны пролиферации стволовых клеток, а именно формирование новых нейронов: субвентрикулярная зона бокового желудочка и субгранулярная зона зубчатой извилины, относящаяся к гиппокампальной формации [Paxinos G., Watson C., 2005; Abbott L.C. et al., 2019; Alkadhi K.A., 2019; Fares J. et al., 2019; Miller S.M. et al., 2019; Senzai Y., 2019]. Также всё большее внимание уделяется изучению глиальных клеток гиппокампа у животных в норме и при разнообразных изменениях головного мозга [Becerra-Calixto A., Cardona-Gómez G.P., 2017; Mohn, T.C., Koob A.O., 2015; Rose C.R. et al., 2018; Plata A. et al., 2018].

Изучались коллатерали аксонов, синаптическая пластичность, нейромедиаторные системы, цитоархитектоника гиппокампа [Попов В.И. и др., 2003; Holmes G.L., 1997; Leal G. et al., 2016; Grieves R.M. et al., 2017; Legéndy C.R., 2017; Moser E.I. et al., 2017; Pelkey K.A. et al., 2017; Rose C.R. et al., 2018]. У представителей зайцеобразных более сложно организована в сравнении с аналогичной областью гиппокампа грызунов нейрогенная зона гиппокампа [Сухорукова Е.Г. и др., 2019].

Имеются данные о субтотальной 60-минутной ишемии головного мозга у крыс путём моделирования ПОСА в пирамидном слое гиппокампа [Бонь Е.И. и др. 2018; Varaskay S. et al., 2008]. Описывается появление гиперхромных и гипохромных нервных клеток в сравнении с контролем. Отмечается смещение ядрышек к периферии ядра и появление свободных рибосом.

При описании ультраструктуры нейронов при ишемии головного мозга отмечалось уменьшение метаболических процессов, разрушение крист в митохондриях, разрывы наружной мембраны [Chan P.H., 2004]. Отмечено появление многочисленных свободных рибосом, которые отсоединялись от гранулярной эндоплазматической сети, увеличение количества лизосом и запуск процесса аутофагии. Повышалась проницаемость мембраны в отношении ионов  $Ca^{2+}$ , происходило его накопление. Параллельно развивался оксидативный стресс, что приводило к активации механизмов апоптоза и некроза нейронов (на примере гиппокампа) [Zeng Y.S. et al., 2000; Winkelmann E.R. et al., 2006; Wirth C. et al., 2016].

Одним из механизмов эксайтотоксической реакции было повреждение синаптических пузырьков, что приводило к изменению синапсов и быстрым патофизиологическим нарушениям в синаптической передаче [Baron J-C. et al., 2014; Nikonenko A.G. et al., 2009; Shetty A.K., 2014; Maurer L.L. et al., 2015]. Кроме того, имеются данные, которые показывают, что синапсы гиппокампа перестраиваются, восстанавливаются и обладают высокой пластичностью, что приводит к перестройке межнейронных отношений после ишемии и черепно-мозговой травмы [Семченко В.В. и др., 2014; Arneson D. et al., 2018; Hobbiss A.F. et al., 2018].

Однако со временем стали накапливаться данные о том, что течение процессов апоптоза может не приводить к смерти, и клетка способна саногенезировать. Есть ряд предположений о выживании клеток после прекращения проапоптотического воздействия: из-за низкого уровня каспазных реакций, повышенной экспрессии белков семейства Bcl-2, ограниченности внутриклеточных компартментов или расщепления субстратов, количества цитохрома *c*, покинувшего митохондрии, ограниченного уровня активации каспаз 3, 7 и 9, белков теплового шока HSP27, HSP70 и HSP90, которые могут подавлять формирование апоптосомы и активацию каспазы 9, а также HSP70, снижении повреждений ДНК в течение анастаза и способности взаимодействовать с AIF [Захаров И.И. и др., 2020; Narula J. et al., 2006; Albeck J. et al., 2008; Tang H.L. et al., 2009; Tait S.W.G. et al., 2010; Tang H.L. et al., 2012; Ichim G. et al., 2015; Aram L. et al., 2017; Tang H.M. and Tang H.L., 2018; Espinosa-Oliva A.M. et al., 2019; Seervi M. et al., 2019; Xu Y. et al., 2020].

Описаны основные острые, отсроченные, отдалённые реакции гибели нейронов, происходящие также путём параптоза [Zeng Y.S. et al., 2000; Ruan Y.W. et al., 2003; Winkelmann E.R. et al., 2006].

Представлены данные о том, что белок ингибитор каспаз Bcl-2 может предотвращать апоптоз и некроз нейронов, при восстановлении головного мозга после ишемии уровень белка Bcl-2 уменьшается [Ветровой О.В. и др., 2014; Kane D.J. et al., 1995; Ding Z.M. et al., 2012], что подтверждается другими авторами [Щербак Н.С. и др., 2015; Щербак Н.С. и др., 2016]. Происходит увеличение экспрессии белка Bcl-2 в нейронах гиппокампа непосредственно после ишемии. Есть данные о том, что уровень Bcl-2 в нейронах остаётся на прежнем уровне после ишемии [Hara A. et al., 1998; Zhang Q.G. et al., 2009; Nemethova M. et al., 2010].



По данным некоторых авторов [Луговая А.В. и др., 2018], проапоптотический белок p53 и ингибитор каспаз Bcl-2 не так однозначны, поскольку в одних исследованиях говорится об апоптозе, некрозе и защите, т.е. двойственном характере, а в других исследованиях показано прямое воздействие и гибель нейронов. Имеются исследования, что белок p53 способен индуцировать аутофагию, регулировать баланс между апоптозом и аутофагией, происходит повышение его экспрессии при острой форме по сравнению с хронической [Гомазков О.А., 2011; Ключник Т.П. и др., 2018; Vaseva A.V. et al., 2012; Nikoletopoulou V. et al., 2013; Goodall M.L. et al., 2016; Tang Y.C. et al., 2016; Goodall M.L. et al., 2016; Guan R. et al., 2018; Zhang W. and Meng A., 2019]. Следует отметить, что ингибировать апоптоз можно за счёт увеличения экспрессии Bcl-2 и способствовать регенерации и выживанию нейронов за счёт увеличения экспрессии GFAP, MAP2, Brain-Derived Neurotrophic Factor – мозгового нейротрофического фактора (BDNF) и GAP-43 [Morales A.A. et al., 2009; Guan R. et al., 2018;].

В результате иммуногистохимического исследования установлено, что после пережатия левой общей сонной артерии уровень и выработка экспрессии белка p53 в коре лобной области максимален к 30-м суткам, а в хвостатом ядре на 3-и сутки. Во всех изученных зонах экспрессия эксекуторного протеолитического фермента каспазы 3 максимальна во всех исследованных зонах на 14-е сутки [Шумихина Г.В., Данилова Т.Г., 2016]. Есть данные о том, что гуанфацин подавляет апоптоз и активацию каспазы 3, усиливает экспрессию антиапоптотических генов Stat3 и Bcl-2 и снижает экспрессию проапоптотических Socs-3, p53, fas и Ikk [Гайдин С.Г. и др., 2019].

Нейрон-специфическая эналаза – структурная разновидность фермента эналазы, который необходим для осуществления и участия гликолиза, а также является нейронспецифическим маркером нейронов, который находится в большом количестве в нейронах и повышается при гипоксии, что ведёт к гибели нейронов.NSE чаще всего определяют в сыворотке крови, что даёт информацию для анализа [Weigand M. et al., 2000; Бонь Е.И. и др., 2018].

Показано, что в результате ишемического инсульта изменения уровней кортикостерона и провоспалительного цитокина ИЛ-1 $\beta$  в крови имеет разную чувствительность в неокортексе и в гиппокампе [Онуфриев М.В. и др., 2017].

## 1.2. Нейроглиальные взаимоотношения

Нейроглиальные взаимоотношения являются актуальным вопросом нейроморфологии [Жданкина А.А. и др., 2016]. После ишемического повреждения в астроцитах начинается экспрессия нетипичных для них высокомолекулярных органических веществ – промежуточных филаментов, а именно нестина, который принято считать маркером нейральных стволовых и прогениторных клеток [Fukuda S. et al., 2003; Lendahl U. et al., 1990; Péron S., Berninger V., 2015]. Нестин представляет собой белок промежуточных нейрофиламентов. В мозге интактных половозрелых животных обнаруживается только в клетках, расположенных в двух герминативных зонах: субэпендимной зоне, боковой стенке желудочков головного мозга и части гиппокампальной формации ЗФ [Fukuda S. et al., 2003; Ernst C. and Christie B.R., 2005].

При ишемических процессах в мозге происходит увеличение, активация и появление нестина в нейроглиальных клетках звёздчатой формы с многочисленными отростками, в клетках овальной формы с отростками, узко специализированных клетках и в однослойных пластах плоских клеток кровеносных капилляров мезенхимного происхождения [Коржевский Д.Э. и др., 2006; Duggal N. et al., 1997; Tonchev A.B. et al., 2005; Korzhevskii D.E. et al., 2008; Kirik O.V. et al., 2013; Korzhevskii D.E. et al., 2013]. Можно полагать, что анализ распределения белка нестина промежуточных филаментов четвёртого класса для астроцитов может способствовать определению границ зоны ишемического повреждения [Колпакова М.Э. и др., 2019]. Показано, что neuronal nuclear antigen – нейрональный ядерный антиген – является нейроноспецифичным, и данный маркер дифференцировки нервных клеток локализуется не только в ядрах, но и в перинуклеарной системе ЦНС млекопитающих [Борисова К.Н. и др., 2019].

При изучении с помощью иммуногистохимии пространственной организации и структурных характеристик клеток стриатума крыс SHR через 48 ч после 30-минутной фокальной ишемии показано, что на границе очага повреждения присутствуют три типа активированных астроцитов: экспрессирующие только нестин, только GFAP или неполное совпадение локализации маркеров одновременно, что может быть объяснено различными функциями этих белков [Цыба Д.Л. и др., 2020]. У контрольных животных нестин-позитивные астроциты в стриатуме отсутствовали.

Мозговой нейротрофический фактор относится к семейству нейротропных факторов и его тропомиозиновый тирозинкиназный рецептор играет одну из важных ролей в восстановлении функции мозга при различных ишемиях, синтезируется в эндоплазматическом ретикулуме. Установлено, что на разных сроках постреанимационного периода состояние нейронов гиппокампа и клеток Пуркинье мозжечка у белых половозрелых крыс-самцов после 10-минутной остановки системного кровообращения возможна активация экспрессии эндогенного BDNF для предотвращения гибели нейронов [Аврущенко М.Ш., Острова И.В., 2017]. В другой работе было установлено, что снижение общей плотности нейронов в постреанимационном периоде происходило как в поле CA<sub>1</sub>, так и в поле CA<sub>4</sub> гиппокампа, при этом гибели подвергались только клетки с небольшим содержанием исследуемых белков, а нейроны с наибольшим содержанием белков BDNF и TrkB выживали [Острова И.В. и др., 2018].

Показано также, что применение глиального нейротрофического фактора при двусторонней ООСА способствует восстановлению неврологического статуса, а также положительно влияет на митохондрии в клетках головного мозга после ишемического повреждения [Митрошина Е.В. и др., 2017]. В результате исследований первичных культур клеток гиппокампа мыши установлено, что при разработке и применении аденоассоциированного вирусного вектора AAV-Syn-BDNF-EGFP происходит увеличение продукции BDNF клетками культуры, что ведёт к положительному влиянию на активность нейронных сетей первичных культур клеток гиппокампа [Mitroshina E.V. et al., 2018].

Известно, что вследствие острой ишемии головного мозга, на фоне обратимых дистрофических, атрофических и некробиотических изменений нейронов, нейроглиальных клеток и клеток микрососудов активируются компенсаторно-восстановительные механизмы [Аврущенко М.Ш., Острова И.В., 2017; Кубатиев А.А., Пальцын А.А., 2020; Kosi N. et al., 2015; Damisah E.C. et al., 2020]. В совокупности все это приводит к пространственной реорганизации межклеточных взаимоотношений нервной ткани. Изменяются не только межнейронные связи, но и морфология нейро-глио-микрососудистых комплексов [Oksanen M. et al., 2019]. Значительно активируются астроциты, олигодендроциты и микроглиоциты. Кроме гипертрофии, гиперплазии, изменений формы и размеров, отмечается пролиферация этих клеток, усложнение пространственной организации, усиление механической подвижности их периферических отростков и синтеза трофических факторов [Сахарнова Т.А. и др., 2012;

Митрошина Е.В. и др., 2017; Алексеева О.С. и др., 2019; Калинина Ю.А. и др., 2019; Pekny M. et al., 2014; Cowan M. et al., 2018; Chen Z. et al., 2019].

Высокая подвижность нейроглиальных клеток, их миграция относительно перикарионов приводит, с одной стороны, к увеличению содержания свободных активированных форм, а с другой стороны – сателлитарных и фагоцитирующих форм клеток, а также слиянию клеток и, возможно, их перепрограммированию [Романова Г.А. и др., 2011; Сотников О.С. и др., 2011; Kemp K. et al., 2014; Pereira M. et al., 2019]. Отмечается увеличение количества клеточных конструкций, в которых перикарионы и тела глиальных клеток значительно сближаются вплоть до инвагинаций более мелких клеток (глиоциты) в крупные (нейроны) и слияния [Сотников О.С. и др., 2011; Свиридкина Н.Б. и др., 2012; Криштоп В.В. и др., 2019; Криштоп В.В. и др., 2020].

Существует гипотеза о слиянии нейронов и глиальных клеток [Сотников О.С. и др., 2011; Paltsyn A.A. et al., 2014]. Особая роль при этом отводится олигодендроцитам [Пальцын, А.А., Свиридкина Н.Б., 2018]. Слияние олигодендроцитов с нейронами коры головного мозга, вероятно, может быть частью нормального онтогенеза и возможным средством нейрорегенерации в процессе старения и при гипоксическом/ишемическом воздействии. Авторы предполагают, что после такого слияния ядро олигодендроцита подвергается нейроспецифическому перепрограммированию, в результате чего образуются двудерные нейроны, что удваивает функциональные возможности нейрона [Пальцын, А.А., Свиридкина Н.Б., 2018]. При патологии слиянию олигодендроцита и нейронов может способствовать формирование амебоидного фенотипа микроглии, для которого характерны высокая подвижность преобладание фагоцитарной функции и секреции цитокинов [Моргун А.В. и др., 2014]. Кроме того, потеря связей между нейронами и микроглией после ишемии способствует дальнейшей активации последней, что усиливает нейровоспаление, вызванное высвобождением провоспалительных цитокинов. Эти изменения, вероятно, могут быть инициированы перичеллюлярным отёком, который разрывает связи нейронов и микроглии [Алексеева О.С. и др., 2019].

Реактивно изменённые нейроны имеют повышенную способность к слиянию. Имеются морфологические подтверждения принципиальной возможности слияния нейрональных отростков и перикарионов и других клеток. Сливаются не только тела клеток, но и их отростки. При этом процесс стимулирует увеличение провоспалительных цитокинов [Sankavaram S.R. et al., 2015;

Giordano-Santini R. et al., 2016]. Такая возможность показана для клеток Пуркинье, мотонейронов спинного мозга и пирамидных нейронов неокортекса. Авторы этих публикаций обнаруживали в неокортексе гетеро- и дикарионы – нейроны с двумя ядрами, различающимися и одинаковыми по морфологическим и цитохимическим признакам [Пальцын, А.А., Свиридкина Н.Б., 2018; Sankavaram S.R. et al., 2015; Giordano-Santini R. et al., 2016; Kravtsov V. et al., 2017]. Так, после прерывистой гипобарической гипоксии количество двуядерных нейронов в слоях III–V моторной коры белых крыс увеличивалось на 23,4%. Авторы предполагают, что повышенное содержание двуядерных нейронов может служить структурной основой нейропротекторных эффектов адаптации к гипоксии [Paltsyn A.A. et al., 2014]. К увеличению количества гетерокарионов клеток Пуркинье в неонатальном мозжечке приводит радиационное повреждение [Espejel S. et al., 2009]. В мозжечке также отмечено образование двуядерных гетерокарионов при рассеянном склерозе [Kemp K. et al., 2009].

Все эти процессы тесно связаны с иммунной системой, обеспечивающей тканевый гомеостаз как в физиологических условиях, так и при патологии [Юшков Б.Г., 2017]. В этом аспекте рассматриваются микроглиоциты [Cowan M. et al., 2018; Chen Z. et al., 2019]. Однако необходимо отметить, что биологическая и функциональная роль микроглии при формировании гетеро- и дикарионов не изучена. Хотя есть работы о прямом слиянии микроглии с пирамидными нейронами после ретровирусной инфекции [Ackman J.V. et al., 2006].

Отдельные авторы в своих работах делают вывод о том, что вероятным механизмом формирования двуядерных нейронов в эмбриогенезе и у взрослых организмов является клеточное слияние в процессе их синцитиального взаимодействия [Сотников О.С. и др., 2011; Сотников О.С. и др., 2012; Сотников О.С., Марков И.И., 2018; Сотников О.С., 2019]. При этом синцитиальные связи и слияния нейронов являются характерной чертой и для патологии нервной системы, и для определённых стадий нормального онтогенеза. В культуре нейронов продемонстрирована кинетика синцитиального слияния живых нейронов и формирования таким способом двуядерных клеток. Это явилось 100%-ным подтверждением возможности образования сложных клеточных композиций в нервной ткани путём слияния.

Приведены данные, демонстрирующие, что щелевые контакты способны превращаться в синцитиальные перфорации, а соматические щелевые

контакты при благоприятных условиях могут преобразовывать нейроны в дикарионы. То есть перфорация, постепенно охватывая цитоплазму обеих сливающихся клеток, превращает их в бинуклеарный нейрон [Сотников О.С. и др., 2011; Сотников О.С., 2019]. Эта идея распространена и на нейроглиальные взаимоотношения с добавлением возможности перепрограммирования ядра глиальной клетки [Пальцын, А.А., Свиридкина Н.Б., 2017; Пальцын, А.А., Свиридкина Н.Б., 2018].

Однако необходимо отметить, что биологическая и функциональная роль микроглии при формировании гетеро- и дикарионов не изучена. Хотя есть работы о прямом слиянии микроглии с пирамидными нейронами после ретровирусной инфекции [Askman J.V. et al., 2006]. На данный момент известно, что в ней экспрессируются фузогены – специализированные молекулы, необходимые для слияния клеток, которые активируются в условиях вирусной инфекции, стресса или других патологических состояний. Аберрантная экспрессия фузогенов приводит к слиянию нейронов и изменениям их функции. Дикарионы, полученные в результате слияния двух нейронов, сохраняют свою жизнеспособность, становятся электрически связанными, теряя при этом индивидуальность, что, по мнению авторов, приводит к изменению нейронных цепей и нарушению их нормального функционирования [Giordano-Santinia R. et al., 2020].

В нервной ткани существует баланс «слияние↔индивидуальность», гомеостатически смещённый в сторону сохранения структурно-функциональной целостности зрелых нейронов. Однако, как он поддерживается, неизвестно. Вероятно, что в повреждённой нервной ткани существуют механизмы, подавляющие неконтролируемое слияние клеток, тем самым поддерживая нейроны как отдельные единицы. Необходимо критически оценивать данные о слиянии клеток, последствия которых не понятны до сих пор. Особенно это касается процессов регенерации тканей [Alvarez-Dolado M. et al., 2011].

Несмотря на различия использованных в эксперименте моделей ишемии после необратимой окклюзии средней мозговой артерии и при помощи метода ОТ-ПЦР [Ставчанский В.В. и др., 2016] показано, что в гиппокампе и лобной коре крыс воздействие пептидами препятствует развитию изменений экспрессии гена *Cplx2*, и это возможно ведёт к восстановлению синаптической структуры. Совокупность и анализ распределения размеров и форм ГАМК-

ергических терминалей аксосоматических синапсов, расположенных на пирамидных нейронах коры, имеют важное значение и предоставляют ценную информацию о функционировании структуры коры головного мозга [Разенкова В.А., Коржевский Д.Э., 2020]. При исследовании различных амплитуд и роли функциональной экспрессии кальций-связывающих белков показано, что при кратковременных эпизодах гипоксия предотвращает гибель нейронов при последующей длительной ишемии и это приводит к прекондиционированию в глутаматергических нейронах [Туровская М.В. и др., 2013; Туровский Е.А. и др., 2017; Зинченко В.П. и др., 2020; Turovsky E.A. et al., 2013].

Белок  $\alpha$ -синуклеин локализуется главным образом в пресинаптических терминалях нейронов ЦНС позвоночных и имеет небольшую молекулярную массу – 19 кДа. Выявлено интенсивное диффузное окрашивание нейропиля зоны CA<sub>3</sub> гиппокампа интактных животных. Альфа-синуклеин преимущественно распределён в зоне синаптических контактов мшистых волокон ЗФ, а именно в светлом и радиальном слоях, которые богаты аксодендритными и аксошипиковыми контактами [Бровко М.А. и др., 2018]. Ранее проведённая работа говорит о том, что с данного агрегатного белка начинаются нейродегенеративные процессы в пресинаптических окончаниях нейронов, и лишь затем происходит гибель нервных клеток [Nikolaus S. et al, 2009].

Роль нейроглии в развитии, патологии и пластичности ЦНС млекопитающих изучается в последнее время с возрастающей активностью [Zuchero J.V. et al., 2015]. Нейроглия состоит из волокнистых и протоплазматических астроцитов, олигодендроглиоцитов и микроглиоцитов, которые составляют почти половину клеток ЦНС [Ройтбак А.И., 1993; Barres V.A. et al., 2008; Kettenmann H. et al., 2011; Fields R.D. et al., 2015]. В неповреждённом головном мозге резистентные макрофаги являются контролем синаптической организации, сильно разветвлёнными клетками и не являются структурно стабильными клеточными элементами, которые пронизывают всю паренхиму ЦНС [Casano A.M. et al., 2015; Restivo L. et al., 2015; Zuchero J.V. et al., 2015]. В покое астроциты и микроглия выполняют ряд поддерживающих (трофическая, метаболическая поддержка нейронов, регуляция ионного и водного обмена, синтеза и деактивации свободных нейромедиаторов межклеточного пространства, формирования синапсов, миелиновых оболочек) и "сторожевых" функций.

На ранних стадиях образования нейронных сетей нейроглия обеспечивает прунинг – удаление неконкурентоспособных нейронов и слабых синапсов

[Kettenmann H. et al., 2011; Allen N.J., 2014; Bercury K.K. et al., 2015; Zuchero J.V. et al., 2015]. Микроглиоциты фагоцитируют синапсы, используя каскад белков комплимента C1q и CR3, которые активируются астроцитами. Все это свидетельствует о наличии единой saniрующей клеточной системы утилизации необратимо повреждённых нейронов головного мозга, состоящей из астроцитов, олигодендроглиоцитов и микроглиоцитов [Casano A.M. et al., 2015; Restivo L. et al., 2015]. При различных изменениях нервной ткани астроциты и микроглиоциты претерпевают быстрые морфологические изменения, ограничивают участок повреждения и приобретают M1/A1 (повреждающий) или M2/A2 (нейропротективный) фенотипы.

Микроглиоциты теряют длинные отростки. В результате активируются процессы их пролиферации, и, в зависимости от фенотипа, происходит восстановление (регенерация) обратимо повреждённых нейронов или удаление остатков необратимо повреждённых клеток. Длительная реактивность клеток с фенотипом M1/A1 приводит к образованию глиального рубца и нейродегенеративным изменениям [Zamanian J.L. et al., 2012; Aguzzi A. et al., 2013; Casano A.M. et al., 2015; Restivo L. et al., 2015; Zuchero J.V. et al., 2015]. Кроме того, нейроглия обеспечивает восстановление водного и ионного баланса, улучшает адаптацию реактивно изменённых нейронов к вторичной ишемии и способствует выходу повреждённых нейронов из патологического состояния, обеспечивает реализацию механизмов нейропластичности и структурно-функциональное восстановление нейронных сетей [Casano A.M. et al., 2015]. Известно, что астроциты, разных регионов головного мозга имеют функциональные различия, причины этого только начинают изучаться; эти клетки представляют собой гетерогенную популяцию глиальных клеток как в морфологическом, так и в функциональном отношении [Тучина О.П. и др., 2020; Molofsky A.V. et al., 2015].

Широко обсуждаются вопросы о том, что при ишемических последствиях астроглия принимает участие в процессах эндогенной восстановительной репарации на молекулярном уровне и помогает уцелевшим нервным клеткам вернуть утраченные ими функции [Калинина Ю.А. и др., 2015; Pellerin L. et al., 2007]. Известно, что для полной морфологической картины используют иммуноцитохимическую реакцию на GFAP в сочетании с ШИК-реакцией для выявления астроцитов и крахмалоподобных телец [Коржевский Д.Э. и др., 2015].



Исследованы, определены и показаны ультраструктурные особенности стадий развития межклеточных контактов, нескольких критических периодов в синаптогенезе и функционального развития нейронной сети диссоциированной культуры эмбрионального гиппокампа (E18) с использованием мультиэлектродной регистрации внеклеточных потенциалов и конфокальной флуоресцентной микроскопии внутриклеточного кальция [Широкова О.М. и др., 2014].

В настоящее время для определения специфической архитектоники астроцитов используют более двадцати маркеров-белков и наиболее популярным является GFAP, который проявляется по-разному; одним из примеров является реактивный астроглиоз. У астроцитов есть ряд функций: обеспечение нейронов лактатом, изменение величины трансмембранного потенциала, синаптическая передача в возбуждающих глутаматергических синапсах, контроль процессов реорганизации межнейронных отношений, поддержка глутаматного и водно-ионного баланса [Коржевский Д.Э. и др., 2019; Pirici D. et al., 2009; Sofroniew M.V. et al., 2010; Luo Y. et al., 2011; Ostergaard P.J., Jensen M.B., 2013; Mohn, T.C., Sofroniew M.V., 2014; Koob A.O., 2015; Sukhorukova E.G. et al., 2015; Blennow K. et al., 2016; Becerra-Calixto A., Cardona-Gómez G.P., 2017; Plata A. et al., 2018; Rose C.R. et al., 2018; Santello M. et al., 2019]. В данный момент роль клеток астроглии, как оказывается, более трудна для понимания, чем ранее представлялось. Современные исследования на клиническом материале и в экспериментах представляют все новые механизмы интеграции и пластической регуляции нейрональных процессов и позволяют представить роль астроцитов головного мозга как значимый физиологический механизм регуляции высшей нервной деятельности головного мозга [Гомазков О.А., 2014, 2019].

В зависимости от характера воздействия в остром патологическом периоде отмечается отёк тела и отростков астроцитов. Реакция астроглии может быть очаговой, диффузной или смешанной. При этом отмечается компенсаторная гиперплазия и гипертрофия с удлинением и утолщением отростков, смещением ядра к периферии, усилением экспрессии GFAP и индукцией пролиферации. Всё это влияет на состояние и выживаемость нейронов [Волкова Д.А. и др., 2013; Ostergaard P.J., Jensen M.B., 2013; Becerra-Calixto A., Cardona-Gómez G.P., 2017; Plata A. et al., 2018].

Представлены данные о том, что пролиферация и реактивный астроцитоз являются естественными нейропротекторными механизмами, а реактив-

ные астроциты выделяют факторы, способствующие выживанию нейронов при тяжёлых травмах или дегенерации [Mohn T.C., Koob A.O., 2015]. Широкий интерес представляет изучение глиоцитоархитектоники, взаимоотношения нейронов, астроцитов и микроглиоцитов в нервной ткани головного мозга млекопитающих в норме и после ишемии.

Особую ценность представляет рассмотрение толщины, длины, разветвлённости толстых и тонких отростков астроцитов, которые модулируют синаптическую передачу в возбуждающих глутаматергических синапсах и контролируют процесс реорганизации межнейронных отношений. Измерить такую "изменчивость" количественно традиционными методами проблематично. Однако это позволяет сделать фрактальный анализ. Для оценки морфологии астроцитов неокортекса после ООСА подобный подход не применялся [Smith T.G. Jr. et al., 1996; Fernandez E. et al., 1999; Pirici D. et al., 2009; Barreto G. et al., 2011; Luo Y. et al., 2011; Karperien A. et al., 2013; Naranjo D. et al., 2013; Ostergaard P.J., Jensen M.B., 2013; Harish G. et al., 2015; Zhao M. et al., 2016; Rose C.R. et al., 2018].

По данным некоторых авторов, олигодендроциты, их ещё называют сателлитными глиоцитами, являются крупными глиальными клетками, которые сконцентрированы вокруг нейроцитов [Фридман А.П., 1971; Афанасьев Ю.И., 2012; Шувалова М.С., 2017]. Глиоциты принимают участие в обеспечении функций нейронов, влияют на трофику мозга, а также на функциональный статус нервной клетки. При функциональных перенапряжениях нервной клетки, глиоциты способны прореферировать вещества, поступающие путём пиноцитоза в нервную клетку. При функциональных нагрузках вначале происходит истощение синтетического аппарата глиальных клеток, а затем нервных клеток, при репарации вначале восстанавливаются функции нейронов, а затем сами глиальные клетки.

Активированная в ходе обычного становления головного мозга микроглия не имеет виментина, свойственного для патологически активированной микроглии [Антипова М.В. и др., 2019].

Тем временем, в своих исследованиях Алексеева О.С. и соавт. [2019] показали, что главной функцией микроглии является поддержание баланса провоспалительных и противовоспалительных факторов в интактном мозге.

В некоторых исследованиях [Нигметзянова М.В., 2019] показана роль микроглии с разных сторон: эти клетки считаются резидентными иммунными

клетками мозга, участвующими в регуляторных механизмах и процессах, для восстановления при травмах, могут влиять на события, связанные с пролиферацией и дифференцировкой нейронов в процессе развития, а также способствуют процессам фагоцитоза и управления синаптическими соединениями. Микроглия активируется в ответ на системное воспаление, травму и некоторые патофизиологические процессы в ЦНС [Хожай Л.И., Отеллин В.А., 2013; Harry G.J. et al, 2013; Sanchez-Covarrubias L. et al, 2014]. При инфекции микроглия переходит в активированное состояние и начинает секретировать про- или противовоспалительные цитокины, фагоцитирует повреждённые клетки, участвует в ремоделировании синапсов [Lannes N. et al., 2017]. При этом микроглия не является структурной единицей гематоэнцефалического барьера, но влияет на его функцию, целостность [Kettenmann H. et al., 2011].

В одной экспериментальной работе при полной глобальной ишемии головного мозга у крыс Wistar, которая продолжалась в течение 10 минут, показан дефицит морфологически неизменённых нейронов в коре, с увеличением реперфузионного периода происходит увеличение количества белка и Iba-1-позитивных клеток микроглии [Щербак Н.С. и др., 2020]. В другой работе при изучении с использованием белка Iba-1 морфологических характеристик микроглиоцитов гиппокампа крыс в условиях реакции на однократную общую ишемию головного мозга продолжительностью 12 минут показано следующее: через 3, 7 и 14 сут появляются короткие и утолщённые отростки, а в неповреждённых частях гиппокампа микроглиоциты сохраняют звездчатую форму и имеют тонкие ветвящиеся отростки.

Показано также, что микроглиоциты чёрного вещества головного мозга человека различаются не только по расположению, характеру ветвления отростков, но и по содержанию белка Iba-1 в ядре клетки. Возможно, что выявляемый белок – аллотрансплантат воспалительного фактора 1, распределённый в перинуклеарной цитоплазме, экранирует ядро, и оно остаётся недоступным для наблюдения при обычной световой микроскопии. У человека наблюдается меньшая концентрация Iba-1 в перинуклеарной зоне. Обычно более интенсивно окрашиваются отростки, поэтому ядро клетки становится доступным для изучения [Коржевский Д.Э. и др., 2012, 2014, 2015, 2019]. Если содержание маркера микроглии (белка Iba-1) в ишемическом мозге увеличивается, то это может свидетельствовать о провоспалительных процессах в зоне поражения и активном участии клеток микроглии в поддержании нейровоспаления

[Wang H.K. et al., 2008; Norden D.M. et al., 2016]. В другой работе не удалось выявить разницу в количестве Iba-клеток вне очага ишемии и в зоне некроза [Савченко Е.С. и др., 2016].

Отмечается, что из всего множества известных на сегодня маркеров одними из наилучших, которые подходят для проведения структурного анализа микроглиоцитов как в нормальной, так и в изменённой нервной ткани, являются аллотрансплантат воспалительного фактора 1 и CD11b (OX-42) [Кирик О.В. и др., 2010, 2014; Коржевский Д.Э. и др., 2015, 2019; Korzhevskii D.E. et al., 2015, 2016]. Очевидным достоинством аллотрансплантат воспалительного фактора 1 является возможность изучать его с использованием трёхмерных объёмных реконструкций клеток. Равномерное распределение Iba-1 в цитоплазме микроглиоцитов позволяет максимально полно охарактеризовать сложные структурные особенности организации отростков микроглиоцитов. С помощью антител против белка-аллотрансплантата воспалительного фактора 1 можно обнаружить амебоидную микроглию, покоящуюся и промежуточные состояния.

Колпакова М.Э. и соавт. [2018] в экспериментах с перенесённой фокальной транзиторной ишемии головного мозга для идентификации микроглиоцитов использовали поликлональные козы антигена Iba1. Показаны изменения поведения животных и морфологии нервной ткани на поздних сроках постишемического периода, что даёт представление о возможных механизмах компенсации снижения когнитивных функций за счёт активации структур. В другом исследовании была показана возрастная динамика активности микроглиоцитов, впервые были определены разные их типы в области инфундибулярного углубления на разных этапах постнатального онтогенеза, были проанализированы пространственные и функциональные взаимоотношения микроглии и таницитов [Суфиева Д.А. и др., 2020]. Полученные данные способствуют дальнейшему пониманию роли этих клеток в формировании и возрастной динамике состояния барьерных структур инфундибулярного углубления и возрастных особенностях центральной нейроиммуноэндокринной регуляции [Суфиева Д.А. и др., 2020]. Микроглия, как и астроциты, продуцирует ряд провоспалительных цитокинов, что ведёт к развитию воспалительного процесса и привлечению других клеток иммунной системы в очаг ишемического повреждения мозга [Del Zoppo G.J., 2009].

Ряд исследователей представили результаты о том, что восстановление

и санацию повреждённой нервной ткани осуществляется при помощи астроцитов, микроглиоцитов и олигодендроглиоцитов, и это рассматривается как единая система. Данные клетки оказывают влияние на сохранение структуры, поддержку нейронов и ответ на воздействия окружающей среды, высвобождение нейромедиаторов; они играют ключевую роль в регуляции кровотока в разных областях мозга. Разветвлённая сеть астроцитов является аналогом лимфатической системы, выполняет дренажно-детоксикационную функцию в головном мозге и имеет большое значение в остром постишемическом периоде, когда выявлены максимальные проявления отёка-набухания клеток [Atwell D., et al., 2010; Zuchero J.V. et al., 2015].

Принято считать, что увеличение количества клеток-сателлитов способствует передаче телам нейронов РНК, аминокислот и факторов роста, а также другим клеткам, что может иметь компенсаторно-приспособительное значение для нейронов [Пошивалов В.П., 1978; Дробленков А.В. и др., 2004; Дробленков А.В. и др., 2013, 2014, 2020; Dai X. et al., 2003]. В своей работе Н.Г.Наумов [2016] на модели двусторонней ООСА в течение 7 сут показывает, что тип нейроглиальных клеток звёздчатой формы с многочисленными отростками вблизи кровеносных капилляров представляет приспособительный механизм и является одним из условия выживания нервных клеток при уменьшении кровотока в цингулярной коре.

Изучена перифокальная зона инфаркта и найдены морфохимические структурные перестройки астроцитов. Данные изменения зависят от расстояния до очага поражения и от сроков, прошедших после ишемического повреждения. Астроциты, которые образуют рубец, приобретают поляризованную форму, не сохраняют доменную организацию и перераспределяют глутаминсинтетазу и аквапорин-4 в отростках, а транзиторно-активированные астроциты отличаются менее выраженными изменениями отростков, сохраняют доменную организацию и увеличивают экспрессию белков, участвующих в обменных процессах, что указывает на усиление их гомеостатических функций [Воронков Д.Н. и др., 2017; Худоерков Р.М. и др., 2017; Хаспеков Л.Г., Фрумкина Л.Е., 2017]. По данным ряда авторов, изучение различных структурных аквапоринов расширяет представление об их роли в физиологии и развитии заболеваний. Так, AQP4 задействован в патогенезе оптикомиелита, отёка и опухолей головного мозга, эпилепсии и может являться мишенью для лекарственных препаратов [Щепарева М.Е. и др., 2020].

Процесс образования новых кровеносных сосудов в головном мозге после его ишемии объясняется продукцией NO и активацией транскрипционного фактора, индуцируемого гипоксией, что способствует стимуляции эритропоэза, метаболических процессов, ангиогенеза, клеточной пролиферации; возрастает экспрессия ядерного фактора и фосфорилированного CREB, уменьшается количество NADPH. Чем больше интервал между перевязками, тем более эффективно происходит адаптация нейронов к недостатку кислорода [Бонь Е.И. и др., 2020; Meerson F.Z. et al., 1992; Patt S. et al., 1997; Risau W. 1997; Patt S. et al., 1997; Murphy B.J. et al., 1999].

Согласно работам некоторых авторов, основными клеточными элементами гематоэнцефалического барьера являются эндотелиоциты, перициты и отростки астроцитов [Черток В.М., Черток А.Г., 2016]. Нейро-глио-сосудистый микроструктурный комплекс (нейроны, глиальные клетки (фибрилярные и протоплазматические астроциты), перициты и эндотелиоциты) в зрелом мозге формирует сложные структурно-функциональные системы со специфическими и неспецифическими внутренними связями [Васильев Ю.Г. и др., 2003; Кузин А.В. и др., 2004; Степанов А.С. и др., 2017; Wolburg H. et al., 2009]. В данном комплексе преобладают клетки нейронов, астроцитов и эндотелиальные клетки сосудов [Dirnagl U., 2012]. Нейроваскулярная единица составляет основу структурно-функциональной организации мозга [Савченко Е.С. и др., 2016].

Большое внимание уделяется перицитам и эндотелиальным клеткам при изучении свойств гематоэнцефалического барьера в норме и при ишемических процессах, которые рассматриваются как важная часть нейро-глио-сосудистых микроструктурных комплексов головного мозга; они участвуют в синтезе макромолекул, трансцитозе гематоэнцефалического барьера, способствуют образовыванию трансэндотелиальных каналов, гомеостазу и обеспечивают компенсаторную защитную реорганизацию микрососудистого русла [Семченко В.В. и др., 2014; Дробленков А.В. и др., 2020; Lossinsky A.S. et al., 2004; Nakagawa S. et al., 2007; Silvestre J-S., et al., 2008; Nakagawa S. et al., 2009; Liu S. et al., 2012; Shurygin M.G., et al. 2013; Nahirney P.C. et al., 2016; Rodriguez-Arellano J.J. et al., 2016; Cai W. et al., 2017].

В одном из научных исследований было показано, что при ишемическом прекодиционировании (ПреК) головного мозга на 7-й день после наступления тестовой ишемии происходит уменьшение проницаемости гематоэнцефа-

лического барьера [Gesuete R. et al., 2011]. Изучен эффект ПреК на гематоэнцефалический барьер через анализ уровня экспрессии генетических маркеров и показана важная роль астроцитов в данном процессе [Шляхто Е.В. и др., 2012]. Другие эксперименты показывают, что с возрастом в нервной ткани происходит увеличение количества и размеров астроцитов, также возрастает экспрессия белка промежуточного филамента типа III, что может способствовать избыточной глиальной пролиферации в ответ на травму или другое повреждение головного мозга [Сухаренко Е.В., 2015; Суфиева Д.А. и др., 2019; Harris J.L. et al., 2015; Chisholm N.C. et al., 2016].

В настоящее время считается, что в мембране эндотелиальных клеток сосудов гематоэнцефалического барьера локализуется гликопротеин-Р (Pgp) или ABCB1-белок. Эти белки защищают головной мозг от ксенобиотиков и ряда биобиотиков [Krishnamurthy S. et al., 2014]. При модели острой ишемии головного мозга через 4 ч после двухсторонней ООСА показано увеличение экспрессии гликопротеина-Р в гематоэнцефалическом барьере и развитие окислительного стресса в головном мозге [Черных И.В. и др., 2013, 2015].

Через внеклеточный матрикс, базальные мембраны или различные рецепторные сигнальные пути происходит связь между отдельными структурами [Lok J. et al., 2007]. Составляющей нейроваскулярной единицей является астроглия вместе с олигодендроцитами, которые отвечают за опорную, трофическую и барьерную функции. Таким образом формируется необходимая для обеспечения нормального функционирования нейронов структура, которая также принимает участие в регуляции мозгового кровообращения и передаче нервных импульсов с помощью медиаторов [Chou C.H. et al., 2014; Filosa J.A. et al., 2015; Tasker R.C., Duncan E.D., 2015].

### **1.3. Нейропластичность как основа компенсаторно-восстановительных изменений**

Только при комплексном подходе к изучению нейропластичности можно получить максимальный эффект и благоприятное влияние на реабилитацию и использовать возможности каждого человека к адаптации [Костенко Е.В., 2016].

Острова И.В. и соавт. [2011] изучали нейрональную динамику и половые различия после постреанимационных изменений в областях СА<sub>1</sub> и СА<sub>4</sub> гиппо-

кампа к белку GRP78, который относится к классу белков-шаперонов, принимает участие в сворачивании, разворачивании, укладке, и поддержанию формы других белков, обеспечивает клетке нечувствительность к нагреванию. Анализ показал, что при увеличении уровня данного белка происходит предупреждение механизмов дистрофии, гибели нейронов, т.е. он обладает нейропротективными свойствами. Исследования, проведённые другими авторами [Аврущенко М.Ш. и др., 2012], показали, что половые различия постреанимационных сдвигов иммунореактивности нейрональных популяций к белку GRP78 зависят не только от специфики нейрональных популяций разного уровня, но и связаны с половыми особенностями организма.

Известно, что кислая фосфатаза – маркерный фермент лизосом [Боголепов Н.Н., 1979]. При митохондриальных нарушениях в ранний постишемический период происходят диссимиляция, снижение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и сукцинат-убихинон-оксидоредуктазы, повышение маркера анаэробных процессов лактатдегидрогеназы, а также рост активности фермента кислой фосфатазы. Целесообразно при изучении данного вопроса после ишемии головного мозга и полученных результатов оценивать влияние данных процессов, что возможно позволит нормализовать процессы в сферических или эллипсоидных митохондриях, а также функционал, пластичность и энергичность в нервной ткани и в самих нейронах [Рузан Т.А. и др., 2013]. Известно, что ишемическое посткондиционирование головного мозга способствует уменьшению выраженности реперфузионного повреждения и приводит к увеличению объёма жизнеспособной ткани головного мозга в пределах зоны ишемии [Щербак Н.С. и др., 2012; Xing B. et al., 2008].

Согласно результатам исследования Щербак Н.С. и соавт. [2013], нейроны пирамидного слоя разных полей гиппокампа обладают неодинаковой устойчивостью к действию ишемии. Отмечается, что наиболее чувствительны к ишемии нейроны полей CA<sub>1</sub> и CA<sub>3</sub> гиппокампальной формации. В неизменённых нейронах всех полей гиппокампа увеличивается активность сукцинатдегидрогеназы, что способствует обратимой ишемии. Применённый протокол исследования ишемического посткондиционирования головного мозга свидетельствовал о снижении гибели нейронов полей CA<sub>1</sub> и CA<sub>3</sub> гиппокампальной формации, а также о снижении активности сукцинатдегидрогеназы, индуцированной ишемией, в сохранивших жизнеспособность нейронах гиппокампа. Полученные результаты необходимо учитывать при разработке способов



фармакологического посткондиционирования головного мозга, а также рекомендаций по применению ишемического посткондиционирования головного мозга в клинической практике.

Фрумкина Л.Е. и соавт. [2019] изучали влияние эндоканнабиноида N-докозагексаеноилдофамина на ультраструктурном уровне в области ишемического очага в головном мозге крысы и установили, что присутствие N-докозагексаеноилдофамина в ишемизированной коре активирует компенсаторно-восстановительные процессы после фотоиндуцированного тромбоза и способствует обратимости ишемического повреждения нейронов в пенумбре, что расширяет перспективы практического использования определенных природных или синтезированных групп каннабиноидов как нейропротекторов при ишемическом инсульте.

#### **1.4. Феномены пре- и посткондиционирования, анастаза, селективной чувствительности и устойчивость нервной ткани головного мозга к гипоксическим и ишемическим воздействиям**

В последнее годы большое внимание начали уделять изучению феноменов пре- и посткондиционирования. Суть этих феноменов заключается в том, что действие, возникающее в ответ на острую ишемию нервной ткани, зависит от уровня активации механизмов её защиты на момент ишемии [Лихванцев В.В. и др. 2011; Яковлев А.А., Гуляева Н.В., 2011; Лихванцев В.В. и др., 2012; Шляхто Е.В. и др., 2012; Яковлев А.А., Гуляева Н.В., 2015; Щербак Н.С., 2016; Щербак Н.С. и др., 2016; Чефранова Ж.Ю. и др., 2019; Zhao H. et al., 2012; Busija D.W., Katakam P.V., 2014; Cheng M. et al., 2020; Turovskaya M.V. et al., 2020].

Работы по преко́ндиционированию показали, что проблема представляется настолько же многообещающей, насколько и малоизученной [Лихванцев В.В. и др. 2011]. Ишемическое преко́ндиционирование – естественный универсальный механизм защиты клетки от гипоксии [Лихванцев В.В. и др. 2012]. Анестетическое и фармакологическое преко́ндиционирование – доказанный феномен, который заслуживает дальнейшего изучения биохимиками, фармакологами и клиницистами.

Шляхто Е.В. и соавт. [2012] полагают, что ишемия и особенно реперфузия запускают регулируемый процесс клеточной гибели, в результате которого клетка распадается на отдельные апоптотические тельца, однако, в процессе

прекондиционировании головного мозга запускаются многочисленные реакции, препятствующие апоптозу, которые могут быть связаны с активацией группой белков-рецепторов, транскрипционных контролируемых факторов, внутриклеточных ферментных каскадов, определённых митохондриальных энергичных белков.

Каспаза 3 – протеолитический фермент, один из немногих каспаз в клетках человека, свойства которого с недавнего времени активно изучают как не-апоптотического, и рассматривают его в качестве одного из ключевых энзимов феномена ишемического preconditionирования головного мозга [Яковлев А.А., Гуляева Н.В., 2011, 2015]. Большую работу провели исследователи в своих экспериментальных моделях ишемического preconditionирования головного мозга и показали, что однократное введение лекарственного вещества цитиколина не приводит к потенцированию или подавлению нейропротективного эффекта и защиты [Щербак Н.С., 2016; Щербак Н.С. и др., 2016]. Рассмотрены и проанализированы обширные исследования защитных эффектов и механизмов, лежащих в основе ишемического preconditionирования [Zhao H. et al., 2012].

Митохондрии являются очень важными инициаторами preconditionирования и посткондиционирования в наиболее уязвимых типах клеток в нервно-сосудистой структурной единице. Все процессы, инициированные митохондриями, защищают нервно-сосудистую единицу от летального стресса с помощью реакции, называемой preconditionированием, которое независимо способствует изменениям церебрального сосудистого тонуса через общие сигнальные пути [Busija D.W., Katakam P.V., 2014].

Одними из разновидностей рецепторов нервной системы являются дельта-опиоидные рецепторы макрофагов, их активация уменьшает апоптоз путём ингибирования каспазы 3, что ведёт к устойчивости нервной ткани головного мозга [Cheng M. et al., 2020].

Однако имеются исследования о том, что небольшие короткие эпизоды пониженного содержания кислорода в организме могут способствовать адаптации клеток организма [Turovskaaya M.V. et al., 2020]. Гипоксическое preconditionирование хорошо проявляется в глутаматергических нейронах, тогда как в ГАМКергических нейронах этот адаптивный механизм практически подавлен. Данные авторы показали, что сверхэкспрессия BDNF в нейронах усиливает preconditionирующий эффект кратковременных эпизодов гипоксии.

Антиоксидантный белок тиоредоксин-1 (Trx-1) известен как полифункциональный низкомолекулярный и может обозначаться как p32<sup>TrxL</sup>. Он локализован в цитозоле эукариотических клетках. Экспрессия Trx1 может перемещаться в ядро под действием многих факторов, например, при гипоксии/ишемии. Имеются сведения о том, что p32<sup>TrxL</sup> защищает многие клетки, включая нейроны мозга, от различных видов повреждения [Калинина Е.В. и др., 2008; Berggren M. et al., 1996; Takagi Y. et al., 1999]. Ингибитор внутриклеточных каспаз Bcl-2 в нейронах новой коры и гиппокампа крыс в режиме прекодиционирования к тяжёлой гипоксии увеличивает экспрессию данного антиапоптотического белка [Чурилова А.В. и др., 2014].

Строев С.А. и соавт. [2018] предположили, что итоговое прекодиционирование и нейропротективный эффект гипоксической толерантности при тяжёлой гипоксии в случае трёхкратного уровня достигается за счёт условий максимальной чувствительности к опосредованному активными формами кислорода сигналу, а в случае шестикратного, вероятно, пулом антиоксидантов, уже накопленным и сформированным во время прекодиционирования, который оказывается достаточным для компенсации, по меньшей мере, частичной, гиперпродукции активных форм кислорода и процесса повреждения клетки в результате окисления. Впрочем, структурные механизмы и способность различных отделов ЦНС к реорганизации за счет структурных изменений вещества головного мозга в период реперфузии остаётся неразрешимым до конца [Pagnussat A.S. et al., 2007; Baron J-C. et al., 2014].

### **1.5. Плейотропность структурно-функциональных изменений нервной ткани в постишемическом периоде**

Цитотоксический процесс отёк-набухание головного мозга возникает при отравлении или гипоксии в результате нарушения клеточного обмена веществ, удержания в клетках элемента главной подгруппы первой группы натрия и гидроксида водорода. Во многих случаях данные процессы обратимы. Связанный с гипоксией цитотоксический отёк мозга наблюдается в разных случаях: при локальной и тотальной острой ишемии, черепно-мозговой травме. Патогенетические механизмы и структурные проявления отёка-набухания при ишемии изучались во многих научных работах. Существует направление рассматривать отёк и набухание как взаимосвязанные единые проявления нарушения деятельности водно-электролитного обмена, заканчивающе-

гося либо необратимой гидропической дистрофией, либо восстановлением водно-ионного баланса и гидратации клеточных белков. Тем не менее, отёк – это, прежде всего, скопление жидкости в межклеточных пространствах мозга (свободная жидкость). Набухание считается самостоятельным процессом, имеющим в основе прочное связывание интраструктуральной воды с внутриклеточными биополимерами [Баширова А.Р. и др., 2020; Бонь Е.И., Максимович Н.Е., 2021; Slivka A. et al., 1995; Bailey D.M. et al., 2009; Adeva M.M. et al., 2012; Wang Y.F., Parpura V., 2018; Wang Y.F., Parpura V., 2018; Krueger M. et al., 2019; Ding Y. et al., 2020; Keep R.F. et al., 2020].

Гидропические изменения после ишемии головного мозга изучаются в сравнительном аспекте между его отделами для единого комплекса нейронов, астроцитов и микрососудов [Моргун А.В. и др., 2014; Pekny M, Pekna M. et al., 2014; Bai J, Lyden PD., 2015].

Все больше внимания при отёке-набухании уделяется изучению состояния гематоэнцефалического барьера и регулирующей функции перицитов [Dalkara T. et al., 2019], выяснению происхождения и молекулярного содержания зон отёка [Nishi K. et al., 2003].

Принципиальным механизмом цитотоксического отёка-набухания является распространяющаяся деполяризация, сама волна электрофизиологической гиперактивности, связанная с эксайтотоксичностью глутамата, ведущей к повреждению и гибели нервных клеток. Патологически длительные распространяющиеся деполяризации внезапного импульса являются необходимым механизмом развития острого разрушения клеток ЦНС. Таким образом, распространяющаяся деполяризация и цитотоксический отёк-набухание в значительной степени совпадают по локализации и времени регистрации. Распространяющаяся деполяризация/отёк – это изначально обратимое токсическое состояние, которое, однако, при превышении критических значений приводит к гибели нейронов, астроцитов, олигодендроцитов и других структур. Наиболее распространённой причиной распространяющейся деполяризации/отёка является ишемический инсульт. Кратковременные эпизоды распространяющейся деполяризации/отёка рассматриваются как относительно безвредные события и регистрируются в мозге контрольных животных. [Hinzman J.M. et al., 2015; Dreier J.P. et al., 2018].

Острое набухание нейронов характеризуется увеличением их объёмов, растворением нуклеопротеиновых комплексов хроматофильного вещества

Ниссля, гиперхромией с чрезмерным содержанием хроматина и смещением ядра нейрона. Дальнейшие гидропические изменения нейронов сопровождаются появлением в структуре светлых пространств или вакуолей, прозрачной цитоплазмы. Необратимая гидропическая дистрофия сопровождается сохранением ядра, но полным разрушением цитоплазматических органелл [Квитницкий-Рыжов Ю.Н., 1978; Ito U. et al., 2009].

Функционирование, восстановление или гибель нейронов происходят в едином комплексе с астроцитами и микрососудами. После острой ишемии дальнейшая судьба нейроглиального комплекса окончательно определяется в течение 24 – 48 ч. В случае неблагоприятного исхода деструкции подвергаются некробиотически изменённые нейроны и связанные с ними отростки астроцитов. Ключевую роль в развитии отёка-набухания играет аквапорин-4, который является белком, образующим водопроводящие каналы в клеточных мембранах [Ito U. et al., 2009; Pekny M., Pekna M., 2014; Bai J., Lyden P.D., 2015; Wang Y.F., Pappura V., 2018; Ding Y. et al., 2020].

При светооптическом исследовании в течение первых 6 ч после начала острого нарушения кровоснабжения головного мозга повреждение ишемических клеток незаметно и его трудно распознать. Показано, что критический порог мозгового кровотока для развития необратимого повреждения составляет ~15 мл/100 г×мин, ниже этого порога ишемизированная нервная ткань мозга поглощает воду в случае любого остаточного капиллярного потока, а именно ионного отёка. Далее развивается типичный цитотоксический отёк-набухание. Он сопровождается линейным увеличением в тканях содержания воды и может быть зафиксирован физическим магнитно-резонансным томографом, гистологическими и иммуногистохимическими методами [Бабкина А.С. и др., 2021; Von Kummer R., Dzialowski I., 2017].

Отёк-набухание является стандартным ответом нервной ткани головного мозга практически на любое патологическое воздействие, сопровождающееся гипоксией, интоксикацией и нарушением микроциркуляции. Механизмы развития гидропической дистрофии хорошо изучены и продолжают изучаться на молекулярном уровне. Основной причиной нарушения распределения воды в повреждённой нервной ткани являются энергетический дефицит, дисфункция механизмов ионного гомеостаза, нарушение функции астроцитов и микрососудов [Adeva MM. et al., 2012; Bai J, Lyden PD., 2015; Ferrer I, Vidal N., 2017; Dreier JP. et al., 2018; Belov Kirdajova D, et al., 2020].

Несмотря на то, что отёк и набухание связаны между собой и обусловлены нарушениями клеточного метаболизма, дисфункцией водно-электролитного обмена, их глубинные причины, вероятно, отличаются. Отёк – скопление жидкости во внутри- и межклеточных пространствах мозга (свободная жидкость); набухание – имеет в основе прочное связывание интраструктуральной воды с внутриклеточными биокolloидами. Существенно то, что отёк развивается после того, как эти связи резко ослабляются в результате коагуляции или лизиса белков. Свободная жидкость заполняет соответствующие изолированные компартменты/лакуны. Ключевую роль в развитии отёка-набухания играет аквапорин-4 астроцитов [Akdemir G. et al., 2016; Wang YF, Parpura V., 2018; Shi K. et al., 2019; Keep RF. et al., 2020; Ding Y. et al., 2020].

Установлено, что развитие цитотоксического отёка-набухания при ишемии связано с электрофизиологической гиперактивностью нейронов, обусловленной эксайтотоксичностью глутамата [Hinzman JM. et al., 2015; Dreier JP. et al., 2018]. Кратковременные эпизоды гиперактивности и отёка-набухания регистрируются в мозге контрольных животных и рассматриваются как относительно безвредные обратимые события. При превышении критических значений эти изменения приводят к гибели клеток (нейронов, астроцитов, олигодендроцитов) [Hinzman JM. et al., 2015; Dreier JP. et al., 2018].

Волкова Д.А. и соавт. [2013] показали, что вследствие вакуолизации, при слабом воздействии нервная ишемическая область отростков нейронов и глии выглядит бледнее. В поверхностных слоях коры головного мозга происходит структурная перестройка ветвящихся дендритов. На фоне набухших дендритов в некоторых случаях обнаруживался цитотоксический отёк глиальных структур и перикариальный отёк перикарионов. Очень редко в поле зрения встречались тела гиперхромных нейронных клеток. В основном структуры перикарионов нейронов поверхностных слоёв коры были целыми, в нижележащих слоях большинство нейронов оставалось интактными.

## 1.6. Резюме

Подводя итог вышеизложенному, необходимо констатировать, что в настоящее время накоплен огромный фактический материал в области нейробиологии и медицины, который был получен в ходе изучения структурно-функционального состояния нейронов головного мозга экспериментальных

животных и человека после различных повреждающих воздействий. При этом все больше и больше внимание уделяется изучению защитных и компенсаторно-восстановительных изменений. Однако мало работ, посвящённых комплексному сравнительному изучению клеток нервной ткани неокортекса, гиппокампа и МГ при разной продолжительности ишемии в аспекте изучения нормы и патологии головного мозга. Поэтому именно это стало предпосылкой необходимости выполнения данного морфологического исследования.

## СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### 2.1. Дизайн исследования

В данном разделе представлен дизайн экспериментальных исследований, а также характеристика методов изучения нервной ткани (табл. 1).

<b>Модели и экспериментальные группы</b>	
<p>I. Моделирование острой ишемии головного мозга на белых крысах линии Wistar путём окклюзии правой общей сонной артерии на 30 минут  Вывод из эксперимента через 1, 3, 7, 14, 21 и 30 сут после ишемии (n =36)</p> <p>II. Окклюзия левой общей сонной артерии на 30 минут  Вывод из эксперимента через 1, 3, 7, 14, 21 и 30 сут после ишемии (n =36)</p> <p>III. Окклюзия общих сонных артерий (двусторонняя) на 20 минут  Вывод из эксперимента через 6ч, 1, 3, 7, 14, 21 и 30 сут после ишемии (n =42)</p> <p>IV. Окклюзия общих сонных артерий (двусторонняя) на 40 минут  Вывод из эксперимента через 1, 3, 7, 14 и 30 сут после ишемии (n = 30)</p> <p>V. Перевязка общих сонных артерий (двусторонняя)  Вывод из эксперимента через 1, 3, 7, 14 и 30 сут после ишемии (n = 30)</p> <p>Контроль – ложнооперированные животные (n = 90)</p>	
<p>Фиксация головного мозга перфузионным методом с помощью 4% раствора параформальдегида на фосфатном буфере (рН 7,2–7,4). Заливка нервной ткани в смесь высокомолекулярных предельных углеводов, изготовление срезов, приготовление препаратов для гистологического, иммуногистохимического исследования новой коры, парного образования гиппокампа и МТ.</p>	
<b>Качественный и автоматизированный морфометрический компьютерный анализ изображений</b>	
<p>Микросъемка гистологических препаратов (тионин, Ги Э, фуксин)</p>	<p>Микросъемка иммуногистохимических препаратов (AIF1, каспаза 3, Hsp70, NSE, GFAP, p38, p53, bcl-2, MAP2)</p>
<p>Общая оценка нервной ткани, морфометрическое исследование нейронов, глиальных клеток и синапсов, определение содержания реактивно, дистрофически и некробиотически изменённых нейронов</p>	<p>Изучение распределения, размеров, количества иммунных меток в нейронах, глиоцитах и синапсах, определение численной плотности маркированных структур</p>
<p><b>Качественная оценка, статистический анализ количественных данных, полученных в ходе морфометрического исследования</b></p>	
<p><b>Синтез полученных результатов, обсуждение, выводы</b></p>	



**Таблица 1 – Методы морфологического исследования**

№	Метод исследования	Характеристика метода	Цель метода	Антитела (клон)	Разведение	Реквизиты
<b><i>Световая микроскопия</i></b>						
1	Гематоксилин и эозин	Базофильно окрашенные структуры содержат нуклеиновые кислоты, локализуются в клеточном ядре, богатых РНК участках цитоплазмы. Эозинофильные структуры – цитоплазматические и внеклеточные белки	Общая оценка структуры нервной ткани, тинкториальных свойств протеинов ядра и цитоплазмы клеток, нейропиля. Морфометрия	-	-	-
2	Тионин (по Нислю) Тионин + кислый фуксин	Нуклеопротеиды ядра и цитоплазмы клеток интенсивно удерживают тионин (окрашенный клеточный материал резко выделяется на бесцветном фоне нейропиля)	Оценка нуклеопротеинов. Морфометрия нейронов, глиальных клеток	-	-	-
<b><i>Иммуногистохимические методы</i></b>						
1	Ki-67	Пролиферация клеточных ядер	Изучение способности к делению	Моноклональные мышинные (MIB-1)	Готовый к применению	Leica Biosystems Newcastle Ltd / PA0118
2	Аллотрансплантат воспалительного фактора 1 (AIF1)	Экспрессия Iba1 активируется в микроглии после повреждения нервов, ишемии	Анализ микроглии	Поликлональные кроличьи	5–20 мкг/мл	Cloud-Clone Corp. / PAC288Ra01
3	Hsp70 (белок теплового шока)	Высокие уровни белков теплового шока в клетке наблюдаются при гипоксии, ишемии	Оценка повреждения и защиты нейронов от факторов ишемии	Поликлональные кроличьи	5–20 мкг/мл	Cloud-Clone Corp. / PAB062Ra01
4	NSE (нейрон-специфическая енолаза)	Участие в гликолизе	Специфический белок нейронов	Поликлональные кроличьи	5–20 мкг/мл	Cloud-Clone Corp. / PAA537Ra01
5	NSE (нейрон-специфическая енолаза)	Участие в гликолизе	Специфический белок нейронов	Моноклональные мышинные (22C9)	Готовый к применению	Leica Biosystems Newcastle Ltd / PA0435

№	Метод исследования	Характеристика метода	Цель метода	Антитела (клон)	Разведение	Реквизиты
6	bcl-2 (ингибитор каспаз)	Регуляция апоптоза, осуществляет торможение процесса	Оценка антиапоптозной системы нейрона, проницаемости митохондриальной мембраны, ингибирование каспаз	Моноклональные мышинные (bcl-2/100/D5)	Готовый к применению	Leica Biosystems Newcastle Ltd / PA0117
7	Каспаза 3	Расщепляет ядерные и цитоплазматические белковые структуры нейрона, участвует в апоптозе (эффektorной стадии и фазе деградации)	Оценка количества нейронов в конечной стадии апоптоза	Моноклональные мышинные (3CSP03)	1:25	Diagnostic BioSystems Inc. / Mob 309
8	GFAP (глиальный фибриллярный кислый белок)	Специфичный белок для астроцитов ЦНС, обеспечивает их форму, механическую прочность и подвижность, целостность миелина в ЦНС и межнейронные взаимодействия	Оценка структурно-функционального состояния глиальных клеток	Моноклональные мышинные (GA5)	Готовый к применению	Leica Biosystems Newcastle Ltd / PA0026
9	MAP2	Белок, ассоциированный с микротрубочками 2	Оценка состояния цитоскелета нейронов	Поликлональные кроличьи	1 мкг/мл.	Abcam / ab32454
10	p38 (синаптофизин)	Гликопротеин p38 вовлечён в процесс экзоцитоза синаптических пузырьков, присутствует исключительно в пресинаптических терминалях	Оценка синаптических терминалей по площади метки	Моноклональные мышинные (27G12)	Готовый к применению	Leica Biosystems Newcastle Ltd / PA0299
11	p53 проапоптотический белок (танантин)	Программа смерти, запускаемая «суицидными» генами, реализуется через внутриклеточные белки p53 и p54, получившие название «танантины»	Оценка количества нейронов в фазе активации апоптоза	Моноклональные мышинные (DO-7)	Готовый к применению	Leica Biosystems Newcastle Ltd / PA0057

## 2.2. Объект и предмет исследования

При проведении всех экспериментов соблюдались рекомендации, одобренные локальным этическим комитетом Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Омского государственного медицинского университета» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 83 от 14.10.2016 г. и протокол № 112 от 26.09.2019 г.), протоколом заседания Проблемной комиссии №8 «Экстремальные и терминальные состояния» № 1 от 3.10.2019 г., а также Директивой Европейского Парламента и Совета № 2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, используемых для научных целей [European Convention, 1986; Directive of the European Parliament and of the Council, 2010; Рыбакова, А.В., Макарова, М.Н., 2015].

В качестве объектов исследования использованы 264 аутбредных половозрелых самцов крыс Wistar массой 180 – 200 г (Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск). Крыс содержали в стандартных лабораторных условиях со своевременным приёмом корма и питьевой воды.

Группы контрольных животных (15 групп по 6 особей) и 29 экспериментальных групп по 6 особей в каждой формировали посредством случайной выборки (табл. 2, 3, 4, 5, 6). Летальность экспериментальных животных рассчитывалась делением погибших на количество выживших, умноженное на 100.

**Таблица 2 – Распределение крыс по группам эксперимента и методам исследования (30-минутной ООСА с правой стороны)**

Экспериментальные группы	Количество животных	
	Световая микроскопия	Иммуногистохимия
I. Основная группа (ООСА, летальность 4,7%)	36	36
1 сут после ООСА	6	6
3 сут после ООСА	6	6
7 сут после ООСА	6	6
14 сут после ООСА	6	6
21 сут после ООСА	6	6
30 сут после ООСА	6	6
II. Ложнооперированные (летальность 0%)	18	18
1 сут	6	6
3 сут	6	6
7 сут	6	6
Всего:	54	54

Примечание. Здесь и в табл. 3 – 6: головной мозг одной крысы применялся для нескольких методов исследования

**Таблица 3 – Распределение крыс по группам эксперимента и методам исследования (30-минутная ООСА с левой стороны)**

Экспериментальные группы	Количество животных	
	Световая микроскопия	Иммуногистохимия
<b>I. Основная группа (ООСА, летальность 4,1%)</b>	36	36
1 сут после ООСА	6	6
3 сут после ООСА	6	6
7 сут после ООСА	6	6
14 сут после ООСА	6	6
21 сут после ООСА	6	6
30 сут после ООСА	6	6
<b>II. Ложнооперированные (летальность 0%)</b>	18	18
1 сут	6	6
3 сут	6	6
7 сут	6	6
<b>Всего:</b>	<b>54</b>	<b>54</b>

**Таблица 4 – Распределение крысы по группам эксперимента и методам исследования (20-минутная ООСА с двух сторон)**

Экспериментальные группы	Количество животных	
	Световая микроскопия	Иммуногистохимия
<b>I. Основная группа (ООСА, летальность 6,1%)</b>	42	42
6 ч после ООСА	6	6
1 сут после ООСА	6	6
3 сут после ООСА	6	6
7 сут после ООСА	6	6
14 сут после ООСА	6	6
21 сут после ООСА	6	6
30 сут после ООСА	6	6
<b>II. Ложнооперированные (летальность 0%)</b>	18	18
1 сут	6	6
3 сут	6	6
7 сут	6	6
<b>Всего:</b>	<b>60</b>	<b>60</b>

**Таблица 5 – Распределение крыс по группам эксперимента и методам исследования (40-минутная ООСА с двух сторон)**

Экспериментальные группы	Количество животных	
	Световая микроскопия	Иммуногистохимия
<b>I. Основная группа (ООСА, летальность 15,0 %)</b>	30	30
1 сут после ООСА	6	6
3 сут после ООСА	6	6
7 сут после ООСА	6	6
14 сут после ООСА	6	6
30 сут после ООСА	6	6
<b>II. Ложнооперированные (летальность 0%)</b>	18	18
1 сут	6	6
3 сут	6	6
7 сут	6	6
<b>Всего:</b>	<b>36</b>	<b>36</b>

**Таблица 6 – Распределение крыс по группам эксперимента и методам исследования (ПОСА с двух сторон)**

Экспериментальные группы	Количество животных	
	Световая микроскопия	Иммуногистохимия
I. Основная группа (ООСА, летальность 33,3 %)	30	30
1 сут после ПОСА	6	6
3 сут после ПОСА	6	6
7 сут после ПОСА	6	6
14 сут после ПОСА	6	6
30 сут после ПОСА	6	6
II. Ложнооперированные (летальность 0%)	18	18
1 сут	6	6
3 сут	6	6
7 сут	6	6
Всего:	36	36

### 2.3. Методы исследования

Обоснованием выбора метода исследования послужили литературные данные по изучению строения и топографии сосудов виллизиева круга [Трушель Н.А., 2009]. Принимая во внимание один и тот же источник формирования виллизиева артериального круга и его топографию у исследованных животных и человека, а также после сравнения анатомического строения и соотношения морфометрических показателей сосудов виллизиева артериального круга, автор рассматривает возможность использования белой крысы, морской свинки, кролика и собаки для моделирования различной сосудистой патологии головного мозга с последующей экстраполяцией результатов на человека.

С целью изучения последствий ишемии мозга было проведено моделирование реперфузионного повреждения и перевязкой у экспериментальных животных.

Для наркотизации животных изготавливали специальный раствор, в состав которого вошёл препарат Zoletil 100 (содержимое флакона с порошком золетила, разведённое прилагаемым растворителем с добавлением 5 мл NaCl). Введение готового раствора производили в холку крысы инсулиновым шприцом Units (U-40, 1 unit = 0.025 мл) определёнными дозами: 5 Units затем 3 Units и затем ещё 5 – 7 Units.

До начала операций животные не получали пищу в течение 12 ч, но воду получали в неограниченном количестве. Через 5 – 7 минут после введения Zoletil 100 и наступления наркоза (расслабления скелетной мускулатуры,

отсутствия болевой чувствительности, закрытия век, ровного дыхания и сердечного ритма), длительность которого составляла 45 минут, крыс укладывали на спину на деревянный столик, подкладывали марлю и фиксировали за передние и задние лапки. На вентральной поверхности шеи операционное поле обрабатывалось антисептиком «Чистея», а затем при помощи бритвенного станка сбрасывалась шерсть. Перед проведением оперативного вмешательства крысам вводили однократно атропин в дозе 0,02 – 0,03 мл, дексаметазон 0,01 – 0,03 мл и натрия хлорид 0,1 – 0,3 мл. Далее проводили надрез скальпелем в области шеи, при помощи хирургического двухзубого тупого крючка отодвигали подвхнечелюстную железу в сторону, разделяли длинную мышцу шеи (её верхнюю, вертикальную и нижнюю косую части) и фасции, обеспечивая доступ к правой и левой сонным артериям, а затем отделяли вагус от данных артерий.

Ишемию мозга создавали путём пережатия с обеих сторон сонных артерии на 20 и 40 минут, одной (левой и правой отдельно) – на 30 минут ООСА при помощи сосудистых клипс (рис. 1), а также перевязки ОСА, схематическое кровоснабжение у крыс показано на рис. 2.

Согласно задачам исследования, после проведения операции с моделированием ишемии мозга с двух и одной стороны особям из разных экспериментальных групп (в каждой группе по 6 крыс) надлежало проводить операции с моделированием перфузии и последующим забором биологического материала через разные промежутки времени. Для контрольной группы перфузию проводили с исключением этапа моделирования ишемии.

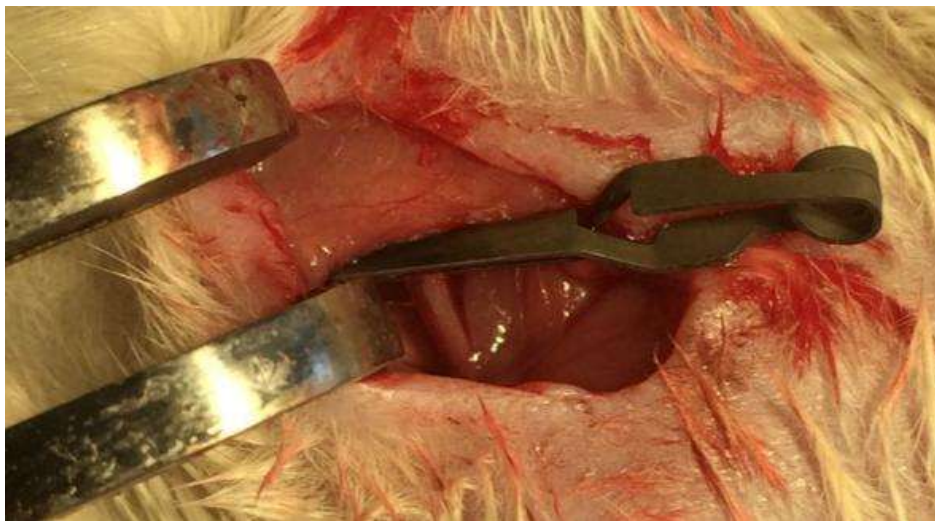


Рис. 1 – Воспроизведение 30-минутной правосторонней острой ишемии. Этап экспериментальной остановки кровообращения в общей сонной артерии путём окклюзии микрозажимов.

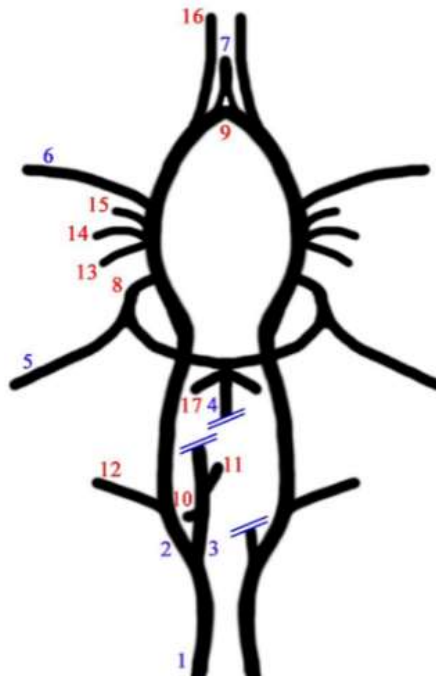


Рис. 2 – Артериальная система головного мозга крысы. Цифры на рисунке указывают: 1. Общая сонная артерия 2. Внутренняя сонная артерия 3. Наружная сонная артерия 4. Базилярная артерия. 5. Задняя мозговая артерия 6. Средняя мозговая артерия 7. Передняя мозговая артерия 8. Задней соединительной артерии 9. Передней соединительной артерии 10. Затылочная артерия 11. Верхняя щитовидная артерия 12. Крыловидная артерия 13. Гипоталамическая артерия 14. Вентральная артерия таламуса 15. Передняя хориоидальная артерия 16. Обонятельная артерия 17. Верхняя мозжечковая артерия. [по Namestnikova D. et al., 2017].

За 5 минут до снятия клипс на место разреза клали марлевую салфетку, пропитанную перекисью водорода. Далее зашивали разрез нитью (Prolene 6-0) и накладывали швы с интервалом 0,1 – 0,2 мм. В завершении снова обрабатывали операционное поле антисептиком «Чистея».

Для проведения перфузирования был подготовлен раствор путём смешивания натрия хлорида 0,9% 250 мл и Фрагмина 5 тысяч единиц (шприц одноразовый 0,2 мл). Также готовили раствор 4% параформальдегида на фосфатном буфере из следующих компонентов:  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  13,6 г + дистиллированной воды 986,4;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  35,8 г + дистиллированной воды 964,2; 43,9 г параформа.

Процесс наркотизации перед перфузированием испытуемых был аналогичен процессу при моделировании ишемии мозга. После фиксации крысы на спине на деревянном столике в области 3 – 4-го ребра с левой и правой стороны скальпелем производили надрез и получали доступ к сердцу.

Вводили в левый желудочек иголку от капельницы, фиксировали зажимом типа Москит иголку и сердце в области прокола для предотвращения смещения иглы (прокапывали около 100 – 125 мл приготовленного раствора

натрия хлорида 0.9% и Фрагмина, находящегося на высоте 2 м от пола). Как только шёл раствор в левый желудочек, делали небольшой разрез 0,3 – 0,4 мм в правое предсердие при помощи скальпеля. При введении указанного объёма раствора из правого предсердия вытекала светлая жидкость без сгустков крови, после этого закрывали капельницу, ушивали или зажимали корнцангом (зажим Гросс-Майера) правое предсердие. В левый желудочек, не отсоединяя иглку и корнцанг, вводили через шприц 30 мл 4% параформальдегида на фосфатном буфере (рН 7,2–7,4) (рис. 3).



Рис. 3 – После 20 и 40 минут острой ишемии у крыс разных групп проводил перфузию.

При правильном введении раствора у крысы всегда наблюдался тремор мышц. После декапитации головной мозг извлекали из черепной коробки и помещали его в фиксатор (контейнер для биоматериала наполняли раствором в объёме 80 мл), хранили в холодильнике при температурном режиме 3 – 5°С в течение суток. Затем раствор меняли на фосфатный буфер и использовали материал для проведения дальнейших гистологических анализов.

Одним из главных ориентиров при приготовлении фронтальных срезов головного мозга крыс на уровне была Брегма – антропометрическая верхушка на крыше черепной коробки, что соответствовало пространству соединения



стреловидного и венечного швов [Paxinos G., Watson C., 2005]. В табл. 7 показаны главные ориентиры секции (уровни от Брегмы) и пространственная ориентация отделов головного мозга белых крыс.

В настоящем исследовании использованы подходы для более полного и топографически точного определения основных отделов головного мозга крыс [Jordan W.H. et al., 2011]. Готовили серийные фронтальные срезы на уровнях, соответствующих изучаемым отделам головного мозга; пример проекции секции показан на рис. 4.

**Таблица 7 – Главные ориентиры исследуемых отделов головного мозга белой крысы на разных уровнях фронтального (коронарного) сечения [Paxinos G., Watson C., 2005]**

№	Проекция от Брегмы, мм	Анатомические структуры головного мозга
1	2.2 – 1.2	- мозолистое тело - расположение передней комиссуры
2	1.2 – (-)1.6	- срединные структуры (септальные ядра) и боковые желудочки - расположение передней комиссуры относительно латерального желудочка - третий желудочек, форникс, оптический тракт
3	(-)1.6 – (-)4.8	- расположение и форма гиппокампа - расположение третьего желудочка - вентральная часть мозга, оптический тракт - отношения энторинальной, грушевидной коры и миндалевидных ядер друг к другу и мозга в целом

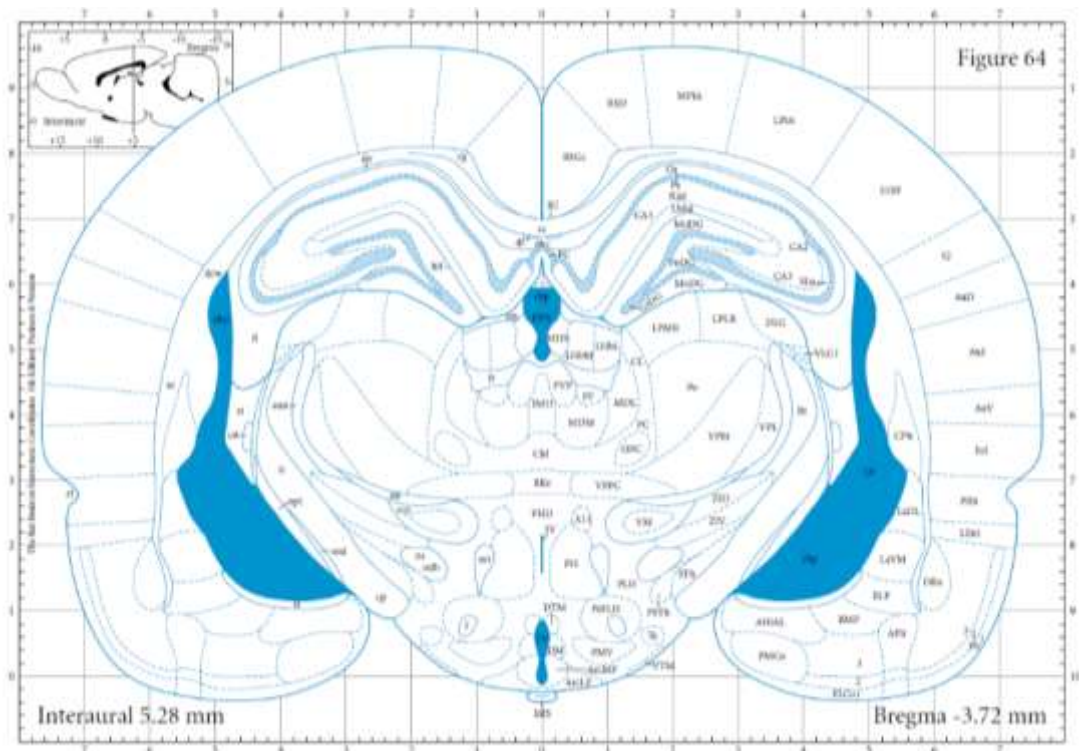


Рис. 4 – Секция серийных фронтальных срезов головного мозга крыс относительно Брегма [Paxinos G., Watson C., 2005].

В процессе дальнейшей подготовки материала блоки промывали проточной водой, помещали в корзину автоматического аппарата STP120, запускали стандартную программу заливки препаратов в гомогенизированный парафин (HISTOMIX®). Серийные фронтальные срезы толщиной 4 мкм готовили на санном микротоме HM 450 (Thermo). Затем срезы помещали в водяную баню SB-80 (56°C) для расплавления парафина, переносили на предметное стекло или полилизинное стекло, маркировали и высушивали на плитке (60°C, 60 минут). Далее окрашивали по инструкциям, которые прилагаются для классических методов гистологии и методов иммуногистохимии.

Препараты фотографировали на микроскопе Nikon eclipse e200 (объективы  $\times 4$ ,  $\times 10$ ,  $\times 40$ ,  $\times 100$ ). Использовали камеру GXCAMDM800 Unique Wrap-Around 8MP AUTOFOCUS USB, pixel size  $1.4 \times 1.4 \mu\text{m}$ , изображение сохраняли в файлах с расширением tiff ( $2592 \times 1944$  пикселей). Также использовали камеру для микроскопа ADF STD16: разрешение 16.1 Мп, размер матрицы 1/2.2", количество кадров в секунду:  $33@2320 \times 1740$ , интерфейс подключения: USB 3.0, поддержка RAW, а также профессиональное ПО – функции измерения размеров объекта, настройка изображения, запись фото/видео, сшивка полей зрения, мультифокальные изображения, настройка баланса белого. Изображение сохраняли в файлах с расширением tiff ( $4632 \times 3488$  пикселей).

#### 2.4. Статистический анализ

Морфометрический анализ (с оценкой формы, размеров, расстояний между нейронами и астроцитами, численной плотности клеток) проводили с помощью плагинов программы ImageJ 1.46-1.53. Анализ упорядоченных выборок и проверку статистических гипотез проводили при помощи непараметрических критериев (табл. 8). Использовали программы StatSoft Statistica 8.0, MedCalc, среда R.

Нейроглиальный индекс вычислялся путём деления показателей численной плотности глиальных клеток на плотность нейронов.

Изучая разветвлённость астроцитарных сетей, использовали фрактальный метод анализа структуры. Данный способ позволяет количественно описать содержание и качественные характеристики сложной фракталоподобной структуры нейронов и астроцитов путём расчёта фрактальной размерности (ФР) – показателя заполнения пространства фрактальной структурой, и лаку-

нарности (L) – меры неоднородности заполнения пространства фрактальной структурой. Данный метод исследования нашёл использование как мера структурной сложности природных объектов, в том числе и нервных клеток [Исаева В.В., 2006; Pirici D. et al., 2009; Karperien A. et al., 2013].

**Таблица 8 – Статистический анализ**

Задача	Методы
Описательная статистика	Вычисление медиан и интерквартильных интервалов, пропорций
Проверка нормальности распределения	Критерии Шапиро-Уилка, Колмогорова-Смирнова
Сравнение двух независимых групп по одному признаку	Критерий Манна-Уитни
Сравнение трёх независимых групп и более по одному признаку	Однофакторный дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса (one-way ANOVA)
Сравнение двух зависимых групп по одному признаку	T-критерий Вилкоксона, t-критерий Стьюдента
Сравнение трёх зависимых групп и более по одному признаку	ANOVA по Фридману
Анализ взаимосвязи двух признаков	Ранговый корреляционный анализ по Спирмену. Критерий согласия Пирсона или $\chi^2$
Сравнение величины выборочных дисперсий двух рядов наблюдений	Критерий Фишера
Процедуры множественных проверок гипотез	Поправка Бонферрони, критерий Краскела-Уоллиса, медианный критерий

Зоны (пиков) максимальной яркости (ЗМЯ) в нейропиле СМК имели разные формы, размеры и степень яркости. В процессе изучения структурных проявлений отёка-набухания при окраске гематоксилином и эозином для определения ЗМЯ изображения на каждый срок отбирали случайно выбранные поля зрения (каждое 31400 мкм<sup>2</sup>) СМК. На этих полях зрения выделяли области интереса (ROI) – участки молекулярного слоя размером 20×20 мкм, формировали стеки (ROI), рассчитывали среднее значение для каждого поля зрения и животного. Далее формировали и сравнивали вариационные ряды на срок. Для дальнейшего анализа использовал программу ImageJ 1.46-1.53 [Herbert A.D. et al., 2014].

Для морфометрического изучения изменений зон максимальной яркости (отёка-набухания) на цветных изображениях использовали плагин-фильтр "Find Maxima" M.Schmid из программы ImageJ 1.46-1.53 (<https://imagej.nih.gov/ij/docs/menus/process.html#find-maxima>).

Предварительно зона интереса (ROI, только нейропиль) подвергалась обработке алгоритмом плагина «Morphological Filters» из пакета «MorphoLibJ» (Radius 2 pix), что позволяло провести морфологическую сегментацию объекта изучения и стандартизовать изображения. На полученных масках изображений определяли ("Analyze Particles") относительную площадь (S, %) и численную плотность (N, на 400 мкм<sup>2</sup>) ЗМЯ.

Численную плотность нейронов (с переводом на 1 мм<sup>2</sup>), их относительную площадь (в %) определяли при помощи программы ImageJ 1.46-1.53 – Analyze particula.

Программа ImageJ 1.46-1.53 давала возможность полуавтоматически оценить параметры изучаемых структур (в частности, плотность клеток, их площадь) на бинарных масках изображений. Можно рассчитать размеры, площадь (исключить структуры меньше и больше заданных), численную плотность всех клеток и только нейронов (при высокой степени циркулярности на масках отражались только овальные ядра глии, эндотелиальных клеток, при низкой – только круглые ядра нормально функционирующих нейронов) [Мыщик А.В. и др., 2012].

По литературным данным, для получения достоверных результатов в ходе морфологического исследования достаточно измерений от 6 – 8 животных в группе, на 5 – 6 серийных срезах и на 5 – 10 случайных полях зрения СМК (зоны интереса) на каждом срезе [Bolon B. et al., 2006; Ooigawa H. et al., 2006].

### **Глава 3. МОРФОЛОГИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПОСЛЕ ДВУСТОРОННЕЙ ОККЛЮЗИИ ОБЩИХ СОННЫХ АРТЕРИЙ**

#### **3.1. Неокортекс, гиппокамп, миндалевидное тело головного мозга белых крыс в контроле и постишемическом периоде после 20- и 40-минутной двусторонней окклюзии общих сонных артерий**

##### **3.1.1. Особенности постишемической реорганизации нейро-глио-цитоархитектоники нервной ткани разных отделов головного мозга крыс после окклюзии общих сонных артерий**

Для выявления области изменений цитоархитектоники СМК, гиппокамп и МТ проводили исследования на уровне Bregma 2.64-4.56 (рис. 5) на фронтальных срезах толщиной 4 мкм, под светооптическим микроскопом. Согласно классификациям [Жаботинский Ю.М., 1965; Дробленков А.В. и др., 2009; Дробленков А.В., 2011; Литвинцев Б.С. и др., 2011], оценивали нормохромные, гипохромные (светлое ядро), набухшие, вакуолизированные гидропические, гипертрофированные, гиперхромные (пикноморфные, сморщенные, некробиотические гомогенизированные), тeneвидные (клетки тени в виде облачка), дегидратационные (тёмные клетки с возможным обратимым сморщиванием) клетки и поля «выпадения» нейронов. Кроме того, определяли соотношение нейронов и нейроглии.

В неокортексе сравнивали пирамидные нейроны слоя III и V, в гиппокампе – поля CA<sub>1</sub> и CA<sub>3</sub>, в МТ – средние и крупные полиморфные нейроны. При изучении нейроглии оценивали состояние астроцитов (протоплазматические, волокнистые), олигодендроцитов и микроглиоцитов.

В норме клеточные элементы СМК, CA<sub>1</sub> гиппокамп и МТ, как функционально и эволюционно разные отделы головного мозга, отличались нейроцито- и глиоархитектоникой, а также значениями нейроглиального индекса (НГИ) (рис. 6, а – г; рис. 7). На срезах, окрашенных по Нисслю, в гиппокампе нейроны располагались очень плотно, практически не разделялись нейропилем (рис. 6, б), на одну глиальную клетку приходилось 2 – 4 и более пирамидных нейронов. В структуре МТ перикарионы разделялись протяжёнными участками скопления отростков нервных клеток (рис. 6, в), на один нейрон приходилось до 3 и более глиоцитов. В СМК на один пирамидный нейрон приходилось до 2 глиоцитов (рис. 7).

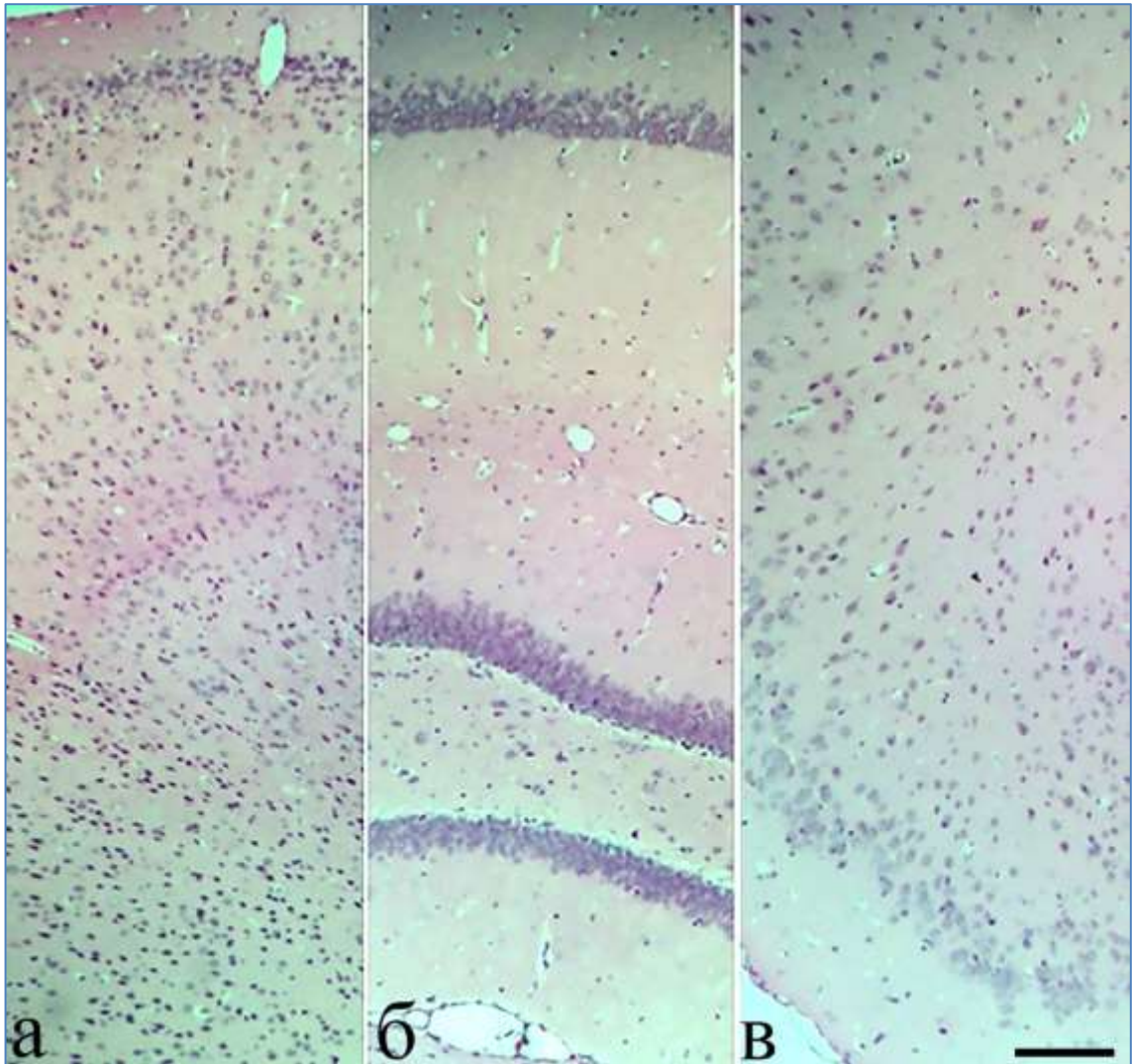


Рис. 5 – Кора (а), гиппокамп и ЗФ (б) и миндалина (в) головного мозга животных в норме. Окраска гематоксилином и эозином. Объектив  $\times 10$ , шкалы – 100 мкм.

Использованная экспериментальная двусторонняя модель острой 20-минутной ишемии не приводила к формированию крупных очагов апоптоза и некроза нервной ткани головного мозга белых крыс. Все найденные деструктивные изменения её пространственной и структурной организации носили диффузно-очаговый характер. В раннем постишемическом периоде нарушений микроциркуляции в период 1 – 3 сут в поле зрения обнаруживались не более 3–5 клеток-теней (крайняя степень проявления колликвационного некроза), более крупными были скопления гиперхромных нейронов. При исследовании срезов в течение 3 сут общая численная плотность нормохромных нейронов (подсчитывали только клетки с чётким ядрышком) статистически значимо уменьшалась во всех изученных трёх отделах головного мозга: в моторной коре – на 58,3%, в СА<sub>1</sub> гиппокампа – на 54,4% и в МТ – на 29,6% ( $\chi^2 = 28,7$ ;  $p = 0,01$ ). Наиболее полно этот показатель по количеству нейронов восстанавливался только в МТ (рис. 8).

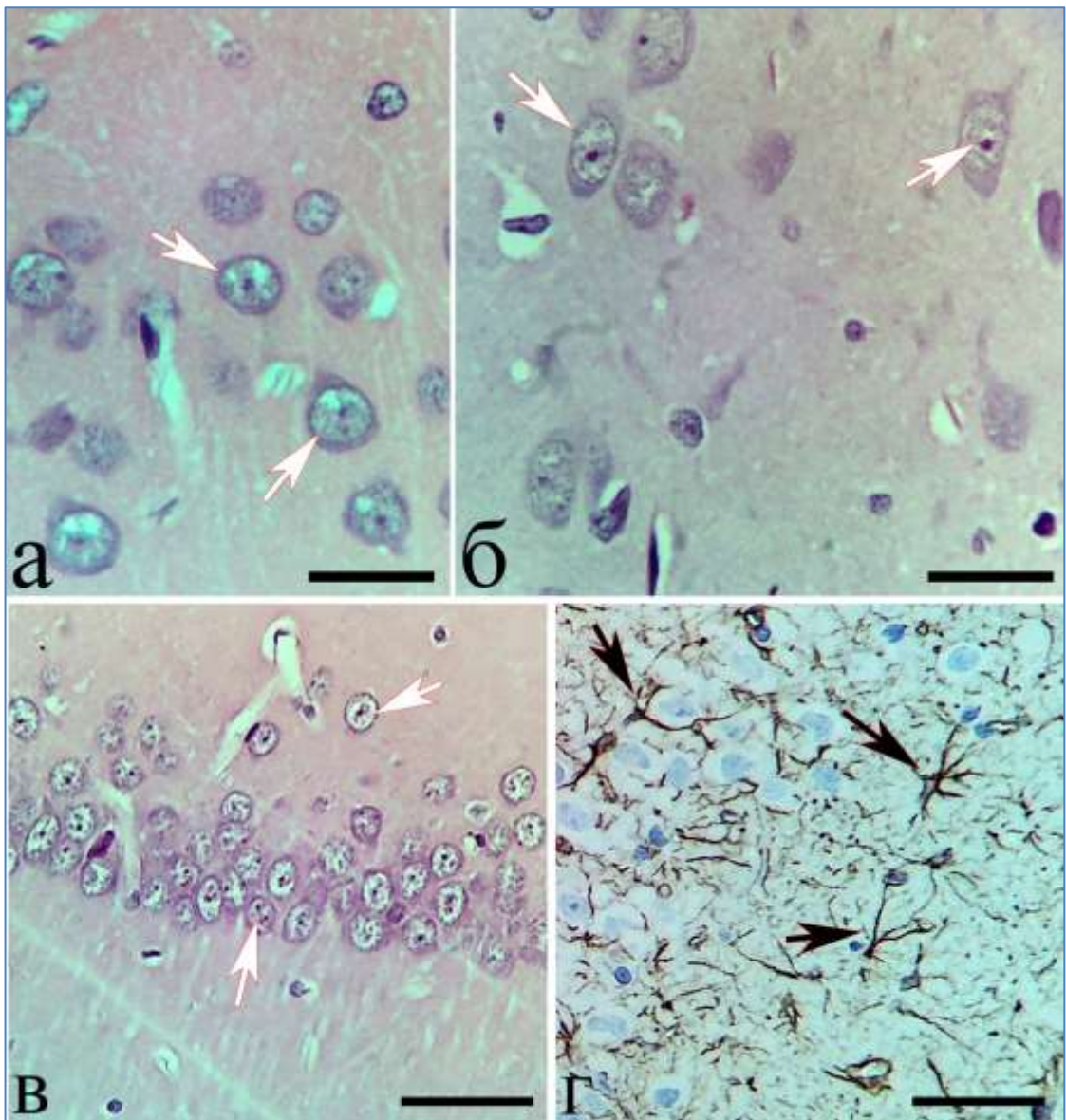


Рис. 6 – Слой III моторной коры (а), МТ (б), СА<sub>1</sub> гиппокампа (в, г) головного мозга белой крысы в норме: перикарионы нейронов (черные стрелки) и глиальные клетки (белые стрелки). Окраска по Нислю (а, б, в), иммуногистохимическое выявление GFAP (г). Объектив  $\times 100$  (а, б) и  $\times 40$  (в, г), шкалы – 20 мкм (а, б) и 50 мкм (в, г).

Перестройка нейронов сопровождалась количественной реорганизацией нейроглии. После анализа показателей НГИ изученных отделов головного мозга белых крыс в постшемический период по срокам исследования были получены следующие статистически значимые различия (рис. 7). В структуре СМК наибольшее значение НГИ отмечалось через 14 сут, а в исследуемом гиппокампе и МТ – через 7 сут реперфузии. После ишемии головного мозга увеличение НГИ происходило за счёт деления нейроглиальных клеток параллельно с утилизацией необратимо повреждённых нейронов. Последующее восстановление НГИ до уровня контроля выявлено только в МТ за счёт уменьшения количества глиоцитов (рис. 7, 8).

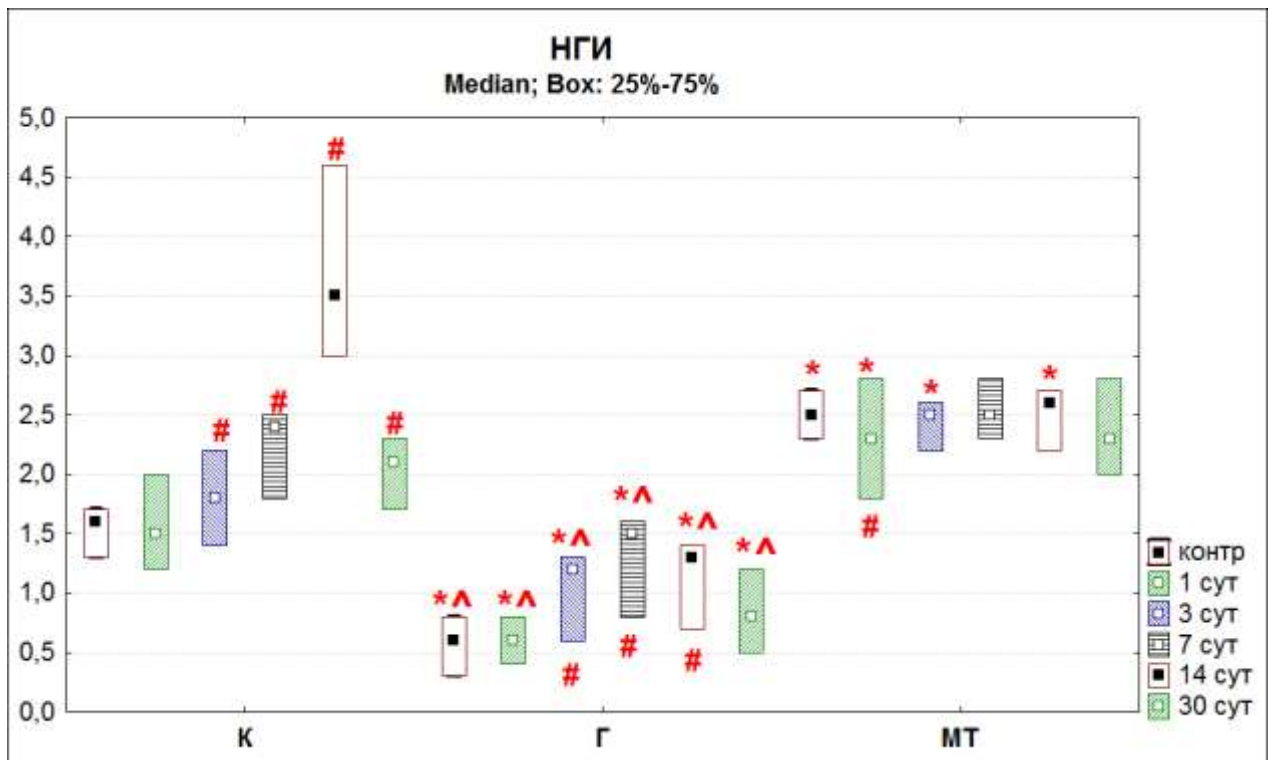


Рис. 7 – НГИ в разных отделах головного мозга белых крыс в норме и после 20-минутной ООСА. Различия в сравнении с контролем#, ССК\*, с МТ^ статистически значимы при  $p < 0,05$  (критерий Вилкоксона и Манна-Уитни). К – сенсомоторная кора, Г – гиппокамп, МТ – миндалевидное тело. Нулевая гипотеза отвергалась при  $p < 0,05$ . Материал представлен как медиана (*Me*), нижний (*Ql*) и верхний (*Qu*) квантили.

В отдалённом постинсультном периоде выявлялись нормохромные неповреждённые нейроны (рис. 9, а), а также реактивно изменённые и повреждённые тёмные нейроны (несморщенные и пикноморфные), окружённые глиальными клетками (рис. 9, б).

На исследуемых препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином и по Нисслю, видно, что перикарионы нейронов и астроцитов (свободных и сателлитных) занимали маленькую часть площади гистологического среза нервной ткани. Макрофаги подтипа ЦНС были представлены очень маленькими треугольными клетками и трудно верифицировались при светооптическом наблюдении (рис. 6, а, б, в; рис. 9, а). Наибольшую часть исследуемого поля зрения занимали отростки протоплазматических астроцитов (рис. 6, г). Так, после фрактального анализа общая площадь GFAP-позитивного материала в норме на гистологических срезах моторной коры составляла 16,2% (95% доверительный интервал: 11,4–22,1%, 200 полей зрения).



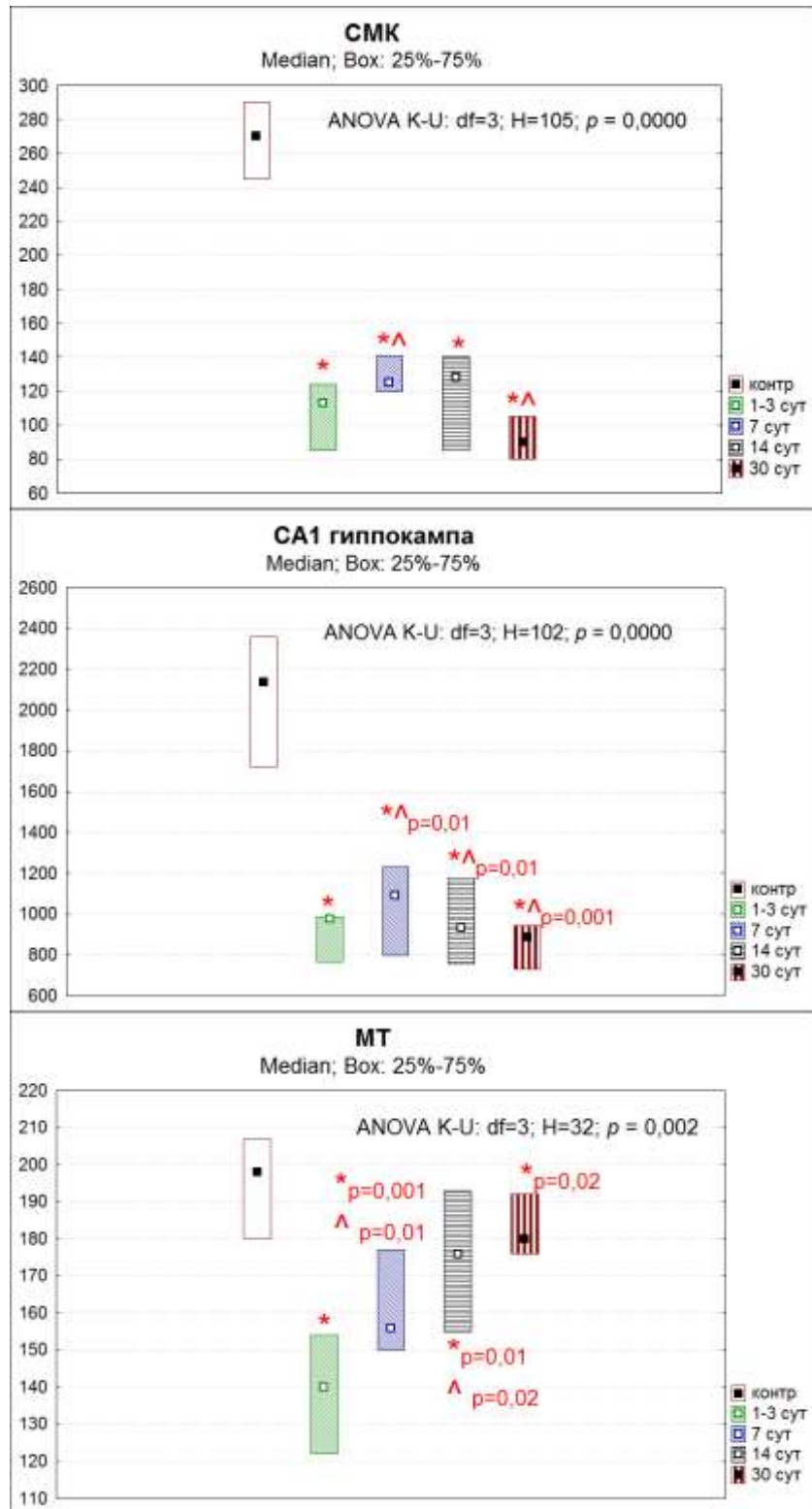


Рис. 8 – Численная плотность нормохромных нейронов (на  $\text{мм}^2$ ) в слое V CMK, CA<sub>1</sub> гиппокампа и базолатеральной группе ядер MT в постиншемическом периоде, Me (QU–QH). \*Различия статистически значимы в сравнении с ложнооперированными животными, ^ – в сравнении с предыдущим сроком (критерий Колмогорова-Смирнова). Me – медиана QU – нижний, QH QU–QH верхний квантили, ANOVA – однофакторный дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса.

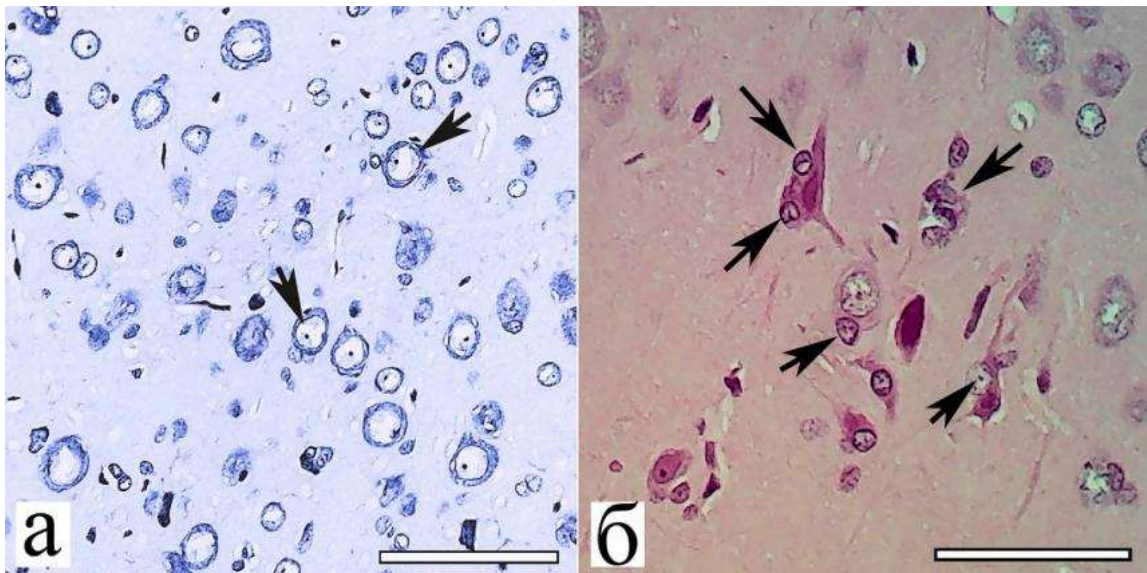


Рис. 9 – Слой V моторной коры головного мозга белых крыс в постишемическом периоде: а – высокое содержание нормохромных нейронов и клеток-сателлитов через 14 сут после ишемии; б – высокое содержание ацидофильных нейронов, локальное увеличение количества протоплазматических астроцитов (стрелки) вокруг повреждённых нейронов через 30 сут после ишемии. Окраска по Ниссля (а), гематоксилином и эозином(б). Объектив  $\times 40$ , шкала – 50 мкм.

Через 3 сут после ишемии головного мозга общая площадь частиц GFAP-позитивного материала в поле зрения слоёв III и V СМК увеличивалась до 52,2% (95% ДИ: 45,0–59,3%), достигая наибольшего для постишемического периода значения. Всё это проходило параллельно с постишемическим отёком-набуханием нервной ткани, ростом многочисленных отростков, а также активацией пролиферативных процессов глиальных клеток. Были обнаружены конгломераты (по 3 – 5) нейроглиоцитов (рис. 10, а). Через 7 и 14 сут в моторной коре общая площадь частиц астроцитов при окраске на GFAP была на уровне 3 сут, а затем через 21 и 30 сут статистически значимо снижалась, но сохранялась выше контроля соответственно на 17,5 и 12,8%.

При изучении гистологических срезов установлено, что процесс утилизации санирующей клеточной системой погибших нейронов после 20-минутной ООСА происходил на протяжении всего восстановительного периода (30 сут). Несмотря на то, что через 30 сут большая часть остатков необратимо повреждённых нейронов (перикарион и отростки) была полностью утилизирована в несколько этапов, сохранялись многообразные гиперхромные нейроны и уменьшенные тела пикноморфных нейронов с крайней степенью уменьшения количества воды (рис. 11, а, б).

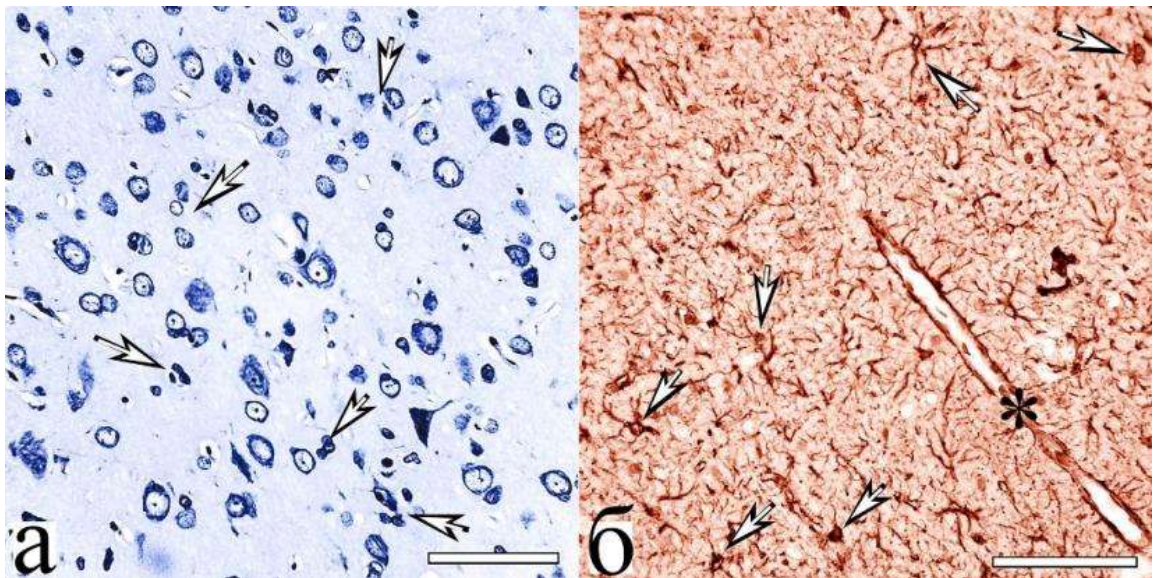


Рис. 10 – Слой V моторной коры головного мозга белой крысы через 3 сут после ишемии: а – проявления отёка-набухания, скопление глиоцитов (стрелки); б – астроциты (тела – стрелки), высокая плотность GFAP-позитивного материала в отростках протоплазматических и волокнистых астроцитов, занимают 52,2% межклеточного пространства. \* – микрососуд, окружённый отростками волокнистых астроцитов. Окраска по Ниссля (а), иммуногистохимическое выявление GFAP (б). Объектив  $\times 40$ , шкалы – 100 мкм.

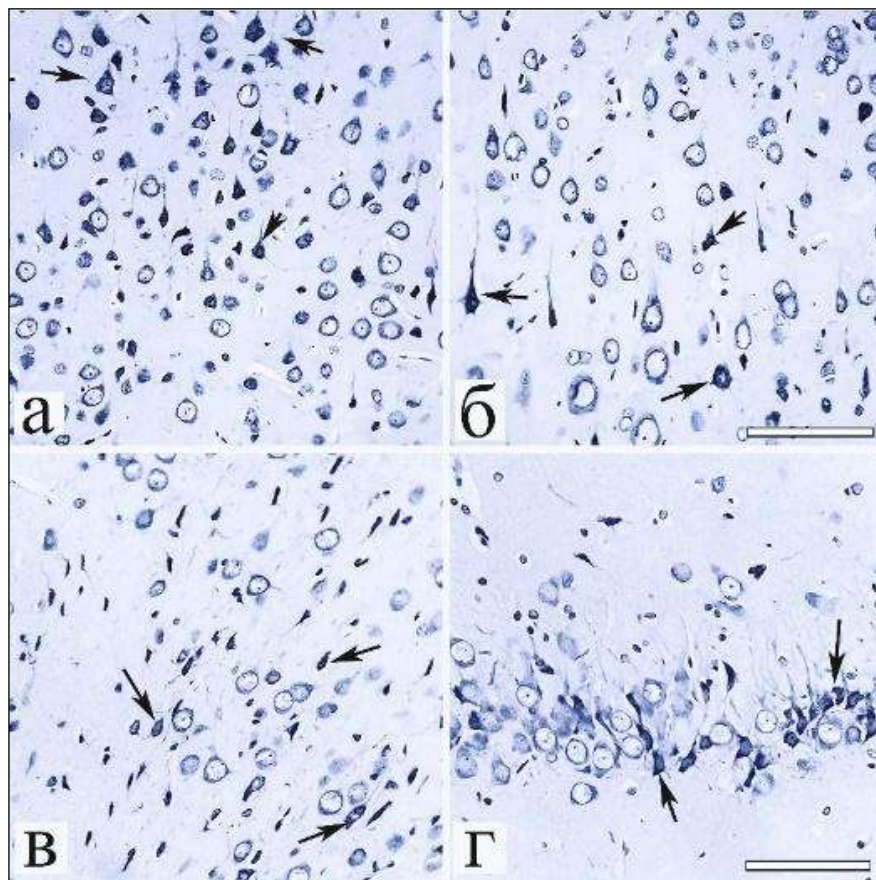


Рис. 11 – Слои III (а) и V (б) СМК, МТ (в) и гиппокамп (г) головного мозга белой крысы через 30 сут после ишемии: наличие разнообразных гиперхромных нейронов и пикноморфных нейронов с крайней степенью дегидратации (стрелки) на фоне преобладания нормохромных нейронов, большое количество глиальных клеток. Окраска по Ниссля. Объектив  $\times 40$ , шкала – 100 мкм.

На гистологических препаратах (рис. 12) показан V моторный слой коры головного мозга белых крыс в постишемическом периоде через 1 сут 40-минутной ООСА белых крыс с высоким содержанием нормохромных нейронов.

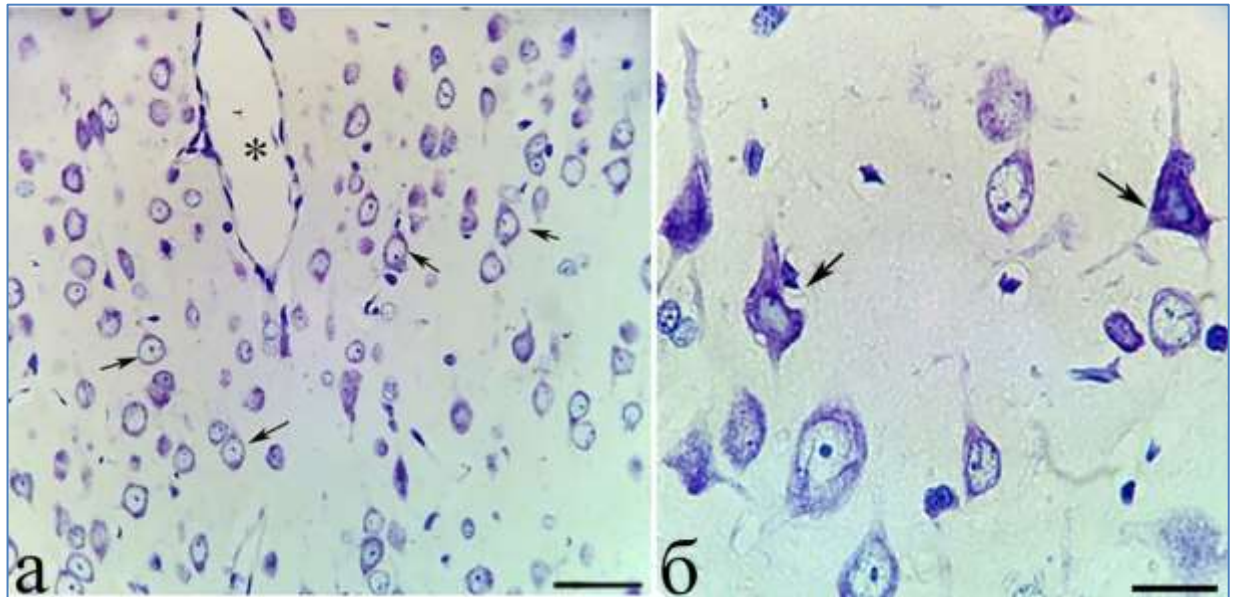


Рис. 12 – Слои III (а) и V (б) СМК головного мозга белых крыс через 1 сут после 40-минутной ООСА: а – высокое содержание нормохромных нейронов (стрелки); б – гиперхромные нейроны (стрелки). Окраска: по Нисслю. Объектив  $\times 40$  (а),  $\times 100$  (б) шкала – 50 мкм (а), 25 мкм (б).

Спустя 30 сут после двусторонней 20-минутной ООСА в слое III СМК необратимой деструкции подвергалось 21,5%, а в слое V – 19,0% нейронов (рис. 13). Дефицит нейронов в поле СА<sub>1</sub> составил 33,0%, в СА<sub>3</sub> – 17,4%, а в поле СА<sub>4</sub> – 5,3% (рис. 14). В МТ необратимой деструкции подвергалось 15,1% средних (по размеру перикариона) и 6,2% крупных нейронов (рис. 15). Таким образом, в данном анализе реорганизация межнейронных отношений после реперфузии происходила на фоне уменьшения количества нейронов. В большей степени из исследуемых структур были повреждены нейроны СА<sub>1</sub> гиппокампа и слоя III СМК.

Анализ распределение локализации синаптофизина в терминалях позволил определить особенности структуры не только синапто-, но и citoархитектоники неокортекса, архикортекса и МТ (рис. 16). Особенности СА<sub>3</sub> и, в меньшей степени, СА<sub>4</sub> было наличие гигантских синапсов на апикальных дендритах и телах пирамидных нейронов. В поле зрения фронтального среза СА<sub>3</sub> выделяется целая зона гигантских терминалей (*stratum lucidum*).

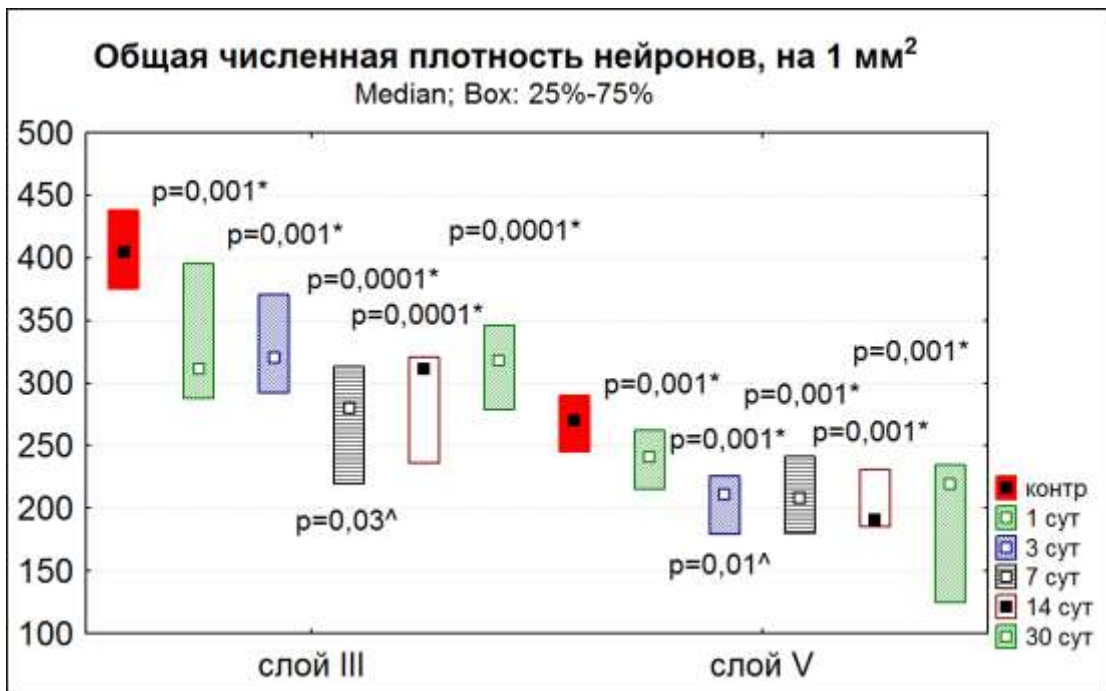


Рис. 13 – Общая численная плотность нейронов (на  $\text{мм}^2$ ) в слое III и V СМК в постишемическом периоде,  $Q_2$  ( $Q_1$ - $Q_3$ ). \*Сравнение с контрольными животными, ^ – сравнение с предыдущим сроком (критерий Манна-Уитни), между слоями (критерий Вилкоксона,  $p < 0,001$ ), между всеми сроками по слою III (ANOVA:  $df=5$ ;  $H=25,2$ ;  $p=0,03$ ), по слою V (ANOVA:  $df=5$ ;  $H=28,2$ ;  $p=0,04$ ). ANOVA – однофакторный дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса.

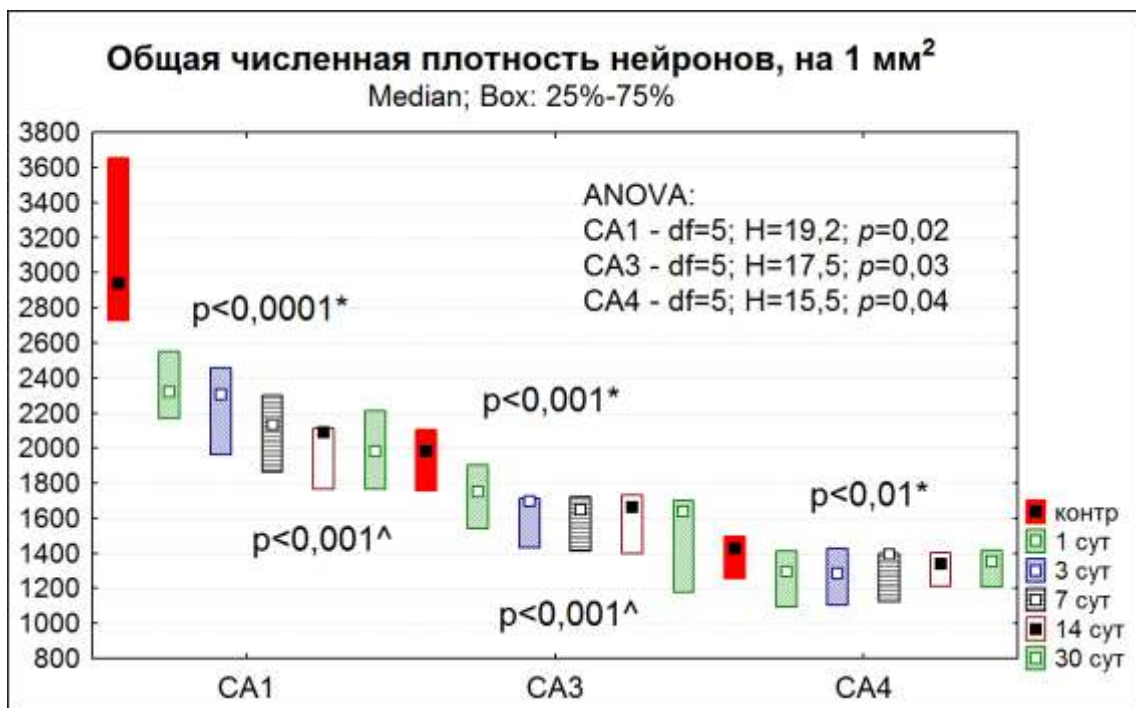


Рис. 14 – Общая численная плотность нейронов (на  $\text{мм}^2$ )  $CA_1$ ,  $CA_3$  и  $CA_4$  гиппокампа в постишемическом периоде,  $Q_2$  ( $Q_1$ - $Q_3$ ). \*Сравнение с контрольными животными, ^ – сравнение с 1 сут (критерий Манна-Уитни). ANOVA – однофакторный дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса.

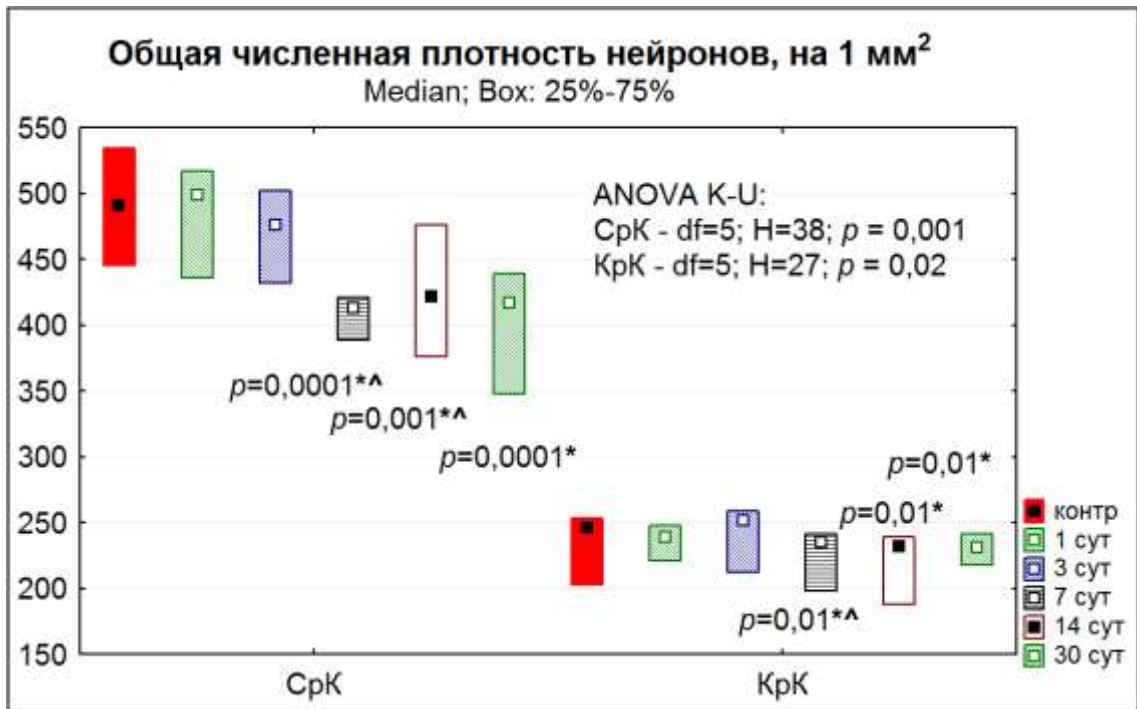


Рис. 15 – Общая численная плотность средних (CpK) и крупных (KpK) клеток (на мм<sup>2</sup>) МТ в постинсультном периоде, Q2 (Q1-Q3). \*Сравнение с контрольными животными, ^ – сравнение с предыдущим сроком (критерий Манна-Уитни). ANOVA – однофакторный дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса.

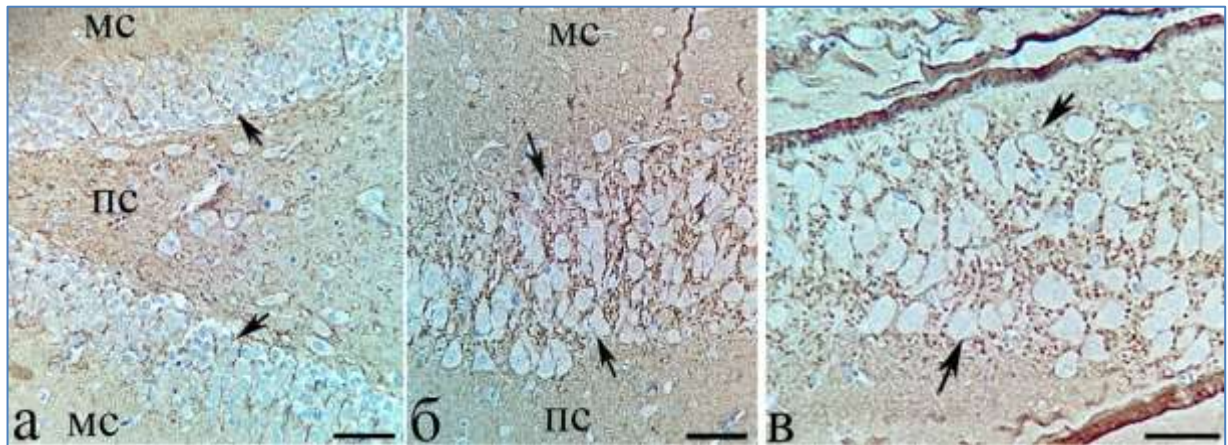


Рис. 16 – ЗФ (а), СА<sub>3</sub> (б) и СА<sub>4</sub> (в) гиппокампа головного мозга белой крысы, контроль: чётко видны контуры перикарионов и крупных апикальных дендритов, терминалы синапсов содержат метки на синаптофизин, гигантские терминалы аксонов нейронов ЗФ на дендритах и телах пирамидных нейронов. Иммуногистохимическое выявление синаптофизина. Объектив  $\times 40$ , шкала – 50 мкм.

В группе контрольных животных и после ишемии в поле СА<sub>3</sub> основная масса меченных р38 крупных аксодендритических терминалей локализовалась в зоне апикальных дендритов, а в СА<sub>4</sub> терминалы были расположены диффузно – на телах и между телами пирамидных нейронов. Также можно отме-

туть, что диаметр одной р38-положительной частицы (гигантские терминалы stratum lucidum) варьировал от 1,4 до 2,9 мкм. Это вполне достаточно для проведения точного гистологического анализа синаптоархитектоники зон расположения подобных терминалов с помощью светового микроскопа.

Важно отметить, что через 1 сут после ООСА в stratum lucidum CA<sub>3</sub> относительная площадь гистологических срезов р38-положительных терминалов статистически значимо уменьшилась в целом на 8,8% (95% ДИ: 0,59–16,9%), если сравнивать с контролем, а для структуры CA<sub>4</sub> это не выявлено. Морфологический анализ через 3, 7, 14 и 30 сут после проведенной ишемии показал, что данный показатель восстанавливался до контрольного значения, а структура распределения частиц р38-положительного синоптического комплекса не отличалась от нормы (рис. 16).

Важно обратить внимание на то, что относительная площадь окрашенных иммуногистохимическим методом р38-положительных частиц уменьшалась только в зоне дендритов CA<sub>3</sub>, а в зоне скопления тел пирамидных нейронов и в CA<sub>3</sub>, и в CA<sub>4</sub> этого не было обнаружено (рис. 17).

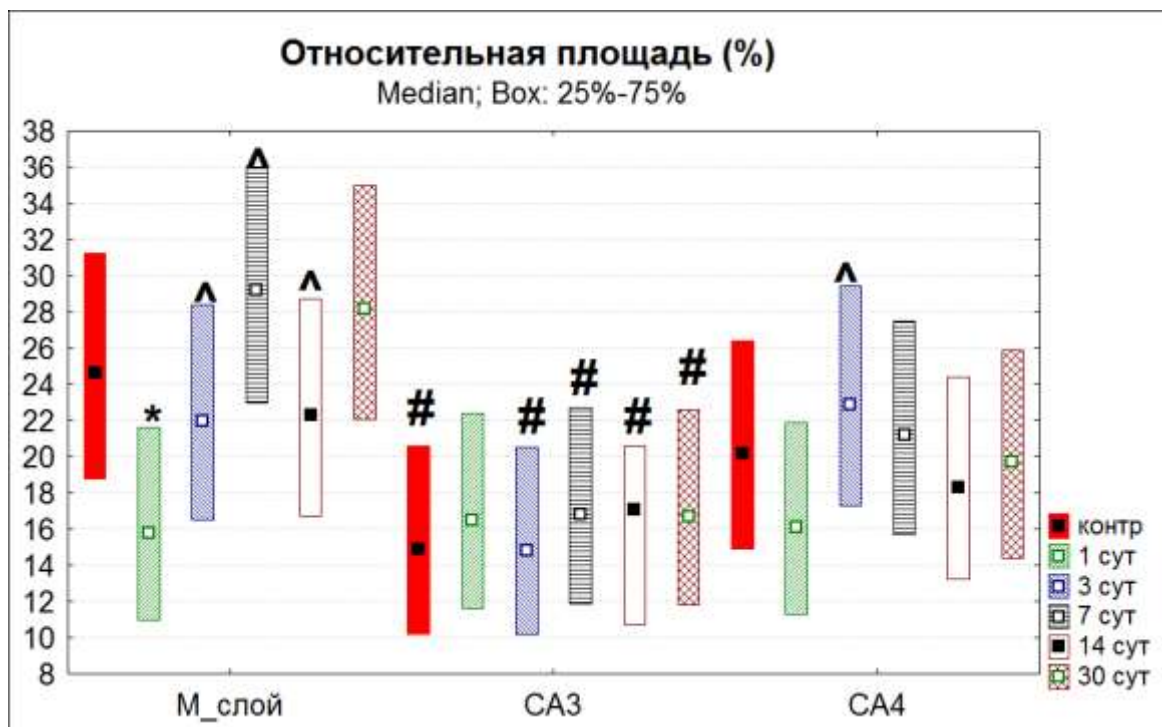


Рис. 17 – Относительная площадь (%) частиц р38-положительного материала молекулярный слой (МС) и в полях CA<sub>3</sub> и CA<sub>4</sub> гиппокампа белых крыс в норме и после восстановления кровотока (по 200 полей зрения на каждый срок). Различия статистически значимы \* – в сравнении с контролем, ^ – с предыдущим сроком, # – с молекулярным слоем при  $p \leq 0,05$  (критерий  $\chi^2$ ). 95% доверительный интервал.

Таким образом, в остром постишемическом периоде (1 сут) в поле зрения интереса СА<sub>3</sub> происходило значительное повышение доли афферентов на телах нейронов. В норме отношение апикальные дендриты/тела – 1,7 (24,6/14,9), через 1 сут – 0,96 (15,8/16,5). Всё это можно рассматривать как один из механизмов изменения межнейронных отношений в раннем периоде после острой ишемии.

В поле зрения гиппокамп (СА<sub>1</sub>), ЗФ, а также в неокортексе огромные синапсы практически не встречались (см. рис. 16).

В неокортексе и гиппокампе р38-позитивные компартментные структуры различной формы и размеров были выявлены на перикарионах нейронов, крупных апикальных дендритах и в нейропиле. При этом на гистологических препаратах чётко видны контуры тел и апикальных дендритов пирамидных нейронов (рис. 19, 20). Можно отметить, что в норме поле СА<sub>1</sub> представлено небольшими, близко расположенными в 2 – 3 ряда пирамидными нейронами. Апикальные дендриты пирамид СА<sub>1</sub> отмечались на значительном расстоянии от тел клеток в виде единого ствола. Клетки ЗФ и пирамидные нейроны СА<sub>1</sub> покрыты р38-позитивными терминалями (рис. 18, 19, 20).

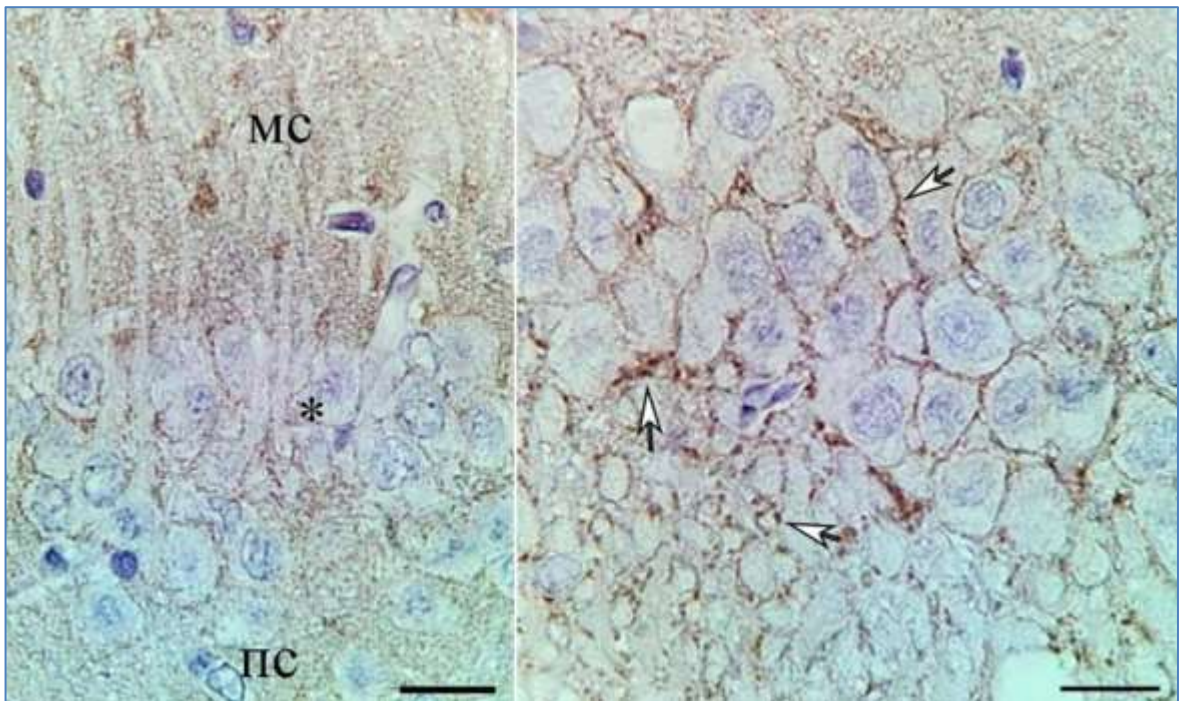


Рис. 18 – Гиппокамп головного мозга белой крысы через 1 сут реперфузии: терминалы синапсов содержат метки на синаптофизин (стрелки). а – СА<sub>1</sub>, б – СА<sub>3</sub>. Иммуногистохимическое выявление. Объектив  $\times 100$ , шкала – 20 мкм.



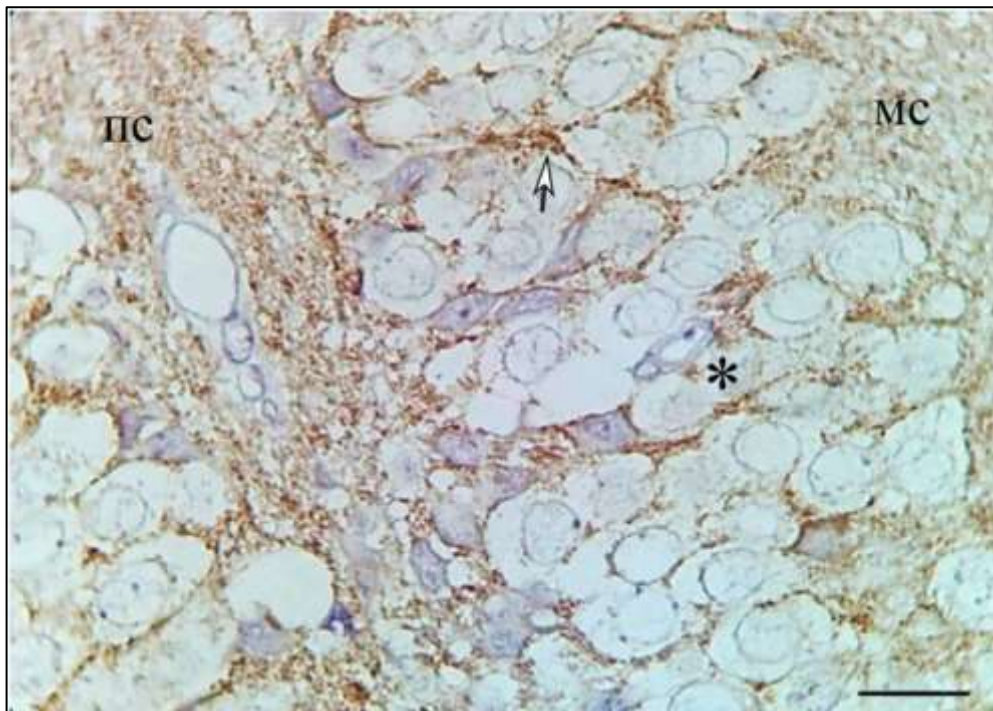


Рис. 19 – 3Ф гиппокампа головного мозга белой крысы через 7 сут реперфузии: чётко видны контуры перикарионов и гигантские терминалы аксонов нейронов 3Ф. Иммуногистохимическое выявление синаптофизина. Объектив  $\times 100$ , шкала – 20 мкм.

Обнаружено, что через 1 сут распределение терминалей в неокортексе и гиппокампе соответствовали описанному в контроле, но отмечались умеренные проявления отёка-набухания тел нейронов (рис. 19). Таким образом, через 3 и 7 сут после ООСА принципиальная структура синаптоархитектоники изученных отделов головного мозга не изменялась. Были обнаружены на гистологических срезах контуры перикарионов и крупных апикальных дендритов, терминалы синапсов содержат метки на синаптофизин, в СА<sub>3</sub> и СА<sub>4</sub> большое количество крупных терминалей (рис. 20).

Тем не менее, проведённый морфометрический анализ показал статистически значимое уменьшение относительной площади элементов р38-позитивного материала в неокортексе и гиппокампе (но не МТ) белых крыс через 1 сут после ООСА (рис. 21).

В световом микроскопе в поле зрения СА<sub>1</sub> (рис. 22, а) отличалась небольшими однотипными, плотно расположенными в 2 – 3 слоя пирамидными нейронами. Апикальные дендриты пирамид СА<sub>1</sub> обнаружены на значительном расстоянии от тела клетки в виде единого ствола, а уже через 30 сут после ишемии головного мозга общая численная плотность пирамидных нейронов на гистологических препаратах в СА<sub>1</sub> гиппокампа в отдельных местах снижалась практически в 2,0 раза (критерий Манна-Уитни,  $p = 0,001$ ).

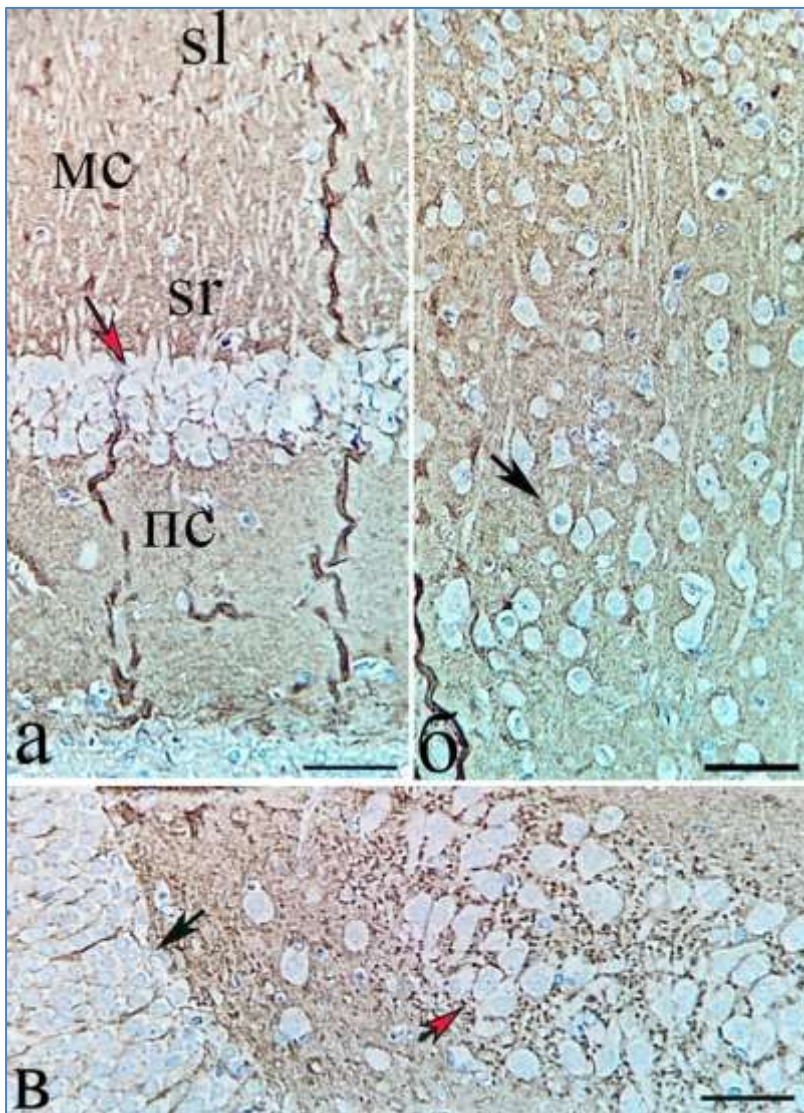


Рис. 20 – CA<sub>1</sub> гиппокампа (а), неокортекс (б), CA<sub>1</sub> (в) и CA<sub>4</sub> (в) гиппокампа головного мозга белой крысы через 7 сут реперфузии: чётко видны контуры перикарионов и крупных апикальных дендритов, терминалы синапсов содержат метки на синаптофизин (красные стрелки), отсутствуют очаги выпадения клеток и пустые зоны нейропиля. Стрелки – тела нейронов. Иммуногистохимическое выявление синаптофизина. Объектив  $\times 40$ , шкала – 50 мкм.

В структуре гиппокампа CA<sub>1</sub> нейроны располагались в виде одного слоя на гистологических препаратах (рис. 22, б); также отмечались участки полного выпадения нейронов. При всём этом сохранившиеся нейроны гипертрофировались. У данных клеток увеличивались размеры перикарионов и апикальных дендритов (рис. 22, б). Размер, а именно диаметр дендритов, варьировался от 10 до 12 мкм (в норме – 5 – 7 мкм).

Относительная площадь р38-позитивного материала в молекулярном слое (как и в неокортексе) статистически значимо не отличалась от контроля. То есть, по данным иммуногистохимической окраски на р38, после ООСА количество нейронов у крыс в неокортексе и CA<sub>1</sub> гиппокампе в течение 30 сут уменьшалось, а относительная площадь терминалей начиная с 7-х сут восстанавливалась до контрольного уровня.

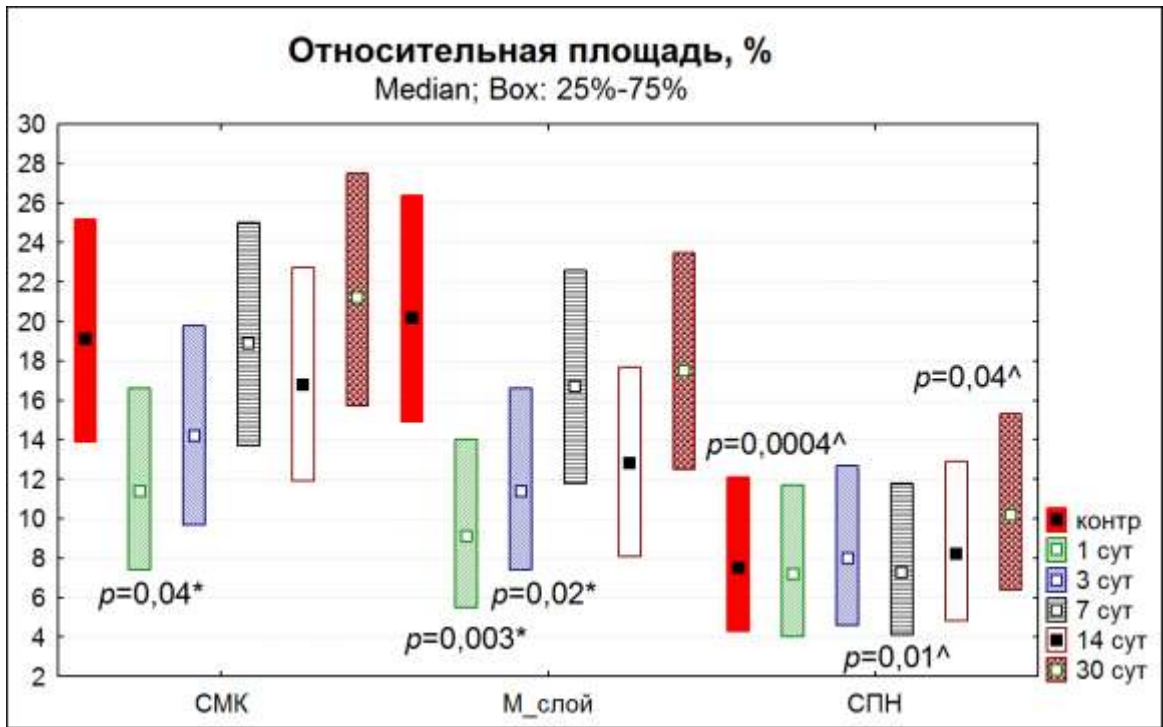


Рис. 21 – Относительная площадь (%) частиц p38-позитивного материала в неокортексе и гиппокампе белых крыс в норме и после ООСА. М-слой – Молекулярный слой, CMK, СПН – слой пирамидных нейронов. В сравнении с контролем (\*), в сравнении с молекулярным слоем (^). Различия статистически значимы при  $p \leq 0,05$  (критерий  $\chi^2$ ). 95% доверительный интервал (по 200 полей зрения на каждый срок).

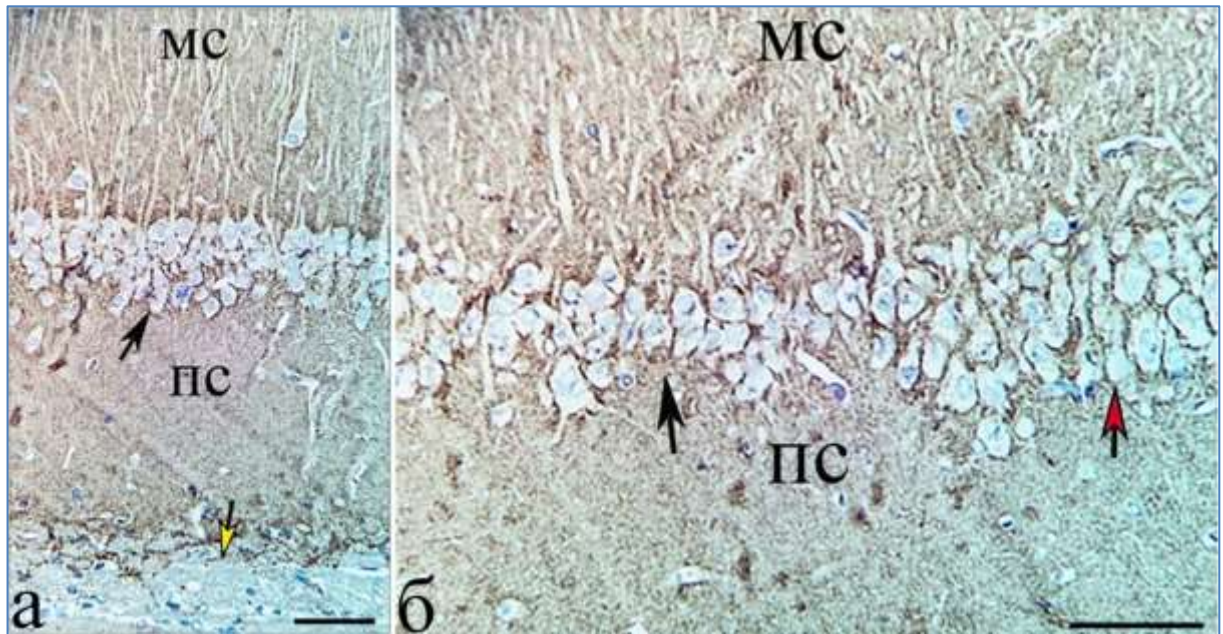


Рис. 22 – CA<sub>1</sub> и CA<sub>3</sub> гиппокампа головного мозга белой крысы через 3 (а) и 30 (б) сут реперфузии: чётко видны контуры перикарионов и крупных апикальных дендритов, терминали синапсов содержат метки на синаптофизин, уменьшение плотности, гипертрофия нейронов и апикальных дендритов через 30 сут после ишемии. Черные стрелки – нейроны CA<sub>1</sub>, красная стрелка – нейроны CA<sub>3</sub>, жёлтая стрелка – белое вещество. Иммуногистохимическое выявление синаптофизина. Объектив  $\times 40$ , шкала – 100 мкм.

Необходимо отметить, что относительная площадь р38-позитивного материала в гиппокампальной формации уменьшалась только в молекулярном слое поля СА<sub>3</sub> и СА<sub>1</sub>. Площадь аксосоматических р38-позитивных терминалей после ишемии не изменялась (рис. 21). Всё это приводило к изменению соотношения функционирующих синапсов на телах и дендритах нейронов в пользу аксосоматических, которые являются преимущественно тормозными. Вполне вероятно, что это своеобразный механизм защиты нейронов от гипервозбуждения в результате эксайтотоксического воздействия глутамата в остром постишемическом периоде.

Нарушение и снижение количества афферентных нейронов гиппокампа СА<sub>1</sub>, а, следовательно, и нарушение его функций, может быть основой дисфункции древней коры, предрасполагающей к развитию дистрофического поражения мозга. Функциональное восстановление головного мозга крыс происходит в дальнейшем за счёт активации синаптической пластичности и увеличения объёма нейронов.

### **3.1.2. Пролиферативная активность клеток нейро-глио-сосудистых комплексов головного мозга белых крыс в постишемическом периоде**

После 20-минутной ООСА головного мозга выявлена диффузно-очаговая деструктивная и репаративная структурная реорганизация СМК, гиппокампа и МТ. Через 1 и 3 сут в поле зрения обнаруживались единичные клеточки, гиперхромные и нормохромные нейроны. В срезах, окрашенных по Нислю, в течение 3 сут содержание нормохромных нейронов (в сравнении с контролем) уменьшалось во всех изученных отделах мозга: в СМК – на 58,3% ( $\chi^2 = 34,6$ ,  $p < 0,001$ ), в СА<sub>1</sub> гиппокампа – на 54,4% ( $\chi^2 = 23,8$ ,  $p < 0,001$ ) и в МТ – на 29,6% ( $\chi^2 = 48,9$ ,  $p < 0,001$ ). Значимые различия выявлены при сравнении МТ и СМК ( $\chi^2 = 8,2$ ,  $p = 0,001$ ), МТ и гиппокампа ( $\chi^2 = 7,0$ ;  $p = 0,001$ ). Содержание нормохромных нейронов в СМК и гиппокампе не различалось ( $\chi^2 = 1,1$ ;  $p = 0,27$ ).

Таким образом, при изучении гистологических срезов головного мозга крыс в остром периоде после ишемии 30–60% нейронов подвергались реактивным и некробиотическим изменениям. В итоге, общая численная плотность нейронов в СМК и гиппокампе, в сравнении с контролем, статистически значимо снижалась. Так, у контрольных животных в слое V СМК (на 1 мм<sup>2</sup> поля зрения) выявлялось 279,8 (246,2–291,5) нейронов, а через 3 сут после ишемии – 233,2

(214,6–267,8) ( $p < 0,01$ ). В СА<sub>1</sub> гиппокампа было выявлено соответственно 2136,5 (1722,4–2357,5) и 1709,2 (1507,5–2062,3) клеток ( $p < 0,01$ ). В МТ статистически значимых изменений общей количественной концентрации нейронных клеток через 3 сут после ишемии выявить не удалось: контроль – 199,8 (167,3–216,5), через 3 сут – 173,2 (152,5–208,2) ( $p > 0,05$ ) (критерий Манна-Уитни). Динамика выявленных изменений отмечалась в течение 3 сут (ANOVA Фридмана,  $p < 0,05$ ), различия выявлены между отделами в контроле и по срокам исследования (ANOVA Краскела-Уоллиса,  $p < 0,01$ ).

Изменения нейронов сопровождались структурной реорганизацией нейроглии и представлены увеличением нейроглиального индекса через 3 сут – в 1,2–1,5 раза ( $\chi^2 > 8,2$ ;  $p < 0,01$ ). Так, при помощи окраски на GFAP, общая площадь частиц позитивного материала астроцитов в контроле на срезах СМК составляла 16,2% (95% ДИ: 11,4–22,1%), а через 3 сут после ишемии этот показатель в СМК увеличивалась до 52,2% (95% ДИ: 45,0–59,3%;  $\chi^2 = 10,2$ ,  $p < 0,001$ ). В гиппокампе – соответственно 8,1% (95% ДИ: 4,7–12,8%) и 16,2% (95% ДИ: 4,8–12,8%;  $\chi^2 = 3,4$ ,  $p = 0,02$ ); в МТ – 12,6% (95% ДИ: 8,3–18,0%) и 21,2% (95% ДИ: 16,6–28,6%;  $\chi^2 = 3,2$ ,  $p = 0,03$ ).

Гипертрофия зрелых астроцитов проявлялась в увеличении объёма тела, степени разветвления, длины их отростков (рис. 23, б), также наблюдалась активация пролиферативных процессов соседних клеток. На фронтальных гистологических срезах появлялось большое количество Ki-67-позитивных глиальных клеток (рис. 23, а, б, в). В контроле отмечались единичные Ki-67-позитивные глиальные клетки.

С помощью окраски на GFAP были выявлены единичные клетки и конгломераты пролиферирующих глиоцитов с высокой плотностью в ядре меток к Ki-67 (рис. 23, б; 24, а). Особенно это было характерно для белого вещества головного мозга и олигодендроглиоцитов. Данные клетки выявлялись в виде цепочек между нервными волокнами (рис. 24, б).

При изучении в сером веществе СМК содержание пролиферирующих Ki-67-позитивных клеток (астроцитов) с интенсивным окрашиванием ядра через 3 сут статистически значимо увеличивалось (по сравнению с контролем) до 18,6% (95% ДИ: 13,5–24,7%) от всех глиоцитов, а в гиппокампе и МТ – соответственно до 7,5% (95% ДИ: 4,3–12,1%) и 10,7% (95% ДИ: 6,8–15,9%).

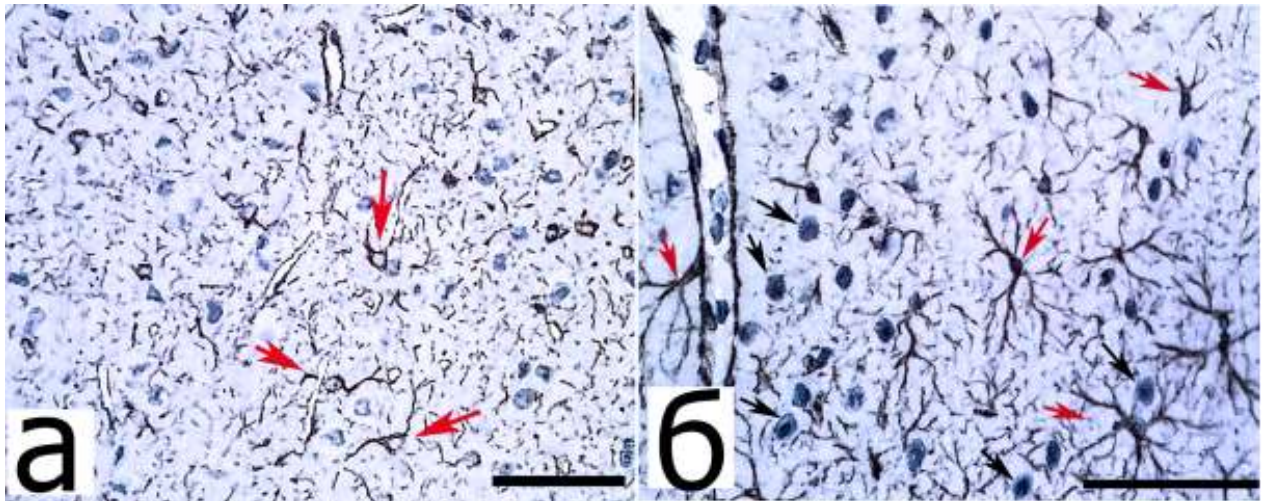


Рис. 23 – Глиальные клетки (тела и отростки, коричневый цвет, отмечено красными стрелками) слоя III СМК головного мозга белой крысы в постишемическом периоде (а – 6ч, б – 3 сут): гипертрофия астроцитов через 3 сут реперфузии. Нейроны между глиальными клетками отмечены черными стрелками. Иммуногистохимическое выявление, моноклональные антитела к глиальному кислому фибриллярному белку. Объектив х40, шкала – 50 мкм.

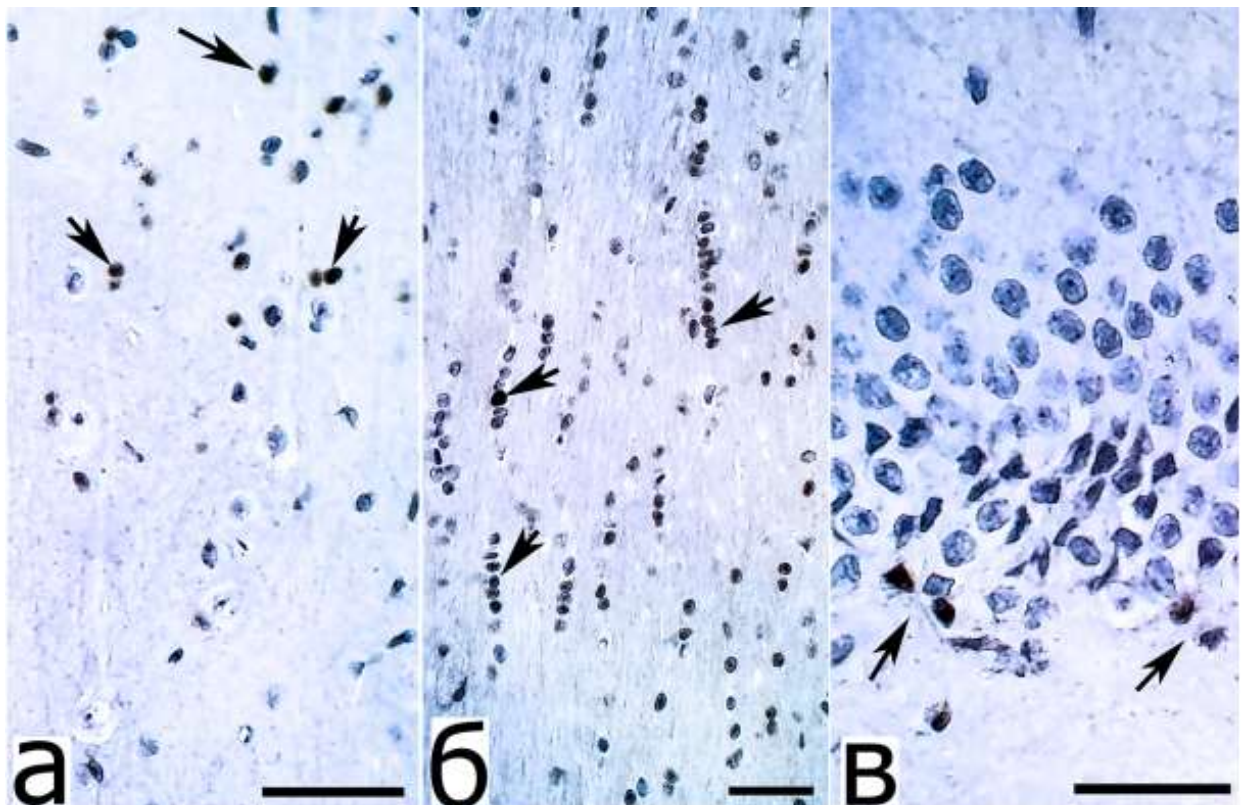


Рис. 24 – СМК, белое вещество и ЗФ головного мозга белой крысы через 3 сут постишемического периода: пролиферация астроцитов (а, б, в), олигодендроглиозитов (б) и нейронов (в). Ki-67-позитивные ядра отмечены стрелками. Иммуногистохимическое выявление, моноклональные антитела к Ki-67. Объектив х40, шкала – 50 мкм.

Через 6 ч и 1 сут после ишемии головного мозга на фоне отёка-набухания нервной ткани гипертрофии (GFAP) и пролиферации (Ki-67) астроцитов не отмечено (рис. 23, а).

Также следует отметить, что в нейронах СМК, СА<sub>1</sub>-СА<sub>4</sub> гиппокампа и МТ (в контроле и в течение 3 сут после ООСА) пролиферативные процессы не активировались – Ki-67-позитивные ядра нейронов не выявлялись. Метка после окраски локализовалась только в ядрах глиальных клеток и очень редко – в перницитах. Однако визуально в ЗФ гиппокампа среди зернистых нейронов были обнаружены небольшие единичные меченные антителами к Ki-67 ядра, по размерам соответствующие этим нейронам (рис. 24, в).

В III слое новой коры головного мозга белой крысы в постишемическом периоде отмечалась гипертрофия многих звездчатых астроцитов через 3 сут реперфузии (рис. 25).

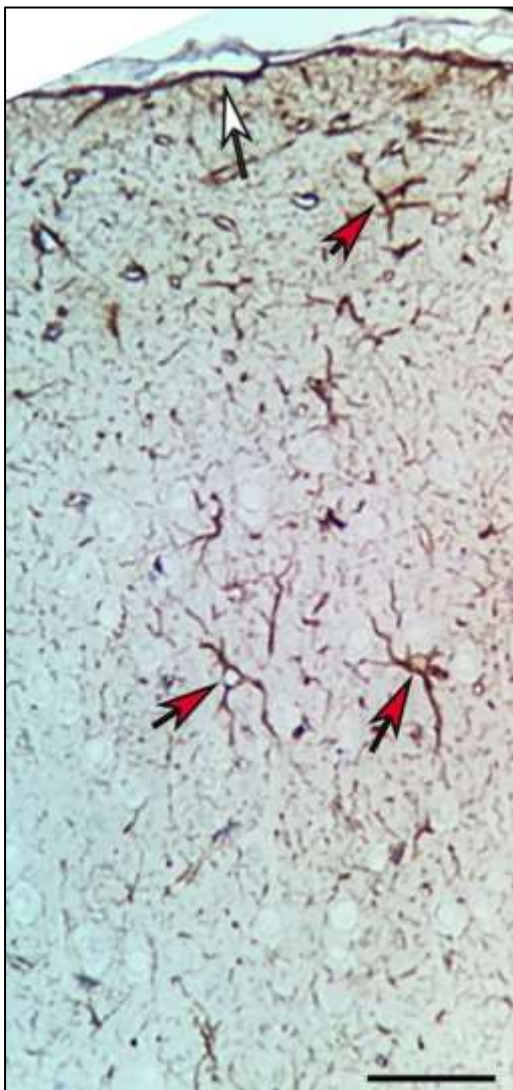


Рис. 25 – Глиальные клетки (тела и отростки, коричневый цвет, отмечено красными стрелками) слоя III СМК головного мозга белой крысы в постишемическом периоде (а – 3 сут): гипертрофия астроцитов через 3 сут реперфузии. Нейроны между глиальными клетками отмечены черными стрелками. Иммуногистохимическое выявление, моноклональные антитела к глиальному кислому фибриллярному белку. Объектив х40, шкала – 50 мкм.

### 3.1.3. Тинкториальные свойства клеток нервной ткани и тёмные нейроны в аспекте нейроглиальных взаимоотношений после острой ишемии

Наименьшее содержание артефактных тёмных нейронов (АТН) в СМК головного мозга контрольных белых крыс Wistar отмечалось при соблюдении следующей схемы забора материала: 1) наркоз при помощи Zoletil 100; 2) быстрый доступ для транскардиальной перфузии через систему кровообращения; 3) перфузия осуществлялась сначала физиологическим раствором; 4) последующая перфузия 4% параформальдегидом; 5) аккуратное вскрытие и осторожное извлечение фиксированного головного мозга крысы; 6) дальнейшая дофиксация в течение 12 ч в аналогичном растворе. Нарушение хотя бы одного из вышеперечисленных правил вело к появлению полей (разной формы и размеров) равномерно расположенных мноморфных АТН (рис. 26, а, б). При перфузионной фиксации головного мозга, на фоне неизменённой структуры нейропиля, в большей степени преобладали типичные нормохромные нейроны с выраженным круглым светлым ядром, содержащим узкий ободок базофильного вещества Ниссля и крупное ядрышко.

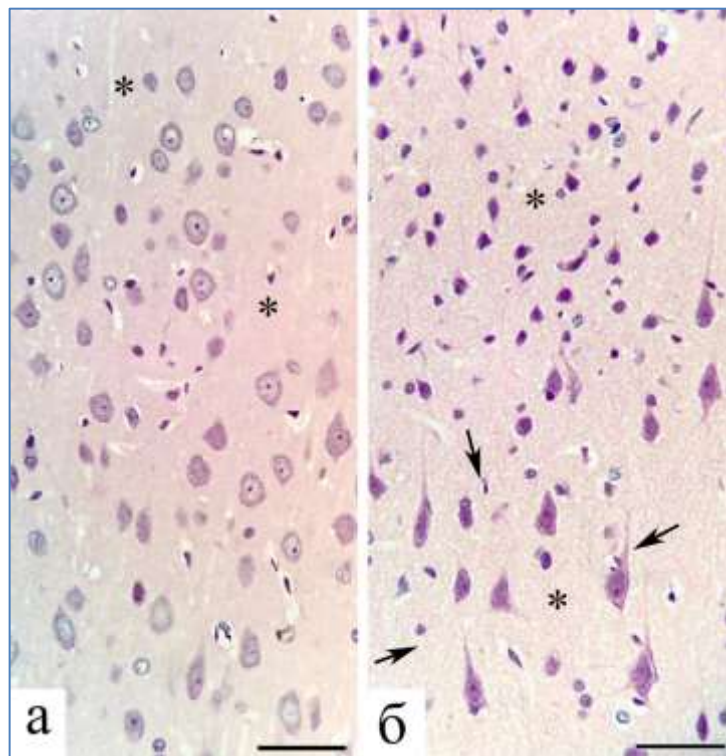


Рис. 26 – СМК головного мозга (слои II-III; контроль): равномерное распределение мноморфных нормохромных (а, фиксация перфузией) и АТН (б, иммерсионная фиксация). Стрелки – тёмные нейроны, \* – нейропил. Окраска гематоксилином и эозином. Объектив:  $\times 40$ , шкала – 50 мкм.



Полужидкое содержимое таких нейронов имело бледно-розовое окрашивание, сопровождающееся слабой эозинофилией. При данной методике АТН практически не выявляли (рис. 27). Для АТН, возникающих при иммерсионной фиксации, были характерны снижение площади сечения тела нейрона в 1,57 (1,52–1,65) раза (критерий Манна-Уитни;  $p=0,001$ ), его деформация, изменение округлой формы ядра. На гистологических препаратах наблюдалось значительное увеличение степени эозинофилии ядра и цитоплазмы; при этом сохранялись чёткие контуры ядра и ядрышка, их базофильные структурные элементы (рис. 27). При иммерсионной фиксации из 25 случайных полей зрения коры контрольных животных в 17 были обнаружены поля АТН, а при использовании перфузионной фиксации – только в 6 ( $\chi^2=8,1$ ;  $p=0,01$ ).

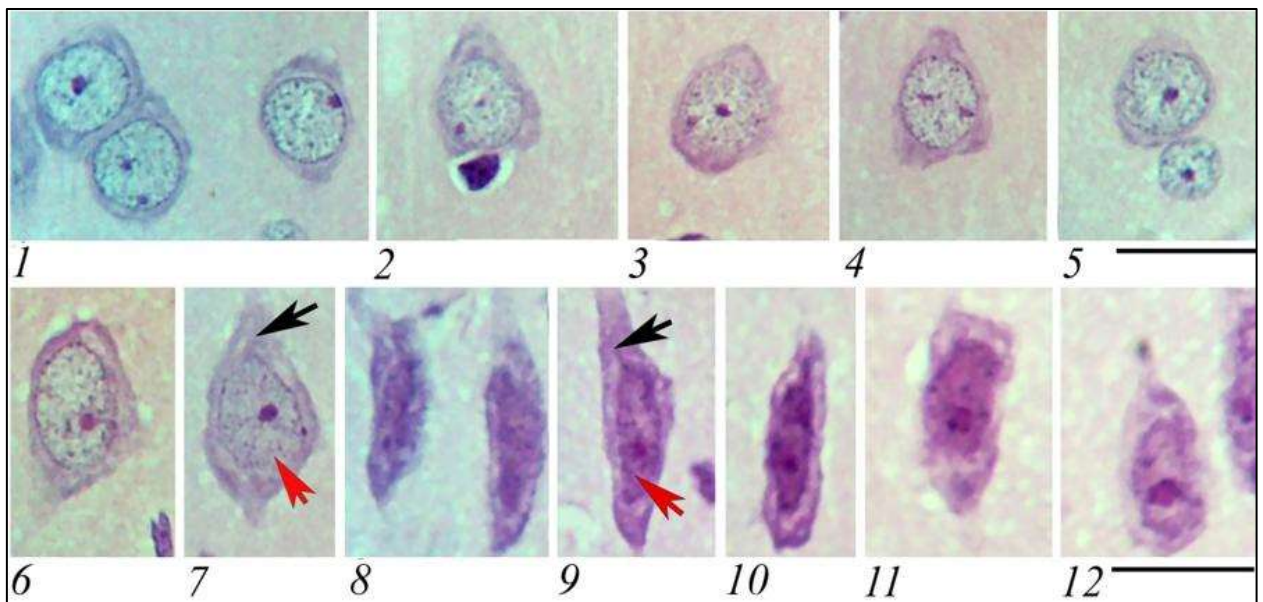


Рис. 27 – Пирамидные нейроны СМК головного мозга (слои III и V; контроль) при перфузионной (1–7) и иммерсионной (8–12) фиксации: нормохромные (1–7) и АТН (8–12) нейроны. Черные стрелки – цитоплазма, красные стрелки – ядра. Окраска гематоксилином и эозином. Объектив:  $\times 100$ , шкала – 20 мкм.

Крайне редко в поле зрения (1 – 2) после иммерсионной и перфузионной фиксации прижизненных структур в коре контрольных крыс встречались АТН с выраженной обезвоживанностью нервной ткани, сильным сморщиванием тел нейронов, изменённых до штопорообразных дендритов, и распад клеточного ядра нейрона на части.

При помощи плагина Color inspector 3D, ImageJ 1.53 изучен пиксельный состав цветных изображений контрольных нейронов, АТН и дегенеративных темных нейронов (ДТН) исследование показало, что между ними обнаружено

графическое пространственное различие. На гистологических изображениях обнаружено, что для АТН и ДТН было характерно выраженное красное смещение (рис. 28, а, б, в). При этом АТН и ДТН имели схожее распределение пикселей с характерным цветом (рис. 28, б, в). Однако у ДТН обнаружено уменьшение количества синих пикселей в 3D пространстве. Вероятно, что это связано с частичным разрушением базофильного вещества в некоторых ДТН.

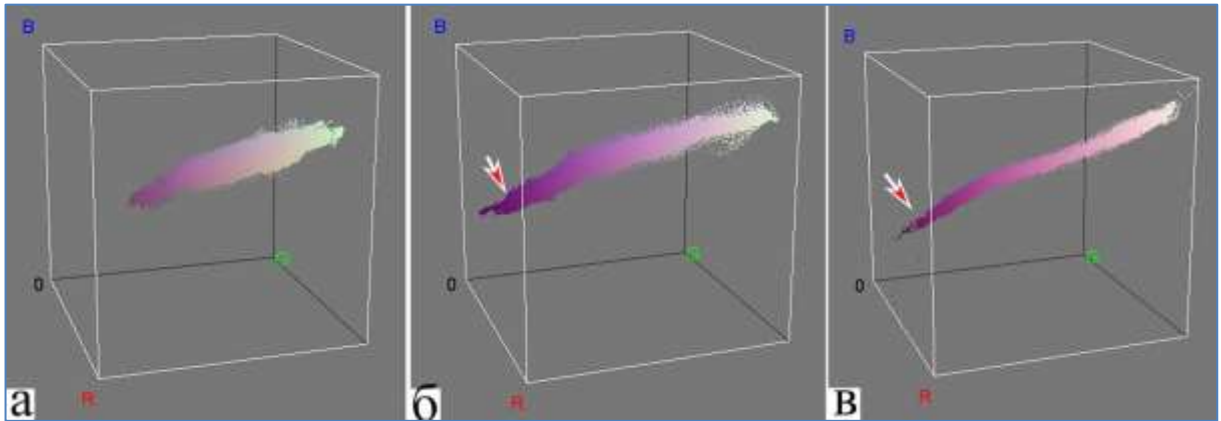


Рис. 28 – Пространственное распределение пикселей цветных (RGB) изображений нормохромных (а), артефактных (б) и прижизненно дегенеративно изменённых (в) пирамидных нейронов СМК головного мозга (слой V) при перфузионной (а, в) и иммерсионной (б) фиксации: артефактные и дегенеративно изменённые тёмные нейроны имеют выраженное красное смещение (стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Объектив:  $\times 100$ .

Таким образом, при воспроизведении эксперимента некоторые АТН по морфологии и тинкториальным признакам и свойствам похожи на ДТН и могли повлиять на итоговый анализ и их верификацию. Вполне возможно, что изменения морфологической картины нервной ткани накладывались на прижизненные проявления нейродегенерации и усиливали их путём дегидратации цитоматрикса. В связи с этим для более точного гистологического анализа ДТН в период острой церебральной ишемии целесообразно использовать перфузионный метод фиксации головного мозга крыс, который во много раз снижает вероятность образования АТН при ещё одном условии бережного обращения с пробами исследуемого материала.

Через 1, 3 и 7 сут после 40-минутной ООСА обнаруживалось большое количество ТН, которые можно было отнести к ДТН (рис. 29, а, б, в). В поле зрения преобладали обратимо изменённые ДТН без признаков глубоких разрушений ядра и структуры цитоплазмы, с сохранённым ядрышковым аппаратом, а также умеренным уменьшением объёма тела нейрона.

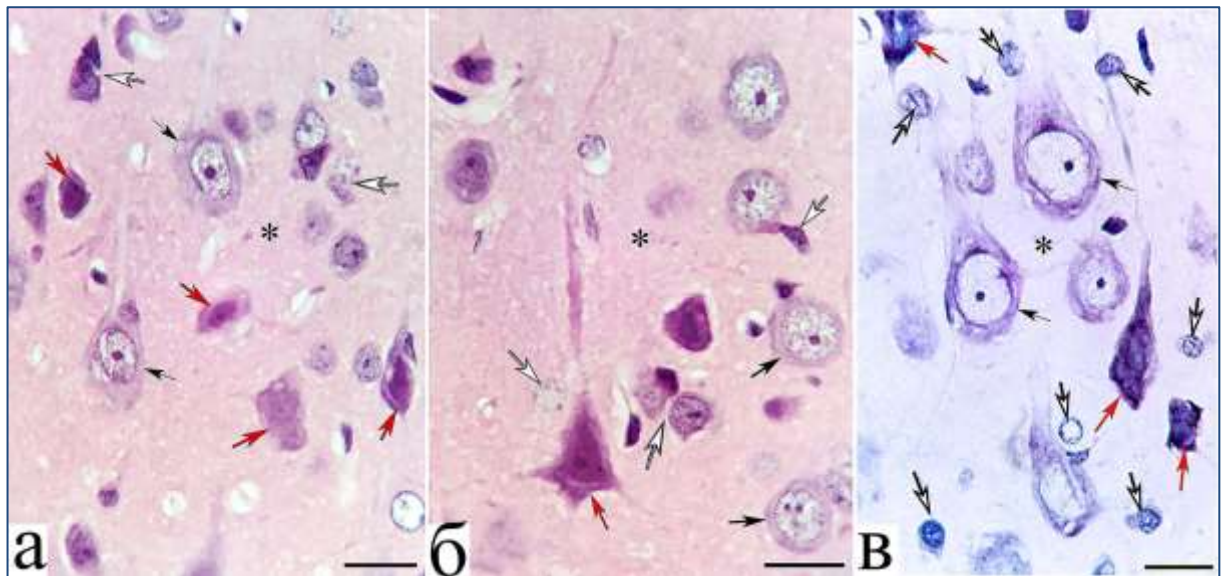


Рис. 29 – Пирамидные нейроны слоя V СМК головного мозга через 1 (а, б) и 7 сут (в) после 40-минутной ООСА: высокая плотность изображения ДТН, гетероморфность нормохромных (черные стрелки) и ДТН (красные стрелки), большое количество глиальных клеток (белые стрелки). Окраска гематоксилином и эозином (а, б), по Нисслю (в). Объектив:  $\times 100$ , шкала – 20 мкм.

Анализ прижизненной дегенерации нейронов головного мозга, которую в литературе при окраске гематоксилином и эозином отмечают как «красные мёртвые нейроны», «острые пикноморфные нейроны», «эозинофильная дегенерация нейронов», выявил выраженное уменьшение объёма тел нейрона, интенсивную эозинофилию ядра и цитоплазмы, утрату в большей степени базофильного вещества, а также появление нейронов с мелкими сморщенными тёмно-окрашенными пикнотическими ядрами и исчезновением контуров ядра (рис. 29, а, б, в). Для некоторых таких ДТН было характерно уменьшение степени неоднородности распределения химических веществ в ядре и цитоплазме (рис. 29, в).

После 40-минутной ООСА в СМК отмечены признаки вакуолизации перикарионов ДТН, дендритов и отростков астроглии нейропиля (рис. 30, а, б). У контрольных крыс Wistar выявлена низкая степень гидратации нервной ткани коры – относительная площадь зон отёка-набухания составила 5,4% (2,8–7,9) поля зрения. Через 1 сут этот показатель увеличился до 17,6% (11,5–18,7) (Mann-Whitney U Test,  $p=0,0001$ ), а через 3 сут очаги отёка-набухания охватывали лишь 13,4% (9,4–15,2), через 7 сут – 13,2% (11,5–17,2) коры, статистически значимое отличие от контроля (Mann-Whitney U Test,  $p=0,001$ ).

Можно также отметить значительную гетероморфность гидропических изменений в нейропиле нервной ткани вокруг нейронов и сосудов. Преобладающий объём зон отёка-набухания связан с нейропилем (дендриты, синапсы,

отростки астроцитов) и микрососудами (отростки астроцитов). Только лишь для единичных структур, как правило, пикноморфных ДТН, отмечены проявления перичеллюлярного отёка. Было замечено, что соседние ДТН, в отличие от АТН, обычно находились на разных стадиях дегенерации.

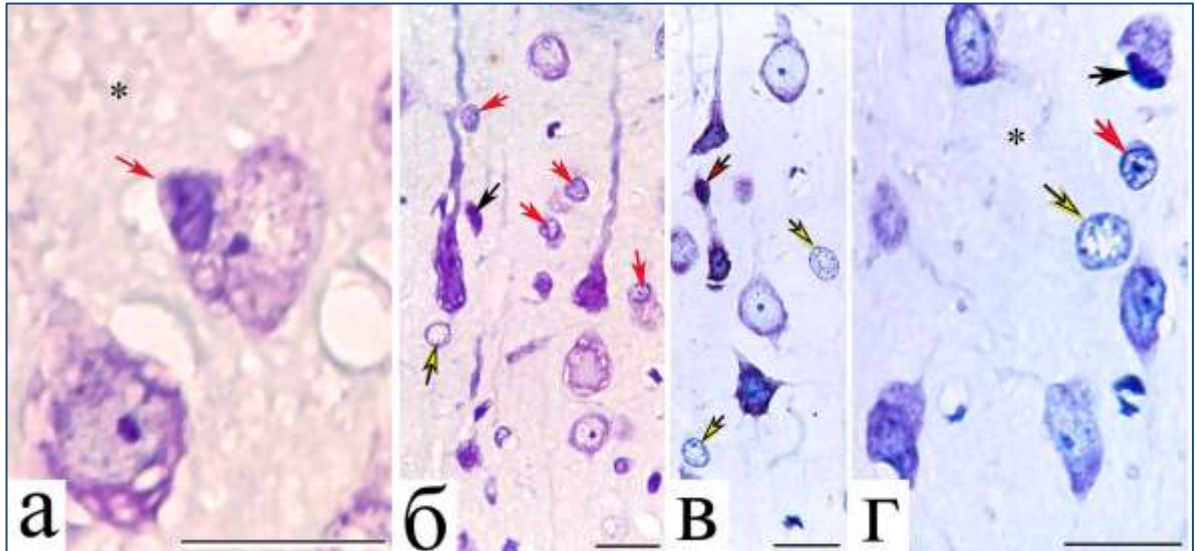


Рис. 30 – Пирамидные нейроны слоя III СМК головного мозга через 3 (а, б) и 7 сут (в, г) после 40-минутной ООСА): вакуолизация перикарионов и нейропиля (а, б), разные стадии дегенерации соседних тёмных нейронов (б, в), высокое содержание астроцитов (жёлтые стрелки), микроглиоцитов (черные стрелки) и олигодендроцитов (красные стрелки). \* – нейропиль. Окраска гематоксилином и эозином (а, б), по Нисслю (в, г). Объектив:  $\times 100$ , шкала – 20 мкм.

После ООСА при анализе срезов, окрашенных гематоксилином и эозином, по Нисслю, ДТН имели разную степень дегидратации тел нейронов, деструкции его структурных элементов, гидропической дистрофии (рис. 29, б, в). В большей степени и, как правило, в зоне дегенеративной альтерации нейронов увеличивалось количество астроцитов, микроглиоцитов и олигодендроцитов (рис. 29).

Общая численная плотность пирамидных нейронов с видимым ядрышком в слое III контрольных белых крыс была больше, чем в слое V СМК. После 40-минутной ООСА для слоя III ( $H=22,4$ ;  $df=2$ ;  $p=0,001$ ) и слоя V ( $H=15,2$ ;  $df=2$ ;  $p=0,004$ ) между сроками (1 – 3 – 7 сут) выявлены статистически значимые различия по данному показателю (ANOVA Kruskal-Wallis). Через 7 сут в слое III, по сравнению с контролем, это значение уменьшалось на 26,4% ( $p=0,001$ ), а в слое V – на 18,5% (Mann-Whitney U Test;  $p=0,01$ ). Упорядоченная выборка имела большой интерквартильный разброс, что свидетельствовало об очаговой гетерогенности процесса повреждения и элиминации нейронов (рис. 31).

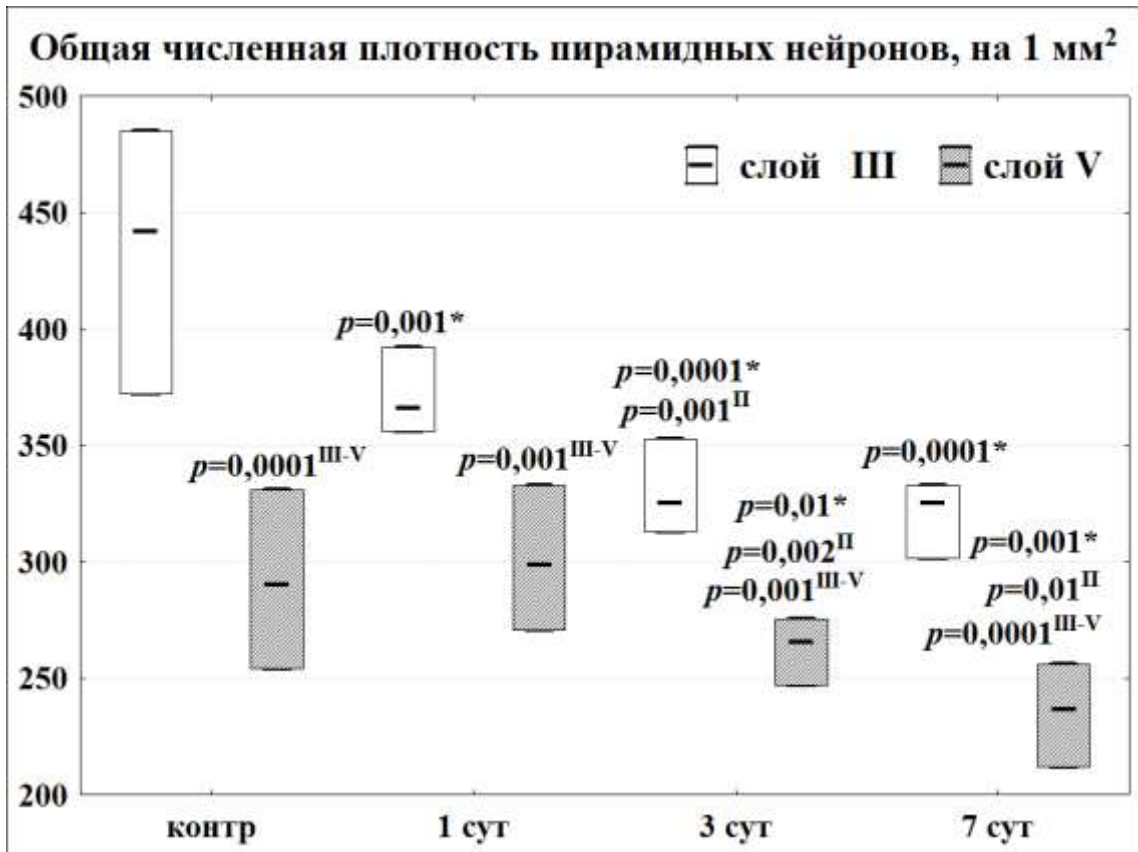


Рис. 31 – Общая численная плотность (на 1 мм<sup>2</sup>) пирамидных нейронов в СМК (слои III, V) белых крыс в норме и после 40-минутной ООСА.

Примечание. \* – сравнение с контролем, II – с предыдущим сроком, III-V – между слоями (Mann-Whitney U Test). Различия статистически значимы при  $p < 0,05$ . Материал представлен как медиана и межквартильный размах.

При светооптическом исследовании фронтальных срезов максимально высокое содержание ДТН отмечено через 3 и 7 сут после ООСА в слое V (табл. 9). При этом доля пикноморфных нейронов в остром периоде через 1–3 сут в слое III составила 8/200, в слое V – 13/200, а через 7 сут была больше, чем в остром периоде – 19/200 ( $\chi^2=3,9$ ;  $df=1$ ;  $p=0,046$ ) и 28/200 ( $\chi^2=5,3$ ;  $df=1$ ;  $p=0,021$ ) соответственно. Таким образом, модель 40-минутной ООСА является моделью неполной ишемии головного мозга крыс средней степени тяжести.

Можно также отметить, что необратимая деструкция нейронов после 40-минутной ООСА носила диффузно-очаговый характер, проявлялась выраженным дефицитом общей численной нейронов в слое III коры. Скорее всего, что после ишемии головного мозга быстрее разрушались мелкие пирамидные нейроны слоя III, а крупные пикноморфные нейроны слоя V накапливались и утилизировались в более позднем периоде.

**Таблица 9 – Содержание (доля) тёмных нейронов с ядрышками в слое III и V СМК в норме и постишемическом периоде**

Подгруппы	Слои СМК	
	III	V
Контроль, 200 нейронов	5/200	4/200 $p=0,92^{\text{III-V}}$
1 сут, 200 нейронов	18/200 $p=0,01^*$	24/200 $p=0,0001^*$ $\chi^2=0,67; df=1; p=0,42^{\text{III-V}}$
3 сут, 200 нейронов	40/200 $p<0,0001^*$ $\chi^2=8,9; df=1; p=0,003^{\text{II}}$	92/200 $p<0,0001^*$ $\chi^2=54,5; df=1; p<0,0001^{\text{II}}$ $\chi^2=29,4; df=1; p<0,0001^{\text{III-V}}$
7 сут, 200 нейронов	36/200 $p<0,0001^*$ $\chi^2=0,15; df=1; p=0,70^{\text{II}}$	106/200 $p<0,0001^*$ $\chi^2=1,7; df=1; p=0,19^{\text{II}}$ $\chi^2=51,9; df=1; p<0,0001^{\text{III-V}}$
Множественное сравнение всех сроков (1 – 3 – 7 сут)	$\chi^2=10,4; df=2; p=0,01$	$\chi^2=82,5; df=2; p<0,0001$

Примечание. В каждом сроке оценивали по 200 нейронов. \* – сравнение с контролем (критерий Фишера), II – предыдущим сроком, III-V – между слоями (критерий  $\chi^2$ ).

При иммуногистохимическом светооптическом исследовании в коре установлено, что после 40-минутной ООСА в ДТН происходило увеличение плотности распределения маркеров NSE, HSP-70 и MAP2 (рис. 32, а, б, в). На поверхности ДТН и в нейропиле выявлены p38- и каспаза 3-позитивные структуры – синаптические терминалы. Таким образом, в телах нейронов маркер апоптоза каспаза 3 отмечен лишь в редких единичных нейронах (рис. 32, г, д). Все это свидетельствует о сохранности специфических белков ДТН, а значит и их цитоскелета, структур системы коммуникации. Кроме того, можно предполагать, что локализация каспазы 3 преимущественно в синаптических терминалах, вероятно, свидетельствует о её роли в синаптической нейропластичности.

Описанные выше результаты структурных изменений ДТН сопровождались реорганизацией нейроглиальной архитектоники СМК. Изменялась и перестраивалась популяция астроцитов, олигодендроглиоцитов и микроглиоцитов (рис. 33, а, б, в). Так, в контроле нейроглиальный (астроциты) индекс составил 1,62 (1,53–1,81), а уже через 3 сут после ООСА он увеличивался до 2,72 (2,48–3,10) (медиана; Mann-Whitney U Test;  $p=0,001$ ). На гистологическом препарате параллельно с этим отмечалось увеличение объёмов отростков астроцитов (рис. 33, а).

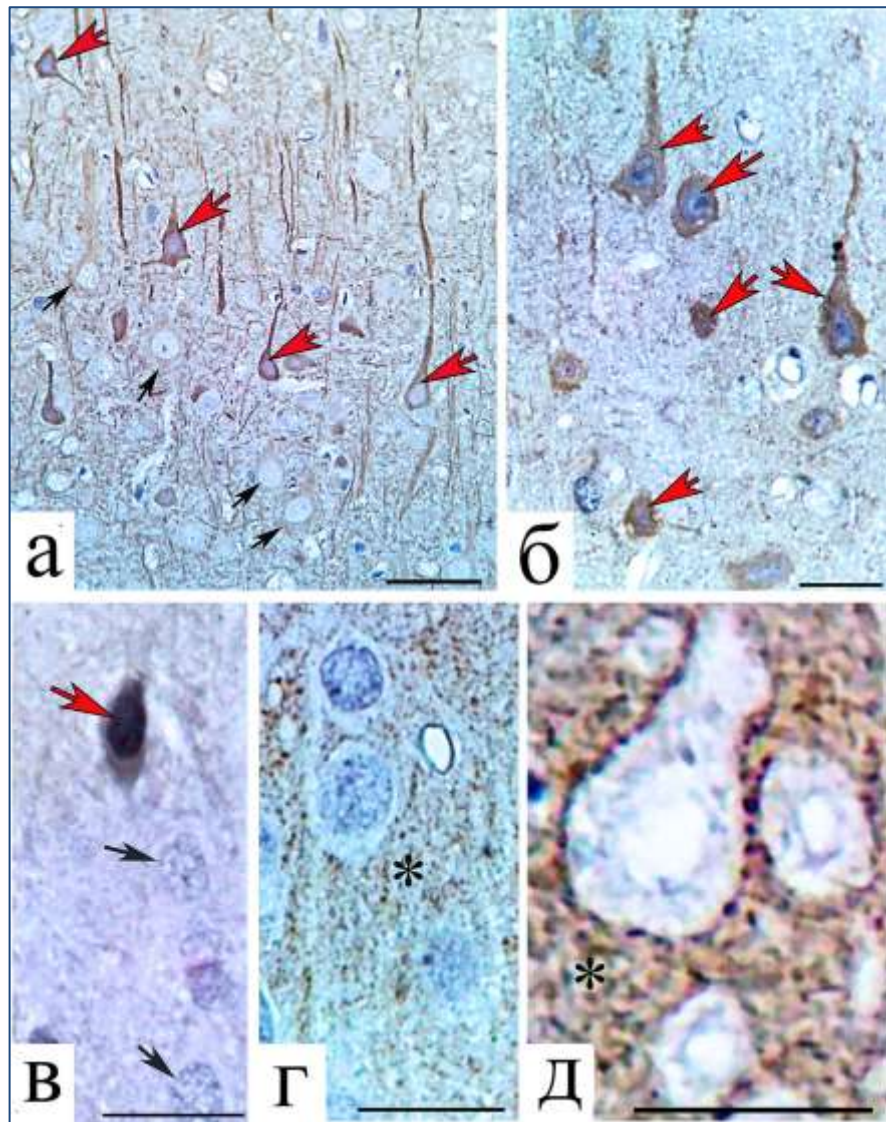


Рис. 32 – Тёмные нейроны при реакции на специфические нейрональные белки: сохранность и высокая плотность типированных белков. а – MAP2 (1 сут), б – NSE (1 сут), в – HSP-70 (7 сут), г – каспаза 3 (3 сут), д – p38 (3 сут). \* – нейропиль. Иммуногистохимическое выявление. Объектив:  $\times 40$  (а) и  $\times 100$  (б-д), шкала – 50 мкм (а) и 20 мкм (б-д).

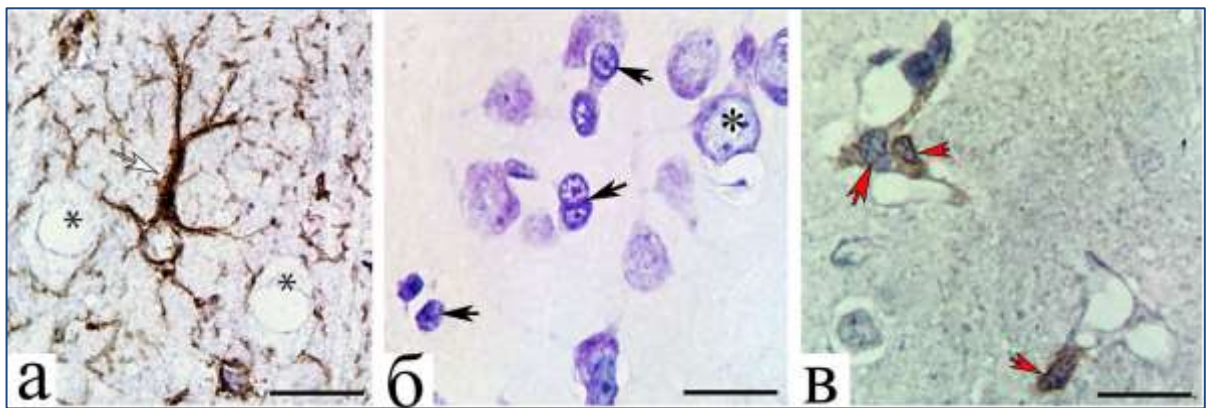


Рис. 33 – Астроциты (а), олигодендроглициты (б) и микроглициты (в) слоя V СМЖ головного мозга через 1 (в), 3 (а) и 7 сут (б) после 40-минутной ООСА: гипертрофия астроцита (белая стрелка), высокая плотность олигодендроцитов (черные стрелки) и микроглиоцитов (красные стрелки). \* – нейроны. Окраска: иммуногистохимическое выявление GFAP (а), окраска по Нислю (б), иммуногистохимическое выявление AIF1 (в). Объектив:  $\times 100$ , шкала – 20 мкм.

Анализ показал, что в СМК контрольных крыс преобладали мелкие – 21,2 (30,8–42,6) мкм<sup>2</sup> – неактивные микроглиоциты с овальным ядром (5х7,5 мкм) и маленькими тонкими отростками, которые выявлялись в составе глио-микровазкулярных комплексов, свободно в нейропиле, а также в тесном контакте с перикарионами без и в сочетании с олигодендроцитами. В постишемическом периоде размеры микроглиоцитов увеличивались до 42,6 (31,3–51,0) мкм<sup>2</sup> (Mann-Whitney U Test,  $p=0,0001$ ). Данные показатели останавливались на этом уровне даже через 3 и 7 сут. Подобные изменения в размере являются проявлением нейровоспаления и формирования крупных амебоидных микроглиоцитов (рис. 33, б), для них характерны большие размеры, неправильная форма тела и преобладание фагоцитарной функции.

При множественном сравнении установлено, что после 40-минутной ООСА для микроглиоцитов ( $N=11,5$ ;  $p=0,003$ ) и олигодендроцитов ( $N=9,2$ ;  $p=0,01$ ) между сроками (1 – 3 – 7 сут) существовали статистически значимые различия (ANOVA Kruskal-Wallis). Сопоставление динамики изменения количества микроглиоцитов и олигодендроцитов в СМК выявило, что пик повышения плотности этих клеток после 40-минутной ишемии головного мозга крыс отличался: для микроглиоцитов – через 1 сут, олигодендроциты – 7 сут (рис. 34). При всём этом росте доля активных форм крупных амебоидных без длинных отростков, неправильной формы клеток изменялась от 15% в контроле до 65% через 1 сут после ишемии (Mann-Whitney U Test,  $p=0,0001$ ). Есть предположение, что в остром постишемическом периоде микроглиоцитов санировали нервную ткань, обеспечивая её последующее структурно-функциональное восстановление с участием олигодендроцитов.

Таким образом, при помощи гистологического анализа в постишемическом периоде, а именно через 1, 3 и 7 сут после 40-минутной ООСА, в слоях III и V были выявлены тёмные нейроны, цитоморфологические характеристики которых свидетельствовали о наличии динамики прижизненных дегенеративных изменений и нейроглиальной реакции на их появление.



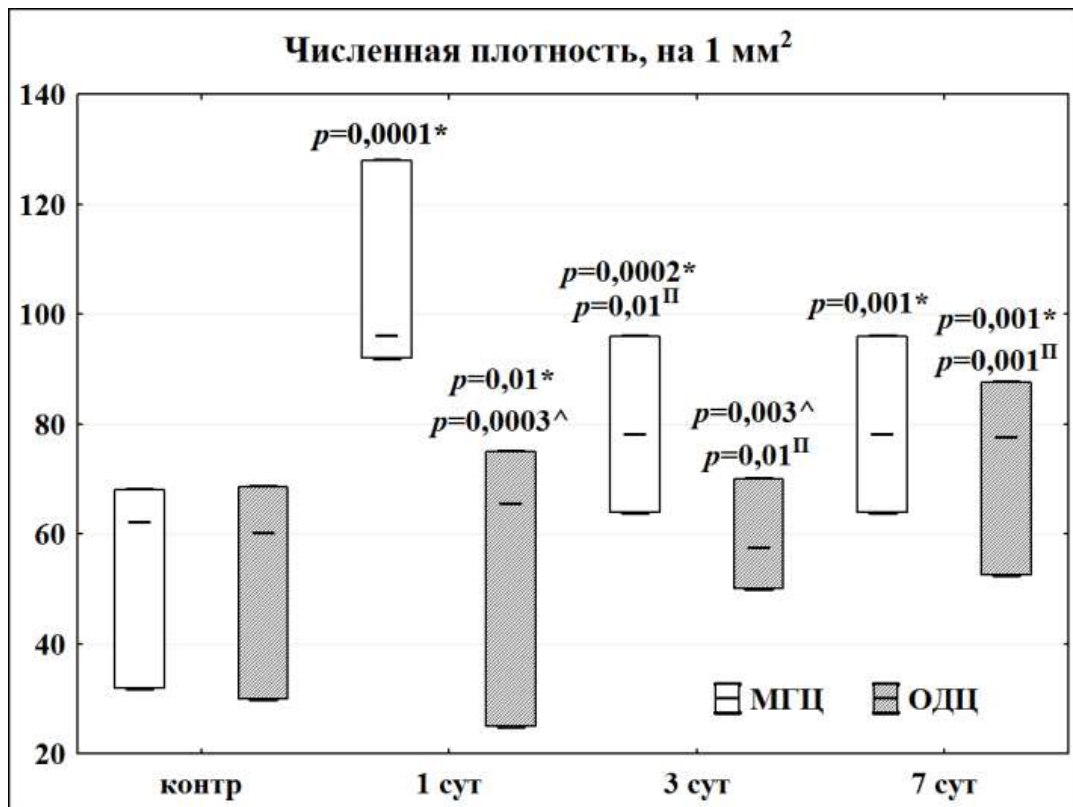


Рис. 34 – Общая численная плотность (на 1 мм<sup>2</sup>) всех типов микроглиоцитов и олигодендроцитов в СМК (слои III + V) белых крыс в норме и после 40-минутной ООСА. Примечание. \* – сравнение с контролем, <sup>II</sup> – с предыдущим сроком, ^ – между микроглиоцитами и олигодендроцитами (Mann-Whitney U Test). Различия статистически значимы при  $p < 0,05$ . Материал представлен как медиана и межквартильный размах. МГЦ – микроглиоциты, ОДЦ – олигодендроциты.

### 3.1.4. Изменения пространственной организации астроцитов после окклюзии общих сонных артерий

Микроскопическое исследование гиппокампа при малом увеличении выявило неоднородное распределение частиц GFAP-позитивного материала: наибольшее – в белом веществе, далее – в полиморфном слое и молекулярном слоях, наименьшее – в слое пирамидных нейронов головного мозга (рис. 35).

Биомаркер GFAP выявлялся в большинстве случаев в телах и отростках фиброзных звездчатых астроцитов, которые располагались вокруг нейронов головного мозга (рис. 36). Данные астроциты имели древовидную организацию: маленькое тело, длинные, но слаборазветвлённые отростки с очень высокой плотностью хромогена (рис. 36, б). В поле зрения СА<sub>3</sub> обнаруживались светлые зоны (stratum lucidum), которые состояли из гигантских синаптических терминалей и апикальных дендритов пирамидных нейронов, сформированных аксонами мшистых волокон (рис. 36, в). Вокруг терминалей располагались мелкие отростки астроцитов (рис. 36, г).

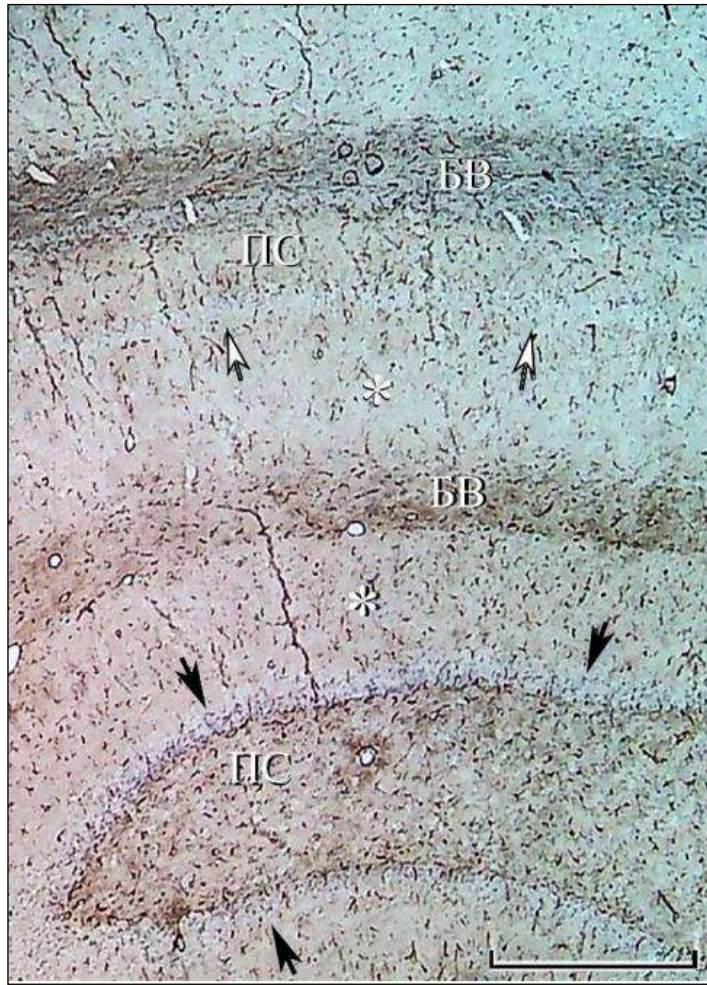


Рис. 35 – Фронтальный срез головного мозга на уровне гиппокампа, контроль: послойное распределение хромогена. Белые стрелки – слой тел пирамидных нейронов поля СА<sub>1</sub>; черные стрелки – слой тел зернистых клеток ЗФ; \* – молекулярные слои поля СА<sub>1</sub> и ЗФ; БВ – белое вещество; ПС – полиморфный слой. Иммуногистохимическое выявление GFAP, докраска гематоксилином. Объектив ×4, шкала – 500 мкм.

Ряд тел пирамидных нейронов (рис. 36, б) гиппокампа головного мозга почти не имел звездчатых астроцитов, тогда как другие слои (молекулярный и полиморфный) содержали малое количество нейронов (см. рис. 36, а, в) и намного большее количество астроцитов (см. рис. 36, б, г). Можно отметить, что в *stratum radiatum* СА<sub>1</sub> разновидность волокнистых астроцитов имела характерные вытянутые отростки (см. рис. 36, б).

Морфологический анализ показал, что в отличие от волокнистых (рис. 37, а) протоплазматические (рис. 37, б) астроциты имели относительно крупное тело клетки, отходящие толстые короткие отростки с неровными структурными контурами и рыхлое заполнение хромогеном. Очень маленькие астроцитарные отростки выглядели на препаратах как хаотический гистологический рисунок с небольшой оптической плотностью хромогена (рис. 37, б).

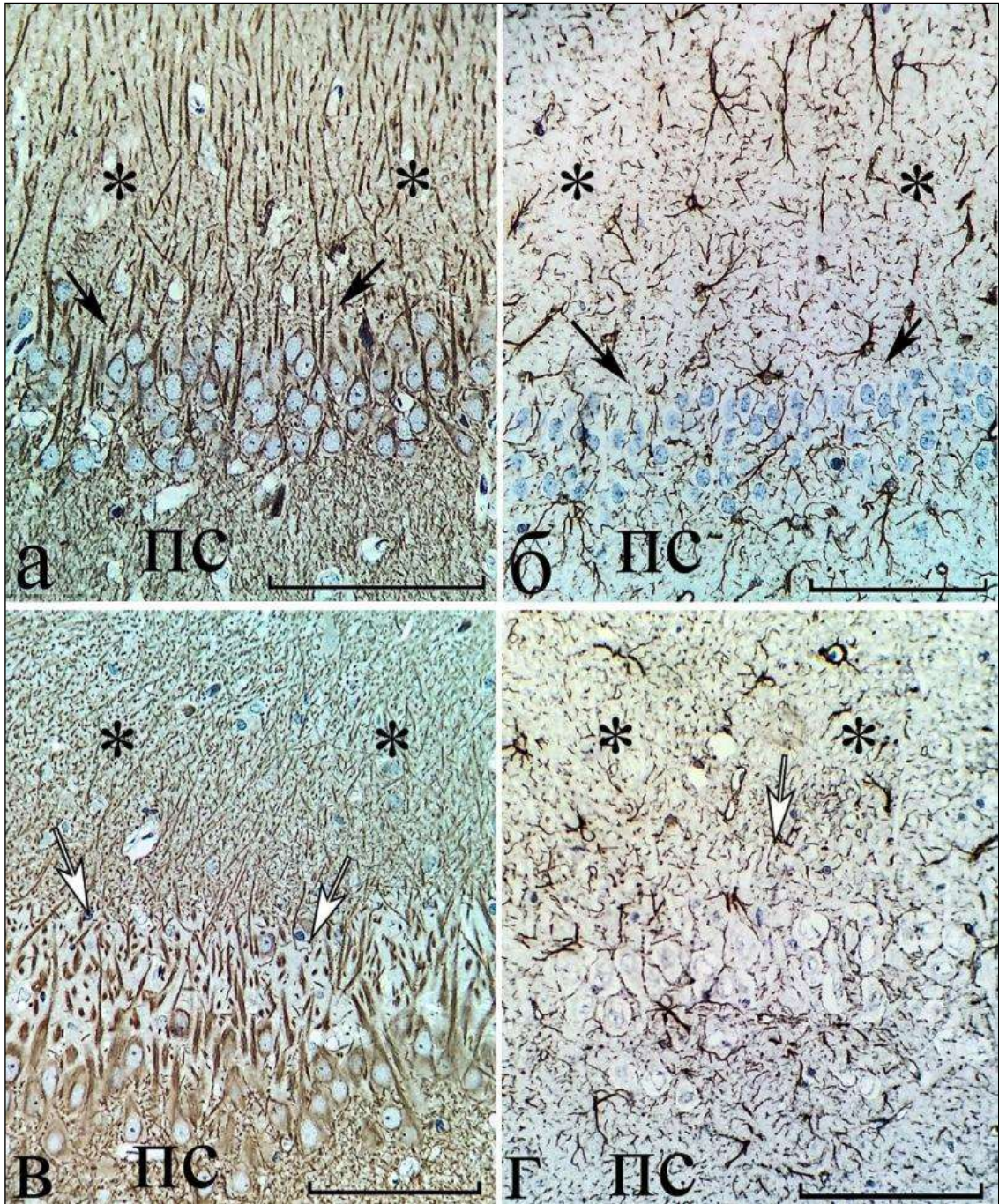


Рис. 36 – Поле СА<sub>1</sub> (а, б) и СА<sub>3</sub> (в, г) гиппокампа в норме: а – слой тел пирамидных нейронов (черные стрелки) и апикальные дендриты *stratum radiatum* молекулярного слоя (МС); б – GFAP-позитивный материал в молекулярном слое, слое тел пирамидных нейронов (черные стрелки) и полиморфный слой (ПС); в – слой тел пирамидных нейронов, *stratum lucidum* (белые стрелки) молекулярного слоя; г – GFAP-позитивный материал в *stratum lucidum* (белые стрелки), слое тел пирамидных нейронов и ПС. \* – МС, ПС. Иммуногистохимическое выявление MAP2 (а, в) и GFAP (б, г), докраска гематоксилином. Объектив: ×40, шкала – 100 мкм.

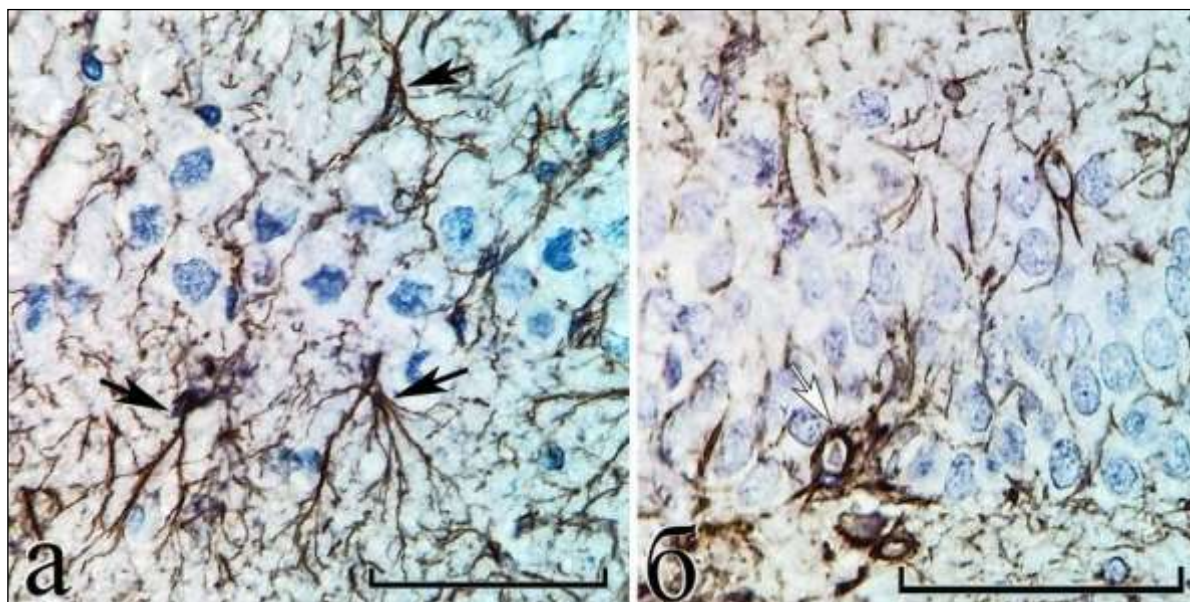


Рис. 37 – Поле СА<sub>1</sub> (а) и ЗФ (б) гиппокампа в норме. Черные стрелки – волокнистые астроциты в молекулярный слой и полиморфный слой поля СА<sub>1</sub> (а); белая стрелка – протоплазматический астроцит в слое зернистых клеток ЗФ (б); \* – тела нейронов. Иммуногистохимическое выявление GFAP, докраска гематоксилином. Объектив: ×100, шкала – 100 мкм.

Плотность глиальной (GFAP) и нейронной (MAP2) сетей в различных структурах СА<sub>1</sub> статистически значимо различались. При этом отмечалось, что в нервной ткани в 2 – 3 раза преобладали нейроны (рис. 38).

При использовании фрактального анализа установлено, что показатели структуры заполнения нервной ткани астроцитами в контроле исследуемого материала также статистически значимо различались (табл. 10). При этом в коре, а именно молекулярном слое, мера лакунарности сети звездчатых астроцитов была небольшой, можно сказать минимальной. Абсолютно всё это свидетельствует о том, что именно в данном слое гиппокампальной формации локализовалась основная масса отростков астроцитов.

Во всех исследуемых структурных слоях гиппокампа фрактальная размерность для нейронной сети (MAP2) была статистически значимо выше, чем для глиальной сети (GFAP). Нейронная сеть (соединённая между собой синапсами) имела также низкие значения лакунарности. Всё это свидетельствовало о более высокой плотности и равномерности распределения разветвлённых отростков нейронов, в сравнении со звездчатыми астроцитами, и подтверждало данные по относительной площади GFAP- и MAP2-позитивных структур (табл. 10). Можно сказать, что фрактальный анализ позволил дополнительно оценить различные формы и распределение очень сложных структур, а именно нейронов и астроцитов в нервной ткани.

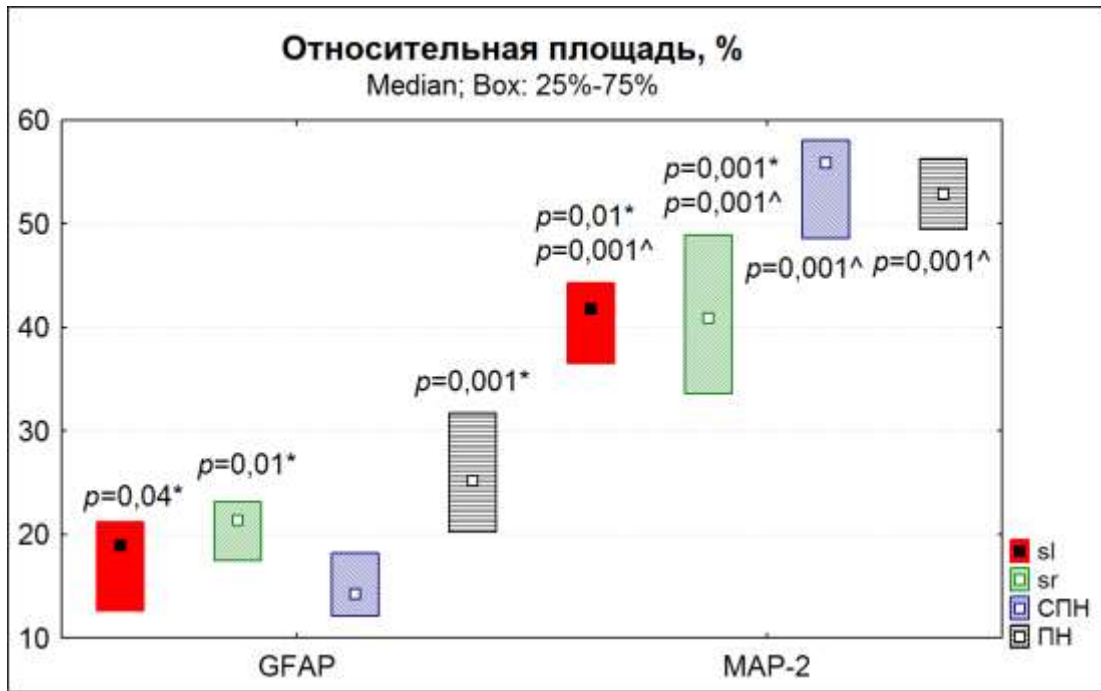


Рис. 38 – Относительная площадь (%) частиц хромогена при иммуногистохимическом выявлении элементов глиальной и нейронной сетей различных слоёв поля СА<sub>1</sub> у животных контрольной группы, Q<sub>2</sub> (Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>). \*Различия статистически значимы в сравнении со слоем пирамидных нейронов, ^ – сравнение нейросети с глиальной сетью (Wilcoxon signed-rank test) при  $p < 0,05$ .

**Таблица 10 – Показатели фрактального анализа элементов глиальной и нейронной сетей различных слоёв поля СА<sub>1</sub> у животных контрольной группы, Q<sub>2</sub> (Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>)**

Показатели фрактального анализа	Слои гиппокампа		
	Молекулярный слой	Слой пирамидных нейронов	Полиморфный слой
<b>GFAP</b>			
Фрактальная размерность ( $FD$ )	1,65 (1,63–1,72)	1,54 (1,49–1,57) $p=0,01^1$	1,62 (1,58–1,67) $p=0,04^2$
Лакунарность ( $A$ )	0,49 (0,42–0,51)	0,60 (0,58–0,72) $p=0,001^1$	0,70 (0,62–0,73) $p=0,01^1$
<b>MAP2</b>			
Фрактальная размерность ( $FD$ )	1,79 (1,74–1,83) $p=0,001^3$	1,78 (1,73–1,81) $p=0,001^3$	1,77 (1,71–1,84) $p=0,001^3$
Лакунарность ( $A$ )	0,39 (0,33–0,41) $p=0,01^3$	0,31 (0,29–0,37) $p=0,03^1$ $p=0,001^3$	0,28 (0,25–0,34) $p=0,01^1$ $p=0,001^3$

Примечание. <sup>1</sup>Различия статистически значимы в сравнении с молекулярным слоем, <sup>2</sup> – в сравнении со слоем пирамидных нейронов (Wilcoxon signed-rank test), <sup>3</sup> – между GFAP и MAP2 (Wilcoxon signed-rank test) при  $p < 0,05$ .

После 20-минутной ООСА выявлены единичные клетки-тени и большое количество пикноморфных нейронов и тёмных несморщенных (рис. 39, а). Через 30 сут постишемического периода дефицит нейронов в поле зрения СА<sub>1</sub> составил 33,0%, в СА<sub>3</sub> – 17,4%, в СА<sub>4</sub> – 5,3%, в ЗФ значимых изменений не обнаружено.

При исследовании НГИ в гиппокампе, в целом для всех слоёв (окраска по Нисслю) после 20-минутной ишемии переменные статистически значимо (Kruskal-Wallis test,  $p < 0,01$ ) увеличивались по сравнению с контролем: через 3 сут – в 1,8 раза, через 7 сут – в 2,3 раза, через 14 сут – в 2,0 раза, а через 30 сут – в 1,3 раза. Всё это происходило за счёт уменьшения общей численной плотности нейронов, с одной стороны, и пролиферации звездчатых астроцитов – с другой. Одна из самых высоких пролиферативных активностей астроцитов (Ki-67) гиппокампа отмечалась через 3 сут после 20-минутной ишемии. В данный период отростки волокнистых звездчатых астроцитов гипертрофировались и в общем увеличивались (рис. 39, б).

В острый период, а именно через 6 ч, 1 и 3 сут, в результате отёка-набухания отмечалась фрагментация и деструкция тонких отростков. Через 7 сут плотность астроцитарной сети восстанавливалась и даже увеличивалась в молекулярном слое, полиморфном слое и внутри слоя пирамидных нейронов. На фронтальном срезе препарата подобные изменения астроцитов максимально проявлялись через 7 и 14 сут после ишемии и сохранялись через 30 сут (рис. 40, а, б). Также отмечалась высокая плотность элементов частиц MAP2 нейронной сети (рис. 40, в).

При помощи фрактального анализа в динамике постишемического периода обнаружены статистически значимые изменения всех изучаемых переменных, характеризующих распределение элементов глиальной сети гиппокампа (Kruskal-Wallis test,  $p < 0,05$ ). Так, через 1 и 3 сут после 20-минутной ишемии головного мозга крыс, в сравнении с контролем, фрактальная размерность уменьшалась, а лакунарность, разветвлённость отростков астроцитов увеличивалась. Данный феномен, вероятно, свидетельствовал об очаговой деструкции и фрагментации части тонких отростков – появлении GFAP-негативных зон (табл. 11, 12).

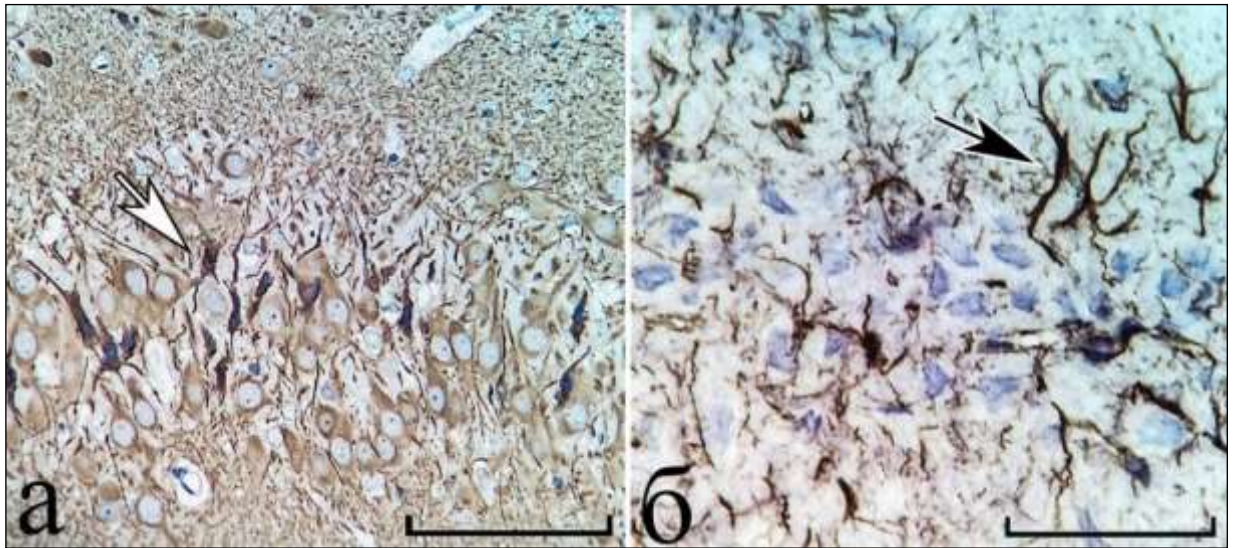


Рис. 39 – Поле СА<sub>3</sub> гиппокампа через 6 ч (а) и 3 сут (б) после 20-минутной ООСА: большое количество пикноморфных нейронов (а, белая стрелка), гипертрофия отростков волокнистых астроцитов (б, чёрная стрелка). Иммуногистохимическое выявление MAP2 (а) и GFAP (б), докраска гематоксилином. Объектив:  $\times 40$ , шкала – 100 мкм (а);  $\times 100$ , шкала – 50 мкм (б).

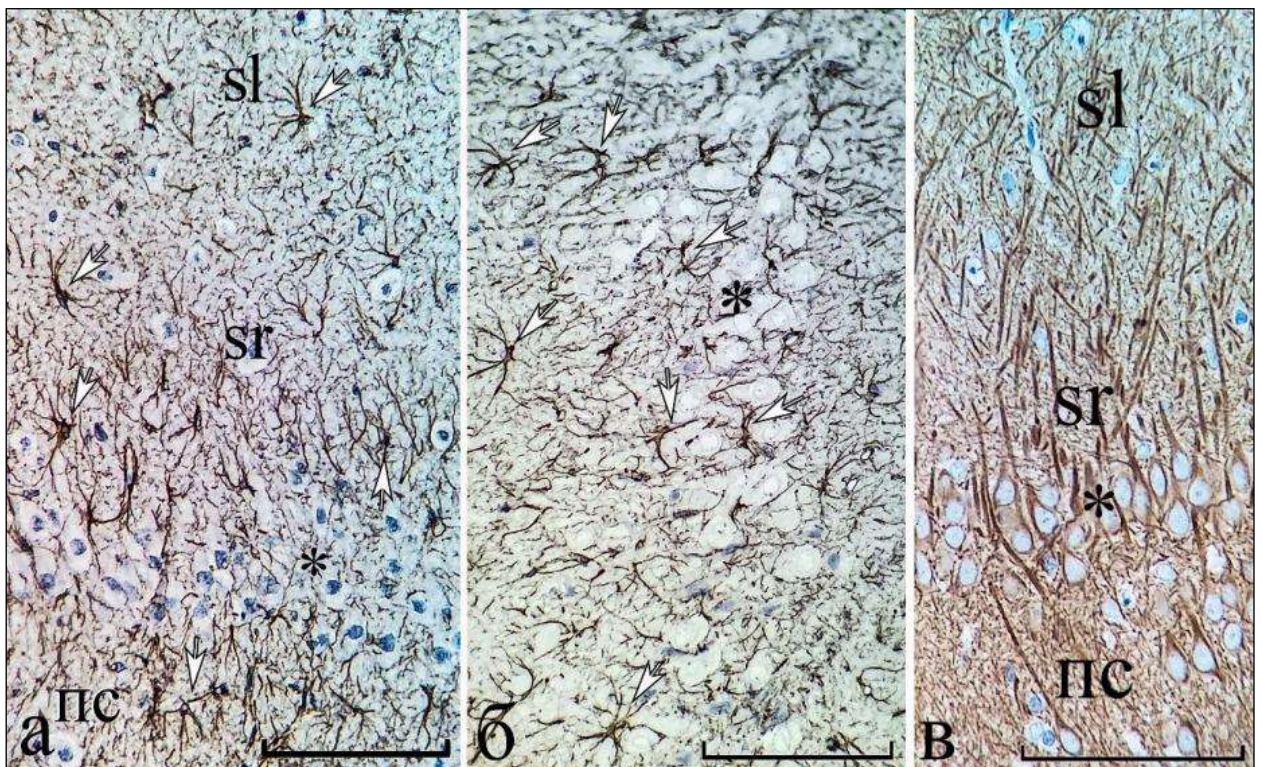


Рис. 40 – Поля СА<sub>1</sub> (а, в) и СА<sub>3</sub> (б) гиппокампа через 14 (а, в) и 30 (б) сут после 20-минутной ООСА: а – высокая плотность распределения разветвлённых гипертрофированных волокнистых астроцитов (белые стрелки) в stratum radiatum, stratum lacunosum в молекулярном и полиморфном слоях; б – волокнистые астроциты (белые стрелки) в слое тел пирамидных нейронов; в – нейроны и их дендриты в поле СА<sub>1</sub>. \* – слои тел пирамидных нейронов, ПС, sr – stratum radiatum, sl – stratum lacunosum. Окраска: иммуногистохимическое выявление GFAP (а, б) и MAP2 (в), докраска гематоксилином. Объектив:  $\times 40$ , шкала – 100 мкм.

**Таблица 11 – Фрактальная размерность глиальной (GFAP) сети различных слоёв поля СА<sub>1</sub> у животных в контроле и после 20-минутной ООСА, Q2 (Q1-Q3)**

Группы	Слой гиппокампа		
	Stratum radiatum	Пирамидные нейроны	Полиморфный слой
Контроль	1,65 (1,63–1,72)	1,54 (1,49–1,57) $p=0,01^1$	1,62 (1,58–1,67) $p=0,04^2$
После 20-минутной ООСА, сут			
1 сут	1,68 (1,61–1,70)	1,12 (0,98–1,23) $p=0,001^1$ $p=0,001^3$	1,72 (1,45–1,73) $p=0,001^2$
3 сут	1,53 (1,49–1,65) $p=0,01^3$ $p=0,04^4$	1,37 (1,25–1,45) $p=0,001^1$ $p=0,001^3$ $p=0,001^4$	1,61 (1,52–1,65) $p=0,001^2$ $p=0,02^4$
7 сут	1,78 (1,75–1,88) $p=0,001^3$ $p=0,001^4$	1,55 (1,47–1,59) $p=0,001^1$ $p=0,001^4$	1,72 (1,71–1,78) $p=0,02^3$ $p=0,001^2$ $p=0,01^4$
14 сут	1,82 (1,74–1,85) $p=0,001^3$	1,66 (1,54–1,69) $p=0,001^1$ $p=0,01^3$ $p=0,01^4$	1,78 (1,72–1,82) $p=0,001^2$ $p=0,01^3$ $p=0,04^4$
30 сут	1,81 (1,71–1,83) $p=0,001^3$	1,76 (1,68–1,79) $p=0,001^3$ $p=0,01^4$	1,80 (1,65–1,83) $p=0,001^3$

Примечание. <sup>1</sup>Различия статистически значимы в сравнении с молекулярным слоем (*Stratum radiatum*), <sup>2</sup> – слоем пирамидных нейронов (Wilcoxon signed-rank test), <sup>3</sup> – контролем, <sup>4</sup> – предыдущим сроком (Mann-Whitney U-test) при  $p<0,05$ .

**Таблица 12 – Лакунарность глиальной (GFAP) сети различных слоёв поля СА<sub>1</sub> у животных в контроле и после 20-минутной ООСА, Q2 (Q1-Q3)**

Группы	Слой гиппокампа		
	Stratum radiatum	Пирамидные нейроны	Полиморфный слой
Контроль	0,49 (0,42–0,51)	0,60 (0,58–0,72) $p=0,001^1$	0,70 (0,62–0,73) $p=0,01^1$ ; $p=0,001^2$
После 20-минутной ООСА, сут			
1 сут	0,69 (0,51–0,71) $p=0,001^3$	1,32 (1,16–1,35) $p=0,001^1$ $p=0,001^3$	0,52 (0,46–0,65) $p=0,01^3$ $p=0,02^1$ $p=0,001^2$
3 сут	0,54 (0,51–0,56) $p=0,01^3$ $p=0,001^4$	0,87 (0,68–0,89) $p=0,001^1$ $p=0,001^3$ $p=0,001^4$	0,72 (0,58–0,75) $p=0,001^1$ $p=0,01^2$ $p=0,001^4$
7 сут	0,35 (0,29–0,43) $p=0,01^3$ $p=0,001^4$	0,50 (0,45–0,59) $p=0,001^1$ $p=0,02^3$ $p=0,001^4$	0,54 (0,48–0,61) $p=0,001^3$ $p=0,01^1$ $p=0,001^4$
14 сут	0,36 (0,31–0,40) $p=0,001^3$	0,66 (0,60–0,68) $p=0,001^1$ $p=0,01^4$	0,52 (0,46–0,55) $p=0,001^1$ $p=0,01^2$ $p=0,001^3$
30 сут	0,32 (0,29–0,38) $p=0,001^3$	0,53 (0,51–0,62) $p=0,001^1$ $p=0,001^4$	0,43 (0,41–0,51) $p=0,03^1$ $p=0,001^3$ $p=0,02^4$

Примечание. <sup>1</sup>Различия статистически значимы в сравнении с молекулярным слоем (*Stratum radiatum*), <sup>2</sup> – слоем пирамидных нейронов (Wilcoxon signed-rank test), <sup>3</sup> – контролем, <sup>4</sup> – предыдущим сроком (Mann-Whitney U-test) при  $p<0,05$ .

Через 7 и 14 сут после ООСА (в сравнении с контролем, 1-ми и 3-ми сутками) фрактальная размерность для частиц GFAP-позитивного материала статистически значимо постепенно увеличивалась во всех слоях исследуемого гиппокампа, а лакунарность, наоборот, уменьшалась (табл. 11 и 12). Всё это свидетельствовало о равномерном увеличении степени заполнения нервной ткани



отростками астроцитов. В пользу этого свидетельствовали и данные о том, что относительная площадь частиц GFAP-позитивного материала в *stratum radiatum* увеличивалась с 21,4% (17,5–23,1%) в контроле до 28,5% (23,1–32,0%) через 14 сут после 20-минутной ООСА ( $p = 0,001$ ); в полиморфном слое – с 25,2% (20,2–31,7%) до 33,4% (28,5–37,9%) ( $p = 0,01$ ; Mann-Whitney U-test).

Можно отметить, что в остром периоде после ООСА во всех слоях гиппокампа происходила очаговая деструкция отростков астроцитов, но через 7, 14 и 30 сут отмечалась реактивная гиперплазия астроцитарной сети (в противовесе реактивного астроглиоза и астроцитоза), которая скорей всего обеспечивала высокую сохранность нейронов, соединённых между собой синапсами, что подтверждается окраской с использованием антител к MAP2. Полученные данные о гетерогенности и гетерохронности изменений пространственной организации астроцитов различных слоёв гиппокампа необходимо учитывать при анализе феномена селективности изменений нервной ткани гиппокампа в постишемическом периоде.

В поле зрения СА<sub>1</sub> и СА<sub>3</sub> гиппокампа в постишемическом периоде после 7 сут 40-минутной ООСА выявлено равномерное распределение окраски (рис. 41, 42).

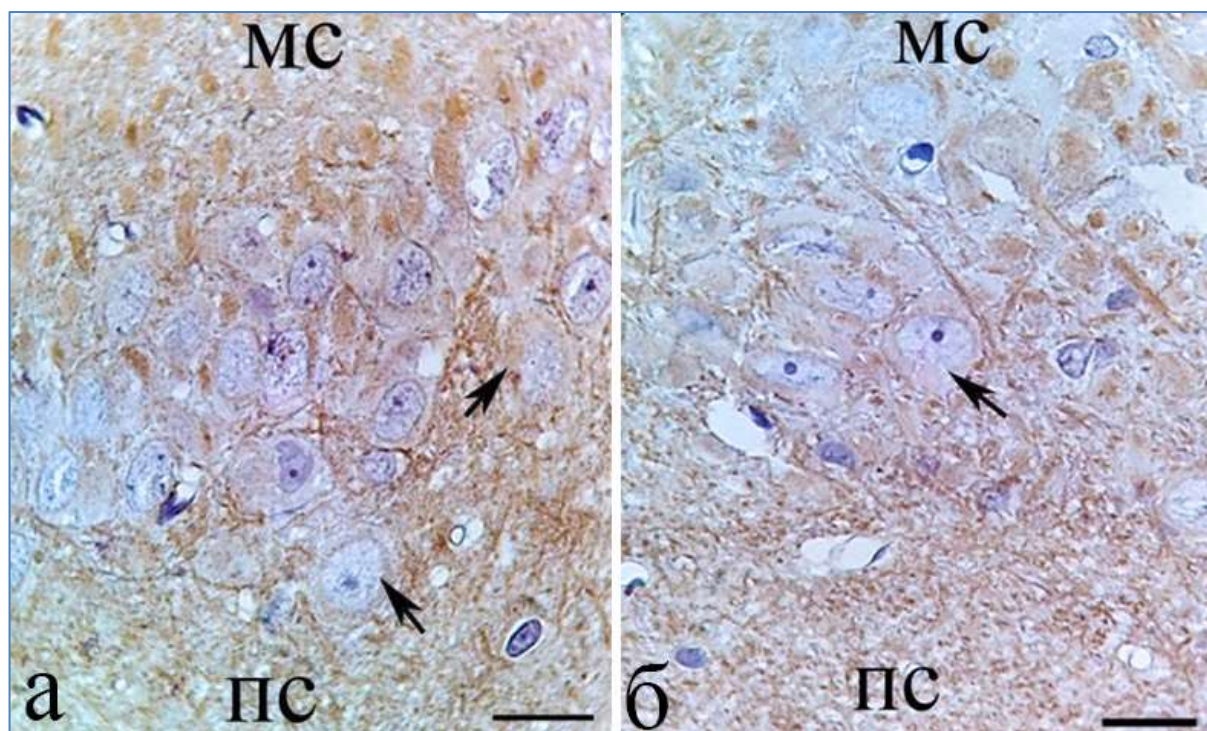


Рис. 41 – Поля СА<sub>1</sub> (а) и СА<sub>3</sub> (б) гиппокампа в постишемическом периоде после 7 сут 40-минутной ООСА белых крыс. Черные стрелки – слой пирамидных нейронов. Иммуногистохимическое выявление MAP2. Объектив  $\times 100$ , шкала – 20 мкм.

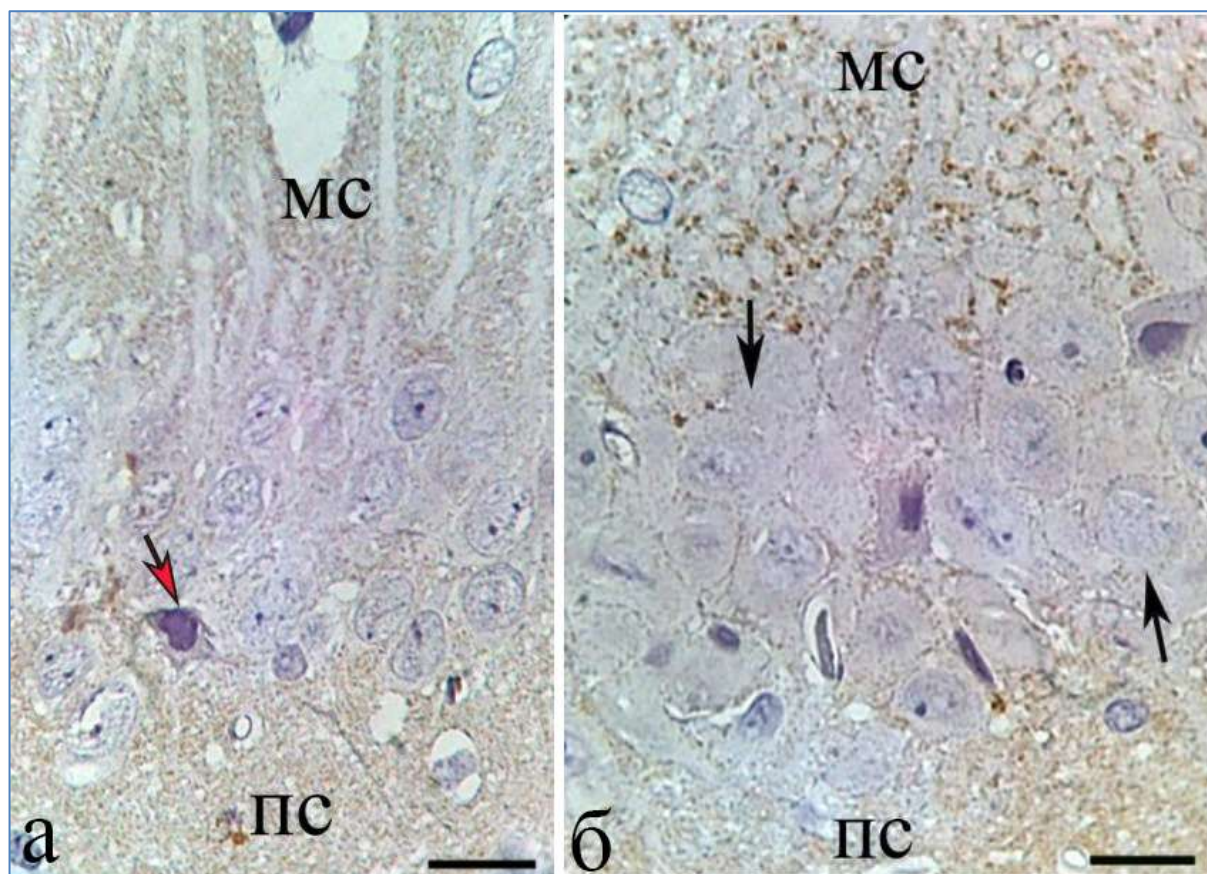


Рис. 42 – Поля СА<sub>1</sub> (а) и СА<sub>3</sub> (б) гиппокампа через 7 сут после 40-минутной ООСА белых крыс. Красная стрелка – тёмный нейрон; черные стрелки – слой пирамидных нейронов. Иммуногистохимическое выявление каспазы 3. Объектив ×100, шкала – 20 мкм.

### **3.1.5. Изменения ядерно-цитоплазматических отношений, образование гетеро- и дикарионов, нейронов с несколькими ядрышками как механизмы усиления адаптивного и репаративного потенциала после окклюзии общих сонных артерий**

На гистологических препаратах при окраске гематоксилином и эозином выявлялись структуры ядрышка, которые окрашивались в цвет, отличный от цвета используемого красителя. Ядрышки имели смешанную яркую красно-розово-синюю окраску вместо обычной ярко-синей окраски, за счёт преобладания белков, близких с хроматофильной субстанцией цитоплазмы нервной клетки. Центр комплекса – эозинофильный, гетерохроматин по периферии – базофильный; это позволило отчётливо верифицировать тела ядрышек (ядрышковые организаторы) и похожие по форме на гетерохроматиновые скопления (рис. 43, а, б, в). Снижение синтеза РНК в нейронах чаще всего сопровождалось увеличением размеров скоплений конденсированного хроматина, имела место гиперхромия, базофилия без гомогенизации, которые при малом увеличении можно принять за ядрышки (рис. 43, в, г, д).

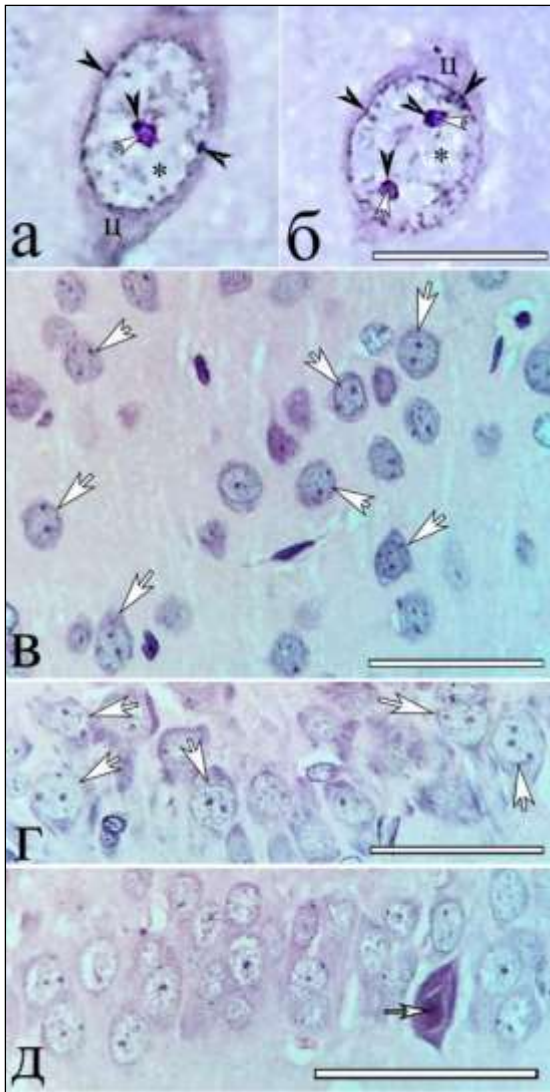


Рис. 43 – Нейроны МТ (а, б), слоя III неокортекса (в), поля СА<sub>3</sub> (г) и СА<sub>1</sub> (д) гиппокампа с разным количеством ядрышек в норме (а, б) и через 1 сут (в, г, д) постишемического периода. Стрелка (д) – гиперхромный пикноморфный нейрон с сохранным ядрышком и большим количеством конденсированного гетерохроматина (мелкие точки) без гомогенизации. Окраска гематоксилином и эозином. Объектив  $\times 100$ , шкала – 16 (а, б) и 50 мкм (в, г).

Тотальное окрашивание кислыми красителями и гомогенизация нейронов через 1 сут после ООСА обусловлена необратимой деградацией нуклеопротеинов ядра, РНК, ДНК и цитоплазмы, которые чаще всего базофильные и окрашиваются в спектральный синий цвет (рис. 44, а, б). Скорее всего, это указывает на острое необратимое повреждение части нейронов головного мозга крыс.

В данный период среди многих нормохромных нейронов выявлялись клетки со структурным гипертрофированным метахроматичным материалом ядрышка нейронов и множеством округлых форм и образований, размеры которых составляли около 1 мкм, что соответствовало тельцам Кахаля (рис. 44, в, г). Диаметр гипертрофированных ядрышек, только зоны метахроматичного материала, увеличивался в 1,5 – 2,2 раза. Подобные активные узкоспециализированные нервные клетки с гипертрофированным ядрышком, скорее всего, пребывали на стадии подготовки к структурным амплификациям с последующим образованием и увеличением нескольких самостоятельных ядрышек в нейронах.

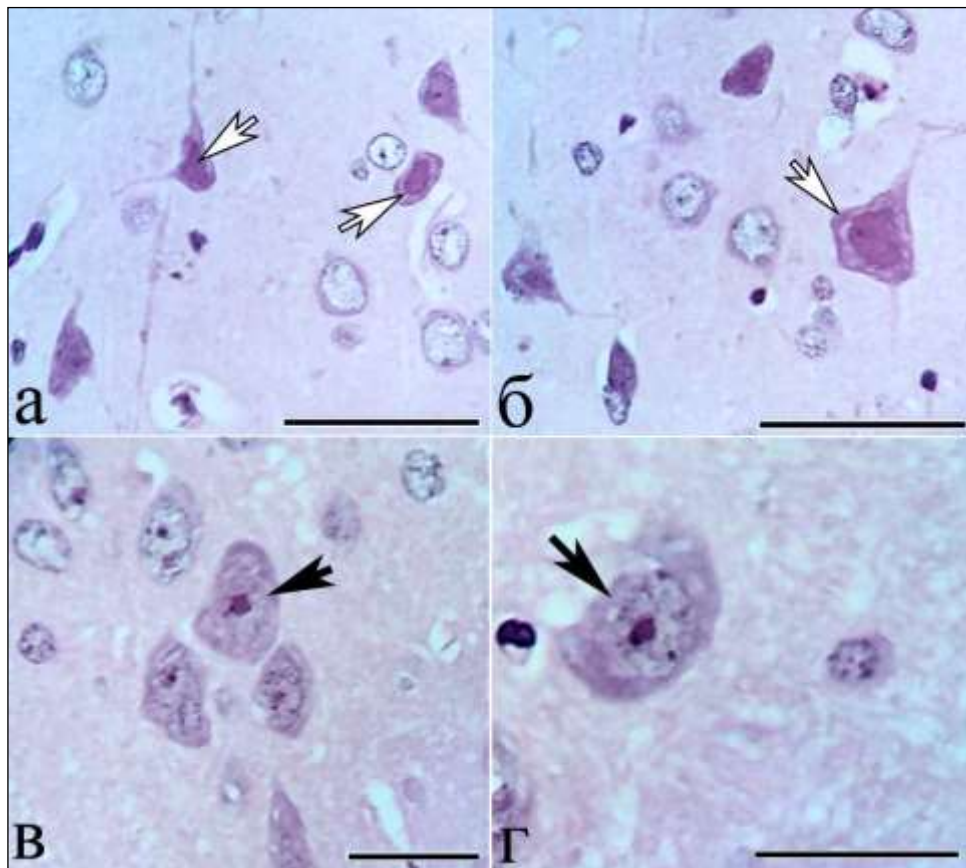


Рис. 44 – Ацидофильные (белые стрелки) и нормохромные (черные стрелки, гипертрофия ядрышек) нейроны слоя III (а, в, г) и V (б) неокортекса через 1 сут постишемического периода. Окраска гематоксилином и эозином. Объектив  $\times 100$ , шкала – 25 мкм.

С учётом морфометрического анализа установлено, что в этот ишемический период, на фоне элиминации части нейронов и необратимой деструкции (табл. 13), в неокортексе и гиппокампе головного мозга происходило на самом деле увеличение доли нормохромных нейронов с двумя и более ядрышками (рис. 45).

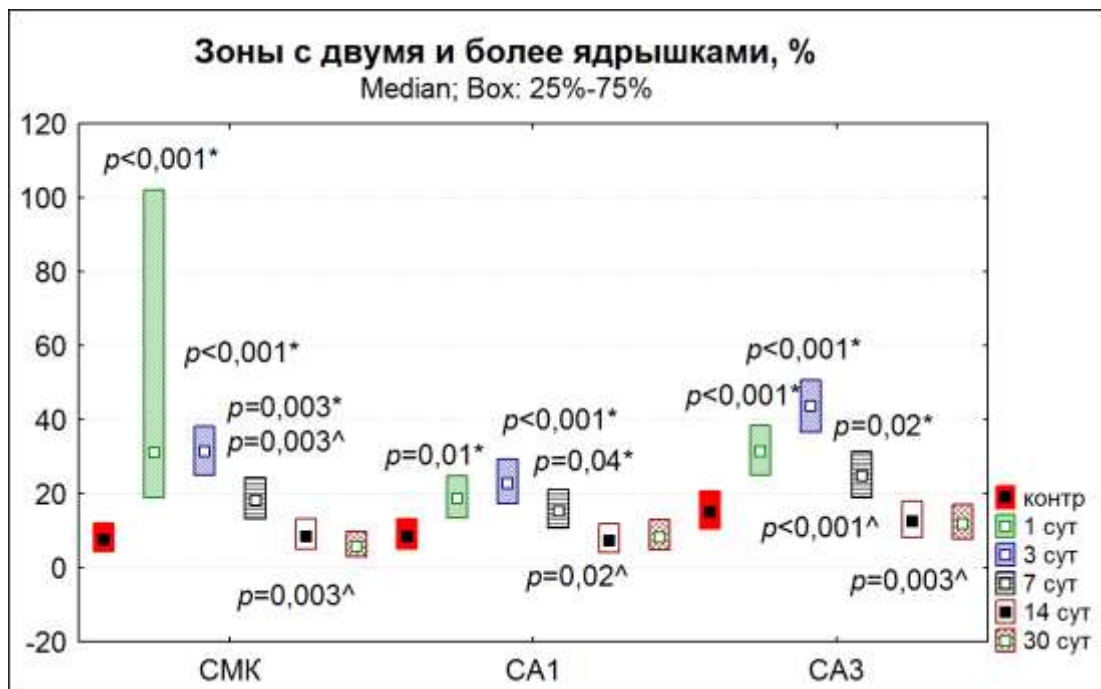
При исследовании головного мозга контрольных крыс Wistar выявлено небольшое количество равномерно распределённых нейронов с двумя ядрышками без эксцессов упорядоченной выборки. В постишемическом периоде в нервной ткани обнаружены зоны CA<sub>1</sub> и CA<sub>3</sub> гиппокампа, неокортекса с большой долей нейронов, имеющих два и более ядрышек (рис. 43, в, г). Наибольшее содержание таких нейронов выявлено в поле CA<sub>3</sub> гиппокампа и неокортексе через 1 и 3 сут (рис. 45). Для области МТ головного мозга статистически значимых различий по морфологии не выявлено.

В неокортексе через 1 сут 40-минутной ООСА появлялись тёмные нейроны (рис. 46).

**Таблица 13 – Общая численная плотность нейронов (на 1 мм<sup>2</sup>) в неокортексе, гиппокампе и МТ контрольных животных и через 30 сут после 20-минутной ООСА, Me (QL–QU)**

СМК		
Группы	Слой неокортекса	
	Слой III	Слой V
Контроль	405,2 (375,4–438,0)	270,0 (245,0–290,0)
Через 30 сут после ООСА	318,0 (278,6–345,8)* на 21,5%	218,8 (125,3–235,0)* на 19,0%
Гиппокамп		
Группы	Поля гиппокампа	
	CA <sub>1</sub>	CA <sub>3</sub>
Контроль	2936 (2726–3652)	1983 (1755–2106)
Через 30 сут после ООСА	1983 (1764–2213)* на 34,0%	1638 (1178–1702)* на 17,4%
МТ		
Группы	Тип ядер по размерам клеток	
	Мелкие и средние клетки	Крупные клетки
Контроль	490,5 (445,3–534,5)	246,5 (203,2–253,2)
Через 30 сут после ООСА	416,5 (347,8–438,5)* на 15,1%	231,2 (218,2–240,5)* на 6,2%

\*Различия статистически значимы в сравнении с контролем (критерий Манна-Уитни, при  $p < 0,05$ ). ООСА



**Рис. 45 – Зоны неокортекса СМК, гиппокампа и МТ белых крыс, содержащие нейроны (%) с двумя и более ядрышками, в норме и постишемическом периоде. Различия статистически значимы в сравнении с контролем (\*) и предыдущим сроком (^) при  $p \leq 0,05$  (критерий  $\chi^2$ ). 95% доверительный интервал. В каждом сроке оценивали по 200 нейронов.**

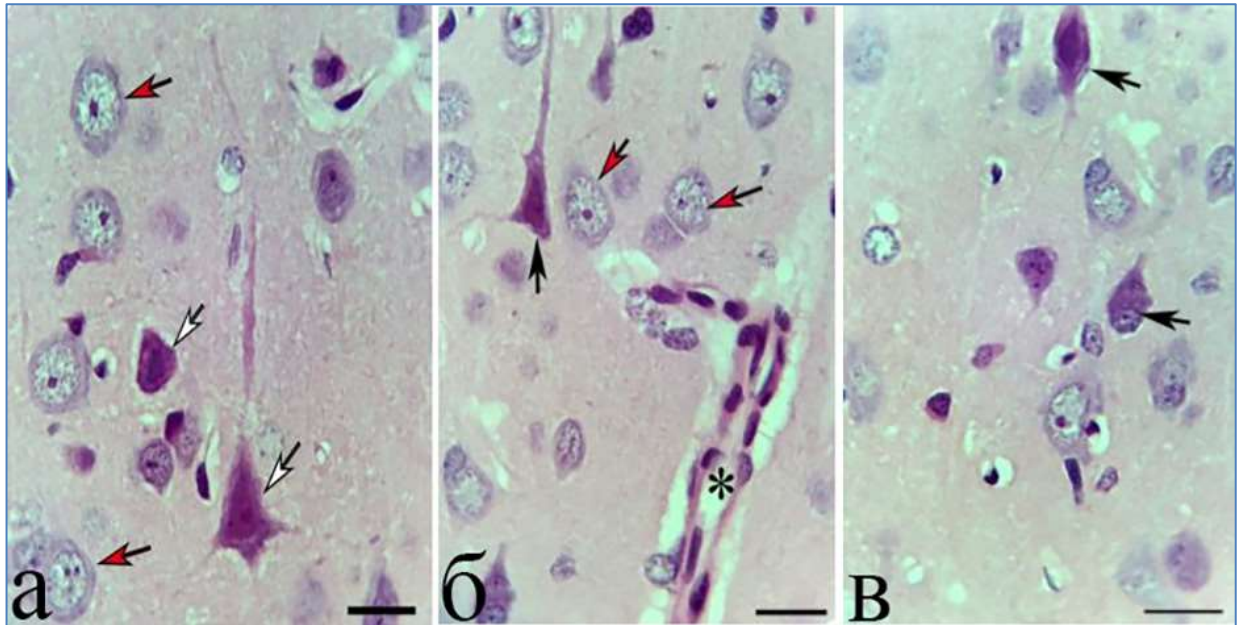


Рис. 46 – Неокортекс через 1 сут после 40-минутной ООСА. Красные стрелки – нормохромные нейроны, черные стрелки – тёмные нейроны. Окраска гематоксилином и эозином. Объектив  $\times 100$ , шкала – 20 мкм (в, г).

В структурах СМК, а именно в III и V слоях, у крыс контрольной группы в большей степени преобладали типичные одноядерные средние перикарионы с размерами от 170 до 250 мкм<sup>2</sup> и крупные – от 350 до 520 мкм<sup>2</sup>. Данные нормохромные пирамидные нейроны имели большое светлое ядро, содержащее одно ядрышко и малое количество гетерохроматина (рис. 47, а, б).

При исследовании фронтальных срезов при помощи иммуногистохимических реакций выявлено тенденция, что тела и отростки пирамидных нейронов были равномерно заполнены маркерами MAP2 (рис. 47, г) и NSE (рис. 47, в). Вокруг нейронов, а именно на апикальных дендритах и перикарионе, размещалось большое количество синаптических терминалей, округлые структуры с высокой плотностью, которые хорошо наблюдались при помощи иммуногистохимической реакции на синаптофизин и каспазу 3. Как видно, при этих реакциях, нейропиле СМК представлен однородным субстратом в клетке из близко расположенных окрашенных точек хромогена DAB (рис. 47, д, е).

Иммуногистохимические реакции, а именно на выявление NSE, MAP2, p38 и каспазу 3, давали возможность анализировать на гистологических изображениях структурный компартмент тела нейрона, который визуально «отсекался» от окружающих скоплений отростков нервных клеток. Таким образом, морфометрический анализ позволял хорошо исследовать сложные клеточные структурные образования типа двуядерных гетеро- и дикарионов (рис. 47, в).

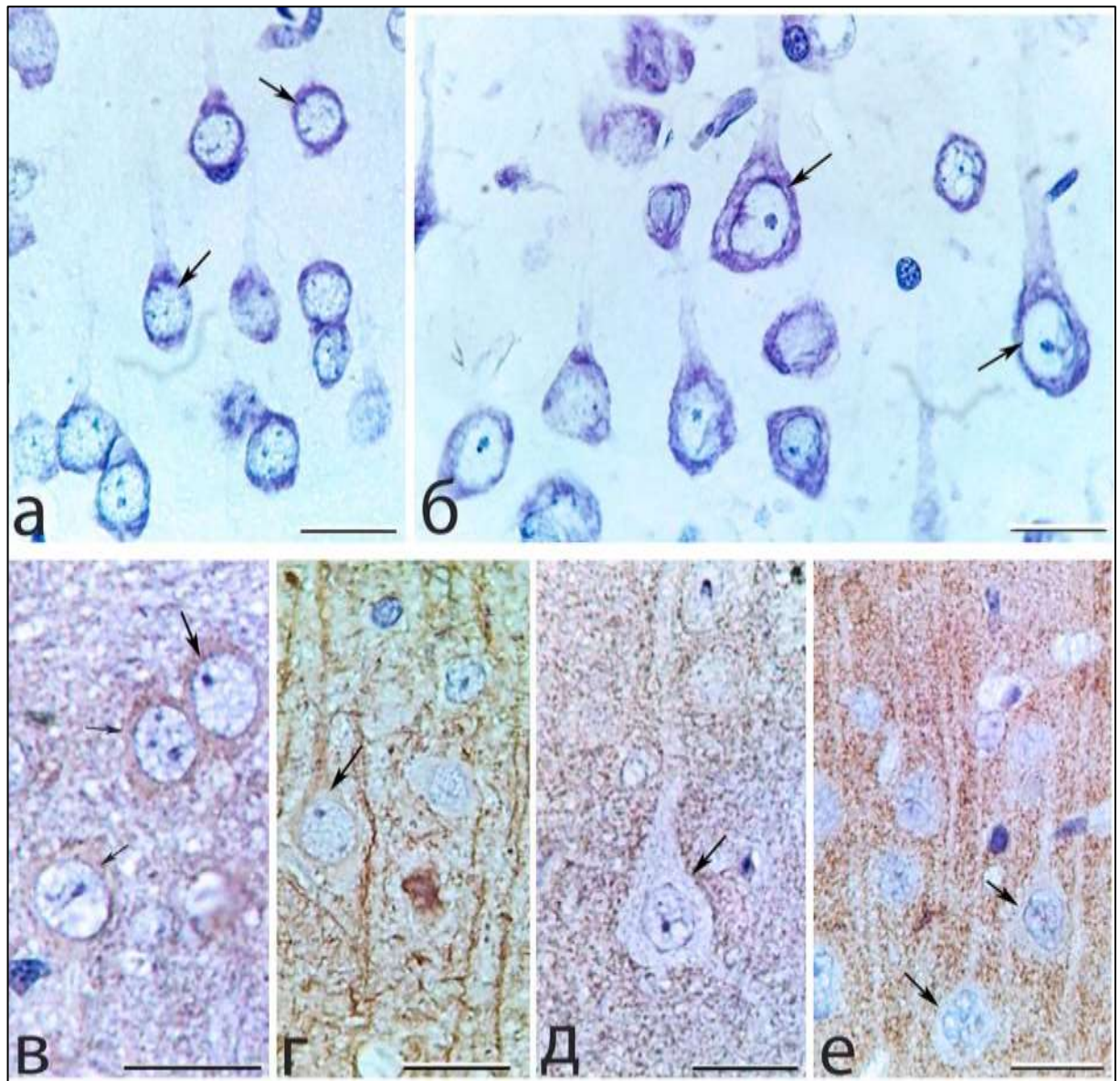


Рис. 47 – Нейроны слоя III (а, в, г, е) и V (б, д) СМК головного мозга белых крыс в норме: превалируют нормохромные пирамидные нейроны, равномерно заполненные MAP2-позитивным материалом (г), вокруг тел и дендритов пирамидных нейронов, в нейропиле располагаются р38- (д) и каспаза 3-позитивные (в) синаптические терминалы. Стрелки – пирамидные нейроны. Окраска по Нисслию (а, б), иммуногистохимическое выявление NSE (в), MAP2 (г), р38 (д) и каспаза 3 (е). Объектив  $\times 100$ , шкала – 20 мкм.

Размер тел астроцитов варьировался от 8 до 10 мкм, а их ветвистые отростки были обнаружены и представлены в виде сети, которая заполняла структурное пространство между телами нейронов в области СМК головного мозга белых крыс. Таким образом, тела звездчатых астроцитов имели в основном округлую форму, узкую полосу цитоплазмы вокруг ядра, которая содержала GFAP. Звездчатые астроциты часто обнаруживались в тесном контакте с телом нейрона, но ни на одном гистологическом фронтальном срезе их не было внутри самих перикарионов (рис. 48).

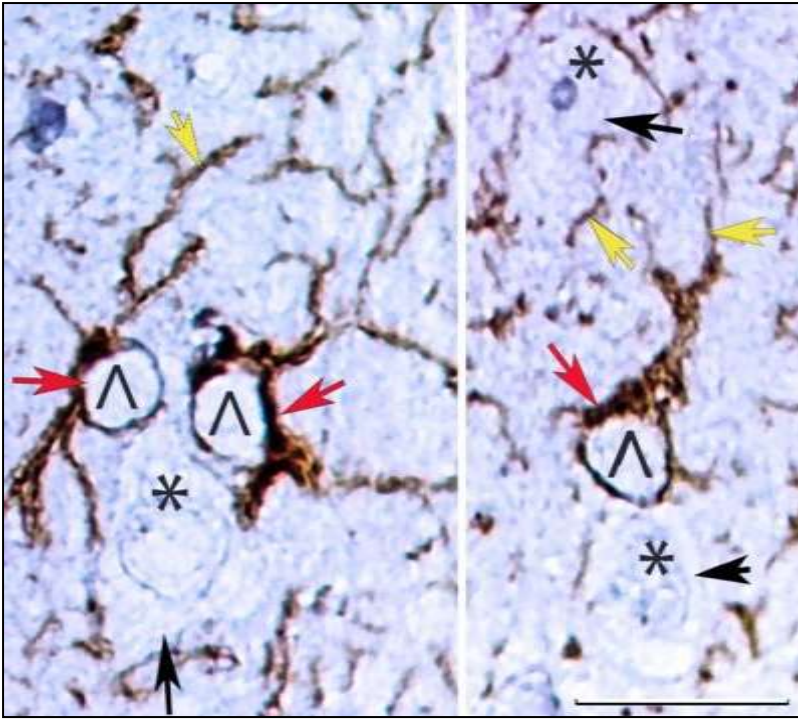


Рис. 48 – Астроциты слоя III СМК головного мозга белых крыс в норме: тела (красные стрелки) и отростки (жёлтые стрелки) астроцитов (^) в виде сети заполняют пространство между перикарионами (черные стрелки), тела астроцитов в тесном контакте с перикарионом. \* – ядра пирамидных нейронов. Иммуногистохимическое выявление GFAP. Объектив  $\times 100$ , шкала – 20 мкм.

В норме в коре головного мозга белых крыс преобладали маленькие неактивные макрофаги ЦНС –  $21,2 (30,8-42,6) \text{ мкм}^2$ , с овальным ядром, размерами  $5 \times 7,5 \text{ мкм}$  и тонкими ветвящимися отростками. Они выявлялись в составе структурных глио-микроваскулярных комплексов (рис. 49, а), свободно в нейропиле (рис. 49, б), а также в близком контакте с телом нейрона без (рис. 49, в) и в сочетании со специфическим типом клеток макроглии (рис. 49, г). Так, в препаратах головного мозга белых крыс при иммуногистохимической реакции на AIF1 отмечались двудерные клеточные структурные композиции, в которых ядра микроглиоцитов находились вблизи ядер нейроцитов, что могло свидетельствовать о тесных межклеточных контактах (рис. 49, в). Это было также характерно и для макроглии и олигодендроцитов (рис. 49, г).

После острой ишемии головного мозга крыс, вызванной 40-минутной ООСА, в пирамидных нейронах слоёв III и V СМК выявлены некробиотические, дистрофические и гидропические изменения с гипер-, гипохромией и сморщиванием тел нейронов, а также с фагоцитозом. Преобладали гиперхромные тинкториальные изменения без и со сморщиванием нейронных клеток. В соседних участках коры отмечалась разная степень внутриклеточного отёка, увеличение степени базофилии и сморщивания перикарионов с высокой гетероморфностью изменённых нейронных клеток.



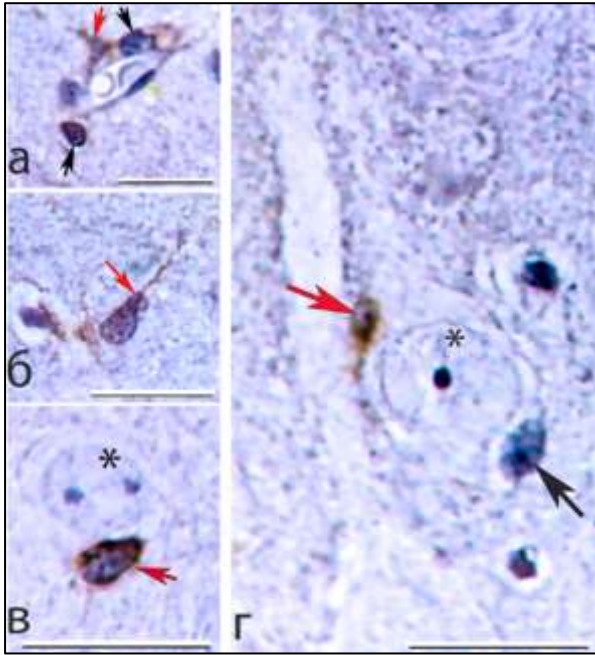


Рис. 49 – Слой III (а, б, в) и V (г) СМК головного мозга белых крыс в норме: преобладают неактивные микроглиозиты (красные стрелки) с отростками, которые выявляются в составе глио-микроваскулярного комплекса (а), в нейропиле (б), в тесном контакте с перикарионом без (в) и в сочетании с олигодендроцитами (г). \* – пирамидные нейроны, черные стрелки – олигодендроциты. Иммуногистохимическое выявление AIF1. Объектив  $\times 100$ ; шкала – 20 мкм.

Наблюдалось большое количество глиальных клеток ЦНС – астроцитов микроглиозитов, и олигодендроцитов в составе глио-микроваскулярных структурных комплексов, в нейропиле, в близком контакте с телами нейронов и дендритами, а также в составе фагоцитирующих структур (рис. 50). Отмечено, что через 3 сут после 40-минутной ООСА НГИ коры увеличивался, варьировался в пределах от 1,62 (1,53–1,81) до 2,72 (2,48–3,10) (медиана; Mann-Whitney U Test;  $p=0,001$ ).

Альтерация нейронов и глиальных клеток сопровождалась увеличением пролиферативной активности клеток нервной ткани СМК. В исследуемом контроле из 100 нейроглиальных клеток коры крысы только 6,2% (95% ДИ: 2,4–12,9) были Ki-67-позитивными, через 3 сут после ООСА данный показатель увеличивался до 18,6% (95% ДИ: 11,6–27,6%) ( $\chi^2=5,9$ ,  $df=1$ ,  $p=0,01$ ).

В ходе обзорного светомикроскопического исследования СМК выявлено большое количество ишемически повреждённых нейронов, а именно вакуолизированных, гипер-, гипохромных, после ООСА головного мозга белых крыс в случайно выбранных полях зрения СМК. В разных полях содержание нормохромных пирамидных нейронов варьировалось от 10 до 90%. Данный разброс свидетельствовал о выраженном очаговом характере тинкториальных изменений. Общая численная плотность нейронов через 7 сут после ишемии в слое III уменьшилась на 26,4% ( $p=0,001$ ), в норме данный показатель составил 442 (352–485), а в слое V коры – на 18,5% ( $p=0,01$ ), в норме обнаружено 290 клеток (244–331) на  $1 \text{ мм}^2$  (Mann-Whitney U Test).

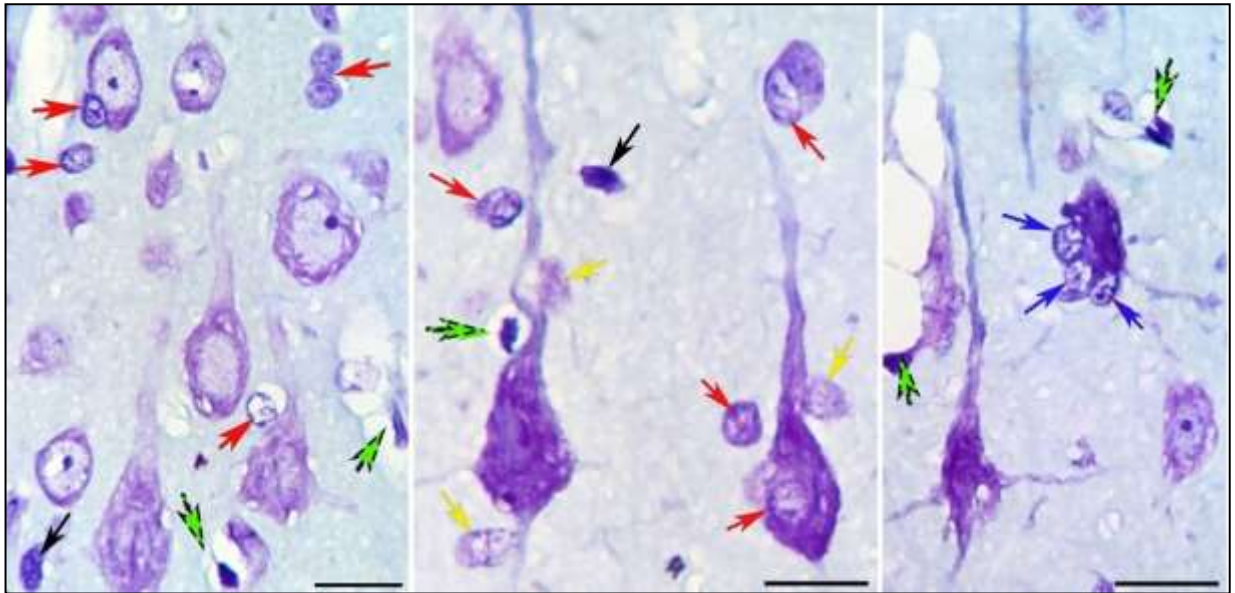


Рис. 50 – Пирамидные нейроны и глиоциты слоя V СМК головного мозга белых крыс в постишемическом периоде (3 сут): разная степень вакуолизации гиперхромии и сморщивания перикарионов (расположены в порядке нарастания признака); большое количество глиальных клеток – круглых тёмных олигодендроцитов (красные стрелки), более светлых астроцитов (жёлтые стрелки), тёмных овальных или неправильной формы (черные стрелки) и вокруг пикноморфного нейрона округлых (синие стрелки) микроглиоцитов. Зелёные стрелки – капилляры с эндотелиальными клетками, периваскулярный отёк. Окраска гематоксилином и эозином. Объектив  $\times 100$ , шкала – 20 мкм.

Вместе с тем, после 40-минутной ООСА среди сохранившихся и оставшихся в прежнем виде нормохромных нейронных клеток отмечалось диффузно-очаговое увеличение доли клеток с двумя и более ядрышками в ядре нейрона. Максимальное содержание таких нейронов отмечено в слоях III и V СМК через 7 сут (табл. 14).

На фоне необратимых и обратимых изменений в СМК после ишемии выявлялась большая численность перикарионов с признаками разных, а именно последовательных стадий формирования разнообразных и сложных перикарионов с двумя ядрами (в плоскости анализа фронтальных срезов) (рис. 51). То есть в процессах слияния участвовали в большей степени олигодендроциты и, гораздо реже, микроглиоцитов (рис. 51). Можно заключить, что после ишемии головного мозга крыс реализуются два типа взаимоотношений нейронов и разных микроглиоцитов – одним из них являются фагоцитарные или другими словами саногенные механизмы с разрушением перикариона, а не фагоцитарные, которые обладают компенсацией, репарацией без разрушения и слияния. Скорее всего, первый тип связан с амебоидными микроглиоцитами, а второй – с неактивированными микроглиоцитами.

**Таблица 14 – Содержание (доля) нормохромных нейронов с двумя и более ядрышками в слоях III и V СМЖ мозга крыс в норме и постишемическом периоде**

Группы	Слои	
	III	V
Норма	15/200	8/200 $p=0,20^{\text{III-V}}$
1-е сут	52/200 $p=0,00001^*$	22/200 $p=0,01^*$ $\chi^2=14,0; p=0,0002^{\text{III-V}}$
3-и сут	57/200 $p=0,00001^*$ $\chi^2=0,20; p=0,65^\wedge$	29/200 $p=0,0004^*$ $\chi^2=0,81; p=0,37^\wedge$ $\chi^2=10,8; p=0,001^{\text{III-V}}$
7-е сут	100/200 $p=0,00001^*$ $\chi^2=18,5; p<0,0001^\wedge$	49/200 $p<0,00001^*$ $\chi^2=5,75; p=0,01^\wedge$ $\chi^2=26,7; p<0,0001^{\text{III-V}}$

Примечание. \* – сравнение с контролем (критерий Фишера),  $^\wedge$  – предыдущим сроком,  $^{\text{III-V}}$  – между слоями (критерий Фишера, критерий  $\chi^2$ ). Нулевую гипотезу отвергали с учётом коррекции Бонферрони при  $p \leq 0,01$ . В каждом сроке оценивали по 200 нейронов с ядрышками.

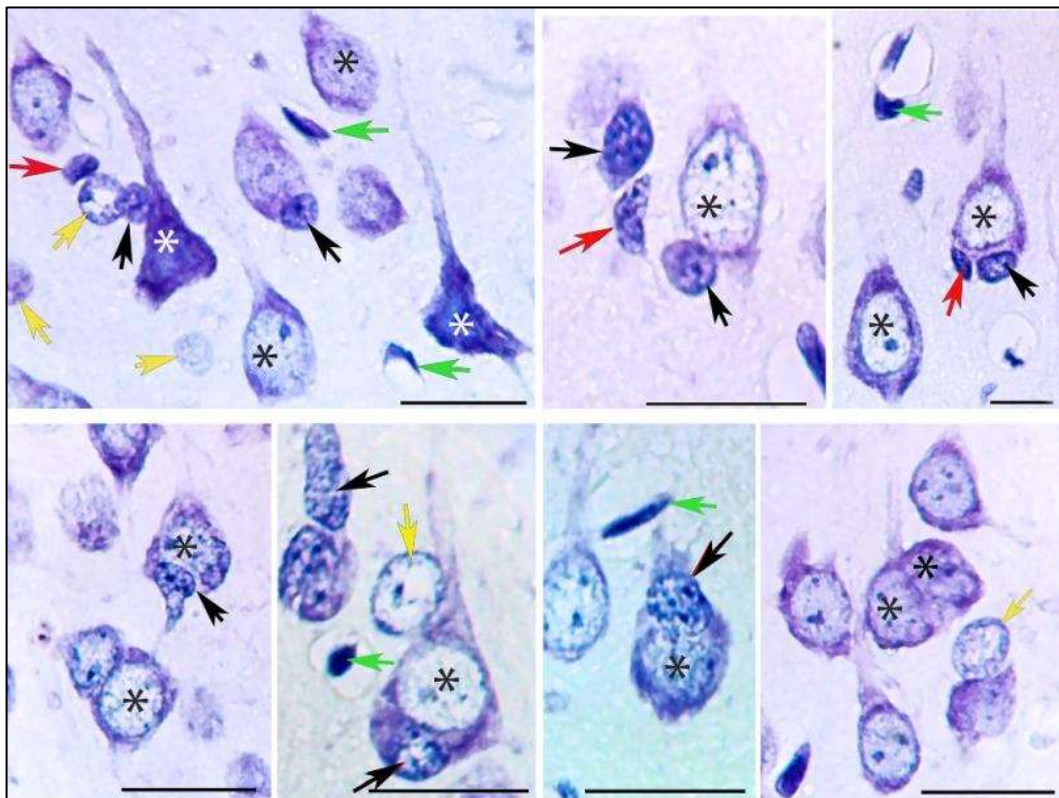


Рис. 51 – Сложные клеточные композиции (гетеро- и дикарионы) в слое III и V СМЖ головного мозга белых крыс в постишемическом периоде (3-е сут): разная степень усложнения пространственного распределения клеток нервной ткани. \* – пирамидные нейроны, черные стрелки – олигодендроциты, жёлтые стрелки – астроциты, красные стрелки – микроглиоциты, зелёные стрелки – эндотелиоциты и перициты. Окраска по Нисслю. Объектив  $\times 100$ , шкала – 20 мкм.

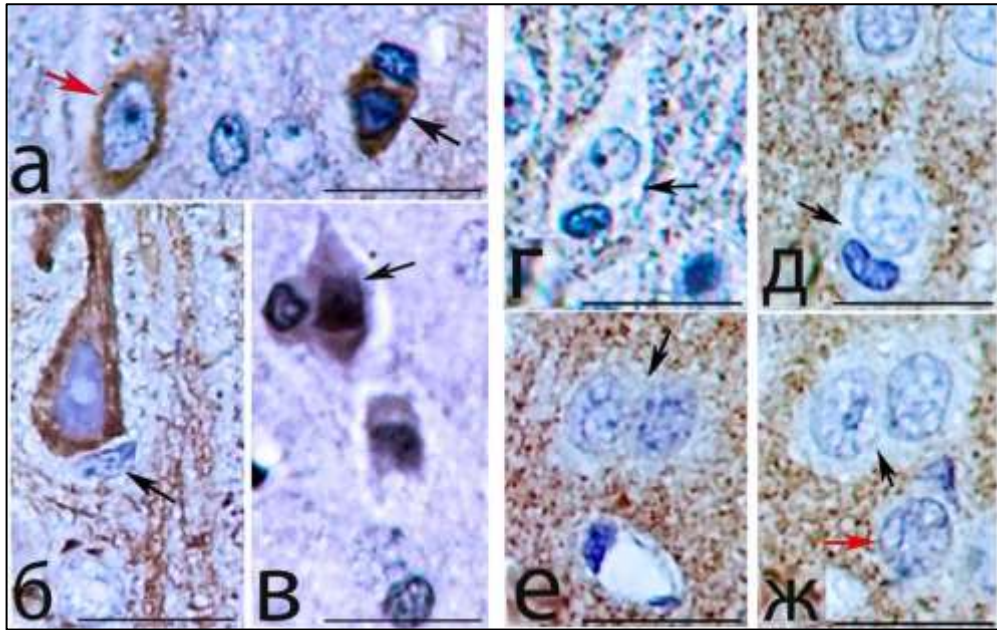


Рис. 52 – Иммуногистохимическое представление пространственного соотношения специфических белков нервной ткани в двуядерных клеточных образованиях (черные стрелки) в слоях III (а, д, в, е, ж) и V (б, г) СМК головного мозга белых крыс через 1-е (а, б), 3-и (г, д, е, ж) и 7-е сутки (в) в постшемическом периоде: красная стрелка – одноядерный нейрон. Иммуногистохимическое выявление NSE (а), MAP2 (б), HSP-70 (в), *p38* (г) и каспазу 3 (д-ж). Объектив  $\times 100$ , шкала – 20 мкм.

В пользу формирования сложных структур после ООСА, а именно гетеро- и дикарионов свидетельствовали также данные иммуногистохимического исследования, которые позволили по нейроспецифическим частицам получить полную и новую информацию о пространственном структурном расположении контактирующих различных клеток и нейропиля. Особенно контрастно эти компартменты видны при реакции нейрального маркера на основной синаптический везикулярный белок синаптофизин (*p38*) и каспазу 3 (рис. 52).

При изучении обзорных срезов головного мозга белых крыс, выполненных во фронтальной плоскости Брега, установлено, что в процессе непосредственного слияния с телом нейрона участвовали, скорее всего, не все типы нейроглиальных клеток ЦНС. Последнее не удалось показать для протоплазматических и фиброзных астроцитов. Их тела контактировали только с телами нейронов, не проникая за пределы внешних контуров (рис. 48, 53, а – в). Можно предположить, что слиянию нервных клеток препятствовал жёсткий структурный глиофибрилярный цитоскелет астроцитов, который только в крупных ветвях одного астроцита охватывал на срезе от 780 до 1500 мкм<sup>2</sup> и был существенно больше тела нейрона, а площадь крупного перикариона на рис. 47, б составляла 370 мкм<sup>2</sup>. Впрочем, это не означает, что астроциты не участвовали в процессе образования гетеро- и дикарионов. Были обнаружены мелкие

отростки протоплазматических звездчатых астроцитов, «окутывавших» ниши, в которых происходило слияние олигодендроцитов и тел нейронов, контролируя, вероятно, микросреду этого сложного процесса (рис. 53, б, в).

Олигодендроцитов и микроглиоцитов часто обнаруживались вместе, имели приблизительно одинаковые размеры (в мкм). Данные клетки выявлялись рядом с неповреждёнными телами нейронных клеток (рис. 49, 51, 53), то есть, функционировали в едином комплексе, взаимно дополняя друг друга в данном процессе.

В ишемическом периоде изменялись показатели не только формы, но количества и размеров микроглиоцитов ЦНС во всех изученных полях и слоях СМК. Как и в контроле, микроглиоцитов выявлялись вокруг многих сосудов, в тесной связи с телами нормохромных нейронов и гиперхромных пирамидных нейроцитов (рис. 54). Выявлено увеличение общей численной плотности микроглиоцитов на 1 мм<sup>2</sup> поля зрения коры (табл. 15), но при этом возрастала и увеличивалась доля активных, неправильной формы, амeboидных, без длинных отростков, клеток, что составляло в процентном соотношении от 15% в контроле до 65% через 1 сут (Mann-Whitney U Test,  $p=0,0001$ ). Статистический анализ показал максимальную общую численную плотность всех микроглиоцитов в коре через 1 сут после 40-минтной ООСА.

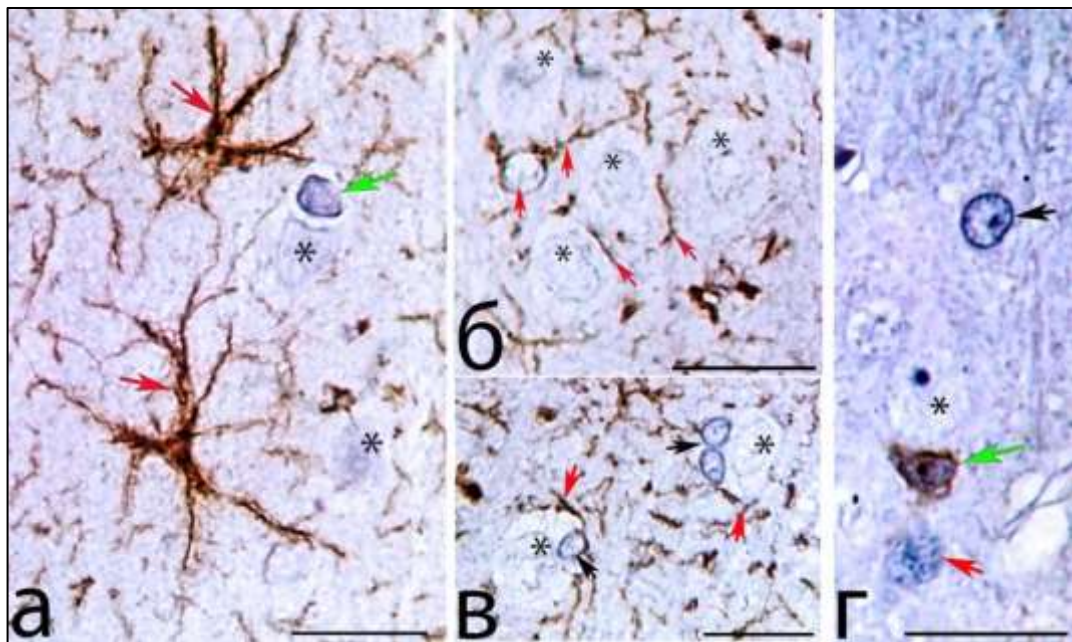


Рис. 53 – Пространственное соотношение астроцитов и их отростков (красные стрелки), олигодендроцитов (черные стрелки), микроглиоцитов (зелёные стрелки) и пирамидных нейронов (\*) слоя III (а, б, г) и V (в) СМК головного мозга белых крыс в постишемическом периоде (3-е сут). Иммуногистохимическое выявление GFAP (а-в) и AIF1 (г). Объектив  $\times 100$ , шкала – 20 мкм.

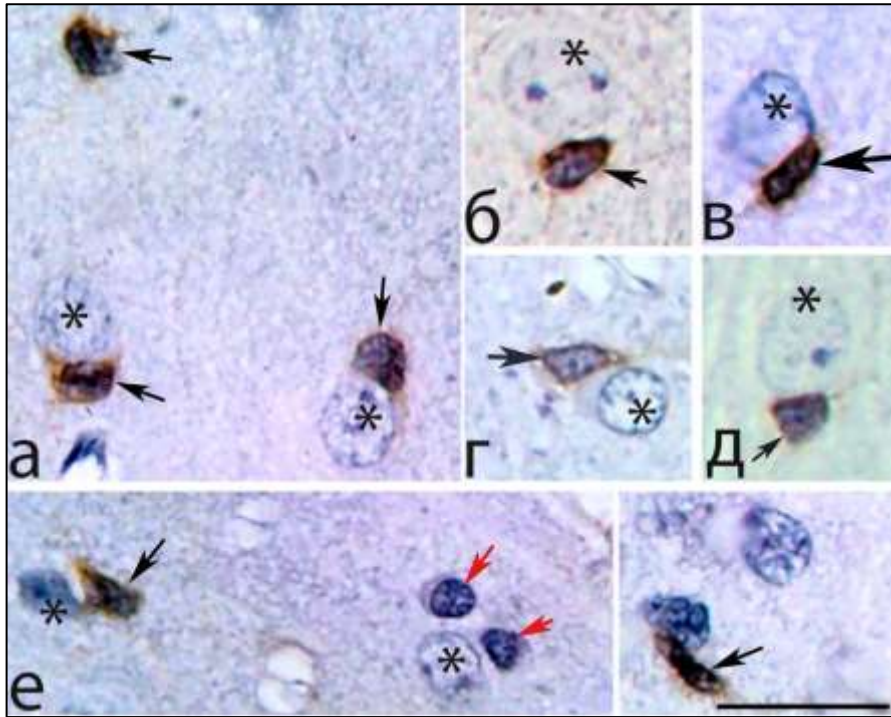


Рис. 54 – Пространственное распределение микроглиоцитов (черные стрелки) и олигодендроцитов (красные стрелки) вокруг перикарионов пирамидных нейронов (\*) СМК белых крыс в норме (б), через 1-и (а, в, е), 3-е (г) и 7 сут (д) в постиншемическом периоде. Красная стрелка – одиночный нейрон. Иммуногистохимическое выявление AIF1. Объектив  $\times 100$ ; шкала – 20 мкм.

**Таблица 15 – Общая численная плотность (на  $1 \text{ мм}^2$ ) всех типов микроглиоцитов и олигодендроцитов в СМК (слои III + V) белых крыс в норме и после 40-минутной ООСА**

Подгруппы	Клетки	
	Микроглиоциты, реакция на AIF1	Олигодендроциты, окраска по Нисслю
Контроль, n=30 полей зрения	64,0 (32,0–64,0)	60,2 (30,0–68,5) $p=0,6^{\text{M-O}}$
1-е сут, n=30	96,0 (95,0–128,0) $p=0,0001^*$	65,4 (25,0–75,0) $p=0,01^*$ ; $p=0,0003^{\text{M-O}}$
3-и сут, n=30	78,0 (64,0–96,0) $p=0,0002^*$ ; $p=0,01^{\wedge}$	57,5 (50,0–70,0) $p=0,3^*$ ; $p=0,01^{\wedge}$ ; $p=0,003^{\text{M-O}}$
7-е сут, n=30	78,0 (64,0–96,0) $p=0,001^*$ ; $p=0,64^{\wedge}$	77,5 (52,5–87,5) $p=0,001^*$ ; $p=0,001^{\wedge}$ ; $p=0,8^{\text{M-O}}$
ANOVA между сроками (1 – 3 – 7 сут)	H (2, N=102) =11,5; $p=0,003^{\#}$	H (2, N=100) =9,2; $p=0,01^{\#}$

Примечание. \* – сравнение с контролем,  $\wedge$  – с предыдущим сроком,  $\text{M-O}$  – между микроглиоцитами и олигодендроцитами (Mann-Whitney U Test),  $\#$  – между сроками после ишемии (ANOVA Kruskal-Wallis). Нулевую гипотезу отвергали с учётом коррекции Бонферрони при  $p \leq 0,01$ . Материал представили как медиану (1 и 3 квартили).

После ООСА увеличивались также размеры микроглиоцитов клеток. С помощью окраски на AIF1 и морфометрии было установлено, что их площадь варьировалась от 23,4 до 93,1  $\text{мкм}^2$ , медиана, а также нижний и верхний квартили составлял – 42,6 (31,3 – 51,0)  $\text{мкм}^2$ , а в контроле данный показатель – 21,2

(30,8–42,6) мкм<sup>2</sup> (Mann-Whitney U Test,  $p=0,0001$ ). На этом уровне эти медианные показатели оставались и через 3 и 7 сут после ишемии. По данным литературы, подобные структурные изменения в нервной ткани являются особой формой воспалительной микрореакции – формирования клеток амeboидной микроглии и нейровоспаления, для которого характерно увеличение в размерах, неправильная структурная форма тела и преобладание фагоцитарной функции.

Анализ динамики количества микроглиоцитов и олигодендроцитов в СМК показал, что пик увеличения плотности этих клеток после ООСА отличался: для микроглиоцитов – через 1 сут, для олигодендроцитов – через 7 сут (табл. 15). В данном случае можно предположить, что микроглиоциты санировали нервную ткань после ООСА для возможности последующего более полноценного её структурно-функционального восстановления с участием олигодендроцитов в более поздний период.

Исследование препаратов (150 полей зрения на каждый срок с последующей рандомизацией до 30), окрашенных по Нисслю и гематоксилином-эозином, а также иммуногистохимически на NSE, HSP-70, MAP2 показало, что численная плотность гетеро- и дикарионов в СМК контрольных животных составляла 3,5 (1,5–4,0) мм<sup>2</sup>. Через 1 и 3 сут после ООСА эти показатели оставались на уровне контрольного значения – соответственно 4,0 (2,0–4,5) ( $p=0,20$ ) и 4,0 (2,5–5,0)/мм<sup>2</sup> ( $p=0,35$ ), а вот через 7 сут статистически увеличивались – до 6,5 (5,0–8,5)/мм<sup>2</sup> (Mann-Whitney U Test;  $p=0,002$ ). Статистическое увеличение количества гетеро- и дикарионов происходило на фоне более высокого, чем в контрольной группе, содержания олигодендроцитов и микроглиоцитов клеток.

### **3.1.6. Иммуноцитохимическое исследование реорганизации структур межнейронной коммуникации в зависимости от продолжительности острой ишемии и отдела головного мозга**

В контрольной группе пирамидные нейроны в поле зрения СА<sub>3</sub> гиппокампальной формации содержали крупные клетки с одним большим ядром, одним или с двумя ядрышками, расположенными не плотно, площадь перикариона составляла в среднем 125,3 мкм<sup>2</sup>, варьировалась от 113,7 до 165,5 мкм<sup>2</sup> (рис. 55, а). Тела и апикальные дендриты данных нейронов покрывались плотно расположенными друг к другу синапсами; при специальной окраске терминали их заполнялись гранулами меченного синаптофизина (рис. 55, б).

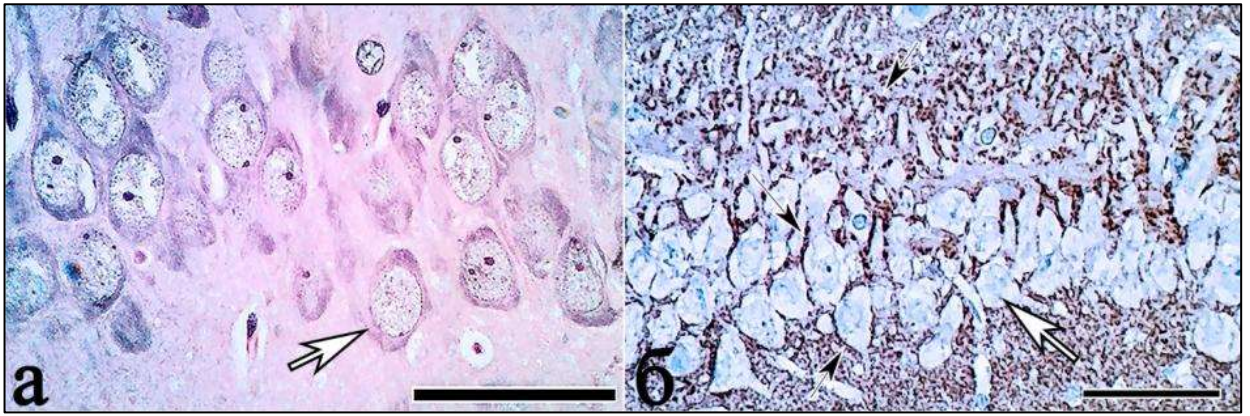


Рис. 55 – Поле СА<sub>3</sub> гиппокампа белой крысы в норме: экранное образование, чётко выделяются слои пирамидных нейронов (белые стрелки): а – обзорная окраска гематоксилином и эозином; б – иммуногистохимическое выявление синаптофизина (черные стрелки, метки окружают дендриты и тела нейронов). Объектив ×100 (а) и ×40 (б), шкала – 50 мкм.

Взаимодействие пирамидных нейронов поля СА<sub>3</sub> с другими отделами головного мозга белых крыс осуществляется за счёт аксошипиковых, аксодендритических и аксосоматических синапсов, которые располагаются в слое тел нейронных клеток. При иммуногистохимическом выявлении синаптофизина (p38-позитивный материал) в СА<sub>3</sub> чётко обнаружена особая зона *stratum lucidum*, которая состояла из множества апикальных участков идущих вверх дендритов пирамидных нейронов и огромных синапсов, образованных ветвящимися аксонами мшистых волокон ЗФ (рис. 56).

Особенностью поля зрения СА<sub>3</sub> гиппокампа головного мозга белых крыс было наличие крупных синапсов на апикальных дендритах ведущих вверх пирамидных нейронов в *stratum lucidum* (рис. 56, б). Площадь (на фронтальных срезах) одной p38-позитивной частицы варьировала и составляла от 1,5 до 6,6 мкм<sup>2</sup>, диаметр – от 1,4 до 2,9 мкм. Этого было вполне достаточно для точного проведения количественной характеристики элементов анализа – площади терминалей в *stratum lucidum* и структур пирамидных нейронов на иммуногистохимических препаратах (рис. 56).

В *lacunosum* молекулярном слое и *stratum radiatum* (поля зрения исследования СА<sub>3</sub>) при иммуногистохимическом исследовании были обнаружены только самые огромные p38-позитивные частицы, а именно аксошипиковые и аксодендритические терминали. Для изучения остальных видов и размеров синапсов необходимо применение других микроскопов.



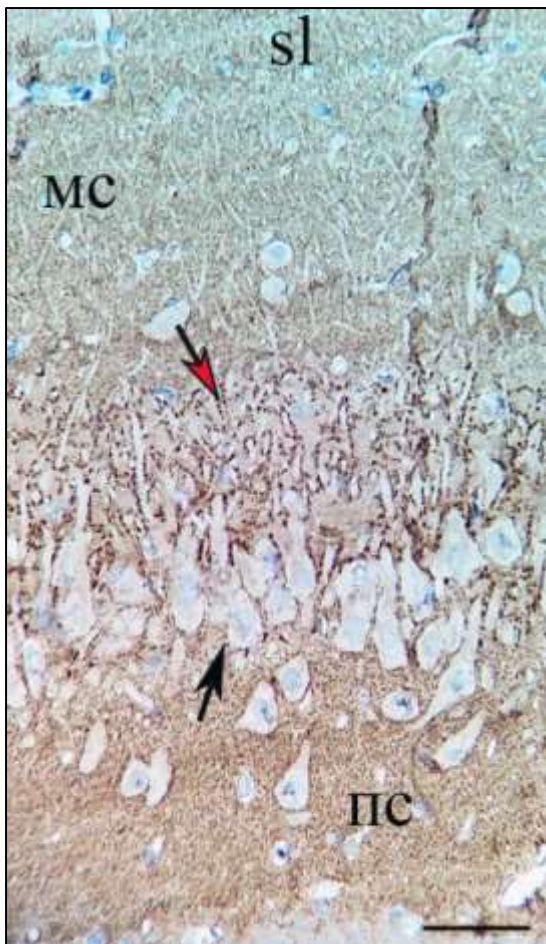


Рис. 56 – Поле CA<sub>3</sub> гиппокампа белой крысы в норме. Основные зоны локализации синапсов (а): s.lac – stratum lacunosum, s.rad – stratum radiatum, s.luc – stratum lucidum, p.l. – слой тел пирамидных нейронов; гигантские терминалы (отмечено стрелками) stratum lucidum (б). Иммуногистохимическое выявление синаптофизин. Объектив ×40, шкала – 50 мкм (а) и 20 мкм (б).

Экспериментальная 20-минутная ООСА приводила к статистически значимому снижению плотности пирамидных нейронов в поле зрения CA<sub>3</sub> гиппокампа головного мозга белых крыс (рис. 57). Элиминация безвозвратно повреждённых нейронов происходила путём фагоцитоза. Всё это было на фоне дистрофических изменений: гипохромии, гиперхромии без сморщивания, набухания, вакуолизации, гомогенизации, а также некробиотических процессов (превращение в клетки-тени, гиперхромия-сморщивание с гомогенизацией ядра и цитоплазмы). Самое большое уменьшение количества нормохромных нейронов отмечалось через 1, 3 и 7 сут после ООСА, но затем содержание нормохромных нейронов в CA<sub>3</sub> гиппокампа увеличивалось, и уже через 30 сут этот относительный показатель составил 91,6%. Проведённый анализ показал, что восстановления до контрольной группы не происходило. Важно, что при этом за всё время наблюдения в течение 30 сут после ишемии общая численная плотность нейронов головного мозга в поле зрения гиппокампа CA<sub>3</sub> уменьшилась только на 17,4% (рис. 57).

Таким образом, в течение 30 сут после 20-минутной ООСА только незначительная часть ишемически изменённых пирамидных нейронов CA<sub>3</sub> подвергалась необратимой деструкции и полной утилизации путём фагоцитоза.



Рис. 57 – Общая численная плотность и численная плотность нормохромных нейронов поля СА<sub>3</sub> в норме и постишемическом периоде, \* – сравнение с контрольными животными,  $p < 0,001$ ; ^ – сравнение с предыдущим сроком,  $p < 0,01$  (критерий Манна-Уитни). Q3 (Q1–Q3), сравнение между всеми сроками – однофакторный дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса (ANOVA).

Регенерация включала совокупность процессов на протяжении всего анализа постишемического периода. В исследуемый период преобладали обратимые дистрофические изменения нейронных клеток, наблюдалось острое набухание тел нейронов, умеренный внутриклеточный отёк нервных клеток с небольшой вакуолизацией цитоплазмы, а также очаговый и субтотальный хроматолиз, гиперхроматоз субстанции. Чаще встречались тёмные несморщенные и сморщенные нейроны без гомогенизации ядра. В последних, за счёт обезвоживания клеток, возникали различной степени сжатия цитоплазмы клетки без деструкции нейрофибрилл и ядра. При иммуногистохимической верификации выделялись структуры цитоскелета нейрона, ассоциированные с белком микротрубочек 2 (рис. 58, а, б).

По данным иммуногистохимического исследования, через 1 сут после 20-минутной ООСА в stratum lucidum, а именно в апикальных дендритах СА<sub>3</sub>, относительная площадь частиц р38-позитивных терминалей на фронтальных срезах статистически значимо уменьшилась на 8,8% (95% ДИ: 0,59–16,9%) по сравнению с контрольной группой. Через 3, 7, 14 и 30 сут этот показатель не отличался от контрольного значения (рис. 59). Нужно сделать акцент, что относительная площадь р38-позитивных частиц уменьшалась только в зоне дендритов гиппокампа СА<sub>3</sub>, а в зоне концентрации перикарионов пирамидных нейронов в области СА<sub>3</sub> этого не обнаружено (рис. 59).

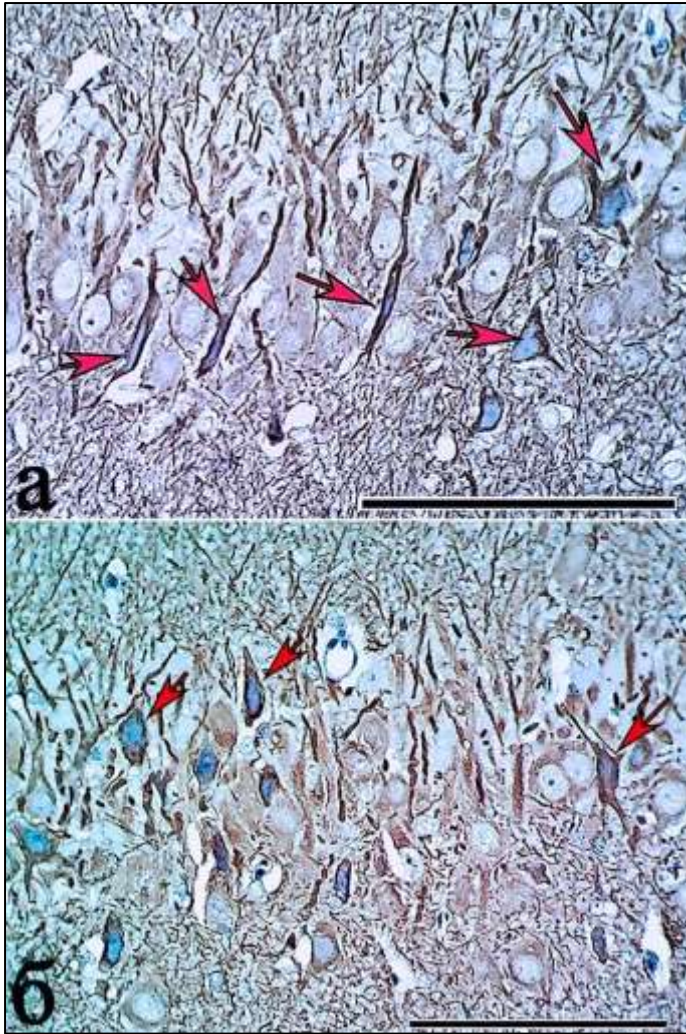


Рис. 58 – Цитоскелет пирамидных нейронов поля CA<sub>3</sub> гиппокампа в постиншемическом периоде после 20-минутной ООСА (а – 3, б – 30 сут): часть перикарионов имеет повышенную плотность метки за счет дегидратационного сжатия цитоплазмы без разрушения цитоскелета, апикальные дендриты в stratum lucidum окружены светлым материалом (гигантские синапсы). Иммуногистохимическое выявление MAP2. Объектив ×40, шкала – 100 мкм.

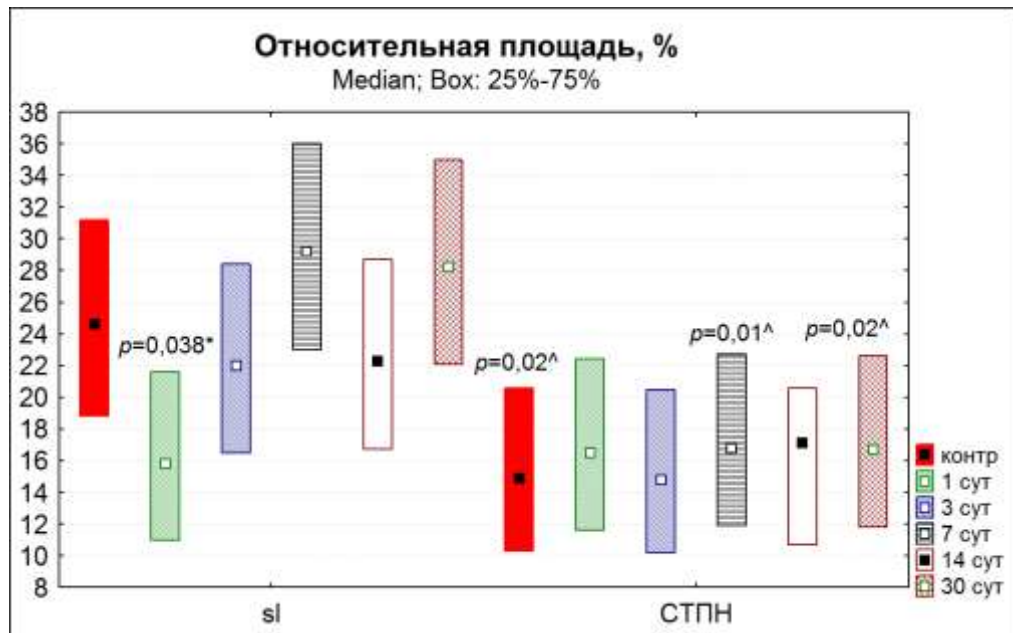


Рис. 59 – Относительная площадь (%) частиц p38-позитивного материала в поле CA<sub>3</sub> гиппокампа белых крыс в норме и в постиншемическом периоде (по 200 полей зрения на каждый срок). \* – сравнение с контролем; ^ – сравнение с stratum lucidum. СТПН – слой тел пирамидный нейроны. Различия статистически значимы при  $p \leq 0,05$  (критерий  $\chi^2$ ). 95% доверительный интервал.

Необходимо отметить, в раннем остром постишемическом периоде через 1 и 3 сут в поле СА<sub>3</sub> гиппокампа головного мозга крыс происходило значительное увеличение доли афферентов перикарионов нейронов за счет неравномерного и незначительного нарушения аксосоматических и аксодендритических синапсов. Анализ показал, что разрушение структурных межнейронных синапсов происходило на всех участках молекулярного слоя, а именно *stratum lacunosum, radiatum* и *lucidum*. Можно отметить, что в большей степени после ишемии страдали не большие синапсы *stratum radiatum* и *stratum lacunosum*. Данный процесс можно рассматривать как один из механизмов структурных изменений межнейронных отношений в раннем периоде после острой ишемии головного мозга крыс.

### **3.1.7. Феномен плейотропности и нейропластичность после окклюзии общих сонных артерий**

В СА<sub>3</sub> гиппокампа головного мозга белых крыс установлено наличие уникальной области – *stratum lucidum*, которая располагалась на уровне апикальных участков дендритов пирамидных нейронов, которые идут вверх и составлены из дендритов, больших синапсов, организованных аксонами мшистых волокон, а также из небольшого количества ветвящихся отростков звездчатых астроцитов. Можно отметить, что при окраске гематоксилином и эозинном *stratum lucidum* не контрастировала с другими структурами молекулярного слоя СА<sub>3</sub> и выглядела как в СА<sub>1</sub> (рис. 60, а, б).

Совершенно иная картина наблюдалась при иммуногистохимическом выявлении внутриклеточного цитоскелетного белка MAP2. *Stratum lucidum* была обнаружена в виде светлой полосы, содержащей срезы дендритов с частицами MAP2-позитивного материала, над слоем перикарионов пирамидных нейронов ЦНС только в поле зрения СА<sub>3</sub> гиппокампа. Данные светлые участки соответствовали синаптическим терминалям между двумя нейронами, цитоскелет которых не содержал частиц MAP2-позитивного материала (рис. 60, в, г; 60, а, б).

Синаптические терминали со светлыми участками при окраске на MAP2 в *stratum radiatum* СА<sub>1</sub> и особенно крупные терминали в *stratum lucidum* СА<sub>3</sub> очень сильно окрашивались при иммуногистохимическом выявлении синаптофизина (рис. 61, а, б). В *stratum radiatum* СА<sub>1</sub> гигантские терминали практически не выявлялись. Иммуногистохимические метки выявлены вдоль дендритов и в скоплениях отростков нервных клеток (рис. 61, а). В *stratum lucidum* СА<sub>3</sub> гиппокампа частицы локализовались вдоль апикальных разветвлённых дендритов (рис. 61, б).

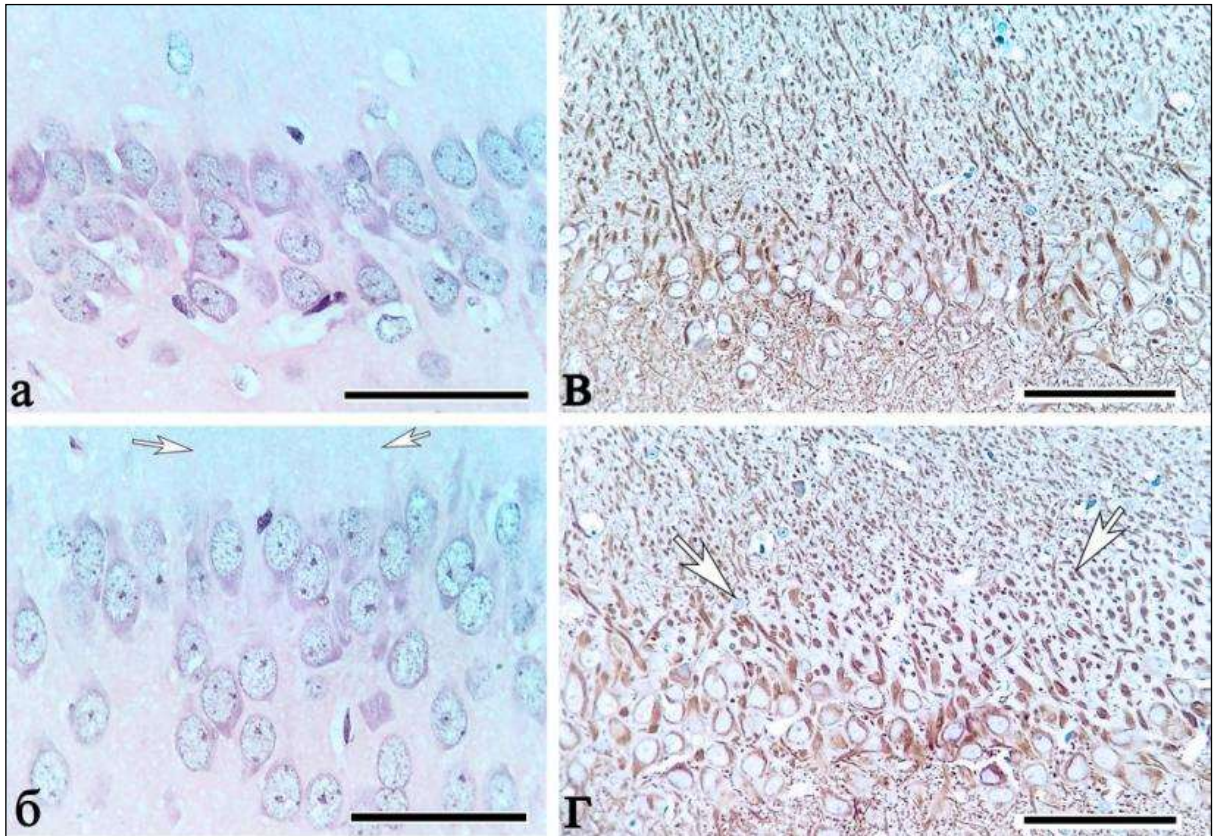


Рис. 60 – Поля СА<sub>1</sub> (а, в) и СА<sub>3</sub> (б, г) гиппокампа контрольных белых крыс: демонстрация выявления и локализации stratum lucidum (стрелки); а, б – окраска гематоксилином и эозином, в, г – иммуногистохимическое выявление MAP2. Докраска гематоксилином. Объектив ×40, шкала – 100 мкм (в, г); ×100, шкала – 25 мкм (а, б).

На основании полученных данных можно утверждать, что при иммуногистохимической реакции на каспазу 3 местоположение меток (рис. 61, в, г) соответствовало таковому при окраске на синаптический везикулярный белок (рис. 61, а, б). В перикарионах пирамидных нейронов каспаза 3 не выявлялась, она обнаруживалась только в терминалях аксошипиковых, аксосоматических и аксодендритических синапсов (рис. 61, в, г).

Необходимо отметить, экспрессия каспазы 3 выявлялась в стратегических областях реализации функциональных механизмов синаптической пластичности. Более выраженная экспрессия выявлена в структурных терминалях аксошипиковых и аксодендритических синапсов. Всё это позволяет допустить возможность, что данный проапоптотический фермент обладает плеiotропными свойствами и его можно рассматривать в нервной ткани в качестве механизма защиты, компенсации и восстановления межнейронных связей гиппокампа головного мозга крыс как в норме, так и после ишемического воздействия. Другими словами, острая ишемия головного мозга белых крыс может стимулировать защитные свойства каспазы 3 в ЦНС.

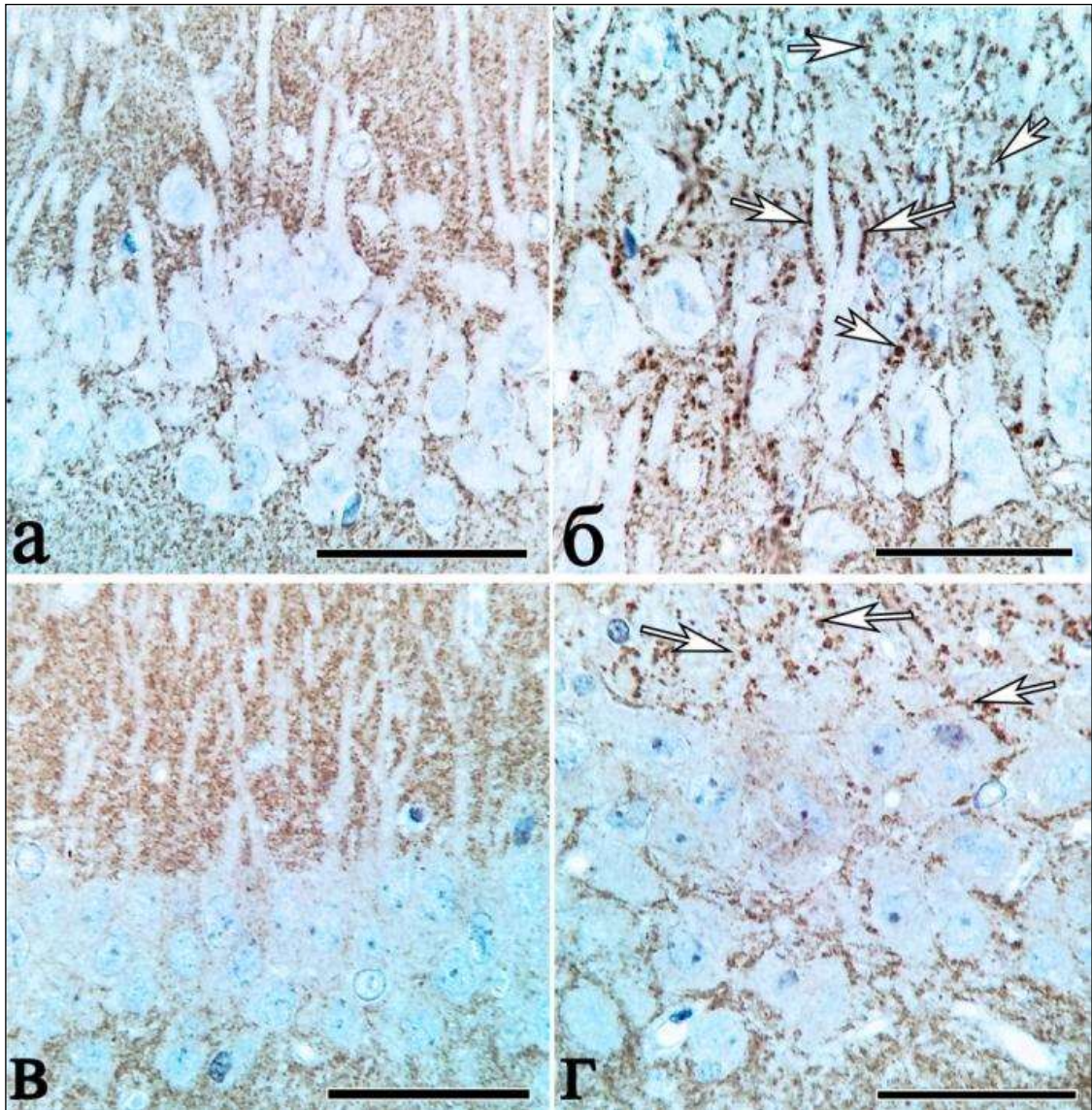


Рис. 61 – Поля СА<sub>1</sub> (а, в) и СА<sub>3</sub> (б, г) гиппокампа контрольных белых крыс: наличие гигантских терминалей в stratum lucidum (стрелки) СА<sub>3</sub> и более мелких терминалей в stratum radiatum СА<sub>1</sub> при иммуногистохимическом выявлении синаптофизина (а, б) и каспазы 3 (в, г). Докраска гематоксилином. Объектив  $\times 100$ , шкала – 25 мкм.

В данной работе оценивали изменения количества нейронов, сравнивали площадь частиц маркеров при иммуногистохимическом выявлении каспазы 3 и синаптофизина в структурных терминалях. Исследование процесса программирования клеточной гибели сводилось к определению экспрессии p53, bcl-2 белков и каспазы 3 в теле нейронов.

Установлено, что в постинсультном периоде головного мозга белых крыс происходило количественное уменьшение общей численной плотности пирамидных нейронов. Через 30 сут после ООСА дефицит нейронных клеток в поле зрения СА<sub>1</sub> гиппокампа составил 33,0%, а в СА<sub>3</sub> гиппокампе – 17,4% (рис. 62).

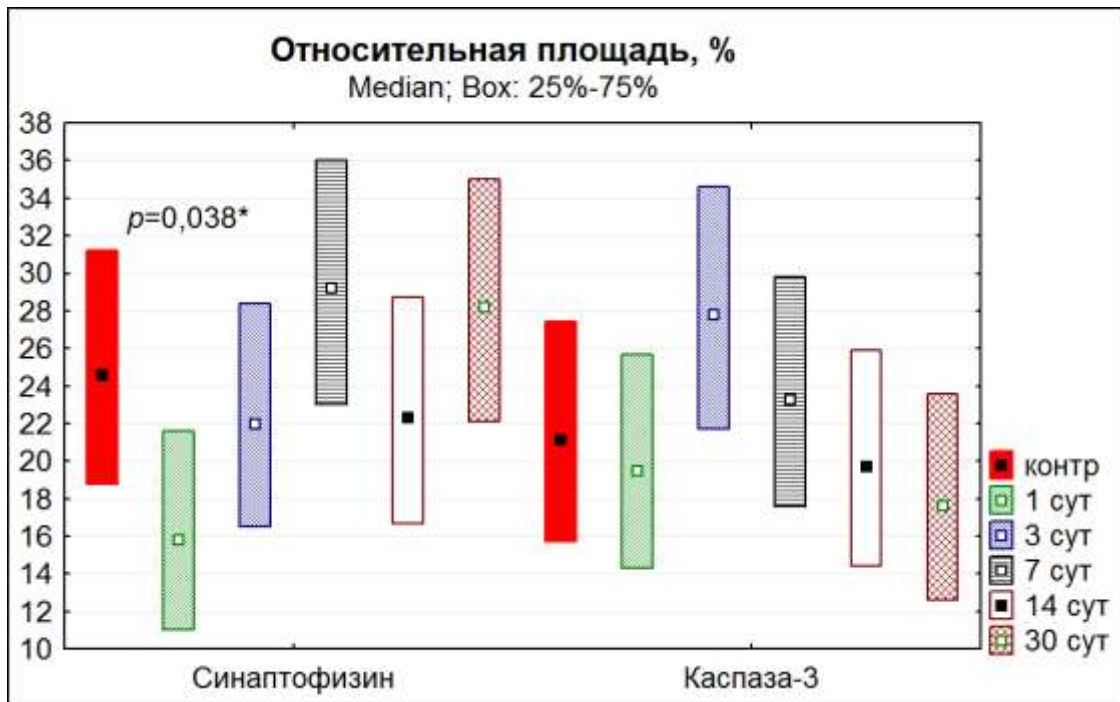


Рис. 62 – Относительная площадь (%) синаптофизин- и каспазы 3-положительных частиц в stratum lucidum поля CA<sub>3</sub> гиппокампа белых крыс в норме и после восстановления кровотока (по 200 полей зрения на каждый срок). \*В сравнение с контролем различия статистически значимы при  $p < 0,05$  (критерий  $\chi^2$ ). Данные представлены как среднее и 95% доверительный интервал.

Через 1 и 3 сут острой ишемии установлено, что в гиппокампе головного мозга белых крыс появлялись нейроны с более выраженными тинкториальными изменениями, уменьшением интенсивности окраски цитоплазмы и ядра, которые выглядели как гиперхромные и гипохромные, гидропические в виде вакуолизации, отёка-набухания, дегидратационные тёмные клетки с обратимым сморщиванием и некробиотические клетки-тени, пикноморфные, гомогенизированные клетки, с явлениями фагоцитоза, отмечались небольшие области «выпадения» нейронных клеток. Среди необратимо повреждённых структур преобладали формы пикноморфных нейронов с признаками коагуляционно-ишемического повреждения (рис. 63, а, б).

В области молекулярного слоя обнаруживались контуры окрашенных эозином апикальных дендритов (рис. 63, б). Нейроглиальные взаимоотношения в нервной ткани характеризовались увеличением количества единичных или групп звездчатых астроцитов и резидентных микроглиоцитов около патологически изменённых нейронных клеток.

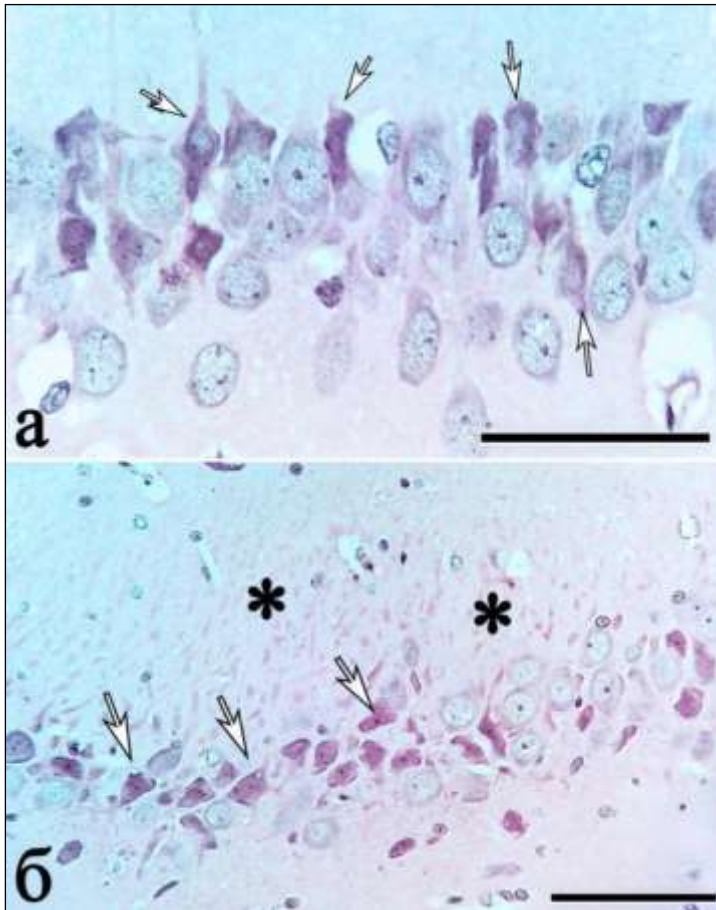


Рис. 63 – Поля CA<sub>1</sub> (а) и CA<sub>3</sub> (б) гиппокампа через 1 сут после ишемии: преобладают нейроны с признаками коагуляционно-ишемического некроза (стрелки), в stratum lucidum (\*) видны контуры апикальных дендритов. Окраска гематоксилином и эозином. Объектив  $\times 100$ , шкала – 25 мкм (а);  $\times 40$ , шкала – 100 мкм (б).

После ишемии через 7 сут в гиппокампе ЦНС сохранялись проявления кариоцитолитоза с образованием «клеток-теней», отёка-набухания структур и вакуолизации перикарионов нейронов, а также пикноморфные клетки. Обнаружены очаги «выпадения» нейронных клеток и статистически значимое увеличение количества микроглиоцитов, которые располагались около ишемически изменённых нейронов либо отдельно, либо в составе группы с звездчатыми отростчатыми астроцитами.

Через 14 сут после ООСА рядом с диффузными очагами ишемически повреждённых нейронных клеток часто выявлялись гипертрофированные нейроны. Через 30 сут после ООСА головного мозга белых крыс сохранялись очаги с пикноморфными нейронами при увеличении содержания глиальных клеток ЦНС.

При иммуногистохимическом исследовании экспрессия p53, bcl-2, которые являются белками-регуляторами апоптоза, обнаружена в единичных нейронных клетках, основная масса клеток была bcl-2-, p53-негативной. Каспаза 3 экспрессировалась только в ветвящихся аксонах и структурных синаптических терминалях, а в перикарионах, как и в контрольной группе, не выявлялась. Это свидетельствовало о том, что в данной экспериментальной модели



острой ишемии головного мозга белых крыс не выявлялось функционально и структурно значимой элиминации нейронных клеток. Были обнаружены единичные нейроны с признаками активации специфических белков-регуляторов апоптоза без наличия активной каспазы 3 в цитоплазме перикарионов нейронов. Эти данные свидетельствуют о том, что каспазу 3 можно рассматривать в аспекте плеiotропности и участия ее в структурных адаптационных и восстановительных процессах за счет постишемической активации нейропластичности в области аксонов и синапсов.

Для подтверждения этого феномена в полях зрения CA<sub>1</sub> и CA<sub>3</sub> части гиппокампа проведено сравнение относительной площади частиц синаптофизина и эффекторной (эксекUTORной) каспазы 3 в динамике и по степени тяжести постишемического периода. Установлено, что в поле зрения CA<sub>1</sub> количество синаптофизин-позитивных клеток снижалось через 1 и 3 сут после ООСА, а затем этот показатель восстанавливался до контрольного уровня (рис. 62, 64).

В крупных синапсах поля зрения CA<sub>4</sub> гиппокампа содержание иммуногистохимических маркеров синаптофизина уменьшалось через 1 сут после ООСА, а уже через 3 сут ишемии было на уровне контроля (рис. 65).

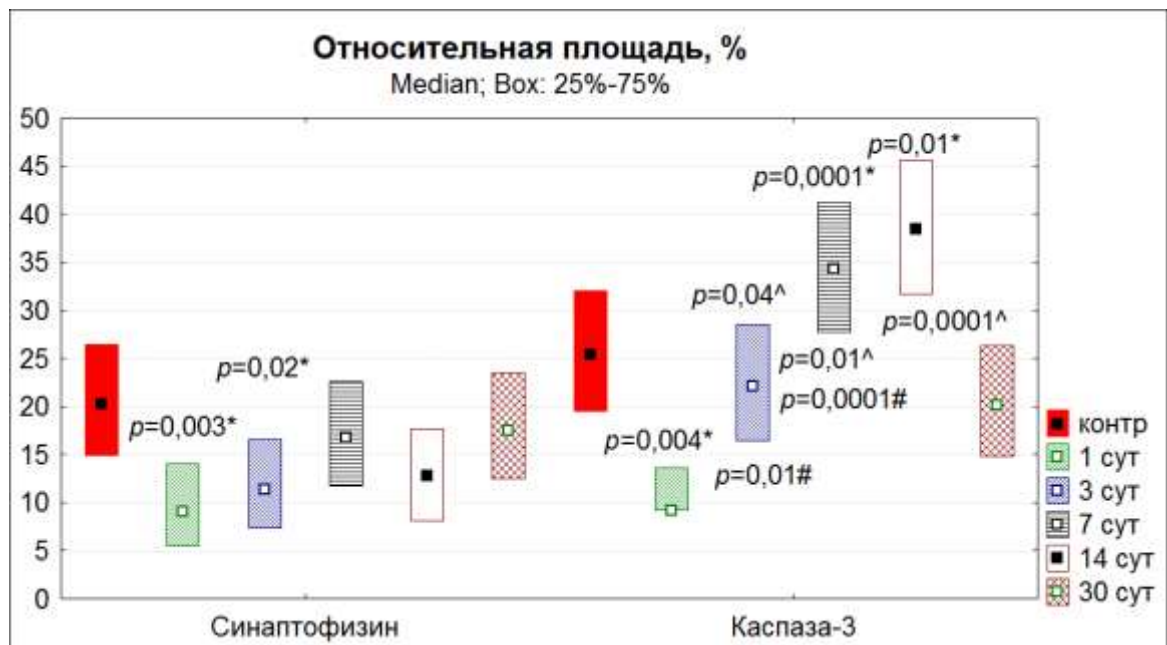


Рис. 64 – Относительная площадь (%) меток синаптофизина и каспазы 3 в stratum radiatum поля CA<sub>1</sub> гиппокампа белых крыс в норме и после восстановления кровотока (по 200 полей зрения при каждом сравнении на срок). Различия статистически значимы в сравнении с контролем (\*), с предыдущим сроком (^) и между белками (#) при  $p < 0,05$  (критерий  $\chi^2$ ,  $n = 200$ ). Данные представлены как среднее и 95% доверительный интервал.

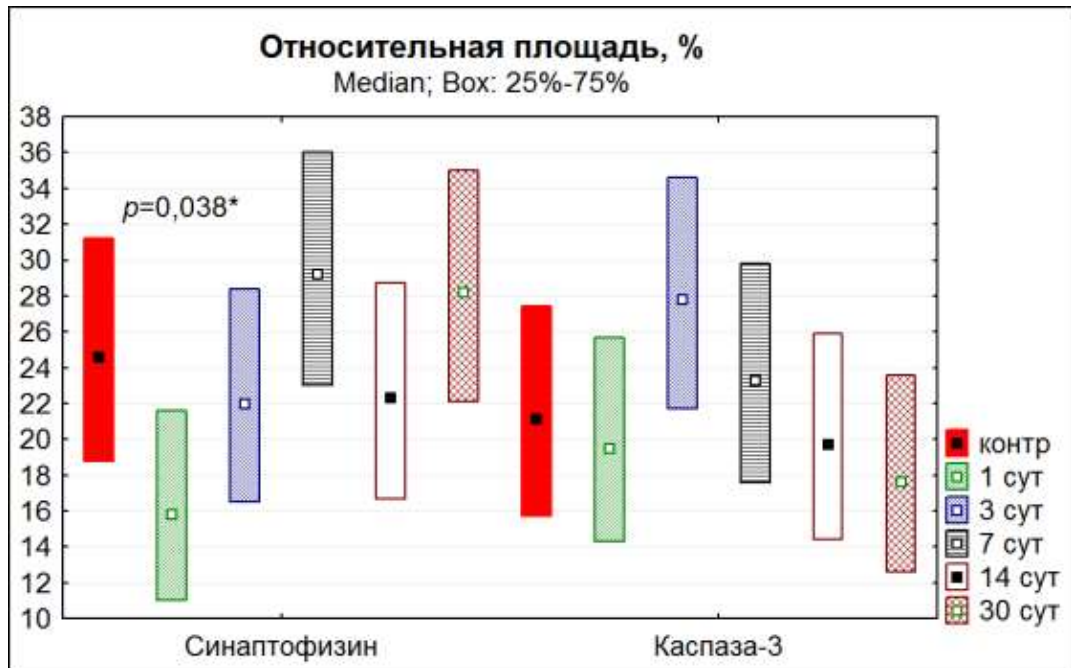


Рис. 65 – Относительная площадь (%) меток синаптофизина и каспазы 3 в stratum lucidum поля СА<sub>3</sub> гиппокампа белых крыс в норме и после восстановления кровотока (по 200 полей зрения на каждый срок). \*В сравнении с контролем различия статистически значимы при  $p < 0,05$  (критерий  $\chi^2$ ). Данные представлены как среднее и 95% доверительный интервал.

В постишемическом периоде наиболее глубокие изменения экспрессии каспазы 3 обнаруживались в области stratum radiatum поля зрения СА<sub>1</sub> гиппокампа. В этом поле содержание каспазы 3 в остром периоде после ООСА по сравнению с контрольной группой сначала через 1 сут уменьшалось, а уже через 3 сут восстанавливалось.

Через 7 и 14 сут после ишемии сохранялось высокое содержание этого белка. Через 3, 7 и 14 сут относительная площадь частиц каспазы 3 была намного больше, чем частиц синаптофизина (рис. 62). В области stratum lucidum поля зрения СА<sub>3</sub> гиппокампа, содержащем большое количество больших терминалей, статистически значимых изменений каспазы 3 не обнаружено (рис. 64). Поля зрения СА<sub>1</sub> и СА<sub>3</sub> гиппокампа белых крыс через 1 сут после 40-минутной ООСА представлены на рис. 66, 67, 68.

Показана смешанная природа гибели нейронов, выявлен как колликационный, так и коагуляционный некроз, а также апоптоз. Гибель нейронных клеток выявлена как через 6 ч, 1, 3 и 7 сут, так и в отдалённом периоде – через 14, 21 и 30 сут постишемического периода. Большая часть тёмных нейронов острого периода восстанавливала свои тинкториальные свойства и форму в отдалённом периоде. На фоне повреждения нейронов активировалась пролиферация нейроглии (по маркеру Ki-67), а именно звездчатых астроцитов,

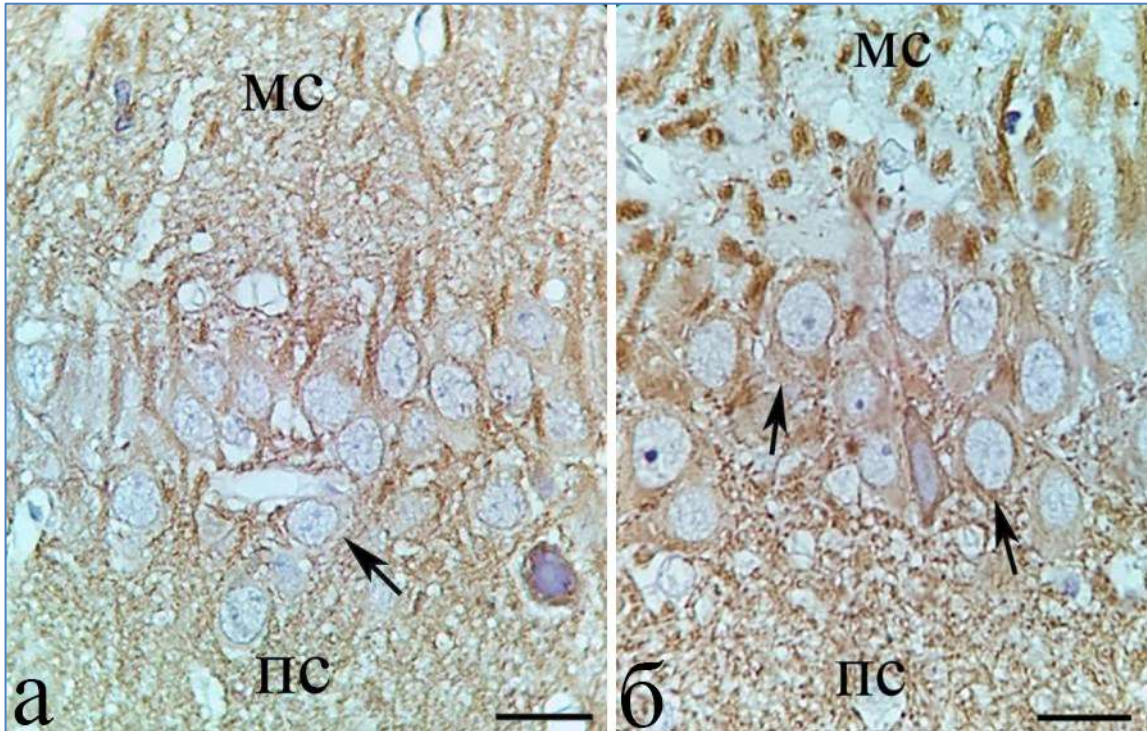


Рис. 66 – Поля CA<sub>1</sub> (а) и CA<sub>3</sub> (б) гиппокампа белых крыс через 1 сут после 40-минутной ООСА. Черные стрелки – слой пирамидных нейронов. МС – молекулярный слой, ПС – полиморфный слой. Иммуногистохимическая реакция на MAP2. Объектив  $\times 100$ , шкала – 20 мкм.

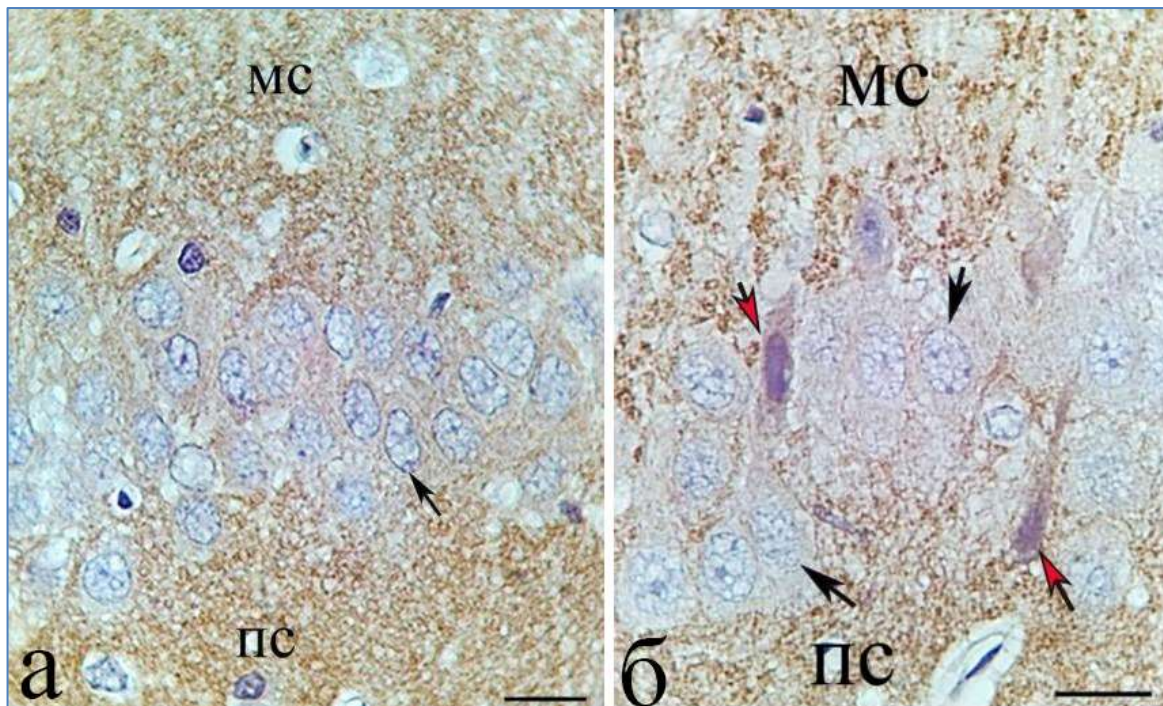


Рис. 67 – Поля CA<sub>1</sub> (а) и CA<sub>3</sub> (б) гиппокампа белых крыс через 1 сут после 40-минутной ООСА. Черные стрелки – слой пирамидных нейронов, красные стрелки – тёмные нейроны. МС – молекулярный слой, ПС – полиморфный слой. Иммуногистохимическое выявление каспазы 3. Объектив  $\times 100$ , шкала – 20 мкм.

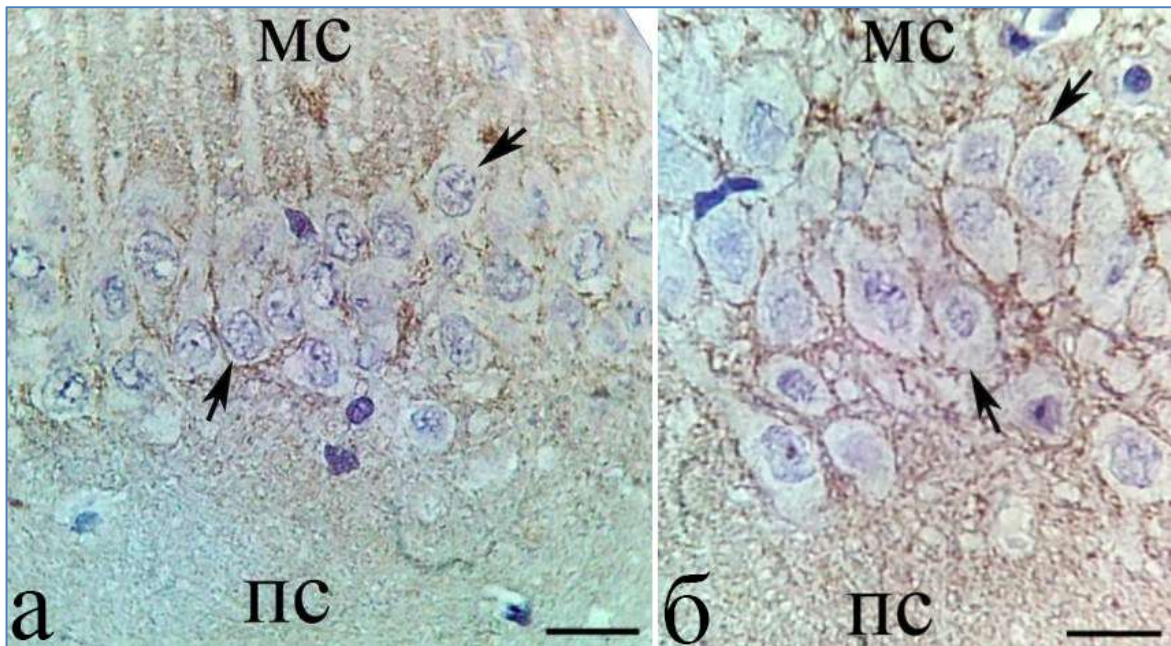


Рис. 68 – Поля CA<sub>1</sub> (а) и CA<sub>3</sub> (б) гиппокампа белых крыс через 1 сут после 40-минутной ООСА. Черные стрелки – слой пирамидных нейронов. МС – молекулярный слой, ПС – полиморфный слой. Иммуногистохимическое выявление синаптофизина. Объектив  $\times 100$ , шкала – 20 мкм.

микроглиоцитов, олигодендроглиоцитов, а также перицитов и эндотелиальных клеток микрососудов. Усиливалась экспрессия GFAP, увеличивался НГИ во всех структурах, появлялось всё большее количество реактивных микроглиоцитов и клеток-сателлитов.

Максимальная пролиферация астроцитов отмечена через 3 сут реперфузии, а в клетках сосудов – через 7 – 14 сут ООСА. Белки p53 и bcl-2 обнаруживались в единичных нейронах. Каспаза 3 экспрессировалась только в аксонах и синаптических терминалях. Количество меченых структур в процентном соотношении после 20-минутной ООСА было больше, чем в контроле. Эти данные также позволяют предположить плеiotропность каспазы 3, её участие в адаптационных и восстановительных процессах за счёт постишемической активации нейропластичности, а не только активацию механизмов клеточной гибели.

### **3.2. Неокортекс, гиппокамп, миндалевидное тело головного мозга белых крыс после односторонней 30-минутной окклюзии общих сонных артерий**

В изученных областях головного мозга животных контрольной группы не выявлено признаков право-левосторонней асимметрии по общей численной плотности нейронов и глиальных клеток. Двусторонняя ООСА приводила к относительно равномерному снижению кровотока в правой и левой частях

головного мозга. Очаги гипоперфузии выявлялись с обеих сторон и не были причиной явной асимметрии мозга.

Использование данной модели неполной острой 30-минутной ишемии (лево- и правосторонней) также не приводило к формированию крупных диффузных очагов повреждения нервной ткани головного мозга. Как и после двусторонней ООСА, преобладали мелкоочаговые диффузные симметричные изменения нейронов. Однако в остром периоде были выявлены значимые различия между правой и левой сторонами головного мозга. Так, при изучении общей численной плотности пирамидных нормохромных нейронов в слое V СМК на симметричных сторонах фронтального среза головного мозга статистически значимые различия наблюдались через 3 сут после окклюзии (табл. 16), а в гиппокампе – через 1 и 3 сут постишемического периода (табл. 18). При этом в МТ значимых различий не выявлено (табл. 20).

В этих отделах головного мозга также выявлялась асимметрия плотности распределения астроцитов (табл. 19 и 21). Для микроглиоцитов и олигодендроцитов подобное было не характерно. Асимметрия по общей численной плотности астроцитов выявлялась в гиппокампе (CA<sub>1</sub>) через 1 сут после ООСА и в МТ через 3 сут (табл. 17, 19, 21).

**Таблица 16 – Общая численная плотность нормохромных пирамидных нейронов (на 1 мм<sup>2</sup>) в слое V СМК после односторонней 30-минутной ООСА, Q2 (Q1-Q3)**

Группа животных	Симметричные стороны фронтального среза головного мозга		p
	Правая	Левая	
1 сут	288 (288–352)	304 (256–384)	1,0
3 сут	400 (352–448)	288 (224–352)	0,04*
7 сут	224 (192–320)	272 (256–320)	0,41
14 сут	288 (256–416)	304 (256–352)	0,92
30 сут	256 (224–320)	272 (224–352)	1,0

Примечание. Здесь и в табл. 17 – 21: \* – статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ) между сторонами (критерий Вилкоксона).

**Таблица 17 – Общая численная плотность астроцитов (на 1 мм<sup>2</sup>) в слое V СМК после односторонней 30-минутной ООСА, Me (QL–QU)**

Группа животных	Симметричные стороны фронтального среза головного мозга		p
	Правая	Левая	
1 сут	64 (32–96)	80 (64–96)	0,18
3 сут	64 (32–96)	80 (32–96)	0,6
7 сут	48 (32–64)	64 (64–96)	0,16
14 сут	80 (64–96)	64 (64–96)	0,6
30 сут	64 (64–96)	48 (32–64)	0,08

**Таблица 18 – Общая численная плотность нормохромных пирамидных нейронов (на 1 мм<sup>2</sup>) в гиппокампе (CA<sub>1</sub>) после односторонней 30-минутной ООСА, Me (QL–QU)**

Группа животных	Симметричные стороны фронтального среза головного мозга		<i>p</i>
	Правая	Левая	
1 сут	592 (480–736)	496 (384–544)	0,036*
3 сут	320 (256–384)	512 (448–544)	0,005*
7 сут	458 (437–509)	496 (416–576)	0,14
14 сут	480 (416–512)	480 (384–544)	0,79
30 сут	288 (224–448)	384 (320–448)	0,28

**Таблица 19 – Общая численная плотность астроцитов (на 1 мм<sup>2</sup>) в гиппокампе (CA<sub>1</sub>) после односторонней 30-минутной ООСА, Me (QL–QU)**

Группа животных	Симметричные стороны фронтального среза головного мозга		<i>p</i>
	Правая	Левая	
1 сут	32 (32–32)	96 (64–96)	0,012*
3 сут	64 (32–96)	32 (32–64)	0,16
7 сут	84 (58–84)	80 (64–96)	0,14
14 сут	64 (32–96)	48 (32–64)	0,62
30 сут	64 (32–64)	32 (32–32)	0,05

**Таблица 20 – Общая численная плотность нормохромных нейронов (на 1 мм<sup>2</sup>) в МТ после односторонней 30-минутной ООСА, Me (QL–QU)**

Группа животных	Симметричные стороны фронтального среза головного мозга		<i>p</i>
	Правая	Левая	
1 сут	224 (224–288)	160 (128–192)	0,1
3 сут	192 (160–192)	160 (128–160)	0,34
7 сут	224 (160–224)	128 (128–128)	0,22
14 сут	192 (160–192)	160 (128–224)	0,78
30 сут	128 (96–160)	160 (128–192)	0,71

**Таблица 21 – Общая численная плотность астроцитов (на 1 мм<sup>2</sup>) в МТ после односторонней 30-минутной ООСА, Me (QL–QU)**

Группа животных	Симметричные стороны фронтального среза головного мозга		<i>p</i>
	Правая	Левая	
1 сут	96 (32–96)	64 (64–64)	0,58
3 сут	32 (32–64)	96 (58–99)	0,04*
7 сут	96 (32–96)	96 (96–128)	0,36
14 сут	64 (64–96)	96 (64–96)	0,46
30 сут	64 (64–64)	96 (64–96)	0,1

Таким образом, односторонняя ООСА приводила к появлению статистически значимой асимметрии в нейроглиальной структурной организации головного мозга белых крыс. Однако это было характерно только для острого постишемического периода (1 и 3 сут). В процессе структурно-функционального восстановления асимметрия по общей численной плотности нормохромных нейронов и астроцитов нивелировалась. По количеству микроглиоцитов и олигодендроцитов статистически значимых различий не выявлено.

## Глава 4. ОДНОСТОРОННЯЯ И ДВУСТОРОННЯЯ ОККЛЮЗИЯ ОБЩИХ СОННЫХ АРТЕРИЙ В СРАВНЕНИИ С ПОЛНОЙ ПЕРЕВЯЗКОЙ ОБЩИХ СОННЫХ АРТЕРИЙ

### 4.1. Отек-набухание как проявление гидропической дистрофии в контексте формирования тёмных нейронов и активации механизмов саногенеза в неокортексе после ишемии головного мозга

В СМК животных контрольной группы не выявлено структурных проявлений цитотоксического отёка-набухания. Преобладало равномерное окрашивание нейропиля эозином (рис. 69, а). Это свидетельствовало о том, что в биокolloидах цитоплазмы их составляющих (аксоны, дендриты, синапсы, отростки астроцитов) было примерно одинаковое содержание воды.

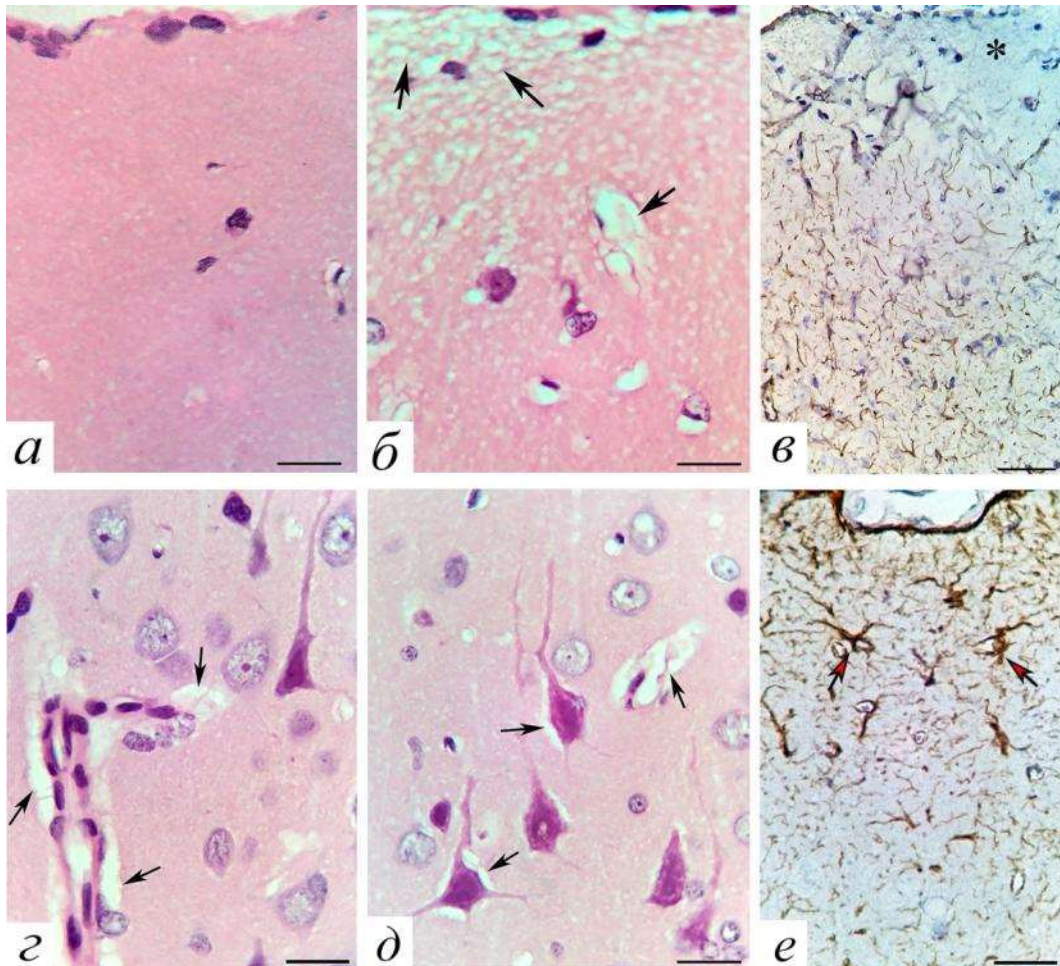


Рис. 69 – Фрагменты СМК головного мозга белых крыс в норме (а) и после 40-минутной окклюзии; б, в, г, д, е): отсутствие вакуолизации нейропиля в молекулярном слое в норме (а); вакуолизация нейропиля (стрелки), периваскулярный и перикариональный отёк астроцитарных отростков (стрелки), гиперхромия и сморщивание перикарионов (красные нейроны); большое количество глиальных клеток (б, г, д); зона деструкции (\*) отростков астроцитов (в, 1 сут); гиперплазия астроцитов (е, 7 сут, стрелки). Окраска гематоксилин и эозином (а, б, г, д), иммуногистохимическое выявление GFAP (в, е). Объектив  $\times 100$ ; шкала – 20 мкм (а, б, г-е); объектив  $\times 40$ ; шкала – 50 мкм (в).

Через 1 и 3 сут после ООСА в молекулярном слое СМК происходило формирование «пористого» нейропиля – набухание микроглии и периваскулярной отёчности сосудов. В III-V слоях наблюдались нейроны с потемневшей цитоплазмой и пикнотические (красные) нейроны с умеренным периваскулярным отёком, большое количество глиальных клеток (рис. 69, б, г, д). Однако в верхнем этаже СМК появлялись GFAP-негативные локальные ишемические зоны или с очень тонкими, прерывистыми отростками астроцитов (рис. 69, в). Деструктивные изменения цитоскелета астроцитов преобладали после 40-минутной ООСА. Через 7 сут после ООСА GFAP-негативные зоны в СМК практически не встречались, происходило восстановление и гипертрофия астроцитарных отростков – умеренные проявления реактивного астроцитоза (рис. 69, е). Так, через 3 сут после 40-минутной ООСА НГИ СМК увеличивался от 1,62 (1,53–1,81) до 2,72 (2,48–3,10) (медиана; Mann–Whitney *U*-test;  $p=0,001$ ).

Гидропические изменения, с просветлением структур, преобладали в нейропиле (отростки астроцитов, терминали, дистальные дендриты), но встречались нейроны с явными признаками вакуолизации перикариона (рис. 70). Вакуолизация дендритов и нейропиля хорошо верифицировалась при иммуногистохимическом типировании NSE, MAP2 и GFAP (рис. 71, а, б, в). Тела астроцитов (8–10 мкм) и их отростки были представлены в виде сети, которая заполняла пространство между перикарионами СМК (рис. 71, в). Часть отростков имела признаки набухания (рис. 70).

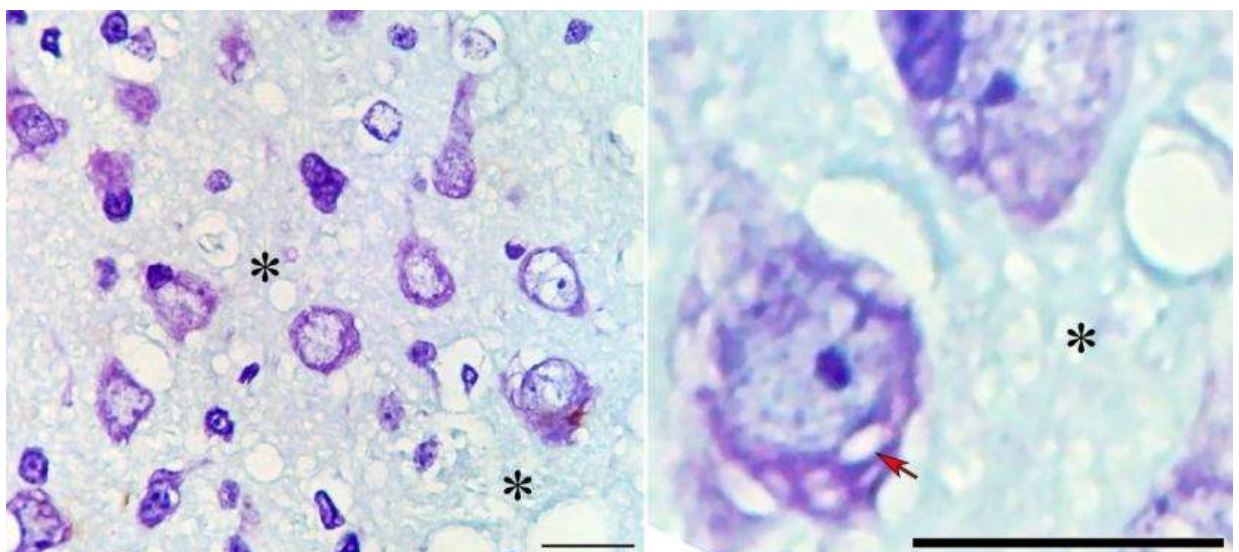


Рис. 70 – Фрагменты СМК головного мозга белых крыс через 3 сут после 40-минутной ООСА: вакуолизация нейропиля (\*) и перикариона (стрелка), перикариональный отёк астроцитарных отростков. Окраска по Ниссию. Объектив  $\times 100$ ; шкала – 20 мкм.



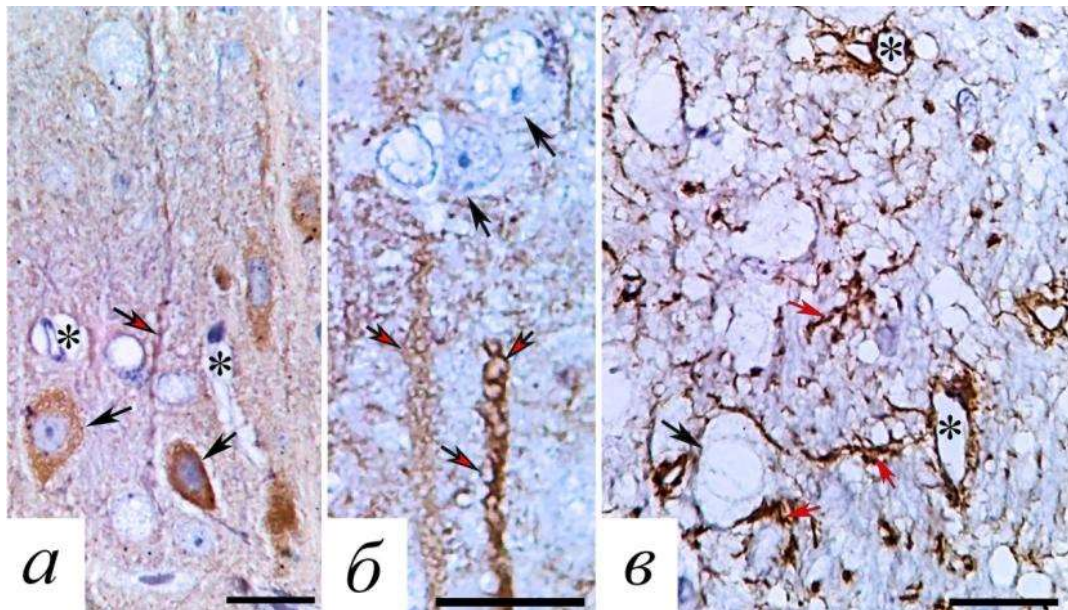


Рис. 71 – Иммуногистохимическое типирование нейронов (а), цитоскелета нейронов (б) и астроцитов (в) СМК, через 3 сут после 40-минутной ООСА: перичеселлюлярный и периваскулярный отёк, вакуолизация дендритов и нейропиля. Черные стрелки – перикарионы, красно-черные стрелки – дендриты, красные стрелки – отростки астроцитов, \* – просветы капилляров. Иммуногистохимическое выявление NSE (а), MAP2 (б) и GFAP (в), докраска гематоксилином. Объектив  $\times 100$ ; шкала – 20 мкм.

В сравнении с контролем после ООСА во всех экспериментальных группах выявлено статистически значимое уменьшение общей численной плотности нейронов слоев III и V СМК. Так, после 40-минутной ООСА через 7 сут наблюдения в слое III этот показатель уменьшался на 26,4% ( $p=0,001$ ), в норме – 442 (352–485), а в слое V – на 18,5% ( $p=0,01$ ), в норме 290 (244–331) на  $1 \text{ мм}^2$  (Mann-Whitney *U*-test). При этом множественное сравнение показало наличие межгрупповых различий ( $H=9,7$ ;  $p=0,02$ ; Kruskal-Wallis one-way analysis of variance). В сравнении с животными после 40-минутной ООСА наименьшая редукция общей численной плотности нейронов отмечена у животных с односторонней ООСА: в слое III – на 16,5% ( $p=0,001$ ), V – на 9,2% ( $p=0,01$ ; Mann-Whitney *U*-test). Однако различий между животными после 20- и 40-минутной ООСА по этому показателю не выявлено ( $p>0,05$ ; Mann-Whitney *U*-test).

Следовательно, через 7 сут после реперфузии двусторонняя ООСА имела более тяжёлые последствия для популяции пирамидных нейронов слоёв III и V СМК. Выявленные гистологические и иммуногистохимические изменения СМК свидетельствовали о разной степени воздействия 20-, 30- и 40-минутной ООСА на нейроны СМК. Для сравнения степени проявлений отёка-набухания СМК в изученных группах использовали анализ цветных изображений, одинаковых по размеру ( $20 \times 20 \text{ мкм}$ ) участков нейропиля, не содержа-

щих микрососуды, с помощью оценки их пиксельного состава (яркость, количество). Яркие пиксели (выше более тёмного фона) соответствовали участкам СМК с высоким содержанием воды – ЗМЯ.

Установлено, что через 1 сут после ООСА во всех группах относительная площадь ЗМЯ (медиана) статистически значительно превышала контрольное значение в 2 – 2,5 раза. Многомерная проверка равенства медиан данного показателя выявила наличие статистически значимых различий между выборками групп после 20-, 30- и 40-минутной ООСА через 1 сут ( $H=37,8$ ;  $p=0,0001$ ), 3 сут ( $H=26,6$ ;  $p=0,0001$ ) и 7 сут ( $H=8,3$ ;  $p=0,02$ ; Kruskal-Wallis ANOVA). При этом наиболее высокие значения показателей отмечали через 1 и 3 сут после 40-минутной ООСА (рис. 72).

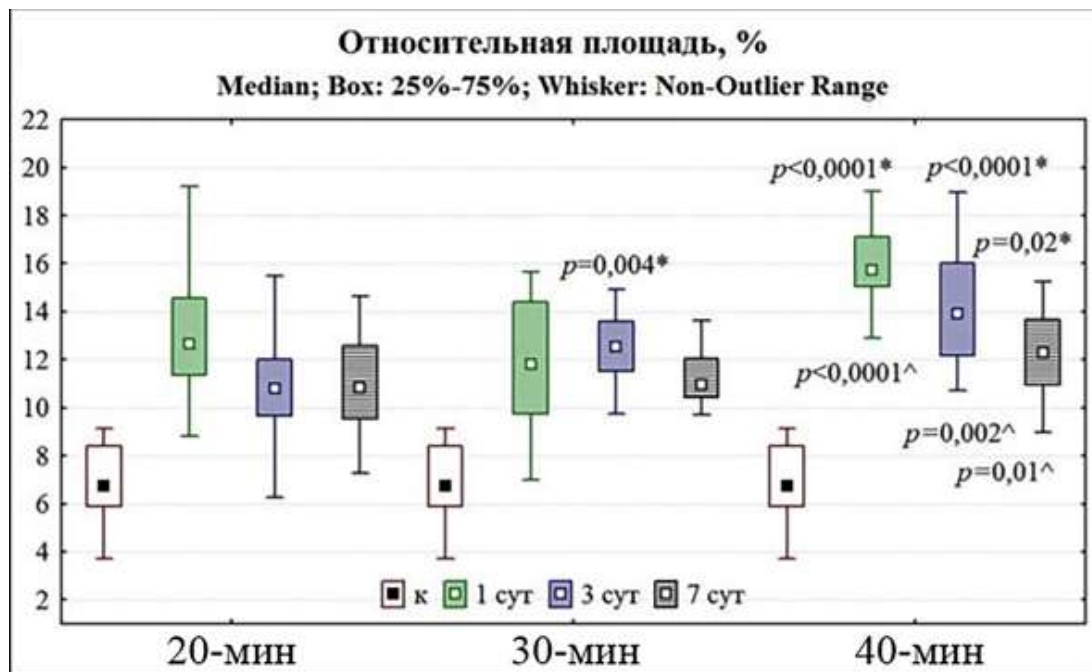


Рис. 72 – Относительная площадь зон максимальной яркости в поле зрения нейропиля в молекулярном слое СМК в контроле и через 1, 3, 7 сут после 20-, 30- и 40-минутной ООСА. Различия в сравнении с 20- (\*) и 30-минутной (^) ишемией статистически значимы (критерий Манна–Уитни). В сравнении с контролем различия значимы для всех групп и сроков при  $p < 0,0001$ . Данные представлены как медиана ( $Me$ ) ( $Q2$ ), 25–75% квартили ( $Q1-Q3$ ) и диапазон без выбросов ( $Min-Max$ ).

Кроме того, группы отличались по частотному распределению полей зрения с одинаковым относительным объёмом. Больше всего полей зрения с высоким значением относительной площади ЗМЯ выявлено через 1 сут в группе после 40-минутной ООСА (рис. 73, табл. 22). В этой группе в 1,5–2,5 раза чаще ( $\chi^2=10,5$ ;  $p=0,01$ ) встречались «пористые» участки в верхнем этаже молекулярного слоя СМК (см. рис. 69, б).

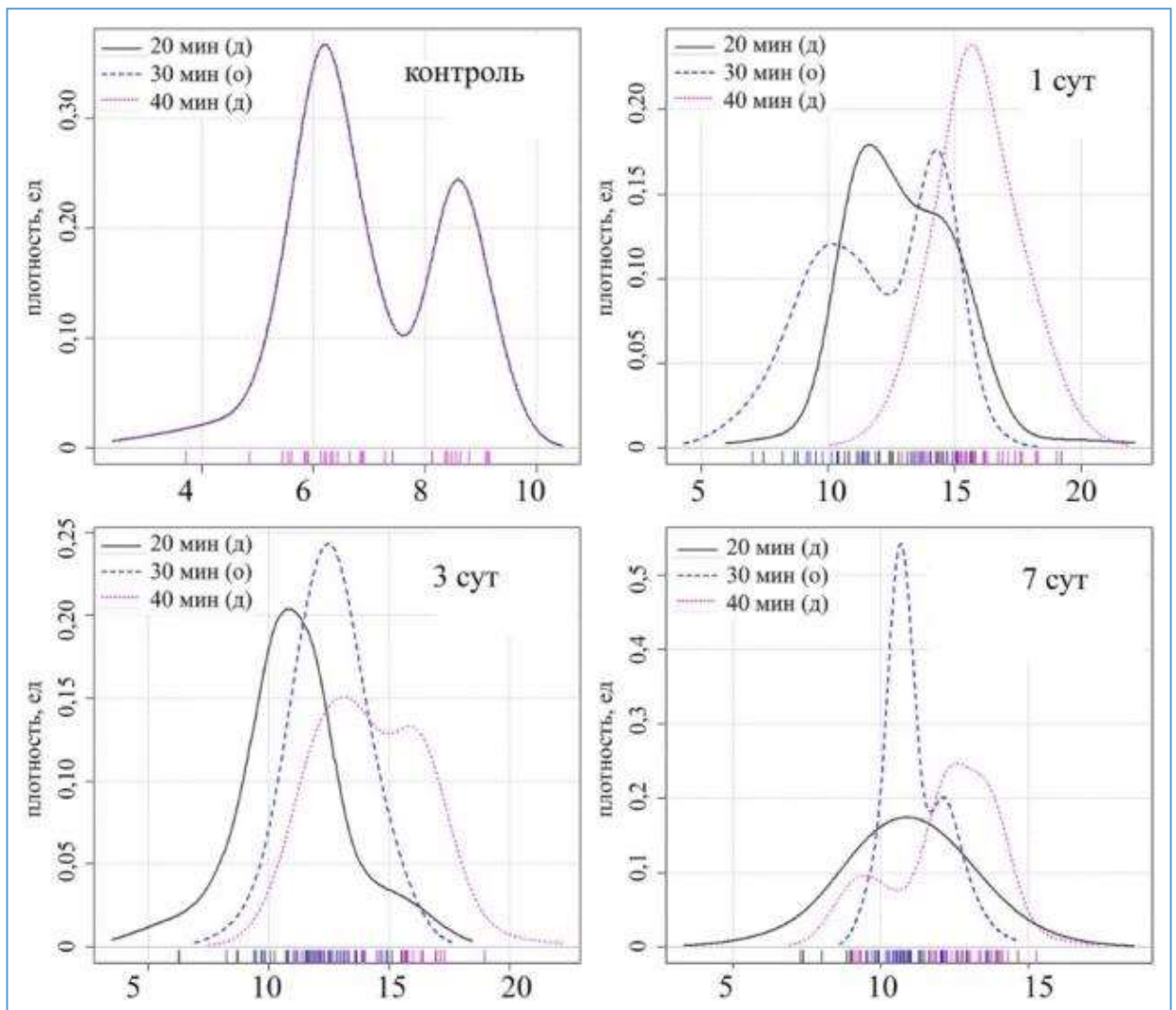


Рис. 73 – Частотное распределение полей зрения по относительному объёму (площади) зон максимальной яркости в молекулярном слое СМК в контроле и после ООСА (1, 3, 7 сут) в группах 20-, 30- и 40-минутной.

Сравнительный анализ общей численной плотности ЗМЯ в нейропиле молекулярного слоя СМК в контроле и после ООСА выявил статистически значимое увеличение количества набухших компонентов нейропиля (рис. 74). Многомерная проверка равенства медиан данного показателя выявила наличие статистически значимых различий между группами после 20-, 30- и 40-минутной ООСА через 1 сут ( $H=9,4$ ;  $p=0,01$ ), 3 сут ( $H=69,6$ ;  $p=0,0001$ ) и 7 сут ( $H=54,5$ ;  $p=0,0001$ ; Kruskal-Wallis ANOVA). При этом мелкие (но более многочисленные) ЗМЯ чаще встречались при односторонней ООСА (рис. 75; табл. 22).

**Таблица 22 – Многомерное сравнение частотного распределения полей зрения по относительной площади и количеству зон максимальной яркости в молекулярный слой СМК (корреспондентский анализ)**

Сравнение	Результаты	
	Площадь	Количество
Группы 20-минутной и 30-минутной ишемии	$\chi^2=84,0$ ; $df=45$ ; $p=0,0004^*$	$\chi^2=211,6$ ; $df=70$ ; $p=0,000^*$
Группы 20-минутной и 40-минутной ишемии	$\chi^2=150,0$ ; $df=65$ ; $p<0,0001^*$	$\chi^2=150,2$ ; $df=60$ ; $p=0,000^*$
Группы 30-минутной и 40-минутной ишемии	$\chi^2=167,0$ ; $df=60$ ; $p<0,0001^*$	$\chi^2=143,5$ ; $df=55$ ; $p=0,000^*$
Внутри группы 20-минутной ишемии между сроками	$\chi^2=29,0$ ; $df=18$ ; $p=0,047$	$\chi^2=28,4$ ; $df=18$ ; $p=0,06$
Внутри группы 30-минутной ишемии между сроками	$\chi^2=39,0$ ; $df=16$ ; $p=0,001^*$	$\chi^2=51,8$ ; $df=22$ ; $p=0,0003^*$
Внутри группы 40-минутной ишемии между сроками	$\chi^2=49,0$ ; $df=22$ ; $p=0,001^*$	$\chi^2=35,4$ ; $df=16$ ; $p=0,01^*$
Между группами через 1 сут ишемии	$\chi^2=60,0$ ; $df=24$ ; $p=0,0001^*$	$\chi^2=21,4$ ; $df=18$ ; $p=0,26$
Между группами через 3 сут ишемии	$\chi^2=42,0$ ; $df=11$ ; $p<0,0001^*$	$\chi^2=113,5$ ; $df=26$ ; $p=0,000^*$
Между группами через 7 сут ишемии	$\chi^2=42,0$ ; $df=11$ ; $p<0,0001^*$	$\chi^2=76,0$ ; $df=26$ ; $p=0,000^*$
Между контролем и каждым сроком по группам ишемии	$\chi^2>40$ ; $df=11$ ; $p<0,0001^*$	$\chi^2>40$ ; $df=10$ ; $p<0,0001^*$

Примечание. Различия статистически значимы при  $p<0,01$ .

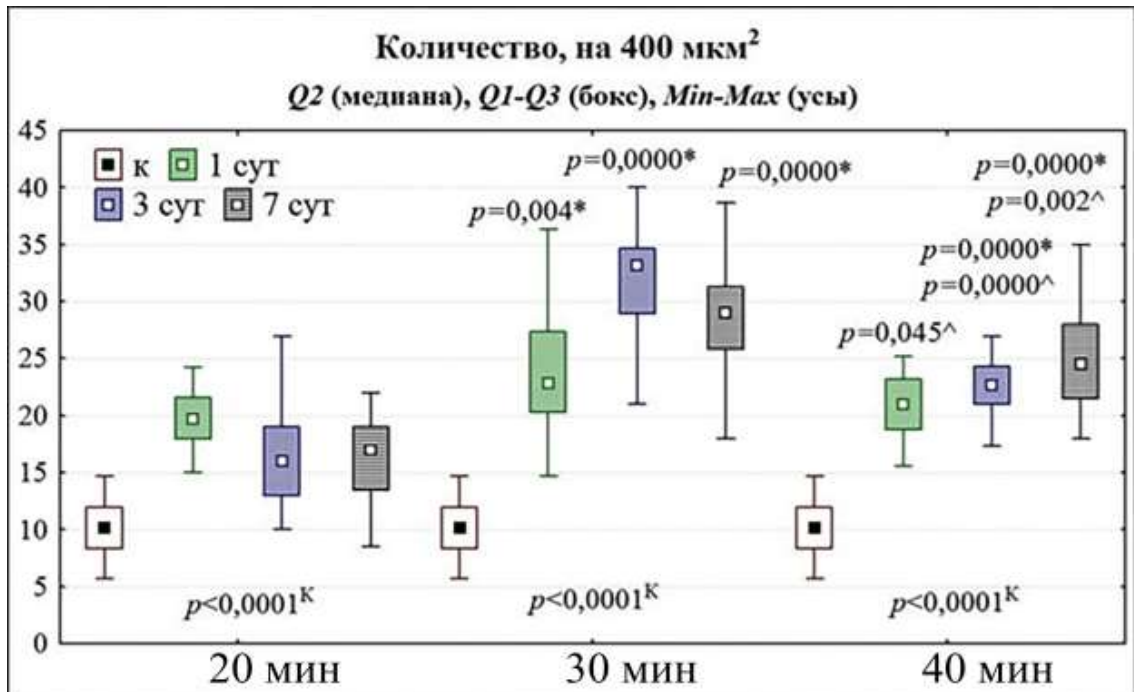


Рис. 74 – Общая численная плотность зон максимальной яркости в нейропиле молекулярного слоя СМК в контроле и через 1, 3, 7 сут после 20-, 30- и 40-минутной ООСА. Различия в сравнении с 20- (\*) и 30-минутной (^) ишемией статистически значимы (критерий Манна–Уитни). В сравнении с контролем различия значимы для всех групп и сроков при  $p<0,0001$ . Данные представлены как медиана (Q2), 25–75% квантили (Q1-Q3) и диапазон без выбросов (Min–Max).

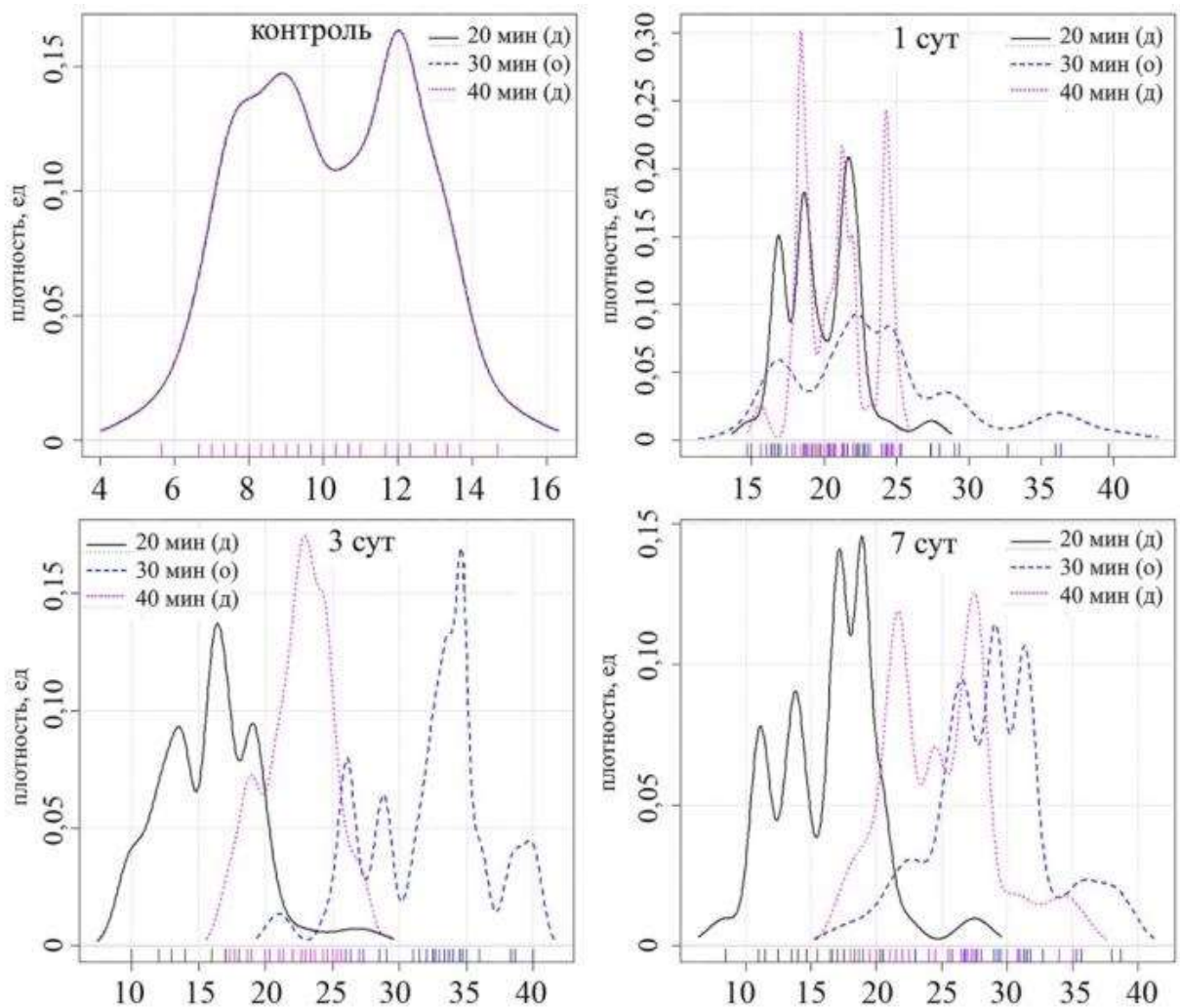


Рис. 75 – Частотное распределение полей зрения по количеству зон максимальной яркости в молекулярном слое СМК в контроле и через 1, 3, 7 сут после 20-, 30- и 40-минутной ООСА.

Это свидетельствовало о том, что после двусторонней 40-минутной ООСА, вероятно, набухание нейропиля проявлялось сильнее или появлялась тенденция слияния ЗМЯ с образованием конгломератов, необратимо расширенных/изменённых отростков астроцитов. Биокolloиды цитоплазмы переставали удерживать часть жидкости, и она трансформировалась в свободное состояние, вероятно, переходила в межклеточное пространство. Возникали условия для формирования интерстициального отёка.

Выявленные с помощью фильтра Find Maxima ЗМЯ в нейропиле СМК (рис. 76, а, б) имели разные формы, размеры и степень яркости. Это отчётливо проявлялось при использовании возможностей плагина *Find Foci* (рис. 76, в). Например, площадь одной ЗМЯ на этом рисунке варьировалась от 0,8 до 14  $\mu\text{m}^2$ , яркость – от 200 до 252. Наиболее крупные ЗМЯ по показателю центральной тенденции (медиана) и интерквартильного размаха ( $Q1-Q3$ )

выявлены в группах 20- и 40-минутной ишемии (двусторонняя ООСА). В группе 20-минутной ишемии через 1 сут этот показатель составил 2,62 (2,43–3,35), через 3 сут – 2,77 (2,52–3,55), через 7 сут – 2,65 (2,12–2,82). В группе 30-минутной ишемии через 1 сут – 1,98 (1,67–2,51), через 3 сут – 1,55 (1,43–2,15), через 7 сут – 1,56 (1,38–1,90). В группе 40-минутной ишемии через 1 сут – 3,03 (2,87–3,58), через 3 сут – 2,54 (2,48–3,11), через 7 сут – 1,94 (1,76–2,60). Множественное сравнение (Kruskal-Wallis ANOVA) трёх групп показало наличие статистически значимых различий: через 1 сут ( $H=26,8$ ;  $p=0,0001$ ); через 3 сут ( $H=22,5$ ;  $p=0,0001$ ); через 7 сут ( $H=8,3$ ;  $p=0,02$ ).

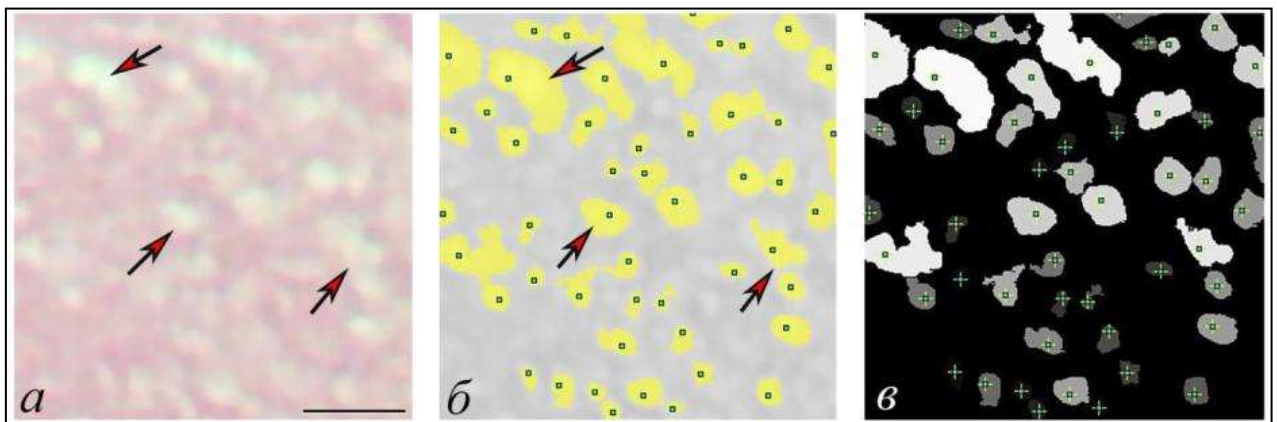


Рис. 76 – Участок нейропиля верхнего этажа молекулярный слой СМК через 7 сут после 40-минутной ООСА: эдематозные изменения с появлением на фоне нейропиля светлых зон (а, б; стрелки), отличающихся яркостью (в; отмечено + и □), формой и размерами (б, в). Окраска гематоксилин и эозином (а), трансформация графики с помощью фильтра *Find Maxima* (б) и плагина *Find Foci* (в). Шкала – 6 мкм.

По данным многомерного анализа, общая интенсивность пикселей максимальной яркости в пиках статистически значимо отличалась между группами ( $H=30,6$ ;  $p=0,0002$ ). Однако между сроками (1, 3 и 7 сут) различия были выявлены только после 40-минутной ООСА ( $H=11,5$ ;  $p=0,003$ ), а между группами по одинаковым срокам – через 1 сут ( $H=12,2$ ;  $p=0,002$ ) и 3 сут ( $H=10,8$ ;  $p=0,01$ ). Через 7 сут после ООСА этот показатель был примерно на одном уровне во всех группах (рис. 77). Вероятно, в этот период происходило уменьшение содержания внутриклеточной воды, сопровождающееся инволюцией структурных проявлений цитотоксического отёка-набухания нейропиля. Наиболее наглядно это проявлялось после 40-минутной ООСА (рис. 76, 77). Для этой группы были характерны самые большие значения общей интенсивности пикселей максимально ярких и крупных по площади пиков поля зрения нейропиля в молекулярном слое СМК, которые выявлялись через 3 сут после ишемии.

Максимальное количество связанной/свободной воды, выявленной по фокусам яркости, при развитии эдематозных изменений отмечено в нейропиле верхнего этажа молекулярного слоя СМК и периваскулярных пространствах (рис. 69, б – г, рис. 77). Эти зоны соответствовали скоплению GFAP-позитивного материала в контроле – верхний этаж (поверхностная глиальная пограничная мембрана, образованная отростками специализированных астроцитов) и вокруг сосудов (рис. 69, в, е).

Общая интенсивность пикселей пиков, выявленная при использовании плагина *Find Foci*, варьировалась от 70000 до 2280000. Однако для основной массы выявленных пиков общая интенсивность пикселей не превышала 200000. Более крупные пики чаще встречались у животных после двусторонней ООСА (20- и 40-минутной) – на 20,3% (95% ДИ: 6,7–32,6%;  $\chi^2=8,6$ ;  $p=0,003$ ) (рис. 78).

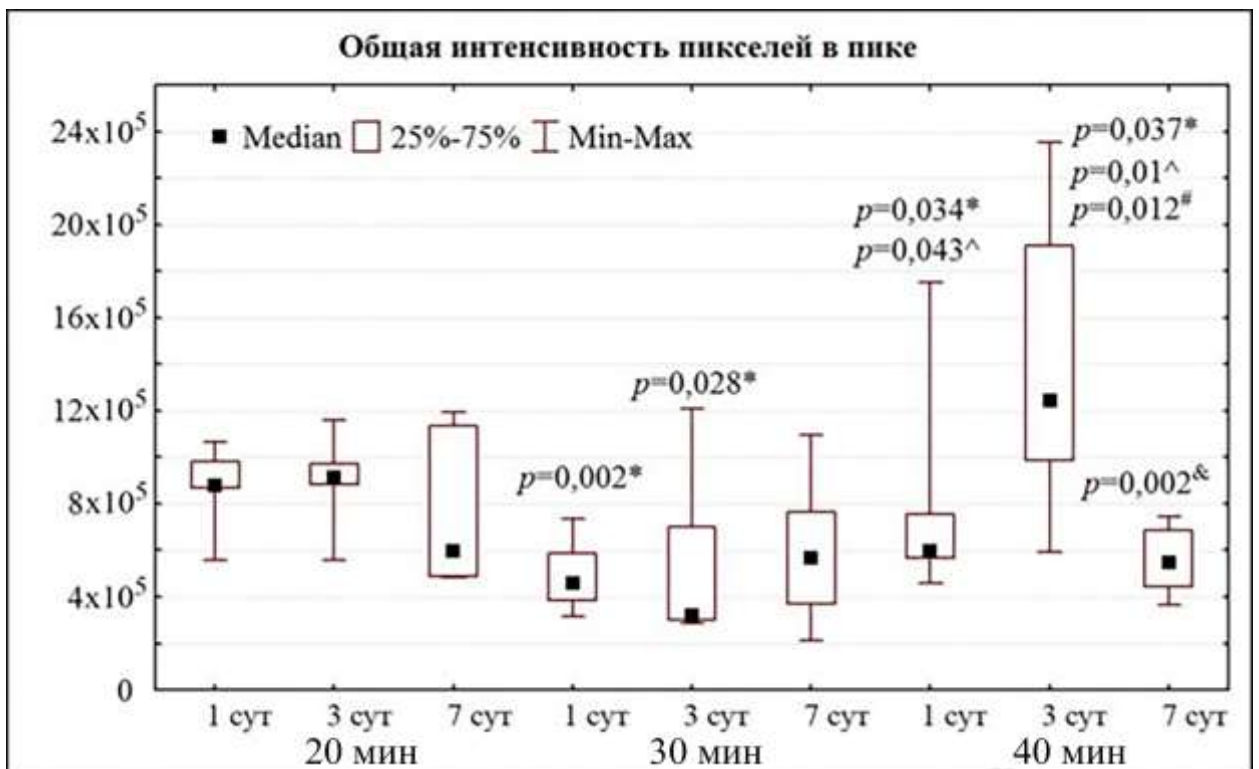


Рис. 77 – Общая интенсивность пикселей максимально ярких и крупных по площади пиков поля зрения нейропиля молекулярном слое СМК в контроле и через 1, 3, 7 сут после 20-, 30- и 40-минутной ООСА. Различия в сравнении с 20- (\*) и 30-минутной (^) ООСА, с 1 сут (#), с 3 сут (&) статистически значимы (критерий Манна–Уитни). Данные представлены как медиана (*Me*) (*Q2*), 25–75% квантили (*Q1-Q3*) и диапазон без выбросов (*Min-Max*).

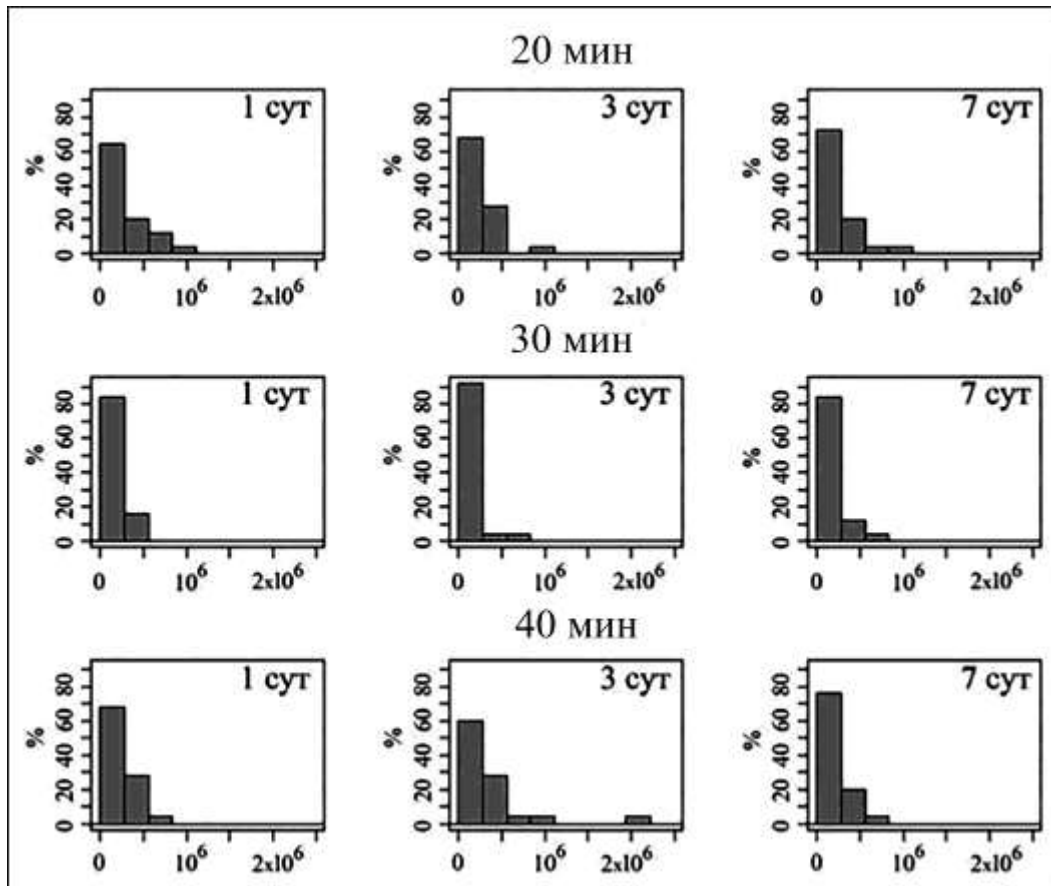


Рис. 78 – Гистограмма распределения пиков с разной общей интенсивностью пикселей изображения поля зрения нейропиля в молекулярном слое СМК в контроле и через 1, 3, 7 сут после 20-, 30- и 40-минутной ООСА.

#### 4.1.1. Морфометрические проявления де- и гипергидратации зубчатой фасции гиппокампа

Проведён сравнительный анализ проявлений отёка-набухания как стандартной дозозависимой реакции гиппокампальной формации на острую ишемию. В гиппокампе животных контрольной группы выявили три различающихся по степени гидратации компартмента – молекулярный слой, слой клеток-зёрен (гранулярный слой, из 5 – 6 рядов, компактно расположенных округлых нейроцитов) и ПС. Различия, прежде всего, обусловлены особенностями структурной организации этих слоёв. В молекулярном и полиморфном слое выявлялось небольшое количество более светлых, чем эозинофильный фон, участков (вероятно, поперечные срезы набухших отростков астроцитов и дендритов). Это свидетельствовало о структурно-функциональной гетероморфности компонентов нейропиля молекулярного и полиморфного слоя. На срезах гиппокампа у контрольных животных встречались гиперхромные сморщенные клетки и очень яркие неокрашенные зоны – просветы пустых сосудов, немногочисленные проявления перицеллюлярного и периваскулярного отёка (рис. 79, а, б).



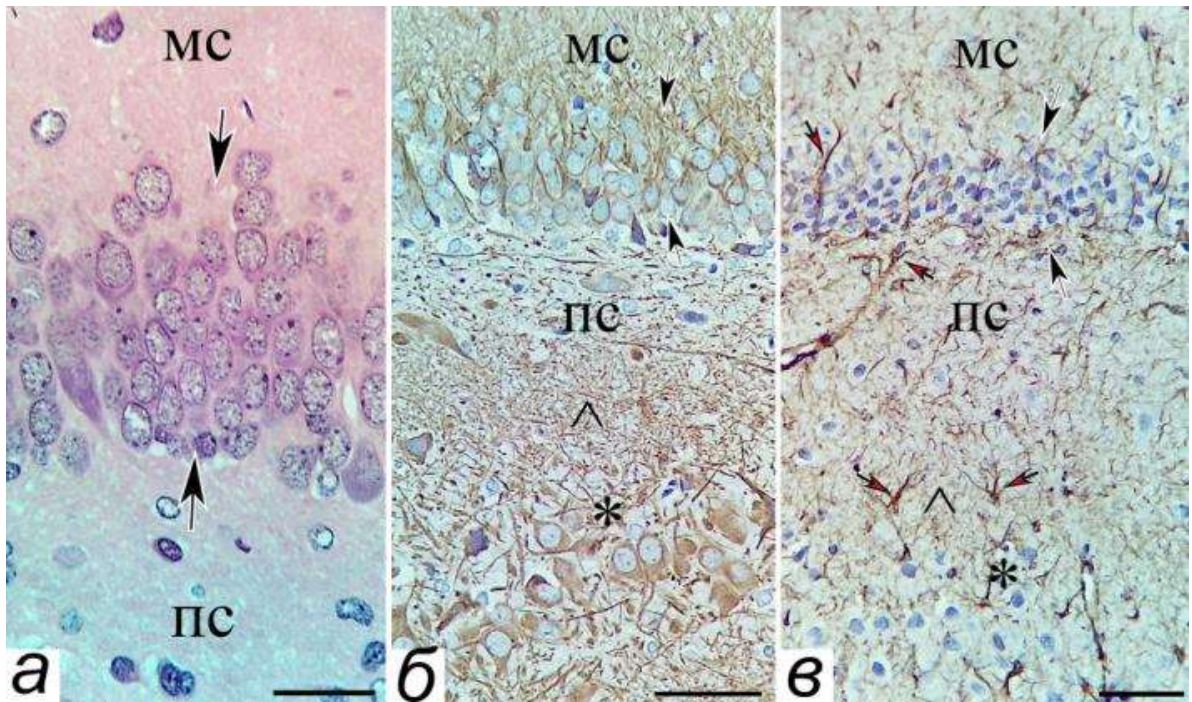


Рис. 79 – Фрагменты поля СА<sub>1</sub> (а) и СА<sub>3</sub> (б) гиппокампа животных контрольной группы: преобладание нормохромных нейронов (черные стрелки), незначительные проявления отёка-набухания, молекулярном слое (МС), полиморфном слое (ПС), стрелки – слой клеток-гранул, \* – поле СА<sub>4</sub>, ^ – молекулярном слое (МС) СА<sub>4</sub>, красные стрелки – волокнистые астроциты. Окраска гематоксилином и эозином (а), Иммуногистохимическое выявление MAP2 (б) и GFAP (в). Объектив: ×100 (а), ×40 (б, в), шкала: 25 мкм (а), 50 мкм (б, в).

В контроле, при окраске гематоксилином и эозином, на гистограммах распределения пикселей изображений участка молекулярного и полиморфного слоя ЗФ по степени яркости варьировались, соответственно, в пределах 180 – 240 (мода – 210) и 170 – 242 (мода – 195). Наиболее яркие немногочисленные пики соответствовали пустым просветам сосудов, зонам периваскулярного и перичеселлюлярного отёка – 220 – 242. Текстура изображений молекулярного и полиморфного слоя визуально отличалась (рис. 79, а), особенно наглядно это проявлялось при гистохимическом исследовании на MAP2 (рис. 79, б) и GFAP (рис. 79, в). Вероятно, последнее связано с тем, что в полиморфном слое на границе со слоем клеток-зёрен располагалось большое количество миелинизированных волокон от этих нейронов, их было больше, чем в молекулярном слое, отростков фиброзных астроцитов. Эти особенности делали структуру полиморфного слоя более тёмной, контрастной и ячеистой.

По центральным тенденциям (средние, медиана), выявлены статистически значимые различия уровня яркости пикселей между изображениями молекулярного ( $210 \pm 6,0$ ) и полиморфного слоя ( $197 \pm 8,0$ ) (среднее  $\pm$  стандартное отклонение) на 13% (95% ДИ: 9–17,  $p < 0,0001$ ) (t-критерий Стьюдента для

независимых выборок; распределение пикселей нормальное). С помощью плагина "Find Foci" верифицированы пики (участки изображения, отличающиеся от соседних средними значениями интенсивности пикселей). В контроле, на чёрном фоне, преобладали пики небольших размеров с различными оттенками серого (+), яркие светлые участки немногочисленны. Не было экстремальных выбросов значений их характеристик (размеры, средняя интенсивность, общая интенсивность пикселей в пике) (рис. 80).

ООСА и ПОСА, вероятно, приводили к существенному перераспределению воды в ЗФ. В остром периоде (1 и 3 сут) появлялись поля зрения ЗФ со структурными проявлениями перипеллюлярного отёка и периваскулярного отёка астроцитов. В большей степени это было характерно для границы слоя клеток-зёрен и полиморфного слоя у животных группы 30- и 40-минутной ООСА (рис. 81), как раз там, где располагалась основная масса аксонов клеток-зёрен и структурно связанных с ними фиброзных астроцитов.

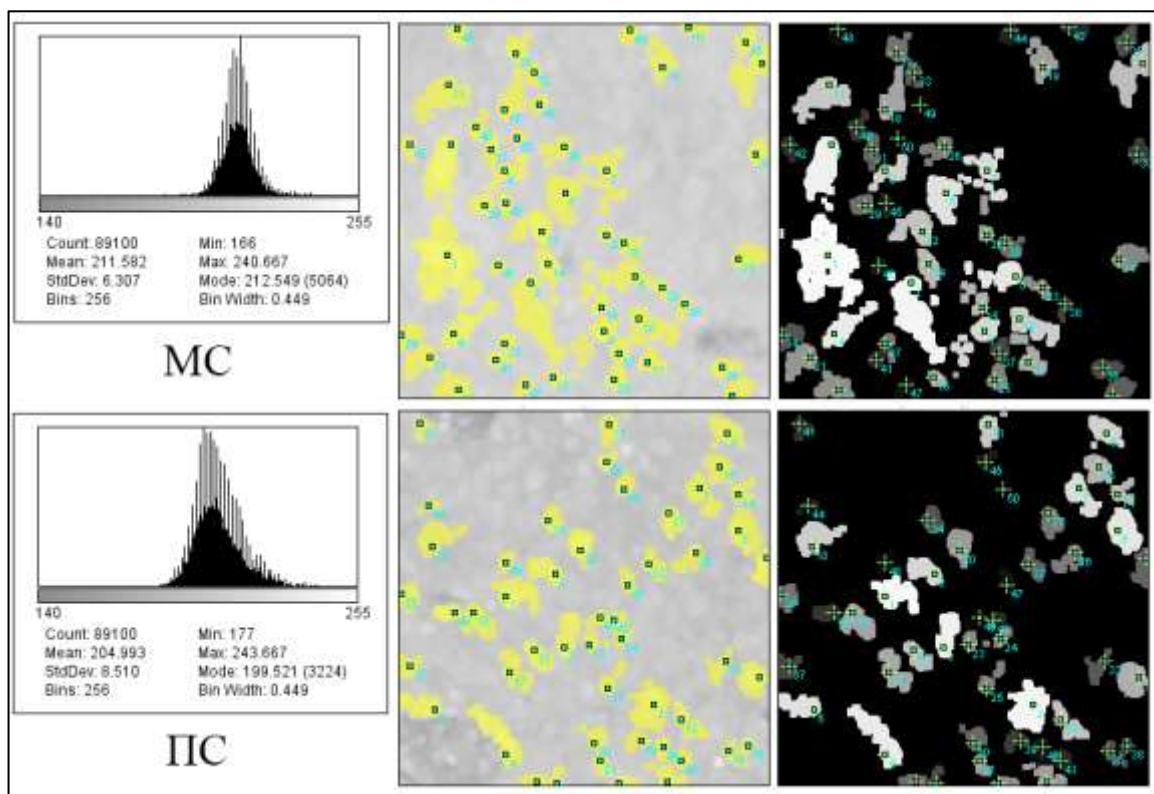


Рис. 80 – Участки (ROI=90000 пикс; 32 бит, градации серого) нейропиля в МС – молекулярный слой и ПС – полиморфный слой ЗФ у крысы контрольной группы: на чёрном фоне преобладают небольшие зоны (пики) с оттенками серого (+), яркие светлые пики (отмечено  $\square$  на маске изображения) немногочисленны, все пики (отмечено жёлтым) отличались формой и размерами. Окраска гематоксилин и эозином, трансформация изображений с помощью плагина "Find Foci".

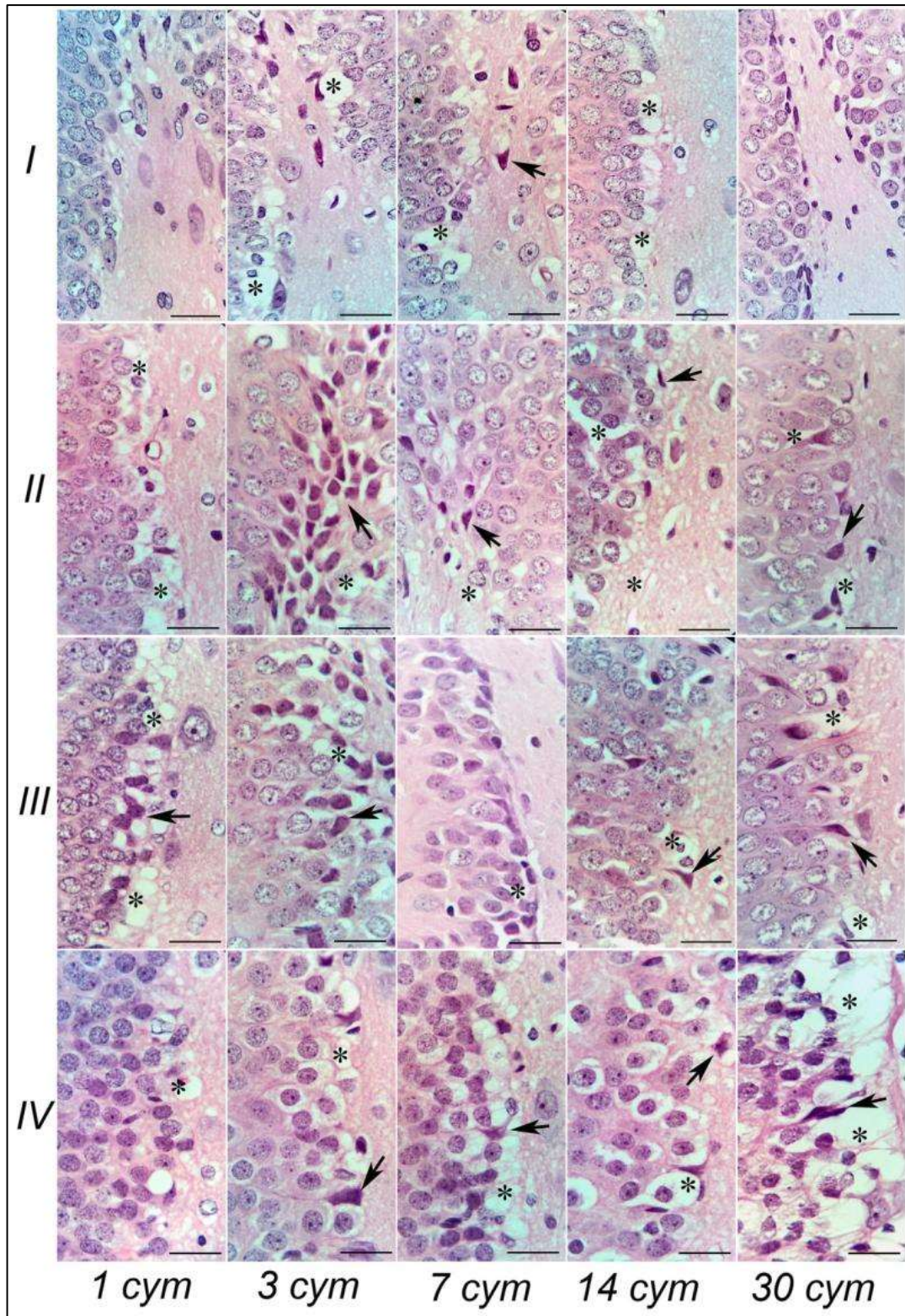


Рис. 81 – Поля зрения (900000 пикселей; 150x80 мкм) ЗФ, содержащие участки слоя клеток-зёрен и ПС, у животных групп I (20-минутной), II (30-минутной), III (40-минутной) и IV (полная ПОСА) ишемии в динамике эксперимента (1, 3, 7, 14, 30 сут): визуальные качественные различия реакции нервной ткани на разную продолжительность ООСА и полную ПОСА, выраженные локальные проявления отёка-набухания (\*) при полной ПОСА, гиперхромные нейроны (стрелки). Окраска гематоксилином и эозином, объектив  $\times 100$ , шкала – 25 мкм.

В более отдалённом периоде (7, 14, 30 сут) в группах ООСА отмечена редукция проявлений отёка-набухания, а для ПОСА – усиление. Гидропические изменения астроцитов сочетались с появлением тёмных сморщенных и несморщенных нейронов (см. рис. 81).

О перераспределении воды в ЗФ свидетельствовали изменения характеристик пиков (по отношению к общему более тёмному фону – *relative above background*) изображений (размеры, средняя интенсивность пикселей и общая интенсивность пиков), изученных с помощью плагина "*Find Foci*", в динамике постишемического периода (рис. 82, на примере группы ПОСА).

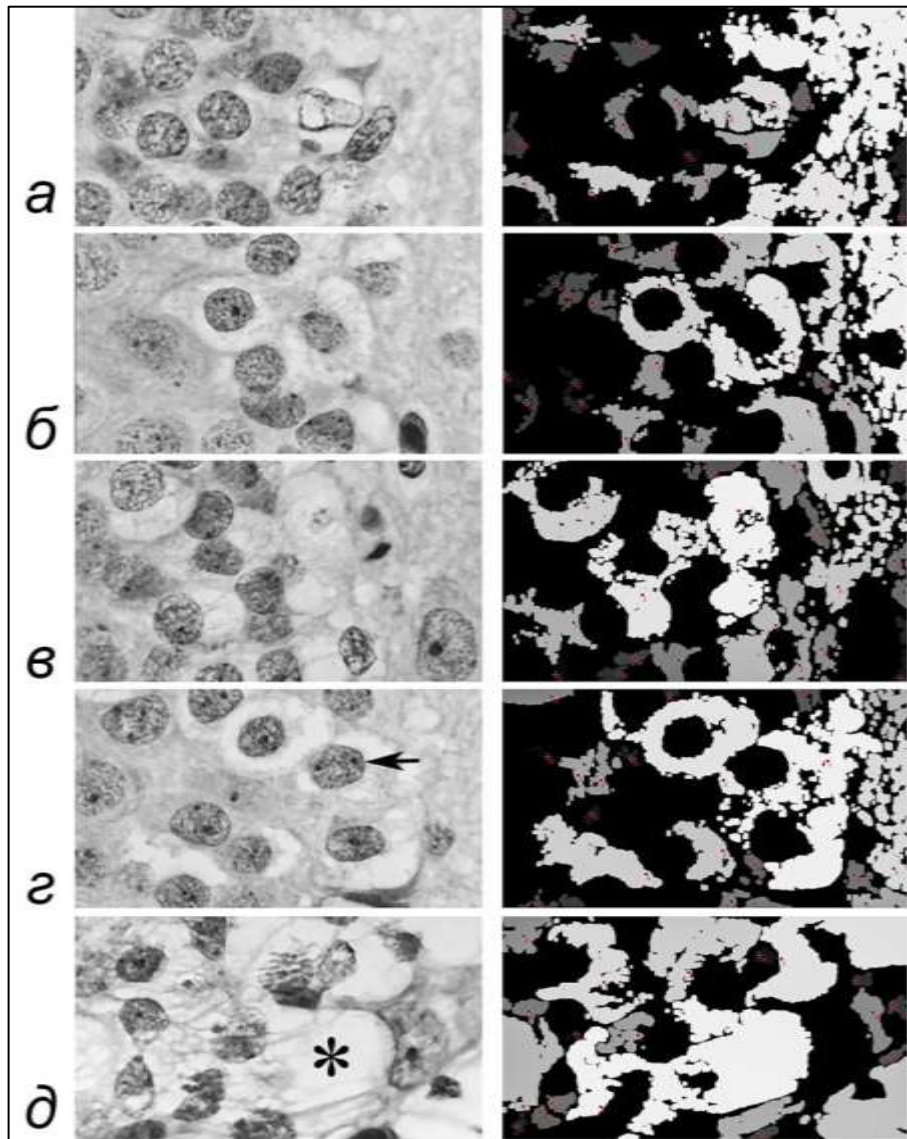


Рис. 82 – Фрагменты ЗФ гиппокампа животных с ПОСА в динамике эксперимента (*а* – 1, *б* – 3, *в* – 7, *г* – 14 и *д* – 30 сут): увеличение локальных проявлений отёка-набухания (\*) при ПОСА, первые 20 пиков с разной формой, размерами и интенсивностью пикселей (наиболее светлые – отёк-набухание астроцитов с высоким содержанием свободной жидкости); нейрон – стрелка. Окраска гематоксилином и эозином, трансформирование изображения с помощью плагина "*Find Foci*". Объектив  $\times 100$ , шкала – 25 мкм.

Видно, что в течение 30 сут увеличивались количество, размеры зон перинеуронального отёка и интенсивность пикселей пиков изображения ЗФ вплоть до слияния пиков в крупные зоны высокой интенсивности. Все это было характерно для границы слоя клеток-гранул и ПС. Пикноморфные нейроны чаще встречались в двух нижних рядах слоя клеток-гранул (см. рис. 81, 82).

По данным морфометрического анализа, относительная площадь 20 наиболее ярких пиков (по среднему уровню общей интенсивности пикселей в пике) на границе слоя клеток-зёрен и полиморфного слоя при сравнении групп и сроков статистически значимо отличалась (табл. 22). Больше всего таких пиков выявлено после двусторонней ООСА (20- и 40-минутной) и полной ПОСА, меньше – после односторонней ООСА (30-минутной). Существенно то, что после лёгкой ишемии (20- и 30-минутной ООСА) показатель увеличивался только через 1 и 3 сут, а затем уменьшался.

После более тяжёлой ишемии (40-минутной ООСА) подобные проявления гипергидратации отмечались через 1 – 7 сут. При полной ПОСА высокий уровень гипергидратации ЗФ отмечен в течение всего периода наблюдения, о чём свидетельствовала относительная площадь всех наиболее ярких пиков. Значимые различия выявлены при сравнении всех групп по всем срокам, между группами через 14 и 30 сут, между сроками после 20-, 30- и 40-минутной ООСА (табл. 23).

**Таблица 23 – Относительная площадь (%) пиков (20 наиболее ярких по уровню общей интенсивности пикселей пика) в ЗФ животных по группам сравнения, Q2 (Q1-Q3)**

Сроки	Группы с ишемией				Kruskal-Wallis test (3, N=80)
	20-минутной	30-минутной	40-минутной	ПОСА	
1 сут	27,0 (16,2–27,9)	32,5 (26,4–38,7)	44,1 (19,3–56,3)	44,0 (23,7–49,1)	H=0,4; p=0,93
3 сут	58,5 (31,4–59,6)*	69,5 (19,9–74,2)*	62,9 (36,0–66,5)*	55,1 (18,5–77,3)*	H=4,9; p=0,18
7 сут	56,8 (21,7–77,8)*	37,7 (19,1–45,3)	68,3 (40,2–72,6)*	58,5 (15,8–73,0)*	H=1,9; p=0,58
14 сут	39,6 (26,4–41,4)	44,9 (21,3–49,5)	36,1 (19,5–38,7)	56,0 (16,8–58,2)*	H=38,5; p=0,0000
30 сут	37,9 (21,9–45,9)	27,8 (16,1–31,5)	27,3 (14,3–29,5)	67,4 (39,0–74,4)*	H=10,9; p=0,012
К-W test (4, N=100)	H=54,5; p=0,0000	H=11,5; p=0,01	H=13,6; p=0,009	H=8,4; p=0,07	H(19, N=400)=90,4; p=0,0001
Контроль	30,8 (23,1–40,5)				-

Примечание. \* – Различия в сравнении с контролем статистически значимы при  $p < 0,0001$  (Mann–Whitney U-test). Множественные сравнения проведены между всеми сроками (N=400), между группами по срокам (N=80) и внутри группы по срокам (N=100). Нулевая гипотеза отвергалась при  $p < 0,05$ . Данные представлены как Q2 (Q1-Q3).

На рис. 82 видно, что среди всех 20 пиков поля зрения только 2 – 3 были максимально яркими (максимумы) – почти белыми (max значения >240), остальные пики варьировались по уровню яркости <240. Между группами и сроками статистически значимо различались не только максимумы, но и средняя интенсивность пикселей всех пиков (табл. 24). Это свидетельствовало о том, что при более тяжёлой ишемии в пике преобладали яркие пиксели (гипергидратация до свободной жидкости), смещение в сторону яркости 255. В сравнении с контролем происходило увеличение разброса ( $Q1-Q3$ ) значений.

Интегральным показателем при использовании плагина "Find Foci", характеризующим выявленные пики распределения пикселей изображения ЗФ на границе слоя клеток-зёрен и ПС, была общая интенсивность пикселей в пике – производное от его размеров и средней интенсивности пика. На рис. 83 показано, что после 40-минутной ООСА и ПОСА (более тяжёлая ишемия) появлялось большое количество пиков, у которых данный показатель в 20 раз превышал контрольное значение 2,14 (1,65 – 2,71); после 20- (двусторонняя) и 30-минутной (односторонняя) ООСА – только в 10 раз. Следовательно, сравниваемые группы прежде всего отличались пиками с максимальными значениями общей интенсивности (выбросы).

**Таблица 24 – Средняя интенсивность пикселей пиков в ЗФ животных по группам сравнения,  $Q2$  ( $Q1-Q3$ )**

Сроки	Группы ишемии				Kruskal-Wallis test (3, N=80)
	20-минутной	30-минутной	40-минутной	ПОСА	
1 сут	213 (210–217) 208–224*	210 (207–214) 203–220*	210 (206–213) 200–218*	215 (214–218) 206–233*	H=19,8; p=0,0002
3 сут	218 (212–223) 209–229*	193 (187–201) 183–206	195 (191–201) 188–206*	206 (202–211) 197–217	H=54,8; p=0,0000
7 сут	208 (203–211) 201–216 p=0,02	219 (214–221) 213–226*	222 (221–226) 217–232*	201 (195–204) 192–208 p=0,01	H=64,1; p=0,0000
14 сут	205 (199–214) 186–222	211 (207–214) 202–223*	206 (199–210) 197–213	211 (203–214) 199–222 p=0,01	H=50,4; p=0,0000
30 сут	202 (187–216) 184–224	197 (194–199) 185–204*	212 (210–215) 207–223*	214 (209–220) 196–227*	H=62,9; p=0,0000
К-W test (4, N=100)	H =72,7; p=0,0000	H=77,7; p=0,0000	H=76,0; p=0,0000	H=46,9; p=0,0000	H (19, N=400) =302,6; p=0,0001
Контроль	$Q2$ ( $Q1-Q3$ ): 205(203–206); Min-Max: 200–208				-

Примечание. \* – Различия в сравнении с контролем статистически значимы при  $p < 0,0001$  (Mann–Whitney U-test). Множественные сравнения проведены между всеми сроками (N=400), между группами по срокам (N=80) и внутри группы по срокам (N=100). Нулевая гипотеза отвергалась при  $p < 0,05$ . Данные представлены как  $Q2$  ( $Q1-Q3$ ) и Max-Min.

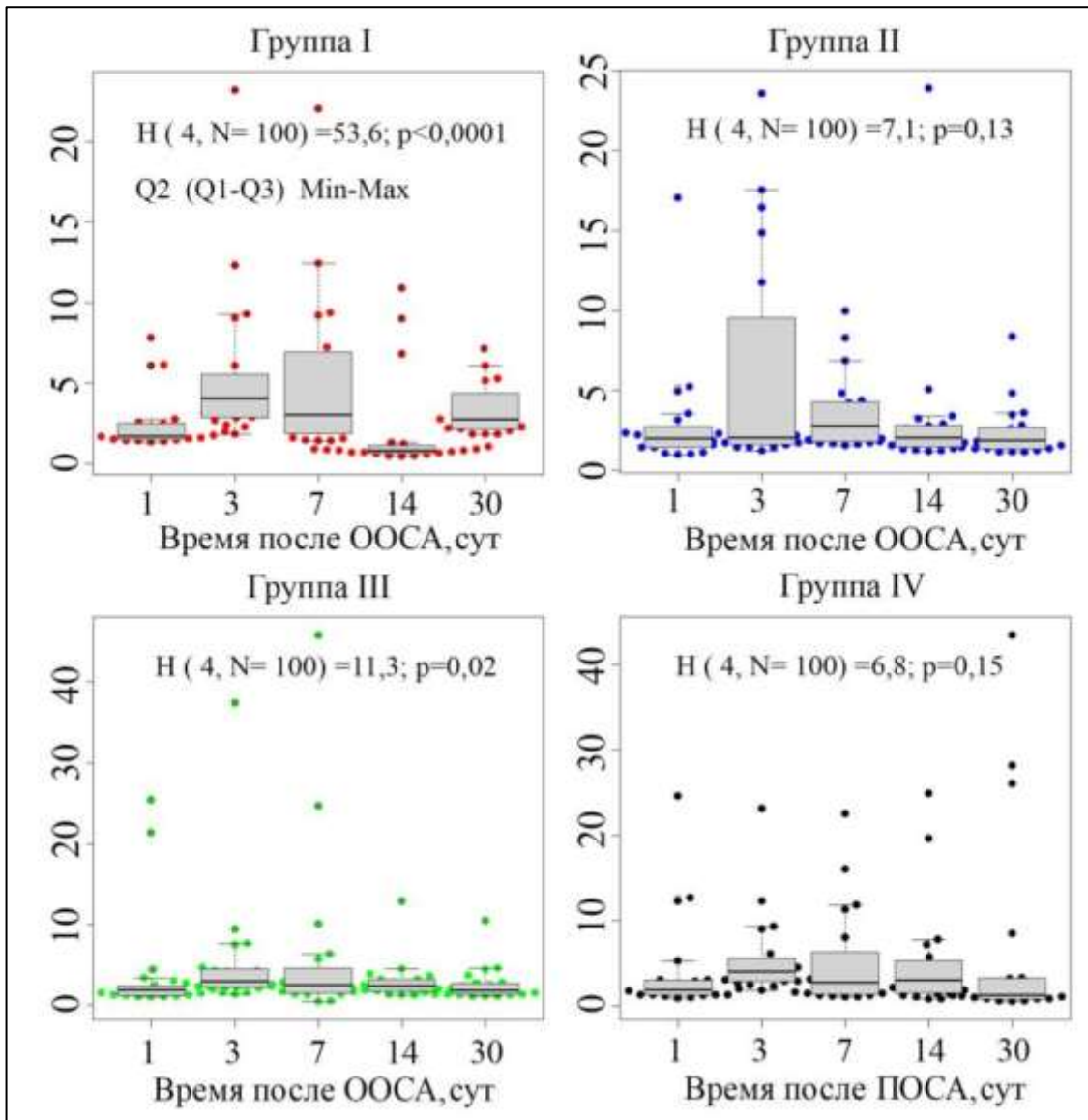


Рис. 83 – Общая интенсивность пикселей (ось ординат, миллионы) в пиках полей зрения (ROI=900000 пикселей,  $n=20$ ) полиморфного слоя и слоя клеток-гранул 3Ф у животных групп I (20-миутной), II (30-миутной), III (40-миутной) ООСА и IV (полная ПОСА) в динамике. Данные представлены как  $Q2$  ( $Q1-Q3$ ), диапазон без выбросов (*усы*), диапазон с выбросами и экстремальными значениями (точки). При множественном сравнении переменной по срокам статистически значимые различия выявлены в группах I (20-минутной) и III (40-минутной) ООСА (ANOVA Kraskel-Wallis;  $p<0,05$ ). ROI частично затрагивала полиморфный слой и слой клеток-гранул – преимущественно их границу (рис. 82 и 83).

При этом центральные тенденции в динамике наблюдения статистически значимо изменялись только в группах 20- и 40-минутной ООСА (см. рис. 83). В сравнении с контролем, данная переменная отличалась от таковой после ООСА и ПОСА только в парах: контроль/группа 20-минутной ООСА (3 сут), контроль/группа 40-минутной ООСА (3 и 7 сут), контроль/группа ПОСА (14 и 30 сут) (Mann-Whitney U-test для парного сравнения независимых выборок;  $p<0,001$ ). Подобные результаты обусловлены крайней асимметрией вариационных рядов (см. рис. 83).

В результате крупные пики (выбросы), в силу их небольшого количества, по сравнению с остальными пиками, мало влияли на формирование рангов, выходили за пределы  $Q1-Q3$  вариационных рядов.

В молекулярном слое отмечали сужения капилляров, признаки отёка-набухания нейропиля и периваскулярных ножек астроцитов (рис. 84). Нейронов в этом слое мало, поэтому он представлен типичным нейропилем и капиллярами, вокруг которых выявляли максимумы яркости изображения.

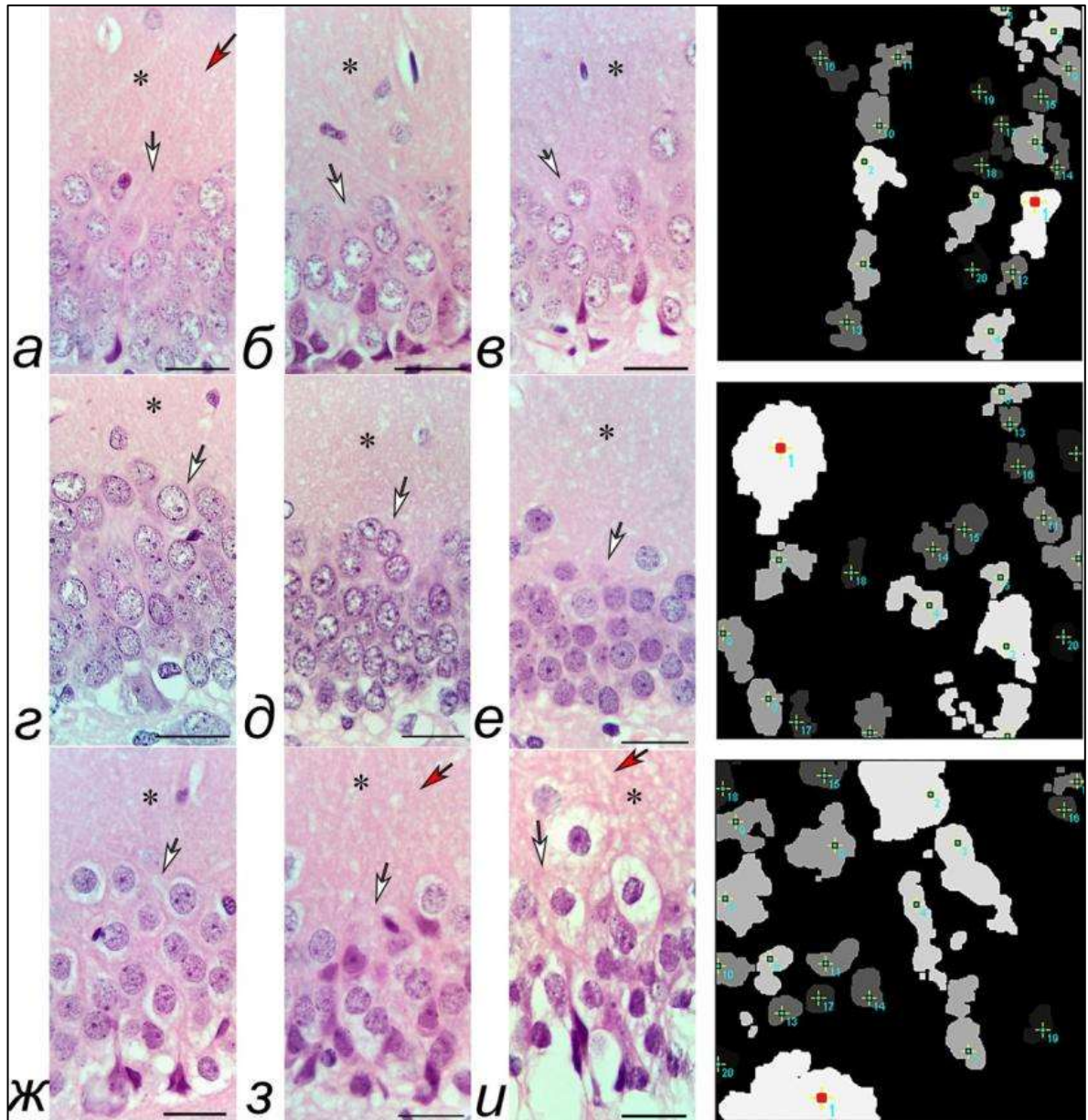


Рис. 84 – Поля зрения (900000 пикселей; 150x80 мкм), содержащие участки молекулярного слоя (\*) и слоя клеток-зёрен (стрелки) ЗФ животных групп 20-минутной (а), 30-минутной (б, в), 40-минутной (д) ООСА и группы ПОСА (е, ж, з, и) через 1 сут (а, г, е), 3 сут (в, ж), 7 сут (з), 30 сут (и) после ООСА (а-д) и полная ПОСА (е-и). Красные стрелки – зоны ROI (90000 пикселей), для которых представлены маски изображения с пиками (красным квадратиком отмечен пик с максимальной общей интенсивностью). Окраска гематоксилином и эозином, объектив  $\times 100$ , шкала – 25 мкм. Трансформирование ROI с помощью плагина "Find Foci".



По данным морфометрического анализа, парного сравнения с контролем (Mann-Whitney U-test) и многомерного статистического анализа всех групп (Kruskal-Wallis ANOVA by Ranks), установлено, что ООСА и ПОСА приводили к появлению зон (пиков) просветления (в сравнении с тёмным фоном), которые сохранялись на протяжении всего периода наблюдения. Наиболее наглядно это проявлялось после ПОСА (рис. 85; группа ПОСА). В этой группе, с учётом выбросов и экстремальных значений (Min-Max), вариационные ряды становились экстремально асимметричными.

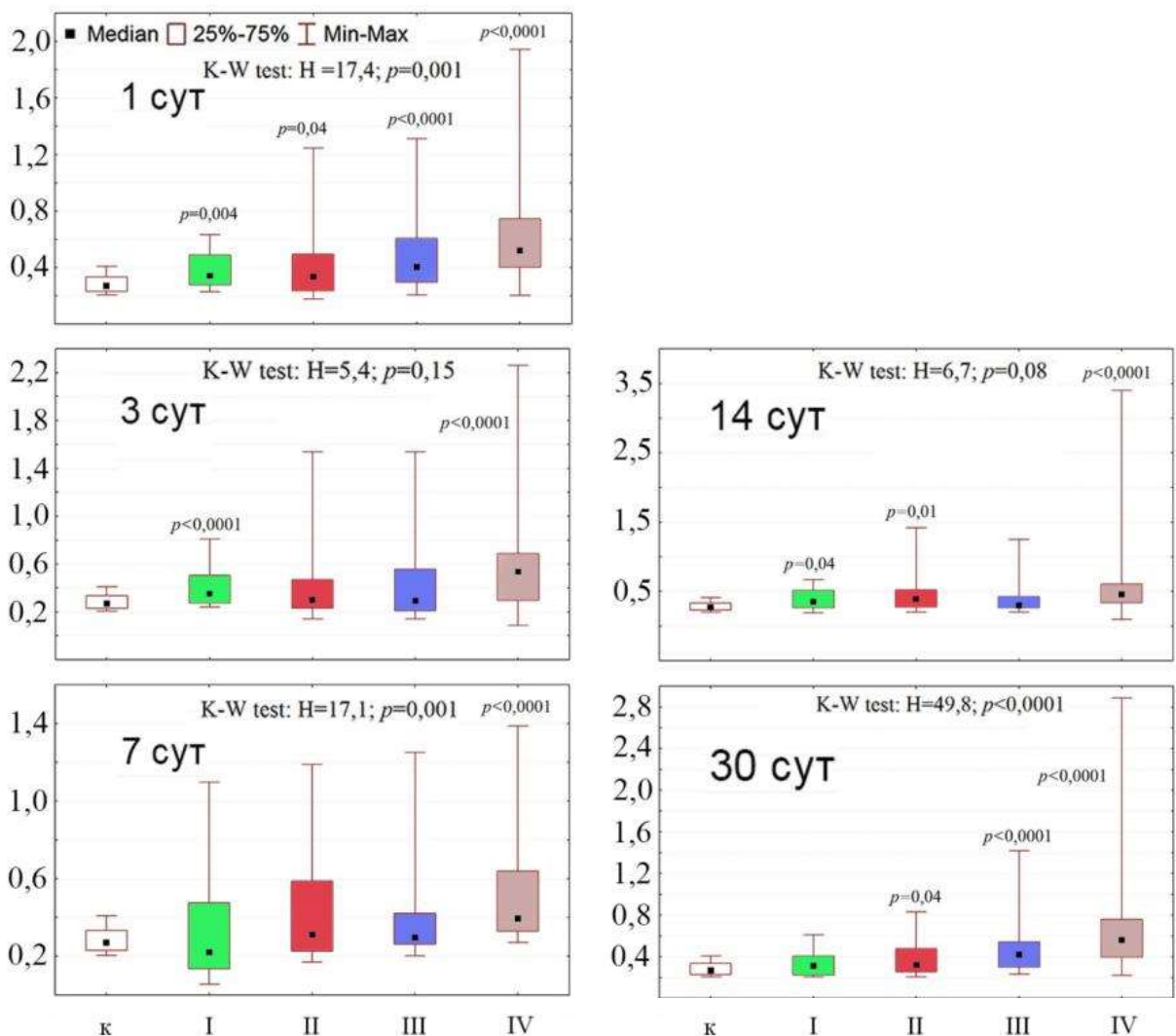


Рис. 85 – Общая интенсивность пикселей (ось ординат, миллионы) в пиках полей зрения (ROI=90000 пикселей, n=20) в молекулярном слое ЗФ у контрольных животных, групп I (20-минутной), II (30-минутной), III (40-минутной) ООСА и IV (ПОСА) через 1, 3, 7, 14 и 30 сут после ООСА и полная ПОСА. Данные представлены как  $Q_2$  ( $Q_1-Q_3$ ) и  $Max-Min$ . При множественном сравнении по группам статистически значимые различия выявлены через 1, 7 и 30 сут (ANOVA Kraskel-Wallis;  $p<0,05$ ). ROI в данном случае затрагивала только участки нейропиля. Остальные настройки плагина "Find Foci" были стандартными.

Множественное сравнение общей интенсивности пикселей пиков всех точек исследования по срокам и группам показало наличие между ними статистически значимых различий (Kruskal-Wallis test:  $H=71,0$ ;  $p<0,0001$ ). Сравнение сроков (через 1, 3, 7, 14 и 30 сут) внутри группы не отвергало нулевой гипотезы: группа 20-минутной ( $H=7,2$ ;  $p=0,13$ ), 30-минутной ( $H=2,2$ ;  $p=0,7$ ), 40-минутной ( $H=5,1$ ;  $p=0,28$ ) ишемии и ПОСА ( $H=6,2$ ;  $p=0,18$ ). При этом значение данной переменной было значимо выше, чем после ООСА и ПОСА. Выявлены также статистически значимые различия между группами по срокам исследования. Именно за счёт этого различались все точки исследования (см. рис. 85).

Средний показатель общей интенсивности пиков (миллионы) на уровне молекулярного слоя после ООСА и ПОСА суммарно по всем срокам составил  $5,02\pm 3,57$ , медиана – 4,01 (2,86-5,91), *Min-Max* – 0,56–34,0. На уровне границы полиморфного слоя и слоя клеток-гранул – соответственно  $4,2\pm 6,28$ ; 2,18 (1,43–3,74) и 0,46–55,6. Различия статистически значимы при  $p<0,0001$  (Wilcoxon Matched Pairs Test). Это свидетельствовало о том, что молекулярный слой, как и в контроле, был более светлым (средние значения), но содержал меньше очагов свободной жидкости (*Max*). Вероятно, в молекулярном слое превалировали процессы набухания, а на границе полиморфного и слоя клеток-гранул – отека с выраженной гидратацией отростков астроцитов и дегидратацией тел нейронов.

#### 4.1.2. Морфометрические проявления де- и гипергидратации полей СА<sub>1</sub> и СА<sub>3</sub> гиппокампа

В полях СА<sub>1</sub> и СА<sub>3</sub> гиппокампа животных контрольной и экспериментальных групп выявлена сложная структурная композицию взаимосвязанных пирамидных нейронов и астроцитов (рис. 86). Наиболее тесный физический контакт отмечался между отростками нейронов и астроцитов в нейропиле молекулярного и полиморфного слоя гиппокампа (рис. 86, а, б).

Цитоархитектоника СА<sub>1</sub> и СА<sub>3</sub> имеет свои особенности, обусловленные размерами и плотностью укомплектования перикарионов, организацией дендритных деревьев. При иммуногистохимической оценке экспрессии MAP2 в молекулярном слое поля СА<sub>3</sub> отчетливо верифицировался *stratum lucidum* (рис. 86, б), образованный апикальными дендритами пирамидных нейронов и гигантскими терминалями мшистых волокон из зубчатой извилины. Для поля СА<sub>1</sub> характерен выраженный *stratum radiatum*, представленный прямыми дендритами пирамидных нейронов.

Менее всего между СА<sub>1</sub> и СА<sub>3</sub> различался *stratum lacunosum moleculare* и полиморфный слой (рис. 86, а). Отростки астроцитов этих полей располагались между отростками нейронов в нейропиле, вокруг перикарионов пирамидных нейронов и микрососудов (рис. 86, в, г). Таким образом, отмечена изначальная структурная гетероморфность полей СА<sub>1</sub> и СА<sub>3</sub>. Наиболее схожими были *stratum lacunosum moleculare* и полиморфный слой.

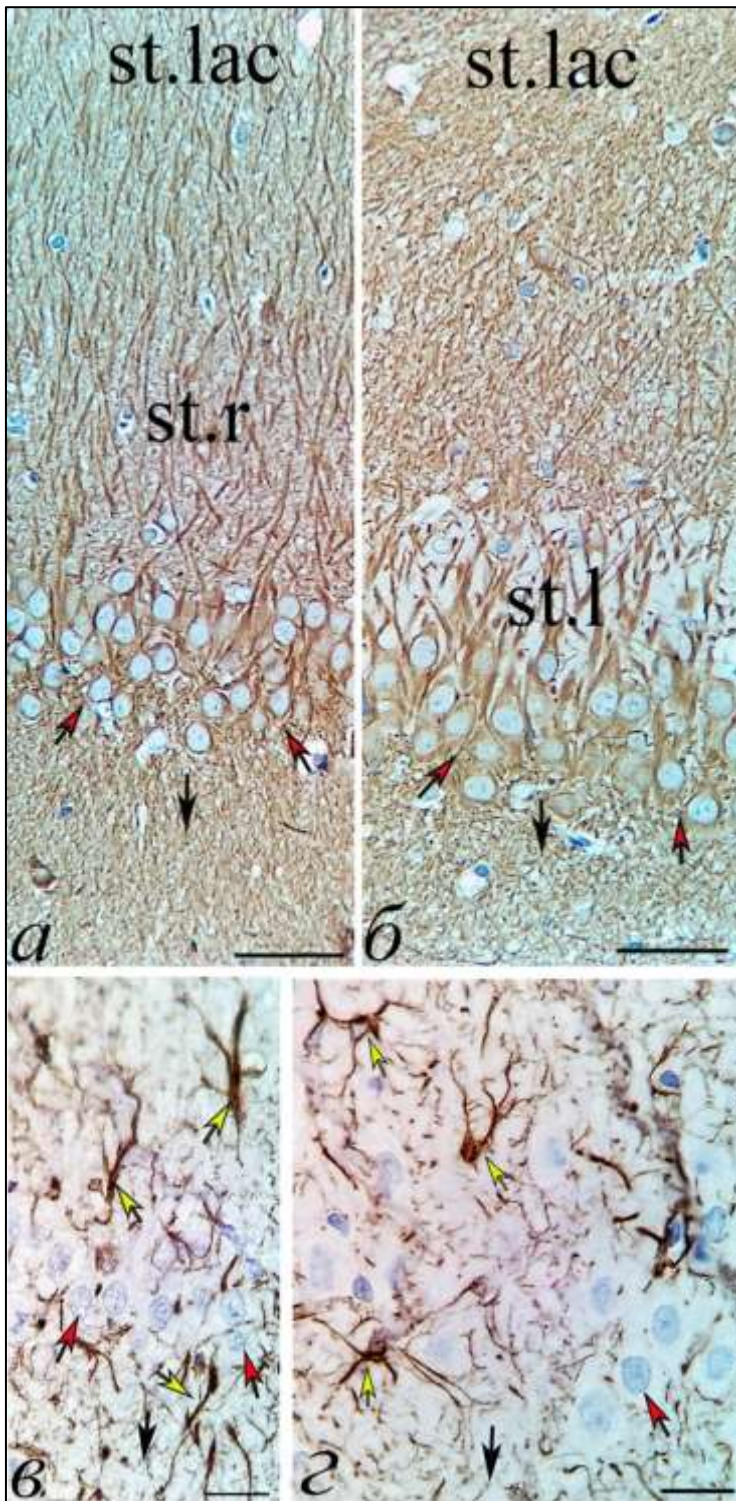


Рис. 86 – Фрагменты полей СА<sub>1</sub> (а, в) и СА<sub>3</sub> (б, г) гиппокампа животных контрольной группы: нормохромные пирамидные нейроны (красные стрелки) с равномерным плотным заполнением перикариона и дендритов MAP2, астроциты (жёлтые стрелки) верифицируются как GFAP-позитивные клетки с отростками (в виде доменов). Черные стрелки указывают расположение ПС, st.r – stratum radiatum СА<sub>1</sub>, st.l – stratum lucidum СА<sub>3</sub>. st.lac – stratum lacunosum moleculare. Иммуногистохимическое выявление MAP2 (а, б) и GFAP (в, г), дополнительная окраска гематоксилином. Объектив: ×40 (а, б) и ×100 (в, г), шкала: 50 мкм (а, б) и 20 мкм (в, г).

Качественная оценка состояния нервной ткани гиппокампа показала появление после ООСА и ПОСА типичных ишемических изменений всех типов клеток. На срезах гиппокампа у контрольных животных встречались единичные темные сморщенные клетки (2 – 3 поля зрения из 30), немногочисленные проявления перичеселлюлярного и периваскулярного отека. Подобная морфологическая картина была характерна также для групп 20- и 30-минутной. Однако даже после односторонней ООСА ишемические изменения затрагивали существенно больше полей зрения (6 – 15 полей зрения из 30), чем в контроле. Появлялись явные признаки диффузно-очаговой де- и гипергидратации, а также реакции нейроглиальных клеток. При этом, как и в контроле, в общей массе преобладали нормохромные и несморщенные темные нейроны (рис. 87, а, б).

При моделировании более тяжелой ишемии (40-минутной ООСА и ПОСА) уже через 1 сут реактивные и дегенеративные изменения затрагивали половину полей зрения (15–20 из 30). Особенно это было характерно после ПОСА. Через 1 сут после ПОСА в полях СА<sub>1</sub> и СА<sub>3</sub>, кроме скоплений различных темных нейронов, выявляли гипохромные нейроны с признаками гомогенизации, выраженные проявления отека-набухания перикариона и перичеселлюлярного отека (рис. 88).

Через 3 сут после 20-, 40-минутной ООСА и ПОСА отмечено преобладание дегенеративно измененных нейронов; много темных нейронов было через 7 и 14 сут на фоне высокой сохранности систем межнейронной коммуникации и цитоскелета соседних нейронов (рис. 89). После ПОСА (самая тяжелая ишемия) даже через 30 сут сохранялись гипохромные нейроны с признаками гомогенизации, выраженные проявления отека-набухания перикариона и перичеселлюлярного отека.

С помощью плагина "*Find Foci*" установлено, что в постишемическом периоде процессы де- и гипергидратации нервной ткани отражались на гистограммах сдвигом среднего значения яркости пикселей в двух противоположных направлениях: для фона – уменьшением значений (потемнение – дегидратация), для зон отека-набухания – увеличением яркости (просветление – гипергидратация – отек-набухание) (рис. 90).

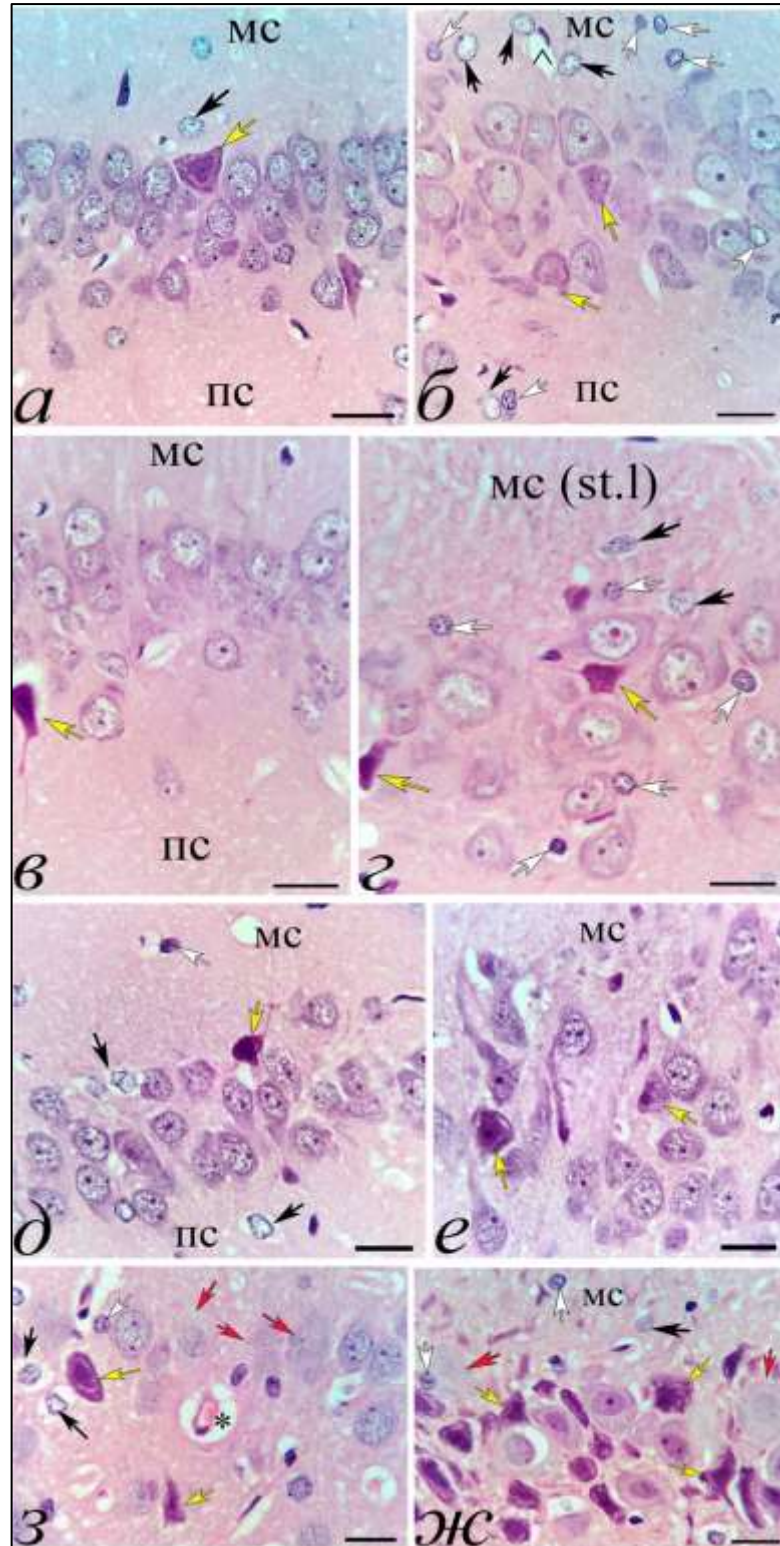


Рис. 87 – Фрагменты полей СА<sub>1</sub> (а, в, д, з) и СА<sub>3</sub> (б, г, е, ж) гиппокампа животных после 30- (а, б), 20- (в, г), 40-минутной ООСА (д, е) и ПОСА (з, ж) через 1 сут после ООСА (а-е) и ПОСА (з-ж): после ООСА преобладание нормохромных нейронов, единичные тёмные нейроны, незначительные проявления отёка-набухания; в группе ПОСА много тёмных нейронов (жёлтые стрелки), появляются гипохромные нейроны (красные стрелки) с признаками гомогенизации, выраженные проявления отёка-набухания перикариона и перичеселлюлярного отёка, черные стрелки – астроциты, белые стрелки – олигодендроциты с признаками отёка-набухания. Окраска гематоксилином и эозином. Объектив: ×100, шкала: 20 мкм.

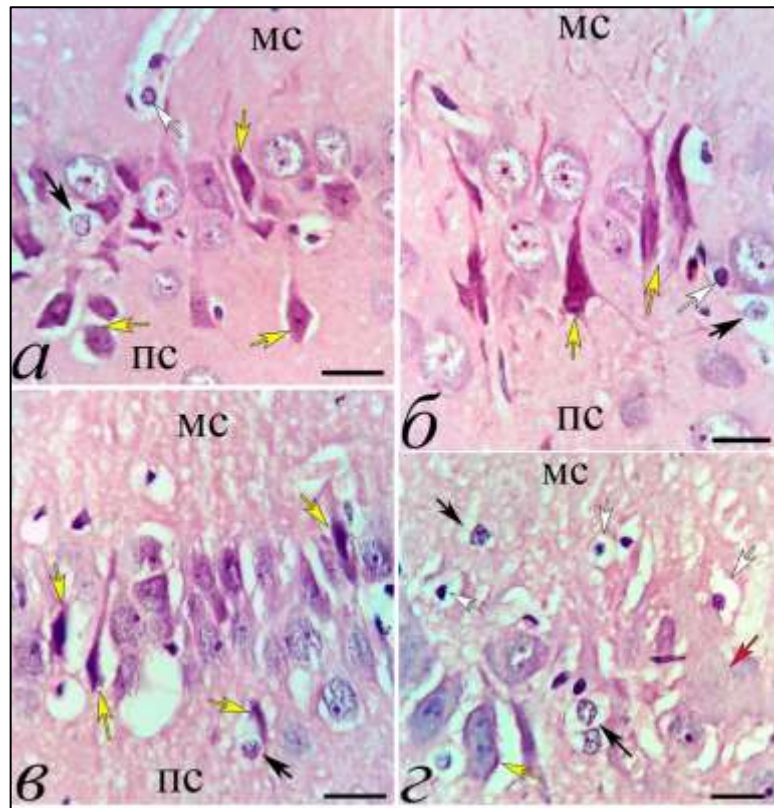


Рис. 88 – Фрагменты полей СА<sub>1</sub> (а, в) и СА<sub>3</sub> (б, г) гиппокампа после 20-минутной ООСА (а, б) и ПОСА (в, г) через 3 (а, б) и 30 (в, г) сут после ООСА (а-б) и ПОСА (в-г): преобладание дегенеративно изменённых нейронов, много тёмных нейронов (жёлтые стрелки), сохраняются гипохромные нейроны с признаками гомогенизации (красные стрелки), выраженные проявления отёка-набухания перикариона и перичеселлюлярного отёка, черные стрелки – астроциты, белые стрелки – олигодендроциты с признаками отёка-набухания. Окраска гематоксилин и эозином. Объектив:  $\times 100$ , шкала: 20 мкм.

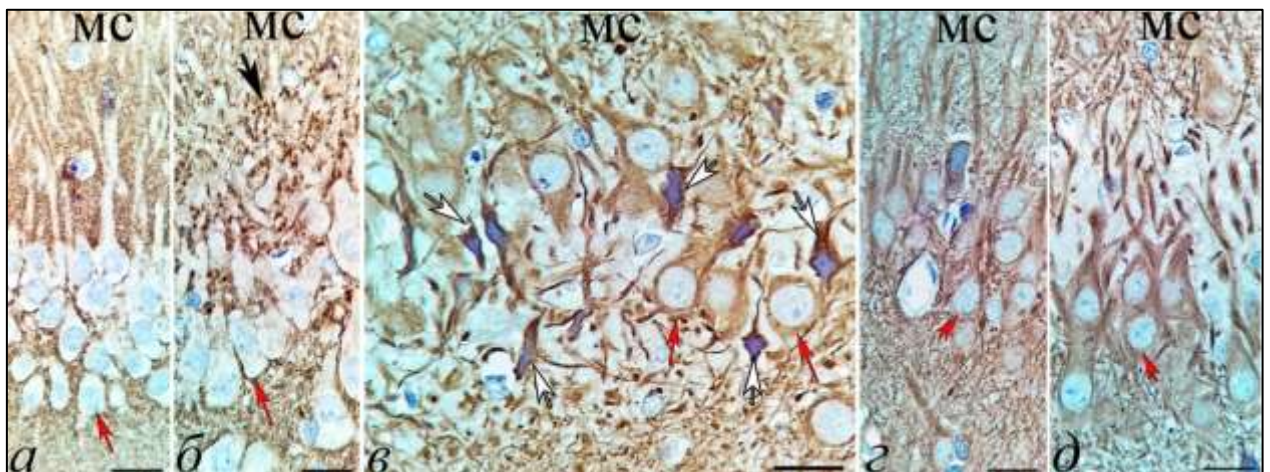


Рис. 89 – Фрагменты полей СА<sub>1</sub> (а, г) и СА<sub>3</sub> (б, в, д) гиппокампа через 7 сут после 20-минутной ООСА: высокая плотность меток (синаптофизин) синаптических терминалей в stratum lucidum СА<sub>3</sub> (б, чёрная стрелка), очаг сморщенных тёмных нейронов с дегидратированной цитоплазмой (белые стрелки) и периваскулярным отёком. Молекулярный слой, красные стрелки – тела пирамидных нейронов. Иммуногистохимическое выявление синаптофизина (а, б) и MAP2 (в, г, д), дополнительная окраска гематоксилином. Объектив:  $\times 100$ , шкала: 20 мкм.

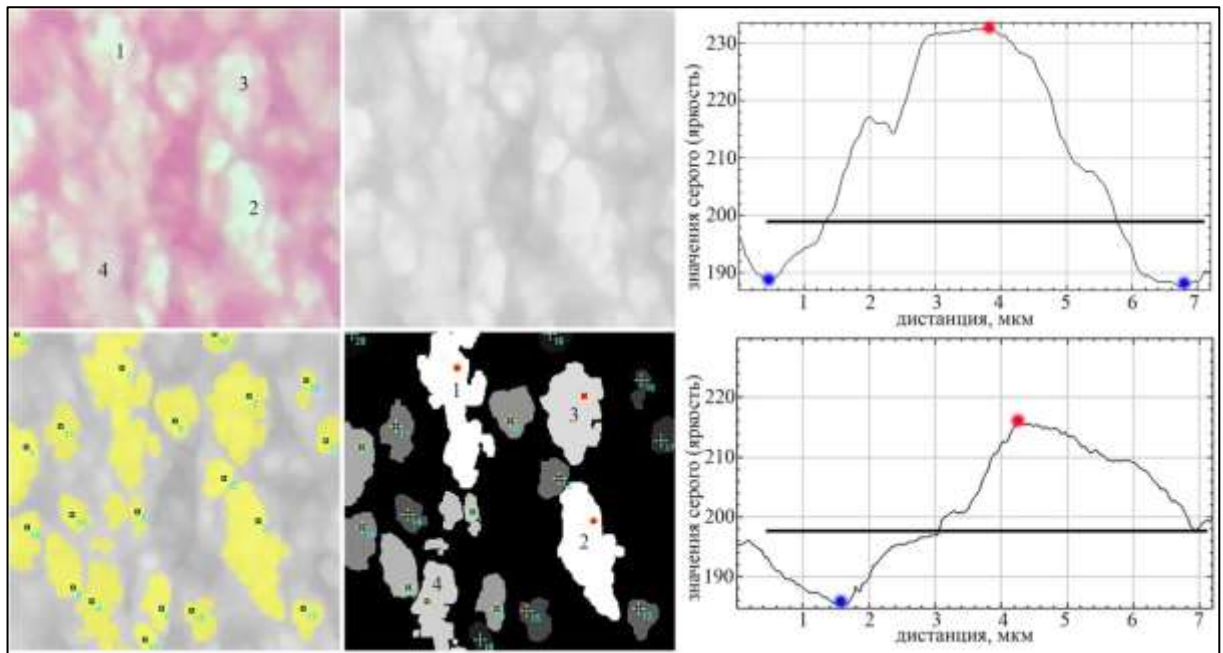


Рис. 90 – Последовательные этапы анализа изображения ROI (90000 пикселей; 20x20 мкм) нейропиля (исходное, 32 бит, все пики, пики по оттенкам серого), содержащего участок молекулярного слоя поля СА<sub>1</sub> крысы из группы IV (рис. 77, в), через 30 сут. Красные квадраты – максимально яркие пиксели 3-х из 20-ти пиков с наибольшей общей интенсивностью. Гистограммы отражают распределение пикселей пика «1» (яркого) и «4» (бледного: линии (яркость около 200) отсекают пиксели фона (ниже) и зон просветления (выше) нейропиля. Красные точки – максимально яркие (235) пиксели зон отёка набухания, синие – минимальные значения (180) яркости пикселей фона. Окраска гематоксилином и эозином, объектив ×100. Трансформирование и анализ пиков ROI с помощью плагина "Find Foci".

По данным ROC анализа, на основании определения AUC (Area Under Curve) (93% ДИ: 0,87–0,96;  $p=0,001$ ) и порога отсечения (яркость 220 и 226), легко верифицировать структуры нейропиля (1) без признаков набухания, (2) с признаками набухания и (3) отека-набухания. При этом чувствительность метода составила 83,2 – 90,0 (95% ДИ). Установлено, что в нейропиле СА<sub>1</sub> и СА<sub>3</sub> гиппокампа пики изображения (32 бит) с максимумом яркости <200 соответствовали фону, 200 – 210 не имели признаков набухания, 211 – 225 – соответствовали проявлениям набухания (просветление дендритов, терминалей синапсов, мелких отростков астроцитов), а >226 – проявлениям отека (периваскулярные, перицеллюлярные, крупные отростки и тела отечных астроцитов).

Морфометрический анализ нейропиля гиппокампа с помощью плагина "Find Foci" показал, что через 1 сут после ООСА и ПОСА происходило перераспределение пиков изображения нейропиля по интегральному показателю – общей интенсивности пикселей (рис. 91). На рисунке показаны первые четыре наиболее ярких пика (яркость 1 – 2 – 3 – 4 по убыванию) из 20 исследованных в каждой группе. Максимально яркие пики (яркость 1 и 2) отмечены после

ПОСА. Для этой группы характерно наличие значительного разброса показателя для всех степеней яркости. После 30-минутной ООСА со слабой ишемией очень ярких пиков, соответствующих отеку-набуханию, не выявлено.

Через 1 сут после односторонней ООСА не выявлено признаков отека-набухания, однако значимое снижение общей интенсивности пикселей для менее ярких пиков свидетельствовало о начальных признаках перераспределения связанной жидкости в дендритах. Дегидратация нейронов и их отростков, вероятно, приводила к появлению темных нейронов без сморщивания. То есть, после легкой ишемии, даже если и перераспределение жидкости происходило, его трудно было зарегистрировать с помощью использованного метода анализа гистограмм изображения нейропиля. Во всех других группах содержание ярких пикселей (порог отсечения более 211) статистически значимо увеличивалось (рис. 91).

Можно полагать, что это было связано с выраженным набуханием (яркость 211–225) и даже отеком нейропиля (> 226). При этом появлялись пики, в которых максимальные значения яркости отдельных пикселей достигали 240 – 255. Тем не менее, показатель общей интенсивности пикселей в пиках в большей степени зависел от размера пика и в меньшей степени – от средней яркости пикселей.

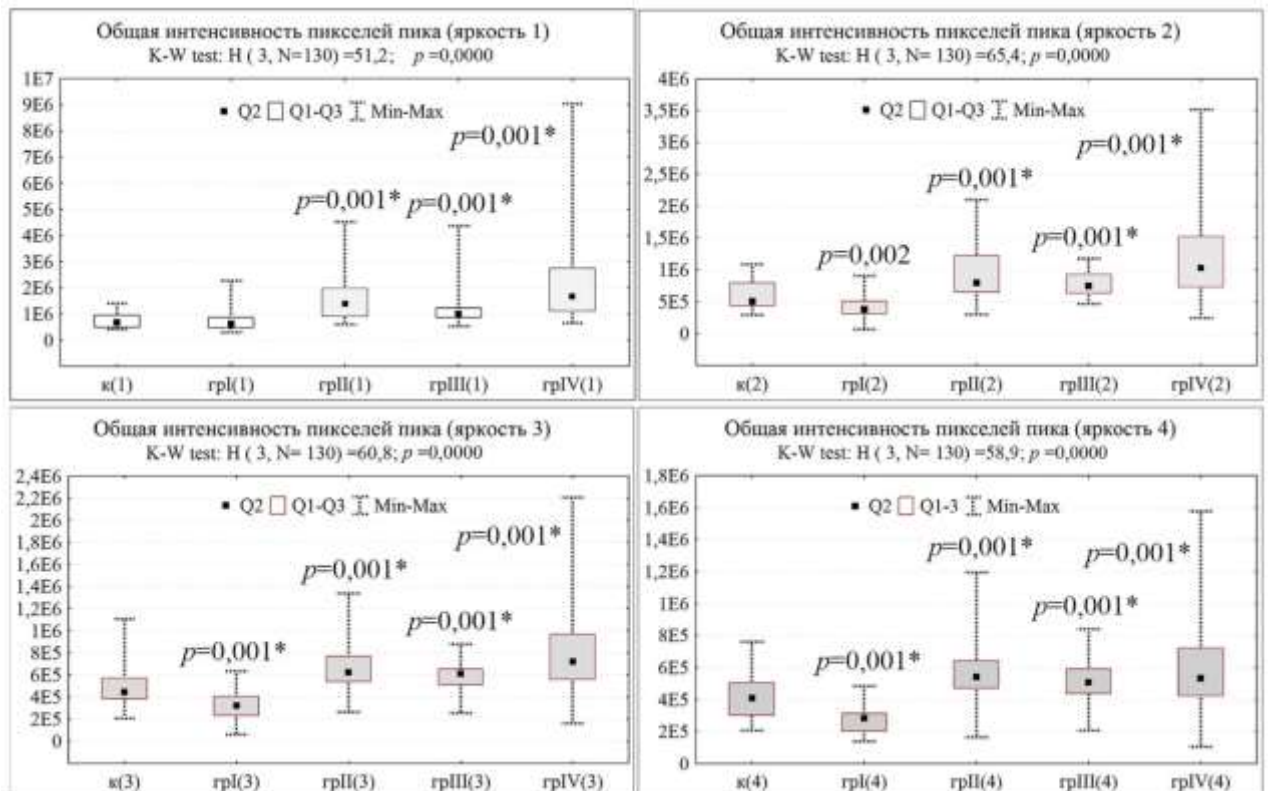


Рис. 91 – Общая интенсивность пикселей (ось ординат) в наиболее ярких пиках (1 – 2 – 3 – 4) полей зрения (ROI=90000 пикселей, n=30) stratum lacunosum молекулярного слоя полей CA<sub>1</sub> и CA<sub>3</sub> у животных групп I (30-минутной), II (20-минутной), III (40-минутной) и IV (ПОСА) через 1 сут после ООСА и ПОСА. Данные представлены как Q2 (Q1-Q3), диапазон без выбросов (усы).



Между размером пиков и средней яркостью его пикселей выявлены слабые положительные связи ( $r=0,35-0,45$ ; корреляционный анализ по Спирмену). То есть, проявления отека-набухания после ООСА и ПОСА зависели в основном не от степени гидратации, а от объема связанных с ним структур нейропиля (дендриты, синапсы, астроциты).

Оценка общей интенсивности пикселей в наиболее ярких пиках (1 – 2 – 3 – 4) показала, что для морфометрической характеристики проявлений отека-набухания достаточно данных о динамике самых ярких пиков (1). Ниже на графиках представлен сравнительный анализ изменения общей интенсивности пикселей именно таких пиков (рис. 92). Установлено, что после ООСА и ПОСА распределение статистически значимо скошено вправо – в сторону образования крупных ярких пиков. Максимальное их количество отмечено после ПОСА. При этом ПОСА приводила к стабильно высокому проявлению гипергидратации ( $N=7,4$ ;  $p=0,1$ ) в течение всего периода наблюдения, а после ООСА степень гидратации нейропиля статистически значимо изменялась (группа 20-минутной –  $p=0,03$ ; группа 40-минутной –  $p=0,0003$ ) (см. рис. 92).

У животных группы 30-минутной (односторонняя ООСА) преобладали умеренные обратимые проявления отека-набухания, а в группах 20-, 40-минутной (двусторонняя ООСА) и ПОСА после острой ишемии на фоне нормохромных нейронов выявлены различные комбинации сочетания набухших, темных несморщенных и сморщенных (штопорообразных) отростков дендритов/перикарионов, проявления отека периваскулярных и принейрональных отростков астроцитов (рис. 93).

Проведённые сравнения, анализ и синтез полученного материала позволили сделать некоторые обобщения, касающиеся закономерностей де- и гипергидратации гиппокампа после непродолжительной ООСА и ПОСА. Показанные на рис. 93 переходы от незначительных изменений нейронов по типу набухания (через 1 сут после односторонней ООСА) до выраженных проявлений отёка-набухания (через 30 сут после ПОСА) можно трактовать как последовательный, до определённого момента сбалансированный, процесс обмена жидкости между основными её компартментами. После односторонней ООСА отмечалась в основном гипергидратация нейронального компартмента (рис. 93, а).

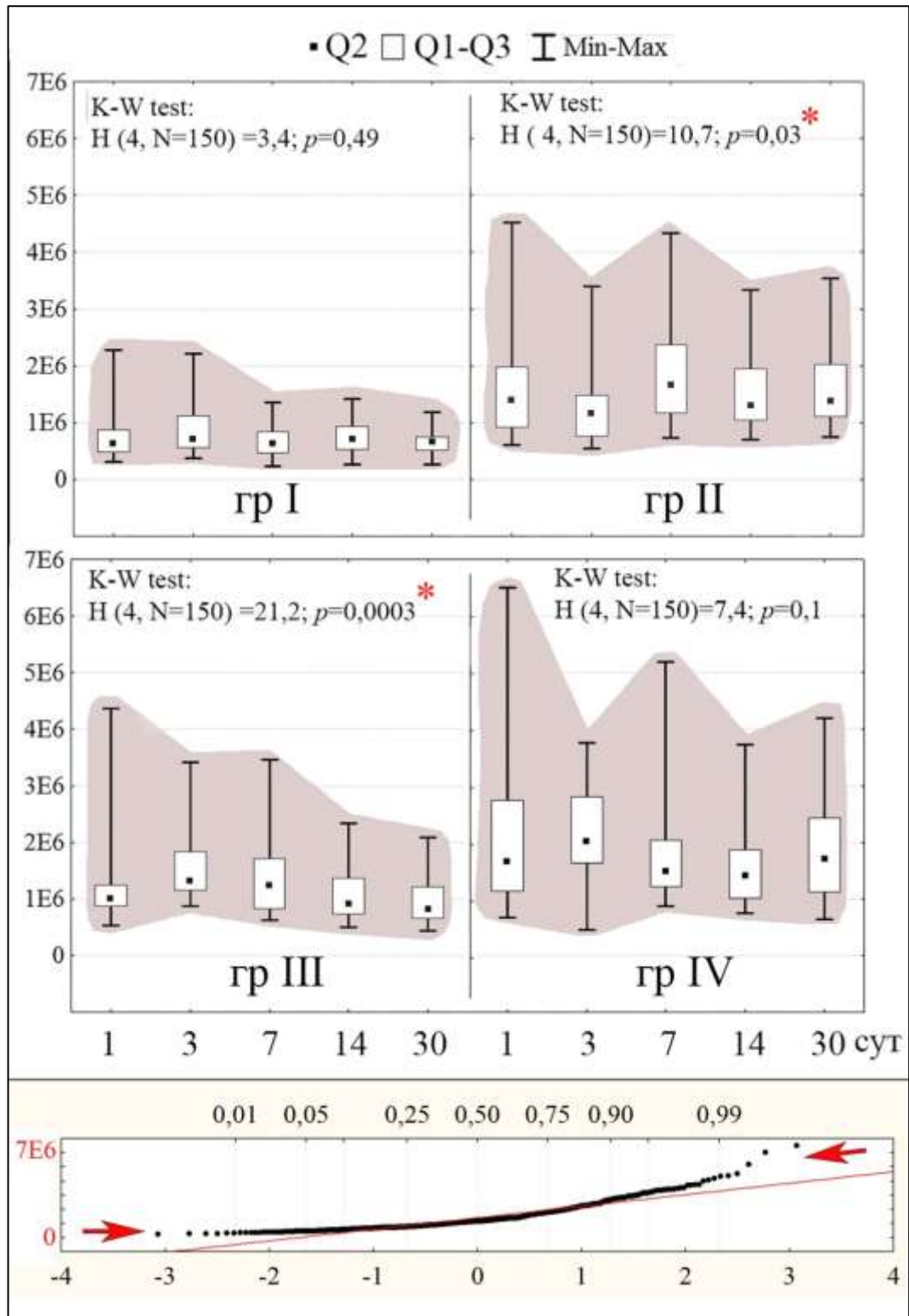


Рис. 92 – Общая интенсивность пикселей (ось ординат) в самых ярких пиках (1) полей зрения (ROI=90000 пикселей,  $n=30$ ) stratum lacunosum молекулярного слоя полей CA<sub>1</sub> и CA<sub>3</sub> у животных групп I (30-минутной), II (20-минутной), III (40-минутной) и IV (ПОСА) в динамике после ООСА и ПОСА. Данные представлены как Q2 (Q1-Q3), диапазон без выбросов (усы). Наглядно показано, что площадь распределения значений в каноническом пространстве в сравниваемых группах отличалась. Относительно группы I (30-минутной) – соответственно – 1: 2,1: 1,8: 2,7. Оба конца квантильного графика находятся выше прямой главного тренда (стрелки) – распределение скошено вправо в сторону крупных ярких пиков.

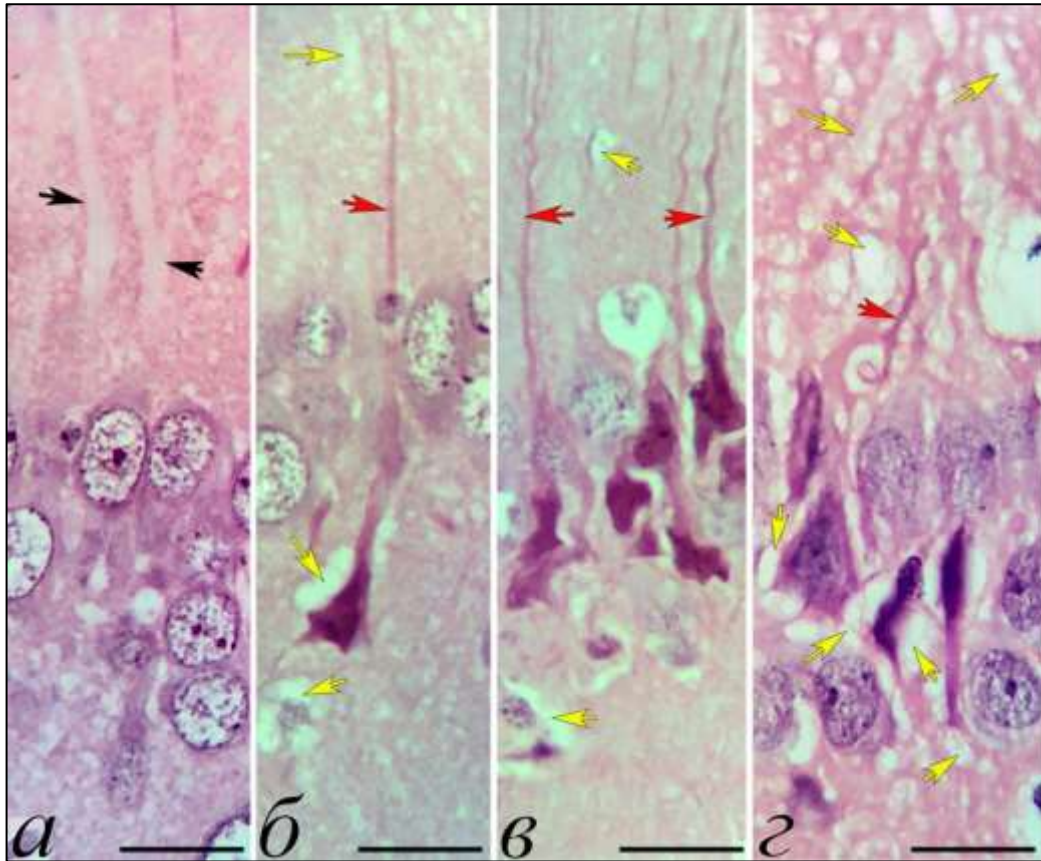


Рис. 93 – Фрагменты поля СА<sub>1</sub> гиппокампа животных группы I (30-минутной) (а), II (20-минутной ООСА) (б, в) и IV (ПОСА) (г) через 1 (а), 3 (б, в) и 30 (г) сут после ООСА (а-в) и ПОСА (г): преобладание набухания (а; черные стрелки), много тёмных нейронов с изменёнными дендритами (красные стрелки) без сморщивания (б) и со сморщиванием (в), гипохромные нейроны с признаками гомогенизации, выраженные проявления отека-набухания перикариона и перичеселлюлярного отёка (б, в, г; жёлтые стрелки). Окраска гематоксилин и эозином. Объектив: ×100, шкала: 20 мкм.

По мере увеличения степени тяжести ишемии выявлялись признаки гипергидратации астроцитарного компартмента и дегидратации нейронов (рис. 93, б, в). При этом после ООСА, вероятно, сохранялись потенциальные возможности структурно-функционального восстановления большей части тёмных нейронов и астроглии.

После ПОСА происходил срыв механизмов оттока жидкости по астроцитам, формировались крупные полости со свободной жидкостью. Это сопровождалось дисфункцией астроцитов, как следствие, необратимой дегидратацией и сморщиванием темных нейронов (пикноморфные с гомогенизацией). Известно, что острая ишемия приводит к повреждению и отрыву отростков астроцита с образованием замкнутых полостей, прогрессированию отека-набухания и неизбежной гибели нейронов.

#### 4.1.3. Морфометрическая характеристика проявлений отёка-набухания миндалевидного тела

МТ является сложным многоядерным центром головного мозга, расположенным под височной корой. МТ состоит из различных мелко-, средне- и крупноклеточных ядер. Крупноклеточные ядра МТ сформированы нормохромными нейронами, а мелкоклеточные – кариохромными и светлыми нейронами. Крупные мультиполярные нейроны имели богатое эухроматином клеточное ядро, упорядоченное расположение элементов гранулярной эндоплазматической сети, выраженный цитоскелет (рис. 94, 95). Общая численная плотность нейронов (490,5) в среднеклеточных ядрах варьировалась ( $Q_2$ ;  $Q_1$ - $Q_3$ ) в пределах 445,3–534,5, а в крупноклеточных ядрах (246,5) – 203,2 – 253,2 на 1 мм<sup>2</sup> поля зрения. Для МТ в целом – 368 (224–512).

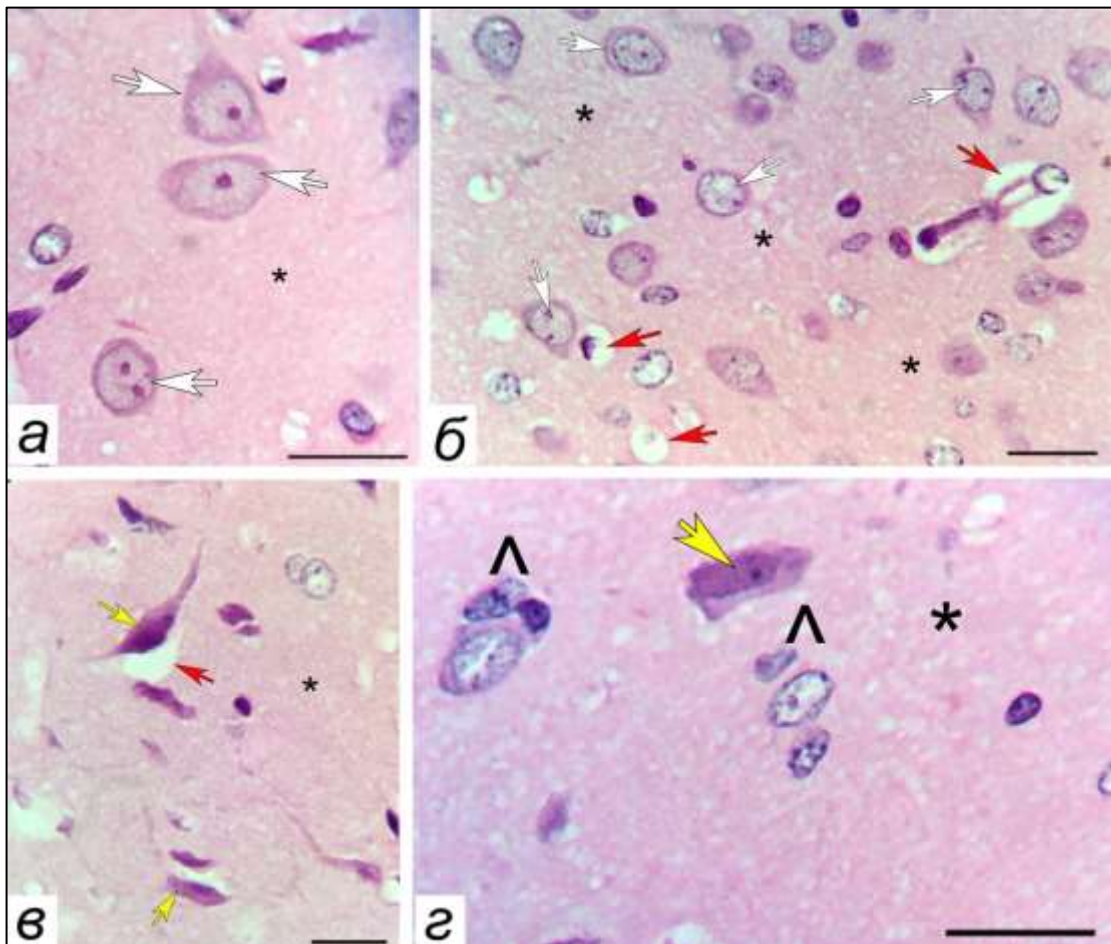


Рис. 94 – Поля зрения МТ контрольных животных (а), через 1 (б, г) и 7 (в) сут после ООСА: визуальные качественные различия реакции нейронов и проявлений отека-набухания нейропиля (\*). Жёлтые стрелки – гиперхромные, белые стрелки – нормохромные нейроны. Красные стрелки – периваскулярный и перичеллюлярный отек. Окраска гематоксилином и эозином. Объектив:  $\times 100$ , шкала: 20 мкм.

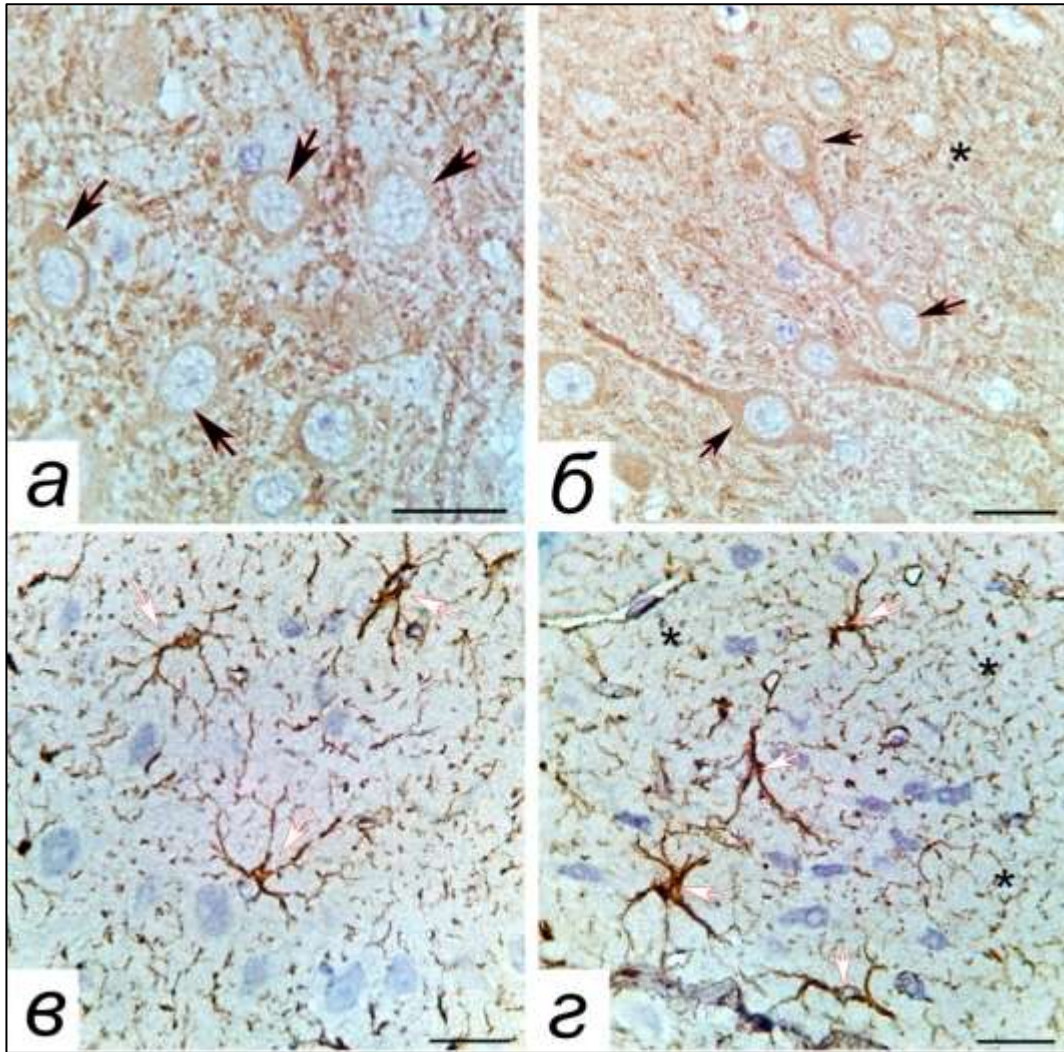


Рис. 95 – Поля зрения МТ контрольных животных (а, в) и через 3 (б, г) сут после ООСА: после ишемии цитоскелет нейронов прокрашивается более интенсивно, увеличивается количество гипертрофированных астроцитов. \* – нейропилль, черные стрелки – нейроны, белые стрелки – астроциты. Окраска: иммуногистохимическое выявление MAP2 (а, б) и GFAP (в, г), докраска гематоксилином. Объектив:  $\times 100$ , шкала: 20 мкм.

В МТ контрольной группы животных встречались отдельные гиперхромные нейроны, а также очень яркие неокрашенные зоны – просветы пустых сосудов, немногочисленные проявления перичеселлярного и периваскулярного отека. При этом нейропилль МТ был представлен однородным эозинфильным материалом без признаков набухания составляющих его элементов (дендриты, отростки астроцитов) (см. рис. 94, 95). Общая интенсивность пикселей зон (пиков) максимальной яркости нейропиля в контроле составляла всего 230 000 (140 000 – 280 000), что примерно в десять раз меньше (критерий Манна-Уитни,  $p < 0,0001$ ), чем после ООСА (рис. 96, 97).

После ООСА в ядрах МТ всех групп животных появлялись в основном единичные вакуолизированные нейроны, редко клетки тени, ишемические

несморщенные и сморщенные (пикноморфные гомогенизированные и негомогенизированные) темные нейроны (см. рис. 94). Через 1 сут среди изменённых преобладали нейроны с признаками гидропической дистрофии, одиночные клетки-тени и несморщенные тёмные. Через 3 и 7 сут увеличивалось содержание сморщенных тёмных нейронов (в очагах их скопления до 50 – 60%) и нейронов в состоянии фагоцитоза, увеличивалось количество свободных и сателлитарных нейроглиоцитов (см. рис. 94).

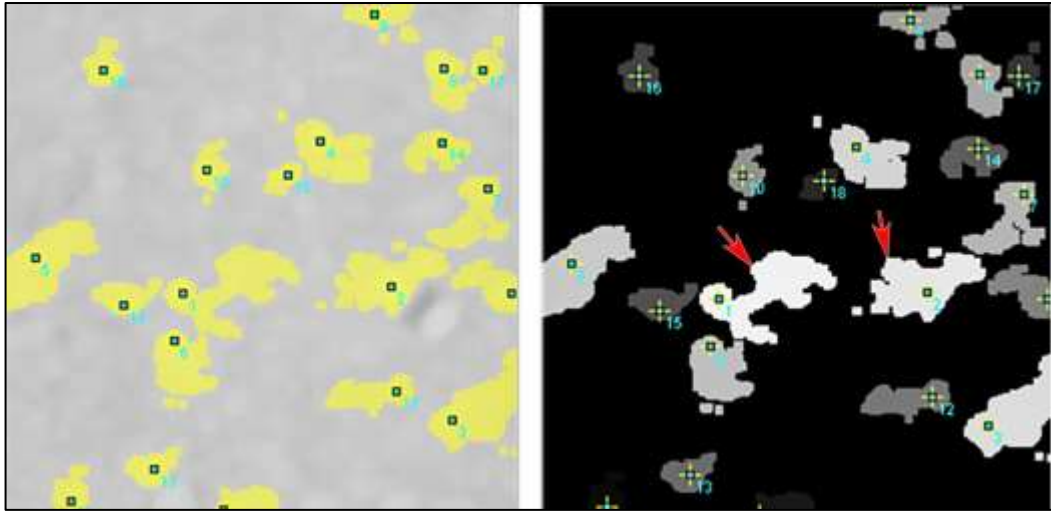


Рис. 96 – Участки (ROI=20x20 мкм; 32 бит, градации серого) нейропиля МТ у крысы после 40-минутной ООСА: все пики (отмечено жёлтым) отличались формой и размерами, на чёрном фоне отмечены пики с разной яркостью, наиболее яркие светлые пики (красные стрелки) соответствуют небольшим очагам отёка-набухания. Окраска гематоксилин-эозином, трансформация изображений с помощью плагина "Find Foci". Объектив:  $\times 100$ .

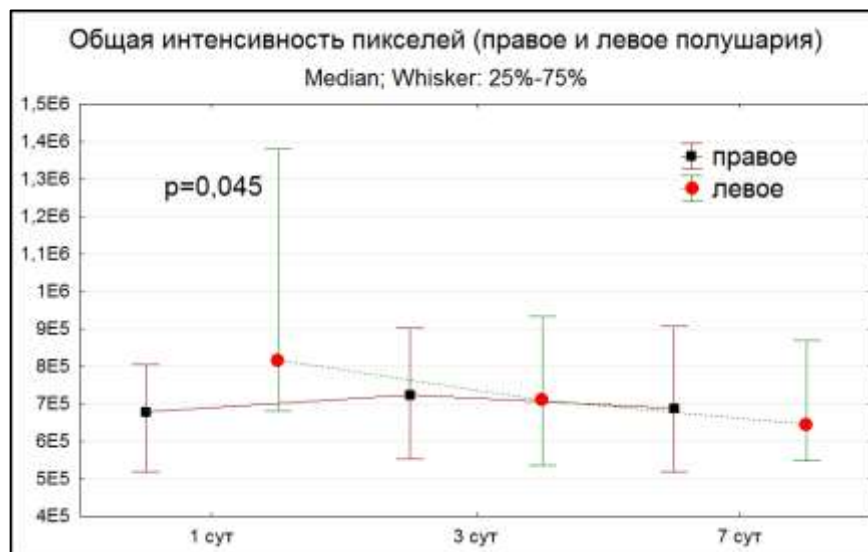


Рис. 97 – Общая интенсивность пикселей (ось ординат, миллионы) в пиках полей зрения (ROI=90000 пикселей, n=25) МТ после 30-минутной ООСА в динамике после ООСА в правом и левом полушарии головного мозга. Данные представлены как Q2 (Q1-Q3). Статистически значимые различия в сравнении с 1 сут (Mann–Whitney U-test) при  $p < 0,05$ .

После ООСА количество ярких пиков существенно увеличивалось (в 10 – 15 раз). Именно по количеству, размерам и яркости этих пиков проводилось сравнение между экспериментальными группами (интегральный показатель – «общая интенсивность пикселей в пиках»).

При сравнении МТ правого и левого полушария незначительные статистически значимые различия по общей интенсивности пикселей максимально ярких пиков выявлены через 1 сут после 30-минутной ООСА (односторонняя). На стороне окклюзии проявления отека-набухания были более выражены. Через 3 и 7 сут асимметрии по данной переменной различий не выявляли (см. рис. 97). Вероятно, это свидетельствовало о восстановлении кровотока в эти сроки.

По данным иммуногистохимической реакции на GFAP, астроциты и их отростки гипертрофировались. Особенно это было характерно для зон с большим количеством гиперхромных нейронов (см. рис. 95). Основная часть повреждённых нейронов, вероятно, подвергалась фагоцитозу в течение 7 сут после острой ишемии. В сравнение с контролем общая численная плотность нейронов после 20-минутной ООСА уменьшалась на 10,2% ( $p=0,03$ ), после 30-минутной – на 11,4% ( $p=0,03$ ), а после 40-минутной – на 12,9% (Mann–Whitney U-test,  $p=0,01$ ). Дефицит общей численности нейронов сопровождался увеличением НГИ от 2,0 (контроль) до 2,8 (через 7 сут) (Mann–Whitney U-test,  $p=0,01$ ).

С помощью плагина "*Find Foci*" верифицированы пики (участки изображения, отличающиеся от соседних средними значениями интенсивности пикселей). В контроле, на чёрном фоне, преобладали пики небольших размеров с различными оттенками серого, яркие светлые участки немногочисленны. Не было экстремальных выбросов значений их характеристик (размеры, средняя интенсивность, общая интенсивность пикселей в пике) (см. рис. 96).

ООСА, вероятно, приводила к существенному перераспределению воды в МТ. Так, в остром периоде (1 и 3 сут) появлялись поля зрения МТ со структурными проявлениями перипеллюлярного и периваскулярного отека астроцитов. В большей степени это было характерно для микрососудов и пикноморфных нейронов животных после 30- и 40-минутной ООСА (см. рис. 94), как раз там, где располагается основная масса отростков астроцитов. В более отдалённом периоде (7 сут) после 20- и 40-минутной ООСА отмечена незначительная редукция проявлений отёка набухания. Гидропические изменения астроцитов сочетались с появлением тёмных сморщенных и несморщенных нейронов на протяжении всего периода наблюдения (рис. 94, 98).

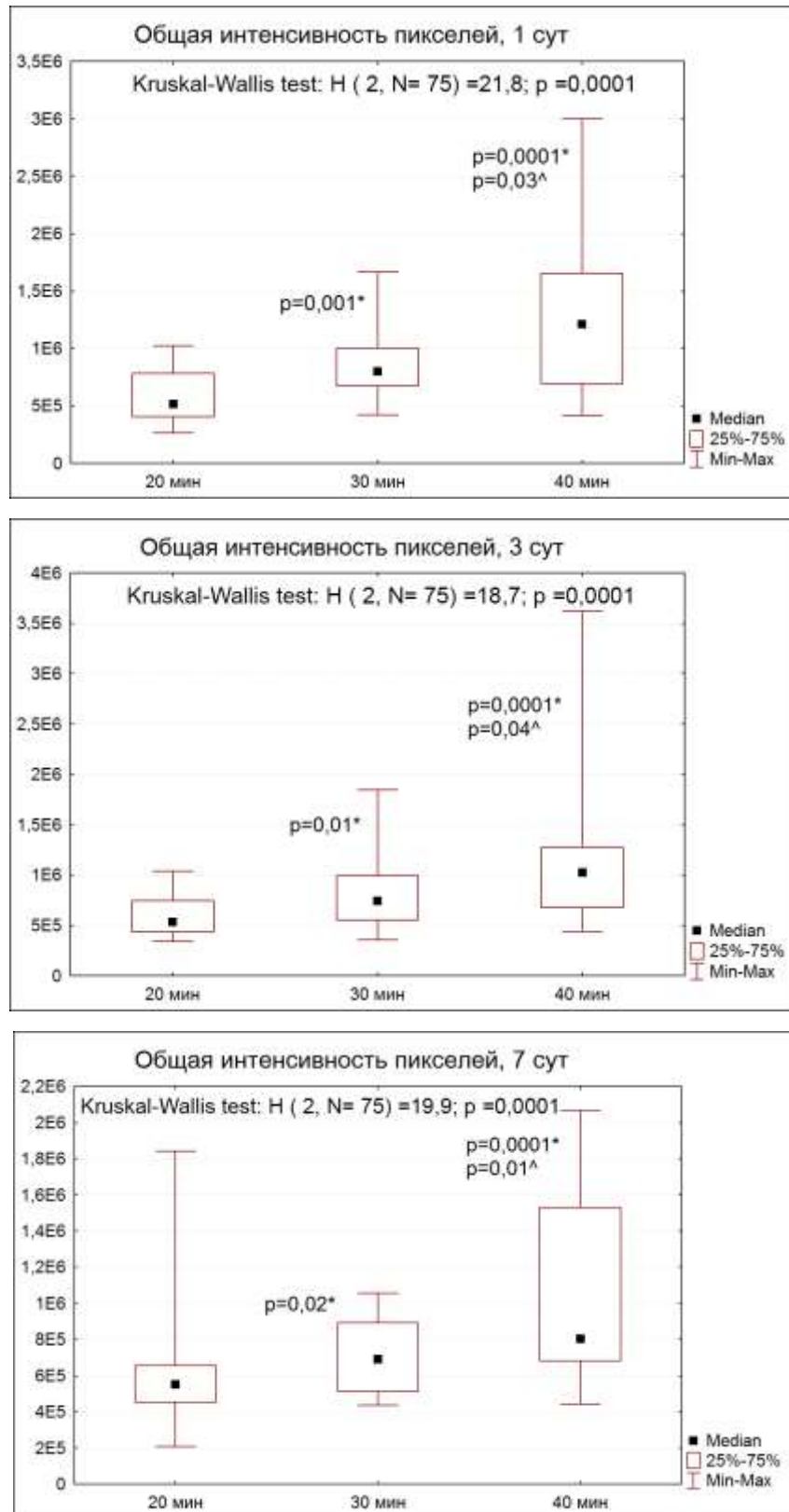


Рис. 98 – Общая интенсивность пикселей (ось ординат, миллионы) в пиках полей зрения (ROI=20x20 мкм, n=25) МТ после 20-, 30- и 40-минутной ООСА. Данные представлены как Q2 (Q1-Q3) и диапазон без выбросов (усы). При множественном сравнении переменной по группам выявлены статистически значимые различия (ANOVA Kraskel-Wallis;  $p < 0,001$ ) между группами по всем срокам. \* – статистически значимые различия в сравнении с группой 20-минутной, ^ – с группой 30-минутной (Mann–Whitney U-test) при  $p < 0,05$ .



Проведенные сравнения показали существование дозозависимых, от продолжительности ишемии, переходов – от незначительных изменений нейронов и астроцитов МТ по типу набухания (через 1 сут после двусторонней 20-минутной и односторонней 30-минутной ООСА) до выраженных очаговых проявлений отека-набухания (через 3 сут после двусторонней 40-минутной ООСА). Это можно трактовать как последовательный сбалансированный процесс обмена жидкости между клетками МТ. После односторонней 30-минутной и двусторонней 20-минутной ООСА отмечалась в основном гипергидратация нейронального компартмента. После 40-минутной ООСА выявлялись выраженные признаки гипергидратации астроцитарного компартмента и дегидратации нейронов (пикноморфные нейроны). При этом во всех группах, вероятно, сохранялись потенциальные возможности структурно-функционального восстановления большей части темных несморщенных нейронов и отеочной астроглии.

Однако в наиболее поврежденных участках МТ после 40-минутной ПОСА происходил срыв механизмов оттока жидкости по астроцитам, формировались периваскулярные и перинейрональные зоны со свободной жидкостью. В таких зонах, вероятно, сочетались дисфункция ионных насосов нейронов, астроцитов и эндотелиальных клеток микрососудов и, как следствие, происходила необратимая дегидратация и сморщивание нейронов (с последующим их фагоцитозом) на фоне отека конечных отделов отростков астроцитов.

Следовательно, использование плагина *Find Foci* для количественной оценки гидратации нервной ткани МТ путём определения структуры пикселей изображения по степени их яркости и размера светлых зон позволило разделить физиологические и патофизиологические проявления – набухание и отёк. Стандартизация процесса получения количественных данных позволяет выявлять особенности разных отделов головного мозга при развитии отека-набухания и оценить его динамику. Это важно при интерполяции и экстраполяции характеристик структурно-функциональных изменений.

## Глава 5. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В данном экспериментальном морфологическом исследовании акцент был сделан на поиске доказательств закономерности и особенности структурно-функциональной реорганизации головного мозга при разной продолжительности и тяжести экспериментального ишемического поражения.

В работе получены данные о том, что в период восстановления кровотока после разного времени ООСА головного мозга на нескольких моделях выявлен целый комплекс структурных морфологических изменений, которые проявлялись деструктивными, саногенными и компенсаторно-восстановительными процессами в нервной ткани. Всё это в совокупности приводило к изменению структурной нейро-глиоцито-архитектоники разных отделов (коры, гиппокампа, амигдалы) головного мозга белых крыс на протяжении всего периода наблюдения. При этом нейроглиальные клетки функционировали в составе единой интегрированной санирующей системы головного мозга крыс, которая, вероятно всего, в зависимости от преобладания в её клетках повреждающего M1/A1 или M2/A2 нейропротективного фенотипов, осуществляла защитную и восстановительную функцию или утилизацию повреждённых нейронных клеток.

В настоящее время в научном сообществе происходит осознание того, что нейроглия является одним из важнейших регуляторов всех функций нервной системы головного мозга в норме и при различных патологических процессах [Saab A.S. et al., 2013; Burda J.E., Sofroniew M.V., 2014; Zuchero J.B., Barres B.A., 2015]. На сегодняшний момент показано, что итоговый результат активации и пролиферации нейроглии в нервной ткани зависит от того, какой фенотип нейропротекции (M2/A2) или повреждения (M1/A1) данных клеток преобладает в конкретной области головного мозга крыс.

Можно отметить, что одной из важнейших функции звездчатых астроцитов является содействие выживанию нейронов, а их гибель приводит к гибели нейронов. Однако детали этих механизмов только изучаются при разной патологии [Zamanian J.L. et al., 2012; Aguzzi A. et al, 2013]. Ещё одну значимую роль астроциты играют в регуляции межнейронной коммуникации посредством влияния на синапсы (формирование, функционирование, ингибирование контактов), а также их фагоцитоза [Allen N.J., 2014]. Можно также отметить, что звездчатые астроциты оказывают метаболическую поддержку нейро-

нам [Pellerin L. et al., 2007], играют важную роль в регуляции кровотока в областях головного мозга с активными нейронами (высвобождение нейромедиатора) [Atwell D. et al., 2010].

Нейроглиальные астроциты, имеют звёздчатые формы образования с множественными отростками, которые формируют и образуют сеть, являясь одним из аналогов лимфатической системы, выполняют дренажно-детоксикационную функцию в ЦНС головного мозга [Zuchero J.V., Barres V.A., 2015]. Данная функция звёздчатых астроцитов имеет наибольшее значение в остром постишемическом периоде у белых крыс, когда обнаружены максимальные проявления отёка-набухания астроцитов. Поэтому можно сказать, что отёк-набухание этих клеток в нервной системе рассматривается как одна из составляющих комплексов защитных механизмов головного мозга у белых крыс.

Можно сказать, что за счёт активации дренажно-детоксикационной функции звёздчатых астроцитов происходит дегидратация нейронных клеток и удаление токсических продуктов гликолиза, перекисного окисления липидов, избытка ионов кальция. Вполне можно рассматривать, что нейропротекция глиальными трофическими факторами преимущественно эффективно реализуется на фоне активной дегидратационной детоксикации нервной ткани звёздчатыми астроцитами.

На данный момент известно, что некоторые популяции звёздчатых астроцитов в головном мозге являются стволовыми клетками основной части ЦНС у взрослых животных и способны генерировать нейронные клетки в ответ на внешние или внутренние повреждения. Всё это ещё больше затрудняет понимание взаимоотношений нейронных клеток и нейроглиальных структур при нарушении структуры и функций головного мозга, но открывает широкие возможности использования мощных генетических подходов для получения практических медицинских результатов репаративной медицины в области психиатрии, неврологии, а также и нейрохирургии [Péron S., Berninger B., 2015; Zuchero J.V., Barres V.A., 2015].

Иммуногистохимическая оценка экспрессии GFAP позволяет чётко идентифицировать структурные тела и отростки звёздчатых астроцитов в нервной ткани животных и человека [Pirici D. et al., 2009; Ostergaard P.J., Jensen M.B., 2013]. Известные классические методы морфометрии для определения, количества, площади клеток, периметра структур, диаметра и длины отростков не дают полной необходимой информации о пространственной организации

звездчатых астроцитов. Для этих задач, а также для выделения и визуальной оценки в диссертационной работе дополнительно использован фрактальный анализ, который позволил определить количественные и качественные характеристики усложнённых фрактальных структурных частей клеток (нейронов и глиальных клеток) [Smith T.G. Jr. et al., 1996; Fernandez E. et al., 1999; Pirici D. et al., 2009].

Применение фрактального анализа для точной локализации объекта в пространстве позволило показать, что в контрольной группе отмечался высокий уровень заполнения пространства СМК головного мозга фрактальной структурой и равномерность её расположения. Через 1 сут после временного пережатия ОСА астроцитарная сеть нервной системы становилась более разорванной и неравномерно окрашенной на GFAP. Через 3 и 7 сут после временного пережатия ОСА, на фоне повышения пролиферативной активности и гипертрофии звездчатых астроцитов, наблюдалось частичное структурное восстановление фрактальных характеристик, но, однако, контрольных значений показатели FD и  $\Lambda$  в течение всего наблюдения не достигали. Обнаружена количественная гетерогенность и гетерохронность диффузных очаговых изменений пространственной организации проксимальных и дистальных ветвей клеточных астроцитарных отростков. Наиболее лабильными и реактивными были мелкие отростки звездчатых астроцитов, расположенные по периферии.

В отдалённом периоде исследования, а именно через 14 и 30 сут после временного пережатия общих сонных артерий выявлялись скопления фиброзных звездчатых астроцитов. Однако мелкоочаговое увеличение количества реактивных фиброзных звездчатых астроцитов не позволяло говорить о патологическом аномальном увеличении количества данных клеток в виде астроглиоза после необратимого разрушения нейронных клеток, свойственного для таких процессов, как ишемический и геморрагический инсульт [Pirici D. et al., 2009]. Выявленные изменения, скорее, свидетельствуют об активации защитных функций астроглии для нервной структурной ткани, направленных на восстановление и утилизацию повреждённых нейронных клеток.

Можно отметить, что получены новые количественные данные о площади и разветвленности отростков астроцитов в динамике, а также пространственной реорганизации глиальной сети неокортекса головного мозга после 20-минутной ООСА. Эти данные могут быть использованы для понимания структурных основ нейропротекции за счёт реактивного количественного астроцитоза.

Совместно с определением площади GFAP-позитивного материала, проведенный фрактальный анализ позволил определить степень сложности фрактальной размерности и равномерности лакуарности распределения структурных отростков звездчатых астроцитов в различных слоях гиппокампа головного мозга. В раннем остром периоде после пережатия общих сонных артерий астроцитарная сеть нервной ткани становилась более фрагментарной, неравномерно окрашенной на GFAP. Всё это проявлялось уменьшением фрактальной размерности и значительным увеличением области лакуарности. Причиной всего этого стала деструкция отростков звездчатых астроцитов, отёк и набухание с разрушением структуры цитоскелета. Подобные анализы и изменения показаны и в исследованиях других авторов [Mohn, T.C., Koob A.O., 2015; Vecerra-Calixto A., Cardona-Gómez G.P., 2017; Pirici D. et al., 2009].

Посредством фрактального анализа выявлена количественная гетерогенность и гетерохронность структурных изменений пространственной организации звездчатых астроцитарных отростков в молекулярном слое, полиморфном слое и слое пирамидных нейронных клеток. Наиболее лабильными и реактивными оказались участки отростков астроцитов молекулярном слое. После пережатия общих сонных артерий выявлены диффузные очаговые скопления волокнистых звездчатых астроцитов. Всё это было особенно характерно для областей *stratum radiatum* молекулярном слое и полиморфном слое. В данный период мера структурной сложности глиальных сетей была выше, чем в контрольной группе и раннем постишемическом периоде. Однако увеличение количества волокнистых звездчатых астроцитов не следует рассматривать как патологический астроглиоз, свойственный для таких нарушений, как ишемический и геморрагический инсульт [Ostergaard P.J., Jensen M.B., 2013; Pirici D. et al., 2009].

Выявленные реактивные структурные изменения пространственной организации звездчатых астроцитов происходили на фоне сохранения структуры нейронных сетей (MAP2). Поэтому полученные данные, скорее, свидетельствуют об активации защитных функций астроглии в нервной ткани головного мозга, направленной на сохранение структуры и восстановление повреждённых нейронов. Новые количественные данные об особенностях изменения степени усложнения и равномерности распределения отростков звездчатых астроцитов различных слоёв гиппокампа головного мозга в динамике после 20-минутной пережатия общих сонных артерий могут быть использованы для

оценки значимости особенностей реорганизации нервной ткани гиппокампа и структурных механизмов защиты нейронов за счёт реактивного разветвлённого астроцитоза.

При помощи плагин-фильтра "Find Maxima" M.Schmid из программы ImageJ 1.53 выявлены и изучены изменения зон максимальной яркости (отёка-набухания) на цветных изображениях. Результаты свидетельствуют о том, что после 20-, 30- и 40-минутной ООСА в СМК головного мозга белых крыс появляются признаки отёка-набухания структур. Преобладали набухание и вакуолизация дендритов, набухание астроцитов нейропиля верхнего этажа молекулярного слоя, в котором локализовались дистальные дендриты нижележащих слоёв пирамидных нейронов. Данные изменения имели в основном обратимый характер, но сопровождались деструкцией части нейронов. Исследование динамики морфометрических характеристик эдематозных изменений в СМК показало, что после ООСА во всех группах отёк-набухание в некоторой степени сохранялся в течение всего периода наблюдения. Наиболее выраженными проявления отёка-набухания были после 40-минутной ООСА. Для данного варианта окклюзии была характерна и более значительная редукция общей концентрации пирамидных нейронных клеток.

Можно отметить, что после 20-, 30- и, особенно, 40-минутной ООСА развивались умеренные структурно-функциональные изменения, а в отдельных ишемизированных зонах СМК – даже сильные.

По данным литературы, астроциты повреждаются в результате ишемии, а их дисфункция может привести к гибели или дисфункции нейронов. Гетерогенная дегенерация астроцитарных отростков вокруг нейронов разной степени жизнеспособности вызывает дальнейшие повреждения и гибель нейронов из-за вторичного снижения энергоснабжения некробиотических нейронов и нарушения глутамат-глутаминового цикла и ионгомеостаза [Ito U. et al., 2009]. Вероятно, существует линейная зависимость подобных изменений от продолжительности ишемии – наименьшие морфометрические проявления отёка-набухания получены при 30-минутной односторонней, а наибольшие – при 40-минутной двусторонней ООСА.

Также установлено, что после ООСА появлялись «пористые» изменения нейропиля СМК, в зоне расположения которых резко уменьшалось содержание GFAP-позитивного материала. В более отдалённом периоде, вероятно, в результате активации механизмов реактивного астроцитоза, происходило

частичное восстановление и даже гипертрофия отростков звездчатых астроцитов этой области.

Получены новые количественные данные об особенностях развития отёка-набухания неокортекса головного мозга после 20-, 30- и 40-минутной пережатия ОСА. Эти результаты могут быть использованы для понимания структурных основ перехода от реактивных изменений к защитным при патологических состояниях за счёт реорганизации нейроглиальных взаимоотношений. Своеобразным пограничным сроком продолжительности ишемии, вероятно, является 40-минутная ООСА. Именно после неё были выявлены наибольшие проявления постишемического цитотоксического отёка-набухания – отмечены срыв гомеостатических и адаптационных механизмов, дисфункция астроцитов, образование большого количества и гибель пикноморфных нейронов.

После ООСА и полной ПОСА в ЗФ гиппокампальной формации происходило перераспределение воды – отмечены признаки гипергидратации (отёк-набухание астроцитов) и дегидратации (появление гиперхромных сморщенных нейронов). В разной степени это было характерно для всех экспериментальных групп. Максимальные проявления гипергидратации с появлением крупных светлых зон характерны для полиморфного слоя и граничащих с ним нижних рядов нейронов слоя клеток-зёрен у животных групп III (40-минутной ООСА) и IV (ПОСА). Именно среди таких нейронов чаще встречались пикноморфные формы необратимо повреждённых клеток. В отличие от 40-минутной ООСА (группа III) особенностью полной ПОСА (группа IV) было длительное (до 30 сут) сохранение и даже увеличение доли экстремальных пиков. При реперфузии выраженная инволюция крупных зон отёка-набухания в группах I, II и III (соответственно 20-, 30- и 40-минутная ООСА) происходила через 7–14 сут, в группе IV (ПОСА) проявления отёка-набухания сохранялись. Для молекулярного слоя отмечена аналогичная динамика, но значения интегральной переменной (общая интенсивность пикселей) несколько отличались.

Все это свидетельствовало о стандартной, но дозозависимой реакции ЗФ гиппокампальной формации на острую ишемию. Длительное сохранение проявлений отёка-набухания целесообразно рассматривать и как условие реализации механизмов саногенеза и восстановления нервной ткани. Только появление признаков необратимой деструкции отростков астроцитов может свидетельствовать об истощении saniрующих возможностей ткани. Именно это и

происходило после полной ПОСА. В данной группе был отмечен прогрессирующий характер динамики проявлений отёка-набухания. Вероятно, полная ПОСА не позволяла полноценно восстанавливаться микрососудистому региону, тесно связанному с нейроглиальной сетью гиппокампа. В результате на протяжении 30 сут после перевязки отмечалась перманентная прогрессирующая деструкция части астроцитов и нейронов ЗФ.

В пользу подобного заключения свидетельствуют и литературные данные. Так, Ito U. et al. (2009) показали, что нарушение микроциркуляции приводит к повреждению и отрыву отростков астроцитов в данном регионе, прогрессированию отёка-набухания и неизбежной гибели нейронов. Таким образом, необратимо повреждается одна из основных систем защиты и восстановления ишемически изменённых нейронов – нарушается микродренажная функция астроцитов. Гетерогенная дегенерация астроцитарных отростков и их отёк вокруг нейронов разной степени жизнеспособности вызывает дальнейшие повреждения и гибель нейронов из-за вторичного снижения энергоснабжения некробиотических нейронов и нарушения глутамат-глутаминового цикла и ионного гомеостаза [Ito U. et al., 2009].

Собственно говоря, максимальные проявления отёка-набухания и повреждение отростков астроцитов отмечались на границе слоя клеток-гранул (тела нейронов) и полиморфный слой (миелинизированные аксоны). Одним из последствий этого может быть вовлечение в патологический процесс олигодендроцитов, тесно связанных с астроцитами. По данным литературы, демиелинизированные аксоны, лишённые поддержки олигодендроцитов, подвержены энергетической недостаточности и накоплению внутриклеточного кальция, что приводит к последующей дегенерации нейронов [Duncan G.J. et al., 2021]. Вероятно, именно с этим связано преимущественное повреждение нижних слоёв ЗФ, найденное у животных групп II, III и IV. У животных групп I, II и даже III, IV в ЗФ преобладали нормохромные и тёмные нейроны без признаков некротических изменений. В группе IV – переходили в категорию дегенеративно изменённых клеток. В ЗФ проявления отёка-набухания после ООСА и ПОСА выявлены на уровне рецептивного поля молекулярного слоя, слоя клеток-гранул и выхода их аксонов (полиморфный слой).

Исследование ЗФ показало, что проявления отёка-набухания в этом отделе гиппокампальной формации носили очаговый характер, зависели от продолжительности и характера неполной ишемии (ООСА или ПОСА). Незначи-



тельные изменения характерны для модели односторонней окклюзии, умеренные и сильные (1 и 3 сут) – для двусторонней окклюзии, максимально выраженные – для ПОСА (30 сут). Восстановление сенсорного входа гиппокампа происходит на фоне длительного сохранения признаков гипергидратации нейропиля, перинеурональных и периваскулярных пространств (ножки астроцитов). Крайняя степень этих проявлений свидетельствует о срыве дренажно-детоксикационной функции астроцитов.

В настоящее время биологическое значение, роль и механизмы образования «тёмных нейронов» продолжают изучаться [Kövesdi E. et al., 2007; Garman R.H., 2011; Jortner B.S., 2011; Ahmadrpour S. et al., 2019]. Вероятно, в основе их формирования лежит потеря клеткой воды. Быстрое и массивное выделение жидкости не может быть объяснено каким-либо ферментативным мембранным насосным механизмом или осмотическими градиентами. Скорее всего, это связано с неферментативным (физико-химическим) явлением – фазовым переходом гелиевой белковой сети цитоплазмы и изменением нековалентных взаимодействий. Подобные изменения белков могут быть инициированы фиксацией альдегидами, последующим забором материала, температурным режимом хранения материала и другими физическими факторами, не имеющими отношения к прижизненным ишемическим механизмам. Иницируемый либо химическим, либо физическим триггером в одной внутриклеточной точке фазовый ступенчатый переход «гель-гель» распространяется на группу клеток по принципу домино и на одном из этапов уплотняет за счёт потери выделившейся воды ультраструктурные компоненты геля (длинные молекулы белков), что приводит к тинкториальным изменениям при последующей гистологической окраске [Gallyas F. et al., 2009].

Правильная идентификация реально патологически изменённого нейрона и артефакта «тёмный нейрон» имеет значение при проведении морфометрической оценки популяции нейронов. Во многих работах отмечается переоценка (гипердиагностика) степени повреждения ткани по количеству гиперхромных нейронов за счёт АТН, которые не являются прижизненно дегенеративно изменёнными клетками [Garman R.H., 2011; Soontornniyomkij V. et al., 2020].

Имеются данные литературы о снижении иммунореактивности специфических белков в АТН (Cav3), а также в астроцитах (GFAP) и, в существенно меньшей степени, в микроглиоцитах (AIF1) при иммерсионной фиксации.

Авторы трактуют это как артефакт, связанный с возникновением полей тёмных нейронов при заборе материала (физическое сдавливание ткани) [Soontornniyomkij V. et al., 2020]. В проведенном исследовании при перфузионной фиксации подобных изменений не выявлено. Это свидетельствует о соблюдении всех стандартов правильного забора материала и возможности проведения корректной морфометрии.

Для того, чтобы предотвратить возникновения АТН требуется проведение перфузионной и последующей дополнительной иммерсионной фиксации головного мозга, аккуратное обращение с фиксированной тканью головного мозга и использование стандартных протоколов приготовления гистологических препаратов. Не соблюдение этих правил значительно увеличивает вероятность образования АТН при заборе как контрольного, так и экспериментального материала. Возможна неправильная трактовка влияния ишемии на нервную ткань головного мозга [Garman R.H., 2011; Soontornniyomkij V. et al., 2020].

С помощью дополнительных флуоресцентных окрасок (например, Fluoro-Jade C) и иммуногистохимической реакции к phosphorylated extracellular signal-regulated protein kinase (pERK) установлено, что среди образовавшихся при ишемии ТН значительная часть (50–100%) является необратимо изменёнными структурами. Их доля зависит от отдела мозга и модели ишемии или гипоксии. Это доказывает, что ишемия реально приводит к прижизненному образованию и гибели ДТН [Ooigawa H. et al., 2006]. Аналогичные результаты получены при моделировании эпилепсии [Castro O.W. et al., 2011]. Однако из этих экспериментов можно сделать вывод о том, что не все ДТН после ишемии погибают и этим процессом можно управлять [Morgan B.P., Harris C.L., 2015; Alawieh A. et al., 2018]. Согласно данным [Ooigawa H. et al., 2006], после перкуSSIONной травмы головного мозга значительная часть ДТН неокортекса восстанавливается до нормохромных, а гиппокампа погибает. То есть судьба ДТН зависит ещё и от отдела головного мозга.

В проведенном исследовании формирование ДТН после различных моделей ООСА представляет собой раннюю стадию острой реакции нейронов в ответ на потерю АТФ и высвобождение глутамата, сопровождается умеренной дегидратацией цитоплазмы. После восстановления кровотока большая часть таких нейронов восстанавливается до нормохромных, остальные, вероятно, переходят в необратимую стадию повреждения (апоптоз, некробиоз).

По нашим данным, уплотнение нейрофиламентов цитоматрикса (MAP2) после 40-минутной ООСА не приводит к гибели нейронов (не является её причиной). Несомненно, что в ответ на нарушения микроциркуляции, энергетического, водного и ионного обмена происходит ряд последовательных конформационных изменений белков, которые затрагивают и цитоскелет нейронов. В результате блокируются физико-химические основы образования и распространения нервного импульса, а также нейропластические механизмы. Однако часть таких ДТН восстанавливается. Этому способствует увеличение экспрессии NSE, HSP-70 и активация трофических функций нейроглии. Полное стабильное восстановление всех структур межнейронной коммуникации нейронов в СМК, вероятно, требует значительно большего времени (более 7 сут). В пользу этого свидетельствуют и данные литературы [Ooigawa H. et al., 2006]. Так, через час после реперфузии в сомато-дендритных доменах ДТН обнаруживаются гипербазофилия, гипераргирофилия, повышенная электронная плотность и уплотнение ультраструктурных элементов [Kövesdi E. et al., 2007; Ahmadpour S. et al., 2019].

В целом, при проведении данного исследования рассмотрены природа и генезис «тёмного нейрона» после 40-минутной ООСА. Показано, что такие нейроны могут быть не только следствием ишемий разной тяжести, но и результатом посмертных манипуляций или травм ткани мозга (гистологическим артефактом) при заборе материала. Практическая значимость полученных результатов связана с необходимостью правильной интерпретации выявляемых тёмных нейронов, для избегания неадекватной оценки постишемических нейродегенеративных процессов. Целесообразно проводить параллельное исследование нейропиля и реакции нейроглиальных клеток.

В остром постишемическом периоде ядрышковый аппарат необратимо повреждённых нейронных клеток изученных областей головного мозга белых крыс подвергался уменьшению и инактивации с последующим разрушением. В наибольшей степени это было характерно для нервной ткани в зоне неокортекса и СА<sub>1</sub> гиппокампа. Параллельно с альтерацией, в функционирующих нейронах, включались такие сложные процессы, как адаптация белок-синтетической структурной системы, которая проявлялась гипертрофией и амплификацией ядрышек нейронов. По данным литературы, это обеспечивало усиление рибосомного синтеза, регенерацию частично повреждённых компарментов клеток и защиту функционирующей нервной ткани [Бобров И.П. и др., 2018; Woulfe J., 2008; Kosi N. et al., 2015].

Результаты исследования сложных образований и слияния различных клеток нервной системы свидетельствовали о том, что после 40-минутного пережатия ОСА в области СМК головного мозга на фоне снижения общей концентрации пирамидных нейронов и параллельной активации вспомогательных нейроглиальных клеток, происходил небольшой сдвиг баланса, по сравнению с контрольной группой, между сложными слияниями или индивидуальной целостностью нейронных клеток и глиальных в направлении увеличения образования гетерокарионов.

В сравнении с контрольной группой через 7 сут после 40-минутного пережатия ОСА в области СМК увеличивалось содержание гетерокарионов. Вместе с тем, до конца непонятно, как по-новому трактовать это увеличение и его роль в аспекте функциональности. Поскольку клетки с двойными ядрами в контрольной группе составляли около 1%, а уже после ООСА – 1,5% во всех изученных пирамидных нейронах СМК головного мозга, не понятно, как они могли глобально изменить межнейронные связи в нервной ткани.

Однако значение слияния нервных клеток в головном мозге у разных животных и человека изучается. В настоящее время известно, что в нем экспрессируются гликопротеины фузогены – специализированные электрически нейтральные частицы, способствуют слиянию клеточных мембран, которые могут активироваться при различных воздействиях, таких как стресс, вирусная инфекция или другие патологические состояния. Аберрантная экспрессия данных фузогенов ведёт к слиянию нейронов и приводит к изменениям их функции. Такие клетки в процессе слияния способны поддерживать свою жизнеспособность, они становятся электрически связанными структурами, но при этом теряют свою индивидуальность, что приводит к преобразованию нейронных цепей и повреждению нервной ткани, а именно к нормальному функционированию [Giordano-Santini R. et al., 2020].

До конца неизвестно, каковы результаты слияния нейронных клеток и глиальных, а именно макроглии и микроглии [Giordano-Santini R. et al., 2016]. Можно отметить, что ряд авторов относят такие образования, как гетеро- и дикарионы, к особым формам восстановления повреждённой нервной ткани, путём достижения диплоидии, минуя процесс митотического деления нервных клеток, без применения резерва стволовых клеток, которые есть в головном мозге крыс. Всё это позволяет сохранять структурную архитектуру уже имеющихся последовательных нейронных сетей, а также развивать часть

её узлов, не нарушая их функцию [Сотников О.С. и др., 2011; Paltsyn A.A. et al., 2014].

В нервной ткани головного мозга присутствует баланс между индивидуальностью клеток и слиянием, всё это направлено на сохранение структурно-функциональной целостности зрелых нейронных клеток. Однако до конца неизвестно, как весь процесс поддерживается. Возможно, в повреждённой нервной ткани головного мозга реализуются механизмы, подавляющие неконтролируемое слияние клеток и, тем самым, поддерживаются нейронные клетки как отдельные структурные единицы. Необходимо внимательно оценивать полученные данные о слиянии нервных клеток, последствия которых не понятны до сегодняшнего дня, и особенно это касается таких важных процессов, как регенерация структур нервной ткани [Alvarez-Dolado M. et al., 2011; Giordano-Santini R. et al., 2016].

Современные данные свидетельствуют о том, что обстоятельства объединения нейронных клеток весьма специфичны. На данный момент этот феномен мало изучен с точки зрения физиологического преимущества или, наоборот, возможного вредоносного, могут возникать последствия для нейронных клеток как на электрофизиологическом, так и на субклеточном уровнях [Giordano-Santini R. et al., 2020].

Формирование в нервной ткани патологически изменённой СМК головного мозга сложных многоклеточных систем с участием нейронов и глиальных клеток целесообразно исследовать в аспекте фагоцитарных и других типов межклеточных взаимоотношений с учётом их индивидуальных временных пространственных изменений. В процессе этих взаимоотношений каждая глиальная клетка играет свою генетически детерминированную роль. Астроциты с их многочисленными мелкими отростками обеспечивают функционирование дендритов и их утилизируют в случае повреждения. Олигодендроциты принимают участие в регенерации оболочек растущих аксонов сохранившихся нейронов. Микроглиоциты мигрируют и поглощают тела и апикальные дендриты необратимо повреждённых нейронов, а также участвуют в процессах нейроиммунного ответа и воспаления [Pekny M. et al., 2014; Cowan M. et al., 2018; Damisah E.C. et al., 2020]. Все вышеперечисленные клетки усиливают синтез нейротрофических факторов, которые обеспечивают репаративную реорганизацию нервной ткани головного мозга в ответ на ишемическое повреждение [Аврущенко М.Ш., Острова И.В., 2017; Митрошина Е.В. и др., 2017;

Калинина Ю.А. и др., 2019]. В некоторых случаях глиальные клетки и нейроны головного мозга сливаются, скорее всего, не для утилизации крупных частиц, а для совместного усиления их репаративного потенциала [Сотников О.С., 2019].

Полученные данные способствуют уточнению основ и особенностей структурно-функциональной реорганизации нервной ткани СМК головного мозга белых крыс после пережатия ОСА посредством  $\epsilon$ -учётём активации одного из многочисленных механизмов защиты – слияния разных клеток.

Ключевыми структурами, связанными с реализацией таких патологических процессов, как апоптоз и некроз, являются нервные окончания – синапсы. Это обусловлено тем, что возбуждающие биологически активные нейромедиаторы после увеличения количества синаптических пузырьков в окончаниях и их выхода в межклеточное пространство запускают кальций-зависимые эксайтотоксические механизмы гибели нейронных клеток [Baron J.-C. et al., 2014; Maurer L.L. et al., 2015].

В проведенном исследовании были обнаружены новые данные о закономерностях реорганизации межнейронных связей в поле зрения СА<sub>3</sub> гиппокампа головного мозга после пережатия на время ОСА, а именно после 20-минутной ишемии. По данным литературы, эта информация имеет важное значение для глубокого понимания причин изменения нервной ткани и когнитивных функций головного мозга в периоде после ишемии [Арушанян, Э.Б., Бейер Э.В., 2007; Raven F. et al., 2018].

Изучение межнейронной коммуникации проведено с помощью иммуногистохимии. Установлено, что через 1 и 3 сут после пережатия ОСА значительная часть структурных синапсов нейропилия подвергалась отеку. Особой чувствительной частью синапсов нервной ткани была терминаль, которая в свою очередь просветлялась, набухала, в ней происходило уменьшение содержания синаптических мембранных пузырьков. По-разному страдали все виды синаптических специализированных контактов, но в наибольшей степени аксошипиковые в *stratum lacunosum* и *radiatum* головного мозга. При иммуногистохимическом выявлении синаптофизина через 1 сут после ишемии (восстановления кровотока) в поле зрения СА<sub>3</sub> гиппокампа установлены патологические преобразования. Однако количество р38-позитивных структур синаптических терминальных пузырьков в *stratum lucidum* уменьшилось на 8,8 (95% ДИ: 0,59–16,9%) по сравнению с контрольной группой.

Можно отметить, что для аксодендритических синапсов, в отличие от терминальных синапсов *stratum lacunosum* и *radiatum*, отмечена быстрая структурная нормализация через 3–7 сут после ишемии. Образованные аксоны от тел нейронов в области пирамид подвергались незначительной реорганизации, при этом содержание синаптофизина в данных структурах не изменялось. Наиболее значительное статистически значимое изменение экспрессии маркеров синапсов во всех областях СА<sub>3</sub> гиппокампа выявлено только после ишемии, а именно через 14–21 сут – за счёт активации новых незрелых синапсов, а также реорганизации функционально зрелых соприкосновений между нейронными клетками.

Различные варианты подобных структурных изменений были описаны ранее в неокортексе головного мозга [Семченко В.В. и др., 2014]. Не исключено, что после ишемии головного мозга белых крыс возникала перестройка синаптической организации ЦНС в области нейронных сетей поля СА<sub>3</sub> гиппокампа. Однако после незначительных разрушений части структурных синапсов в остром периоде ишемии они перестраивались во многие ассоциативные связи области гиппокампа в рамках трисинаптического пути. Также отметим, что поле зрения СА<sub>3</sub> гиппокампа головного мозга быстро восстанавливало одну из важных своих функций – конвергенцию потоков данных от ассоциативной коры ЦНС и филогенетически древних организаций ствола мозга. Подводя итоги, можно заключить, что синапсы поля зрения СА<sub>3</sub> гиппокампа обладают сильной чувствительностью к ишемии, но имеется и пластичность после реперфузии. Всё это говорит о том, что обеспечивается восстановление функций нервной ткани и компенсаторная перестройка межнейронных взаимоотношений головного мозга белых крыс после ишемии.

По данным литературы, каспаза 3 может рассматриваться не только как ключевой эффекторный фермент конечной стадии клеточной гибели, но и как один из важных элементов ишемического прекодиционирования нервной ткани, которой имеет отношение к синаптической пластичности головного мозга [Яковлев А.А., Гуляева Н.В., 2011, 2015]. В результате проведенных исследований возникла необходимость проанализировать связи синаптической нейропластичности и интенсивность действия каспазы 3, как одного из ключевых ферментов сохранения нейронов клеток.

Наиболее подходящей моделью острой ишемии головного мозга для решения моих поставленных задач была модель 20-минутного пережатия ОСА, после чего, как правило, возникали структурные диффузно-очаговые пере-

стройки нервной ткани. Выбор области головного мозга был обусловлен тем, что в *stratum lucidum* поля зрения СА<sub>3</sub> гиппокампа содержится большое количество гигантских синапсов, которые удобно изучать с помощью светооптического и иммуногистохимического анализа.

При сравнении фронтальных серийных срезов области гиппокампа установлено, что участки экспрессии синаптофизина в *stratum lucidum* совпадали с локализацией каспазы 3 – это были гигантские синаптические терминали. Данные маркеры отчётливо обнаруживались в виде округлых гранул, локализацию, формы и размеры которых можно было оценить с помощью специальной программы ImageJ. Установлено, что максимальная экспрессия каспазы 3 была в поле зрения СА<sub>1</sub> через 3–14 сут после острой ишемии.

В результате показано, что каспаза 3 в норме и после ишемии локализовалась в синаптических терминалях, в то время как в телах нейронах данный маркер отсутствовал. Кроме того, с помощью иммуногистохимического анализа обнаружена активация таких белков, как p53 и bcl-2. Всё это может свидетельствовать о «неапоптотических» свойствах каспазы 3, которая, скорее всего, принимает участие в развитии постишемической активации путём оптимальной структурно-функциональной нейропластичности. Также в постишемическом периоде, на фоне активного состояния синапсов и компенсаторного неосинаптогенеза, осуществлялась активация каспазы 3 в структурных терминалях и ветвящихся аксонах от нейронов без каких-либо определённых признаков её активации в теле нейрона, свойственной для клеточной гибели клетки.

Можно отметить, что после 20-минутного пережатия ОСА не выявлялось функционально значимой элиминации нейронов путём апоптоза. Единичные меченые клетки с признаками активации белков p53 и bcl-2 без наличия активной каспазы 3 в цитоплазме перикарионов. То есть, данный фермент был вовлечён в механизмы ишемической толерантности головного мозга и активировался при кратковременной ишемии нервной ткани для защиты. Благодаря полученным результатам, можно предположить, что, если каспаза 3 активируется в теле нейрона, то нервная клетка вступает в конечную фазу клеточной гибели, и происходит ее разрушение. Если же экспрессируется в отростках и синапсах, то уже активируются механизмы нейрозащиты и репаративной нейропластичности головного мозга животных. В проведенном исследовании выявлено явное преобладание варианта структурной защиты и репарации нервной ткани над диффузно-очаговым изменением.



## ВЫВОДЫ

1. К общим закономерностям структурно-функциональной перестройки нервной ткани разных отделов головного мозга крыс после окклюзии общих сонных артерий относится сочетание комплекса деструктивных, компенсаторно-приспособительных и репаративных процессов, выраженность которых зависит как от продолжительности ишемического воздействия, так и от отдела головного мозга. Наиболее выраженные деструктивные изменения нейронов в остром ишемическом периоде происходят в сенсомоторной коре и СА1 гиппокампа по сравнению с миндалевидным телом: через 3 сут после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий содержание нормохромных нейронов статистически значимо снижается в СМК на 58,3% ( $p < 0,001$ ), в СА1 гиппокампа – на 54,4% ( $p < 0,001$ ), в миндалевидном теле – на 29,6% ( $p < 0,001$ ).

2. Деструктивные изменения нейронов (отек-набухание, разрушение цитоскелета, редукция дендритов) сопровождаются реорганизацией нейроглии, что обуславливает увеличение нейроглиального индекса по сравнению с контролем: через 3 сут – в 1,8 раза, через 7 сут – в 2,3 раза, через 14 сут – в 2,0 раза, через 30 сут – в 1,3 раза после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий.

3. После 20- и 30-минутной окклюзии общих сонных артерий в разных отделах головного мозга регистрируются компенсаторно-приспособительные и репаративные реакции в поврежденных нейронах (восстановление относительной площади терминалей начиная с 7-х суток до контрольного уровня), а после 40-минутной окклюзии общих сонных артерий – преимущественно деструктивные процессы с появлением зон «пористого» нейропиля и высоким содержанием необратимо измененных гиперхромных нейронов. Это позволяет считать 40-минутную окклюзию общих сонных артерий моделью неполной ишемии головного мозга средней степени тяжести. Необратимая деструкция нейронов после 40-минутной окклюзии носит диффузно-очаговый характер, проявлялась выраженным дефицитом общей численной нейронов в слое III коры.

4. При полной перевязке общих сонных артерий выраженные проявления отёка-набухания перикариона и перичеселлюлярного отёка носят прогрессирующий характер, гипохромные нейроны с признаками гомогенизации и деструктивные изменения астроцитов сохраняются в течение 30 сут.

5. К компенсаторным реакциям головного мозга в условиях неполной ишемии относится увеличение доли нейронов с двумя и более ядрышками среди сохранившихся нормохромных нейронов в сенсомоторной коре. Содержание таких нейронов максимально в слое III через 7 сут после 40-минутной окклюзии общих сонных артерий (1,5 %) во время пика увеличения содержания олигодендроцитов.

6. По данным иммуногистохимического анализа, каспаза 3-позитивная субстанция локализуется преимущественно в синаптических терминалях, в телах нейронов каспаза 3 практически отсутствует. В гиппокампе максимальная активация каспазы 3 происходит в *stratum radiatum* поля CA<sub>1</sub> через 3 – 14 сут после восстановления кровотока в сочетании активацией синаптической нейропластичности. Локализация каспазы 3 преимущественно в синаптических терминалях позволяет сделать заключение о ее важной роли в синаптической нейропластичности при ишемии головного мозга после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий.

7. В остром периоде ишемии (3 сут) происходит снижение относительной площади синаптофизина в пресинаптических терминалях CA<sub>1</sub> гиппокампа на 11,4%, а в CA<sub>3</sub> – на 15,8%. В отдаленном периоде (30 сут) в CA<sub>1</sub> гиппокампа данный показатель восстанавливается до 17,5%, а в CA<sub>3</sub> – на 28,2%. Данные изменения свидетельствуют о разрушении синаптофизина в первые сутки и восстановление через 30 сут после окклюзии путем активации механизмов нейропластичности.

8. Односторонняя окклюзия общих сонных артерий обуславливает появление статистически значимой асимметрии в структурной организации нейроглии головного мозга крыс, что характерно только для острого постишемического периода (1 и 3 сут). В процессе структурно-функционального восстановления головного мозга асимметрия по общей численной плотности нормохромных нейронов и астроцитов нивелируется. Количество микроглиоцитов и олигодендроцитов статистически значим не различается.

9. Увеличение фрактальной размерности и уменьшение лакунарности в сенсомоторной коре после окклюзии общих сонных артерий происходит через 3 сут после окклюзии общих сонных артерий, в гиппокампе – через 7 и 14 сут. До уровня контроля суммарные показатели, характеризующие фрактальную структуру, не восстанавливаются. Это свидетельствует о появлении новых периферических отростков и увеличении количества ветвлений астроцитарного

дерева. Выявленные изменения пространственной организации свидетельствуют об активации защитных функций астроглии, направленных на восстановление и утилизацию поврежденных нейронов.

10. В остром, подостром, отдаленном периодах после окклюзии общих сонных артерий в сенсомоторной коре, гиппокампе и миндалевидном теле возрастает функциональная и пролиферативная активность (по оценке индекса Ki-67) астроцитов, олигодендроглиоцитов и микроглиоцитов, которые функционируют как единая интегрированная защитная и saniрующая межклеточная система с выраженной региональной специфичностью.

11. В постишемическом периоде реализуется синергетическое взаимодействие патологических и защитных изменений нейронов и глиальных клеток нервной ткани головного мозга у экспериментальных животных. В процессе этого возникают новые более сложные структурно-функциональные системы нервной ткани. Все это происходит при согласованности взаимодействия частей системы как единого целого, направлено на сохранение нейронов, адаптивную реорганизацию нейроглиальных сетей и связей.

## ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ И ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Полученные результаты могут составить основу для сравнения и дальнейших перспективных разработок в данной области. Позволят понять, что относится к обратимым процессам при разной степени тяжести ишемии. Это прежде всего восстановление нейронов из гиперхромных в нормохромные, разрастание отростков астроцитов, увеличение количество глиальных клеток, плейотропность каспазы 3, образование дикарионов и гетерокарионов, а также увеличение пролиферативной активности астроцитов, олигодендроцитов, микроглиоцитов и эндотелиальных клеток капилляров.

Выбранные модели острой ишемии, объекты исследования, методы гистологической, иммуногистохимической и морфометрической оценки нервной ткани головного мозга могут быть рекомендованы для использования при комплексной фундаментальной оценки структурно-функциональных проявлений дегенеративных и компенсаторно-восстановительных изменений.

Разработанный в ходе исследования морфометрический подход оценки степени влияния экспериментальной ишемии на нервную ткань головного мозга белых крыс, позволяет при окрашивании препаратов гематоксилином и эозином, с помощью плагина «Гистограмма» к программе ImageJ 1.46, дать цифровую характеристику нейронов (нормохромных нейронов располагались в диапазоне 98-198 (мода 160), а пиксели гиперхромных нейронов - в диапазоне 7-74 (мода 29)). Пространственная организация астроцитов может быть изучена при помощи расчёта фрактальной размерности, показателя заполнения пространства фрактальной структурой, и лакуарности, меры неоднородности заполнения пространства фрактальной структурой. Для оценки степени отёка-набухания впервые использовали плагины Find Maxima и Find Foci (201-210 признаки набухания, 211-225 набухание, 226 периваскулярный и перипеллюлярный отёк и 211-255 просветление дендритов синапсов и отростков астроцитов). Все выше перечисленные методы позволяют изменить точность оценочных критериев структурных процессов повреждения и восстановления нервной ткани. Содержание плотности распределения маркеров HSP70, MAP2, NSE, p38 свидетельствует о том, что после выбранных моделей ООСА в нейронах происходит правильная сборка белка, сохранение цитоскелета, активация гликолиза, а также активизируются механизмы синаптической пластичности.

Понимание гетерогенной и гетерохронной природы постишемических структурных изменений, их плеiotропности, перманентности реорганизации межклеточных взаимоотношений поможет более точно оценить и обосновать логику определения «терапевтического окна» с ангиопротекторным действием при разной продолжительности острого нарушения мозгового кровообращения соответствующей ишемии в клинике.

Накопленная база данных (цифровые изображения нейронов, астроцитов, олигодендроцитов и микроглиоцитов) может служить основой для машинного распознавания образов с последующей стандартизацией анализа соответствующей информации.

Полученные результаты полезны для экспериментальной гистологии, фармакологии, нейрофизиологии и неврологии, могут быть использованы в учебном процессе на кафедрах гистологии при изучении разделов «нервная система, сосудистая система, нервная ткань», физиологии, неврологии медицинских вузов.

**СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Аврущенко М.Ш. Постреанимационные изменения мозга на уровне нейрональных популяций: закономерности и механизмы / М. Ш. Аврущенко, В. В. Мороз, И. В. Острова // *Общая реаниматология*. – 2012. – Т. 8. – № 4. – С. 69–78.
2. Аврущенко, М. Ш. Постреанимационные изменения экспрессии мозгового нейротрофического фактора (BDNF): взаимосвязь с процессом гибели нейронов / М. Ш. Аврущенко, И. В. Острова // *Общая реаниматология*. – 2017. – Т. 13. – № 4. – С. 6–21.
3. Аврущенко, М. Ш. Постреанимационные изменения морфофункционального состояния нервных клеток: значение в патогенезе энцефалопатий / М. Ш. Аврущенко, И. В. Острова, А. В. Волков, Ю. В. Заржецкий // *Общая реаниматология*. – 2006. – Т. 2. – № 6. – С. 85–96.
4. Аврущенко, М. Ш. Индивидуально-типологические особенности постреанимационных изменений мозга: роль белков теплового шока HSP70 / М. Ш. Аврущенко, И. В. Острова, Ю. В. Заржецкий, А. В. Волков // *Общая реаниматология*. – 2008. – Т. 4. – № 6. – С. 34–39.
5. Алексеева, О.С. Микроглия головного мозга: происхождение, структура и функции / О. С. Алексеева, О. В. Кирик, Е. Г. Гилерович, Д. Э. Коржевский // *Эволюционной биохимии и физиологии*. – 2019. – Т. 55. – № 4. – С. 231–241.
6. Антипова, М. В. Возрастные особенности структурно-функциональной организации микроглиоцитов стриатума крысы / М. В. Антипова, В. В. Гусельникова, Д. Э. Коржевский // *Медицинский академический журнал*. – 2019. – Т. 19. – № 1S. – С. 133–134.
7. Арушанян, Э. Б. Гиппокамп и нарушения познавательной деятельности / Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер // *Журнал неврологии и психиатрии*. – 2007. – Т. 107. – № 7. – С. 72–77.
8. Афанасьев, Ю. И. Гистология, эмбриология и цитология: учебник / Ю. И. Афанасьев, Н.А. Юрина. – М.: ГЭОТАР–медиа, 2012 – 800 с. – ISBN 978-5-9704-2258-8.
9. Бабкина, А. С. Биологические маркеры повреждения и регенерации центральной нервной системы: монография / А. С. Бабкина, А. А. Баева, А. Р. Баширова, М. Л. Благоднаров, А. М. Голубев, О. А. Гребенчиков, А. В. Гречко, А. В. Ершов, В. Е. Захарченко, А. Н. Кузовлев, Б. Г. Муслимов, И. В. Острова,

С. А. Перепелица, М. В. Петрова, О. Л. Романова, Ш. Х. Саидов, Д. Н. Силачев, Д. В. Сундуков, И. Н. Телипов, Э. Ш. Усманов, М. Б. Хаджиева, А. А. Чурилов, А. К. Шабанов, О. А. Шевелёв. – М.: ООО "ВЦИ", 2021. – 432 с. – ISBN 978-5-6044-1590-0.

10. Баширова, А. Р. Морфометрические изменения клеток коры головного мозга при острых отравлениях клозапином в сочетании с этиловым спиртом / А. Р. Баширова, Д. В. Сундуков, А. С. Бабкина, М. А. Голубев, И. Н. Телипов // *Общая реаниматология*. – 2020. – Т. 16. – № 6. – С. 19–30.

11. Беленичев, И.Ф. Малат-аспартатный шунт в реакциях адаптации нейронов к условиям ишемии: молекулярно-биохимические механизмы активации и регуляции / И. Ф. Беленичев, Ю. М. Колесник, С. В. Павлов, Е. П. Соколик, Н. В. Бухтиярова // *Биохимия*. – 2012. – Т.29. – №1. – С. 28–34.

12. Бобров, И. П. Морфофункциональная характеристика ядрышковых организаторов клеток печени при экспериментальном холодовом стрессе и в постгипотермическом периоде / И. П. Бобров, Н. А. Лычева, Н. Г. Крючкова, А. В. Лепилов, И. И. Шахматов, А. Ю. Долгатов, А. В. Осипова, А. А. Красова // *Современные проблемы науки и образования*. – 2018. – № 1.

13. Боголепов, Н. Н. Ультраструктура мозга при гипоксии / Н. Н. Боголепов. – М.: Медицина, 1979. – 168 с.

14. Богомолов, Д. В. Морфометрическое исследование нейроглиальных комплексов головного мозга при судебно-медицинской диагностике наркоманий / Д. В. Богомолов, Ю. И. Пиголкин, О. В. Должанский // *Судебно-медицинская экспертиза*. – 2001. – Т. 44. – № 4. – С. 18–19.

15. Бонь, Е. И., Зиматкин С. М. Инволюция нейронов коры головного мозга потомства крыс, потреблявших алкоголь во время беременности / Е. И. Бонь, С. М. Зиматкин // *Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия медицинских наук*. – 2006. – № 1. – С. 59–64.

16. Бонь, Е. И., Максимович Н. Е. Морфологические представления о кровообращении головного мозга крысы / Е. И. Бонь, Н. Е. Максимович // *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. – 2018. – Т. 17. – № 2. – С. 30–36.

17. Бонь, Е. И. Гистологические изменения в париетальной коре и гиппокампе мозга крыс после субтотальной церебральной ишемии / Е. И. Бонь, Н. Е. Максимович, С. М. Зиматкин // *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. – 2018. – Т. 16. – № 4. – С. 419–423.

18. Бонь, Е. И. Морфофункциональные нарушения в гиппокампе крыс после субтотальной ишемии / Е. И. Бонь, Н. Е. Максимович, С. М. Зиматкин // Вестник Смоленского государственного медицинского университета. – 2018. – Т. 17. – № 1. – С. 24–29.

19. Бонь, Е. И. Морфофункциональные нарушения нейронов теменной коры и гиппокампа крыс в динамике субтотальной церебральной ишемии / Е. И. Бонь, Н. Е. Максимович, С. М. Зиматкин, Н. А. Валько // Оренбургский медицинский вестник. – 2019. – Т. 26. – № 2. – С. 36–41.

20. Бонь, Е. И. Цитохимические нарушения в париетальной коре и гиппокампе крыс после субтотальной ишемии / Е. И. Бонь, Н. Е. Максимович, С. М. Зиматкин // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2018. – Т. 17. – № 1. – С. 43–49.

21. Бонь, Е. И. Динамика морфологических нарушений нейронов гиппокампа крыс при ступенчатой субтотальной ишемии головного мозга / Е. И. Бонь, Н. Е. Максимович, С. М. Зиматкин // Оренбургский медицинский вестник. – 2020. – Т. 8. – № 1. – С. 46–52.

22. Бонь, Е. И. Морфологические нарушения нейронов гиппокампа крыс с субтотальной и тотальной ишемией / Е. И. Бонь, Н. Е. Максимович, С. М. Зиматкин // Оренбургский медицинский вестник. – 2020. – Т. 8. – № 2. – С. 41–46.

23. Бонь, Е. И. Морфологические нарушения нейронов теменной коры и гиппокампа крыс в динамике ступенчатой субтотальной ишемии головного мозга / Е. И. Бонь, Н. Е. Максимович, С. М. Зиматкин, Н. А. Валько, В. Н. Кот // Сибирский научный медицинский журнал. – 2020. – Т. 40. – № 2. – С. 31–39.

24. Бонь, Е. И. Сравнительный анализ морфологических нарушений нейронов теменной коры и гиппокампа крыс при различных видах экспериментальной ишемии головного мозга / Е. И. Бонь, Н. Е. Максимович // Оренбургский медицинский вестник. – 2021. – Т. 9. – № 2. – С. 29–37.

25. Борисова, К. Н. Иммуногистохимические маркеры центральной нервной системы / К. Н. Борисова, И. С. Драгвоз, Д. А. Храмцов, Е. А. Тимофеев, А. С. Чугуев // Авиценна – 2019. – № 44. – С. 16–19.

26. Бровко, М. А. Иммуногистохимическое выявление альфа-синуклеина в синаптической зоне области СА3 гиппокампа / М. А. Бровко, Д. А. Суфиева, Д.Э. Коржевский // Анатомии и гистопатологии. – 2018. – Т. 7. – № 2. – С. 23–28.



27. Вавилова, В. А. Моделирование глобальной церебральной ишемии у монгольских песчанок / В. А. Вавилова, Я. А. Гуцин // Лабораторные животные для научных исследований. – 2019. – № 2. – С. 3.

28. Васильев, Д. С. Способность блокаторов глутаматных рецепторов NMDA-типа предупреждать развитие пентилентетразолового киндлинга и морфологические изменения пирамидных нейронов гиппокампа мышей / Д. С. Васильев, Н. Л. Туманова, В. В. Лаврентьева, Л. А. Старшинова, Е. П. Жабко, Н. Я. Лукомская, И. А. Журавин, Л. Г. Магазаник // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2013. – Т. 99. – № 9. – С. 1023–1035.

29. Васильев, Ю. Г. Нейро-глио-сосудистые отношения в центральной нервной системе (морфологическое исследование с элементами морфометрического и математического анализа) / Ю. Г. Васильев, В. М. Чучков. – Ижевск: АНК, 2003. – 164 с.

30. Ветровой, О. В. Особенности метилирования ДНК и гистона H3 в мозге крыс в ответ на тяжелую гипобарическую гипоксию и гипоксическое посткондиционирование / О. В. Ветровой, Е. И. Тюлькова, В. А. Стратилев, К. А. Баранова, М. О. Самойлов // Цитология. – 2019. – Т. 61. – № 10. – С. 837–844.

31. Войно-Ясенецкий, М. В. Источник ошибок при морфологических исследованиях / М. В. Войно-Ясенецкий, Ю. М. Жаботинский. – Л.: Наука, 1970. – 196 с.

32. Волкова, Д. А. Электрофизиологические корреляты морфологических перестроек при моделировании локальной ишемии разной степени тяжести в сенсомоторной коре крыс / Д. А. Волкова, Н. С. Косицын, Е. В. Голобородько, Н. А. Логинова, М. М. Свинов // Бюлл. Эксперим. Биол. Мед. – 2013. – Т. 155. – № 2. – С. 233–236.

33. Волянский, Ю. Л. Молекулярные механизмы программированной клеточной гибели / Ю. Л. Волянский, Т. Ю. Колотова, Н. В. Васильев // Успехи современной биологии. – 1994. – № 6. – С. 679–692.

34. Воронков, Д. Н. Иммуноцитохимические и морфометрические изменения астроглии в перифокальной зоне моделируемого инфаркта мозга / Д.Н.Воронков, О.В.Сальникова, Р.М. Худоев // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. – 2017. – Т. 11. – № 1. – С. 40–46.

35. Гайдин, С. Г. Комплексный протекторный эффект агонистов  $\alpha$ 2-адренергических рецепторов в модели церебральной ишемии-реоксигенации in

vitro / С. Г. Гайдин, М. В. Туровская, В. Н. Мальцева, В. П. Зинченко, Е. В. Блинова, Е. А. Туровский // Биологические мембраны. – 2019. – Т.36. – №5. – С. 342–357.

36. Ганковская, Л. В. Роль белка теплового шока 70 в патогенезе сердечно-сосудистой патологии/ Л. В. Ганковская, О. А. Понасенко, О. А. Свитич // Медицинская иммунология. – 2019. – Т. 21. – № 2. – С. 201–208.

37. Гомазков, О. А. Старение мозга и нейротрофическая терапия / О.А. Гомазков. – М.: ИКАР, 2011. – 180 с.

38. Гомазков, О. А. Нейрогенез как адаптивная функция мозга: монография / О. А. Гомазков. – М.: Икар, 2014. – 136 с.

39. Гомазков, О. А. Астроциты как компоненты регуляции высших функций мозга / О. А. Гомазков // Нейрохимия. – 2019. – Т.36. – №4. – С. 267–274.

40. Гончар, И. А. Биохимические предикторы и маркеры инфаркта головного мозга / И. А. Гончар, Ю. И. Степанова, И. С. Прудывус; под ред. д.м.н., проф. В.С. Камышникова. – Минск: БелМАПО, 2013. – 512 с.

41. Гусев, Е. И. Неврология и нейрохирургия: учебник: в 2 т. / Е. И. Гусев, А. Н. Коновалов, В. И. Скворцова. – 2-е изд., испр. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – Т. 3: Неврология. – 624 с.

42. Гусельникова, В. В. Нуклеофосмин, коилин и аргентофильные (AgNOR) белки нейронов черного вещества головного мозга человека / В. В. Гусельникова, Д. А. Суфиева, Д. Э. Коржевский // Цитология. – 2020. – Т. 62. – № 3. – С. 201–209.

43. Долго-Сабуров, Б. А. Очерки функциональной анатомии кровеносных сосудов. К учению о коллатеральном кровообращении / Б. А. Долго-Сабуров. – Л.: Медгиз. Ленингр. отд-ние, 1961. – 344 с.

44. Дробленков, А. В. Изменения нейронов и глиоцитов мезоаккумуляционной системы при перинатальном воздействии морфина у крыс / А. В. Дробленков, Н. Р. Карелина, П. Д. Шабанов // Морфология. – 2009. – Т. 136. – № 6. – С. 35–37.

45. Дробленков, А. В. Реакция клеточных элементов головного мозга крыс на циркуляторную гипоксию / А. В. Дробленков, Н. В. Наумов, М. В. Монид, В. В. Сосин, Д. С. Пеньков, С. Н. Прошин, П. Д. Шабанов // Медицинский академический журнал. – 2013. – Т.13. – №4. – С. 19-28.

46. Дробленков, А. В. Морфологические признаки отравления этанолом, алкогольной абстиненции и хронической алкогольной интоксикации в

мезокортиколимбической дофминергической системе / А. В. Дробленков // Судебно-медицинская экспертиза. – 2011. – Т. 54. – № 5. – С. 11–17.

47. Дробленков, А. В. Ранние реактивные изменения астроцитов паранигрального ядра среднего мозга после переднемозговой ишемии и воздействия церебропротектора ропрена у крыс / А. В. Дробленков, М. В. Монид, Э. И. Валькович // Морфология. – 2014. – Т. 145. – № 1. – С. 24–27.

48. Дробленков, А. В. Реакция клеточных элементов головного мозга крыс на циркуляторную гипоксию / А. В. Дробленков, Н. В. Наумов, М. В. Монид, В. В. Сосин, Д. С. Пеньков, С. Н. Прошин, П. Д. Шабанов // Медицинский академический журнал. – 2013. – Т. 13. – № 3. – С. 19–28.

49. Дробленков, А. В. Пластические изменения нейронов и олигодендроцитов цингулярной коры мозга при отравлении этанолом и алкогольной абстиненции у человека / А. В. Дробленков, Е. Ю. Панкрашова, А. В. Федоров, В. А. Раптанова // Вестник Новгородского государственного университета им. Ярослава Мудрого. – 2020. – № 1(117). – С. 30–37.

50. Дробленков, А. В. Структурно-пространственные изменения нейронов и астроцитов прилежащего ядра головного мозга после частичного ограничения кровотока у крыс / А. В. Дробленков, Н. А. Попковский, В. А. Раптанова, Н. Г. Наумов // Сборник научных статей по материалам Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 85-летию Курского государственного медицинского университета, 120-летию со дня рождения профессора К.С. Богоявленского, 100-летию со дня рождения профессора Д.А. Сигалевича, 100-летию со дня рождения профессора З. Н. Горбацевич – Курск: 2020. – 651 с.

51. Дайнеко, А. С. Методы оценки неврологического дефицита у крыс после 30-минутной фокальной ишемии мозга на ранних и поздних сроках постишемического периода / А. С. Дайнеко, А. А. Шмонин, А. В. Шумеева, Е. А. Коваленко, Е. В. Мельникова, Т. Д. Власов // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2014. – Т. 13. – № 1(49). – С. 68–78.

52. Емельянчик, С. В. Мозг при холестазах: монография / С. В. Емельянчик, С. М. Зиматкин. – Гродно: ГрГУ, 2011. – 265 с.

53. Емельянчик, С. В. Мозг при отведении желчи: монография / С. В. Емельянчик, С. М. Зиматкин. – Гродно: ГрГУ, 2012. – 303 с.

54. Емельянчик, С. В. Структурные и гистохимические изменения в нейронах фронтальной коры мозга крысы при холестазах / С. В. Емельянчик, С.

М. Зиматкин // Морфология. – 2018. – Т. 153, вып. 1. – С. 7–12

55. Ермохин, П. Н. Гистология центральной нервной системы / П.Н. Ермохин. – М.: Медицина, 1979. – 278 с.

56. Жаботинский, Ю. М. Нормальная и патологическая морфология нейрона / Ю.М. Жаботинский. — Л.: Медицина, 1965. — 329 с.

57. Жданкина, А. А. Нейроглиальные взаимоотношения в коре головного мозга крыс при тотальной транзиторной ишемии / А. А. Жданкина, Т. М. Плотникова, А. Н. Осипенко, Г. А. Чернышева // Морфология. – 2016. – Т. 149. – № 3. – С. 81–81а.

58. Зайцев, А. Ю. Нейрорегенераторная терапия травматической болезни спинного мозга: роль и перспективы использования трансплантации стволовых клеток / А. Ю. Зайцев, А. С. Брюховецкий // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2007. – Т. 2. – № 1. – С. 36–44.

59. Захаров, И. И. Проблема обратимости апоптотических процессов / И. И. Захаров, М. А. Савицкая, Г. Е. Онищенко // Биохимия. – 2020. – Т. 85. – № 10. – С. 1344–1360.

60. Зенков, Н. К. Внутриклеточный окислительный стресс и апоптоз / Н. К. Зенков, Е. Б. Меньшикова, Н. Н. Вольский // Успехи современной биологии. – 1999. – № 5. – С. 440–450.

61. Зиматкин, С. М., Бонь Е. И. Динамика цитохимических изменений в цингулятной коре мозга крыс, подвергавшихся антенатальному воздействию алкоголя / С. М. Зиматкин, Е. И. Бонь // Новости медико-биологических наук. – 2016. – № 1. – С. 17–22.

62. Зиматкин, С. М., Бонь Е. И. Тёмные нейроны мозга / С. М. Зиматкин, Е. И. Бонь // Морфология. – 2017. – Т. 149, вып. 6. – С. 81–86.

63. Зиматкин, С. М. Строение и развитие коры головного мозга крысы: монология / С. М. Зиматкин, Е. И. Бонь. – Гродно: ГрГМУ, 2019. – 156 с.

64. Зинченко, В. П. Визуализация, свойства и функции ГАМКергических нейронов гиппокампа, содержащих проницаемые для кальция каинатные и AMPA-рецепторы / В. П. Зинченко, С. Г. Гайдин, И. Ю. Теплов, А. М. Косенков, А. И. Сергеев, Л. П. Долгачева, С. Т. Тулеуханов // Биологические мембраны. – 2020. – Т.37. – №1. – С.22–33.

65. Ионтов, А. С. Изменения в коре головного мозга при височной эпилепсии / А. С. Ионтов, В. Ф. Шефер // Журнал невропатологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 1981. – № 6. – С. 891–895.

66. Исаева, В. В. Изменения морфометрических показателей и фрактальной размерности нейронов спинного мозга в онтогенезе симы *Oncorhynchus masou* / В. В. Исаева, Е. В. Пущина, Ю. А. Каретин // Биология моря. – 2006. – Т. 32. – № 2. – С. 125–133.

67. Калинина, Е. В. Участие тио-, перокси- и глутаредоксинов в клеточных редокс-зависимых процессах / Е. В. Калинина, Н. Н. Чернов, А. Н. Саприн // Успехи биологической химии. – 2008. – Т. 48. – С. 319–358.

68. Калинина, Ю. А. Астроциты и их участие в механизмах терапевтического действия мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток при ишемическом повреждении головного мозга / Ю. А. Калинина, Е. Г. Гилерovich, Д. Э. Коржевский // Гены и клетки. – 2019. – Т. 14. – № 1. – С. 33–40.

69. Калиниченко, С. Г. Морфологическая характеристика апоптоза и его значение в нейрогенезе / С. Г. Калиниченко, Н. Ю. Матвеева // Морфология. – 2007. – Т. 131. – № 2. – С. 16–28.

70. Калимуллина, Л. Б. К вопросу о «тёмных» и «светлых» клетках // Морфология. – 2002. – Т. 122. – № 4. – С. 75–80.

71. Квачева, З. Б. Стволовые клетки. Перспективы их применения в медицине / З. Б. Квачева, В. И. Вотяков, Л. П. Титов, Н. И. Мезен, С. В. Корень, К. В. Антоненко, Л. А. Хватова // Медицинский журнал. – 2005. – № 4(14). – С. 4–6.

72. Квитницкий-Рыжов, Ю.Н. Отёк и набухание головного мозга / Ю.Н. Квитницкий-Рыжов. – Киев: «Здоров'я», 1978. – 184 с.

73. Кирик, О. В. Субэпендимные микроглиоциты III желудочка головного мозга О. В. Кирик, Е. Г. Сухорукова, О. С. Алексеева, Д. Э. Коржевский // Морфология. – 2014. – Т. 145. – № 3. – С. 67–69.

74. Кирик, О. В. Кальций-связывающий белок Iba-1/AIF-1 в клетках головного мозга крысы / О. В. Кирик, Е. Г. Сухорукова, Д. Э. Коржевский // Морфология. – 2010. – Т. 137. – № 2. – С. 5–8.

75. Клосовский, Б. Н. Деятельное и тормозное состояние мозга / Б. Н. Клосовский, Е. Н. Космарская. – М.: Медгиз, 1961. – 411 с.

76. Колпакова, М. Э. Применение иммуногистохимической реакции на нестин для определения размеров повреждения мозга при транзиторной окклюзии средней мозговой артерии / М. Э. Колпакова, Л. Н. Бельдиман, А. А. Яковлева, О. В. Кирик, Д. Э. Коржевский, Т. Д. Власов // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2019. – Т. 63. – № 3. – С. 148–154.

77. Колпакова, М. Э. Особенности поведения в восьмирукавном лабиринте на фоне изменений активности микроглии полосатого тела после моделирования фокальной транзиторной ишемии головного мозга у крыс / М. Э. Колпакова, И. А. Фильченко, А. Трайковский, Д. Л. Цыба, О. В. Кирик, А. Хан, А. Ляйперт, Д. Э. Коржевский, Т. Д. Власов // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2018. – Т. 17. – № 2. – С. 92–96.

78. Коптяева, К. Е. Методика вскрытия и извлечения органов лабораторных животных. Сообщение 2: мышь / К. Е. Коптяева, А. А. Мужикян, Я. А. Гуцин, Е. В. Беляева, М. Н. Макарова, В. Г. Макаров // Лабораторные животные для научных исследований. – 2018. – № 4. – С. 50–73.

79. Коржевский, Д. Э. Тканевая организация и развитие сосудистого сплетения головного мозга человека / Д. Э. Коржевский // Морфология. – 1998. – Т. 113. – № 2. – С. 105–114.

80. Коржевский, Д. Э. НЕЙРОГЛИЯ и ее участие в патогенезе заболеваний нервной системы: Актовая речь на заседании Ученого совета ФГБНУ «ИЭМ» 12 декабря 2019 года / ФГБНУ «ИЭМ» – СПб: Наука, 2019 – 29 с.

81. Коржевский, Д. Э. Реверсия эмбрионального фенотипа глиальных клеток под влиянием кратковременной общей ишемии головного мозга / Д. Э. Коржевский, О. В. Кирик, А. В. Гиляров // Морфология. – 2006. – Т. 129. – № 2. – С. 48.

82. Коржевский, Д. Э. Современные морфологические методы оценки деструктивных процессов, развивающихся в головном мозге в ответ на повреждающие воздействия / Д. Э. Коржевский, Л. И. Хожай, Е. Г. Гилерович, И. П. Григорьев, А. В. Гиляров, В. А. Отеллин // Структурно-функциональные и нейрохимические закономерности асимметрии и пластичности мозга. – М.: Информкнига, 2006. – 139–142 с.

83. Коржевский, Д. Э. Морфологические типы активированной микроглии гиппокампа, наблюдаемые после транзиторной общей ишемии головного мозга / Д. Э. Коржевский, М. В. Ленцман, О. В. Кирик, В. А. Отеллин // Морфология. – 2012. – Т. 142. – № 5. – С. 30–33.

84. Коржевский, Д. Э. Морфологические проявления локальной функциональной активации астроцитов, вызванной кратковременной общей ишемией головного мозга / Д. Э. Коржевский, М. В. Ленцман, Гиляров А. В., Косткин В. Б., Отеллин В. А. // Эволюционной биохимии и физиологии. – 2007. – Т. 43. – № 5. – С. 423–426.

85. Коржевский, Д. Э. Распределение железа в структурах черного вещества головного мозга человека / Д. Э. Коржевский, Е. Г. Сухорукова, И. П. Григорьев // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2013. – Т. 113. – № 6. – С. 77–80.

86. Коржевский, Д. Э. Микроглия черного вещества головного мозга человека / Д. Э. Коржевский, О. В. Кирик, Е. Г. Сухорукова, М. А. Сырцова // Медицинский академический журнал. – 2014. – Т. 14. – № 4. – С. 68–73.

87. Коржевский, Д. Э. Иммуногистохимические маркеры для нейробиологии / Д. Э. Коржевский, И. П. Григорьев, В. В. Гусельникова, Е. А. Колос, Е. С. Петрова, О. В. Кирик, Д. А. Суфиева, В. А. Разенкова, М. В. Антипова, М. В. Черныш, // Медицинский академический журнал. – 2019. – Т. 19. – № 4. – С. 7–24.

88. Коржевский, Д. Э. Молекулярная нейроморфология. Нейродегенерация M75 и оценка реакции нервных клеток на повреждение / Д. Э. Коржевский, И. П. Григорьев, Е. А. Колос, Е. Г. Сухорукова, О. В. Кирик, О. С. Алексеева, В. В. Гусельникова; под ред. Д. Э. Коржевского. — Санкт-Петербург: СпецЛит, 2015. — 110 с.: ил. — ISBN 978-5-299-00752-7

89. Коржевский, Д. Э. Микроглия головного мозга и микроглиальные маркеры / Д. Э. Коржевский, О. В. Кирик // Морфология. – 2015. – Т. 147. – № 3. – С. 37–44.

90. Коржевский, Д. Э. Теоретические основы и практическое применение методов иммуногистохимии: руководство / Д. Э. Коржевский, О. В. Кирик, М. Н. Карпенко, И. П. Григорьев, Е. Г. Сухорукова, Е. А. Колос; под ред. Д. Э. Коржевского. — 2е изд., испр. и доп. -СПб: СпецЛит, 2014. – 119 с.

91. Костенко, Е. В. Нейропластичность — основа современной концепции нейрореабилитации / Е. В. Костенко // Медицинский алфавит. – 2016. – Т. 2. – № 14(277). – С. 5–11.

92. Кубатиев, А. А. Внутриклеточная регенерация мозга: новый взгляд / А. А. Кубатиев, А. А. Пальцын // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2012. – Т. 67. – № 8. – С. 21–25.

93. Кузин, А. В. Ансамблевые взаимодействия в центральной нервной системе. / А. В. Кузин, Ю. Г. Васильев, В. М. Чуйков, Т. Г. Шорохова. Ижевск, Берлин: АНК, 2004. – 160 с.

94. Ключник, Т. П. Динамика маркеров апоптоза в остром периоде ишемического инсульта / Т. П. Ключник, И. Н. Отман, А. С. Чуканова, Г. Г.

Надарейшвили, М.Ш. Гулиева, Е.И. Гусев // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски. – 2018. – Т. 118. – № 9. – С. 26–31.

95. Криштоп, В. В. Изменения клеточного состава коры головного мозга у крыс с разным уровнем когнитивных функций при церебральной гипоперфузии / В. В. Криштоп, В. Г. Никонорова, Т. А. Румянцева // Вестник Российского университета дружбы народов. – 2019. – Т. 8. – № 4. – С. 22–29.

96. Криштоп, В. В. Экспрессия GFAP в коре больших полушарий при развитии церебральной гипоксии у крыс с различными результатами в лабиринте Морриса / В. В. Криштоп, Т. А. Румянцева, Д. А. Пожилов // Биомедицина. – 2020. – Т. 16. – № 1. – С. 89–98.

97. Криштоп, В. В. Типологические особенности головного мозга в норме и при церебральной гипоперфузии / В. В. Криштоп, Т. А. Румянцева, В. Г. Никонорова // Вестник Российского университета дружбы народов. – 2020. – Т. 24. – № 4. – С. 345–353.

98. Крыжановская, С. Ю. Нейротрофины и адаптация к средовым стимулам: возможности расширения "Терапевтического потенциала" (краткий обзор) / С. Ю. Крыжановская, М. А. Запара, О. С. Глазачев // Вестник Международной академии наук. Русская секция. – 2020. – №1. – С. 36–43.

99. Литвинов, А.А. Фокальная ишемия головного мозга у крыс на фоне недостаточности эстрогенов и эндотелиальной дисфункции / А. А. Литвинов, Е. В. Волотова, Д. В. Куркин, Е. О. Логвинова, А. П. Дарманян, И. Н. Тюренков // Журнал невропатологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2017. – Т. 117. – № 8–2. – С. 891–895.

100. Литвинцев, Б. С. Клинико-морфологическая характеристика неврологических проявлений наркомании / Б. С. Литвинцев, М. М. Одинак, О. Н. Гайкова, Л. С. Онищенко, А. В. Трофимова. // Профилактическая и клиническая медицина. – 2011. – Т. 39. – № 2. – С. 99–104.

101. Лихванцев, В. В. Ишемическое и фармакологическое прекондиционирование (часть 2) / В. В. Лихванцев, В. В. Мороз, О. А. Гребенчиков, Ю. В. Заржецкий, С. С. Тимошин, Д. И. Левиков, В. Л. Шайбакова // Общая реаниматология. – 2012. – Т. 8. – № 1. – С. 61–67.

102. Лихванцев, В. В. Ишемическое и фармакологическое прекондиционирование (часть 1) / В. В. Лихванцев, В. В. Мороз, О. А. Гребенчиков, Ю. И. Гороховатский, Ю. В. Заржецкий, С. С. Тимошин, Д. И. Левиков, В. Л. Шайбакова // Общая реаниматология. – 2011. – Т. 7. – № 6. – С. 59–65.



103. Луговая, А. В. Современные подходы к оценке биологических маркеров аутофагии и апоптоза при остром ишемическом инсульте / А. В. Луговая, В. С. Эмануэль, А. В. Артемова, В. Ф. Митрейкин // Современные проблемы науки и образования. – 2020. – № 4. – С. 160.

104. Луговая, А. В. Оценка эффективности Fas-опосредованного апоптоза лимфоцитов периферической крови у больных сахарным диабетом 1 типа / А. В. Луговая, Н. М. Калинина, В. Ф. Митрейкин, Ю. В. Эмануэль, Ю. П. Ковальчук, А. В. Артемова, В. С. Эмануэль, Ю. В. Мусихина, В. Л. Эмануэль // Медицинский алфавит. – 2019. – Т. 3. – № 22. – С. 26–31.

105. Лю, Б. Н. Состояния цитоскелета: связь с "кислородно-перекисными" эффектами в норме при клеточных патологиях и апоптозе / Б. Н. Лю, С. Б. Исмаилов, М. Б. Лю // Биомедицинская химия. – 2008. – Т. 54. – № 1. – С. 58–77.

106. Максимович, Н. Е. Роль оксида азота в патогенезе ишемических и реперфузионных повреждений мозга: монография / Н. Е. Максимович. – Гродно: ГрГМУ, 2004. – 178 с.

107. Максимович, Н. Е. Белки теплового шока. Свойства. Роль в адаптации. Методические подходы к определению / Н. Е. Максимович, Е. И. Бонь // Биомедицина. – 2020. – Т. 16. – № 2. – С. 60–67.

108. Максимович, Н. Е. Связь нарушений прооксидантно-антиоксидантного состояния с развитием морфофункциональных нарушений у крыс с субтотальной церебральной ишемией / Н. Е. Максимович, Е. И. Бонь, Э. И. Троян, Н. А. Валько // Сибирский научный медицинский журнал. – 2020. – Т. 40. – № 4. – С. 28–34.

109. Мартынова, О. В. Морфологические изменения нейронов головного мозга крыс при двух-, четырёхсосудистой моделях ишемического повреждения головного мозга крыс и их коррекция тадалафилом в эксперименте / О. В. Мартынова, А. В. Тверской, М. В. Покровский, М. А. Мартынов, И. Ю. Шкилева, Е. В. Шелякина, О. В. Анциферов, Т. С. Мухина // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 6. – С. 56–61.

110. Митрошина, Е. В. Адаптационная роль глиального нейротрофического фактора при ишемии головного мозга / Е. В. Митрошина, Б. Ж. Абогесименгане, М. Д. Уразов, И. Хамрауи, Т. А. Мищенко, Т. А. Астраханова, Н. А. Щелчкова, Р. Д. Лапшин, Т. В. Шишкина, И. И. Белоусова, И. В. Мухина, М. В. Ведунова // Современные технологии в медицине. – 2017. – Т. 9. – № 1. – С. 68–77.

111. Моргун, А. В. Структурная и функциональная гетерогенность астроцитов головного мозга: роль в нейродегенерации и нейровоспалении / А. В. Моргун, Н. А. Малиновская, Ю. К. Комлева, О. Л. Лопатина, Н. В. Кувачева, Ю. А. Панина, Т. Е. Таранушенко, Ю. Р. Солончук, А. Б. Салмина // Бюллетень сибирской медицины. – 2014. – Т. 13. – № 5. – С. 138–148.

112. Мужикян, А. А. Особенности патологоанатомического исследования группы экспериментальных животных / А. А. Мужикян, М. Н. Макарова, Я. А. Гушин // Международный вестник ветеринарии. – 2014. – № 1. – С. 75–80.

113. Наумов, Н. Г. Реактивные изменения клеток паранигрального ядра среднего мозга в условиях переднемозговой ишемии у крыс / Н. Г. Наумов, А. В. Дробленков // Морфология. – 2014. – Т. 145. – № 3. – С. 137–138.

114. Наумов, Н. Г. Реактивные изменения астроцитов прилежащего ядра переднего мозга после ограничения кровотока в бассейне обеих общих сонных артерий у крыс / Н. Г. Наумов // Морфология. – 2016. – Т. 149. – № 1. – С. 22–27.

115. Нигметзянова, М. В. Патологические реакции микроглии: учебное пособие / М. В. Нигметзянова. – Казань: ФГБОУ ВО "ОмГМУ" МЗ РФ, 2019. – 74 с.

116. Ноздрачев, А. Д. Анатомия крысы (Лабораторные животные) / А. Д. Ноздрачев, Е. Л. Поляков; под ред. А. Д. Ноздрачева. – СПб.: Лань, 2001. – 464 с.

117. Обухов, Д. К. Современные представления о развитии, структуре и эволюции неокортекса конечного мозга млекопитающих животных и человека / Д. К. Обухов // Сборник научных трудов, посвященный 100-летию кафедры медицинской биологии СПбГМА им. И. И. Мечникова. Вопросы морфологии XXI века. – 2009. – Вып. 1. – С. 200–223. Оленев, С. Н. Конструкция мозга / С. Н. Оленев. – Л.: Медицина, 1987. – 206 с.

118. Онуфриев, М. В. Аккумуляция кортикостерона и интерлейкина-1 $\beta$  в гиппокампе после фокального ишемического повреждения неокортекса: селективная чувствительность вентрального гиппокампа / М. В. Онуфриев, С. В. Фрейман, Ю. В. Моисеева, М. Ю. Степаничев, Н. А. Лазарева, Н. В. Гуляева // Нейрохимия. – 2017. – Т. 34. – № 3. – С. 235–241.

119. Орловская, Д. Д. Нейрон и его гиперхромное состояние / Д. Д. Орловская, В. Н. Клещинов // Журнал невропатологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 1986. – № 7. – С. 981–988.

120. Осадчий, Л. И. Участие эндотелий зависимого механизма в формировании реакций системной гемодинамики на увеличение объема крови / Л. И. Осадчий, Т. В. Балужева, И. В. Сергеев // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2003. – Т. 136. – № 11. – С. 487–489.

121. Осадчий, Л. И. Механизмы формирования реакций системного кровообращения: роль эндотелиального фактора регуляции тонуса кровеносных сосудов / Л. И. Осадчий, Т. В. Балужева, И. В. Сергеев // Изв. АН. Сер. биол. – 2004. – № 3. – С. 335–339.

122. Острова, И. В. Взаимосвязь уровня экспрессии белка GRP78 с выраженностью постишемического повреждения гиппокампа у крыс разного пола / И. В. Острова, М. Ш. Аврущенко, А. В. Волков // Общая реаниматология. – 2011. – Т. 7. – № 6. – С. 28–33.

123. Острова, И. В. Роль мозгового нейротрофического фактора BDNF и его рецептора TrkB в устойчивости нейронов гиппокампа к ишемии-реперфузии (экспериментальное исследование) / И. В. Острова, М. Ш. Аврущенко, А. М. Голубев, Н. В. Голубева // Общая реаниматология. – 2018. – Т. 14. – № 6. – С. 41–50.

124. Острова, И. В. Прогностическая значимость и терапевтический потенциал мозгового нейротрофического фактора BDNF при повреждении головного мозга (обзор) / И. В. Острова, Н. В. Голубева, А. Н. Кузовлев, А. М. Голубев // Общая реаниматология. – 2019. – Т. 15. – № 1. – С. 70–86.

125. Острова, И. В. Значение иммуногистохимических исследований HSP70 в изучении постреанимационных изменений мозга / И. В. Острова, В. В. Мороз, М. Ш. Аврущенко // Общая реаниматология. – 2007. – Т. 3. – № 5–6. – С. 91–96.

126. Пальцын, А. А. О регенерации мозга (лекция I) / А. А. Пальцын, Н. Б. Свиридкина // Патогенез. – 2017. – Т. 15. – № 4. – С. 74–80.

127. Пальцын, А. А. О регенерации мозга (лекция II) / А. А. Пальцын, Н. Б. Свиридкина // Патогенез. – 2018. – Т. 16. – № 1. – С. 83–91.

128. Попов, В. И., Трехмерная организация синапсов и астроглии в гиппокампе крыс и сусликов: новые структурно-функциональные парадигмы работы синапса / В. И. Попов, А. А. Деев, О. А. Клименко, И. В. Краев, С. Б. Кузьминых, Н. И. Медведев, И. В. Патрушев, Р. В. Попов, В. В. Рогачевский, С. С. Хуцян, М. Г. Стьюарт, Е. Е. Фесенко // Биофизика. – 2003. – Т. 48. – № 2. – С. 289–308.

129. Попова, Э. Н., Морфология приспособительных изменений нервных структур / Э. Н. Попова, С. К. Лапин, Г. Н. Кривицкая. – М.: Медицина, 1976. – 263 с.
130. Попова, Э. Н. Мозг и алкоголь: монография / Э. Н. Попова. – М.: Наука, 1984. – 223 с.
131. Попова, Э. Н. Ультраструктура мозга, алкоголь и потомство / Э. Н. Попова. – М.: Научный мир, 2010. – 155 с.
132. Пошивалов В. П. Этологический атлас для фармакологических исследований на лабораторных грызунах / Деп. в ВИНТИ, 3164-78. – М., 1978. – 43 с.
133. Разенкова, В. А. ГАМК-ергические аксосоматические синапсы нейронов коры головного мозга крысы / В. А. Разенкова, Д. Э. Коржевский // Цитология. – 2020. – Т. 62. – № 11. – С. 815–821.
134. Разуваев, Г. А. Воздействие мелаксена на активность каспазы-3 и каспазы-8 в условиях развития ишемии/реперфузии головного мозга у крыс / Г. А. Разуваев, Е. Д. Крыльский, Т. Н. Попова // Журнал Международный академический вестник. – 2018. – Т. 4. – № 24. – С. 2–4.
135. Ратушняк, М. Г. Повышение выживаемости и стимуляция регенерации облучённых нейральных стволовых клеток мыши при сокультивировании с необлучёнными нейральными стволовыми клетками и мезенхимными стволовыми клетками из жировой ткани / М. Г. Ратушняк, Ю. П. Семочкина, А. С. Жирник, О. Д. Смирнова // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2021. – № 3. – С. 147–155.
136. Рева, И. В. Апоптоз и его роль в нарушении функций нейронов / И. В. Рева, Т. Т. Ямамото, И. А. Одинцова, С. Г. Мартыненко, Р. И. Тоторкулов, Г. А. Николаенко, Т. Н. Лемешко, М. В. Индык, М. Е. Шмелёв, С. С. Вершинина, С. Н. Балдаев, К. Ф. Альбрандт, Г. В. Рева // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 6. – С. 36
137. Романова, Г. А. Дизрегуляторные нарушения интегративной деятельности мозга при фокальной ишемии коры / Г. А. Романова // Дизрегуляторная патология. – М.: Медицина, 2002. – С. 605–615.
138. Романова, Г. А. Структурные и функциональные особенности префронтальной коры мозга крыс после 14-суточной антиортостатической гипокинезии / Г. А. Романова, А. А. Пальцын, Ф. М. Шакова, Н. Б. Константинова, М. В. Баранов, В. М. Баранов // Морфология. – 2011. – Т. 45. – № 3. – С. 39–43.

139. Романова, Г. А. Нарушения обучения и памяти, вызванные фототромбозом префронтальной коры головного мозга крыс: эффекты ноопепта / Г. А. Романова, Ф. М. Шакова, Т. А. Гудашева, Р. У. Островская // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2002. – Т. 134, № 12. – С. 614–616.

140. Ройтбак, А. И. Глия и ее роль в нервной деятельности / А. И. Ройтбак. – СПб.: Наука, 1993. – 137 с.

141. Рублева, З. Я. Сравнительное электронно-микроскопическое и ауторадиографическое исследование «тёмных» и «светлых» нейронов коры головного мозга / З. Я. Рублева, Ю. И. Савулев, А. С. Пылаев // Журнал невропатологии и психиатр. им. С. С. Корсакова. – 1977. – Т. 77. – № 7. – С. 966–970.

142. Рукан, Т. А. Морфофункциональные изменения нейронов фронтальной коры мозга крыс в условиях его ишемии-перфузии / Т. А. Рукан, Н. Е. Максимович, С. М. Зиматкин // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2012. – № 4. – С. 35–38.

143. Рукан, Т. А. Активность некоторых ферментов в нейронах фронтальной коры головного мозга крыс в ранний постишемический период / Т. А. Рукан, Н. Е. Максимович, С. М. Зиматкин // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2013. – Т. 12. – № 2. – С. 50–54.

144. Рыбакова, А. В. Методы эвтаназии лабораторных животных в соответствии с Европейской директивой 2010/63. / А. В. Рыбакова, М. Н. Макарова // Международный вестник ветеринарии. – 2015. – № 2. – С. 96–107.

145. Савченко, Е. С. Оценка изменения количества нейронов, астроцитов и клеток микроглии в головном мозге после ишемического инсульта методами иммуногистохимии и иммуноблотинга / Е. С. Савченко, И. Б. Певзнер, Л. Д. Зорова, Д. Н. Силачев, В. А. Бабенко, В. Н. Манских, М. В. Гуляев, Ю. А. Пирогов, Е. Ю. Плотников, Д. Б. Зоров // Цитология. – 2016. – Т. 58. – № 7. – С. 534–542.

146. Сахарнова, Т. А. Нейротрофический фактор головного мозга (bdnf) и его роль в функционировании центральной нервной системы / Т. А. Сахарнова, М. В. Ведунова, И. В. Мухина // Нейрохимия. – 2012. – Т. 29. – № 4. – С. 269–277.

147. Светухина, В. М. Цитоархитектоника новой коры мозга в отряде грызунов (белая крыса) / В. М. Светухина // Архив анатомии, гистологии эмбриологии. – Л. – 1962. – Том XLII. – № 2. – С. 31–44.

148. Свиридкина, Н. Б. Морфофункциональное исследование действия антиортостатической гипокинезии при очаговом ишемическом повреждении коры головного мозга / Н. Б. Свиридкина, Ф. М. Шакова, С. В. Комиссарова, И. П. Дубровин, С. А. Турыгина, Г. А. Романова, В. М. Баранов // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2012. – Т. 56. – № 2. – С. 22–26.

149. Семченко, В. В. Синаптическая пластичность головного мозга (фундаментальные и прикладные аспекты) / В. В. Семченко, С. С. Степанов, Н.Н.Боголепов. – М.: Медицина, 2014. – 408 с.

150. Снесарев, А. Е. Теоретические основы патологической анатомии психических болезней / А. Е. Снесарев. – М.: Медгиз, 1950. – 372 с.

151. Сотников, О. С. Ретикулярная теория камилло гольджи и перестройка электрических синапсов в синцитиальные перфорации / О. С. Сотников // Биология развития. – 2019. – № 2. – С. 127–143.

152. Сотников, О. С. Энуклеация, формирование цито- и кариопластов и их слияние с телом нейрона / О. С. Сотников, А. А. Лактионова, Н. М. Парамонова, Л. И. Арчакова, Т. В. Краснова // Морфология. – 2012. – Т. 142. – № 4. – С. 43–48.

153. Сотников, О. С. Концепция ретикулярной организации нервной ткани Александра Догеля / О. С. Сотников, И. И. Марков // Морфологические ведомости. – 2018. – Т. 26, Выпуск 1. – С. 8–19.

154. Сотников, О. С. Двухядерные нейроны: синцитиальное слияние или амитоз / О. С. Сотников, Л. Е. Фрумкина, А. А. Лактионова, Н. М. Парамонова, С. А. Новаковская // Успехи физиологических наук. – 2011. – Т. 42 – № 4. – С. 76–89.

155. Спасов, А. А. Методологический подход для изучения нейропротекторной активности в эксперименте / А. А. Спасов, В. Ю. Федорчук, Н. А. Гурова, Н. И. Чепляева, Е. В. Резников // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2014. – № 4. – С. 39–45.

156. Ставчанский, В. В. Экспрессия гена *Cplx2* в условиях ишемии мозга крыс при введении пептидов семакс и RGP с использованием двух экспериментальных моделей / В. В. Ставчанский, Е. О. Куриченкова, В. Г. Дмитриева, Н. Ф. Мясоедов, С. А. Лимборская, Л. В. Дергунова // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2016. – Т. 34. – № 4. – С. – 137–142.

157. Степанов А. С. Нейро-глио-сосудистые комплексы головного мозга после острой ишемии. / Степанов А. С., Акулинин В. А., Мыщик А. В.,

Степанов С. С., Авдеев Д. Б. // Общая реаниматология. – 2017. – Т. 13. – № 6. – С. 6–17.

158. Строев, С. А. Многократная умеренная гипобарическая гипоксия индуцирует экспрессию тиоредоксина-1 в гиппокампе и неокортексе крыс / С. А. Строев, Т. С. Глущенко, Е. И. Тюлькова, М. Т. Миеттинен, М. О. Самойлов // Нейрохимия. – 2018. – Т. 35. – № 1. – С. – 23–33.

а. Суфиева, Д. А. Астроцитарные маркеры в таницитах третьего желудочка головного мозга крысы в постнатальном онтогенезе и при старении / Д. А. Суфиева, О. В. Кирик, Д.Э.Коржевский // Онтогенез. – 2019. – Т. 50. – №. 3. – С. 205–214.

159. Суфиева, Д. А. Микроглия и танициты области инфундибулярного углубления головного мозга крысы в раннем постнатальном онтогенезе и при старении / Д. А. Суфиева, В. А. Разенкова, М. В. Антипова, Д. Э. Коржевский // Онтогенез. – 2020. – Т. 51. – №. 3. – С. 225–234.

160. Сухаренко, Е. В. Возрастные изменения экспрессии глиального фибриллярного кислого белка в мозге крыс при хроническом воздействии кадмия / Е. В. Сухаренко, В. С. Недзвецкий, В. И. Максимов // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2015. – №. 2 (30). – С. 85–93.

161. Сухорукова, Е. Г. Ядрышко клетки – место накопления железа в нейронах черного вещества головного мозга человека / Е. Г. Сухорукова, И. П. Григорьев, Е. А. Колос, Д. Э. Коржевский // Морфология. – 2012. – Т. 142, № 6. – С. 69–72.

162. Сухорукова, Е. Г. Особенности структурной организации астроцитов субгранулярной зоны зубчатой фасции гиппокампа кролика / Е. Г. Сухорукова, О. В. Кирик, Д. А. Суфиева, О. С. Алексеева, Д. Э. Коржевский // Эволюционной биохимии и физиологии. – 2019. – Т. 55. – № 2. – С. 138–144.

163. Топчян, А. В. Локальная ишемия мозга крыс, вызванная перевязкой средней мозговой артерии / А. В. Топчян, Р. С. Мирзоян, М. Г. Баласанян // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 1996. – Т. 59. – № 5. С. 62–64.

164. Торшин, В. И. Влияние экспериментального моделирования септопластики на цитоархитектонику гиппокампа у крыс / В. И. Торшин, И. В. Кастыро, М. Г. Костяева, И. З. Еремина, Н. В. Ермакова, Г. В. Хамидулин, С. Н. Шевцова, И. А. Цатурова, А. А. Скопич, В. И. Попадюк // Голова и шея. – 2019. – № 4. – С. 33–41.

165. Трофименко, А. И. Моделирование церебральной ишемии посредством коагуляции средней мозговой артерии у крыс. Современные проблемы науки и образования / А. И. Трофименко, А. Х. Каде, В. П. Лебедев, С. А. Занин, В. В. Мясникова. // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 2 – С. 215–218

166. Трушель, Н. А. Сравнительная характеристика строения сосудов виллизиева круга головного мозга у человека и лабораторных животных / Н. А. Трушель // Военная медицина. – 2009. – № 2. – С. 47–51.

167. Туровский, Е. А. Кальций-проводящие белки защищают ГАМКергические нейроны гиппокампа от гипоксии и ишемии *in vitro* / Е. А. Туровский, В. П. Зинченко, С. Г. Гайдин, М. В. Туровская // Биологические мембраны. – 2017. – Т.34. – №5. – С.68–80.

168. Туровская, М. В. Кратковременная гипоксия вызывает селективную гибель ГАМКергических нейронов / М. В. Туровская, Е. А. Туровский, А. В. Кононов, В. П. Зинченко // Биологические мембраны. – 2013. – Т.30. – №5–6. – С.479–490.

169. Тучина, О. П. Региональная гетерогенность астроцитов в отношении экспрессии глиального фибриллярного кислого белка и синтетазы глутамин *in vitro* / О. П. Тучина, С. С. Адамовская // Современные проблемы науки и образования. – 2020. – № 2. – С. 158.

170. Тюренков, И. Н. Нейропротекторное действие нейроглутама в условиях активации свободно-радикального окисления / И. Н. Тюренков, Е. В. Волотова, Д. В. Куркин, Д. А. Бакулин, И. О. Логвинов, Т. А. Антипова // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2014. – Т. 77. – № 8. – С. 16–19.

171. Тюренков, И. Н. Изучение нейропротекторного действия нового производного глутаминовой кислоты – нейроглутама при фокальной ишемии мозга у крыс / И. Н. Тюренков, Д. В. Куркин, Д. А. Бакулин, Е. В. Волотова // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2014. – Т. 77. – № 9. – С. 8–12.

172. Тюренков, И. Н. Методы моделирования острых нарушений мозгового кровообращения, применяемые при проведении доклинических исследований церебропротекторов / И. Н. Тюренков, Д. В. Куркин, А. А. Литвинов, Е. А. Логвинова, Е. И. Морковин, Д. А. Бакулин, Е. В. Волотова // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2018. – № 1. – С. 186–197.

173. Фридман, А. П. Основы ликворологии (учение о жидкости мозга):



монография / А. П. Фридман. – 5-е изд., перераб. и доп. – Л.: Медицина, Ленингр. отд-ние, 1971. – 648 с.

174. Фрумкина, Л. Е. Ультраструктурные корреляты нейропротекторного эффекта эндоканнабиноида N-докозагексаеноилдофамина при фокальном фототромбозе коры головного мозга крыс / Л. Е. Фрумкина, Е. Е. Генрихс, И. В. Барсков, М. Ю. Бобров, В. В. Безуглов, Л. Г. Хаспеков // Голова и шея. – 2019. – № 4. – С. 20–23.

175. Фрумкина, Л. Е. Реорганизация ультраструктуры синаптических контактов в ткани головного мозга крысы при парентеральном введении внеклеточной ДНК / Л. Е. Фрумкина, И. Л. Конорова, О. П. Александрова, Л. Г. Хаспеков // Нервные болезни. – 2018. – № 3. – С. 51–55.

176. Хаспеков, Л. Г. Молекулярные механизмы, опосредующие участие глиальных клеток в пластических перестройках головного мозга при эпилепсии / Л. Г. Хаспеков, Л. Е. Фрумкина // Биохимия. – 2017. – Т. 82. – № 3. – С. 528–541.

177. Ходюченко, Т. А. Тельца Кахала и тельца гистонового локуса: молекулярный состав и функции / Т. А. Ходюченко, А. В. Красицова // Онтогенез. – 2014. – Т. 45. – № 6. – С. 363–379.

178. Хожай, Л. И. Реактивные изменения микроглии в неокортексе и гиппокампе у крыс после воздействия острой перинатальной гипоксии / Л. И. Хожай, В. А. Отеллин // Морфология. – 2013. – Т. 143. – № 1. – С. 23–27.

179. Цыба, Д. Л. Особенности экспрессии нестина и глиального фибриллярного кислого белка на границе очага ишемического повреждения головного мозга у крыс SHR / Д. Л. Цыба, О. В. Кирик, М. Э. Колпакова, А. А. Яковлева, Д. Э. Коржевский // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2020. – № 2. – С. 118–124.

180. Черкасова, Л. В. Ультраструктура нейронов коры больших полушарий мозга при гипоксической гипоксии / Л. В. Черкасова, Р. Ф. Давлетчикова // Журнал невропатологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 1988. – Т. 88. – № 7. – С. 16–19.

181. Черных, И. В. Экспрессия гликопротеина-P в гематоэнцефалическом барьере при двухсторонней окклюзии общих сонных артерий / И. В. Черных, Е. Н. Якушева, А. В. Щулькин, И. Ю. Виноградов, Д. С. Титов // Российский медико-биологический вестник им. академика И. П. Павлова. – 2015. – Т. 23. – № 4. – С. 44–50.

182. Черток, В. М. Регуляторный потенциал капилляров мозга / В. М. Черток, А. Г. Черток // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2016. – №. 2 (64). – С. 72–80.

183. Чиженкова, Р. А. Структурно-функциональная организация сенсорной коры (морфологический, электрофизиологический, нейромедиаторный аспекты) / Р. А. Чиженкова. – М.: Наука, 1986. – 249 с.

184. Чурилова, А. В. Изменение экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2 в неокортексе и гиппокампе у крыс под влиянием различных режимов гипобарической гипоксии / А. В. Чурилова, Т. С. Глущенко, М. О. Самойлов // Морфология. – 2014. – Т. 146. – № 5. – С. 7–13.

185. Чефранова, Ж. Ю. Феномен прекондиционирования в аспектах ишемического повреждения головного мозга / Ж. Ю. Чефранова, Е. А. Яценко, Е. А. Лысых, З. А. Капустина // Медицина. – 2019. – Т. 7. – № 1(25). – С. 109–122.

186. Щепарева, М. Е. Роль аквапоринов в функционировании нервной системы в норме и при патологии / М. Е. Щепарева, М. Н. Захарова // Нейрохимия. – 2020. – Т. 37. – № 1. – С. – 5–14.

187. Щербак, Н. С. Эффекты и механизмы ишемического прекондиционирования и посткондиционирования головного мозга: автореф. дис. на соиск. учен. степ. докт. мед. наук / Н. С. Щербак. – Санкт-Петербург, 2016. – 50 с.

188. Щербак, Н. С. Новый способ моделирования обратимой глобальной ишемии головного мозга / Н. С. Щербак, М. М. Галагудза, А. Н. Кузьменков // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2011. – Т. 152. – № 11. – С. 592–595.

189. Щербак, Н. С. Морфофункциональные изменения поля CA1 гиппокампа у монгольских песчанок при применении ишемического посткондиционирования / Н. С. Щербак, М. М. Галагудза, А. Н. Кузьменков, Д. А. Овчинников, Г. Ю. Юкина, Е. Р. Баранцевич, В. В. Томсон и Е. В. Шляхто // Морфология. – 2012. – Т. 142. – № 5. – С. 12–16.

190. Щербак, Н. С. Морфофункциональные изменения пирамидных нейронов различных полей гиппокампа при ишемическом посткондицио / Н. С. Щербак, М. М. Галагудза, Г. Ю. Юкина, Е. Р. Баранцевич, В. В. Томсон, Е. В. Шляхто // Морфология. – 2013. – Т. 143. – № 3. – С. 007–013.

191. Щербак, Н. С. Влияние ишемического посткондиционирования на экспрессию белка bcl-2 в нейронах неокортекса при глобальной ишемии-

реперфузии головного мозга у крыс. / Н. С. Щербак, Д. А. Овчинников, М. М. Галагудза, Г. Ю. Юкина, Е. Р. Баранцевич, В. В. Томсон, Е. В. Шляхто // Трансляционная медицина. – 2016. – Т. 3. – № 1. – С. 63–72.

192. Щербак, Н. С. Изменение экспрессии белка Vcl-2 в нейронах полей гиппокампа после применения ишемического посткондиционирования головного мозга / Н. С. Щербак, А. Г. Русакова, М. М. Галагудза, Г. Ю. Юкина, Е. Р. Баранцевич, В. В. Томсон, Е. В. Шляхто // Морфология. – 2015. – №5. – С. 22–28.

193. Щербак, Н. С. Влияние ишемического посткондиционирования на реакцию микроглии неокортекса при глобальной ишемии головного мозга у крыс / Н. С. Щербак, Г. Ю. Юкина, Е. Г. Сухорукова, В. В. Томсон // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2020. – Т. 19. – №2. – С. 59–66.

194. Шевцов, В. И. Гистоморфометрические характеристики популяций ганглионарных нейронов в отдаленный период после нейротомии и восстановительной операции у собак / В. И. Шевцов, Н. А. Щудло, И. В. Борисова, М. М. Щудло, Р. В. Панфилов, Т. Н. Варсегован // Гений Ортопедии. – 2005. – № 2. – С. 75–81.

195. Шертаев, М. М. Морфологические изменения в тканях головного мозга при экспериментальной ишемии. / М. М. Шертаев, У. К. Ибрагимов, С. Х. Икрамова, Ф. Т. Якубова, К. У. Ибрагимов // Вестник Новосибирского государственного педагогического университета. – 2015. – Т. 1. – № 23. – С. 72–79.

196. Широкова, О. М. Ультраструктурные корреляты развития нейросетевой активности диссоциированной культуры гиппокампа / О. М. Широкова, Л. Е. Фрумкина, Е. А. Агрба, М. В. Ведунова, Л. Г. Хаспеков, И. В. Мухина // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. – 2014. – № 1–2. – С. 237–243.

197. Шляхто, Е. В. Молекулярные механизмы формирования ишемической толерантности головного мозга. Часть 1 / Е. В. Шляхто, Е. Р. Баранцевич, Н. С. Щербак, М. М. Галагудза // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2012. – № 6. – С. 42–50.

198. Шляхто, Е. В. Молекулярные механизмы формирования ишемической толерантности головного мозга. Часть 2 / Е. В. Шляхто, Е. Р. Баранцевич, Н. С. Щербак, М. М. Галагудза // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2012. – № 7. – С. 20–29.

199. Шмонин, А. А. Перевязка средней мозговой артерии крысы: сравнение модификаций моделей фокальной ишемии мозга / А. А. Шмонин // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2011. – №3. – С. 68–76.

200. Шувалова, М. С. О сосудистых сплетениях желудочков головного мозга крысы / М. С. Шувалова // Вестник Кыргызско-Российского Славянского университета. – 2017. – Т. 17. – № 3. – С. 190–193.

201. Шумихина, Г. В. Оценка воздействия перманентной экстравазальной окклюзии левой общей сонной артерии на нейроны переднего мозга белых крыс / Г. В. Шумихина, Т. Г. Данилова // Вестник Новгородского государственного университета им. Ярослава Мудрого. – 2016. – № 1(92). – С. 128–131.

202. Юшков, Б. Г. Клетки иммунной системы и регуляция регенерации / Б. Г. Юшков // Бюллетень сибирской медицины. – 2017. – Т. 16. – № 4. – С. 94–105.

203. Яковлев, А. А. Плейотропные функции протеиназ мозга: методические подходы к исследованию и поиск субстратов каспазы / А. А. Яковлев, Н. В. Гуляева // Биохимия. – 2011. – Т.76. – №10. – С. 1325–1334.

204. Яковлев, А. А. Прекондиционирование клеток мозга к патологическим воздействиям: вовлеченность протеаз (обзор) / А. А. Яковлев, Н. В. Гуляева // Биохимия. – 2015. – Т.80. – №2. – С. 204–213.

205. Ярыгин, Н. Е. Патологические и приспособительные изменения нейронов / Н. Е. Ярыгин, В. Н.Ярыгин. – М.: Медицина, 1973. – 190 с.

206. Яшкичев, В. И. Изменение гидратации белков цитоскелета нейрона - механизм образования и движения нервного импульса / В. И. Яшкичев // Социально-экологические технологии. – 2015. – № 1-2. – С. 58–64.

207. Abbott, L. C. Adult neurogenesis in the mammalian dentate gyrus / L. C. Abbott, F. Nigussie // Anat Histol Embryol. – 2020. – Vol. 49. – № 1. – P. 3–16. DOI: 10.1111/ah.12496

208. Ackman, J. B. Fusion of microglia with pyramidal neurons after retroviral infection / J. B. Ackman, F. Siddiqi, R. S. Walikonis [et al.] // Journal of Neuroscience. – 2006. – Vol. 26. – № 44. – P. 11413–11422. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3340-06.2006

209. Adeva, M. M. Brain edema in diseases of different etiology / M. M. Adeva, G. Souto, C. Donapetry [et al.] // Neurochem Int. – 2012. – Vol. 61. – № 2. – P. 166–174. DOI: 10.1016/j.neuint.2012.05.007

210. Aguzzi, A. Microglia: scapegoat, saboteur, or something else? / A. Aguzzi, B. A. Barres, M. L. Bennett // *Science*. - 2013. - Vol. 339. - № 6116. - P. 156–161. DOI: 10.1126/science.1227901
211. Akdemir, G. The time course changes in expression of aquaporin 4 and aquaporin 1 following global cerebral ischemic edema in rat / G. Akdemir, F. Kaymaz, Y. Gursoy-Özdemir [et al.] // *Surgical Neurology International*. - 2016. - Vol. 7. - P. 4. DOI: 10.4103/2152-7806.173316
212. Alawieh, A. Targeted complement inhibition salvages stressed neurons and inhibits neuroinflammation after stroke in mice / A. Alawieh, E. F. Langley, S. Tomlinson // *Sci. Transl. Med.* - 2018. - Vol. 10. - № 441. - P. eaao6459. DOI: 10.1126/scitranslmed.aao6459
213. Albeck, J. G. Quantitative analysis of pathways controlling extrinsic apoptosis in single cells / J. G. Albeck, J. M. Burke, B. B. Aldridge [et al.] // *Mol. Cell*. - 2008. - Vol. 30. - № 1. - P. 11-25. DOI: 10.1016/j.molcel.2008.02.012
214. Alkadhi, K.A. Cellular and molecular differences between area ca1 and the dentate gyrus of the hippocampus / K. A. Alkadhi // *Mol. Neurobiol.* - 2019. - Vol. 56. - № 9. - P. 6566–6580. DOI: 10.1007/s12035-019-1541-2
215. Allen, N. J. Astrocyte regulation of synaptic behavior / N. J. Allen // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* - 2014. - Vol. 30. - P. 439–463. DOI: 10.1146/annurev-cellbio-100913-013053
216. Alvarez-Dolado, M. Cell fusion and tissue regeneration / M. Alvarez-Dolado, M. Martinez-Losa // *Adv. Exp. Med. Biol.* - 2011. - Vol. 713. - P. 161–175. DOI: 10.1007/978-94-007-0763-4\_10
217. Amaral, D. G. The dentate gyrus: fundamental neuroanatomical organization (dentate gyrus for dummies) / D. G. Amaral, H. E. Scharfman, P. Lavenex // *Prog Brain Res.* - 2007. - Vol. 163. - P. 3–22. DOI: 10.1016/S0079-6123(07)63001-5
218. Arneson, D. Single cell molecular alterations reveal target cells and pathways of concussive brain injury / D. Arneson, G. Zhang, Z. Ying [et al.] // *Nat. Commun.* - 2018. - Vol. 9. - № 1. - P. 3894. DOI: 10.1038/s41467-018-06222-0
219. Aram, L. CDPs: caspase-dependent non-lethal cellular processes / L. Aram, K. Yakobi-Sharon, E. Arama // *Cell Death Differ.* - 2017. - Vol. 24. - № 8. - P. 1307–1310. DOI: 10.1038/cdd.2017.111
220. Argandona, E. G. Effects of darkrearing on the vascularization of the developmental rat visual cortex / E. G. Argandona, J. V. Lafuente // *Brain Res.* - 1996. - Vol. 732. - № 1–2. - P. 43–51. DOI: 10.1016/0006-8993(96)00485-4

221. Arundine, M. Molecular mechanisms of glutamate-dependent neurodegeneration in ischemia and traumatic brain injury / M. Arundine, M. Tymianski // *Cell Mol. Life Sci.* – 2004. – Vol. 61. – № 6. – P. 657-668. DOI: 10.1007/s00018-003-3319-x
222. Atwell, D. Glial and neuronal control of brain blood flow / D. Atwell, A. M. Buchan, S. Charpak // *Nature.* – 2010. – Vol. 468. – P. 232–243. DOI: 10.1038/nature09613
223. Back, T. Lesion evolution in cerebral ischemia / T. Back, T. Hemmen, O. G. Schuler // *J. Neurol.* – 2004. – Vol. 251. – P. 388–397. DOI: 10.1007/s00415-004-0399-y
224. Bahmani, P. Visualization of cell death in mice with focal cerebral ischemia using fluorescent annexin A5, propidium iodide, and TUNEL staining / P. Bahmani, E. Schellenberger, J. Klohs [et al.] // *J Cereb Blood Flow Metab.* – 2011. – V. 31. – P. 1311-1320. DOI: 10.1038/jcbfm.2010.233
225. Bai, J. Revisiting cerebral postischemic reperfusion injury: new insights in understanding reperfusion failure, hemorrhage, and edema / J. Bai, P. D. Lyden // *Internation. J. Stroke.* – 2015. – Vol. 10. – № 2. – P. 143–152. DOI: 10.1111/ijss.12434
226. Bailey, D. M. Emerging concepts in acute mountain sickness and high-altitude cerebral edema: from the molecular to the morphological / D. M. Bailey, P. Bärtsch, M. Knauth // *Cell Mol. Life Sci.* – 2009. – Vol. 66. – № 22. – P. 3583–3594. DOI: 10.1007/s00018-009-0145-9
227. Bär, T. Morphometric evaluation of capillaries in different laminae of rat cerebral cortex by automatic image analysis: changes during development and aging / T. Bär // *Adv. Neurol.* – 1978. – Vol. 20. – P. 1–9. PMID: 676881
228. Baraskay, S. Generalization of seizures parallels the formation of "dark" neurons in the hippocampus and pontine reticular formation after focal-cortical application of 4-aminopyridine (4-AP) in the rat / P. BaracsKay, Z. Szepesi, G. Orban // *Brain Research.* – 2008. – V.1228. – P. 217–228. DOI: 10.1016/j.brainres
229. Baron, J-C. Selective neuronal loss in ischemic stroke and cerebrovascular disease / J-C. Baron, H. Yamauchi, M. Fujioka [et al.] // *J Cereb Blood Flow Metab.* – 2014. – V. 34. - № 1. – P. 2–18. DOI: 10.1038/jcbfm.2013.188
230. Barres, B. A. The mystery and magic of glia: a perspective on their roles in health and disease / B. A. Barres // *Neuron.* – 2008. – Vol. 60. – P. 430–440. DOI: 0.1016/j.neuron.2008.10.013

231. Barreto, G. Astrocytes: Targets for neuroprotection in stroke / G. Barreto, R. E. White, Y. Ouyang [et al.] // *Cent. Nerv. Syst. Agents. Med. Chem.* – 2011. - Vol. 11. – № 2. – P. 164–173. DOI: 10.2174/187152411796011303

232. Becerra-Calixto, A. The Role of Astrocytes in Neuroprotection after Brain Stroke: Potential in Cell Therapy. /A. Becerra-Calixto, G. P. Cardona-Gómez // *Front Mol Neurosci.* – 2017. – Vol. 10. – № 159. – P. 88. DOI: 10.3389/fnmol.2017.00088

233. Belov Kirdajova, D. Ischemia-triggered glutamate excitotoxicity from the perspective of glial cells. / D. Belov Kirdajova, J. Kriska, J. Tureckova [et al.] // *Front. Cell. Neurosci.* – 2020. – Vol. 14. – P. 51. DOI: 10.3389/fncel.2020.00051

234. Berggren, M. Thioredoxin and thioredoxin reductase gene expression in human tumors and cell lines, and the effects of serum stimulation and hypoxia / M. Berggren, A. Gallegos, J. R. Gasdaska [et al.] // *Anticancer Res.* - 1996. – Vol. 16. - № 6B. - P. 3459–3466. PMID: 9042207

235. Bennett, H. S. Morphological classification of vertebrate blood capillaries / H. S. Bennett, J. H. Luft, J. C. Hampton // *Am. J. Physiol.* – 1959 – Vol. 196. – № 2. – P. 381–390. DOI: 10.1152/ajplegacy.1959.196.2.381

236. Bercury, K. K. Dynamics and mechanisms of CNS myelination / K. K. Bercury, W. B. Macklin // *Dev. Cell.* – 2015. – Vol. 32. – № 4. – P. 447–458. DOI: 10.1016/j.devcel.2015.01.016

237. Bernardo, B. C. HSP70: therapeutic potential in acute and chronic cardiac disease settings / B. C. Bernardo, K. L. Weeks, N. L. Patterson [et al.] // *Future Med. Chem.* – 2016. - Vol. 8. – № 18. – P. 2177–2183. DOI: 10.4155/fmc-2016-0192

238. Blanchette, M. Impact of drug size on brain tumor and brain parenchyma delivery after a blood-brain barrier disruption / M. Blanchette, L. Tremblay, M. Lepage // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* – 2014. – Vol. 34. – № 5. – P. 820–826. DOI: 10.1038/jcbfm.2014.14

239. Blennow, K. Traumatic brain injuries / K. Blennow, D. L. Brody, P. M. Kochanek // *Nat. Rev. Dis. Primers.* – 2016. – Vol. 2. – P. 16084. DOI: 10.1038/nrdp.2016.84

240. Braeuninger, S. Focal cerebral ischemia methods / S. Braeuninger, C. Kleinschnitz, B. Nieswandt // *Mol. Biol.* – 2012. – Vol. 788. – P. 29–42. DOI: 10.1007/978-1-61779-307-3\_3

241. Brandt, R. Tau alteration and neuronal degeneration in tauopathies:

mechanisms and models / R. Brandt, M. Hundelt, N. Shahani // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2005. – Vol. 1739. – P.331–354. DOI: 10.1016/j.bbadis.2004.06.018

242. Buchan, A. M. A new model of temporary focal neocortical ischemia in the rat / A. M. Buchan, D. Xue, A. Slivka // *Stroke.* – 1992. – Vol. 23. – № 2. – P. 273–279. DOI: 10.1161/01.str.23.2.273

243. Burda, J. E. Reactive gliosis and the multicellular response to CNS damage and disease / J. E. Burda, M. V. Sofroniew // *Neuron.* – 2014. – Vol.81. – P. 229–248. DOI: 10.1016/j.neuron.2013.12.034

244. Busija, D. W. Mitochondrial mechanisms in cerebral vascular control: shared signaling pathways with preconditioning / D. W. Busija, P. V. Katakam // *J. Vasc. Res.* – 2014. – Vol. 51. – № 3. – P.175–189. DOI: 10.1159/000360765

245. Bolon, B. Best practices approach to neuropathologic assessment in developmental neurotoxicity testing / B. Bolon, R. Garman, K. Jensen // *Toxicol. Pathol.* – 2006. – Vol. 34. – P. 296–313. DOI: 10.1080/01926230600713269

a. Bruno, S. Cell cycle dependent expression and stability of the nuclear protein detected by Ki-67 antibody in HL-60 cells. / S. Bruno, Z. Darzynkiewicz // *Cell Prolif.* – 1992. – Vol. 25. – №1. – P. 31-40. DOI: 10.1111/j.1365-2184.1992.tb01435.x

246. Cai, W. Pericytes in brain injury and repair after ischemic stroke. / W. Cai, H. Liu, J. Zhao // *Translational Stroke Research.* – 2017. – Vol. 8. – № 2. – P. 107–121. DOI: 10.1007/s12975-016-0504-4

247. Candelario-Jalil, E. Injury and repair mechanisms in ischemic stroke: considerations for the development of novel neuro-therapeutics / E. Candelario-Jalil // *Curr. Opin. Investig. Drugs.* – 2009. – Vol. 10. – № 7. – P. 644–654.

248. Carmichael, S. T. Rodent models of focal stroke: size, mechanism, and purpose / S. T. Carmichael // *NeuroRx.* – 2005. – Vol. 2. – № 3. – P. 396–409. DOI: 10.1602/neurorx.2.3.396

249. Casano, A. M. Microglia: multitasking specialists of the brain / A. M. Casano, F. Peri // *Dev. Cell.* – 2015. – Vol. 32. – P. 469–477. DOI: 10.1016/j.devcel.2015.01.018

250. Castro, O. W. Comparative neuroanatomical and temporal characterization of FluoroJade-positive neurodegeneration after status epilepticus induced by systemic and intrahippocampal pilocarpine in Wistar rats / O. W. Castro, M. A. Furtado, C. Q. Tilelli [et al.] // *Brain res.* – 2011. – Vol. 1374. – P. 43–55. DOI: 10.1016/j.brainres.2010.12.012



251. Chalmers, G. R. Adaptability of the oxidative capacity of motoneurons / G. R. Chalmers, R. R. Roy, V. R. Edgerton // *Brain. Res.* – 1992. – Vol. 570. – № 1–2. – P. 1–10. DOI: 10.1016/0006-8993(92)90556-o
252. Chan, P. H. Mitochondria and neuronal death/survival signaling pathways in cerebral ischemia / P.H Chan // *Neurochem. Res.* – 2004. – Vol. 29. – № 11. – P. 1943–1949. DOI: 10.1007/s11064-004-6869-x
253. Chavez, J. C. Pharmacologic interventions for stroke: looking beyond the thrombolysis time window into the penumbra with biomarkers, not a stopwatch / J. C. Chavez, O. Hurko, F. C. Barone [et al.] // *Stroke.* – 2009. – Vol. 40. – № 10. – P. 558–563. DOI: 10.1161/STROKEAHA.109.559914
254. Chen, H. The role of Na-K-Cl co-transporter in cerebral ischemia / H. Chen, D. Sun // *Neurol. Res.* – 2005. – Vol. 27. – № 3. – P. 280–286. – DOI: 10.1179/016164105X25243
255. Chen, A. I. The neuroprotective roles of BDNF in hypoxic ischemic brain injury / A. I. Chen, L. J. Xiong, Y. U. Tong [et al.] // *Biomed. Rep.* – 2013. – Vol. 1. – № 2. – P. 167–176. DOI: 10.3892/br.2012.48
256. Chen, Z. The role of microglia in viral encephalitis: a review / Z. Chen, D. Zhong, G. Li // *Journal of Neuroinflammation.* – 2019. – Vol. 16. – № 1. – P. 76. DOI: 10.1186/s12974-019-1443-2
257. Cheng, M.  $\delta$ -Opioid receptor activation ameliorates lipopolysaccharide-induced inflammation and apoptosis by inhibiting the MAPK/caspase-3 pathway in BV2 microglial cells / M. Cheng, Y. Geng, Y. Chen // *Exp. Brain Res.* – 2020. – Vol. 239. – № 2. – P. 401–412. DOI: 10.1007/s00221-020-05983-9
258. Chisholm, N. C. Astrocytic response to cerebral ischemia is influenced by sex differences and impaired by aging / N. C. Chisholm, F. Sohrabji // *Neurobiology of disease.* – 2016. – Vol. 85. – P. 245–253. DOI: 10.1016/j.nbd.2015.03.028
259. Chou, C. H. In vitro modeling of the neurovascular environment by coculturing adult human brain endothelial cells with human neural stem cells / C. H. Chou, J. D. Sinden, P. O. Couraud // *PLoS ONE.* – 2014. – Vol. 9. – P. e106346. DOI: 10.1371/journal.pone.0106346
260. Cowan, M. Microglia: Immune Regulators of Neurodevelopment / M. Cowan, W. A. Petri Jr. // *Frontiers in immunology.* – 2018. – Vol. 9. – P. 2576. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02576
261. Crespo-Biel, N. Protein tau: prime cause of synaptic and neuronal degeneration in Alzheimer's disease / N. Crespo-Biel, C. Theunis, F. Van Leuven // *Int. J.*

Alzheimers Dis. – 2012. – Vol. 2012. – P. 251426. DOI: 10.1155/2012/251426

262. Cuartero, M. I. The Kynurenine Pathway in the acute and chronic phases of cerebral ischemia / M. I. Cuartero, J. Parra, A. García-Culebras [et al.] // *Curr Pharm Des.* – 2016. – Vol. 22. – № 8. – P. 1060–1073. DOI: 10.2174/1381612822666151214125950

263. Czurko, A. ‘Collapsed’ (argyrophilic, dark) neurons in rat model of transient focal cerebral ischemia / A. Czurko, H. Nishino // *Neurosci. Lett.* – 1993. – Vol. 162. – P. 71–74. DOI: 10.1016/0304-3940(93)90562-y

264. Dai, X. The trophic role of oligodendrocytes in the basal forebrain / X. Dai, L. D. Larcher, P. V. Clinton [et al.] // *J Neurosci.* – 2003. – Vol. 23. – № 13. – P. 5846–5853. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.23-13-05846.2003

265. Dalkara, T. Pericytes in Ischemic Stroke / T. Dalkara, L. Alarcon-Martinez, M. Yemisci // *Adv Exp Med Biol.* – 2019. – Vol.1147. – P. 189–213. DOI: 10.1007/978-3-030-16908-4-9

266. Damisah, E. C. Astrocytes and microglia play orchestrated roles and respect phagocytic territories during neuronal corpse removal in vivo / E. C. Damisah, R.A. Hill, A. Rai [et. al] // *Science Advances.* – 2020. – Vol.6. – № 26. – P. eaba3239. DOI: 10.1126/sciadv.aba3239

267. Darzynkiewicz, Z. Initiation and termination of DNA replication during S phase in relation to cyclins D1, E and A, p21WAF1, Cdt1 and the p12 subunit of DNA polymerase  $\delta$  revealed in individual cells by cytometry / Z. Darzynkiewicz, H. Zhao, S. Zhang [et. al] // *Oncotarget.* – 2015. – Vol.6. – № 14. – P. 11735–11750. DOI: 10.18632/oncotarget.4149

268. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes: text with EEA relevance 20.10.2010. – Strasbourg: Official Journal of the European Union, 2010.

269. Del Zoppo, G.J. Inflammation and the neurovascular unit in the setting of focal cerebral ischemia // *Neuroscience.* – 2009. – Vol.158. – № 3. – P. 972–982. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2008.08.028

270. Ding, Y. Evolutionary adaptation of Aquaporin-4 in Yak (*Bos grunniens*) brain to high-altitude hypoxia of Qinghai-tibetan plateau / Y. Ding, J. Liu, Y. Xu [et. al] // *High altitude medicine & biology.* – 2020. – Vol.21. – № 2. DOI: 10.1089/ham.2019.0076

271. Ding, Z.M. Neuroprotective effects of ischemic preconditioning and

postconditioning on global brain ischemia in rats through the same effect on inhibition of apoptosis / Z. M. Ding, B. Wu, W. Q. Zhang [et. al] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2012. – Vol. 13. – № 5. – P. 6089–6101. DOI: 10.3390/ijms13056089

272. Dirnagl, U. Pathobiology of injury after stroke: the neurovascular unit and beyond / U. Dirnagl // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2012. – Vol. 126 – P. 821–825. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2012.06691.x

273. Doyle, K. P. Neuropharmacology – Special issue on cerebral ischemia mechanisms of ischemic brain damage / K. P. Doyle, R. P. Simon, M. P. Stenzel-Poore // *Neuropharmacology.* – 2008. – Vol. 55. – № 3. – P. 310–318. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2008.01.005

274. Dreier, J. P Spreading depolarization is not an epiphenomenon but the principal mechanism of the cytotoxic edema in various gray matter structures of the brain during stroke / J. P. Dreier, C. L. Lemale, V. Kola [et. al] // *Neuropharmacol.* – 2018. – Vol. 15. – № 134 – P.189–207. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2017.09.027

275. Duggal, N. Nestin expression in reactive astrocytes following focal cerebral ischemia in rats / N. Duggal, R. Schmidt-Kastner, A. M. Hakim // *Brain.* – 1997. – Vol. 768. – № 1–2. – P. 1–9. DOI: 10.1016/s0006-8993(97)00588-x

276. Duncan, G. J. Neuron-Oligodendrocyte Interactions in the Structure and Integrity of Axons / G. J. Duncan, T. J. Simkins, B. Emery // *Front Cell Dev Biol.* – 2021. – Vol. 9. – P. 653101. DOI: 10.3389/fcell.2021.653101

277. Einarson, L. Variation in the basophilia of nerve cells associated with increased cell activity and functional stress / L. Einarson, E. Krogh // *J. Neurol. Neurosurg Psychiatry.* – 1955. – Vol. 18. – № 1. – P. 1–12. DOI: 10.1136/jnnp.18.1.1

278. Ernst, C. Nestin-expressing cells and their relationship to mitotically active cells in the subventricular zones of the adult rat / C. Ernst, B. R. Christie // *Eur. J. Neurosci.* – 2005. – Vol. 22. – № 2. – P. 3059-3066. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2005.04499.x

279. Espejel, S. Radiation damage increases Purkinje neuron heterokaryons in neonatal cerebellum / S. Espejel, R. Romero, A. Alvarez-Buylla // *Ann. Neurol.* – 2009. – Vol. 66. – P. 100–109. DOI: 10.1002/ana.21670

280. Espinosa-Oliva, A. M. Brainiac caspases: beyond the wall of apoptosis / A. M. Espinosa-Oliva, J. García-Revilla, I. M. Alonso-Bellido [et al.] // *Front. Cell Neurosci.* – 2019. – Vol. 13. – P. 500. DOI: 10.3389/fncel.2019.00500

281. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – ETS № 123, Strasbourg, 1986. – P. 34–42.

282. Failla, M. D. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in traumatic brain injury-related mortality: interrelationships between genetics and acute systemic and central nervous system BDNF profiles / M. D. Failla, Y. P. Conley, A. K. Wagner // *Neurorehabil. Neural. Repair.* – 2016. – Vol. 30. – № 1. – P. 83–93. DOI: 10.1177/1545968315586465

283. Fares, J. Neurogenesis in the adult hippocampus: history, regulation, and prospective roles / J. Fares, Z. Bou Diab, S. Nabha [et al.] // *Int. J. Neurosci.* – 2019. – Vol. 129. – № 6. – P. 598–611. DOI: 10.1080/00207454.2018.1545771

284. Fedorova, E. Nuclear architecture and gene regulation / E. Fedorova, D. Zink // *Biochimica et Biophysica Acta.* – 2008. – Vol. 1783. – № 11. – P. 2174–2184. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2008.07.018

285. Fernandez, E. Are neurons multifractals? / E. Fernandez, J. A. Boleaa, G. Ortégab [et al.] // *J. Neurosci. Methods.* – 1999. – Vol. 89. – № 2. – P. 151–157. DOI: 10.1016/S0165-0270(99)00066-7

286. Ferrer, I. Neuropathology of cerebrovascular diseases / I. Ferrer, N. Vidal // *Handb. Clin. Neurol.* – 2017. – Vol. 145. – P. 79–114. DOI: 10.1016/B978-0-12-802395-2.00007-9

287. Ferriero, D. M. Imaging selective vulnerability in the developing nervous system / D. M. Ferriero, S. P. Miller // *J. Anat.* – 2010. – Vol. 217. – P. 429–435. DOI: 10.1111/j.1469-7580.2010.01226.x

288. Feuerstein, D. Detecting tissue deterioration after brain injury: regional blood flow level versus capacity to raise blood flow / D. Feuerstein, M. Takagaki, M. Gramer [et al.] // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* – 2014 Jul. – Vol. 34. – № 7. – P. 1117–1127. DOI:10.1038/jcbfm.2014.53

289. Fields, R. D. Glial regulation of the neuronal connectome through local and long-distant communication / R. D. Fields, D. H. Woo, P. J. Basser // *Neuron.* – 2015. – Vol. 86. – № 2. – P. 374–386. DOI: 10.1016/j.neuron.2015.01.014

290. Filosa, J. A. Beyond neurovascular coupling, role of astrocytes in the regulation of vascular tone / J. A. Filosa, H. W. Morrison, J. A. Iddings [et al.] // *Neuroscience.* – 2015. – Vol. 323. – P. 96 – 109. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2015.03.064

291. Fluss, J. Perinatal arterial ischemic stroke related to carotid artery occlusion / J. Fluss, S. Garcia-Tarodo, M. Granier [et al.] // *Eur J Paediatr Neurol.* – 2016. – Vol. 20. – № 4. – P. 639–648. DOI: 10.1016/j.ejpn.2016.03.003

292. Fredduzzi, S. Generalized induction of 72-kDa heat-shock protein after

transient focal ischemia in rat brain / S. Fredduzzi, M. T. Mariucci, M. V. Ambrosini [et al.] // *Exp. Brain Res.* – 2001. – Vol. 136. – P. 19–24. DOI: 10.1007/s002210000564

293. Frost, S. B. An animal model of capsular infarct: endothelin-1 injections in the rat / S. B. Frost, S. Barbay, M. L. Mumert [et al.] // *Behav. Brain Res.* – 2006. – Vol. 169. – № 2. – P. 206–211. DOI: 10.1016/j.bbr.2006.01.014

294. Fukuda, S. Two distinct subpopulations of nestin-positive cells in adult mouse dentate gyrus. / S. Fukuda, F. Kato, Y. Tozuka [et al.] // *J. Neurosci.* – 2003. – Vol. 23. – № 28. – P. 9357–9366. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.23-28-09357.2003

295. Gallyas, F. Pathological circumstances impair the ability of «dark» neurons to undergo spontaneous recovery / F. Gallyas, B. Gasz, A. Szigeti [et al.] // *Brain Res.* – 2006. – Vol. 1110. – P. 211–220. DOI: 10.1016/j.brainres.2006.06.078

296. Gallyas, F. Novel cell-biological ideas deducible from morphological observations on «dark» neurons revisited / F. Gallyas // *Ideggyogy. Sz.* – 2007. – Vol. 60. – № 5 – 6. – P. 212–222. PMID: 17578268

297. Gallyas, F. Supravital microwave experiments support that the formation of “dark” neurons is propelled by phase transition in an intracellular gel system / F. Gallyas, J. Pal, P. Bukovics // *Brain Res.* – 2009. – Vol. 1270. – P. 152–156. DOI: 10.1016/j.brainres.2009.03.020

298. Galluzzi, L. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring cell death in higher eukaryotes / L. Galluzzi, S. A. Aaronson, J. Abrams [et al.] // *Cell death and differentiation.* – 2009. – Vol. 16. – P. 1093–1107. DOI: 10.1038/cdd.2009.44

299. Garman, R. H. Histology of the central nervous system / R. H. Garman // *Toxicol. Pathol.* – 2011. – Vol. 39. – P. 22–35. DOI: 10.1177/0192623310389621

300. Gennaro, M. Rodent models of developmental ischemic stroke for translational research: strengths and weaknesses / M. Gennaro, A. Mattiello, T. Pizzorusso // *Neural Plast.* – 2019. – Vol. 2019. – P. 5089321. DOI: 10.1155/2019/5089321

301. Gesuete, R. Glial cells drive preconditioning-induced blood-brain barrier protection / R. Gesuete, F. Orsini, E. R. Zanier [et al.] // *Stroke.* – 2011. – Vol. 42. – № 5. – P. 1445–1453. DOI: 10.1161/STROKEAHA.110.603266

302. Giffard, R. Chaperones, protein aggregation, and brain protection from hypoxic/ischemic injury / R. Giffard, Xu. Lijun, Zh. Heng [et al.] // *J. Experim. Biol.* – 2004. – Vol. 207. – P. 3213–3220. DOI: 10.1242/jeb.01034

303. Gill, R. Systemic administration of MK-801 protects against ischemia-induced hippocampal neurodegeneration in the gerbil / R. Gill, A. Foster, G. Woodruff // *Neurosci.* – 1987. – Vol. 7. – P. 3343–3349. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.07-10-03343
304. Giordano-Santini, R. Cell-cell fusion in the nervous system: Alternative mechanisms of development, injury, and repair / R. Giordano-Santini, C. Linton, M. A. Hilliard // *Semin. Cell Dev. Biol.* – 2016. – Vol. 60. – P. 146–154. DOI: 10.1016/j.semcdb.2016.06.019
305. Giordano-Santini, R. Fusogen-mediated neuron-neuron fusion disrupts neural circuit connectivity and alters animal behavior / R. Giordano-Santini, E. Kaulicha, K. M. Galbraith [et al.] // *PNAS.* – 2020. – Vol. 117. – № 37. – P. 23054–23065. DOI: 10.1073/pnas.1919063117
306. Goodall, M. L. The Autophagy Machinery Controls Cell Death Switching between Apoptosis and Necroptosis. / M. L. Goodall, B. E. Fitzwalter, S. Zahedi [et al.] // *Developmental Cell.* – 2016. – Vol. 37. – № 4. – P. 337–349. DOI: 10.1016/j.devcel.2016.04.018
307. Granger, D. N. Reperfusion injury and reactive oxygen species: The evolution of a concept / D. N. Granger, P. R. Kvietys // *Redox Biology.* – 2015. – Vol. 6. – P. 524–551. DOI: 10.1016/j.redox.2015.08.020
308. Gray, J. D. Dynamic plasticity: the role of glucocorticoids, brain-derived neurotrophic factor and other trophic factors / J. D. Gray, T. A. Milner, B. S. McEwen // *Neuroscience.* – 2013. – Vol. 239. – P. 214–227. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2012.08.034
309. Grieves, R. M. Field repetition and local mapping in the hippocampus and the medial entorhinal cortex / R. M. Grieves, É. Duvelle, E. R. Wood [et al.] // *J. Neurophysiol.* – 2017. – Vol. 118. – № 4. – P. 2378–2388. DOI: 10.1152/jn.00933.2016
310. Guan, R. Mitophagy, a potential therapeutic target for stroke / R. Guan, W. Zou, X. Dai [et al.] // *J. Biomed. Sci.* – 2018. – Vol. 25. – № 1. – P. 87. DOI: 10.1186/s12929-018-0487-4
311. Hagberg, H. Apoptotic mechanisms in the immature brain: Involvement of Mitochondria / H. Hagberg, C. Mallard, C. I. Rousset [et al.] // *J Child Neurol.* – 2009. – Vol. 24. – № 9. – P. 1141–1146. DOI: 10.1177/0883073809338212
312. Hao, C. H. Effect of human recombinant prourokinase (rhpro-UK) on thromboembolic stroke in rats / C. H. Hao, W. X. Ding, Q. Sun [et al.] // *Eur J*

Pharmacol. – 2018. – Vol. 818. – P. 429–434. DOI:10.1016/j.ejphar.2017.11.026

313. Hara, A. Protective effect of apoptosis-inhibitory agent, N-tosyl-L-phenylalanyl chloromethyl ketone against ischemia-induced hippocampal neuronal damage / A. Hara, M. Niwa, M. Nakashima [et al.] // *J. Cereb. Blood Flow. Metab.* – 1998. – Vol. – 18. – № 8. – P. 819–823. DOI: 10.1097/00004647-199808000-00001

314. Harish, G., Characterization of traumatic brain injury in human brains reveals distinct cellular and molecular changes in contusion and pericontusion / G. Harish, A. Mahadevan, N. Pruthi [et al.] // *J Neurochem.* – 2015. – Vol. 134. – № 1 – P. 156–172. DOI: 10.1111/jnc.13082

315. Harris, J. L. Probing astrocyte metabolism in vivo: proton magnetic resonance spectroscopy in the injured and aging brain / J. L. Harris, I. Y. Choi, W. M. Brooks // *Frontiers in aging neuroscience.* – 2015. – Vol. 7. – P. 202–221. DOI: 10.3389/fnagi.2015.00202

316. Harry, G. J. Microglia during development and aging / G. J. Harry // *Pharmacology & therapeutics.* – 2013. – Vol. 139. – № 3. – P. 313–326. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2013.04.013

317. He, Z. A Working Module for the Neurovascular Unit in the Sexually Dimorphic Nucleus of the Preoptic Area / Z. He // *Mol. Neurobiol.* – 2018. – Vol. 55. – № 1. – P. 156–163. DOI: 10.1007/s12035-017-0729-6

318. Herbert, A. D. FindFoci: a focus detection algorithm with automated parameter training that closely matches human assignments, reduces human inconsistencies and increases speed of analysis / A. D. Herbert, A. M. Carr, E. Hoffmann // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9. – № 12. – P. e114749. DOI: 10.1371/journal.pone.0114749

319. Hinzman, J. M. Spreading depolarizations mediate excitotoxicity in the development of acute cortical lesions / J. M. Hinzman, V. A. DiNapoli., E. J. Mahoney [et al.] // *Exp Neurol.* – 2015. – Vol. 267. – P. 243–253. DOI: 10.1016/j.expneurol.2015.03.014

320. Hiramatsu, K., A reproducible model of reversible, focal, neocortical ischemia in Sprague-Dawley rat / K. Hiramatsu, N. F Kassell, Y. Goto [et al.] // *Acta Neurochir. (Wien).* – 1993. – Vol. 120. – № 1–2. P. 66–71. DOI: 10.1007/BF02001472

321. Hobbiss, A. F. Homeostatic plasticity scales dendritic spine volumes and changes the threshold and specificity of Hebbian plasticity / A. F. Hobbiss, Y.

Ramiro-Cortés, I. Israely // *iScience*. – 2018. – Vol. 8. – P. 161–174. DOI: 10.1016/j.isci.2018.09.015

322. Holmes, G. L. Epilepsy in the developing brain: lessons from the laboratory and clinic. / G. L. Holmes // *Epilepsia*. – 1997. – Vol. 38. – №. 1. – P. 12–30. DOI: 10.1111/j.1528-1157.1997.tb01074.x

323. Hu, Z. Mechanism and regulation of autophagy and its role in neuronal diseases / Z. Hu, B. Yang, X. Mo [et al.] // *Mol Neurobiol*. – 2015. – Vol. 52. – №. 3. – P. 1190–1209. DOI: 10.1007/s12035-014-8921-4

324. Huang, L. A systematic review of neuroprotective strategies after cardiac arrest: from bench to bedside (part II-comprehensive protection) / L. Huang, P. M. Applegate, J. W. Gatling [et al.] // *Med. Gas. Res.* – 2014. – Vol. 4. – P. 10. DOI: 10.1186/2045-9912-4-10

325. Ichim, G. Limited mitochondrial permeabilization causes DNA damage and genomic instability in the absence of cell death / G. Ichim, J. Lopez, S. Ahmed [et al.] // *Mol. Cell*. – 2015. – Vol. 57. – P. 860–872. DOI: 10.1016/j.molcel.2015.01.018

326. Ito, U. Degeneration of astrocytic processes and their mitochondria in cerebral cortical regions peripheral to the cortical infarction: heterogeneity of their disintegration is closely associated with disseminated selective neuronal necrosis and maturation of injury / U. Ito, Y. Hakamata, E. Kawakami [et al.] // *Stroke*. – 2009. – Vol. 40 – № 6. – P. 2173–2181. DOI: 10.1161/STROKEAHA.108.534990

327. **J**

328. Janardhan, V. Mechanisms of ischemic brain injury / V. Janardhan, A. I. Qureshi // *Curr Cardiol Rep*. – 2004. – Vol. 6. – № 2. – P. 117–123. DOI: 10.1007/s11886-004-0009-8

329. Jordan, W. H. Preparation and analysis of the central nervous system / W. H. Jordan, J. K. Young, M. J. Hyten [et al.] // *Toxicol Pathol*. – 2011. – V. 39. – № 1. – P. 58–65. DOI: 10.1177/0192623310391480

330. Jortner, B. S. The return of the dark neuron. A histological artifact complicating contemporary neurotoxicologic evaluation / B. S. Jortner // *Neurotoxicol*. – 2006. – Vol. 27. – № 4. – P. 628–634. DOI: 10.1016/j.neuro.2006.03.002

331. Kane, D. J. Expression of bcl-2 inhibits necrotic neural cell death / D. J. Kane, T. Ord, R. Anton [et al.] // *J. Neurosci. Res*. – 1995. – Vol. 40. – P. 269–275. DOI: 10.1002/jnr.490400216

332. Karperien, A. Quantitating the subtleties of microglial morphology with



fractal analysis / A. Karperien, H. Ahammer, H. F. Jelinek // *Front. Cell. Neurosci.* – 2013. – Vol. 7. – № 3. – P. 1–18. DOI: 10.3389/fncel.2013.00003

333. Kawabori, M. Inflammatory responses in brain ischemia / M. Kawabori, M. A. Yenari // *Curr. Med. Chem.* – 2015. – Vol. 22. – № 10. – P. 1258–1277. DOI: 10.2174/0929867322666150209154036

334. Keep, R. F. This was the year that was: brain barriers and brain fluid research / R. F. Keep, H. C. Jones, L. R. Drewes // *Fluids Barriers CNS.* – 2020. – Vol. 17. – № 1. – P. 20. DOI: 10.1186/s12987-020-00181-9

335. Kemp, K. Purkinje cell fusion and binucleate heterokaryon formation in multiple sclerosis cerebellum / K. Kemp, E. Gray, A. Wilkins [et al.] // *Brain.* – 2012. – Vol. 135. – P. 2962–2972. DOI: 10.1002/ana.21670

336. Kemp, K. Cell fusion in the brain: two cells forward, one cell back / K. Kemp, A. Wilkins, N. Scolding // *Acta Neuropathol.* – 2014. – Vol. 128. – P. 629–638. DOI: 10.1007/s00401-014-1303-1

337. Kettenmann, H. Physiology of microglia / H. Kettenmann, U. K. Hanisch, M. Noda [et al.] // *Physiol Rev.* – 2011. – Vol. 91. – № 2. – P. 461–553. DOI: 10.1152/physrev.00011.2010

a. Khalil, H. Caspase 3 protects stressed organs against cell death / H. Khalil, N. Peltzer, J. Walicki [et al.] // *Mol. Cell Biol.* – 2012. – Vol. 32. – P. 4523–4533. DOI: 10.1128/mcb.00774-12

338. Kimura, A. Neuroprotection, growth factors and BDNF-TrkB signalling in retinal degeneration / A. Kimura, K. Namekata, X. Guo [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2016. – Vol. 17. – № 9. – P. 1584. DOI: 10.3390/ijms17091584

339. Kirik, O. V. Neural stem cell markers nestin and musashi-1 in rat telen-cephalon cells after transient focal ischemia / O. V. Kirik, T. D. Vlasov, D. E. Korzhevskii // *Neuroscience and Behavioral Physiology.* – 2013. – Vol. 43. – № 5. – P. 587–591. DOI: 10.1007/s11055-013-9776-2

340. Koizumi, J. Experimental studies of ischemic brain edema: a new experimental model of cerebral embolism in rats in which recirculation can be introduced in the ischemic area / J. Koizumi, Y. Yoshida, T. Nakazawa [et al.] // *Jpn. J. Stroke.* – 1986. – Vol. 8. – P. 1–8. DOI: 10.3995/jstroke.8.1

341. Korzhevskii, D. E. Induction of nestin synthesis in rat brain cells by ischemic damage / D. E. Korzhevskii, M. V. Lentsman, A. V. Gilyarov // *Neuroscience and Behavioral Physiology.* – 2008. – Vol. 38. – № 2. – P. 139–143. DOI: 10.1007/s11055-008-0020-4

342. Korzhevskii, D. E. Structural organization of striatal microglia after transient focal ischemia / D. E. Korzhevskii, O. V. Kirik, E. G. Sukhorukova [et al.] // *Neuroscience and behavioral physiology*. – 2013. – Vol. 43. – № 4. – P. 457–460. PMID: 22913134

343. Korzhevskii, D. E. Immunocytochemistry of microglial cells. In: *Immunocytochemistry and related techniques* / D. E. Korzhevskii, O. Kirik, E. Sukhorukova // Humana Press. – 2015. – Vol. 101. – P. 209–224. DOI: 10.1007/978-1-4939-2313-7\_12

344. Korzhevskii, D. E. Brain microglia and microglial markers. / D. E. Korzhevskii, O. V. Kirik // *Neurosci. Behav. Physiol.* – 2016. – Vol. 46. – № 3. – P. 284–290. DOI: 10.1007/s11055-016-0231-z

345. Kövesdi, E. The fate of "dark" neurons produced by transient focal cerebral ischemia in a non-necrotic and non-excitotoxic environment: neurobiological aspects / E. Kövesdi, J. Pál, F. Gallyas // *Brain Res.* – 2007. – Vol. 1147. – P. 272–283. DOI: 10.1016/j.brainres.2007.02.011

346. Kosi, N. Nop2 is expressed during proliferation of neural stem cells and in adult mouse and human brain / N. Kosi, I. Alić, M. Kolačević [et al.] // *Brain Res.* – 2015. – Vol. 1597. – P. 65–76. DOI: 10.1016/j.brainres.2014.11.040

347. Kravtsov, V. The fusogen AFF-1 can rejuvenate the regenerative potential of adult dendritic trees by self-fusion / V. Kravtsov, M. Oren-Suissa, B. Podbilewicz // *Development*. – 2017. – Vol. 144. – № 13. – P. 2364–2374. DOI: 10.1242/dev.150037

348. Kriehoff-Henning, E. Role of nuclear bodies in apoptosis signaling / E. Kriehoff-Henning, T. G. Hofmann // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2008. – Vol. 1783. – P. 2185–2194. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2008.07.002

349. Krishnamurthy, S. A proposed role for efflux transporters in the pathogenesis of hydrocephalus / S. Krishnamurthy, M. D. Tichenor, A. G. Satish [et al.] // *Croat Med. J.* – 2014. – Vol. 55. – № 4. – P. 366–376. DOI: 10.3325/cmj.2014.55.366

350. Krueger, M. Endothelial edema precedes blood-brain barrier breakdown in early time points after experimental focal cerebral ischemia / M. Krueger, B. Mages, C. Hobusch [et al.] // *Acta Neuropathologica Communications*. – 2019. – Vol. 7. – P. 17. DOI: 10.1186/s40478-019-0671-0

351. Lannes, N. Microglia at center stage: a comprehensive review about the versatile and unique residential macrophages of the central nervous system / N.

Lannes, E. Eppler, S. Etemad [et al.] // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8. – № 69. – P. 114393–114413. DOI: 10.18632/oncotarget.23106

352. Launay, S. Vital functions for lethal caspases / S. Launay, O. Hermine, M. Fontenay [et al.] // *Oncogene*. – 2005. – Vol. 24. – № 33. – P. 5137–5148. DOI: 10.1038/sj.onc.1208524

353. Leal, G. BDNF and Hippocampal Synaptic Plasticity / G. Leal, C. R. Bramham, C. B. Duarte // *Vitam Horm*. – 2017. – Vol. 104. – P. 153–195. DOI: 10.1016/bs.vh.2016.10.004

354. Legéndy, C. R. On the 'data stirring' role of the dentate gyrus of the hippocampus / C. R. Legéndy // *Rev Neurosci*. – 2017. – Vol. 28. – № 6. – P. 599–615. DOI: 10.1515/revneuro-2016-0080

355. Lendahl, U. CNS stem Cells express a new class of intermediate filament protein / U. Lendahl, L. B. Zimmerman, R. D. McKay // *Cell*. – 1990. – Vol. 60. – № 4. – P. 585–595. DOI: 10.1016/0092-8674(90)90662-x

356. Lipton, P. Ischemic cell death in brain neurons / P. Lipton // *Physiological reviews*. – 1999. – V. 79, – № 4. – P. 1431–1568. DOI: 10.1152/physrev.1999.79.4.143

357. Liu, S. The role of pericytes in blood-brain barrier function and stroke / S. Liu, D. Agalliu, C. Yu [et al.] // *Current Pharmaceutical Design*. – 2012. – Vol. 18. – № 25. – P. 3653–3662. DOI: 10.2174/138161212802002706

358. Lok, J. Cell-cell signaling in the neurovascular unit / J. Lok, P. Gupta, S. Guo [et al.] // *Neurochem. Res*. – 2007. – Vol. 32. – № 12. – P. 2032–2045. DOI: 10.1007/s11064-007-9342-9

359. Lopez, M. S Modeling transient focal ischemic stroke in rodents by intraluminal filament method of middle cerebral artery occlusion / M. S. Lopez, R. Vemuganti // *Methods Mol Biol*. – 2007. – Vol. 1717. – P. 101–113. DOI: 10.1007/978-1-4939-7526-6\_9

360. Lorente, I. L. Biomarkers associated with the outcome of traumatic brain injury patients / I. L. Lorente // *Brain Sci*. – 2017. – Vol. 7. – № 11. – P. 142. DOI: 10.3390/brainsci7110142

361. Lossinsky, A. S. Structural pathways for macromolecular and cellular transport across the blood-brain barrier during inflammatory conditions / A. S. Lossinsky, R. R. Shivers // *Histology and Histopathology*. – 2004. – Vol. 19. – № 2. – P. 535–564. DOI: 10.14670/HH-19.535

362. Luo, Y. Study on the correlation between syn-aptic reconstruction and

astrocyte after ischemia and the influence of electroacupuncture on rats / Y. Luo, N.G. Xu, W. Yi [et al.] // *Chin. J. Integr. Med.* – 2011. – Vol. 17. – № 10. – P. 750–757. DOI: 10.1007/s11655-011-0754-7

363. Maurer L. L. The mechanisms of neurotoxicity and the selective vulnerability of nervous system sites / L. L. Maurer, M. A. Philbert // *Handb Clin Neurol.* – 2015. – Vol. 131. – P. 61–70. DOI: 10.1016/B978-0-444-62627-1.00005-6

364. Mayhew, T. M. Basic stereological relationships for quantitative microscopical anatomy – a simple systematic approach / T. M. Mayhew // *J Anat.* – 1979. – Vol. 129. – № Pt 1. – P. 95–105. PMID: 511775

365. McGraw, C. P. Experimental cerebral infarction: effects of pentobarbital in Mongolian gerbils / C. P. McGraw // *Arch. Neurol.* – 1977. – Vol. 34. – № 6. – P. 334–336. DOI: 10.1001/archneur.1977.00500180028006

366. McLaughlin, B. Caspase 3 activation is essential for neuroprotection in preconditioning / B. McLaughlin, K. A. Hartnett, J. A. Erhardt [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2003. – Vol. 100. – № 2. – P. 715–720. DOI: 10.1073/pnas.0232966100

367. Meerson, F. Z. Differences in adaptive stabilization of structures in response to stress and hypoxia relate with the accumulation of hsp 70 isoforms / F.Z. Meerson, I.Yu. Malyshev, A.V. Zamotrinsky // *Mol. Cell Biochem.* – 1992. – Vol. 111. – № 1–2. – P. 87–95. DOI: 10.1007/bf00229578

368. Meininger, G. A. Cellular mechanism involved in the vascular myogenic response / G. A. Meininger, M. J. Davis // *Am. J. Physiol.* – 1992. – Vol. 263 – № 3 pt. 2. – P. H647–H659. DOI: 10.1152/ajpheart.1992.263.3.H647

369. Merino, J. G. Imaging of acute stroke / J. G. Merino, S. Warach // *Nat Rev Neurol.* – 2010. – V. 6. – № 10. – P. 560–571. DOI: 10.1038/nrneurol.2010.129

370. Miller, S. M. Functions of adult-born neurons in hippocampal memory interference and indexing / S. M. Miller, A. Sahay // *Nat Neurosci.* – 2019. – Vol. 22. – № 10. – P. 1565–1575. DOI: 10.1038/s41593-019-0484-2

371. Mitroshina, E. V. Application of the AAVSyn-BDNF-EGFP virus vector as a neuroprotective agent in modeling hypoxia in vitro / E. V. Mitroshina, E. A. Epifanova, T. A. Mishchenko [et al.] // *Sovremennye tehnologii v medicine.* – 2018. – Vol. 10. – № 2. – P. 47–56. DOI: 10.17691/stm2018.10.2.05

372. Mohn, T. C. Adult astrogenesis and the etiology of cortical neurodegeneration / T. C. Mohn, A. O. Koob // *J. Exp. Neurosci.* – 2015. – Vol. 9. – № Suppl 2. – P. 25–34. DOI: 10.4137 / JEN.S25520

373. Molofsky, A. V. Astrocyte development: a guide for the perplexed / A. V. Molofsky, B. Deneen // *Glia*. – 2015. – Vol. 63. – № 8. – P. 1320–1329. DOI: 10.1002/glia.22836
374. Morales, A. A. Reactive oxygen species are not required for an arsenic trioxide-induced antioxidant response or apoptosis / A. A. Morales, D. Gutman, P. J. Cejas [et al.] // *J Biol Chem*. – 2009. – Vol. 284. – № 19. – P. 12886–12895. DOI: 10.1074/jbc.M806546200
375. Morgan, B. P. Complement, a target for therapy in inflammatory and degenerative diseases / B. P. Morgan, C. L. Harris // *Nat. Rev. Drug Discov*. – 2015. – Vol. 14. – № 12. – P. 857–877. DOI: 10.1038/nrd4657
376. Morris, G. E. The Cajal body / G. E. Morris // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2008. – Vol. 1783. – № 11. – P. 2108–2115. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2008.07.016
377. Morris, M. The many faces of tau / M. Morris, S. Maeda, K. Vossel [et al.] // *Neuron*. – 2011. – Vol. 70. – № 3. – P. 410–426. DOI: 10.1016/j.neuron.2011.04.009
378. Mountcastle, V. B. The columnar organization of the neocortex / V. B. Mountcastle // *Brain*. – 1997. – Vol. 120. – № pt. 4. – P. 701–722. DOI: 10.1093/brain/120.4.701
379. Moser, E. I., Spatial representation in the hippocampal formation: a history / E. I. Moser, M. B. Moser, B. L. McNaughton // *Nat Neurosci*. – 2017. – Vol. 20. – № 11. – P. 1448–1464. DOI: 10.1038/nn.4653
380. Muller, G. J. Ischemia leads to apoptosis-and necrosis-like neuron death in the ischemic rat hippocampus / G. J. Muller, C. Stadelmann, L. Bastholm [et al.] // *Brain Pathol*. – 2004. – Vol. 14. – № 4. – P. 415–424. DOI: 10.1111/j.1750-3639.2004.tb00085.x
381. Murphy, B. J. Activation of metallothionein gene expression by hypoxia involves metal response elements and metal transcription factor-1 / B. J. Murphy, G. K. Andrews, D. Bittel [et al.] // *Cancer Res*. – 1999. – Vol. 59. – № 6. – P. 1315–1322. PMID: 10096565
382. Nahirney, P. C. Ultrastructural analysis of blood–brain barrier breakdown in the peri-infarct zone in young adult and aged mice / P. C. Nahirney, P. Reeson, C. E. Brown // *J Cereb Blood Flow Metab*. – 2016. – Vol. 36. – № 2. – P. 413–425. DOI: 10.1177/0271678X15608396
383. Nakagawa, S. Pericytes from brain microvessels strengthen the barrier

integrity in primary cultures of rat brain endothelial cells / S. Nakagawa, M. A. Deli, S. Nakao [et al.] // *Cellular and Molecular Neurobiology*. – 2007. – Vol. 27. – № 6. – P. 687–694. DOI: 10.1007/s10571-007-9195-4

384. Nakagawa, S. A new blood-brain barrier model using primary rat brain endothelial cells, pericytes and astrocytes / S. Nakagawa, M. A. Deli, H. Kawaguchi [et al.] // *Neurochemistry International*. – 2009. – Vol. 54. – № 3–4. – P. 253–263. DOI: 10.1016/j.neuint.2008.12.002

385. Namestnikova, D. MRI evaluation of frequent complications after intra-arterial transplantation of mesenchymal stem cells in rats / D. Namestnikova, I. Gubskiy, D. Vishnevskiy [et al.] // *Journal of Physics: Conference Series*. – 2017. – Vol. 886. – № 1. – P. 012012. – DOI 10.1088/1742-6596/886/1/012012

386. Naranjo, D. Brain ischemia in patients with intracranial hemorrhage: pathophysiological reasoning for aggressive diagnostic management / D. Naranjo, M. Arkuszewski, W. Rudzinski [et al.] // *Neuroradiol. J.* – 2013. – Vol. 26. – № 6. – P. 610–628. DOI: 10.1177/197140091302600603

387. Narula, J. Mechanisms of disease: apoptosis in heart failure – seeing hope in death / J. Narula, N. Haider, E. Arbustini [et al.] // *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.* – 2006. – Vol. 3. – № 12. – P. 681–688. DOI: 10.1038/ncpcardio0710

388. Nemethova, M. Ischemic postconditioning in the rat hippocampus: mapping of proteins involved in reversal of delayed neuronal death / M. Nemethova, V. Danielisova, M. Gottlieb [et al.] // *Arch. Ital. Biol.* – 2010. – Vol. 148. – № 1. – P. 23–32. PMID: 20426251

389. Nguyen-Huynh, M. N. Transient ischemic attack: a neurologic emergency / M. N. Nguyen-Huynh, S. C. Johnston, // *Current neurology and neuroscience reports*. – 2005. – Vol. 5. – № 1. – P. 13–20. DOI: 10.1007/s11910-005-0018-z

390. Niizuma, K. Mitochondrial and apoptotic neuronal death signaling pathways in cerebral ischemia / K. Niizuma, H. Yoshioka, H. Chen [et al.] // *Biochim Biophys Acta*. – 2010. – Vol. 1802. – № 1. – P. 92–99. DOI: 10.1016/j.bbadis.2009.09.002

391. Nikolaus, S. In vivo imaging of synaptic function in the central nervous system: I. Movement disorders and dementia / S. Nikolaus, C. Antke, H. W. Muller // *Behav. Brain Res.* – 2009. – Vol. 204. – № 1. – P. 1–31. DOI: 10.1016/j.bbr.2009.06.008

392. Nikolettou, V. Crosstalk between apoptosis, necrosis and autophagy / V. Nikolettou, M. Markaki, K. Palikaras [et al.] // *Biochimica et Biophysica Acta*.

- 2013. – Vol. 1833. – № 12. – P. 3448–3459. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2013.06.001
393. Nikonenko, A. G. Structural features of ischemic damage in the hippocampus / A. G. Nikonenko, L. Radenovic, P. R. Andjus [et al.] // *Anat Rec (Hoboken)*. – 2009. – Vol. 292. – № 12. – P.1914–1921. DOI: 10.1002/ar.20969
394. Nishi, K. Histochemical characteristic of perivascular space in the brain with an advanced edema / K. Nishi, A. Tanegashima, Y. Yamamoto [et al.] // *Leg Med (Tokyo)*. – 2003. – № 5 Suppl 1 – P. S280–4. DOI: 10.1016/s1344-6223(02)00150-5
395. Norden, D. M. Sequential activation of microglia and astrocyte cytokine expression precedes increased iba-1 or GFAP Immunoreactivity following systemic immune challenge / D. M. Norden, P. J. Trojanowski, E. Villanueva [et al.] // *Glia*. – 2016. – Vol. 64. – № 2. – P. 300–316. DOI: 10.1002/glia.22930
396. Nudo, R. J. Functional and structural plasticity in motor cortex: implications for stroke recovery / R. J. Nudo // *Phys. Med. Rehabil. Clin. N. Am.* – 2003. – Vol. 14. – № 1 Suppl. – P. 57–76. DOI: 10.1016/s1047-9651(02)00054-2
397. Ohsumi, Y. Yoshinori Ohsumi: autophagy from beginning to end. Interview by Caitlin Sedwick / Y. Ohsumi // *J Cell Biol.* – 2012. – Vol. 197. – № 2. – P 164–165. DOI: 10.1083/jcb.1972pi
398. Oksanen, M. Astrocyte alterations in neurodegenerative pathologies and their modeling in human induced pluripotent stem cell platforms / M. Oksanen, S. Lehtonen, M. Jaronen [et al.] // *Cellular and Molecular Life Sciences*. – 2019. – Vol. 76. – № 14. – P. 2739–2760. DOI: 10.1007/s00018-019-03111-7
399. Ooigawa, H. The fate of Nissl-stained dark neurons following traumatic brain injury in rats: difference between neocortex and hippocampus regarding survival rate / H. Ooigawa, H. Nawashiro, S. Fukui [et al.] // *Acta Neuropathol.* – 2006. – Vol. 112. – № 4. – P. 471–481. DOI: 10.1007/s00401-006-0108-2
400. Orellana, J. A. Prenatal nicotine exposure enhances Cx43 and Panx1 unopposed channel activity in brain cells of adult offspring mice fed a high-fat/cholesterol diet / J. A. Orellana, D. Busso, G. Ramírez [et al.] // *Front Cell Neurosci.* – 2014. – Vol. 8. – P. 403. DOI: 10.3389/fncel.2014.00403
401. Ostergaard, P. J. Histological quantification of astrocytosis after cerebral infarction: A systematic review / P. J. Ostergaard, M. B. Jensen // *Int. J. Neurosci.* – 2013. – Vol. 123. – № 7. – P. 439–443. DOI: 10.3109/00207454.2013.765421
402. Pagnussat, A. S. An ultrastructural study of cell death in the CA1 pyramidal field of the hippocampus in rats submitted to transient global ischemia followed by

reperfusion / A. S. Pagnussat, M. C. Faccioni-Heuser, C. A. Netto [et al.] // *J. Anat.* – 2007. – Vol. 211. – № 5. – P. 589–599. DOI: 10.1111/j.1469-7580.2007.00802.x

403. Paltsyn, A. A. Intermittent hypoxia stimulates formation of binuclear neurons in brain cortex - a role of cell fusion in neuroprotection? / A. A. Paltsyn, E. B. Manukhina, A. V. Goryacheva [et al.] // *Experimental Biology and Medicine.* – 2014. – Vol. 239. – № 5. – P. 595–600. DOI: 10.1177/1535370214523898

404. Pandya, R. S. Central nervous system agents for ischemic stroke: neuroprotection mechanisms / R. S. Pandya, L. Mao, H. Zhou [et al.] // *Cent Nerv Syst Agents Med Chem.* – 2011. – Vol. 11. – № 2. – P. 81–97. DOI: 10.2174/187152411796011321

405. Patt, S. Cerebral angiogenesis triggered by severe chronic hypoxia displays regional differences / S. Patt, S. Sampaolo, A. Théallier-Jankó [et al.] // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* – 1997. – Vol. 17. – № 7. – P. 801–806. DOI: 10.1097/00004647-199707000-00010

406. Paxinos, G. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* / G. Paxinos, C. Watson. – 5th ed. – Elsevier Academic Press, San Diego, CA, 2005.

407. Pekny, M. Astrocyte reactivity and reactive astrogliosis: costs and benefits / M. Pekny, M. Pekna // *Physiol Rev.* – 2014. – Vol. 94. – № 4. – P. 1077–1098. DOI: 10.1152/physrev.00041.2013

408. Pelkey, K. A. Hippocampal GABAergic Inhibitory Interneurons / K. A. Pelkey, R. Chittajallu, M. T. Craig [et al.] // *Physiol Rev.* – 2017. – Vol. 97. – № 4. – P. 1619–1747. DOI: 10.1152/physrev.00007.2017

409. Pellerin, L. Activity-dependent regulation of energy metabolism by astrocytes: an update / L. Pellerin, A.-K. Bouzier-Sore, A. Aubert [et al.] // *Glia.* – 2007. – Vol. 55. – № 12. – P. 1251–1262. DOI: 10.1002/glia.20528

410. Peña-Blanco, A. Bax, Bak and beyond – mitochondrial performance in apoptosis / A. Peña-Blanco, A. J. García-Sáez // *FEBS J.* – 2018. – Vol. 285. – № 3. – P. 416–431. DOI: 10.1111/febs.14186

411. Péron, S. Reawakening the sleeping beauty in the adult brain: neurogenesis from parenchymal glia / S. Péron, B. Berninger // *Curr. Opin. Genet. Dev.* – 2015. – Vol. 34. – P. 46–53. DOI: 10.1016/j.gde.2015.07.004

412. Pereira, M. Direct reprogramming into interneurons: potential for brain repair / M. Pereira, M. Birtele, D. Rylander Ottosson // *Cellular and Molecular Life Sciences.* – 2019. – Vol. 76. – № 20. – P. 3953–3967. DOI: 10.1007/s00018-019-03193-3



413. Pirici, D. Fractal analysis of astrocytes in stroke and dementia / D. Pirici, L. Mogoantă, O. Mărgăritescu [et al.] // *Rom. J. Morphol. Embryol.* – 2009. – Vol. 50. – № 3. – P. 381–390. PMID: 19690763
414. Plata, A. Astrocytic Atrophy Following Status Epilepticus Parallels Reduced Ca<sup>2+</sup> Activity and Impaired Synaptic Plasticity in the Rat Hippocampus / A. Plata, A. Lebedeva, P. Denisov [et al.] // *Front Mol Neurosci.* – 2018. – Vol. 11. – P. 215. DOI: 10.3389 / fnmol.2018.00215
415. Pulsinelli, W. A. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat // W. A. Pulsinelli, J. B. Brierley / *Stroke.* – 1979. – Vol. 10. – № 3. – P. 267–272. DOI: 10.1161/01.str.10.3.267
416. Quillinan, N. Neuropathophysiology of brain injury / N. Quillinan, P. S. Herson, R. J. Traystman // *Anesthesiol Clin.* – 2016. – Vol. 34. – № 3. – P. 453–464. DOI: 10.1016/j.anclin.2016.04.011
417. Ramachandran, V. S. Encyclopedia of Human Behavior / V. S. Ramachandran. – 2nd ed. – Academic Press, 2012.
418. Raven, F. The role of sleep in regulating structural plasticity and synaptic strength: Implications for memory and cognitive function / F. Raven, E. A. Van der Zee, P. Meerlo [et al.] // *Sleep Med Rev.* – 2018. – Vol. 39. – P. 3–11. DOI: 10.1016/j.smrv.2017.05.002
419. Restivo, L. Development of adult-generated cell connectivity with excitatory and inhibitory cell populations in the hippocampus / L. Restivo, Y. Niibori, V. Mercaldo [et al.] // *J Neurosci.* – 2015. – Vol. 35. – № 29. – P. 10600–10612. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3238-14.2015
420. Richter, K. Macromolecular crowding and its potential impact on nuclear function / K. Richter, M. Nessling, P. Lichter // *Biochimica et Biophysica Acta.* – 2008. – Vol. 1783. – № 11. – P. 2100–2107. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2008.07.017
421. Risau, W. Mechanisms of angiogenesis / W. Risau // *Nature.* – 1997. – Vol. 386. – № 6626. – P. 671–674. DOI: 10.1038/386671a0
422. Rodriguez-Arellano, J. J. Astrocytes in physiological aging and Alzheimer's disease / J. J. Rodriguez-Arellano, V. Parpura, R. Zorec [et al.] // *Neuroscience.* – 2016. – Vol. 323. – P. 170–182. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2015.01.007
423. Rose, C. R. Astroglial glutamate signaling and uptake in the hippocampus / C. R. Rose, L. Felix, A. Zeug [et al.] // *Front. Mol. Neurosci.* – 2018. – Vol. 10. – P. 451. DOI: 10.3389/fnmol.2017.00451

424. Ruan, Y. W. Apoptosis in the adult striatum after transient forebrain ischemia and the effects of ischemic severity / Y. W. Ruan, G. Y. Ling, J. L. Zhang [et al.] // *Brain Res.* – 2003. – Vol. 982. – № 2. – P. 228–240. DOI: 10.1016/s0006-8993(03)03021-x

425. Rusa, R. 17-Estradiol Reduces Stroke Injury in Estrogen-Deficient Female Animals Editorial Comment / R. Rusa, N. J. Alkayed, B. J. Crain [et al.] // *Stroke.* – 1999. – Vol. 30. – № 8. – P. 1665–1670. DOI: 10.1161/01.str.30.8.1665

426. Ryosuke, M. D. Effect of dantrolene on extracellular glutamate concentration and neuronal death in the rat hippocampal CA1 region subjected to transient ischemia II / M. D. Ryosuke, R. Nakayama, T. Yano, K. Ushijima [et al.] // *Anesthesiology.* – 2002. – Vol. 96. – № 3. – P. 705–710. DOI: 10.1097/00000542-200203000-00029

427. Saab, A. S. The role of myelin and oligodendrocytes in axonal energy metabolism / A. S. Saab, I. D. Tzvetanova, K.-A. Nave [et al.] // *Curr. Opin. Neurobiol.* – 2013. – Vol. 23. – № 6. – P. 1065–1072. DOI: 10.1016/j.conb.2013.09.008

428. Sacco, S. E. Epidemiological characteristics of lacunar infarcts in a population / S. E. Sacco, J. P. Whisnant, J. P. Broderick [et al.] // *Stroke.* – 1991. – Vol. 22. – № 10. – P. 1236–1241. DOI: 10.1161/01.str.22.10.1236

429. Salmond, C. H. Cognitive sequelae of head injury: involvement of basal forebrain and associated structures / C. H. Salmond, D. A. Chatfield, D. K. Menon [et al.] // *Brain.* – 2005. – Vol. 128. – № Pt 1. – P. 189–200. DOI: 10.1093/brain/awh352

430. Sanchez-Covarrubias, L. Transporters at CNS barrier sites: obstacles or opportunities for drug delivery? / L. Sanchez-Covarrubias, L. M. Slosky, B. J. Thompson [et al.] // *Current pharmaceutical design.* – 2014. – Vol. 20. – № 10. – P. 1422–1449. DOI: 10.2174/13816128113199990463

431. Sandvig, I. Neuroplasticity in stroke recovery. The role of microglia in engaging and modifying synapses and networks / I. Sandvig, I. L. Augestad, A. K. Håberg [et al.] // *Eur J Neurosci.* – 2018. – Vol. 47. – № 12. – P. 1414–1428. DOI: 10.1111/ejn.13959

432. Sankavaram, S. R. Cell fusion along the anterior-posterior neuroaxis in mice with experimental autoimmune encephalomyelitis / S. R. Sankavaram, M. A. Svensson, T. Olsson [et al.] // *PLoSOne.* – 2015. – Vol. 10. – № 7. – P. e0133903. DOI: 10.1371/journal.pone.0133903

433. Santello, M. Astrocyte function from information processing to

- cognition and cognitive impairment / M. Santello, N. Toni, A. Volterra // *Nat Neurosci.* – 2019. – Vol. 22. – № 2. – P. 154–166. DOI: 10.1038/s41593-018-0325-8
434. Schlesinger, M. J. Heat shock proteins / M. J. Schlesinger // *J. Biol. Chem.* – 1990. – Vol. 265. – № 21. – P. 12111–12114. PMID: 2197269
435. Scholzen, T. The Ki-67 protein: from the known and the unknown / T. Scholzen, J. Gerdes // *J Cell Physiol.* – 2000. – Vol. 182. – № 3. – P. 311–322. DOI: 10.1002/(SICI)1097-4652(200003)182:3<311::AID-JCP1>3.0.CO;2-9
436. Schultz, C. Anatomy of the hippocampal formation / C. Schultz, M. Engelhardt // *Front Neurol Neurosci.* – 2014. – Vol. 34. – P. 6–17. DOI: 10.1159/000360925
437. Schweizer, S. Epigenetic mechanisms in cerebral ischemia / S. Schweizer, A. Meisel, S. Marschenz // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism.* – 2013. – Vol. 33. – № 9. – P. 1335–1346. DOI: 10.1038/jcbfm.2013.93
438. Seervi, M. Molecular profiling of anastatic cancer cells: potential role of the nuclear export pathway / M. Seervi, S. Sumi, A. Chandrasekharan [et al.] // *Cell Oncol.* – 2019. – Vol. 42. – № 5. – P. 645–661. DOI: 10.1007/s13402-019-00451-1.
439. Senzai, Y. Function of local circuits in the hippocampal dentate gyrus-CA3 system / Y. Senzai // *Neurosci Res.* – 2019. – Vol. 140. – P. 43–52. DOI: 10.1016/j.neures.2018.11.003
440. Silvestre, J-S. Post-ischaeic neovascularization and inflammation / J-S. Silvestre, Z. Mallat, A. Tedgui [et al.] // *Cardiovascular Research.* – 2008. – Vol. 78. – № 2. – P. 242–249. DOI: 10.1093/cvr/cvn027
441. Shalini, S. Old, new and emerging functions of caspases / S. Shalini, L. Dorstyn, S. Dawar [et al.] // *Cell Death Differ.* – 2015. – Vol. 22. – № 4. – P. 526–539. DOI: 10.1038/cdd.2014.216
442. Sharkey, J. Perivascular microapplication of endothelin-1: a new model of focal cerebral ischaemia in the rat / J. Sharkey, I. M. Ritchie, P. A. Kelly // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* – 1993. – Vol. 13. – № 5. – P. 865–871. DOI: 10.1038/jcbfm.1993.108
443. Shetty, A. K. Hippocampal injury-induced cognitive and mood dysfunction, altered neurogenesis, and epilepsy: can early neural stem cell grafting intervention provide protection? / A. K. Shetty // *Epilepsy Behav.* – 2014. – Vol. 38. – P. 117–124. DOI: 10.1016/j.yebeh.2013.12.001
444. Shi, K. Global brain inflammation in stroke / K. Shi, D.-C. Tian, Z.-G.

Li, [et al.] // *Lancet Neurol.* – 2019. – Vol. 18. – № 11. – P. 1058–1066. DOI: 10.1016/S1474-4422(19)30078-X

445. Shichita, T. Post-ischemic inflammation regulates neural damage and protection / T. Shichita, M. Ito, A. Yoshimura // *Front Cell Neurosci.* – 2014. – Vol. 8. – P. 319. DOI: 10.3389/fncel.2014.00319

446. Shurygin, M. G. Angiogenesis as an adaptive mechanism in ischemia / M. G. Shurygin, I. A. Shurygina, N. N. Dremina [et al.] // *Bulletin of eastern-siberian scientific center siberian branch russian academy of medical sciences.* – 2013. – № 5. – P. 192–195. DOI: 10.1007/s10517-015-2801-4

447. Shmonin, A. A. The characteristics of cerebral ischemia in major rat stroke models of middle cerebral artery ligation through craniectomy / A. A. Shmonin, E. V. Melnikova, M. M. Galagudza [et al.] // *International Journal of Stroke.* – 2014. – Vol. 9. – № 6. – P. 793-801. DOI: 10.1111/j.1747-4949.2012.00947.x.

448. Slivka, A., Cerebral edema after temporary and permanent middle cerebral artery occlusion in the rat / A. Slivka, E. Murphy, L. Horrocks // *Stroke.* – 1995. – Vol. 26. – № 6. – P. 1061-5. DOI: 10.1161/01.str.26.6.1061

449. Smith, T. G. Jr. Fractal methods and results in cellular morphology / G. D. Lange, W.B. Marks // *J. Neurosci. Methods.* – 1996. – Vol. 69. – № 2. – P. 123-36. DOI: 10.1016/S0165-0270(96)00080-5

450. Sofroniew, M. V. Astrocytes: biology and pathology / M. V. Sofroniew, H. V. Vinters // *Acta Neuropathol.* – 2010. – Vol. 119. – № 1. – P. 7-35. DOI: 10.1007/s00401-009-0619-8

451. Sofroniew, M. V. Astroglia / M. V. Sofroniew // *Cold Spring Harb Perspect Biol.* – 2014. – Vol. 7. – № 2. – P. a020420. DOI: 10.1101/cshperspect.a020420

452. Soontornniyomkij, V. Loss of immunohistochemical reactivity in association with handling-induced dark neurons in mouse brains / V. Soontornniyomkij, R. C. Chang, B. Soontornniyomkij [et al.] // *Toxicol. Pathol.* – 2020. – Vol. 48. – № 3. – P. 437–445. DOI: 10.1177/0192623319896263

453. Sozmen, E. G. Models that matter: white matter stroke models / E. G. Sozmen, J. D. Hinman, S. T. Carmichael // *Neurotherapeutics.* – 2012. – Vol. 9. – № 2. – P. 349–358. DOI: 10.1007/s13311-012-0106-0

454. Spitz, G. Regional cortical volume and cognitive functioning following traumatic brain injury / G. Spitz, E. D. Bigler, T. Abildskov [et al.] // *Brain Cogn.* –

2013. – Vol. 83. – № 1. – P. 34–44. DOI: 10.1016/j.bandc.2013.06.007

455. Stice, J. Estrogen, aging and the cardiovascular system / J. Stice, J. Lee, A. Pechenino [et al.] // *Future Cardiology*. – 2009. – Vol. 5. – № 1. – P. 93–103. DOI: 10.2217/14796678.5.1.93

456. Sukhorukova, E. G. Glial fibrillary acidic protein: The component of intermediate filaments in the vertebrate brain astrocytes / E. G. Sukhorukova, D. E. Korzhevskii, O. S. Alekseeva // *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. – 2015. – Vol. 51. – № 1. – P. 1–10. DOI: 10.1134/S0022093015010019

457. Sun, C. Advanced non-invasive MRI of neuroplasticity in ischemic stroke: Techniques and applications / C. Sun, X. Liu, C. Bao [et al.] // *Life Sci*. – 2020. – Vol. 261. – P. 118365. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.118365

458. Takagi, Y. Overexpression of thioredoxin in transgenic mice attenuates focal ischemic brain damage / Y. Takagi, A. Mitsui, A. Nishiyama [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 1999. – Vol. 96. – № 7. – P. 4131–4136. DOI:10.1073/pnas.96.7.4131

459. Tamura, A. Focal cerebral ischaemia in the rat: 1. Description of technique and early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion II / A. Tamura, D. I. Graham, J. McCulloch [et al.] // *J. Cereb. Blood Flow Metab*. – 1981. – Vol. 1. – № 1. – P. 53–60. DOI: 10.1038/jcbfm.1981.6

460. Tait, S. W. Resistance to caspase-independent cell death requires persistence of intact mitochondria / S. W. Tait, M. J. Parsons, F. Llambi [et al.] // *Dev. Cell*. – 2010. – Vol. 18. – № 5. – P. 802–813. DOI: 10.1016/j.devcel.2010.03.014

461. Tang, H. L. Reversibility of apoptosis in cancer cells / H. L. Tang, K. L. Yuen, H. M. Tang [et al.] // *Br. J. Cancer*. – 2009. – Vol. 100. – № 1. – P. 118–120. DOI: 10.1038/sj.bjc.6604802

462. Tang, H. L. Cell survival, DNA damage, and oncogenic transformation after a transient and reversible apoptotic response / H. L. Tang, H. M. Tang, K. H. Mak [et al.] // *Mol. Biol. Cell*. – 2012. – Vol. 23. – № 12. – P. 2240–2252. DOI: 10.1091/mbc.E11-11-0926

463. Tang, H. M. Anastasis: recovery from the brink of cell death / H. M. Tang, H. L. Tang // *R. Soc. Open Sci*. – 2018. – Vol. 5. – № 9. – P. 180442. DOI: 10.1098/rsos.180442

464. Tang Y. C. The critical roles of mitophagy in cerebral ischemia / Y. C. Tang, H. X. Tian, T. Yi [et al.] // *Protein Cell*. – 2016. – Vol. 7. – № 10. – P. 699–713. DOI: 10.1007/s13238-016-0307-0

465. Tasker, R. C. Focal cerebral ischemia and neurovascular protection: a bench-to-bedside update / R. C. Tasker, E. D. Duncan // *Curr. Opin. Pediatr.* – 2015. – Vol. 27. – № 6. – P. 694–699. DOI: 10.1097/MOP.0000000000000287
466. Thornton, C. Cell Death in the Developing Brain after Hypoxia-Ischemia / C. Thornton, B. Leaw, C. Mallard [et al.] // *Front Cell Neurosci.* – 2017. – Vol. 11. – P. 248. DOI: 10.3389/fncel.2017.00248
467. Tonchev, A. B. Enhanced proliferation of progenitor cells in the subventricular zone and limited neuronal production in the striatum and neocortex of adult macaque monkeys after global cerebral ischemia / A. B. Tonchev, T. Yamashima, K. Sawamoto [et al.] // *J. Neurosci. Res.* – 2005. – Vol. 81. – № 6. – P. 776–788. DOI: 10.1002/jnr.20604
468. Turovskaya, M. V. BDNF Overexpression Enhances the Preconditioning Effect of Brief Episodes of Hypoxia, Promoting Survival of GABAergic Neurons / M. V. Turovskaya, S. G. Gaidin, M. V. Vedunova [et al.] // *Neurosci Bull.* – 2020. – Vol. 36. – № 7. – P. 733–760. DOI: 10.1007/s12264-020-00480-z
469. Turovsky, E. A. Short-term episodes of hypoxia induce posthypoxic hyperexcitability and selective death of GABAergic hippocampal neurons / E. A. Turovsky, M. V. Turovskaya A. V. Kononov [et al.] // *Exp. Neurol.* – 2013. – Vol. 250. – P. 1–7. DOI: 10.1016/j.expneurol.2013.09.006
470. Ullah, I. Neuroprotection with metformin and thymoquinone against ethanol-induced apoptotic neurodegeneration in prenatal rat cortical neurons / I. Ullah, N. Ullah, M. I. Naseer [et al.] // *BMC neuroscience.* – 2012. – Vol. 13. – P. 1–11. DOI: 10.1186/1471-2202-13-11
471. Uston, C. NEUROwords Dr. Thomas Willis' Famous Eponym: the circle of Willis / C. Uston // *Turk. J. Med. Sci.* – 2004. – Vol. 34. – № 4. – P. 271–274. DOI: 10.1080/096470490512553
472. Vaseva, A. V. P53 opens the mitochondrial permeability transition pore to trigger necrosis / A. V. Vaseva, N. D. Marchenko, K. Ji [et al.] // *Cell.* – 2012. – Vol. 149. – № 7. – P. 1536–1548. DOI: 10.1016/j.cell.2012.05.014
473. Von Kummer, R. Imaging of cerebral ischemic edema and neuronal death / R. von Kummer, I. Dzialowski // *Neuroradiology.* – 2017. – Vol. 59. – № 6. – P. 545–553. DOI: 10.1007/s00234-017-1847-6
474. Voss, T. C. Visualizing chromatin dynamics in intact cells / T. C. Voss, G. L. Hager // *Biochimica et Biophysica Acta.* – 2008. – Vol. 1783. – № 11. – P. 2044–2051. DOI: 2044–2051. 10.1016/j.bbamcr.2008.06.022

475. Wang, H. K. Free radical production in CA1 neurons induces MIP-1 $\alpha$  expression, microglia recruitment, and delayed neuronal death after transient forebrain ischemia / H. K. Wang, U. J. Park, S. Y. Kim [et al.] // *J. Neurosci.* – 2008. – Vol. 28. – № 7. – P. 1721–1727. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4973-07.2008
476. Wang, Y. F. Astroglial modulation of hydromineral balance and cerebral edema. / Y. F. Wang, V. Parpura // *Front Mol Neurosci.* – 2018. – Vol. 11. – P. 204. DOI: 10.3389/fnmol.2018.00204
477. Ward, N. M. Simple and choice reaction-time performance following occlusion of the anterior cerebral arteries in the rat / N. M. Ward, J. Sharkey, H. M. Marston [et al.] // *Exp. Brain Res.* – 1998. – Vol. 123. – № 3. – P. 269–281. DOI: 10.1007/s002210050569
478. Wehman, J. C. Atherosclerotic occlusive extracranial vertebral artery disease: indications for intervention, endovascular techniques, short-term and long-term results / J. C. Wehman, R. A. Hanel, C. A. Guidot [et al.] // *J Interv Cardiol.* – 2004. – Vol. 17. – № 4. – P. 219–232. DOI: 10.1111/j.1540-8183.2004.04055.x
479. Weibel, E. R. Stereological methods. Practical methods for biological morphometry / E. R. Weibel. – London, Academic Press, 1979.
480. Weigand, M. A. Neuron-specific enolase as a marker of fatal outcome in patients with severe sepsis or septic shock / M. A. Weigand, M. Volkmann, H. Schmidt [et al.] // *Anesthesiology.* – 2000. – Vol. 92. – № 3 – P. 905–907. DOI: 10.1097/00000542-200003000-00057
481. White, B. C. Brain ischemia and reperfusion: molecular mechanisms of neuronal injury / B. C. White, J. M. Sullivan, D. J. DeGracia [et al.] // *J. Neurol. Sci.* – 2000. – Vol. – 179. – № S 1–2. – P. 1–33. DOI: 10.1016/s0022-510x(00)00386-5
482. Winkelmann, E. R. An ultrastructural analysis of cellular death in the CA1 field in the rat hippocampus after transient forebrain ischemia followed by 2, 4 and 10 days of reperfusion / E. R. Winkelmann, A. Charcansky, M. C. Faccioni-Heuser [et al.] // *Anat Embryol.* – 2006. – Vol. 211. – № 5 – P. 423–434. DOI: 10.1007/s00429-006-0095-z
483. Wolburg, H. Brain endothelial cells and the glio-vascular complex / H. Wolburg, S. Noell, A. Mack [et al.] // *Cell and Tissue Research.* – 2009. – Vol. 335. – № 1 – P. 75–96. DOI: 10.1007/s00441-008-0658-9
484. Woulfe, J. Nuclear bodies in neurodegenerative disease / J. Woulfe // *Biochimica et Biophysica Acta.* – 2008. – Vol. 1783. – № 11 – P. 2195–2206. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2008.05.005

485. Wirth, C. Structure and function of mitochondrial complex I / C. Wirth, U. Brandt, C. Hunte [et al.] // *Biochim Biophys Acta*. – 2016. – Vol. 1857. – №7 – P. 902–914. DOI: 10.1016/j.bbabi.2016.02.013
486. Xing, B. Ischemic postconditioning inhibits apoptosis after focal cerebral ischemia/reperfusion injury in the rat / B. Xing, H. Chen, M. Zhang [et al.] // *Stroke*. – 2008. – Vol. 39. – № 8 – P. 2362–2369. DOI: 10.1161/STROKEAHA.107.507939
487. Xu, Y. Bile acid-induced “Minority MOMP” promotes esophageal carcinogenesis while maintaining apoptotic resistance via Mcl-1 / Y. Xu, D. R. Surman, L. Diggs, [et al.] // *Oncogene*. – 2020. – Vol. 39. – № 4 – P. 877–890. DOI: 10.1038/s41388-019-1029-6
488. Yamaguchi, M. One-stage anterior approach for four-vessel occlusion in rat / M. Yamaguchi, J. W. Calvert, G. Kusaka [et al.] // *Stroke*. – 2005. – Vol. 36. – № 10 – P. 2212–2214. DOI: 10.1161/01.STR.0000182238.08510.c5
489. Yang, S. Structural analysis of interphase X-chromatin based on statistical shape theory / S. Yang, D. Illner, K. Teller [et al.] // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2008. – Vol. 1783. – № 11 – P. 2089–2299. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2008.08.007
490. Yanamoto, H. Evaluation of MCAO stroke models in normotensive rats: standardized neocortical infarction by the 3VO technique / H. Yanamoto, I. Nagata, Y. Niitsu [et al.] // *Exp. Neurol*. – 2003. – Vol. 182. – № 2. – P. 261–274. DOI: 10.1016/s0014-4886(03)00116-x
491. Zamanian, J. L. Genomic analysis of reactive astrogliosis / J. L. Zamanian, L. Xu, L. C. Foo [et al.] // *J. Neurosci*. – 2012. – Vol. 32. – P. 6391–6410. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.6221-11.2012
492. Zavodnik, I. Oxidative damage of rat liver mitochondria during exposure to t-butyl hydroperoxide. Role of Ca<sup>2+</sup> ions in oxidative processes / I. Zavodnik, I. K. Dremza, V. T. Cheshchevik [et al.] // *Life Sci*. – 2013. – Vol. 92. – № 23. – P. 1110–1117. DOI: 10.1016/j.lfs.2013.04.009
493. Zeng, Y. S. Co-existence of necrosis and apoptosis in rat hippocampus following transient forebrain ischemia / Y. S. Zeng, Z. C. Xu // *Neurosci Res*. – 2000. – Vol. 37. – № 2. – P. 113–125. DOI: 10.1016/s0168-0102(00)00107-3
494. Zhang, Q. G. Preconditioning neuroprotection in global cerebral ischemia involves NMDA receptor-mediated ERK-JNK3 crosstalk / Q. G. Zhang, R. M. Wang, D. Han [et al.] // *Neurosci. Res*. – 2009. – Vol. 63. – № 3. – P. 205–212. DOI: 10.1016/j.neures.2008.12.010



495. Zhang, W. MicroRNA–124 expression in the brains of rats during early cerebral ischemia and reperfusion injury is associated with cell apoptosis involving STAT3 / W. Zhang, A. Meng // *Exp. Ther. Med.* – 2019. – Vol. 17. – № 4. – P. 2870–2876. DOI: 10.3892/etm.2019.7220

496. Zhao, H. From rapid to delayed and remote postconditioning: the evolving concept of ischemic postconditioning in brain ischemia / H. Zhao, C. Ren, X. Chen [et al.] // *Curr Drug Targets.* – 2012. – Vol. 13. – P. 173–187. DOI: 10.2174/138945012799201621

497. Zhao, M. Oxidative stress in hypoxic-ischemic encephalopathy: molecular mechanisms and therapeutic strategies / M. Zhao, P. Zhu, M. Fujino [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2016. – Vol. 17. – №12. – P. 1–14. DOI: 10.3390/ijms17122078

498. Zille, M. Visualizing cell death in experimental focal cerebral ischemia: promises, problems, and perspectives / M. Zille, T. D. Farr, I. Przesdzin // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism.* – 2012. – Vol. 32. – P. 213–231. DOI: 10.1038/jcbfm.2011.150

499. Zirpoli, H. NPD1 rapidly targets mitochondria-mediated apoptosis after acute injection protecting brain against ischemic injury / H. Zirpoli, S. A. Sosunov, Z. N. Niatsetskaya [et al.] // *Exp Neurol.* – 2021. – Vol. 335. – P. 113495. DOI: 10.1016/j.expneurol.2020.113495

500. Zuchero, J. B. Glia in mammalian development and disease / J. B. Zuchero, B. A. Barres // *Development.* – 2015. – Vol. 142 – № 22. – P. 3805–3809. DOI: 10.1242/dev.129304

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

- АТН – артефактные тёмные нейроны  
ДТН – дегеративные тёмные нейроны  
ЗМЯ – зон (пиков) максимальной яркости  
ЗФ – зубчатая фасция  
МТ – миндалевидное тело  
НГИ – нейроглиальный индекс  
ООСА – окклюзия общих сонных артерий  
ПОСА – перевязка общих сонных артерий  
СА<sub>1</sub> – поле гиппокампа  
СА<sub>2</sub> – поле гиппокампа  
СА<sub>3</sub> – поле гиппокампа  
СА<sub>4</sub> – поле гиппокампа  
СМК – сенсомоторная кора  
ЦНС – центральная нервная система  
AIF1 – аллотрансплантат воспалительного фактора 1  
bcl-2 – (BCL2 – B-cell lymphoma 2) ингибитор каспаз  
BDNF – Brain-Derived Neurotrophic Factor – мозговой нейротрофический  
фактор  
GFAP – (Glial fibrillary acidic protein) (ГФКБ) – глиальный фибриллярный кислый белок  
Hsp70 – (БТШ) – белок теплового шока  
MAP2 – (microtubule-associated protein) – белок, ассоциированный с микротрубочками 2  
NSE – нейронспецифическая енолаза  
p38 – (synaptophysin) – синаптофизин  
p53 – проапоптотический белок (танантин)