

ЕСТЕСТВЕННЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЗАЩИТЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ

А. В. Сергеев, С. С. Степанов, В. А. Акулинин, А. В. Мыщик

Омская государственная медицинская академия Минздрава РФ, Омск, Россия
644043, г. Омск, ул. Ленина, д. 12

Natural Defense Mechanisms of the Human Brain against Chronic Ischemia

A. V. Sergeev, S. S. Stepanov, V. A. Akulinin, A. V. Mytsik

Department of Histology, Cytology, and Embryology, Omsk State Medical Academy, Ministry of Health of Russia, Omsk, Russia
12. Lenin St., Omsk 644043

Цель. Исследование посвящено изучению структурных основ естественных механизмов защиты коры головного мозга (КГМ) человека при хронической ишемии. **Материалы и методы.** Для этого с помощью гистологических, иммуногистохимических (NSE, кальбиндин, NPY, p38) и морфометрических методов на интраоперационном материале определяли особенности реорганизации возбуждающих и тормозных нейронов в зоне ишемической полутени височной КГМ. Морфометрический анализ проводили с помощью специально разработанных алгоритмов верификации нейронов и их элементов в программе ImageJ 1.46. **Результаты.** Установлено что, снижение общей численной плотности нейронов и синапсов при хронической ишемии сопровождалось компенсаторным усилением экспрессии NSE, кальбиндина, p38 и NPY в сохранившихся нейронах КГМ. Имелись признаки гипертрофии тормозных нейронов и роста их отростков. В результате, вероятно, усиливалось влияние тормозных интернейронов КГМ на возбуждающие нейроны. **Заключение.** Предполагается, что при хронической ишемии головного мозга человека в ответ на повреждение части клеток происходила компенсаторная реорганизация возбуждающих и тормозных нейронов, направленная на естественную защиту от эксайтотоксического повреждения и улучшение условий для компенсаторного восстановления структурно-функционального состояния КГМ. **Ключевые слова:** человек, неокортекс, гистология, иммуногистохимия, ишемия, защита мозга.

Objective: to study the structural bases of natural defense mechanisms of the human brain against chronic ischemia. **Materials and methods.** To accomplish this, histological, immunohistochemical (NSE, calbindin, NPY, p38) and morphometric examinations of intraoperative biopsy specimens were performed to determine the reorganization of excitatory and inhibitory neurons in the ischemic penumbra of the temporal cerebral cortex (CC). Morphometric analysis was made using the specially developed algorithms to verify neurons and their elements in the ImageJ 1.46 program. **Results.** The reduction in the total numerical density of neurons and synapses in chronic ischemia was ascertained to be accompanied by the compensatorily enhanced expression of NSE, calbindin, p38, and NPY in the remaining CC neurons. There were signs of hypertrophy of inhibitory CC interneurons and growth of their processes. In consequence, the impact of inhibitory CC interneurons on excitatory neurons was likely to enhance. **Conclusion.** In chronic ischemia, the human brain is anticipated to respond to damage to some cells via compensatory excitatory and inhibitory neuronal reorganization directed towards its natural defense against excitatory damage and towards better conditions for compensatory recovery of the structure and function of CC. **Key words:** man, neocortex, histology, immunohistochemistry, ischemia, brain defense.

DOI:10.15360/1813-9779-2015-1-22-32

Введение

Кора головного мозга (КГМ) человека хорошо изучена с помощью анатомических, гистологических, иммуногистохимических, электронномикроскопических и морфометрических методов исследования [1]. Основная информация о гистологическом строении КГМ получена на аутопсийном материале, а прижизненных исследований, посвященных изучению струк-

Introduction

Human cerebral neocortex (CNC) is studied with the aids of anatomical, histological, immunohistochemical, electron microscopic and morphometric techniques [1]. General information about the histological structure of CNC has been obtained using the autopsy material and during studies of structural and functional mechanisms of natural protection of human CNC in response to ischemia.

Адрес для корреспонденции:

Акулинин Виктор Александрович
E-mail: akulinin@omsk-osma.ru

Correspondence to:

Akulinin Viktor Aleksandrovich
E-mail: akulinin@omsk-osma.ru

турно-функциональных механизмов естественной защиты КГМ человека в ответ на хроническое ишемическое воздействие, нет. Однако, при поиске средств защиты головного мозга, а также регуляции деструктивных и компенсаторно-восстановительных процессов, объективные знания подобного рода являются необходимыми для теоретического обоснования полученных клинических результатов [2–5]. Ранее установлено, что в основе компенсаторно-восстановительных процессов, происходящих в нервной ткани после ишемического воздействия, лежит реорганизация нейронных сетей [3] и межнейронных синаптических связей [4, 6], большое значение имеет состояние тормозных интернейронов и синапсов [7–16]. Поэтому, рассматривая реорганизацию нейронных сетей как следствие выхода ткани мозга из патологического состояния, мы можем определить логику и естественные структурно-функциональные механизмы защиты КГМ человека при ишемии. Частной задачей этого перспективного направления является сравнительное исследование возбуждающих и тормозных нейронов КГМ человека при хронической ишемии, когда часть нейронов функционирует и формирует новые нейронные сети.

Целью исследования — получение новых данных о структурно-функциональном состоянии возбуждающих и тормозных нейронов коры головного мозга человека в норме и при хронической ишемии с помощью сравнительного гистологического, иммуноморфологического и морфометрического исследования.

Материал и методы

Для достижения поставленной цели был использован комплексный гистологический, иммуноморфологический и морфометрический анализ, различных морфотипов пирамидных и непирамидных нейронов КГМ человека, проведенный на операционном материале. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Омской государственной медицинской академии (протокол № 61 от 19.06.2014).

Изучали цито- и синаптоархитектонику коры височной доли, полученную в ходе операции по удалению опухолей ($n=10$, возраст пациентов 23–45 года). В силу глубокого расположения опухолей в удаляемый материал попадали участки КГМ из перифокальной зоны (основная группа, хроническая ишемия, $n=10$) и частично неповрежденная кора (группа сравнения, $n=7$).

Материал фиксировали в 4% растворе формалина (0,1M фосфатный буфер, pH 7,2–7,4), заключали в парафин. Изготавливали фронтальные серийные срезы (4 μ) через все слои КГМ. Для гистологического исследования срезы окрашивали гематоксилин-эозином и тионином по Нисслю, фотографировали на микроскопе Leica DM 1000 [5].

Для иммуногистохимического исследования фронтальные срезы КГМ толщиной 4 μ помещали на маркированные предметные стекла Thermo Scientific Polysine®, Menzel GmbH & Co KG, Braunschweig, Germany. Стекла со срезами были тщательно депарафинизированы ксилолом, помещены в 10 mM цитратный буфер (pH 6,0) и инкубированы 10 минут при температуре +90°C, затем оставлены для охлаждения при комнатной температуре на 20 минут. После охлаждения стекла были промыты 0,05% фосфатным буфером дважды, затем нанесены первичные антитела. Все вещества были нанесены микропипеткой в объеме 30 мкл.

However, to protect the brain and modulate the destructive, compensatory and restorative processes, the objective knowledge of mechanisms is needed to explain clinical results [2]. It has been demonstrated that compensatory and restorative processes in the nervous tissue after ischemic exposure form a base of the reorganization of neural networks [3] and interneuronal synaptic connections [4]. Therefore, considering the reorganization of neural networks as a consequence of the release of brain tissue from a pathological condition, one can define the logic and natural structural and functional mechanisms of protection of human CNC. Private task of this promising trend includes the comparative study of excitatory and inhibitory neurons in human CNC chronic ischemia, when the new neural networks are developing. The challenging mechanisms include those that prevent these active excitatory neurons from damages and influence of other systems in ischemic conditions. The purpose of this study was to evaluate the structural and functional patterns of the excitatory and inhibitory neurons within the different layers of the cortex of the human brain in norm and chronic ischemia using comparative histological, immunomorphological and morphometric studies.

Materials and Methods

To achieve this goal an integrated histological, immunomorphological and morphometric analysis was performed that included the investigation of different morphological types of pyramidal and non-pyramidal neurons of CNC specimens from removed tumors harvested at a surgery in patients with brain tumors. Study was approved by the local ethics committee of the Omsk State Medical Academy (Decision № 61 of 06.19.2014). The areas of interest included cytochrome synapses architectonics and various compartments of the CNC, within the removed tumor (10 patients of 23–45 years old). Due to deep-seated tumors harvested material included both chronic ischemia zone and partially intact bark. Control brain specimens were harvested from individuals died in accidents ($n=7$). All autopsy material was harvested not later than 5–10 hours after the death. The material was fixed in 4% formalin solution (0.1 M phosphate buffer, pH 7.2–7.4) and embedded into paraffin. We produced frontal serial sections (4 μ) through all layers of CNC. For histological analysis the sections were stained with hematoxylin-eosin and Nissl thionine method. For histological examination the Leica DM 1000 microscope was employed [5].

For immunohistochemical study 4 μ m-thick frontal sections of CNC were placed on a glass coated with ThermoScientific polylysine Polylysine (Menzel GmbH & Co KG, Braunschweig, Germany). Glasses assembled with tissue sections were thoroughly treated with xylene to get rid of paraffin, placed in 10 mM citrate buffer (pH 6,0) and incubated for 10 minutes at + 90°C, then allowed to cool down at room temperature for 20 minutes. After cooling, the slides were washed with 0.05% PBS twice, and then the primary antibody were applied. All the substances were applied with a micropipette in a volume of 30 μ L. The primary antibodies included rabbit polyclonal antibody (IgG) to neuronal specific enolase, neuron-specific enolase (NSE from Spring Bioscience, Pleasanton, USA, № E3304, diluted 1:300; Rabbit Anti-Human Synaptophysin Polyclonal Antibody; Spring Bioscience, Pleasanton, USA, № E2174 diluted 1:300. For immunofluorescence studies of inhibitory interneurons the primary rabbit polyclonal antibodies to calbindin (Calbindin D28k; Swant, Swissantibodies, Switzerland, diluted 1:400) and neuropeptide Y (Neuropeptide Y, NPY; Sigma Chemicals, St. Louis, USA; diluted

Mechanisms of the development of critical illness

Использовали первичные кроличьи поликлональные антитела (ImG) к нейрон специфической енолазе, Neuron-Specific Enolase, NSE, (Rabbit Anti-Human NSE Polyclonal Antibody; Spring Bioscience, Pleasanton, USA, № E3304), разведение 1:300; синаптофизину, synaptophysin, p-38, (Rabbit Anti-Human Synaptophysin Polyclonal Antibody; Spring Bioscience, Pleasanton, USA, № E2174), разведение 1:300. Для иммунофлуоресцентного исследования тормозных интернейронов применяли первичные кроличьи поликлональные антитела к кальбиндину (Calbindin D28k; SWant, Switzerland, diluted 1:400) и нейропептиду Y (Neuropeptide Y, NPY; Sigma Chemicals, St. Louis, USA; diluted 1:8000).

Антитела к синаптофизину инкубировали 10 минут, а к NSE — 30 минут на качающейся поверхности при комнатной температуре, потом стекла были промыты 0,05% фосфатным буфером дважды.

Для визуализации иммунной реакции были использованы козы поликлональные вторичные антитела к иммуноглобулину кролика, (Goat polyclonal Secondary Antibody to Rabbit IgG — H&L (TR) № ab6719; Abcam, Cambridge, England), разведение 1:200. Антитела ассоциированы с флюоресцентным красителем Texas Red® Sulfonyl Chloride (молекулярный вес 625 дальтон). Данное вещество имеет длину волны поглощения 596 nm и длину волны испускания 620 nm, свечение выглядит красным. Вторичные антитела были экспонированы 20 минут на качающейся поверхности при комнатной температуре, затем слайды были промыты 0,05% фосфатным буфером дважды.

На микроскопе Axioskop 40, Karl Zeiss, оснащенный ртутной лампой HBO 100, камерой на CCD датчике — Axio CamMRc и объективом EC Plan-Neofluar ×40, апертура 0,9, делали цифровые микрофотографии с размером изображения 1300×1030 пикселей, реальным размером 220×174 мкм (38280 мкм²).

Морфометрический анализ изображений проводили с помощью программы ImageJ 1.46 на масках реального изображения по ранее разработанным стандартным алгоритмам анализа гистограмм пиксельного распределения [5].

Определяли общую численную плотность нейронов и относительное содержание реактивно измененных нейронов. На иммуногистохимических препаратах определяли площадь (мкм²) и количество флуоресцирующих гранул маркера в поле зрения (38280 мкм²) препарата.

Проверку статистических гипотез осуществляли с использованием программ MedCalc, StatSoft Statistica 8.0 при помощи непараметрических критериев Колмогорова-Смирнова и U-критерия Манна-Уитни для парного сравнения. Нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Операционный материал КГМ не был подвержен посмертным изменениям. Об этом свидетельствовало наличие в группе сравнения протяженных участков нервной ткани с большим содержанием нормохромных нейронов и отсутствием признаков деструктивных изменений в подавляющем большинстве клеток (рис. 1).

Нормохромные пирамидные нейроны представляли собой округлые клетки крупного и среднего размера с хорошо прокрашенной сомой и ядром. В цитоплазме нормохромных пирамидных нейронов видны темные глыбки гранулярной эндоплазматической сети, в центре — ядро, занимающее основную часть тела клетки, с темноокрашенным ядрышком. При этом в непиримидных нейронах дендриты не верифицировались, а в пирамидных — определялись только начальные сегменты проксимальной части дендрита.

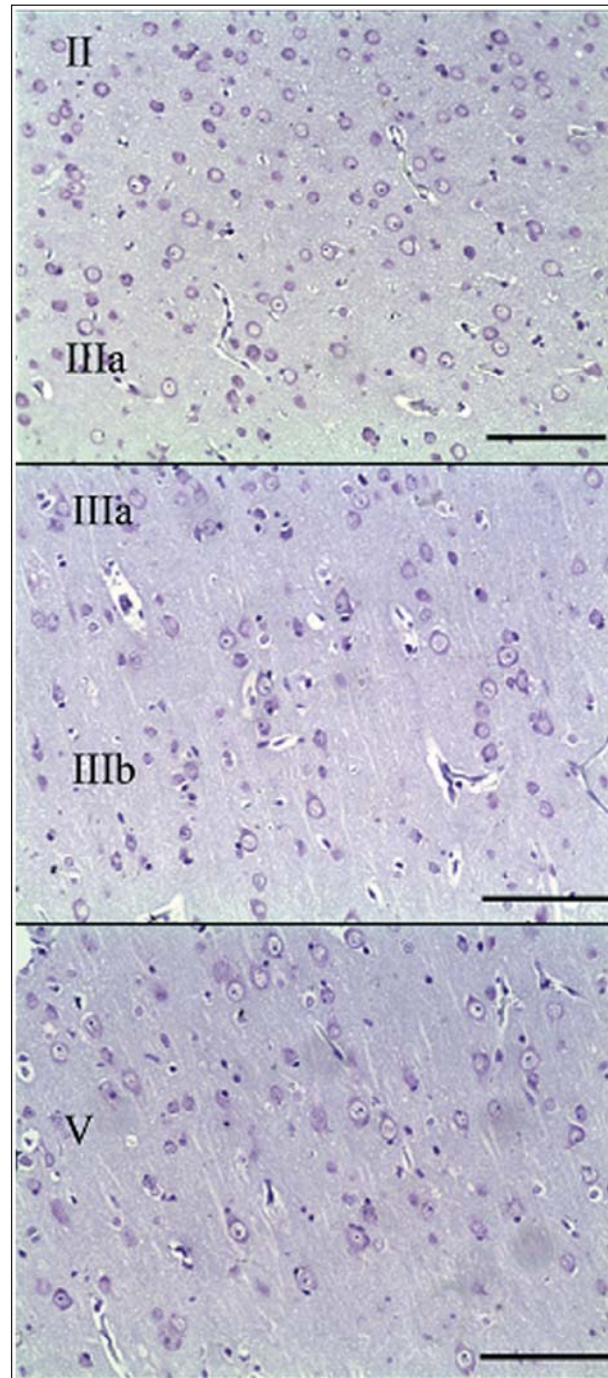


Рис. 1. Фронтальный срез различных слоев коры височной доли, группа сравнения. Окраска тионином по Нисслю. Ув. ×20. Шкала — 100 мкм.

Fig. 1. Frontal sections of intact temporal regions of the cerebral cortex of patients operated on for glioblastoma. Nissl stain by thionine. Lens. ×20. Scale — 100 μm.

Note (примечание): the total prevalence of normochromic neurons with a distinct round nucleus and basophilic cytoplasm is observed, dendrites are not dyed. — Нормохромные нейроны с хорошо выраженным круглым ядром и базофильной цитоплазмой, дендриты не прокрашены. Here and fig. 2 (здесь и на рис. 2): I–V — various layers of the temporal cortex (слои височной доли коры головного мозга).

1:8000) were used. Antibodies to synaptophysin incubated for 10 minutes and antibodies to NSE were incubated 30 minutes on a rocking platform at a room temperature, slides were then rinsed with 0.05% PBS twice. To visualize immune reaction the goat poly-

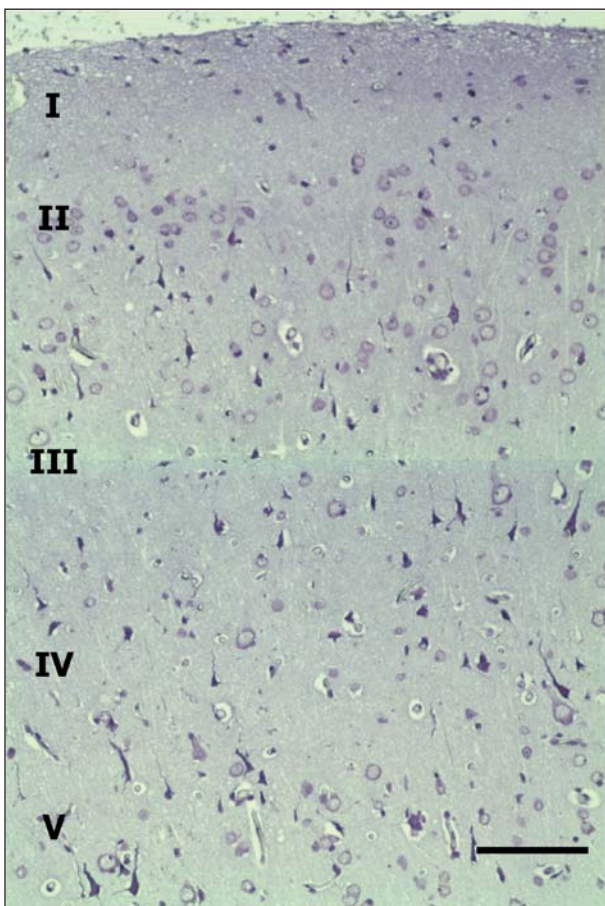


Рис. 2. Фронтальный срез различных слоев коры височной доли с умеренным содержанием реактивно измененных гиперхромных нейронов, основная группа. Окраска по Нисслю тионином. Ув. $\times 10$, шкала 100 мкм.

Fig. 2. Frontal section of the various layers of the temporal cortex with minimal reactive changes of neurons. Lens. $\times 10$, scale 100 μm .

Note (примечание): Nissl stain by the thionine in all layers normochromic neurons predominated — во всех слоях преобладали нормохромные нейроны.

При гистологическом исследовании КГМ основной группы выявлена значительная вариабельность структурно-функционального состояния пирамидных и непирамидных нейронов (рис. 2).

В КГМ основной группы преобладали гиперхромные несморщенные и сморщенные нейроны (табл. 1), которые имели типичную структурную организацию (рис. 2), описанную ранее в работах других авторов при острой и хронической ишемии [4, 5]. Встречались участки КГМ с тотальными гиперхромными изменениями и сморщиванием практически всех клеток (пикноморфные). Наименьшее содержание реактивно измененных нейронов отмечали в слоях II, IIIa и IIIb (в сравнении со слоем V: $2=8,0$, $p=0,005^*$). Именно в этих слоях, по данным литературы, содержится максимальное количество кальбиндин-позитивных тормозных интернейронов [7, 12].

В слоях II, IIIa, IV, V и VI КГМ основной группы общая численная плотность нейронов была статистически значимо (критерий Манна-Уитни, при $p<0,05$) ниже, чем в группе сравнения (табл. 2), содержащей не-

clonal anti-rabbit immunoglobulin (Goat polyclonal Secondary Antibody to Rabbit IgG — H & L (TR) Neab6719; Abcam, Cambridge, England) at final dilution 1:200 was used. These antibodies were conjugated to fluorescent dye Texas Red® Sulfonyl Chloride (molecular weight 625 Daltons), the absorption wavelength was 596 nm and emission wavelength was 620 nm (red). Slides treated with primary antibodies were exposed to secondary antibodies for 20 minutes on a rocking platform at room temperature, then rinsed with 0.05% PBS twice. The emission was analyzed using the Karl Zeiss Axioskop 40 microscope equipped with a mercury lamp HBO 100 and a camera with a CCD sensor. Axio CamMRc lenses and EC Plan-Neofluar $\times 40$, 0.9 aperture were employed to perform digital micrograph with image size of 1300×1030 pixels, the real size 220×174 mm (38280 mm²).

Morphometric analysis of the images was performed using ImageJ 1.46 software on masks of the real picture using standard algorithms of histogram analysis of pixel distribution [5]. The total number density and relative abundance of reactive changes of neurons were determined. Statistical hypothesis testing was performed using the software MedCalc, StatSoft Statistica 8.0 using the Kolmogorov-Smirnov test to define or decline normality, Mann-Whitney test for paired comparisons, and ANOVA for multiple comparisons. The null hypothesis was rejected at $P<0.05$.

Results and Discussion

Surgical material of CNC was not subject to post-mortem changes. This was evidenced by the presence of stretches of intact neural tissue with a high content of normochromic neurons and no signs of destructive changes in the vast majority of cells (Fig. 1).

In these intact areas of nerve tissue the structural features of microcirculation disorders (sludge cells, perivascular edema, swelling of endothelial cells) were not observed demonstrating no manifestation of ischemia. The total density of neurons was slightly higher than similar compartments and layers when studied the autopsy material. This was probably due to the fact that in the intact parts of CNC neurons were not subjected to dehydration and successfully kept their native size, shape and properties of proteins to accept stain.

We have developed a method for the analysis of histograms for the morphometric study using the program ImageJ 1.4 [5] using 8-bit color images (flatten image format) [5]. Subsequent morphometric study was conducted to analyze the histogram of pixel distributions. Histological examination of areas of chronic ischemic penumbra in all layers of SMC revealed considerable variability in structural and functional state of the pyramidal and non-pyramidal neurons (Fig. 2).

In main group of CNC non-shrivalled hyperchromatic and shrunken neurons were dominated (Table. 1). They exhibited typical structural organization (Fig. 2) earlier described in other studies in acute and chronic ischemia [4, 5]. Normochromic pyramidal neurons were comprised of round cells of large and medium-sized with a well-dyed soma and nucleus. In the cytoplasm normochromic pyramidal neurons looked as dark clumps of granular endoplasmic reticulum with the nucleus in the center occupying most of the cell body, with dark-colored nucleolus. In non-pyramidal neurons dendrites were not verified, whereas in

Mechanisms of the development of critical illness

Таблица 1. Относительное содержание реактивно измененных нейронов в коре височной доли мозга человека сравниваемых групп (% в пересчете на 1000 верифицированных нейронов, 50 полей зрения) (окраска тионином по Нисслю)
Table 1. The relative content (% based on the 1000 verified neurons, 50 fields of view) reactive changes of neurons in the temporal cortex of the human brain compared groups (Nissl stain)

Neurons	Value of parameters in the groups		P-level
	comparisons	main	
Normochromic	85,6 (83,8–93,9)	45 (41,9–48,1)	<0,0000*
Vacuolated	2,4 (1,6–3,6)	6 (4,6–7,7)	=0,04*
Hypochromic	2 (1,3–3,1)	8 (6,4–9,9)	=0,02*
Hyperchromic no shrunken	8 (6,4–9,9)	14 (11,9–16,3)	=0,03*
Hyperchromic shrunken	1 (0,5–1,8)	24 (21,4–26,8)	<0,0000*
Cells shade	1 (0,5–1,8)	3 (2,0–4,3)	=0,045*

Note (примечание): neurons – нейроны; normochromic – нормохромные; vacuolated – вакуолизованные; hypochromic – гипохромные; hyperchromic no shrunken – гиперхромные несморщенные; hyperchromic shrunken – гиперхромные сморщенные; cells shade – клетки тени; value of parameters in the groups – значение показателей в группах; comparisons – группа сравнения; main – основная группа; * – the differences between groups are statistically significant at $p < 0,05$ (criterion χ^2) – различия между группами статистически значимы при $p < 0,05$ (критерий χ^2). In brackets 95% confidence interval, – в скобках 95% доверительный интервал.

Таблица 2. Общая численная плотность нейронов в различных слоях коры височной доли мозга человека сравниваемых групп (на 1 мм²) (окраска тионином по Нисслю), Me (Ql–Qh)
Table 2. The total number density of neurons (1 mm²) of the various layers of the parietal cortex of the human brain (biopsies), Nissl thionine staining, Me (Ql–Qh)

Layers	The total number density of neurons in the groups		P-level
	comparisons	main	
I	145 (120–160)	122 (109–172)	>0,05
II	672 (545–912)	503 (445–589)	=0,01*
IIIa	360 (325–395)	300 (244–322)	=0,045*
IIIb	300 (220–355)	278 (212–308)	>0,05
IIIc	240 (195–262)	232 (225–270)	>0,05
IV	542 (480–635)	469 (422–501)	=0,01*
V	268 (245–340)	204 (154–237)	=0,02*
VI	312 (302–380)	286 (243–301)	=0,045*

Note (примечание): layers – слои; the total number density of neurons in the groups – общая численная плотность нейронов в группах; comparisons – группа сравнения; main – основная группа; * – the differences between groups are statistically significant at $p < 0,05$ (Mann-Whitney test) – различия между группами статистически значимы при $p < 0,05$ (тест Mann-Whitney). Me – median – медиана; Ql – lower quartile – нижняя квартиль; Qh – the upper quartile – верхняя квартиль.

значительное количество реактивно измененных нейронов (табл. 1).

Таким образом, по данным гистологического морфометрического изучения нейронов КБМ, установлено, что в основной группе (хроническая ишемия) происходило статистически значимое выпадение нейронов, а 55% сохранившихся нейронов имели признаки реактивных изменений. Преобладали гиперхромные сморщенные нейроны. Больше всего таких нейронов выявлялось в слоях IIIc, IV и V. Остальные нейроны (45%) – типичные нормохромные. Вероятно, именно за счет них при хронической ишемии происходила компенсаторно-восстановительная реорганизация поврежденных нейронных сетей КГМ.

В ходе иммуногистохимического исследования на серийных срезах изучали NSE-, кальбиндин- и NPY-позитивные нейроны, а также распределение на телах пирамидных нейронов и в нейроне височной КГМ р38-позитивного материала (синаптические терминалы) (рис. 3).

Установлено, что редукция общей численной плотности нейронов коры височной доли мозга человека в основной группе сопровождалась компенсаторной активацией образования NSE в сохранившихся функционирующих нейронах (табл. 3).

pyramidal neurons only initial segments of the proximal part of the dendrit were identified. Reactive and destructive changes of the cell (hyperchromic shrunken and shriveled cells, hypochromic neurons, shaded phagocytized neurons) were observed. The ischemic penumbra zone displayed well-known typical structural organization, as described by other authors in acute and chronic ischemia. The relative content of reactive changes of neurons was significantly different in different parts of the zone of ischemic penumbra. Extreme details included: 1) the prevalence of normochromic neurons in the field of view and 2) total hyperchromatic changes with shrinkage of almost all cells. The «foci» of ischemic penumbra zone were identified by different levels of local ischemic damage. Morphometric analysis of neurons was performed only in areas CNC containing typical normochromic and reactively modified neurons (Fig. 2, Table. 1–4). According to available data [4, 9], these areas display the potential structural and functional recovery after the removal of the cause of chronic ischemia.

Changes of CNC cytoarchitectonics in chronic ischemia followed by rearrangement of interneuron relations. Axon-spinules synapses inhibitory interneurons affecting less than axon-dendrit and axon-spinules synapses and excitatory neurons. This was evidenced by the

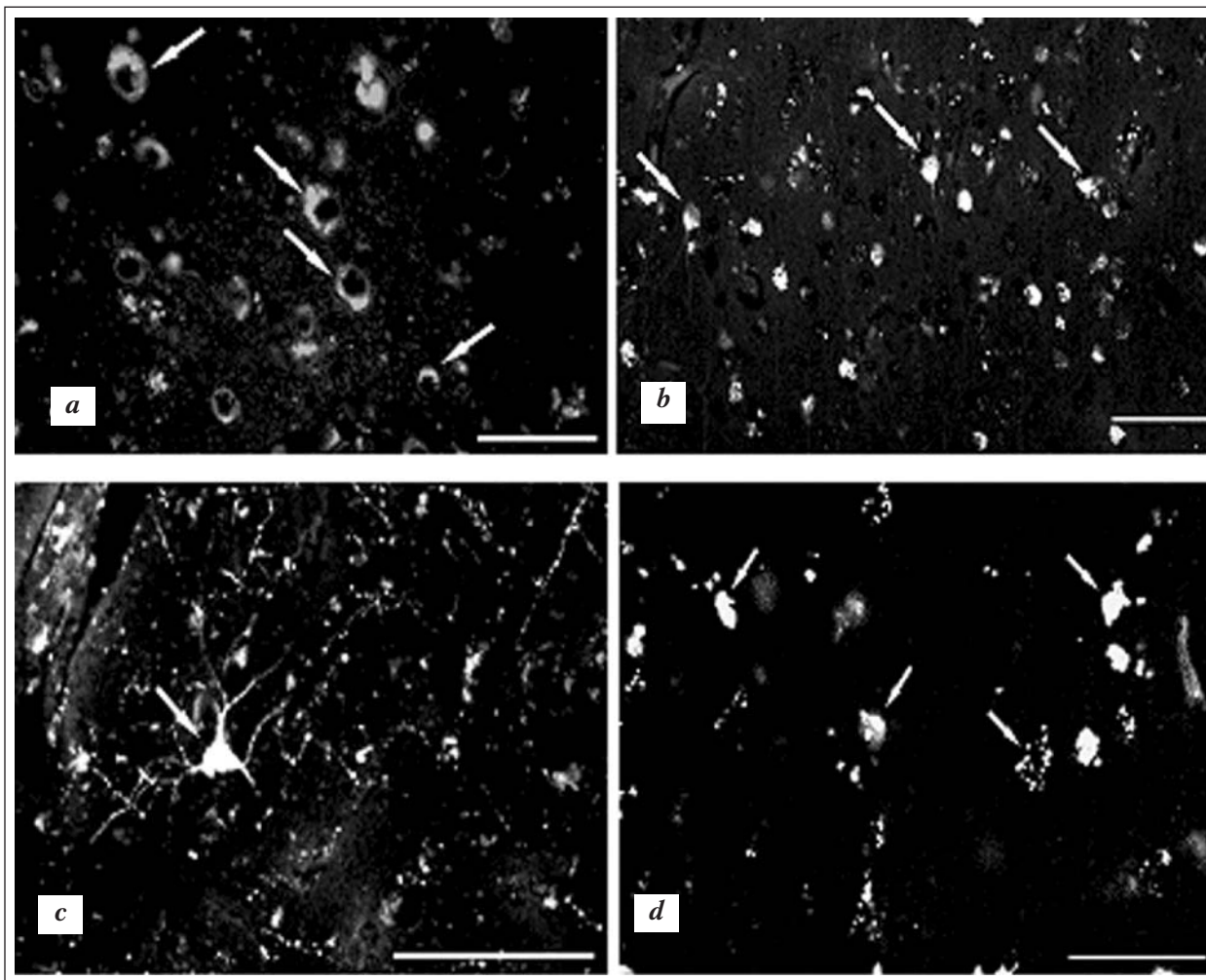


Рис. 3. Иммуногистохимическое исследование коры височной доли мозга человека, основная группа. Иммунофлуоресценция. ув. $\times 40$. Шкала 50 мкм.

Fig. 3. Immunohistochemical study of human cerebral neocortex. Immunofluorescence. Lens $\times 40$. Scale 50 μm .

Note (примечание): *a* – NSE-positive neurons (arrows) – NSE-позитивные нейроны (стрелки); *b* – calbindin-positive neurons (arrows) – кальбиндин-позитивные нейроны (стрелки); *c* – NPY-positive neurons (arrows) – NPY-позитивный нейрон (стрелки); *d* – synaptophysin-positive neurons (arrows) – p38-позитивные нейроны (стрелки); NSE (neuron specific enolase) – нейрон специфическая енолаза; NPY (neuropeptide Y) – нейропептид Y.

Таблица 3. Площадь NSE-позитивного материала в поле зрения коры височной доли мозга человека основной группы и группы сравнения (мкм²) Me (Ql; Qh)

Table 3. Area (mm²) of NSE-positive material in the field of view temporal cortex of the human brain (main group versus comparison group), Me (Ql; Qh)

Layers	Area of NSE-positive neurons in groups	
	comparison	main
III	215 (190; 256) 0,57%	325 (305; 376)** 0,85%
V	475 (412; 488)## 1,25%	609 (511; 628)***## 1,60%

Note (примечание): Here and table 4–6: layers – слои; group comparison – группа сравнения; main group – основная группа; NSE (neuron specific enolase) – нейрон специфическая енолаза; area of NSE-positive neurons in group – площадь NSE-позитивных нейронов в группах; ** – differences are statistically significant in comparison with the comparison group at $P < 0,01$ and *** – at $P < 0,001$; ## – in comparison with the layer III at $P < 0,01$ and ### – at $P < 0,001$ (Kolmogorov-Smirnov). ** – различия статистически значимы в сравнении с группой сравнения при $p < 0,01$ и *** – при $p < 0,001$; ## – в сравнении со слоем III при $p < 0,01$ и ### – при $p < 0,001$ (критерий Колмогорова-Смирнова). Me – median – медиана; Ql – lower quartile – нижний квартиль; Qh – upper quartile – верхний квартиль.

Кальбиндин-позитивные возбуждающие и тормозные нейроны выявлялись во всех слоях КГМ. В силу того, что этот белок не является специфическим, тормозные интернейроны среди всех кальбиндин-позитивные нейроны идентифицировали на основании морфологических критериев, установленных для

increase in ischemia area fraction of p38-positive PT within axon-soma (mainly brake) synapses on pyramidal neurons to 56.6–61.5% (OK – 35.3–55.6%).

Immunohistochemical study using serial sections demonstrated the distribution of NSE-, calbindin- and NPY-positive neurons and the bodies of pyramidal neu-

Mechanisms of the development of critical illness

Таблица 4. Численная плотность кальбиндин-позитивных интернейронов и относительная площадь их тел в поле зрения височной доли коры головного мозга человека основной группы и группы сравнения, Me (Ql; Qh)
Table 4. The numerical density of calbindin-positive interneurons and the relative area of their bodies in the field of view of the temporal cortex of the human brain (main group vs. comparison group), Me (Ql; Qh)

Layers	Calbindin-positive interneurons in groups	
	comparison	main
	The numerical density (1 mm²)	
III	34 (21; 43)	32 (17; 51)
V	16 (8; 24)###	18 (11; 29)##
	Relative area (%)	
III	0,46 (0,35; 0,64)	0,90 (0,74; 1,06)***
V	0,31 (0,22; 0,47)	0,63 (0,51; 0,82)****

Note (примечание): layers – слои; calbindin-positive interneurons in groups – кальбиндин-позитивные интернейроны в группах; the numerical density (1 mm²) – численная плотность (мм²); relative area (%) – относительная площадь (%). *** – statistically significant differences between the comparison and groupno core group at $P=0,001$ – различия статистически значимы между группной сравнения и основной группой при $P=0,001$; # – In comparison with the layer III when $P=0,04$ – в сравнении со слоем III при $P=0,04$; ## – when $P=0,01$ (Mann-Whitney test) – при $P=0,01$ (критерий Манна-Уитни); ### – when $P=0,001$ (Mann-Whitney test) при $P=0,001$ (критерий Манна-Уитни). Me – median – медиана; Ql – lower quartile – нижний квартиль; Qh – upper quartile – верхний квартиль.

Таблица 5. Численная плотность нейронов и относительная площадь (в поле зрения, %) NPY-иммунопозитивных структур слоя III коры височной доли головного мозга человека основной группы и группы сравнения
Table 5. The numerical density of neurons and the relative area (in sight, %) of NPY-immunopositive structures in layer III of the temporal cortex of the human brain (main group vs. comparison group), Me (Ql; Qh)

Parameters	Parameter values in groups	
	comparison	main
The numerical density of neurons per 1 mm ²	2,9 (1,9; 3,2)	2,7 (1,5; 3,1) $P=0,9$
Area, %, in the field of view	1,80 (1,50; 2,34)	3,91 (3,47; 4,67) $P=0,003\#$

Note (примечание): parameter – показатель; parameter values in groups – значение показателей в группах; comparison group – группа сравнения; main group – основная группа; the numerical density of neurons per 1 mm² – численная плотность нейронов, на 1 мм²; area, %, in the field of view – площадь, % в поле зрения; NPY (neuropeptide Y) – нейропептид Y; * – statistically significant differences between groups (Kolmogorov-Smirnov test for paired comparisons of independent samples) at $P<0,05$ – различия статистически значимы между группами (критерий Колмогорова-Смирнова для парных сравнений независимых выборок) при $P<0,05$.

данного типа клеток [7, 12]. При иммуногистохимическом выявлении кальбиндина типология тормозных интернейронов определялась пирамидной формой, небольшой величиной перикариона с короткими радиальными дендритами (нейроглиоморфные клетки) [12].

Существенно то, что при хронической ишемии численная плотность кальбиндин-позитивных тормозных интернейронов соответствовала уровню группы сравнения, а количество флуоресцентной метки на единицу площади нейронов было практически в 2,0 раза больше (критерий Манна-Уитни, $p<0,001$) (табл. 4). Это, вероятно, свидетельствовало о компенсаторной экспрессии данного белка в сохранившихся нейронах.

Отчетливо верифицировать тела и отростки только интернейронов можно с помощью иммуногистохимической окраски на NPY [7, 12]. Это позволило точно оценить (с помощью программы ImageJ 1.46, бинарное изображение – маска) количество этого нейропептида в КГМ. В основной группе численная плотность тел NPY-позитивных тормозных интернейронов была на уровне группы сравнения, а относительная площадь NPY-иммунореактивных структур (тела, отростки) – статистически значимо больше (табл. 5).

Изменения citoархитектоники КГМ при хронической ишемии сопровождались перестройкой меж-

ронов и neuropil in the temporal CNC p38-positive material (synaptic terminal) (Fig. 3).

It was found that the reduction of the total number of neurons in CNC of the study group was accompanied by activation of compensatory education NSE in surviving neurons (Table. 3).

Calbindin-positive excitatory and inhibitory neurons were detected in all layers of SMC. By virtue of the fact that calbindin belongs to proteins of specific inhibitory interneurons, the calbindin-positive neurons were identified based on morphological criteria established for a given cell type [7, 12]. Immunohistochemical detection of calbindin typology of inhibitory interneurons was accompanied by non-pyramidal shape, small size of the perikaryon with short radial dendrites (neuroglial cells) [12]. Significantly, in chronic ischemia the level of numerical density of calbindin-positive inhibitory interneurons matched the comparison group, and the number of fluorescent labels per unit area of neurons was almost twice more (Mann-Whitney test, $P<0,001$) (Table 4) This is probably indicative of compensatory expression of the protein in the surviving neurons.

Clear verification of the body and appendages in interneurons is available by immunohistochemical staining of neuropeptide NPY [7, 12]. This allowed to accurately estimate (using ImageJ 1.46, a binary image – mask) the

Таблица 6. Площадь (мм²) p38-позитивного материала в поле зрения коры височной доли головного мозга человека в основной группе и группе сравнения, Me (Ql; Qh)**Table 6. Area (mm²) of p38-positive material in the field of view of the temporal cortex of the human brain in the study group and comparison group, Me (Ql; Qh)**

Layers	Area of p38-positive neurons in group		Significance, <i>P</i>
	comparison	main	
II–III	365 (314; 422)	288 (245; 315)	0,01*
V	456 (434; 575) [#]	321 (245; 433)	0,001*

Note (примечание): Layers – слои; Area of p38-positive neurons in group – величина площади p38-позитивных нейронов в группах; comparison group – группа сравнения; main group – основная группа; significance, *P* – достоверность различий; * – significant differences between the comparison group and the main group – различия статистически значимы между группой сравнения и основной группой; # – compared to the layer III, *P*=0,03, Mann-Whitney test – в сравнении со слоем III при *P*=0,03, критерий Манна-Уитни. Me – median – медиана; Ql – lower quartile – нижний квартиль; Qh – upper quartile – верхний квартиль.

нейронных отношений. Статистически значимо уменьшалась площадь p38-позитивного материала в поле зрения (табл. 6).

При этом на возбуждающих пирамидных нейронах аксосоматические синапсы повреждались меньше, чем аксодендритные и аксошиповиковые синапсы. Об этом свидетельствовало увеличение при хронической ишемии доли площади p38-позитивной метки в зоне аксосоматических (преимущественно тормозных) синапсов на пирамидных нейронах до 56,6–61,5% (в норме – 35,3–55,6%, 95% доверительный интервал).

При хронической ишемии (основная группа) редукция общей численной плотности нейронов КГМ сопровождается усилением экспрессии NSE, кальбиндина, p38 и NPY в сохранившихся нейронах.

NSE – гликолитический фермент (2-фосфо-D-глицерат гидролаза), относящийся к семейству енолаз, участвует в предпоследнем этапе гликолиза – катализирует переход 2-фосфо-О-глицериновой кислоты в фосфоенолпируват. Иммуноцитохимическая реакция на NSE является хорошим индикатором активных нейронов в различных областях головного мозга [17].

Кальбиндин – внутриклеточный кальций-связывающий белок, регулирующий концентрацию ионов кальция в цитозоле, а следовательно – все кальций-зависимые механизмы повреждения и восстановления нейронов [11–13]

p38 – интегральный белок мембраны синаптических пузырьков, обеспечивает их контакт с цитоплазматической мембраной и участвует в процессе экзо- и эндоцитоза медиатора при передаче импульса. Иммуногистохимические методы выявления p38 используются для оценки синаптогенеза, а также синаптической плотности в нервной системе в различных модельных нейробиологических экспериментах [18].

NPY – 36-аминокислотный нейропептид, который действует как нейромедиатор в центральной и вегетативной нервной системе человека, содержится в тормозных интернейронах коры головного мозга, оказывает модулирующее действие [15, 16].

Мы полагаем, что в зоне длительных нарушений микроциркуляции КГМ активируются механизмы естественной защиты нейронных сетей от чрезмерного эксайтотоксического возбуждения и повреждения, которые морфологически проявляются в виде гипертро-

amount of the neuropeptide in CNC. In the main group the density of bodies of NPY-positive inhibitory interneurons was at the level of the comparison group and the relative area of NPY-immunoreactive structures (body processes) was significantly longer (Table 5).

Changes of cytoarchitectonics of CNC in chronic ischemia followed by rearrangement interneural relations demonstrate significantly reduced area of p38-positive material in the field of view (Table 6).

Thus in the excitatory pyramidal neurons axon synapses were damaged less than axon-dendrit /synapses. This was evidenced by the increase in chronic ischemic area fraction of p38-positive region within the areas of axosomatic (predominantly inhibitory) synapses in pyramidal neurons up to 56,6–61,5%.

Discussion. Therefore, in patients with chronic ischemia (main group) reduction of the total density of neurons is accompanied by increased expression of CNC markers NSE, calbindin, p38 and NPY in the surviving neurons. NSE – glycolytic enzyme (2-phospho-D-glycerate hydrolase), belonging to the enolase family, participates in the crucial stage of glycolysis by catalyzing transition of 2-O-phospho-glycerol acid to phosphoenolpyruvate. Immunocytochemical detecting the NSE is a good indicator of active neurons in different brain regions [17]. Calbindin, the intracellular calcium-binding protein that regulates the concentration of calcium ions into the cytosol and thus is responsible for all calcium-dependent mechanisms of injury and repair of neurons [11–13], as well as p38 that is an integral membrane protein of the synaptic vesicles, both contact with the cytoplasmic membrane and are involved in the endocytosis of exo- and mediator in the transmission pulse. Immunohistochemical methods that identify p38-IC might characterize synaptogenesis and synaptic density in the nervous system in different neurobiological experiments [18]. NPY, the 36-amino acid neuropeptide, which acts as a neurotransmitter in the central and autonomic nervous system, is concentrated within the brake cortex interneurons and provides modulating effect [15, 16]. We believe that in the area of long-term disturbances of microcirculation CNC activates natural mechanisms of neural networks to defend from excessive excitation and excitotoxic lesions that morphologically manifested as hypertrophy inhibitory interneurons with increased density of distribution.. It is likely that a denser

фии тормозных интернейронов и увеличения плотности распределения их отростков. Вполне вероятно, что более плотная сеть отростков тормозных интернейронов блокирует внутрикорковое распространение возбуждающей импульсации от переживающих возбуждающих нейронов. Это повышает устойчивость нейронных сетей к ишемии и обеспечивает возможность реализации механизмов их компенсаторной реорганизации за счет гипертрофии сохранившихся нейронов, роста их отростков и синаптической пластичности [4].

Таким образом, при хронической ишемии коры головного мозга человека происходит реорганизация возбуждающих и тормозных нейронов, направленная на их защиту от механизмов эксайтотоксического повреждения и компенсаторное восстановление структурно-функционального состояния.

Имеются работы, в которых установлено, что после ишемии происходит реорганизация тормозных и возбуждающих нейронных сетей в результате активации механизмов нейропластичности [4, 9]. Выявлено увеличение экспрессии кальбиндина в нейронах после острой ишемии [10]. Это имеет существенное значение для обсуждения и объяснения результатов настоящего исследования потому, что NPY-иммунопозитивные интернейроны относятся к клеткам с высоким содержанием кальбиндина. Увеличение количества и большая сохранность интернейронов рассматривается, как результат компенсаторной экспрессии кальбиндина, регулирующего внутриклеточную концентрацию ионов кальция, который играет ключевую роль в инициации механизмов некроза и апоптоза [11–13].

Кроме того, известно, что экспрессия NPY служит защитным механизмом от кальциевой перегрузки при перевозбуждении нейронов. Действие NPY может быть связано с влиянием на микрососуды, пресинаптические Y2-рецепторы, ингибирующие выделение глутамата, и Y1-рецепторы (в пре- и постсинаптической структуре). Это способствует уменьшению вход ионов кальция в клетку и выделения глутамата в межклеточное пространство — блокаде основных механизмов эксайтотоксического повреждения нейронов при ишемии [14–16].

Таким образом, данные литературы [17–20] и результаты наших исследований о структурно-функциональном состоянии возбуждающих и тормозных нейро-

network of intracortical inhibitory interneurons blocks the spread of excitatory impulses from neurons experiencing excitation. These processes improve adaptation of neural networks to ischemia and enable implementation of compensatory mechanisms due to reorganizational hypertrophy resulting in surviving neuronal sprouting and increasing the synaptic plasticity [4]. Thus, in patients with chronic ischemic human cerebral cortex reorganization of excitatory and inhibitory neurons is induced to protect them from the excitotoxic damage and compensatory restoration of structural and functional state. There are studies that show that after ischemia the reorganization of inhibitory and excitatory neural networks occurs as a result of the activation mechanisms of neuroplasticity [4, 9]. The increased expression of calbindin in neurons after acute ischemia has been demonstrated [10].

It is essential to discuss and explain the results of the present study since data show that NPY-immunopositive interneurons are cells expressing calbindin. The increased number and greater safety of interneurons might be considered as a result of compensatory calbindin expression regulating intracellular calcium ion concentration, which plays a key role in the initiation mechanism of necrosis and apoptosis [11–13]. Furthermore, it is known that expression of NPY acts as a protective mechanism against calcium overload in overexcitation neurons. The action of NPY could be due to targeting microvessel Y2 presynaptic receptors and inhibition of the release of glutamate, as well as targeting the Y1 receptor (pre- and postsynaptic structures). This provides aid to reduce the entry of calcium ions into the cell and release of glutamate into the extracellular space — basic mechanisms that block excitotoxic neuronal damage during ischemia [14–16]. Thus the available data [17–20] and the results of our studies on the structural and functional state of the excitatory and inhibitory neurons CNC contribute to understanding of the role of natural amplification mechanisms of inhibition of neuronal activities to protection the human brain in chronic ischemia from excitotoxic neuronal damage.

нов КГМ могут улучшить понимание роли естественных механизмов усиления торможения для защиты головного мозга человека при хронической ишемии от эксайтотоксического повреждения нейронов.

Литература

1. *Bystron I., Blakemore C., Rakic P.* Development of the human cerebral cortex: boulder committee revisited. *Nat. Rev. Neurosci.* 2008; 9 (2): 110–122. <http://dx.doi.org/10.1038/nrn2252>. PMID: 18209730
2. *Manto M., Oulad ben Taib N., Luft A.R.* Modulation of excitability as an early change leading to structural adaptation in the motor cortex. *J. Neurosci. Res.* 2006; 83 (2): 177–180. <http://dx.doi.org/10.1002/jnr.20733>. PMID: 16385580
3. *Fiala J.C.* Reconstruct: a free editor for serial section microscopy. *J. Microscop.* 2005; 218 (Pt 1): 52–61. PMID: 15817063
4. *Akulinin V.A., Belichenko P.V., Dahlström A.* Quantitative analysis of synaptophysin immunoreactivity in human neocortex after cardiac arrest: confocal laser scanning microscopy study. *Resuscitation.* 1998; 39 (3): 207–213. [http://dx.doi.org/10.1016/S0300-9572\(98\)00133-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0300-9572(98)00133-6). PMID: 10078811
5. *Сергеев А.В., Степанов С.С., Акулинин В.А., Мыцкич А.В., Разумовский В.С., Беличенко П.В.* Проблемы сравнительного изучения

References

1. *Bystron I., Blakemore C., Rakic P.* Development of the human cerebral cortex: boulder committee revisited. *Nat. Rev. Neurosci.* 2008; 9 (2): 110–122. <http://dx.doi.org/10.1038/nrn2252>. PMID: 18209730
2. *Manto M., Oulad ben Taib N., Luft A.R.* Modulation of excitability as an early change leading to structural adaptation in the motor cortex. *J. Neurosci. Res.* 2006; 83 (2): 177–180. <http://dx.doi.org/10.1002/jnr.20733>. PMID: 16385580
3. *Fiala J.C.* Reconstruct: a free editor for serial section microscopy. *J. Microscop.* 2005; 218 (Pt 1): 52–61. PMID: 15817063
4. *Akulinin V.A., Belichenko P.V., Dahlström A.* Quantitative analysis of synaptophysin immunoreactivity in human neocortex after cardiac arrest: confocal laser scanning microscopy study. *Resuscitation.* 1998; 39 (3): 207–213. [http://dx.doi.org/10.1016/S0300-9572\(98\)00133-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0300-9572(98)00133-6). PMID: 10078811
5. *Sergeyev A.V., Stepanov S.S., Akulinin V.A., Mytsik A.V., Razumovsky V.S., Belichenko P.V.* Problemy sravnitel'nogo izucheniya strukturno-funktsion-

- структурно-функционального состояния нейронов в аутопсийном и биопсийном материале неокортекса человека. *Журн. анатомии и гистопатологии*. 2014; 3 (2): 36–46.
6. *Мыщик А.В., Акулинин В.А., Степанов С.С., Сергеев А.В., Ларионов П.М.* Иммунофлуоресцентная верификация и морфометрия аксомагических сигналов неокортекса человека при острой и хронической ишемии. *Морфологические ведомости*. 2012; 3: 53–60.
 7. *Сергеев А.В., Мыщик А.В., Акулинин В.А., Степанов С.С.* Морфофункциональная характеристика возбуждающих и тормозных нейронов лобной коры большого мозга человека при хронической ишемии. *Журн. анатомии и гистопатологии*. 2013; 2 (3): 37–45.
 8. *Сергеев А.В., Степанов С.С., Акулинин В.А., Мыщик А.В.* Иммуногистохимическая и морфометрическая характеристика NPY-позитивных нейронов в различных полях мозга человека при хронической ишемии. *Вестн. новых мед. технологий*. 2013; 20 (4): 102–108.
 9. *Мыщик А.В., Акулинин В.А., Степанов С.С., Ларионов П.М.* Иммуногистохимическая и морфометрическая характеристика межнейронных взаимоотношений лобной коры большого мозга человека при острой и хронической ишемии. *Вестн. Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина*. 2013; 11 (3): 154–160.
 10. *Yenari M.A., Minami M., Sun G.H., Meier T.J., Kunis D.M., Mc Laughlin J.R., Ho D.Y., Sapolsky R.M., Steinberg G.K.* Calbindin d28k overexpression protects striatal neurons from transient focal cerebral ischemia. *Stroke*. 2001; 32 (4): 1028–1035. <http://dx.doi.org/10.1161/01.STR.32.4.1028>. PMID: 11283407
 11. *Buritica E., Villamil L., Guzman F., Escobar M.I., Garcia-Cairasco N., Pimienta H.J.* Changes in calcium-binding protein expression in human cortical contusion tissue. *J. Neurotrauma*. 2009; 26 (12): 2145–2155. <http://dx.doi.org/10.1089/neu.2009.0894>. PMID: 19645526
 12. *Druga R.* Neocortical inhibitory system. *Folia Biol. (Praha)*. 2009; 55 (6): 201–217. PMID: 20163769
 13. *Desgent S., Boire D., Pito M.* Altered expression of parvalbumin and calbindin in interneurons within the primary visual cortex of neonatal enucleated hamsters. *Neuroscience*. 2010; 171 (4): 1326–1340. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.10.016>. PMID: 20937364
 14. *Aoki C., Pickel V.M.* Neuropeptide Y in the cerebral cortex and the caudate-putamen nuclei: ultrastructural basis for interactions with GABAergic and non-GABAergic neurons. *J. Neurosci.* 1989; 9 (12): 4333–4354. PMID: 2687439
 15. *Jovanović A.A., Babović S.S., Damjanović A., Puskas L., Lazić D., Cvetić T., Jasović-Gasić M.* The role of C-Fos protein, somatostatin and neuropeptide Y in the pathogenesis of ischemic brain injuries based on animal model of cerebral ischemia. *Coll. Antropol.* 2013; 37 (3): 847–852. PMID: 24308227
 16. *Duszczak M., Ziembowicz A., Gadamski R., Wieronska J.M., Smialowska M., Lazarewicz J.W.* Changes in the NPY immunoreactivity in gerbil hippocampus after hypoxic and ischemic preconditioning. *Neuropeptides*. 2009; 43 (1): 31–39. <http://dx.doi.org/10.1016/j.npep.2008.09.008>. PMID: 19012964
 17. *Yardimoğlu M., Ilbay G., Dalcik C., Dalcik H., Sahin D., Ates N.* Immunocytochemistry of neuron specific enolase (NSE) in the rat brain after single and repeated epileptic seizures. *Int. J. Neurosci.* 2008; 118 (7): 981–983. <http://dx.doi.org/10.1080/00207450701769232>. PMID: 18569155
 18. *Downes E.C., Robson J., Grailly E., Abdel-All Z., Xuereb J., Brayne C., Holland A., Honer W.G., Mukaetova-Ladinska E.B.* Loss of synaptophysin and synaptosomal-associated protein 25-kDa (SNAP-25) in elderly Down syndrome individuals. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2008; 34 (1): 12–22. PMID: 18005332
 19. *Лихвицкий В.В., Гребенчиков О.А., Шмелева Е.В., Левиков Д.И., Сунгуров В.А., Скрипкин Ю.В.* Ингаляционная индукция и поддержание анестезии на основе севофлурана или тотальная внутривенная анестезия на основе пропофола и фентанила у пациентов с сопутствующей дисциркуляторной энцефалопатией. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (3): 41–47. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-41>
 20. *Мороз В.В., Силачев Д.Н., Плотноков Е.Ю., Зорова Л.Д., Певзнер И.Б., Гребенчиков О.А., Лихвицкий В.В.* Механизмы повреждения и защиты клетки при ишемии/реперфузии и экспериментальное обоснование применения препаратов на основе лития в анестезиологии. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (1): 63–72. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-1-63>
 21. *Заржецкий Ю.В., Мороз В.В., Волков А.В.* Влияния иммуноактивных препаратов на функциональное восстановление мозга и стероидные гормоны в постреанимационном периоде. *Общая реаниматология*. 2014; 10 (1): 5–11. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-1-5-11>
 22. *Аверущенко М.Ш., Острова И.В., Волков А.В.* Постреанимационные изменения экспрессии глимального нейротрофического фактора (GDNF): взаимосвязь с повреждением клеток Пуркинье мозжечка (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2014; 10 (5): 59–68. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-5-59-68>
- анного состояния нейронов в аутопсийном и биопсийном материале неокортекса человека. [Problems in the comparative study of the structure and function of neurons in human neocortex autopsy and biopsy specimens]. *Zhurnal Anatomii i Gistopatologii*. 2014; 3 (2): 36–46. [In Russ.]
6. *Mytsik A.V., Akulinin V.A., Stepanov S.S., Sergeev A.V., Larionov P.M.* Immunofluorescent verification and morphometry of axosomatic synapses of the human neocortex in acute and chronic ischemia. *Morfologicheskie Vedomosti*. 2012; 3: 53–60. [In Russ.]
 7. *Sergeev A.V., Mytsik A.V., Akulinin V.A., Stepanov S.S.* Morfofunktsionalnaya kharakteristika vzbuzhdayushchikh i tormoznykh neuronov lobnoi kory bolshogo mozga cheloveka pri khronicheskoi ishemii. [Morphofunctional characteristics of excitatory and inhibitory neurons in the human frontal cerebral cortex in chronic ischemia]. *Zhurnal Anatomii i Gistopatologii*. 2013; 2 (3): 37–45. [In Russ.]
 8. *Sergeev A.V., Stepanov S.S., Akulinin V.A., Mytsik A.V.* Immunogistokhimicheskaya i morfometricheskaya kharakteristika NPY-pozitivnykh neuronov v razlichnykh polyakh mozga cheloveka pri khronicheskoi ishemii. [Immunohistochemical and morphometric characteristics of NPY-positive neurons in different human brain fields in chronic ischemia]. *Vestnik Novykh Meditsinskikh Tekhnologii*. 2013; 20 (4): 102–108. [In Russ.]
 9. *Mytsik A.V., Akulinin V.A., Stepanov S.S., Larionov P.M.* Immunogistokhimicheskaya i morfometricheskaya kharakteristika mezheironnykh vzaimootnoshenii lobnoi kory bolshogo mozga cheloveka pri ostroi i khronicheskoi ishemii. [Immunohistochemical and morphometric characteristics of interneuron relationships in the human frontal cerebral cortex in acute and chronic ischemia]. *Vestnik Novosibirskogo Gosudarstvennogo Universiteta. Seriya: Biologiya, Klinicheskaya Meditsina*. 2013; 11 (3): 154–160. [In Russ.]
 10. *Yenari M.A., Minami M., Sun G.H., Meier T.J., Kunis D.M., Mc Laughlin J.R., Ho D.Y., Sapolsky R.M., Steinberg G.K.* Calbindin d28k overexpression protects striatal neurons from transient focal cerebral ischemia. *Stroke*. 2001; 32 (4): 1028–1035. <http://dx.doi.org/10.1161/01.STR.32.4.1028>. PMID: 11283407
 11. *Buritica E., Villamil L., Guzman F., Escobar M.I., Garcia-Cairasco N., Pimienta H.J.* Changes in calcium-binding protein expression in human cortical contusion tissue. *J. Neurotrauma*. 2009; 26 (12): 2145–2155. <http://dx.doi.org/10.1089/neu.2009.0894>. PMID: 19645526
 12. *Druga R.* Neocortical inhibitory system. *Folia Biol. (Praha)*. 2009; 55 (6): 201–217. PMID: 20163769
 13. *Desgent S., Boire D., Pito M.* Altered expression of parvalbumin and calbindin in interneurons within the primary visual cortex of neonatal enucleated hamsters. *Neuroscience*. 2010; 171 (4): 1326–1340. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.10.016>. PMID: 20937364
 14. *Aoki C., Pickel V.M.* Neuropeptide Y in the cerebral cortex and the caudate-putamen nuclei: ultrastructural basis for interactions with GABAergic and non-GABAergic neurons. *J. Neurosci.* 1989; 9 (12): 4333–4354. PMID: 2687439
 15. *Jovanović A.A., Babović S.S., Damjanović A., Puskas L., Lazić D., Cvetić T., Jasović-Gasić M.* The role of C-Fos protein, somatostatin and neuropeptide Y in the pathogenesis of ischemic brain injuries based on animal model of cerebral ischemia. *Coll. Antropol.* 2013; 37 (3): 847–852. PMID: 24308227
 16. *Duszczak M., Ziembowicz A., Gadamski R., Wieronska J.M., Smialowska M., Lazarewicz J.W.* Changes in the NPY immunoreactivity in gerbil hippocampus after hypoxic and ischemic preconditioning. *Neuropeptides*. 2009; 43 (1): 31–39. <http://dx.doi.org/10.1016/j.npep.2008.09.008>. PMID: 19012964
 17. *Yardimoğlu M., Ilbay G., Dalcik C., Dalcik H., Sahin D., Ates N.* Immunocytochemistry of neuron specific enolase (NSE) in the rat brain after single and repeated epileptic seizures. *Int. J. Neurosci.* 2008; 118 (7): 981–983. <http://dx.doi.org/10.1080/00207450701769232>. PMID: 18569155
 18. *Downes E.C., Robson J., Grailly E., Abdel-All Z., Xuereb J., Brayne C., Holland A., Honer W.G., Mukaetova-Ladinska E.B.* Loss of synaptophysin and synaptosomal-associated protein 25-kDa (SNAP-25) in elderly Down syndrome individuals. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2008; 34 (1): 12–22. PMID: 18005332
 19. *Лихвицкий В.В., Гребенчиков О.А., Шмелева Е.В., Левиков Д.И., Сунгуров В.А., Скрипкин Ю.В.* Ингаляционная индукция и поддержание анестезии на основе севофлурана или тотальная внутривенная анестезия на основе пропофола и фентанила у пациентов с сопутствующей дисциркуляторной энцефалопатией. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (3): 41–47. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-41>
 20. *Мороз В.В., Силачев Д.Н., Плотноков Е.Ю., Зорова Л.Д., Певзнер И.Б., Гребенчиков О.А., Лихвицкий В.В.* Механизмы повреждения и защиты клетки при ишемии/реперфузии и экспериментальное обоснование применения препаратов на основе лития в анестезиологии. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (1): 63–72. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-1-63>
 21. *Заржецкий Ю.В., Мороз В.В., Волков А.В.* Влияния иммуноактивных препаратов на функциональное восстановление мозга и стероидные гормоны в постреанимационном периоде. *Общая реаниматология*. 2014; 10 (1): 5–11. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-1-5-11>
 22. *Аверущенко М.Ш., Острова И.В., Волков А.В.* Постреанимационные изменения экспрессии глимального нейротрофического фактора (GDNF): взаимосвязь с повреждением клеток Пуркинье мозжечка (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2014; 10 (5): 59–68. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-5-59-68>

Поступила 09.04.14

Mechanisms of the development of critical illness

primeneniya preparatov na osnove litiya v anesteziologii. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Mechanisms of cell damage and protection in ischemia/reperfusion and experimental rationale for the use of lithium-based preparations in anesthesiology. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (1): 63–72. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-1-63>. [In Russ.]

21. Zarzhetsky Yu.V., Moroz V.V., Volkov A.V. Vliyaniya immunoaktivnykh preparatov na funktsionalnoe vosstanovlenie mozga i steroidnye gormony v postreanimatsionnom periode. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Effect of immunoactive drugs on postresuscitation processes in the brain and steroid hormones. *General Reanimatology*]. 2014; 10 (1): 5–11. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-1-5-11>. [In Russ.]

22. Avrushchenko M.Sh., Ostrova I.V., Volkov A.V. Postreanimatsionnye izmeneniya ekspressii glialnogo neirotroficheskogo faktora (GDNF): vzaimosvyaz s povrezhdeniem kletok Purkinje mozzhechka (eksperimentalnoe issledovanie). *Obshchaya Reanimatologiya*. [Postresuscitation changes in the expression of glial-derived neurotrophic factor (GDNF): association with cerebellar Purkinje cell damage (an experimental study). *General Reanimatology*]. 2014; 10 (5): 59–68. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-5-59-68>. [In Russ.]

Submitted 09.04.14



НСР

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СОВЕТ
по РЕАНИМАЦИИ



Курсы Европейского совета по реанимации

Курсы по навыкам оказания помощи при внезапной сердечной смерти проводятся на регулярной основе в НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского совместно с Российским Национальным советом по реанимации и Европейским советом по реанимации

Контактное лицо – директор курса,
к. м. н. Кузовлев Артем Николаевич
Тел.: 8 (926) 188-76-41

E-mail: artemkuzovlev@gmail.com
www.niiorramn.ru/council/courses.php

Адрес: 107031, Москва, ул. Петровка, дом 25, стр. 2
Сайт НИИ общей реаниматологии
им. В. А. Неговского – www.niiorramn.ru

ОБЩАЯ РЕАНИМАТОЛОГИЯ

Научно-практический журнал «Общая реаниматология», входящий в перечень ВАК РФ, предназначен для врачей анестезиологов-реаниматологов и научных сотрудников.

Тематика журнала: патогенез, клиника, диагностика, лечение, профилактика и патологическая анатомия критических, терминальных и постреанимационных состояний. Вопросы оказания догоспитальной помощи при критических состояниях. Вопросы обучения населения и медицинского персонала приемам оказания неотложной помощи при критических состояниях.

Аудитория: лечебные учреждения; высшие учебные заведения медицинского профиля; медицинские учреждения последиplomного образования, Федеральные и региональные органы управления здравоохранением, медицинские научно-исследовательские институты; медицинские библиотеки.

ПОДПИСКА

В любом почтовом отделении связи по каталогу «Роспечать»

- индекс 46338 – для индивидуальных подписчиков
- индекс 46339 – для предприятий и организаций