DOI:10.15360/1813-9779-2018-5-38-49

Коммуникация нейронов поля CA3 гиппокампа головного мозга белых крыс после острой ишемии

А. С. Степанов, В. А. Акулинин, С. С. Степанов, Д. Б. Авдеев, А. В. Горбунова

Омский государственный медицинский университет Минздрава России
Россия, 644099, г. Омск, ул. Ленина, д. 12

Neurons Communication in the Hippocampus of Field CA3 of the White Rat Brain after Acute ischemia

Alexander S. Stepanov, Victor A. Akulinin, Sergey S. Stepanov, Dmitry B. Avdeev, Anna V. Gorbunova

Omsk State Medical University, Ministry of Health of Russia,
12 Lenin Str., 644099 Omsk, Russia

Цель: сравнительное изучение пирамидных нейронов, их отростков и синапсов в stratum lucidum, stratum radiatum и stratum lacunosum молекулярного слоя поля CA3 гиппокампа головного мозга белых крыс в норме и после острой ишемии, вызванной 20-минутной окклюзией общих сонных артерий.

Материалы и методы. В эксперименте с помощью гистологических (гематоксилин и эозин, окраска по Нисслю), иммуногистохимических (p38, MAP-2) методов и электронной микроскопии были изучены пирамидные нейроны поля CA3, их отростки и синапсы в stratum lucidum, stratum radiatum и stratum lacunosum молекулярного слоя. Основную группу составили животные в реперфузионном периоде (1, 3, 7, 14, 21 и 30 сут; *n*=30), группу сравнения — ложнооперированные животные (*n*=20). Морфометрический анализ проведен с помощью программы ImageJ 1.46, проверка статистических гипотез — программы Statistica 8.0.

Результаты. После окклюзии общих сонных артерий (ООСА) в CA3 гиппокампа отметили реактивную, компенсаторную и репаративную реорганизацию пирамидных нейронов и структур их коммуникации. Сначала (1 сут) происходило уменьшение, а затем (3—14 сут) восстановление общего количества синапсов и площади срезов p38-позититвного материала. По данным электронной микроскопии, в раннем постишемическом периоде общая численная плотность синаптических контактов в stratum lacunosum молекулярного слоя уменьшалась на 44,8%, а через 14 сут восстанавливалась до контроля. В stratum lucidum через 1 сут площадь p38-позититвного материала уменьшалась на 8,8%, а через 3—7 сут восстанавливалась.

Заключение. После ООСА происходила реорганизация систем коммуникации пирамидных нейронов CA3 гиппокампа белых крыс. Нейроны CA3 обладали высокой толерантностью к ишемии и способностью к восстановлению межнейронных отношений после реперфузии. В сохранившихся нейронах выявили высокое содержание маркера цитоскелета (MAP-2) и синаптических пузырьков (p38). Это свидетельствовало о структурно-функциональной сохранности всех компонентов системы коммуникации значительной части пирамидных нейронов при острой ишемии. После реперфузии наиболее выражено перестраивались межнейронные синапсы в stratum lacunosum и radiatum молекулярного слоя.

Ключевые слова: *головной мозг; ишемия; поле CA3 гиппокампа; нейроны; синапсы; иммуногистохимия; синаптофизин; MAP-2; ультраструктура; морфометрия*

The aim of this study was to compare the pyramidal neurons, their processes and synapses in the stratum lucidum, stratum radiatum and stratum lacunosum of the molecular layer of the field CA3 of the hippocampus of the brain of white rats in the normal state and after acute ischemia caused by a 20-minute occlusion of the common carotid arteries.

Materials and methods. In the experiment, using histological methods (hematoxylin and eosin, staining by Nissle and immunohistochemistry for p38, MAP-2) and electron microscopy, the pyramidal neurons of field CA3, their processes and synapses in stratum lucidum, stratum radiatum and stratum lacunosum of the molecular layer were studied. The main group included animals in the reperfusion period (1, 3, 7, 14, 21, and 30 days; *n*=30), comparison group — falsely operated animals (*n*=20). Morphometric analysis was performed using ImageJ 1.46, the verification of statistical hypotheses — Statistica 8.0.

Results. After occlusion of the common carotid arteries (CCAO) in the field CA3 of hippocampus, reactive, compensatory and reparative reorganization of pyramidal neurons and their communication structures was noted. On day 1, there was a decrease, and then (days 3—14) restoration of the total number of synapses and of P38-positive material within the area of synapses. According to electron microscopy, in the early post-ischemic period, the total

Адресс для корреспонденции:

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

Correspondence to:

Victor A. Akulinin
E-mail: akulinin@omsk-osma.ru

numerical density of synaptic contacts in the stratum lacunosum of the molecular layer decreased by 44.8%, and after 14 days recovered to control. In stratum lucidum, the area of P38-positive material decreased by 8.8% after 1 day, and recovered after 3—7 days.

Conclusion. After the CCAO, the communication systems of the pyramid neurons of the field CA3 hippocampus of white rats were reorganized. Neurons of the field CA3 had high tolerance to ischemia and ability to restore interneural relations after reperfusion. In the surviving neurons, high levels of the cytoskeleton (MAP-2) marker and synaptic vesicles (p38) were detected. Data demonstrate structural and functional safety of all components of the communication system of a significant part of pyramidal neurons in acute ischemia. After reperfusion, the most significant alterations included the reconstructed interneuron synapses in the stratum radiatum and the lacunosum molecular layer.

Keywords: *brain; ischemia; hippocampus field CA3; neurons; synapses; immunohistochemistry; synaptophysin; MAP-2; ultrastructure; morphometry*

DOI:10.15360/1813-9779-2018-5-38-49

Введение

Цито- и синаптоархитектоника гиппокампа хорошо изучены. Известно, что мощные апикальные дендриты пирамидных нейронов поля CA3 разделяются недалеко от перикариона и покрыты гигантскими шипиковыми выростами. Эти шипики пирамидных нейронов CA3 образуют синаптические контакты с гигантскими аксонами гранулярных нейронов зубчатой фасции (мшистыми волокнами). Аксоны пирамидных нейронов CA3 дают так называемые коллатерали Шаффера, контактирующие с апикальными дендритами пирамид CA1. Упомянутые связи являются двумя основными ассоциативными путями гиппокампа, соединяющими воедино его основные элементы, и составляют так называемый трисинаптический путь. Поле CA3 гиппокампа является точкой конвергенции потоков информации от ассоциативной коры и филогенетически древних образований ствола мозга [1–6]. Хорошо изучены нейромедиаторные системы гиппокампа [7]. Большое значение для реорганизации межнейронных отношений и коммуникации пирамидных нейронов гиппокампа имеет его высокая синаптическая пластичность [8].

Известно, что гиппокамп является структурой, играющей ключевую роль в осуществлении когнитивных функций головного мозга [9, 10]. В связи с этим он привлекает внимание исследователей в случаях развития когнитивного дефицита при различных патологических состояниях, включая и ишемию мозга [11, 12].

Несмотря на большое количество исследований, посвященных морфологии гиппокампа головного мозга белых крыс, особенности коммуникации пирамидных нейронов поля CA3 после 20-минутной окклюзией общих сонных артерий в сравнительном аспекте (аксодендритические синапсы stratum lucidum, radiatum, lacunosum молекулярного слоя и аксосоматические синапсы слоя пирамид) не изучены.

Цель исследования — сравнительное изучение пирамидных нейронов, их отростков и синапсов в stratum lucidum, stratum radiatum и stratum lacunosum молекулярного слоя поля CA3 гиппокампа головного мозга белых крыс в норме и после

Introduction

Cyto- and synaptoarchitectonics of hippocampus have been well studied. It is known that the strong apical dendrites of pyramidal neurons in field CA3 are separated near perikaryon and covered with giant synapses outgrowths. These spines of the pyramid neurons in field CA3 form synaptic contacts with giant axons of granular neurons of the serrated fascia (mossy fibers). The axons of the field CA3 pyramidal neurons give the so-called Schaffer collaterals in contact with apical dendrites of field CA1 pyramids. Mentioned relationships are two of the main associative pathways in the hippocampus, connecting together its major elements, which constitute the so-called three synaptic pathways. The field CA3 of the hippocampus is a point of convergence of information flows from the associative cortex and phylogenetically ancient brain stem formations [1–6]. Neurotransmitter systems in the hippocampus are well studied [7]. High synaptic plasticity of hippocampal pyramid neurons is of great importance for the reorganization of interneural relations and communication [8].

It is known that the hippocampus is a structure that plays a key role in the implementation of cognitive functions of the brain [9, 10]. In this regard, it attracts the attention of researchers in cases of cognitive deficit in various pathological conditions, including brain ischemia [11, 12].

Despite a large number of studies devoted to the morphology of hippocampus of the brain of white rats, the features of communication of pyramidal neurons within the field CA3 after 20-minute occlusion of the common carotid arteries in the comparative aspect (axodendritic synapses of stratum lucidum, radiatum, lacunosum of the molecular layer and axosomatic synapses of the pyramid layer) have not been studied.

The aim of this study was to compare the pyramidal neurons, their processes and synapses in the stratum lucidum, stratum radiatum and stratum lacunosum of the molecular layer of the field CA3 of the hippocampus of the brain of white rats in the normal state and after acute ischemia caused by a 20-minute occlusion of the common carotid arteries.

DOI:10.15360/1813-9779-2018-5-38-49

острой ишемии, вызванной 20-минутной окклюзией общих сонных артерий.

Материал и методы

Работа выполнена на базе ФГБОУ ВО Омского государственного медицинского университета. Данное исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО Омского государственного медицинского университета.

В качестве экспериментальных животных использовали белых крыс линии Wistar (самцы) массой 180–200 г. Животные содержались в обычном виварии в условиях, регламентированных требованиями Постановления Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 29.08.2014 № 51 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)». Исследования проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.77 №755) и с рекомендациями Международного комитета по науке о лабораторных животных, поддержанных ВОЗ, директивой Европейского Парламента № 2010/63/EU от 22.09.10 «О защите животных, используемых для научных целей».

В экспериментальном исследовании провели оценку структурно-функционального состояния систем коммуникации пирамидных нейронов поля СА3 гиппокампа белых крыс (основная группа, *n*=30) через 1, 3, 7, 14, 21 и 30 сут после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий (ООСА; 2-сосудистая модель неполной глобальной ишемии без гипотонии) [13]. Контролем (группа сравнения, *n*=20) служили ложнооперированные животные, которым после анестезии и разреза кожи клипирование сонных артерий не выполняли. Моделирование острой ишемии проводили на фоне премедикации (сульфат атропина 0,1 мг/кг, подкожно) и общей анестезии (Zoletil 100, 10 мг/кг).

Головной мозг животных фиксировали путем перфузии 4% раствора параформа на 0,1 М фосфатном буфере (pH – 7,4) и 5% раствора сахарозы через восходящую часть дуги аорты под давлением 90–100 мм рт. ст. в течение 15 мин. Затем мозг извлекали, выделяли, согласно атласу [14], поле СА3 гиппокампа. Для гистологического и иммуногистохимического исследования полученный материал заключали в парафин, изготавливали серийные фронтальные срезы толщиной 2–4 мкм. Окраску гематоксилином&эозином и по Нисслю использовали для обзорной качественной оценки нервной ткани и определения количества нейронов (общая численная плотность и плотность нормохромных нейронов). С помощью иммуногистохимии выявляли синаптические терминали и состояние цитоскелета нейронов. Для этой цели использовали первичные антитела (Bond™ Ready-to-Use Primary Antibody) против синаптофизина (27G12) и Microtubule-Associated Protein-2 (ab32454) (производитель: Leica Biosystems Newcastle Ltd, Великобритания). Окраску проводили согласно рекомендациям фирмы производителя реагентов. На иммуногистохимических препаратах определяли количество и распределение гранул маркера в поле зрения препарата [15, 16]. При светооптическом гистологическом и иммуногистохимическом исследовании с помощью микроскопа Leica DM 1000 делали цифровые микрофотографии размером изображения 2048×1536

Materials and Methods

The work was carried out at the Omsk State Medical University facilities. This study was approved by the ethical committee of the FGBOU VO, the Omsk State Medical University.

White Wistar rats (males) weighing 180–200 g were used in experiments. The animals were kept in the traditional vivarium in conditions regulated by the requirements of the Resolution of the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation No. 51 of August 29, 2014 «Sanitary and epidemiological requirements for the device, equipment and maintenance of experimental biological clinics (vivarium).» The qualitative and quantitative composition of the ration was determined according to the norms approved by the Order of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 163 of 10.03.1996. The studies were carried out in accordance with the «Rules for carrying out work using experimental animals» (Appendix to Order № 755 of the USSR Ministry of Health of 12.08.1977) and with the recommendations of the International Committee on Laboratory Animals Science, supported by European Parlament Directive № 2010/63/EU from 22.09.2010 «On the protection of animals used for scientific purposes».

The experimental study assessed the structural and functional state of communication systems of the pyramid neurons of field CA3 of the white rat hippocampus (main group, *n*=30) 1, 3, 7, 14, 21, and 30 days after 20-minute occlusion of the common carotid arteries (CCAO; 2-vascular model of incomplete global ischemia without hypotension) [13]. Control (comparison group, *n*=20) were false-operated animals, which, after anesthesia and skin incision, were not subjected to clipping of carotid arteries. Modeling of acute ischemia was performed against the background of premedication (atropine sulfate 0.1 mg/kg, subcutaneously) and general anesthesia (Zoletil 100, 10 mg/kg).

The brain of animals was fixed by perfusion of 4% solution of paraformaldehyde on 0.1 M phosphate buffer (pH – 7.4) and 5% solution of sucrose through the ascending part of the aortic arch at a pressure of 90–100 mm Hg. for 15 minutes, then the brain was extracted, isolated, according to Atlas [14], the field CA3 of the hippocampus. For histological and immunohistochemical studies, the obtained material was enclosed in paraffin, serial frontal sections 2-4 μm thick were made. Hematoxilin & eosin and Nissle staining were used for qualitative review of neural tissue and determination of the number of neurons (total numerical density and density of normochromic neurons). With the help of immunohistochemistry, synaptic terminals and the state of the cytoskeleton of neurons were detected. For this purpose, primary antibodies (Bond™ Ready-to-Use Primary Antibody) against synaptophysin (27G12) and Microtubule-Associated Protein-2 (ab32454) were used. Staining was carried out according to the recommendations of the reagent manufacturer. For immunohistochemical preparations, the number and distribution of the granules of the marker in the field of view were determined [15, 16]. Histological and immunohistochemical examinations were performed with the aid of Leica DM 1000 microscope and digital microphotographs with image size of 2048×1536 pixels made for quantitative evaluation of the material using ImageJ 1.46 software.

For electron microscopy, hippocampus field CA3 was dissected into blocks 1, 5×1, 5×2 mm, contrasted for 1–2 hrs. in 1% non-buffered solution of osmium tetraoxide, washed, dehydrated and enclosed in a epon-araldite mixture.

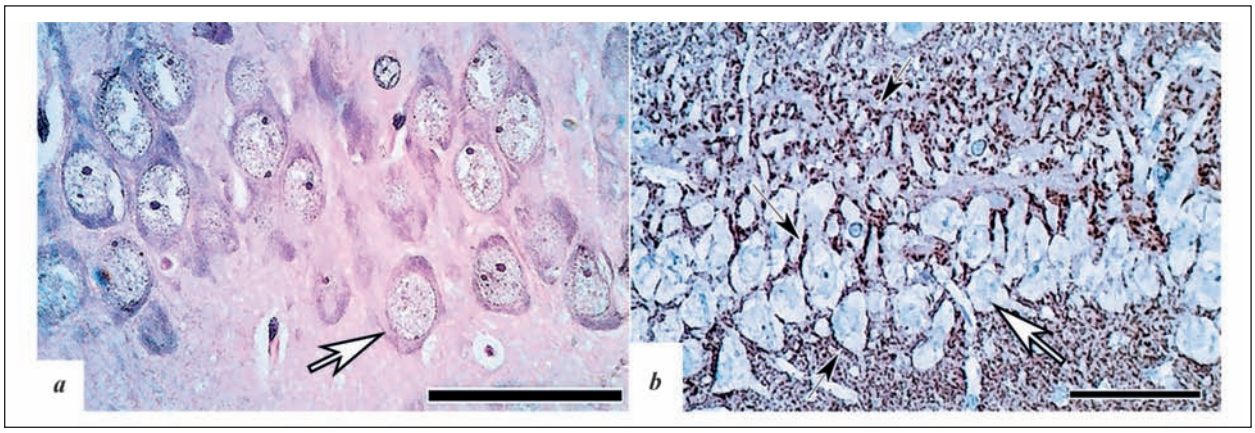

Рис. 1. Поле СА3 гиппокампа белой крысы в норме: экранное образование.
Fig.1. Field CA3 of the hippocampus of white rats in norm: screen education.
Note. The layers of pyramidal neurons — white arrows; *a* — review the hematoxylin&eosin; *b* — immunohistochemical colouring of the terminals on synaptophysin (black arrows, labels, surround the dendrites and body of neurons). Lens ×100 (*a*) and ×40 (*b*), scale — 50 μm.
Примечание. Слои пирамидных нейронов — белые стрелки; *a* — обзорная окраска гематоксилином и эозином; *b* — иммуногистохимическая окраска терминалей на синаптофизин (черные стрелки, метки окружают дендриты и тела нейронов). Объектив ×100 (*a*) и ×40 (*b*), шкала — 50 мкм.

пикселей для количественной оценки материала с помощью программы ImageJ 1.46.

Для электронной микроскопии СА3 гиппокампа рассекали на блоки 1,5×1,5×2 мм, которые контрастировали 1–2 ч в 1% незабуференном растворе четырехокиси осмия, промывали, обезвоживали и заключали в смесь эпона и аралдита. Ультратонкие (70–100 нм) срезы окрашивали уранилацетатом и цитратом свинца. В каждом случае фотографировали по 10 полей зрения (на пленки 9×12 см) при разном увеличении. Использовали ультрамикротом LKB-8800 (Швеция) и микроскоп Hitachi-600H (Япония). На оцифрованных электронограммах проводили качественную оценку нейронов, отростков, синапсов, а также подсчитывали общую численную плотность синаптических контактов.

Получение основных количественных показателей, определение характера распределения вариационных рядов, проверку статистических гипотез осуществляли с помощью программ MedCalc© и StatSoft Statistica 8.0 [17]. Использовали непараметрические критерии (Манна-Уитни, однофакторный дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса, χ^2 — критерий Пирсона). Материал представлен как медиана (*Me*), нижний (*Ql*) и верхний (*Qu*) квартили. В ходе проведения статистического анализа нулевую гипотезу отвергали при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение

В норме пирамидные нейроны в поле СА3 гиппокампа — крупные клетки с большим ядром, 1–2 ядрышками, расположены рыхло, площадь перикариона — 125,3 (113,7–165,5) мкм^2 (рис. 1, *a*). Тела и апикальные дендриты этих нейронов покрыты плотно расположенными синапсами, терминали которых заполнены гранулами меченного синаптофизина (рис. 1, *b*).

Коммуникация пирамидных нейронов поля СА3 с другими отделами головного мозга осуществляется за счет аксосоматических, аксодендритических и аксошипиковых синапсов, которые

Ultrathin (70–100 nm) sections were stained with uranyl acetate and lead citrate. In each case, 10 fields of view (on 9×12 cm films) were photographed under different magnifications. We used ultramicrotome LKB-8800 (Sweden) and microscope Hitachi-600H (Japan). The qualitative assessment of neurons, processes, synapses, and calculation of the total numerical density of synaptic contacts were carried out on the digital electronograms.

Getting the basic quantitative indicators, determining the nature of the distribution of the variation rows of the verification of statistical hypotheses was carried out using software MedCalc© StatSoft Statistica 8.0 [17]. Nonparametric tests (Mann-Whitney, one-way ANOVA Kruskal-Wallis, and Pearson correlations) were used. The data were presented as median (*Me*), lower (*Ql*) and upper (*Qu*) quartiles. In the course of statistical analysis, the null hypothesis was rejected at $p<0.05$.

Results and Discussion

Normally, the pyramid neurons in hippocampus field CA3 are represented by large cells with a large nucleus, 1–2 nucleoli, located loosely within the pericarrion area — 125.3 (113.7–165.5) mm^2 (fig. 1, *a*). The bodies and apical dendrites of these neurons are covered with densely located synapses, the terminals of which are filled with granules of labeled synaptophysin (fig. 1, *b*).

The communication of the pyramidal neurons of field CA3 with other parts of the brain become visible due to axosomatic, axodendritic and axospine synapses, which are located in the layer of the bodies of pyramidal neurons, in the stratum radiatum (trunks of apical dendrites) and lacunosum (terminal branching of apical dendrites) of the molecular layer. Immunohistochemical detection of synaptophysin (p38-positive material) in the field CA3 clearly shows a special zone (stratum lucidum), which consists of apical sites of dendrites of pyramidal neurons and

DOI:10.15360/1813-9779-2018-5-38-49

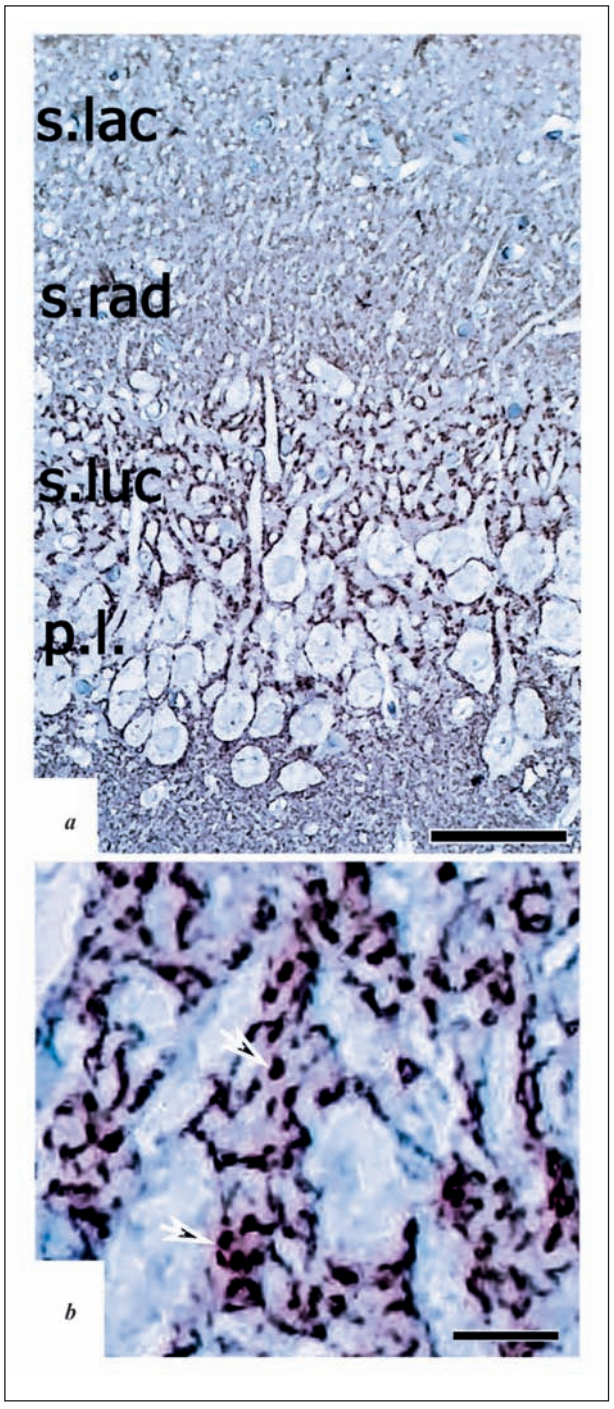

Рис. 2. Поле CA3 гиппокампа белой крысы в норме: основные зоны локализации синапсов.

Fig. 2. Field CA3 of the hippocampus of white rats in the norm: the main areas of localization of synapses.

Note. a — s.lac — stratum lacunosum; s.red — stratum radiatum; s.luc — stratum lucidum; p.l. — layer of bodies of pyramidal neurons; b — the giant terminals (marked by arrows) stratum lucidum. Immunohistochemistry (synaptophysin). Lens ×40, scale — 50 μm (*a*) and 20 μm (*b*).

Примечание. a — s.lac — stratum lacunosum; s.rad — stratum radiatum; s.luc — stratum lucidum; p.l. — слой тел пирамидных нейронов; b — гигантские терминали (отмечено стрелками) stratum lucidum. Иммуногистохимия (синаптофизин). Объектив ×40, шкала — 50 мкм (*a*) и 20 мкм (*b*).

giant synapses formed by axons of the mossy fibers of the serrated fascia (fig. 2).

Thus, the peculiarity of the hippocampal field CA3 is the presence of giant synapses on apical dendrites of pyramidal neurons in stratum lucidum (fig. 2, *b*). The area of sections of one p38-positive particle varied from 1.5 to 6.6 μm^2 (diameter from 1.4 to 2.9 μm). This was sufficient to perform an accurate morphometric analysis of the terminal area in stratum lucidum and the body layer of pyramidal neurons using light microscopy of immunohistochemical preparations (fig. 2).

In stratum radiatum and lacunosum of the molecular layer of field CA3, only the largest p38-positive particles (axospinal and axodendritic terminals) were visible in the light-optical study, and the use of electron microscopy was necessary for the study of other synapses (fig. 3, *a, b, c*).

A 20-minute CCAO resulted in a statistically significant decrease in the density of pyramidal neurons in field CA3 of white rat hippocampus (table 1). Elimination of irreversibly damaged neurons by phagocytosis has become evident due to increasing the reactive, dystrophic (swelling, vacuolation, hypochromia, hyperchromia without wrinkling and homogenization) and necrobiotic (hyperchromia-wrinkling with homogenization of the nucleus and cytoplasm, transformation into shadow cells) processes of altered cells within the nervous tissue field CA3. The maximum decrease in the number of normochromic neurons was observed in 1, 3 and 7 days. Then, in the process of structural and functional restoration of nervous tissue, the content of normochromic neurons in field CA3 increased after 30 days this relative figure up to 91.6%. However, there was no recovery to the control level. At the same time, the total numerical density of pyramid neurons in the field CA3 decreased only by 17.4% during the entire observation period (30 days) (table 1).

Thus, within 30 days after 20-minute CCAO, only a small part of field CA3 pyramidal neurons was subjected to irreversible changes and complete utilization by phagocytosis.

Throughout the studied post-ischemic period, reversible dystrophic changes of neurons (acute swelling of neurons, hydropic dystrophy of nerve cells with moderate cytoplasm vacuolation, focal and subtotal chromatolysis, hyperchromatosis) prevailed. Dark not wrinkled and shrivelled neurons without homogenization of the core prevailed. In shrivelled neurons, due to dehydration, there has been compression of the cytoplasm without degradation of the cytoskeleton and nucleus. This was especially evident in immunohistochemical verification of the cytoskeleton with antibodies against MAP-2 (fig. 4, *a, b*).

According to electron microscopy, in the stratum radiatum of the molecular layer, due to the presence of large trunks of apical dendrites of pyramidal neurons, the total numerical density of synaptic contacts (in the

Таблица 1. Общая плотность (на 1 мм²) всех и нормохромных нейронов поля CA3 в норме и постишемическом периоде, *Me (Ql–Qu)*.
Table 1. Total density (per 1 mm²) of all and normochromic neurons of the field CA3 in normal and postishemic period, *Me (Ql–Qu)*.

Groups	Neurones	
	All	Normochromic
Comparison group, *n*=20	1983 (1755–2106)	1926 (1704–2045)
Main group, *n*=30		
day 1, *n*=5	1754 (1541–1902)*	447 (356–543)*
day 3, *n*=5	1699 (1432–1712)*#	517 (412–628)*#
day 7, *n*=5	1650 (1415–1720)*	746 (587–901)*#
day 14, *n*=5	1662 (1398–1734)*	1486 (1222–1653)*#
day 21, *n*=5	1624 (1267–1658)*	1467 (1205–1653)*
day 30, *n*=5	1638 (1178–1702)*	1501 (1221–1709)*
ANOVA	df=6; H=17.5; *P*=0.03**	df=6; H=38.8; *P*=0.01**

Note. * — comparison with falsely operated animals; # —comparison with the previous term (Mann–Whitney and Kolmogorov–Smirnov test); ** — comparison between all terms (ANOVA). Differences are statistically significant at *P*<0.05. Me — median; Ql — lower; Qu — upper quartiles; ANOVA — one-way ANOVA Kruskal–Wallis.
Примечание. Для табл. 1–3: Groups — группы; Comparison — сравнения; Main — основная; day — сутки; All — все; Normochromic — нормохромные. * — сравнение с ложнооперированными животными; # — сравнение с предыдущим сроком (критерий Манна–Уитни и Колмогорова–Смирнова); ** — сравнение между всеми сроками (ANOVA). Различия статистически значимы при *p*<0,05. Me — медиана; Ql — нижний; Qu — верхний квартили; ANOVA — однофакторный дисперсионный анализ Краскела–Уоллиса.

располагаются в слое тел пирамидных нейронов, в stratum radiatum (стволы апикальных дендритов) и lacunosum (терминальные ветвления апикальных дендритов) молекулярного слоя. При иммуногистохимическом выявлении синаптофизина (p38-позитивный материал) в CA3 четко видна особая зона (stratum lucidum), которая состоит из апикальных участков дендритов пирамидных нейронов и гигантских синапсов, сформированных аксонами мшистых волокон зубчатой фасции (рис. 2).

Таким образом, особенностью поля CA3 гиппокампа является наличие гигантских синапсов на апикальных дендритах пирамидных нейронов в stratum lucidum (рис. 2, *b*). Площадь срезов одной p38-позитивной частицы варьировала от 1,5 до 6,6 мкм² (диаметр от 1,4 до 2,9 мкм). Это было вполне достаточно для проведения точного морфометрического анализа площади терминалей в stratum lucidum и слое тел пирамидных нейронов с помощью световой микроскопии иммуногистохимических препаратов (рис. 2).

В stratum radiatum и lacunosum молекулярного слоя поля CA3, при светооптическом исследовании, были видны только самые крупные p38-позитивные частицы (аксошипиковые и аксодендритические терминали), а для изучения остальных синапсов необходимо применение электронной микроскопии (рис. 3, *a, b, c*).

20-минутная ООСА приводила к статистически значимому снижению плотности пирамидных нейронов в поле CA3 гиппокампа белых крыс (табл. 1). Элиминация необратимо поврежденных нейронов путем фагоцитоза происходила на фоне увеличения реактивно, дистрофически (набухание, вакуолизация, гипохромия, гиперхромия без сморщивания и гомогенизации) и некробиотически (гиперхромия-сморщивание с гомогенизацией ядра и цитоплазмы,

unit of field of view, 100 μm²) was naturally 1.3–1.4 times lower than the stratum lacunosum (table 2).

In the acute post-ischemic period, synapses of field CA3 were subjected to light (edematous) type of destruction. The terminal was swollen, brightened, it decreased the content of synaptic vesicles (SV), and the remaining SV were agglutinated, grouped either in the center or near the active zones. The most resistant to ischemia was postsynaptic of the seal and the substance is the synaptic cleft. All kinds of synapses in the layer of pyramidal neurons, stratum radiatum and stratum lacunosum of the molecular layer — axosomatic, axodendritic and axospines — suffered. Manifestation of edema neuropile was noted. After 1 and 3 days from ischemia, at all levels of the dendritic tree of neurons in the studied parts of the brain, a large number of swollen mitochondria appeared with destroyed crystals, membranes, and matrix vacuolation. (fig. 5, *a, b*).

Part of the synapses of the molecular layer was completely destroyed already on day 1: in the stratum lacunosum — to 41.3%, in the stratum radiatum — to 17.8%. After 3 days, deficiency of synapses in both zones reached its maximum — 44.9% and 41.5%, respectively (table 2). Restoration of the total numerical density of synaptic contacts to the level of the control value in stratum lacunosum and stratum radiatum of the molecular layer of field CA3 occurred 14–21 days after acute ischemia (table 2).

According to the immunohistochemical study, 1 day after CCAO in stratum lucidum (apical dendrites) of field CA3, the relative cross-sectional area of p38-positive terminals was significantly reduced by 8.8% (95% CI: 0.59–16.9%) compared to the control. After 3, 7, 14 and 30 days from ischemia, this pattern did not differ from the control value (table 3). It should be noted that the relative area of p38-positive particles decreased only in the zone of dendrities of the field

DOI:10.15360/1813-9779-2018-5-38-49

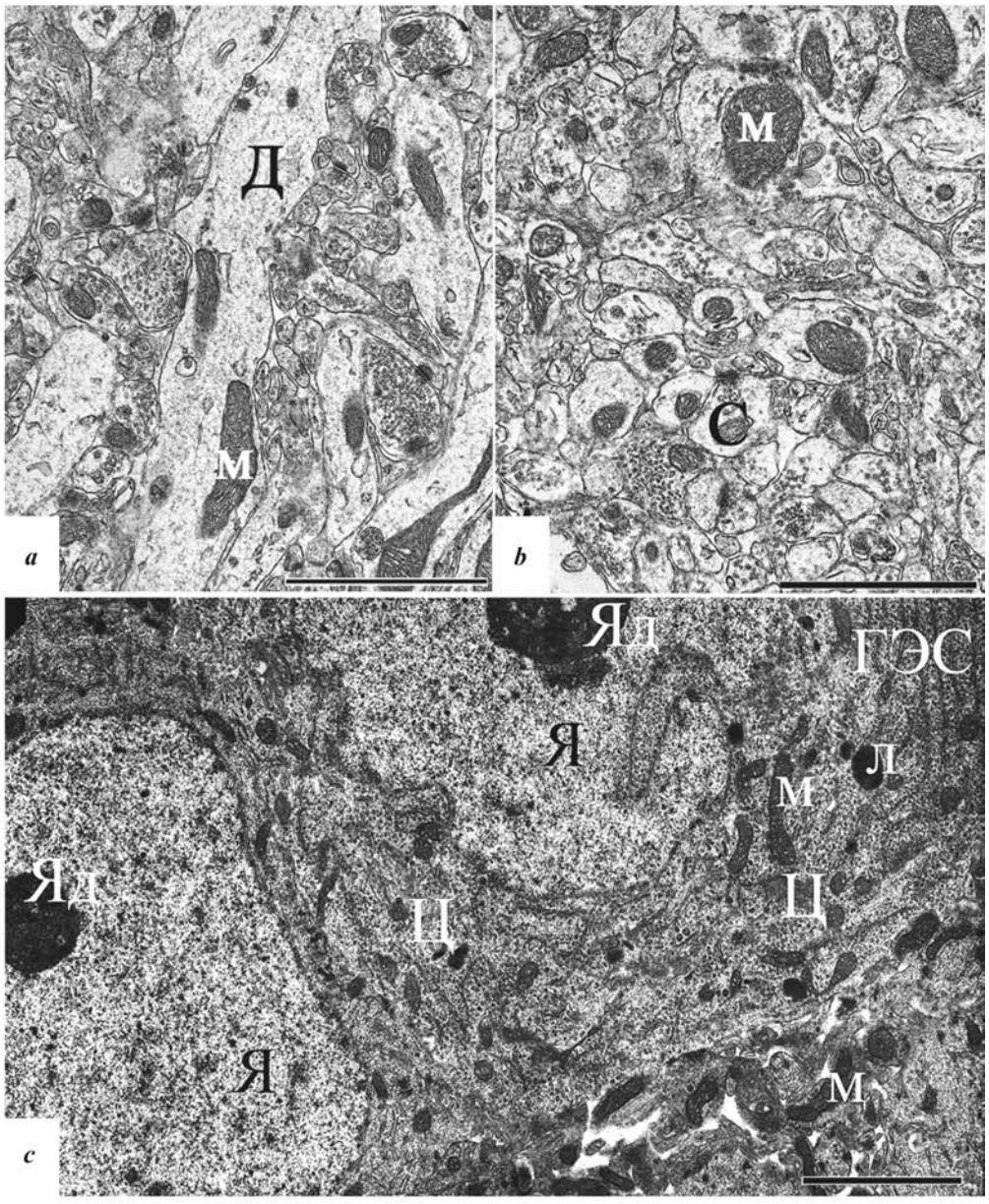

Рис. 3. Поле СА3 гиппокампа белой крысы в норме: ультраструктура всех составляющих нейропиля, дендритов и перикарионов.

Fig. 3. Field CA3 of the hippocampus of white rats in norm: ultrastructure of all components neuropile, dendrites and perikaryon.

Note. No signs of damage. Stratum radiatum (*a*), stratum lacunosum (*b*) of the molecular layer and the layer of pyramidal neurons (*c*). ГЭС — granular endoplasmic reticulum (Nissle body); Д — dendrites; Л — lysosomes; М — mitochondria; С — synapses; Ц — cytoplasm; Я — core; Яд — nucleolus. Coloring with uranylacetate and lead citrate. Magnification ×15000 (*a, b*) and ×8000 (*c*), scale — 2 μm.

Примечание. Без признаков повреждения. Stratum radiatum (*a*), stratum lacunosum (*b*) молекулярного слоя и слой пирамидных нейронов (*c*). ГЭС — гранулярная эндоплазматическая сеть (тельца Ниссля); Д — дендриты; Л — лизосомы; М — митохондрии; С — синапсы; Ц — цитоплазма; Я — ядро; Яд — ядрышко. Окраска уранилацетатом и цитратом свинца. Увеличение ×15000 (*a, b*) и ×8000 (*c*), шкала — 2 мкм.

превращение в клетки-тени) измененных клеток нервной ткани СА3. Максимальное уменьшение количества нормохромных нейронов отмечали через 1, 3 и 7 сут. Затем, в процессе структурно-функционального восстановления нервной ткани, содержание нормохромных нейронов в СА3 увеличивалось и через 30 сут этот относительный показатель соста-

CA3, and this feature was not revealed in the zone of accumulation of bodies of pyramid neurons (table 3).

Thus, in the acute post-ischemic period (1, 3 days), in the field CA3 of the hippocampus there was a significant increase in the share of afferents on neuronal bodies due to uneven damage of axosomatic and axodendritic synapses. The destruction of the interneuron

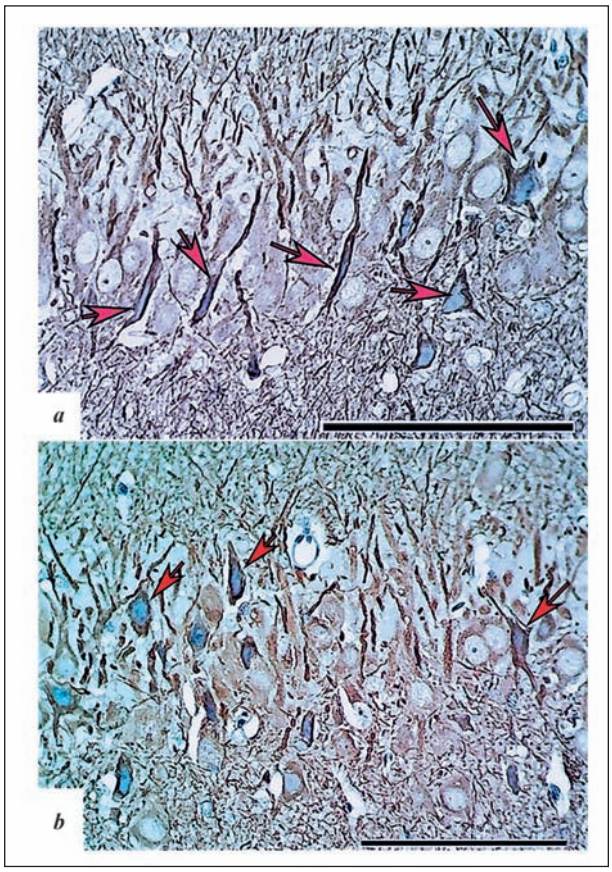

Рис. 4. Цитоскелет пирамидных нейронов поля СА3 гиппокампа белой крысы в постишемическом периоде.
Fig. 4. The cytoskeleton of the pyramidal neurons of the field CA3 of the hippocampus of white rats in the post-ischemic period.
Note. *a* — day 3; *b* — day 30. Part of the pericarions has an increased label density due to the dehydration compression of the cytoplasm without destroying the cytoskeleton, apical dendrites in stratum lucidum are surrounded by light material (giant synapses). Immunohistochemistry (MAP-2); lens ×40; scale — 100 μm.
Примечание. *a* — 3-и сут., *b* — 30-е 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). Иммуногистохимия (MAP-2); объектив ×40; шкала — 100 мкм.

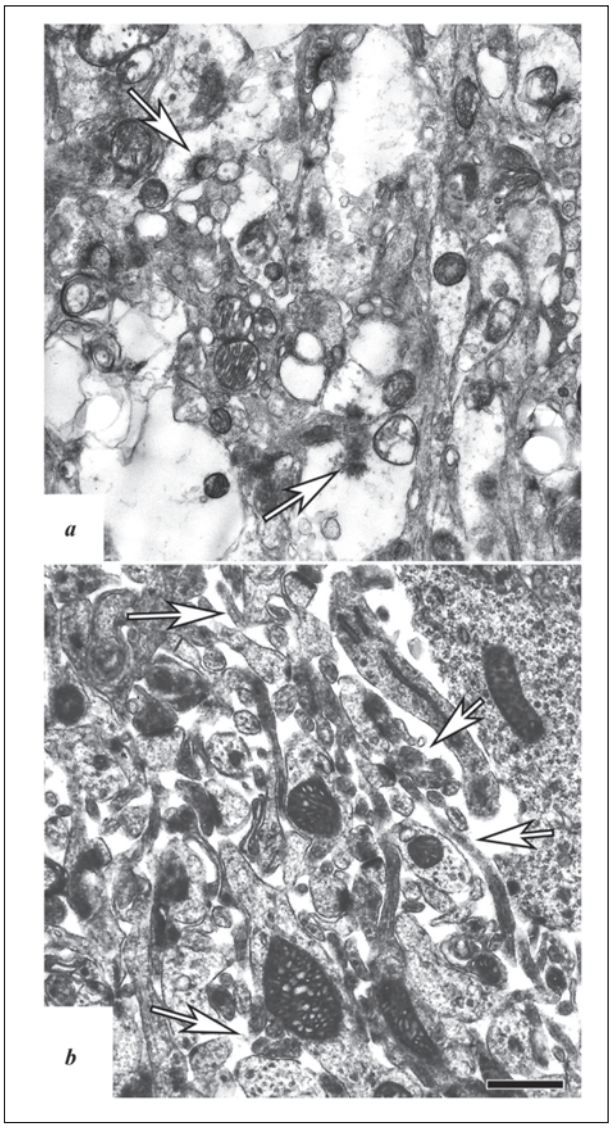

Рис. 5. Типичные ультраструктурные изменения синапсов.
Fig. 5. Typical ultrastructural changes of synapses.
Note. Stratum lacunosum (*a*), stratum radiatum (*b*) of the molecular layer 1 day after acute ischemia. Edema and swelling of the terminals (the light type of destruction) in axosomatic, axodendritic and axospines synapses (*a*, arrows) on the background of neuropile edema (*b*, arrows) of field CA3 of the hippocampus. Coloring with uranylacetate and lead citrate. Scale — 500 nm.
Примечание. Stratum lacunosum (*a*), stratum radiatum (*b*) молекулярного слоя через 1 сут после острой ишемии. Отек и набухание терминалей (светлый тип деструкции) в аксосоматических, аксодендритических и аксошипиковых синапсах (*a*, стрелки) на фоне отека нейропиля (*b*, стрелки) поля СА3 гиппокампа. Окраска уранилацетатом и цитратом свинца. Шкала — 500 нм.

вил 91,6%. Однако, восстановления до контрольного уровня не происходило. При этом за весь период наблюдения (30 сут) общая численная плотность пирамидных нейронов в поле СА3 уменьшилась только на 17,4% (табл. 1).

Таким образом, в течение 30 сут после 20-минутной ООСА только незначительная часть ишемически измененных пирамидных нейронов СА3 подвергалась необратимой деструкции и полной утилизации путем фагоцитоза.

На протяжении всего изученного постишемического периода преобладали обратимые дистрофические изменения нейронов (острое набухание нейронов, гидропическая дистрофия нервных клеток с умеренной вакуолизацией цитоплазмы, очаговый и субтотальный хроматолиз, гиперхромаsynapses occurred at all levels of the molecular layer (stratum lacunosum, radiatum and lucidum). However, small synapses stratum lacunosum and stratum radiatum suffered to a greater extent. This can be considered as one of the mechanisms of change of interneuronic relations in the early period after acute ischemia.

The key structures associated with the activation of necrosis and apoptosis of the nervous tissue of the mammalian brain are the synapses between neurons.

DOI:10.15360/1813-9779-2018-5-38-49

Таблица 2. Общая плотность межнейронных контактов молекулярного слоя поля СА3 гиппокампа белых крыс в норме и в постишемическом периоде, *Me (QL–QH)*.
Table 2. The total density of the interneuronic contacts of the molecular layer of the field CA3 of the hippocampus of white rats in the normal and post-ischemic period, *Me (Ql–Qu)*.

Groups	Indicators in areas, per 100 μm²	
	Stratum lacunosum	Stratum radiatum
Comparison group, *n*=5	36.1 (29.6–43.7)	25.3 (20.5–30.6)
Main group, *n*=18		
day 1	21.2 (13.5–31.6) =0.001*	20.8 (9.2–25.1) p=0.01*
day 3	19.9 (9.6–21.6) P=0.0001*; P=0.02#	14.8 (10.1–16.8) P=0.0001*; P=0.02#
day 7	20.8 (16.1–22.6) P=0.0001*; P=0.1#	19.9 (12.4–22.5) P=0.001*; P=0.01#
day 14	31.1 (25.3–36.2) P=0.2*; P=0.001#	21.8 (16.8–33.4) P=0.2*; P=0.1#
day 21	35.4 (29.4–37.2) P=0.1*; P=0.03#	24.8 (20.6–26.1) P=0.4*; P=0.3#
day 30	32.8 (27.2–38.9) P=0.2*; P=0.06#	23.0 (19.1–27.5) P=0.4*; P=0.3#
ANOVA	df=5; H=22.7; P=0.001**	df=5; H=18.5; P=0.004**

Note. Uranylacetate and lead citrate. * — comparison with falsely operated animals; # — comparison with the previous term (Mann–Whitney and Kolmogorov–Smirnov test); ** — comparison between all terms (ANOVA). Differences are statistically significant at $P<0.05$.

Примечание. Для табл. 2, 3: Indicators in areas — показатели в зонах. Окраска уранилацетатом и цитратом свинца. * — сравнение с ложнооперированными животными; # — сравнение с предыдущим сроком (критерий Манна–Уитни и Колмогорова–Смирнова); ** — сравнение между всеми сроками (ANOVA). Различия статистически значимы при $p<0,05$.

тоз). Больше всего было темных несморщенных и сморщенных нейронов без гомогенизации ядра. В последних, за счет дегидратации, происходило различной степени сжатие цитоплазмы без деструкции цитоскелета и ядра. Особенно наглядно это было видно при иммуногистохимической верификации цитоскелета с помощью антител против MAP-2 (рис. 4, *a, b*).

По данным электронной микроскопии, в stratum radiatum молекулярного слоя, из-за присутствия крупных стволов апикальных дендритов пирамидных нейронов, общая численная плотность синаптических контактов (в единице поля зрения, 100 мкм²) закономерно была в 1,3–1,4 раза ниже, чем в stratum lacunosum (табл. 2).

В остром постишемическом периоде синапсы поля СА3 подвергались светлому (отечному) типу деструкции. Терминаль набухала, просветлялась, в ней уменьшалось содержание синаптических пузырьков (СП), а оставшиеся СП подвергались агглютинации, группировались либо в центре, либо около активных зон. Наиболее устойчивыми к ишемии были постсинаптические уплотнения и вещество синаптической щели. Страдали все виды синапсов в слое пирамидных нейронов, stratum lacunosum и stratum radiatum молекулярного слоя — аксосоматические, аксодендритические и аксошипиковые. Отмечали проявления отека нейропиля. Через 1 и 3 сут после ишемии на всех уровнях дендритного дерева нейронов изученных отделов головного мозга появлялось большое количество набухших митохондрий с разрушенными кристами, мембранами, вакуолизацией матрикса. (рис. 5, *a*, *b*).

Часть синапсов молекулярного слоя полностью разрушалась уже в течение 1-х суток: в stratum lacunosum — 41,3%, в stratum radiatum — 17,8%. Через 3 сут дефицит синапсов в обеих зонах дости-

This is due to the fact that excitatory neurotransmitters, after damage to synaptic bubbles and release into the intercellular space, trigger calcium-dependent excitotoxic mechanisms of neuronal death [18, 19].

In this study, new data on the regularities of the reorganization of interneuronic bonds in field CA3 of the hippocampus after acute ischemia caused by 20-minute occlusion of the common carotid arteries were obtained. According to the literature, such information is important for understanding the causes of changes in cognitive functions of the brain in the post-ischemic period [9, 10].

The study of interneuronal communication was performed with the help of immunohistochemistry and electron microscopy. It was found that after 1 and 3 days from ischemia, a significant (up to 45%) part of the synapses of the neuropyl was destroyed by light (edematous) type of destruction. The most sensitive part of the synapses was the terminal one, which swelled and was brightened, characterized by decreased content of synaptic bubbles. All types of synapses seemed altered, mainly in stratum lacunosum and radiatum. With the aid of immunohistochemistry (synaptophysin), we have shown that after 1 day of reperfusion in the field CA3 of the hippocampus, pathological changes were made to the terminals of giant synapses on apical dendrites of pyramidal neurons. The area of p38-positive structures (synaptic bubbles) in stratum lucidum decreased by 8.8% (95% CI: 0.59–16.9%) compared to control. However, these axodendritic synapses, unlike stratum lacunosum and radiatum synapses, were characterized by rapid recovery after 3–7 days. Axosomatic synapses in the layer of pyramids were subjected to minor changes, while the content of synaptophysin in them were not changed. Full recovery of the overall numerical density of synapses in all field CA3 became evident only on days 14–21 after the ischemia through activation of neosynaptogenesis and reorganization of functionally mature

Таблица 3. Относительная площадь (%) частиц p38-позитивного материала в поле CA3 гиппокампа белых крыс в норме и в постишемическом периоде.
Table 3. Relative area (%) of p38-positive particles in the field CA3 of hippocampus of white rats in normal and postishemic period.

Groups	Indicators in areas, per 100 μm²	
	Stratum lacunosum	Stratum radiatum
Comparison group, *n*=20	24.6 (CI: 18.8–31.2)	14.9 (CI: 10.3–20.6) χ^2=5.3; *P*=0.021*
Main group, *n*=30		
day 1	15.8 (CI:11.0–21.6) χ^2=4.3; *P*=0.038#	16.5 (CI: 11.6–22.4) χ^2=0.003; *P*=0.95* χ^2=0.1; *P*=0.76#
day 3	22.0 (CI: 16.5–28.4) χ^2=0.2; *P*=0.61# χ^2=2.1; *P*=0.15**	14.8 (CI: 10.2–20.5) χ^2=3.0; *P*=0.08* χ^2=0.0; *P*=0.99# χ^2=0.1; *P*=0.74**
day 7	29.2 (CI: 23.0–36.0) χ^2=0.9; *P*=0.36# χ^2=2.4; *P*=0.12**	16.8 (CI: 11.9–22.7) χ^2=8.0; *P*=0.005* χ^2=0.2; *P*=0.70# χ^2=0.1; *P*=0.74**
day 14	22.3 (CI: 16.7–28.7) χ^2=0.2; *P*=0.67# χ^2=2.1; *P*=0.14**	17.1 (CI: 10.7–20.6) χ^2=1.4; *P*=0.23* χ^2=0.2; *P*=0.64# χ^2=0.0; *P*=0.96**
day 30	28.2 (CI: 22.1–35.0) χ^2=0.5; *P*=0.48# χ^2=1.6; *P*=0.21**	16.7 (CI: 11.8–22.6) χ^2=5.3; *P*=0.021* χ^2=0.2; *P*=0.70# χ^2=1.0; *P*=0.98**

Note. 200 fields of view for each term, immunohistochemistry against synaptophysin. * — comparison with stratum lucidum; # — comparison with false-operated; ** — comparison with the previous period. Differences are statistically significant at $P \leqslant 0.05$ (criterion χ^2). CI — 95% confidence interval.
Примечание. Pyramidal neurons bodies layer — слой тел пирамидных нейронов. По 200 полей зрения на каждый срок, иммуногистохимия против синаптофизина. * — сравнение с stratum lucidum; # — сравнение с ложнооперированными; ** — сравнение с предыдущим сроком. Различия статистически значимы при $p \leqslant 0{,}05$ (критерий χ^2). CI — 95% доверительный интервал.

гал максимума — 44,9% и 41,5% соответственно (табл. 2). Восстановление общей численной плотности синаптических контактов до уровня контрольного значения в stratum lacunosum и stratum radiatum молекулярного слоя поля CA3 происходило через 14–21 сут после острой ишемии (табл. 2).

По данным иммуногистохимического исследования, через 1 сут после ООСА в stratum lucidum (апикальные дендриты) CA3 относительная площадь срезов p38-позитивных терминалей статистически значимо уменьшилась на 8,8% (95% ДИ: 0,59–16,9%) по сравнению с контролем. Через 3, 7, 14 и 30 сут после ишемии этот показатель не отличался от контрольного значения (табл. 3). Необходимо отметить, что относительная площадь p38-позитивных частиц уменьшалась только в зоне дендритов CA3, а в зоне скопления тел пирамидных нейронов CA3 этого не было выявлено (табл. 3).

Таким образом, в остром постишемическом периоде (1, 3 сут) в поле CA3 происходило значительное увеличение доли афферентов на телах нейронов за счет неравномерного повреждения аксосоматических и аксодендритических синапсов. Разрушение межнейронных синапсов происходило на всех уровнях молекулярного слоя (stratum lacunosum, radiatum и lucidum). Однако в большей степени страдали мелкие синапсы stratum lacunosum и stratum radiatum. Это можно рассматривать

synapses. Various variants of such changes have been described earlier in the neocortex [11, 12]. It is likely that after ischemia there was a restructuring of interneuronic relationships in the local neural networks of field CA3 of hippocampus and within other parts of the brain (in particular, toothed fascia). After the death of a significant part of synapses in the acute period, all the basic associative connections in the hippocampus were rebuilt. However, field CA3 of the hippocampus quickly restored its primary function, the convergence of the flow of information from associative cortex and the phylogenetically ancient formations of the brain stem.

Therefore, synapses of field CA3 of the hippocampus are highly sensitive to ischemia and plasticity after reperfusion. This provides recovery of functions and compensatory restructuring of interneural relations of the brain after ischemia. Research in this direction is promising and may exhibit a potential of practical value.

Conclusion

Thus, after a 20-minute CCAO there was a reorganization of communication systems of the pyramid neurons of the field CA3 of the hippocampus of white rats. Neurons of field CA3 had high tolerance to ischemia and ability to restore interneural relations after reperfusion. In the surviving neurons, high levels

DOI:10.15360/1813-9779-2018-5-38-49

как один из механизмов изменения межнейронных отношений в раннем периоде после острой ишемии.

Ключевыми структурами, связанными с активацией механизмов некроза и апоптоза нервной ткани головного мозга млекопитающих, являются межнейронные синапсы. Это обусловлено тем, что возбуждающие нейромедиаторы, после повреждения синаптических пузырьков и выхода в межклеточное пространство, запускают кальций-зависимые эксайтотоксические механизмы гибели нейронов [18, 19].

В настоящем исследовании были получены новые данные о закономерностях реорганизации межнейронных связей в поле CA3 гиппокампа после острой ишемии, вызванной 20-минутной окклюзией общих сонных артерий. По данным литературы, подобная информация имеет большое значение для понимания причин изменения когнитивных функций головного мозга в постишемическом периоде [9, 10].

Изучение межнейронной коммуникации мы проводили с помощью иммуногистохимии и электронной микроскопии. Было установлено, что через 1 и 3 сут после ишемии значительная (до 45%) часть синапсов нейропиля разрушалась путем светлого (отечного) типа деструкции. Наиболее чувствительной частью синапсов была терминаль, которая набухала, просветлялась, в ней уменьшалось содержание синаптических пузырьков. Страдали все виды синапсов, но в большей степени — аксошипиковые в stratum lacunosum и radiatum. С помощью иммуногистохимии (синаптофизин) нами показано, что через 1 сут реперфузии в поле CA3 патологическим изменениям подвергались и терминали гигантских синапсов на апикальных дендритах пирамидных нейронов. Площадь p38-позитивных структур (синаптические пузырьки) в stratum lucidum уменьшилась на 8,8% (95% ДИ: 0,59–16,9%) по сравнению с контролем. Однако для этих аксодендритических синапсов, в отличие от синапсов stratum lacunosum и radiatum, было характерно быстрое восстановление уже через 3–7 сут. Аксосоматические синапсы в слое пирамид подвергались незначительным изменениям, при этом содержание синаптофизина в них не изменялось. Полное восстановление общей численной плотности синапсов во всех зонах CA3 происходило только через 14–21 сут после ишемии за счет активации неосинаптогенеза и реорганизации функционально зрелых синапсов. Различные варианты подобных изменений описаны ранее в неокортексе [11, 12]. Вполне вероятно, что после ишемии происходила перестройка межнейронных взаимоотношений в локальных нейронных сетях CA3 гиппокампа и с другими отделами головного мозга (в частности зубчатой фасцией). После гибели значительной части синапсов в остром периоде перестраивались все основные ассоциативные связи гиппокампа в рамках трисинаптического пути. Однако, поле CA3 гиппокампа быстро восстанавливало свою основную функцию — конвергенцию потоков информации от ассоциативной коры и филогенетически древних образований ствола мозга.

Таким образом, синапсы поля CA3 обладают высокой чувствительностью к ишемии и пластичностью после реперфузии. Это обеспечивает восстановление функций и компенсаторную перестройку межнейронных отношений головного мозга после ишемии. Исследования в этом направлении перспективны и имеют практическое значение.

Заключение

После 20-минутной ООСА происходила реорганизация систем коммуникации пирамидных нейронов CA3 гиппокампа белых крыс. Нейроны CA3 обладали высокой толерантностью к ишемии и способностью к восстановлению межнейронных отношений после реперфузии. В сохранившихся нейронах выявлялось высокое содержание маркера цитоскелета (MAP-2) и синаптических пузырьков (p38). Это свидетельствовало о структурно-функциональной сохранности всех компонентов системы коммуникации значительной части пирамидных нейронов при острой ишемии. Наиболее выражено перестраивались межнейронные синапсы в stratum lacunosum и radiatum молекулярного слоя. Практическое значение данного исследования заключается в том, что оно подтверждает наличие естественных механизмов защиты нервной ткани головного мозга, целенаправленная активация которых позволит уменьшить степень необратимых процессов после острой ишемии.

Работа выполнена при поддержке Фонда содействия инновациям по программе «УМНИК» №14 от 15.12.2017 г. и внутреннего гранта ГБОУ ВО Омского государственного медицинского университета №574 от 24.11.2017 г.

of the marker of the cytoskeleton (MAP-2) and synaptic vesicles (p38) were detected. This testified to the structural and functional safety of all components of the communication system of a significant part of the pyramidal neurons in acute ischemia. Reconstructed interneuron synapses in the stratum radiatum and the lacunosum molecular layer were most significant. The potential significance of this study for clinics is confirmed by the post-ishemia presence of protection mechanisms of the brain nervous tissue, targeted activation of which may reduce the level of irreversible processes.

This work was supported by the Foundation for the Promotion of Innovation under the program «UMNIK» No. 14 of December 15, 2012 and the Internal Grant of GBOU VO Omsk State Medical University № 574 of 24.11.2017.

Литература

1. *Holmes G.L.* Epilepsy in the developing brain: lessons from the laboratory and clinic. *Epilepsia*. 1997; 38 (1): 12–30. DOI: 10.1111/j.1528-1157.1997.tb01074.x. PMID: 9024181
2. *Попов В.И., Медведев Н.И., Рогачевский В.В., Игнатьев Д.А., Стьюарт М.Г., Фесенко Е.Е.* Трехмерная организация синапсов и астроглии в гиппокампе крыс и сусликов: новые структурно-функциональные парадигмы работы синапса. *Биофизика*. 2003; 48 (2): 289–308. PMID: 12723356
3. *Grieves R.M., Duvelle É., Wood E.R., Dudchenko P.A.* Field repetition and local mapping in the hippocampus and the medial entorhinal cortex. *J. Neurophysiol.* 2017; 118 (4): 2378-2388. DOI: 10.1152/jn.00933.2016. PMID: 28814638
4. *Legéndy C.R.* On the 'data stirring' role of the dentate gyrus of the hippocampus. *Rev. Neurosci.* 2017; 28 (6): 599-615. DOI: 10.1515/revneuro-2016-0080. PMID: 28593904
5. *Moser E.I., Moser M.B., McNaughton B.L.* Spatial representation in the hippocampal formation: a history. *Nat. Neurosci.* 2017; 20 (11): 1448-1464. DOI: 10.1038/nn.4653. PMID: 29073644
6. *Rose C.R., Felix L., Zeug A., Dietrich D., Reiner A., Henneberger C.* Astroglial glutamate signaling and uptake in the hippocampus. *Front. Mol. Neurosci.* 2018; 10: 451. DOI: 10.3389/fnmol.2017.00451. PMID: 29386994
7. *Pelkey K.A., Chittajallu R., Craig M.T., Tricoire L., Wester J.C., McBain C.J.* Hippocampal GABAergic inhibitory interneurons. *Physiol. Rev.* 2017; 97 (4): 1619-1747. DOI: 10.1152/physrev.00007.2017. PMID: 28954853
8. *Leal G., Bramham C.R., Duarte C.B.* BDNF and hippocampal synaptic plasticity. *Vitam. Horm.* 2017; 104: 153-195. DOI: 10.1016/bs.vh.2016.10.004. PMID: 28215294
9. *Арушанян Э.Б., Бейер Э.В.* Гиппокамп и нарушения познавательной деятельности. *Журн. неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова*. 2007; 107 (7): 72–77.
10. *Raven F., Van der Zee E.A., Meerlo P., Havekes R.* The role of sleep in regulating structural plasticity and synaptic strength: implications for memory and cognitive function. *Sleep Med. Rev.* 2018; 39: 3-11. DOI: 10.1016/j.smrv.2017.05.002. PMID: 28641933
11. *Семченко В.В., Степанов С.С., Боголепов Н.Н.* Синаптическая пластичность головного мозга (фундаментальные и прикладные аспекты). М.; Директ-Медиа; 2014: 499. ISBN 978-5-87367-132-8
12. *Степанов А.С.* Сравнительная характеристика синаптоархитектоники неокортекса, гиппокампа и миндалевидного комплекса белых крыс в норме и после острой ишемии. *Журн. анатомии и гистопатологии*. 2017; 6 (4): 47–54.
13. *Hossmann K.A.* Cerebral ischemia: models, methods and outcomes. *Neuropharmacology*. 2008; 55 (3): 257-270. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2007.12.004. PMID: 18222496
14. *Paxinos G., Watson C.* The rat brain in stereotaxic corodinates. 6-th ed. San Diego (California): Elsevier Academic Press; 2007: 456. ISBN 978-0080475158
15. *Степанов А.С., Акулинин В. А., Степанов С.С., Мыцик А.В.* Иммуногистохимическая характеристика структур коммуникации нейронов коры головного мозга человека в норме и после реперфузии. *Журн. анатомии и гистопатологии*. 2016; 5 (4): 61–68.
16. *Степанов А.С., Акулинин В.А., Степанов С.С., Авдеев Д.Б.* Методические особенности морфометрической характеристики синаптоархитектоники неокортекса человека при иммунофлюоресцентном выявлении нейромодулина. *Морфология*. 2018; 153 (1): 65–70.
17. *Боровиков В.П.* Statistica. Искусство анализа данных на компьютере. 2-е изд. СПб.: Питер; 2003: 688. ISBN 5-272-00078-1
18. *Baron J.C., Yamauchi H., Fujioka M., Endres M.* Selective neuronal loss in ischemic stroke and cerebrovascular disease. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2014; 34 (1): 2-18. DOI: 10.1038/jcbfm.2013.188. PMID: 24192635
19. *Maurer L.L., Philbert M.A.* The mechanisms of neurotoxicity and the selective vulnerability of nervous system sites. *Handb. Clin. Neurol.* 2015; 131: 61-70. DOI: 10.1016/B978-0-444-62627-1.00005-6. PMID: 26563783

Поступила 25.06.18

References

1. *Holmes G.L.* Epilepsy in the developing brain: lessons from the laboratory and clinic. *Epilepsia*. 1997; 38 (1): 12–30. DOI: 10.1111/j.1528-1157.1997.tb01074.x. PMID: 9024181
2. *Popov V.I., Medvedev N.I., Rogachevsky V.V., Ignatyev D.A., Styuart M.G., Fesenko E.E.* Three-dimensional synapses and astroglia in the hippocampus of rats and ground squirrels: new structural-functional paradigms on the functioning of the synapse. *Biofizika*. 2003; 48 (2): 289–308. PMID: 12723356. [In Russ.]
3. *Grieves R.M., Duvelle É., Wood E.R., Dudchenko P.A.* Field repetition and local mapping in the hippocampus and the medial entorhinal cortex. *J. Neurophysiol.* 2017; 118 (4): 2378-2388. DOI: 10.1152/jn.00933.2016. PMID: 28814638
4. *Legéndy C.R.* On the 'data stirring' role of the dentate gyrus of the hippocampus. *Rev. Neurosci.* 2017; 28 (6): 599-615. DOI: 10.1515/revneuro-2016-0080. PMID: 28593904
5. *Moser E.I., Moser M.B., McNaughton B.L.* Spatial representation in the hippocampal formation: a history. *Nat. Neurosci.* 2017; 20 (11): 1448-1464. DOI: 10.1038/nn.4653. PMID: 29073644
6. *Rose C.R., Felix L., Zeug A., Dietrich D., Reiner A., Henneberger C.* Astroglial glutamate signaling and uptake in the hippocampus. *Front. Mol. Neurosci.* 2018; 10: 451. DOI: 10.3389/fnmol.2017.00451. PMID: 29386994
7. *Pelkey K.A., Chittajallu R., Craig M.T., Tricoire L., Wester J.C., McBain C.J.* Hippocampal GABAergic inhibitory interneurons. *Physiol. Rev.* 2017; 97 (4): 1619-1747. DOI: 10.1152/physrev.00007.2017. PMID: 28954853
8. *Leal G., Bramham C.R., Duarte C.B.* BDNF and hippocampal synaptic plasticity. *Vitam. Horm.* 2017; 104: 153-195. DOI: 10.1016/bs.vh.2016.10.004. PMID: 28215294
9. *Arushanyan E.B., Beier E.V.* Hyppocampus and cognitive disturbances. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiatrii Imeni S.S.Korsakova*. 2007; 107 (7): 72–77. [In Russ.]
10. *Raven F., Van der Zee E.A., Meerlo P., Havekes R.* The role of sleep in regulating structural plasticity and synaptic strength: implications for memory and cognitive function. *Sleep Med. Rev.* 2018; 39: 3-11. DOI: 10.1016/j.smrv.2017.05.002. PMID: 28641933
11. *Semchenko V.V., Stepanov S.S., Bogolepov N.N.* Synaptic plasticity of the brain (fundamental and applied aspects). Moscow; Direkt-Media; 2014: 499. ISBN 978-5-87367-132-8. [In Russ.]
12. *Stepanov A.S.* Comparative characteristics of the white rats neocortex, hippocampus and amygdale complex synaptoarchitectonics in norm and after acute ischemia. *Zhurnal Anatomii i Gistopatologii*. 2017; 6 (4): 47–54. [In Russ.]
13. *Hossmann K.A.* Cerebral ischemia: models, methods and outcomes. *Neuropharmacology*. 2008; 55 (3): 257-270. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2007.12.004. PMID: 18222496
14. *Paxinos G., Watson C.* The rat brain in stereotaxic corodinates. 6-th ed. San Diego (California): Elsevier Academic Press; 2007: 456. ISBN 978-0080475158
15. *Stepanov A.S., Akulinin V.A., Stepanov S.S., Mytsik A.V.* Immunohistochemical characterization of the neurons communication structures in the human brain cortex in normal conditions and after reperfusion. *Zhurnal Anatomii i Gistopatologii*. 2016; 5 (4): 61–68. [In Russ.]
16. *Stepanov A.S., Akulinin V.A., Stepanov S.S., Avdeyev D.B.* Methodological peculiarities of the morphometric characterization of human neocortex synoptoarchitectonics based on immunofluorescent demonstration of neuromodulin. *Morfologiya*. 2018; 153 (1): 65–70. [In Russ.]
17. *Borovikov V.P.* Statistica. The art of machine data-analysis. 2nd ed. Sankt Peterburg: Piter; 2003: 688. ISBN 5-272-00078-1. [In Russ.]
18. *Baron J.C., Yamauchi H., Fujioka M., Endres M.* Selective neuronal loss in ischemic stroke and cerebrovascular disease. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2014; 34 (1): 2-18. DOI: 10.1038/jcbfm.2013.188. PMID: 24192635
19. *Maurer L.L., Philbert M.A.* The mechanisms of neurotoxicity and the selective vulnerability of nervous system sites. *Handb. Clin. Neurol.* 2015; 131: 61-70. DOI: 10.1016/B978-0-444-62627-1.00005-6. PMID: 26563783

Received 25.06.18