

Структурно-функциональная реорганизация сенсомоторной коры при перевязке общих сонных артерий (экспериментальное исследование)

Л. М. Макарьева^{1*}, В. А. Акулинин^{1*}, М. С. Коржук^{1,2}, С. С. Степанов¹,
А. Ю. Шоронова¹, Д. Б. Авдеев¹, И. Г. Цускман¹

¹ Омский государственный медицинский университет Минздрава России,
Россия, 644099, г. Омск, ул. Ленина, д. 12,

² Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова,
Россия, 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6, литера «В»

Для цитирования: Л. М. Макарьева, В. А. Акулинин, М. С. Коржук, С. С. Степанов, А. Ю. Шоронова, Д. Б. Авдеев, И. Г. Цускман. Структурно-функциональная реорганизация сенсомоторной коры при перевязке общих сонных артерий (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2022; 18 (5): 32–43. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2022-5-32-43> [На русск. и англ.]

Резюме

Цель исследования. Изучить структурно-функциональные изменения нейронов, глиальных клеток и синаптических терминалей в слоях I, III и V сенсомоторной коры (СМК) головного мозга крыс после двусторонней перевязки общих сонных артерий (ПОСА).

Методы исследования. Неполную ишемию головного мозга моделировали путем необратимой двусторонней ПОСА (2-сосудистая модель глобальной ишемии без гипотонии) на белых крысах ($n=36$). Сравнительную оценку изученных структур СМК проводили в контроле (интактные крысы, $n=6$), через 1, 3, 7, 14 и 30 сут ($n=30$) после ПОСА. Использовали окраски по Нисслю, гематоксилин-эозином, иммуногистохимические реакции на NSE, MAP-2, p38, GFAP и IBA1. Определяли численную плотность пирамидных нейронов, астроцитов, олигодендроцитов, микроглиоцитов и относительную площадь p38-позитивного материала (терминали синапсов). Проверку статистических гипотез проводили с помощью непараметрических методов в программе Statistica 8.0.

Результаты. После ПОСА в СМК мозга крыс увеличивалось содержание дегенеративно измененных нейронов. Пик численной плотности несморщенных нейронов выявили через 1 сут. Затем численная плотность гиперхромных несморщенных нейронов снижалась, а сморщенных нейронов увеличивалась. Контрольных значений показатели не достигали. Изменения нейронов СМК сопровождалось увеличением численной плотности микроглиоцитов через 1 сут с последующим его снижением. При иммуногистохимической реакции на IBA1 выявили признаки активации микроглиоцитов — изменение формы, потеря отростков. Максимальное увеличение в СМК плотности олигодендроцитов отметили через 7 сут, а астроцитов — через 14 сут после ПОСА. Максимальное количество NSE-позитивных нейронов приходилось на 1 сут после ПОСА. В слое III СМК через 3, 7 и 14 сут происходило статистически значимое снижение, а через 30 сут — увеличение численной плотности NSE-позитивных нейронов. В слое V СМК количество NSE-позитивных нейронов прогрессивно уменьшалось на протяжении всего исследуемого периода. Динамика изменения доли p38-позитивного материала (площадь синаптических терминалей) статистически значимо различалась в сравниваемых слоях СМК. В слоях I и III СМК сначала (1 и 3 сут) значения этого показателя снижались, а затем (7, 14 и 30 сут) — увеличивались. В слое V СМК активация экспрессии данного белка происходила уже в остром периоде (1 и 3 сут), снижалась через 7 и 14 сут, вновь усиливалась через 30 сут. Найденные изменения численной плотности нейронов, глиальных клеток и синаптических терминалей были связаны с де- и гипергидратационными изменениями в СМК. Выявили сильные и средние статистически значимые связи между относительной площадью терминалей и зон отека-набухания нейропиля.

Заключение. После ПОСА в слоях I, III и V СМК белых крыс выявили деструктивные и компенсаторно-восстановительные изменения нейронов, глиальных клеток и структур межнейронной коммуникации. В совокупности все эти изменения свидетельствуют о значительной послойной гетероморфности ответа нервной ткани на ПОСА. В большей степени страдал слой III (вторичный проекционный комплекс) СМК. Реорганизация нейро-глиальных и межнейронных взаимоотношений происходила на фоне выраженных проявлений гипергидратации нейропиля.

Ключевые слова: ишемия; отек-набухание; нейроны; синапсы; сенсомоторная кора; иммуногистохимия; морфометрия

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Адрес для корреспонденции:

Виктор Александрович Акулинин
E-mail: v_akulinin@outlook.com
Любовь Михайловна Макарьева
E-mail: lyuba.mamontova.07@gmail.com

Correspondence to:

Viktor A. Akulinin
E-mail: v_akulinin@outlook.com
Lyubov M. Makarieva
E-mail: lyuba.mamontova.07@gmail.com

Structural and Functional Reorganization of the Sensorimotor Cortex During Ligation of the Common Carotid Arteries (Experimental Study)

Lyubov M. Makarieva^{1*}, Viktor A. Akulinin^{1*}, Mikhail S. Korzhuk^{1,2}, Sergey S. Stepanov¹, Anastasia Y. Shoranova¹, Dmitry B. Avdeev¹, Irina G. Tsuskman¹

¹ Omsk State Medical University, Ministry of Health of Russia,
12 Lenin Str., 644099 Omsk, Russia

² S.M. Kirov Military Medical Academy,
6 Academician Lebedev Str., B, 194044 St. Petersburg, Russia

Summary

Aim of the study. To explore the structural and functional changes of neurons, glial cells, and synaptic terminals in layers I, III, and V of the sensorimotor cortex (SMC) of the rat brain after bilateral common carotid artery ligation (CCAL).

Material and methods. Incomplete cerebral ischemia was simulated by irreversible bilateral CCAL (2-vessel model of global ischemia without hypotension) on white rats ($n=36$). Comparative evaluation of the studied SMC structures was performed in the control group (intact rats, $n=6$) on days 1, 3, 7, 14, and 30 ($n=30$) after CCAL. Nissl, hematoxylin-eosin staining, and immunohistochemical reactions for NSE, MAP-2, p38, GFAP, and IBA1 were used. Numerical density of pyramidal neurons, astrocytes, oligodendrocytes, microglial cells, and relative area of p38-positive material (synaptic terminals) were determined. Statistical hypotheses were tested using nonparametric methods with Statistica 8.0 software.

Results. After CCAL, the number of degenerative neurons in rat brain SMCs increased. The peak of numerical density of unshrunk neurons was detected after day 1. Later, the numerical density of hyperchromic unshrunk neurons decreased, while that of shrunken neurons increased. These parameters did not reach the control values. The changes in SMC neurons were accompanied by an increase in the numerical density of microglial cells after day 1 and its subsequent decrease. Immunohistochemistry for IBA1 revealed signs of microglial cell activation such as change in shape and loss of processes. Maximum increase in the SMC density of oligodendrocytes was observed on day 7, and that of astrocytes on day 14 after CCAL. The maximum number of NSE-positive neurons occurred on day 1 after CCAL. There was a significant decrease in the number of NSE-positive neurons in SMC layer III on days 3, 7, and 14, and an increase in the number of NSE-positive neurons on day 30. The number of NSE-positive neurons in layer V of the SMC progressively decreased throughout the whole study period. The evolution of changes in the proportion of p38-positive material (synaptic terminal area) differed significantly between the layers of SMC. In the layers I and III, this parameter first decreased (days 1 and 3) and then increased (days 7, 14, and 30). In layer V of SMC, the activation of the protein expression was observed in the acute phase (days 1 and 3), then it decreased on days 7 and 14, and increased again on day 30. The changes found in the numerical density of neurons, glial cells and synaptic terminals were associated with dehydration and overhydration of SMC. We found strong to medium significant associations between the relative area of terminals and neuropil swelling and edema zones.

Conclusion. After CCAL, layers I, III, and V of the SMC of white rats revealed destructive and compensatory changes in neurons, glial cells, and inter-neuronal communication structures. Taken together, all these changes indicate a significant layer-by-layer variability of the neural tissue response to CCAL. Layer III (secondary projection complex) of the SMC was affected to a greater extent. Reorganization of neuronal-glial and interneuronal interrelations occurred along with a prominent neuropil overhydration.

Keywords: ischemia; swelling and edema; neurons; synapses; sensorimotor cortex; immunohistochemistry; morphometrics

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Read the full-text English version at www.reanimatology.ru

Введение

Структурно-функциональная организация сенсомоторной коры (СМК) млекопитающих хорошо изучена. Между ее слоями и модулями описаны мощные ди- и полисинаптические связи [1–4].

В результате ишемического воздействия в СМК изменяется структура и функции нейронов, глиальных клеток и систем межнейронной коммуникации (дендриты, синапсы). Эти изменения приводят к реорганизации межнейронных и нейроглиальных взаимоотношений [5–7]. Ранее нами показано, что после необратимой двусто-

ронней ПОСА в СМК происходило увеличение численной плотности патологически измененных форм нейронов (гипохромных, гиперхромных без и со сморщиванием нейронов, клеточек-теней), начиная с 1 сут после ПОСА появлялись нейроны с перичеселлярным отеком. Однако, реакция нейронов и нейроглиальное взаимодействие в разных слоях не одинаковы. Так, в слое III СМК численная плотность необратимо измененных нейронов (гиперхромных сморщенных) прогрессивно увеличивалась и достигала максимальных значений через 30 сут после ПОСА, в слое V СМК через 14 и 30 сут количество

необратимо измененных нейронов уменьшалось, в сравнении с предыдущими сроками исследования [8, 9].

Ишемическое повреждение нейронов головного мозга влечет за собой тяжелые неврологические последствия. Поэтому в литературе особое внимание уделяется изучению цереброваскулярных заболеваний, которые являются основной причиной смертности в Российской Федерации [10–12]. В связи с этим требуются системные морфологические и морфометрические исследования нейронов, глиоцитов и структур межнейронной коммуникации для более детального изучения реакций нервной ткани на ишемию и определения механизмов защиты, которые способствуют сохранению жизнеспособности нейронов в условиях ишемии. Поэтому целью нашего исследования было сравнительное гистологическое и иммуногистохимическое изучение структурно-функциональных изменений нейронов, глиальных клеток и синаптических терминалей в слоях I, III и V СМК головного мозга крыс после двусторонней ПОСА. При этом особое внимание уделялось определению роли гипергидратационных изменений нейрона, как месту локализации синапсов, нейрональных и астроцитарных отростков.

Материал и методы

Работу выполнили на базе ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» (одобрено этическим комитетом университета, протокол № 123 от 09 октября 2020 г.). В качестве экспериментальных животных использовали белых крыс линии Wistar массой 250–300 гр. Исследования проводили в соответствии с рекомендациями Международного комитета по работе с лабораторными животными, поддержанных ВОЗ, директивой Европейского Парламента № 2010/63/EU от 22.09.2010 «О защите животных, используемых для научных целей».

Эксперимент провели на половозрелых самцах крыс линии Wistar ($n=36$). На фоне премедикации (сульфат атропина 0,1 мг/кг, подкожно), животным вводили Zoletil 100 (10 мг/кг, внутримышечно). Неполную глобальную ишемию головного мозга моделировали путем необратимой двусторонней ПОСА (2-сосудистая модель субтотальной ишемии, без гипотонии). Контролем служили интактные крысы ($n=6$). Вывод животных из эксперимента проводили через 1, 3, 7, 14 и 30 сут после ПОСА ($n=30$) под наркозом (Zoletil 100). Сосудистое русло мозга промывали введением 100–125 мл раствора 0,9% NaCl и Фрагмина (5000 единиц) в левый желудочек сердца и фиксировали перфузией 30 мл 4% раствора параформальдегида на фосфатном буфере (pH 7,2–7,4) через аорту под давлением 90–100 мм рт. ст. в течение 15 мин. Мозг помещали в 4% раствор параформальдегида и хранили в холодильнике при температуре + 4°C. Через сутки полученный материал заключали с помощью автомата «STP 120» в гомогенизированный парафин (HISTOMIX®). Серийные

фронтальные срезы (толщиной 4 мкм) готовили с помощью микротомы HM 450 (Thermo) на уровне СМК: 1,2 — (–3,0) мм от Брегмы [13].

Общую качественную оценку нервной ткани и определение численной плотности нейронов (учитывали только нейроны с видимым ядрышком) и глиальных клеток проводили на препаратах, окрашенных тионином по методу Ниссля. Идентификацию клеток проводили при гистохимической реакции на NSE (идентификация нейронов) — нейрон специфическая енолаза (PA5-27452) — кроличьи поликлональные антитела, разведение 1:100 (США), GFAP (идентификация астроцитов и изучение цитоскелета) — глиальный фибриллярный кислый белок астроцитов (MA5-12023) — мышиные (IgG1) моноклональные антитела (клон ASTRO6) (ThermoFisher, США), IBA1 (идентификация микроглиоцитов) — кальций-связывающий белок, специфичный для микроглии (PA5-21274) — кроличьи поликлональные антитела, разведение 1:100 (ThermoFisher, США). Цитоскелет нейронов изучали при иммуногистохимической реакции на MAP2 — белок, ассоциированный с микротрубочками 2 (ab32454) — кроличьи поликлональные антитела, разведение 1 мкг/мл (Abcam, США); синаптические терминали — синаптофизин (p38) (p38 — синаптофизин (PA0299) — мышиные моноклональные антитела, клон 27G12, готовые к применению (Bond Ready-to-Use Primary Antibody; Leica Biosystems Newcastle Ltd, Великобритания).

После реакции с первичными антителами срезы инкубировали с соответствующими вторичными антителами, хромогеном DAB (3,3'-диаминобензидин), докрашивали гематоксилином, заключали в полистирол. Для визуализации использовали мультимерный набор Novolink™ (DAB) Polymer Detection System (Leica Biosystems Newcastle Ltd, Великобритания). Препараты готовили в соответствии с инструкциями фирмы производителя реагентов.

Фотографировали на микроскопе Leica DM 1000 (камера GXCAM-DM800 Unique Wrap-Around 8MP AUTOFOCUS USB, pixel size 1.4×1.4 μm), изображение сохраняли в файлах с расширением tiff (2592×1944 пикселей), затем в Photoshop CC размерность увеличивали (до 3780×2835 пикселей/см, разрешение 600 пикселей/дюйм).

Для достижения максимальной контрастности и четкости изображения проводили коррекцию с помощью фильтра Camera Raw (контрастность, баланс белого, четкость) в Photoshop CC. Морфометрическое исследование проводили при помощи программы ImageJ 1.53.

Для выявления p38-позитивных терминалей и зон отека-набухания в нейроне использовали фильтр Enhance Contrast (<https://imagej.nih.gov/ij/docs/menus/process>) с последующей обработкой изображения в Threshold (селекция меток синаптофизина и очагов отека). Селекцию осуществляли для каждой ROI (20×20 мкм) путем ручного управления (Over/Under). Далее строили гистограммы распределения пикселей по степени яркости, полученные результаты (List) переносили в Excel для дальнейшей обработки. На срок с помощью генератора случайных чисел отбирали по 20 ROI.

Проверку статистических гипотез осуществляли непараметрическими критериями: парное сравнение (Mann–Whitney *U*-test, Wilcoxon test), дисперсионный анализ (ANOVA Kruskal–Wallis, Friedman test), парный корреляционный анализ (метод Спирмена). Для оценки влияния сравниваемых переменных друг на друга использовали множественный регрессионный анализ, проверку условий независимости наблюдений проводили с помощью критерия Durbin–Watson. Использовали пакет программ Statistica 8.0 (StatSoft, USA). Количественные данные в исследовании представили как медиану (*Me* — 50% квартиль, *Q2*), интерквартильный разброс (*Q1–Q3* — 25–75% квартили), (*Min–Max*), процентную долю (%) [14].

Результаты и обсуждение

Ранее нами установлено, что в слоях III и V СМК контрольных животных преобладали нормохромные нейроны. Признаки гидропической дистрофии (вакуолизация ядра и цитоплазмы, отек-набухание), некроза (коллакционного и коагуляционного) и реактивного глиоза отсутствовали [8, 9].

После ПОСА в слоях III и V СМК появлялись прижизненные обратимые и необратимые изменения нейронов на разных стадиях дегенерации. Проявление этих изменений наблюдали в цитоплазме и ядре пирамидных нейронов (вакуолизация, гомогенизация цитоплазмы, изменение формы перикариона и ядра, гипо- и гиперхромия ядра и цитоплазмы, кариолиз) и сопровождалась отеком-набуханием. Обратимо измененные нейроны не имели грубой деструкции ядра и цитоплазмы, у таких нейронов было сохранено ядрышко, но отметили изменение тинкториальных свойств (гиперхромные несморщенные нейроны). Пирамидные нейроны с обратимыми изменениями в слоях III и V СМК встречали на всем протяжении исследуемого срока (рис. 1, *a–f*).

Численная плотность гиперхромных несморщенных нейронов в слое III СМК была не одинаковой на разных сроках исследования, достигала максимальных значений через 1 сут после ПОСА, через 3–14 сут в слое III СМК отмечали статистически значимое снижение чис-

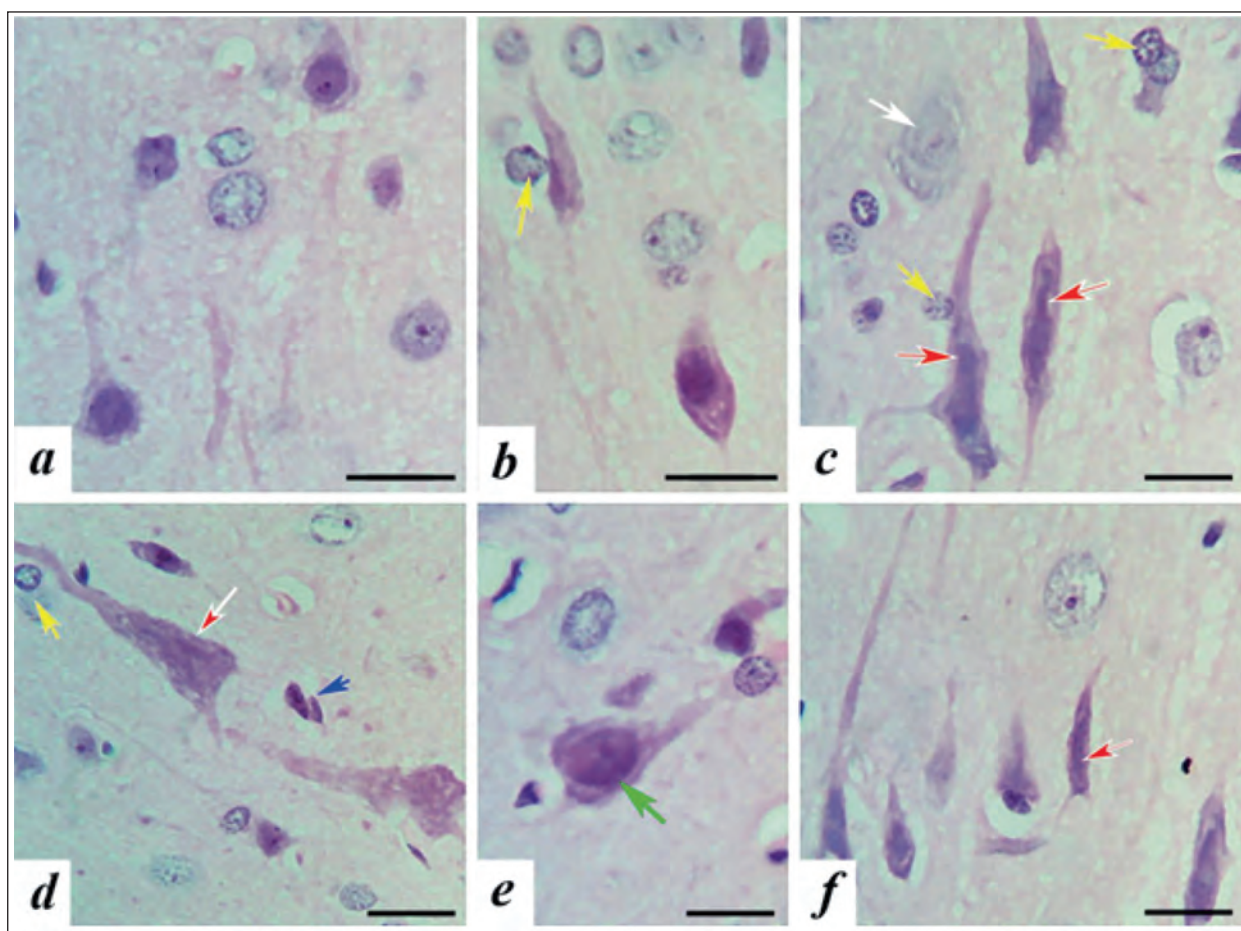


Рис. 1. Пирамидные нейроны слоя III (*a, b*) и V (*c–f*) СМК на разных стадиях деструкции после ПОСА.

Примечание. Гиперхромные несморщенные нейроны (зеленые стрелки), сморщенные нейроны (красные стрелки), клетки-тени (белые стрелки), глиоциты (желтые стрелки), микроглиоциты (синие стрелки). Окраска гематоксилин-эозином, об. $\times 100$, шкала — 20 мкм.

ленной плотности гиперхромных нескорченных нейронов с последующим статистически значимым увеличением их числа к 30 сут в сравнении с предыдущим сроком (рис. 2, *a*). В слое V СМК численная плотность гиперхромных нескорченных нейронов достигала пика через 1 сут после ПОСА и статистически значимо снижалась к 30 сут исследования, достигая минимальных значений за весь период исследования (рис. 2, *b*).

Необратимая прижизненная дегенерация нейронов на препаратах, окрашенных гематоксилин-эозином, проявлялась интенсивной эозинофилией ядра и цитоплазмы, кариопикнозом, исчезновением контуров ядра, гомогенизацией цитоплазмы, уменьшением ядра и перикариона в размере (гиперхромные сморщенные нейроны и клетки-тени) (рис. 1). Численная плотность гиперхромных сморщенных нейронов в слое III СМК на всем протяжении исследуемого срока была выше контрольных значений. В острый период ишемии (1 и 3 сут) в слое III СМК происходило статистически значимое увеличение в сравнении с контролем, через 7 сут — снижение их плотности (на 15,4% в сравнении с 3 сут), через 14 и 30 сут — увеличение в сравнении с 7 сут, пик содержания приходился на 30 сут после ПОСА (рис. 2, *a*). Максимальное увеличение численной плотности сморщенных нейронов в слое V СМК отметили через 7 сут после ПОСА. Через 14 и 30 сут происходило статистически значимое снижение количества сморщенных нейронов в сравнении с предыдущим сроком (рис. 2, *b*).

После ПОСА отмечали реорганизацию глиальных клеток, которая проявлялась изменением их численной плотности и нейро-

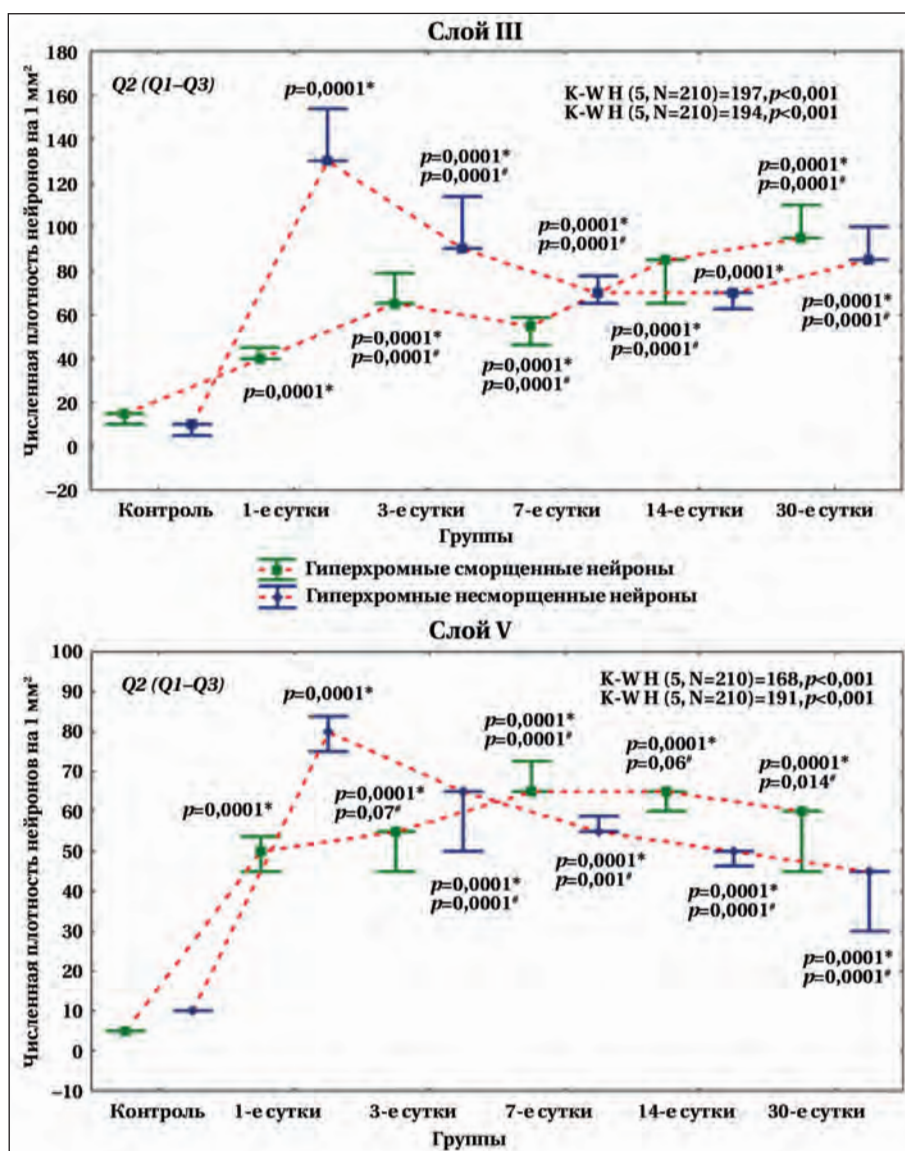


Рис. 2. Численная плотность гиперхромных нескорщенных и сморщенных нейронов слоев III и V СМК в контроле, через 1, 3, 7, 14 и 30 сут после ПОСА.

Примечание. * — сравнение с контролем; # — сравнение с предыдущим сроком (Mann-Whitney U-test). Различия статистически значимы при $p<0,05$. Материал представили как медиану (Q2) и 25–75% квантили (Q1–Q3). Различия между всеми сроками после ПОСА статистически значимы по результатам ANOVA Kruskal-Wallis (K-W).

глиального отношения. Так, максимальную численную плотность микроглиоцитов в слоях III и V СМК отметили через 1 сут, астроцитов — 14 сут, а олигодендроцитов — 7 и 14 (слой III) и 7 (слой V) сут (рис. 3).

Через 1 и 3 сут, вероятно, происходила активация микроглиоцитов, что проявлялось изменением формы клеток до округлой или овальной и потерей отростков. Эти изменения выявили на IBA1-позитивном материале (рис. 4, *c, d*).

Подобные причинно-следственные отношения отмечены в литературе. Так в результате активации изменение формы микроглиоцитов до овальной с потерей отростков необходимо для облегчения перемещения глиальных кле-

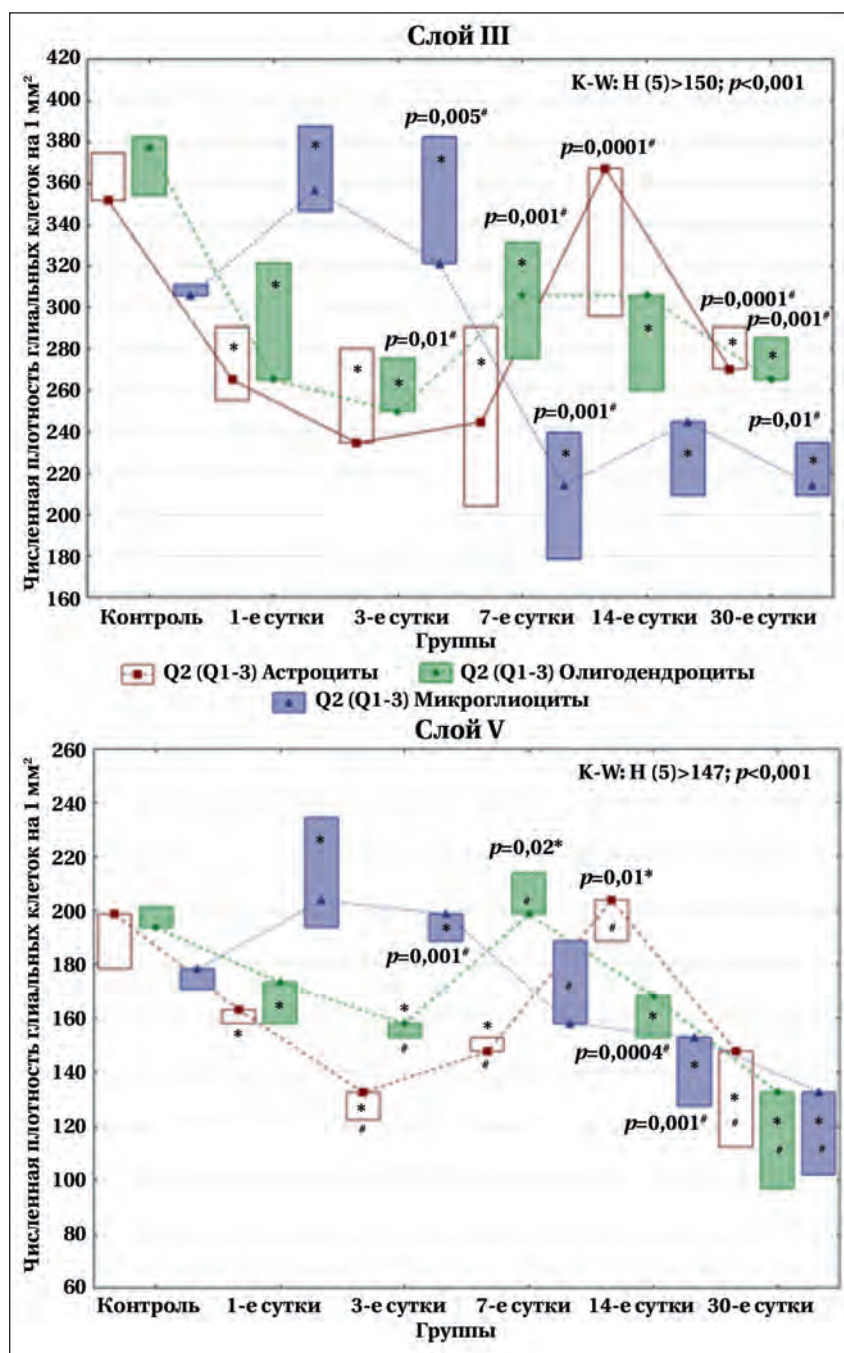


Рис. 3. Численная плотность астроцитов, олигодендроцитов и микроглиоцитов слоя III и V СМК в контроле и после необратимой двусторонней ПОСА через 1, 3, 7, 14 и 30 сут.

Примечание. * — парное сравнение с контролем; # — сравнение с предыдущим сроком (Mann-Whitney U-test). Отдельные «*» и «#» — при $p=0,0001$. Материал представили как медиану (Q2) и 25–75% квантили (Q1–3). Различия между всеми сроками после ПОСА статистически значимы по результатам ANOVA Kruskal-Wallis (K-W). Различия статистически значимы при $p<0,05$.

ток [15–17]. Эти изменения необходимы для санации нервной ткани после ишемического повреждения. Отметим увеличение численной плотности олигодендроцитов. Максимальную численную плотность этих клеток выявили через 7 и 14 сут после ПОСА (рис. 3).

Пик численной плотности астроцитов наблюдали через 14 сут после ПОСА в слоях III и V

СМК. Начиная с 1 сут после ПОСА, отмечали гипертрофию ножек астроцитов (рис. 4, а, б). Известно, что астроциты принимают участие в регуляции внеклеточного уровня глутамата, гамма-аминомасляной кислоты, аденозина и синаптической пластичности [18, 19].

По литературным данным, гипертрофия астроцитов является следствием их ответа на нарушение ионного гомеостаза и энергетического баланса после ПОСА. В ответ на ишемическое повреждение астроциты пытаются стабилизировать баланс веществ и жидкости в межклеточном пространстве [20]. Выявили активацию всех глиальных клеток как составляющих единой интегрированной санирующей клеточной системы головного мозга. Вероятно, это необходимо для защиты и восстановления нервной ткани в результате ишемического повреждения после необратимой двусторонней ПОСА и может способствовать активизации неповрежденных нейронов и функциональному замещению погибших нейронов [21–23].

Согласно данным морфометрического исследования NSE-позитивного материала в слоях III и V СМК, максимальное увеличение доли NSE-позитивных нейронов отмечали в остром периоде ишемии (через 1 сут). В слое III СМК через 3–14 сут после ПОСА выявили статистически значимое прогрессивное снижение доли NSE-позитивных нейронов в сравнении с 1 сут, через 30 сут — увеличение, относительно предыдущего срока (рис. 5).

Эти изменения происходили на фоне статистически значимого увеличения численной плотности гиперхромных несморщенных нейронов (рис. 2), что, вероятно, свидетельствует об увеличении экспрессии NSE в нейронах через 30 сут после ПОСА [24, 25]. В слое V СМК на

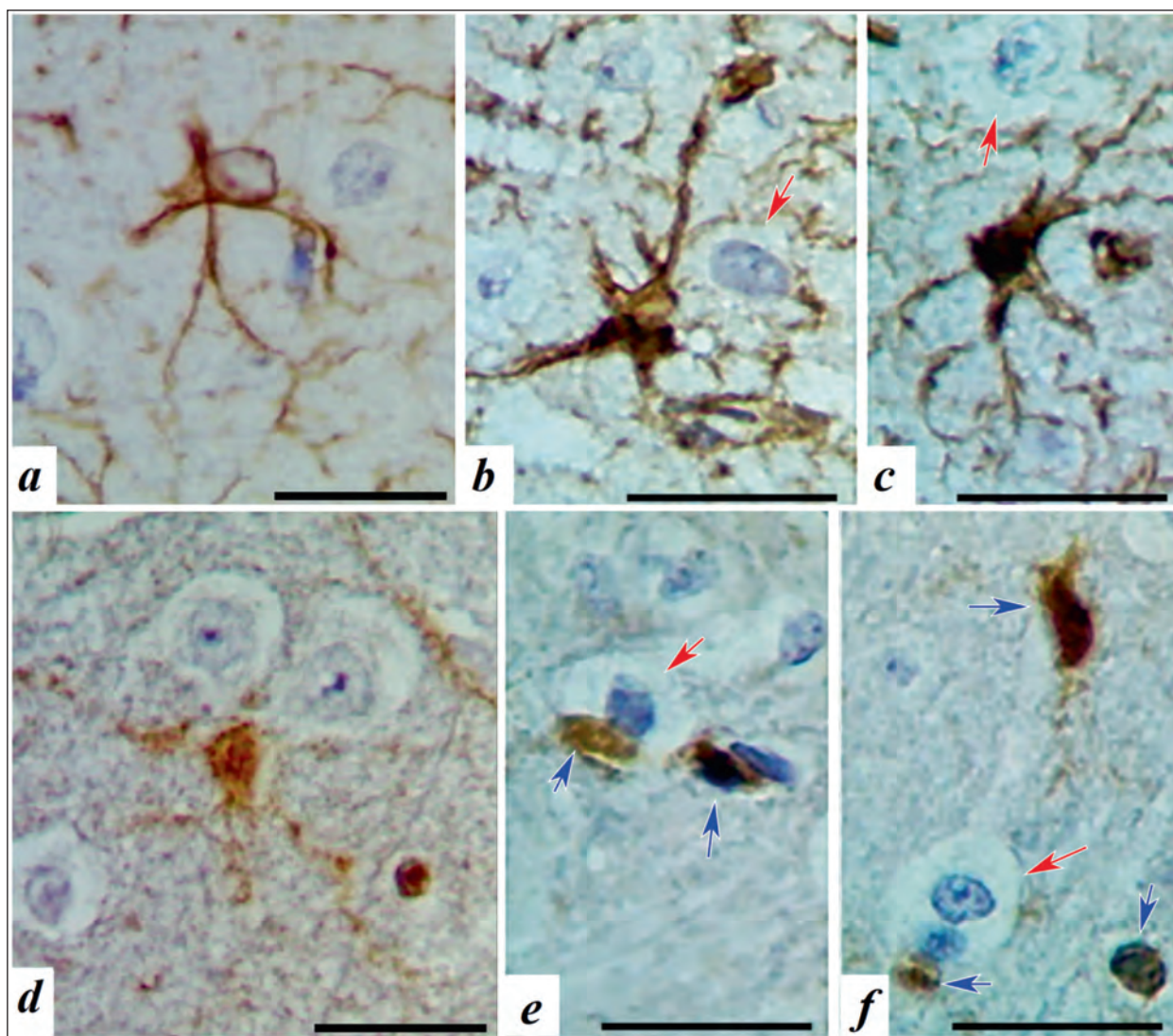


Рис. 4. Астроциты (*a, b, c*) и микроглиоциты (*d, e, f*) слоя III СМК в контроле (*a, d*) и через 1 сут (*b, c, e, f*) после ПОСА. **Примечание.** Астроциты вокруг пирамидных нейронов (красная стрелка), гипертрофия отростков; вытянутая форма тел микроглиоцитов (синяя стрелка). Окраска: реакция на GFAP (*a, b*), реакция на IBA1 (*c, d*). Об. $\times 100$; шкала — 20 мкм.

всем протяжении исследуемого срока (через 1, 3, 7, 14 и 30 сут после ПОСА) доля NSE-позитивных нейронов была статистически значимо выше контрольных значений (рис. 5).

По данным иммуногистохимического исследования (p38), синаптические терминалы во всех слоях СМК распределялись в нейроне (аксодендритические), на перикарионах (аксосоматические) и крупных дендритах (аксодендритические и аксошиповые синапсы) пирамидных нейронов (рис. 6, *a-c*). При этом визуально отмечали различную плотность распределения этого синаптического белка по слоям у контрольных животных и после ПОСА. Различия слоев были

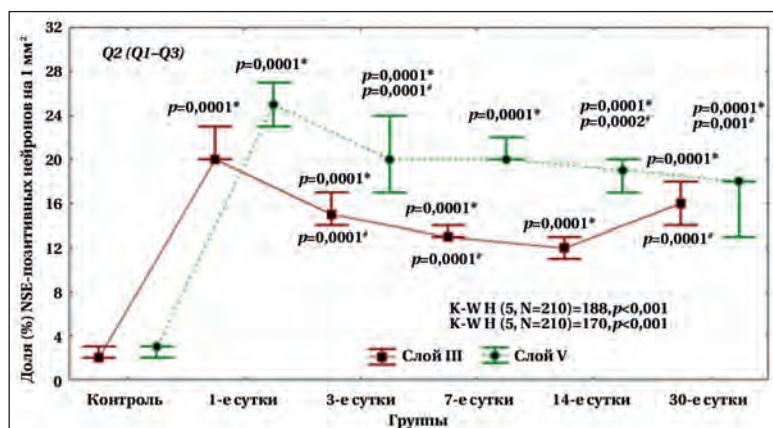


Рис. 5. Доля (%) NSE-позитивных нейронов в слоях III и V СМК в контроле и после ПОСА.

Примечание. * — парное сравнение с контролем; # — сравнение с предыдущим сроком (Mann-Whitney *U*-test). Отдельные «*» и «#» — при $p=0,0001$. Материал представили как медиану (Q2) и 25–75% квантили (Q1–Q3). Различия между всеми сроками после ПОСА статистически значимы по результатам ANOVA Kruskal-Wallis (K-W). Различия статистически значимы при $p<0,05$.

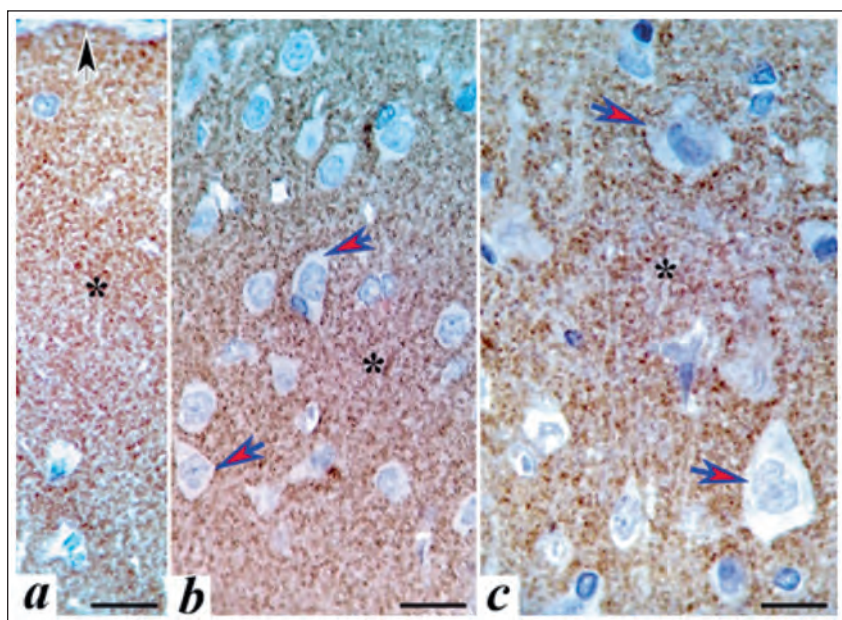


Рис. 6. Нейропил (*) и нейроны (красные стрелки) слоя I (a), III (b) и V (c) СМК крыс при реакции на специфический нейрональный белок синаптических терминалей (синаптофизин, коричневые гранулы).

Примечание. a, b — контроль; c — через 1 сут после ПОСА. Черная стрелка — наружная (пиальная) поверхность слоя I. Окраска: иммуногистохимическая реакция на синаптофизин, докраска гематоксилином. Объектив: $\times 100$; шкала — 20 мкм.

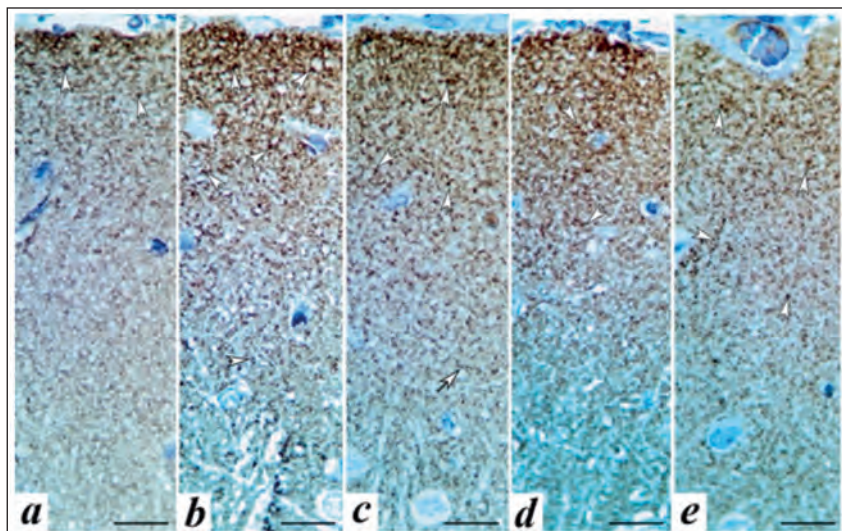


Рис. 7. Нейропил слоя III СМК крыс через 1 (a), 3 (b), 7 (c), 14 (d) и 30 (e) сут после ПОСА.

Примечание. Разная плотность r38-позитивных терминалей (стрелки) и мелких вакуолей (светлые округлые). Окраска: иммуногистохимическая реакция на синаптофизин, докраска гематоксилином. Объектив: $\times 100$; шкала — 20 мкм.

связаны с особенностями их организации: в молекулярном слое превалировал нейропил и апикальные дендриты нижележащих пирамидных нейронов. Визуально можно было также определить наличие мелких и крупных очагов отека-набухания в сравниваемых слоях. Их представили как участки максимальной яркости изображения (7, a–e; 8, a–e).

С помощью анализа гистограмм распределения пикселей изображений нейропиля

(зоны интересов 400 мкм²) удалось выявить относительную площадь терминалей, а также относительную площадь зон отека-набухания нейропиля. Основные этапы данного подхода представили на рис. 9.

Установили статистически значимые изменения изученных морфометрических независимых переменных в сравнении с контролем и в динамике наблюдения (1–30 сут) (табл.). Отметим пики увеличения относительной площади терминалей и очагов отека-набухания, а также корреляционные связи между ними.

По данным ANOVA Фридмана, используемого для множественного сравнения связанной переменной, установили, что относительная площадь r38-позитивного материала (площадь синаптических терминалей) в сравниваемых слоях СМК (df=2) статистически значимо различалась во всех группах. Максимально переменная различалась в остром периоде, когда отмечали самые высокие значения критерия χ^2 и низкий p -уровень: контроль ($\chi^2=6,9$; $p=0,03$), 1 сут ($\chi^2=15,2$; $p=0,001$), 3 сут ($\chi^2=15,2$; $p=0,001$), 7 сут ($\chi^2=11,4$; $p=0,003$), 14 сут ($\chi^2=12,8$; $p=0,002$), 30 сут ($\chi^2=10,9$; $p=0,004$).

При этом результаты анализа относительной площади отека-набухания нейропиля сравниваемых слоев также показали более высокий уровень различий этой переменной именно в

остром периоде: контроль ($\chi^2=2,1$; $p=0,4$), 1 сут ($\chi^2=20,0$; $p=0,0001$), 3 сут ($\chi^2=18,2$; $p=0,0001$), 7 сут ($\chi^2=13,4$; $p=0,001$), 14 сут ($\chi^2=15,8$; $p=0,0004$), 30 сут ($\chi^2=2,7$; $p=0,26$). Парное сравнение позволило отвергнуть нулевую гипотезу по этим переменным (таблица, критерий Вилкоксона). В нейропиле изученных слоев через 30 сут после ПОСА, вероятно, происходило частичное восстановление водного и ионного баланса клеток СМК.

По данным парного корреляционного анализа (Спирмена) всего периода наблюдения (1–30 сут), между независимыми переменными (относительная площадь терминалей и зон отека-набухания нейропиля) в слоях I и III СМК выявили сильную и слабую отрицательную связь (соответственно: $R=-0,52$, $p=0,0000$ и $R=-0,47$, $p=0,004$). Для слоя V СМК была характерна средняя положительная связь ($r=0,54$, $p=0,0004$). Вероятно, это свидетельствовало о влиянии отдела СМК на соотношение изменений площади терминалей и зон отека-набухания после ПОСА. В контроле (всех слоев) значимых связей между этими переменными не выявили.

Существенно то, что в слое I СМК через 1 сут после ПОСА выявили среднюю положительную корреляционную связь ($R=0,58$, $p=0,02$), а в другие сроки — отрицательную: 3 сут ($R=-0,59$, $p=0,02$), 7 сут ($R=-0,56$, $p=0,02$), 14 сут ($R=-0,64$, $p=0,04$) и 30 сут ($R=-0,50$, $p=0,04$). Для слоя III СМК значимые связи по срокам выявили только через 3 сут ($R=-0,94$, $p=0,005$), но по характеру они соответствовали слою I СМК. Вероятно, это свидетельствовало об изменении в этих слоях через 3 сут причинно-следственных отношений или появлении новых дискриминирующих (объясняющих) факторов — например, компенсаторной активации образования новых синаптических пузырьков и терминалей, гипертрофии отростков астроцитов. Особенностью слоя V СМК было наличие сильной ($R=-0,90$, $p=0,0003$) через 3 сут и средней отрицательной ($R=-0,68$, $p=0,03$) через 7 сут. Таким образом, можно предположить, что 3 и 7 сут были каким-то критическим периодом после ПОСА, когда изменялись соотношения основных процессов пато- и саногенеза. Существенно то, что эти изменения имели индивидуальные послонные особенности, что отражалось в характере и силе корреляционных связей по срокам.

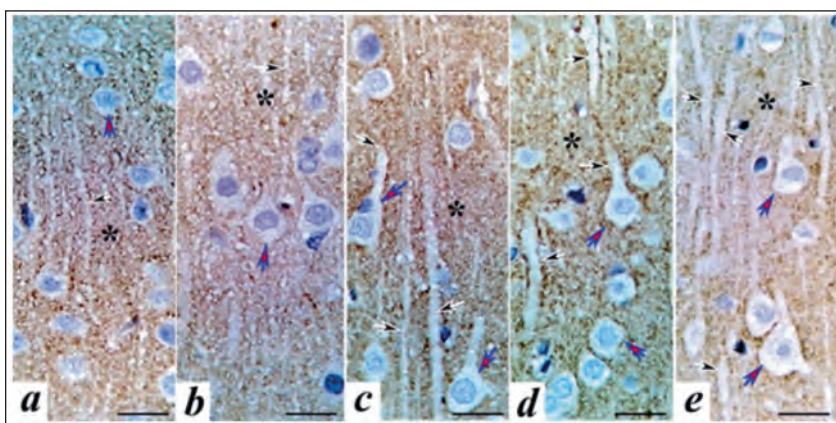


Рис. 8. Нейроны (красные стрелки), дендриты (черные стрелки) и нейропилль (*) слоя III СМК крыс через 1 (a), 3 (b), 7 (c), 14 (d) и 30 (e) сут после ПОСА.

Примечание. Разная плотность р38-позитивных терминалей (коричневые частицы) и мелких вакуолей (светлые округлые). Окраска: иммуногистохимическая реакция на синаптофизин, докраска гематоксилином. Объектив: $\times 100$; шкала — 20 мкм.

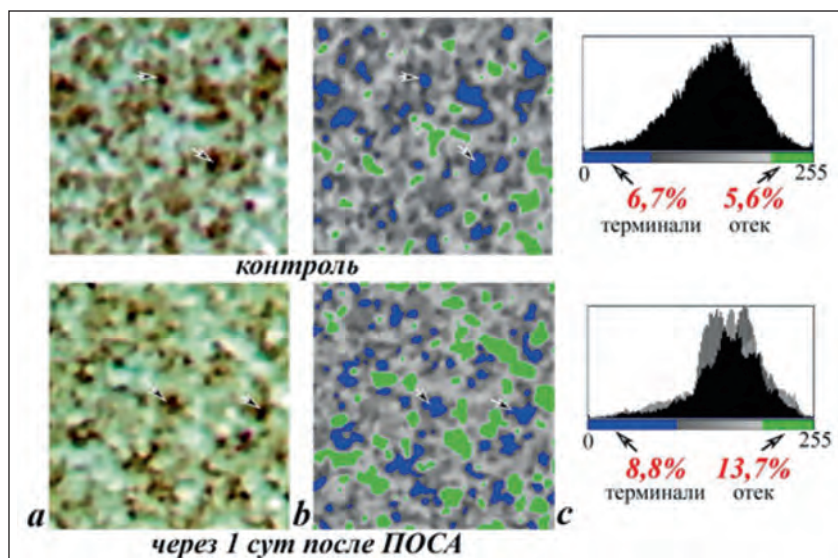


Рис. 9. Основные этапы определения относительной площади терминалей и мелких очагов отека (%) в нейропиле слоя I СМК крыс с помощью программы ImageJ 1.53.

Примечание. a — исходные ROI (400 мкм², RGB, фильтр Enhance Contrast); b — после обработки изображения в Threshold (селекция меток синаптофизина и очагов отека); c — гистограмма распределения пикселей изображения ROI с указанием их количества и яркости. Стрелки на ROI — терминали на разных этапах анализа. Синий цвет — терминали; зеленый — очаги отека. Окраска: иммуногистохимическая реакция на синаптофизин, докраска гематоксилином. Объектив: $\times 100$; сторона ROI — 20,0 мкм (площадь — 400 мкм²).

Множественный регрессионный анализ показал, что через 3 сут после ПОСА (период максимально сильных связей между переменными) в слое I СМК изменение площади зон отека-набухания на 1% приводило к изменению площади терминалей на 0,57%, в слое III СМК — на 0,31%, слой V СМК — на 0,72%. При этом коэффициент детерминации регрессионных моделей составил 34% ($p=0,02$), 72% ($p=0,03$) и 80% ($p=0,01$). Критерий Durbin-Watson составлял 1,5–2,0 (допустимые значения от 1 до 3), что

Относительная площадь р38-позитивных синаптических терминалей и мелких очагов отека-набухания нейропиля различных слоев сенсомоторной коры головного мозга белых крыс в норме и после ПОСА, Q2 (Q1–Q3).

Группы	Уровни сенсомоторной коры и переменные					
	Слой I		Слой III		Слой V	
	ОПТ	ОПО-Н	ОПТ	ОПО-Н	ОПТ	ОПО-Н
Контроль	12,8 (10,8–15,2)	9,6 (7,9–10,7)	7,95 (7,6–8,4) $p=0,02^{I-III}$	8,8 (7,1–9,7)	7,9 (7,4–8,2) $p=0,01^{I-V}$	7,2 (6,9–8,5) $p=0,02^{I-V}$
1 сут	11,4 (8,8–14,3)	17,3 (15,1–19,6) $p=0,0001^*$	5,2 (4,7–7,2) $p=0,001^*$ $p=0,001^{I-III}$	29,7 (27,9–31,7) $p=0,0000^*$ $p=0,005^{I-III}$	12,0 (11,0–13,0) $p=0,0003^*$ $p=0,005^{III-V}$	14,5 (10,6–16,4) $p=0,0004^*$ $p=0,005^{I-V}$ $p=0,005^{III-V}$
3 сут	9,2 (7,0–11,7) $p=0,04^*$	20,2 (14,5–21,3) $p=0,0001^*$	4,0 (2,8–4,5) $p=0,0001^*$ $p=0,01^{**}$ $p=0,001^{I-III}$	23,7 (22,5–28,9) $p=0,0001^*$ $p=0,019^{**}$	13,5 (11,8–14,6) $p=0,0002^*$ $p=0,005^{III-V}$	12,8 (11,5–15,2) $p=0,0002^*$ $p=0,01^{I-V}$ $p=0,005^{III-V}$
7 сут	15,1 (9,2–18,9) $p=0,03^{**}$	12,8 (10,5–17,0) $p=0,007^*$ $p=0,006^{**}$	6,7 (5,7–6,9) $p=0,02^*$ $p=0,0004^{**}$ $p=0,002^{I-III}$	16,9 (13,7–18,6) $p=0,0001^*$ $p=0,001^{**}$ $p=0,02^{I-III}$	9,8 (9,0–10,1) $p=0,02^*$ $p=0,001^{**}$ $p=0,01^{I-V}$ $p=0,03^{III-V}$	8,2 (7,7–8,9) $p=0,03^*$ $p=0,001^{**}$ $p=0,005^{III-V}$
14 сут	18,9 (13,4–23,4) $p=0,01^*$	9,8 (8,4–10,6) $p=0,01^{**}$	5,5 (4,4–9,8) $p=0,001^{I-III}$	21,0 (18,5–23,4) $p=0,0001^*$ $p=0,005^{**}$ $p=0,005^{I-III}$	9,8 (8,5–10,6) $p=0,01^*$ $p=0,04^{I-V}$ $p=0,04^{III-V}$	11,2 (7,8–12,1) $p=0,001^*$ $p=0,005^{III-V}$
30 сут	16,2 (12,5–24,0)	9,7 (8,1–14,1)	8,4 (7,2–10,6) $p=0,049^{**}$ $p=0,007^{I-III}$	15,0 (11,5–18,4) $p=0,0001^*$ $p=0,01^{**}$	12,4 (12,3–12,8) $p=0,0002^*$ $p=0,001^{**}$ $p=0,01^{III-V}$	10,1 (8,9–11,2) $p=0,001^*$
ANOVA K–W	H(4)=18,6 $p=0,001^{\#}$	H(4)=36,3 $p=0,0000^{\#}$	H(4)=27,4 $p=0,0000^{\#}$	H(4)=32,5 $p=0,0000^{\#}$	H(4)=15,9 $p=0,003^{\#}$	H(4)=13,3 $p=0,01^{\#}$

Примечание. * — статистически значимые различия в сравнении с контролем при $p<0,05$; ** — с предыдущим сроком (Mann–Whitney U -test), $I-III$, $I-V$, $III-V$ — в сравнении между соответствующими слоями (Wilcoxon test) при $p\leq 0,02$; # — различия между всеми сроками после ПОСА статистически значимы по результатам однофакторного множественного анализа (ANOVA Kruskal–Wallis). ОПТ — относительная площадь терминалей; ОПО-Н — относительная площадь зон отека-набухания. Материал представили как медиану и интерквартильный разброс.

свидетельствовало о корректности результатов. То есть, через 3 сут в слое I СМК только 34% относительной площади зон отека-набухания нейропиля можно было объяснить светлым (отечным) типом деструкции терминалей этого слоя, а 66% были, вероятно, обусловлены гидропическими изменениями отростков астроцитов и мелких дендритов. В слоях пирамидных нейронов (слои III и V СМК) по светлomu типу деструкции, вероятно, изменялось значительно больше терминалей — коэффициент детерминации 72 и 80%. Подобные различия слоев СМК мы связываем с тем, что в молекулярном слое содержится существенно больше отростков фиброзных астроцитов [26]. Это, вероятно, позволяет эффективно осуществлять реабсорбцию воды из отечных терминалей, препятствуя их необратимой гибели по светлomu типу деструкции. С другой стороны, в слое III СМК, для которого были характерны максимальные проявления отека-набухания нейропиля и повреждение нейронов, выявили максимальное умень-

шение относительной площади р38-позитивного материала. Очевидно, в этом слое происходил срыв механизмов реабсорбции воды с последующим разрушением синаптических пузырьков и терминалей в целом.

Заключение

После двусторонней необратимой ПОСА в слоях I, III и V СМК крыс выявили деструктивные и компенсаторно-восстановительные изменения нейронов, глиальных клеток и структур межнейронной коммуникации. Реорганизация нейроглиальных и межнейронных взаимоотношений происходила на фоне выраженных проявлений гипергидратации нейропиля, дегидратации перикарионов и реактивного глиоза. Выявленные изменения СМК имели гетерохронный характер. Так, численная плотность микроглиоцитов достигала максимальных значений через 1 сут, олигодендроцитов — 7 и 14 сут, а астроцитов — 14 сут. Максимальное разрушение нейронов и синаптических терми-

налей отмечали в слое III СМК. В совокупности все эти изменения приводили к значительной гетероморфности ответа нервной ткани на ПОСА. В большей степени страдал вторичный проекционный комплекс СМК. Это необходимо учитывать при изучении патофизиологических последствий структурных изменений СМК.

Полученные в работе данные послужат уточнению характера реорганизации составляющих разных нейронных комплексов СМК с

учетом роли де- и гипергидратации нервной ткани после ПОСА.

Участие авторов.

Авторы лично и в равном количестве принимали участие в реализации комплексного методологического подхода, включающего экспериментальный, анатомический, гистологический, морфометрический и информационно-математический методы, а также методы наблюдения, описания и анализа.

Литература

1. Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Валько Н.А. Головной мозг крысы (обзор). Оренбургский медицинский вестник. 2022; 10 2 (38): 5–11. [Bon E.I., Maksimovich N.E., Valko N.A. Rat brain (review). *Orenburg Medical Bulletin/Orenburgsky Meditsinsky Vestnik*. 2022; 10 2 (38): 5–11. (in Russ.).]
2. Зиматкин С.М., Маслакова С.М., Бонь Е.И. Строение и развитие коры головного мозга крысы. Гродно. ГрСМУ. 2019: 156. [Zimatkin, S.M., Maslakova S.M., Bon E.I. Structure and development of the rat cerebral cortex. Grodno. GrSMU, 2019: 156. (in Russ.).]
3. Зиматкин С.М. Закономерности постнатального развития нейронов мозга. Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2021; 19 (1): 106–111. DOI: 10.25298/2221-19-1-106-111. [Zimatkin S.M. Patterns of postnatal development of brain neurons. *Journal of Grodno State Medical University/Zhurnal Grodnenskogo Meditsinskogo Universiteta*. 2021; 19 (1): 106–111. (in Russ.). DOI: 10.25298/2221-19-1-106-111].
4. Обухов Д.К., Цехмистренко Т.А., Пуцина Е.В., Вараксин А.А. Формирование популяций нейронов и нейроглии в пре- и постнатальном развитии ЦНС позвоночных животных. Морфология. 2019; 156 (6): 57–63. [Obukhov D.K., Tsekhmistrenko T.A., Pushchina E.V., Varaksin A.A. Formation of populations of neurons and neuroglia in pre- and postnatal development of the central nervous system of vertebrates. *Morphology*. 2019; 156 (6): 57–63. (in Russ.).]
5. Qian H-Z., Zhang H., Yin L-L., Zhang J-J. Postischemic housing environment on cerebral metabolism and neuron apoptosis after focal cerebral ischemia in rats. *Curr Med Sci*. 2018; 38 (4): 656–665. DOI: 10.1007/s11596-018-1927-9. PMID: 30128875.
6. Koizumi S., Hirayama Y., Morizawa Y. M. New roles of reactive astrocytes in the brain: an organizer of cerebral ischemia. *Neurochem Int*. 2018; 119 (10): 107–114. DOI: 10.1016/j.neuint.2018.01.007. PMID: 29360494.
7. Авдеев Д. Б., Акулинин В.А., Степанов С.С., Шоронова А.Ю., Макарьева Л.М., Горбунова А.В., Коржук М.С., Маркелова М.В. Влияние окклюзии общих сонных артерий на двудерные клеточные образования сенсомоторной коры большого мозга крысы. Общая реаниматология. 2021; 17 (2): 55–71. DOI: 10.15360/1813-9779-2021-2-55-71. [Avdeev D.B., Akulinin V.A., Stepanov S.S., Shoronova A.Yu., Makarieva L.M., Gorbunova A.V., Korzhuk M.S., Markelova M.V. The effect of occlusion of the common carotid arteries on the binucleated cell formations of the sensorimotor cortex of the rat brain. *General reanimatology/ Obshchaya reanimatology*. 2021; 17 (2): 55–71. (in Russ.). DOI: 10.15360/1813-9779-2021-2-55-71].
8. Макарьева Л.М., Акулинин В.А., Степанов С.С., Шоронова А.Ю., Авдеев Д.Б., Коржук М.С. Морфологическое и морфометрическое описание нейронов сенсомоторной коры головного мозга крысы после перевязки общих сонных артерий. Журнал анатомии и гистопатологии. 2022; 11 (1): 49–58. DOI: 10.18499/2225-7357-2022-11-1-49-58. [Makarieva L.M., Akulinin V.A., Stepanov S.S., Shoronova A.Yu., Avdeev D.B., Korzhuk M.S. Morphological and morphometric description of neurons of the sensorimotor cortex of rats after ligation of common carotid arteries. *Journal of Anatomy and Histopathology/Zhurnal Anatomii i Gistopatologii*. 2022; 11 (1): 49–58. (in Russ.). DOI: 10.18499/2225-7357-2022-11-1-49-58].
9. Макарьева Л.М., Коржук М.С., Акулинин В.А., Степанов С.С., Шоронова А.Ю., Авдеев Д.Б. Нейроглияльные взаимоотношения и структуры межнейронной коммуникации слоя V сенсомоторной коры белых крыс после перевязки общих сонных артерий. Журнал анатомии и гистопатологии. 2022; 11 (2): 43–51. DOI: 10.18499/2225-7357-2022-11-2-43-51. [Makarieva L.M., Korzhuk M.S., Akulinin V.A., Stepanov S.S., Shoronova A.Yu., Avdeev D.B. Neuroglial relationships and structures of interneuronal communication of layer V of the sensorimotor cortex of white rats after ligation of the common carotid arteries. *Journal of Anatomy and Histopathology/Zhurnal Anatomii i Gistopatologii*. 2022; 11 (2): 43–51. (in Russ.). DOI: 10.18499/2225-7357-2022-11-2-43-51].
10. Бонь Е.И., Максимович Е.И. Сравнительный анализ морфологических нарушений нейронов теменной коры и гиппокампа крыс при различных видах экспериментальной ишемии головного мозга. Оренбургский медицинский вестник. 2021; 92 (34): 29–37. [Bon E.I., Maksimovich E.I. Comparative analysis of morphological disorders of neurons of the parietal cortex and hippocampus of rats in various types of experimental cerebral ischemia. *Orenburg Medical Bulletin/Orenburgsky Meditsinsky Vestnik*. 2021; 92 (34): 29–37. (in Russ.).]
11. Антоненко Л.М., Вахнина Н.В., Громова Д.О. Когнитивные нарушения, головокружение и неустойчивость у пациентов с артериальной гипертензией. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2020; 12 (5): 92–97. DOI 10.14412/2074-2711-2020-5-92-97. [Antonenko L.M., Vakhnina N.V., Gromova D.O. Cognitive disorders, dizziness and instability in patients with arterial hypertension. *Neurology, neuropsychiatry, psychosomatics/Neurologiya, Neiropsikhiatriya, Psikhosomatika*. 2020; 12 (5): 92–97. (in Russ.). DOI 10.14412/2074-2711-2020-5-92-97].
12. Jing Z., Shi C., Zhu L., Xiang Y., Chen P., Xiong Z., Li W., Ruan Y., Huang L. Chronic cerebral hypoperfusion induces vascular plasticity and hemodynamics but also neuronal degeneration and cognitive impairment. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2015; 35 (8): 1249–1259. DOI: 10.1038/jcbfm.2015.55. PMID: 25853908.
13. Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 5th ed. Elsevier Academic Press. Amsterdam, Boston. 2005. eBook ISBN: 9780080474120.
14. Боровиков В. Statistica. Искусство анализа данных на компьютере. 2-ое изд. СПб. Питер. 2003: 688. [Borovikov V. Statistica. The art of data analysis on a computer. 2nd ed. St. Petersburg: Piter; 2003: 688. (in Russ.).]
15. Коржевский Д.Э., Кирик О.В., Сухорукова Е.Г., Власов Т.Д. Структурная организация микроглиоцитов стриатума после транзиторной фокальной ишемии. Морфология. 2012; 141 (2): 28–32. [Korzhewsky D.E., Kirik O.V., Sukhorukova E.G., Vlasov T.D. Structural organization of striatum microgliaocytes after transient focal ischemia. *Morphology/Morfologiya*. 2012; 141 (2): 28–32. (in Russ.).]
16. Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Мальхина А.В. Нейроглия и ее роль в патогенезе ишемического повреждения головного мозга. Иммуногистохимические маркеры нейроглии. Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2021; 20 (3): 18–24. DOI: 10.37903/vsgma.2021.3.3. [Bon E.I., Maksimovich N.E., Malykhina A.V. Neuroglia and its role in the pathogenesis of ischemic brain damage. immunohistochemical markers of neuroglia. *Bulletin of the Smolensk State Medical Academy/Vestnik Smolensko Gosudarstvennoy Meditsinskoy Akademii*. 2021; 20 (3): 18–24. (in Russ.). DOI: 10.37903/vsgma.2021.3.3].
17. Пальцын А.А., Свиридкина Н.Б. О регенерации мозга (лекция II). Патогенез. 2018; 16 (1): 83–91. DOI: 10.25557/2310-0435.2018.01.83-91. [On brain regeneration (lecture two). *Pathogenesis/Patogenez*. 2018; 16 (1): 83–91. (in Russ.). DOI: 10.25557/2310-0435.2018.01.83-91].
18. Кириченко Е.Ю., Логвинов А.К., Филиппова С.Ю., Арефьев Р.А., Семьнина В.Г., Лысенко Л.В. Особенности строения нейроглио-сосудистых ансамблей в гломерулах обонятельной луковицы крысы. Цитология. 2020; 62 (4): 278–285. DOI: 10.31857/S0041377120040057 [Kirichenko E.Yu., Logvinov A.K., Filippova S. Yu., Arefyev R.A., Semykina V.G., Lysenko L.V. Structural features of neuro-glio-vascular ensembles in the glomeruli of the rat olfactory bulb. *Cytology/Tsytologiya*. 2020; 62 (4): 278–285. DOI: 10.31857/S0041377120040057. (in Russ.).]
19. Arizono M., Krishna Inavalli V. G., Panatier A., Pfeiffer T., Angibaud J., Levat F., Ter Veer M. J.T., Stobart J., Bellocchio L., Mikoshiba K., Marsicano G., Weber B., Olet S. H. R., Nägerl U. V. Structural basis of astrocytic Ca²⁺ signals at tripartite synapses. *Nat Commun*. 2020; 11 (1): 1906. DOI: 10.1038/s41467-020-15648-4. PMID: 32312988.
20. Калинина Ю.А., Гилерович Е.Г., Коржевский Д.Э. Астроциты и их участие в механизмах терапевтического действия мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток при ишемическом повреждении головного мозга. Гены и клетки. 2019; 14 (1): 33–40. DOI: 10.23868/201903004. [Kalina Yu.A., Gilerovich

- E.G., Korzhevsky D.E. Astrocytes and their participation in the mechanisms of therapeutic action of multipotent mesenchymal stromal cells in ischemic brain injury. *Genes and Cells/Geny i Kletki*. 2019; 14 (1): 33–40. (in Russ.). DOI: 10.23868/201903004].
21. Степанов А.С., Акулинин В.А., Степанов С.С., Авдеев Д.Б. Клеточные системы восстановления и утилизации поврежденных нейронов головного мозга белых крыс после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2017; 103 (10): 1135–1147. [Stepanov A.S., Akulinin V.A., Stepanov S.S., Avdeev D.B. Cellular systems of rehabilitation and utilization of damaged neurons of the brain of white rats after 20-minute occlusion of the common carotid arteries. *I.M. Sechenov Russian Journal of Physiology/ Ross. Fiziol. Zh. Im. I.M. Sechenova*. 2017; 103 (10): 1135–1147. (in Russ.)].
 22. Боголепова И.Н., Малофеева Л.И., Агапов П.А., Малофеева И.Г. Изменения цитоархитектоники префронтальной коры мозга мужчин и женщин в зрелом и пожилом возрасте. *Журнал анатомии и гистопатологии*. 2017; 6 (3): 13–18. DOI: 10.18499/2225-7357-2017-6-3-13-18 [Bogolepova I.N., Malofeeva L.I., Agapov P.A., Malofeeva I.G. Cytoarchitecture changes in the of the prefrontal brain cortex of adult and aged men and women. *Journal of Anatomy and Histopathology/Zhurnal Anatomii i Gistopatologii*. 2017; 6 (3): 13–18. (in Russ.). DOI: 10.18499/2225-7357-2017-6-3-13-18].
 23. Ишунина Т.А., Боголепова И.Н., Свааб Д.Ф. Морфофункциональные изменения и компенсаторные механизмы в головном мозге человека при старении и болезни Альцгеймера. *Журнал анатомии и гистопатологии*. 2020; 9 (1): 77–85. DOI: 10.18499/2225-7357-2020-9-1-77-85 [Ishunina T.A., Bogolepova I.N., Svaab D.F. Morphofunctional changes and compensatory mechanisms in the human brain with aging and in Alzheimer's disease. *Journal of Anatomy and Histopathology/Zhurnal Anatomii i Gistopatologii*. 2020; 9 (1): 77–85. (in Russ.). DOI: 10.18499/2225-7357-2020-9-1-77-85].
 24. Isgrò M.A., Bottoni P., Scatena R. Neuron-specific enolase as a biomarker: biochemical and clinical aspects. *Adv Exp Med Biol*. 2015; 867: 125–143. DOI: 10.1007/978-94-017-7215-0_9. PMID: 26530364.
 25. Li Q., Zhang R., Ge Y-L., Mei Y-w, Guo Y-l. Effects of neuregulin on expression of MMP-9 and NSE in brain of ischemia/reperfusion rat. *J Mol Neurosci*. 2009; 38 (2): 207–215. DOI: 10.1007/s12031-008-9150-y. PMID: 18830828.
 26. Авдеев Д.Б., Степанов С.С., Акулинин В.А., Степанов А.С., Шоронова А.Ю., Самсонов А.А. Реорганизация астроцитов гиппокампа белых крыс после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2019; 63 (4): 13–22. DOI: 10.25557/0031-2991.2019.04.13-22. [Avdeev D.B., Stepanov S.S., Akulinin V.A., Stepanov A.S., Shoronova A.Yu., Samsonov A.A. Reorganization of hippocampal astrocytes of white rats after 20-minute occlusion of common carotid arteries. *Pathological Physiology and Experimental Therapy/ Patol.Fiziol. Exsp. Ter*. 2019; 63 (4): 13–22. (in Russ.). DOI: 10.25557/0031-2991.2019.04.13-22].

Поступила 31.05.2022
Принято в печать 03.10.2022