

## Гетерогенность распределения белка NeuN как признак морфологической персонализации нейронов коры головного мозга (экспериментальное исследование)

А. М. Голубев\*, М. А. Любомудров\*, А. С. Бабкина, З. И. Цоколаева

НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского  
Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии,  
Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

**Для цитирования:** А. М. Голубев, М. А. Любомудров, А. С. Бабкина, З. И. Цоколаева. Гетерогенность распределения белка NeuN как признак морфологической персонализации нейронов коры головного мозга (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2025; 21 (1): 55–61. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2025-1-55-61> [На русск. и англ.]

\***Адрес для корреспонденции:** Аркадий Михайлович Голубев, [arkadygolubev@mail.ru](mailto:arkadygolubev@mail.ru); Максим Алексеевич Любомудров, [mlyubomudrov@fnkcrf.ru](mailto:mlyubomudrov@fnkcrf.ru)

### Резюме

**Цель исследования.** Определить персонализированные морфологические фенотипы нейронов на основании характера распределения нейронального белка NeuN в слоях коры головного мозга.

**Материал и методы.** Провели гистологическое исследование коры головного мозга крыс ( $n=10$ ). Препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Для визуализации ядерного нейронального белка NeuN применяли иммуногистохимический метод окрашивания. Препараты исследовали с помощью микроскопа и программного обеспечения для анализа изображений.

**Результаты.** Отметили разнообразную локализацию и интенсивность иммуногистохимического окрашивания NeuN в нейронах коры головного мозга. На основании интенсивности окрашивания NeuN в каждом препарате выделили интенсивно окрашенные, неокрашенные, а также со следовым окрашиванием нейроны. Вопреки определению белка NeuN как ядерного нейронального, NeuN в большей части нейронов локализовался как в ядре, так и в цитоплазме. На основании разнообразной локализации NeuN (иммуногистохимического окрашивания на NeuN) выделили следующие фенотипы нейронов: 1) нейроны с окрашенным ядром, но неокрашенной цитоплазмой; 2) нейроны с окрашенной цитоплазмой, но неокрашенным ядром; 3) нейроны с окрашенной цитоплазмой и ядром; 4) полностью окрашенные нейроны, в которых ядро не визуализировалось; 5) нейроны с окрашенными отростками (дендритами/аксонами). Выявили значимые различия интенсивности окрашивания NeuN-позитивных нейронов в зависимости от локализации в слоях коры головного мозга.

**Заключение.** Учитывая важную биологическую роль белка NeuN, фенотипы нейронов, выделенные на основании различной локализации NeuN, заслуживают особого внимания исследователей, так как могут свидетельствовать о функциональном состоянии нейронов. Интерпретация отсутствия окрашивания NeuN в нейроне как признака повреждения научно не обоснована. В дальнейших исследованиях с использованием иммуногистохимического окрашивания с антителами к NeuN следует учитывать и подвергать анализу не только общее количество нейронов, в которых отмечена положительная реакция, но и различные их фенотипы.

**Ключевые слова:** нейрональный белок NeuN; персонализация нейронов; фенотипы нейронов; кора головного мозга; иммуногистохимия; морфология; морфометрия

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

### Информация об авторах:

Аркадий Михайлович Голубев: ORCID 0000-0002-3165-0378

Максим Алексеевич Любомудров: ORCID 0000-0002-1735-592X

Анастасия Сергеевна Бабкина: ORCID 0000-0003-1780-9829

Зоя Ивановна Цоколаева: ORCID 0000-0003-2441-6062

## Heterogeneity of NeuN Protein Distribution as a Marker of Morphological Personalization of Cerebral Cortex Neurons: an Experimental Study

Arkady M. Golubev\*, Maxim A. Lyubomudrov\*, Anastasia S. Babkina, Zoya I. Tsokolaeva

V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology,  
Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology,  
25 Petrovka Str., Bldg. 2, 107031 Moscow, Russia

### Summary

**Aim.** To identify personalized morphological neuronal phenotypes based on the distribution pattern of the neuronal protein NeuN in the cerebral cortex layers.

**Materials and Methods.** A histologic study of the cerebral cortex was performed in rats ( $N=10$ ). Tissue sections were stained with hematoxylin and eosin, and the neuronal nuclear protein NeuN was visualized by immunohistochemical staining. Analysis was performed by microscopy and image analysis software.

**Results.** NeuN immunohistochemical staining revealed distinct localization and intensity patterns within cortical neurons. Contrary to the definition of NeuN as a nuclear neuronal protein, its localization was observed in both the nucleus and cytoplasm in most neurons. The following neuronal phenotypes were identified based on NeuN staining patterns:

- 1) Neurons with stained nuclei but unstained cytoplasm;
- 2) Neurons with stained cytoplasm but unstained nuclei;
- 3) Neurons with stained nuclei and cytoplasm;
- 4) Fully stained neurons with no visible nuclei;
- 5) Neurons with stained processes (dendrites/axons).

A significant difference was found between mean intensity of NeuN-positive neurons depending on the localization in the layers of the cerebral cortex.

**Conclusion.** Given the critical biological role of NeuN, the identified neuronal phenotypes based on NeuN localization warrant further research as they may reflect the functional states of neurons. The interpretation of the absence of NeuN staining as a marker of neuronal damage is not scientifically justified. Future studies using NeuN immunohistochemical staining should consider not only the total number of NeuN-positive neurons, but also their distinct phenotypes.

**Keywords:** *NeuN protein; personalized neuronal phenotyping; neuronal phenotypes; cerebral cortex; immunohistochemistry; morphology; morphometry.*

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

**Information about the authors:**

Arkady M. Golubev: ORCID 0000-0002-3165-0378

Maksim A. Lyubomudrov: ORCID 0000-0002-1735-592X

Anastasia S. Babkina: ORCID 0000-0003-1780-9829

Zoya I. Tsokolaeva: ORCID 0000-0003-2441-6062

Read the full-text English version at [www.reanimatology.com](http://www.reanimatology.com)

## Введение

Белок NeuN был открыт в результате исследования моноклональных антител (mAb) против ядер клеток головного мозга. Одно из них, mAb A60, распознает ядерный белок, являющийся специфичным для нейронов позвоночных. Белок был назван NeuN (Neuronal Nuclei). Обнаруживаемый иммуногистохимически белок NeuN впервые появляется во время выхода нейрона из клеточного цикла или начала терминальной дифференцировки нейрона [1]. Длительное время было неизвестно с каким белком связывалось антитело A60. И только в 2009 г. было показано, что NeuN соответствует белку Fox-3, известному также как Rbfox3 [2]. Геном млекопитающих содержит три гена: Fox-1 Fox-2 и Fox-3. Три белка Fox млекопитающих участвуют в регуляции сплайсинга мРНК. Альтернативное название трех белков — гексарибонуклеотидсвязывающий белок 1, 2 и 3 (HRNBP1, 2 и 3).

Таким образом, NeuN (Fox-3, Rbfox3 или гексарибонуклеотидсвязывающий белок-3), представляет собой ядерный антиген нейронов, используемый в качестве биомаркера нейронов.

Этот нейрон-специфичный ядерный белок стабильно экспрессируется в большинстве постмитотических нейронов нервной системы позвоночных. Отсутствие окрашивания NeuN рассматривалось как маркер повреждения нейронов в ряде исследований [3–6]. Исследования с использованием первичных антител против NeuN проводились как на экспериментальном, так

и на аутопсийном материале человека. Данные литературы свидетельствуют о перспективности использования NeuN для изучения реакций нейронов на повреждение, в том числе в сравнительных межвидовых исследованиях [7]. Однако, во многих исследованиях ставится под сомнение роль NeuN как маркера неповрежденных нейронов, указывая, что окрашивание вариабельно и может отсутствовать при определенных заболеваниях и физиологических состояниях [8]. Было показано, что наличие или отсутствие иммуногистохимической (ИГХ) реакции с первичными антителами против NeuN зависит от статуса фосфорилирования этого NeuN, являющегося эпитопом Rbfox3, входящего в семейство факторов сплайсинга Rbfox1 [9]. Следовательно, отсутствие окрашивания NeuN может быть связано не с гибелью нейронов, а со снижением экспрессии белка NeuN или потерей антигенности NeuN [10]. Ранее мы также отмечали большую вариабельность окрашивания NeuN в нейронах коры головного мозга пациентов, умерших от COVID-19 [11]. Тем не менее, факторы, приводящие к снижению экспрессии белка или потере антигенности, недостаточно изучены. Также недостаточно информации о связи функциональной активности нейронов с особенностями окрашивания и локализацией NeuN.

Цель исследования — определить персонализированные морфологические фенотипы нейронов на основании характера распределения нейронального белка NeuN в слоях коры головного мозга.

## Материал и методы

## Результаты

Для гистологического исследования отобрали 10 образцов головного мозга крыс-самцов линии Wistar массой 200–250 г ( $n=10$ ). Эксперименты проводили в соответствии с требованиями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях. Крыс эвтаназировали методом цервикальной дислокации под общей анестезией золетилом в дозировке 20 мг/кг и ксилазином — 5 мг/кг, введенных внутривенно. Материал фиксировали в 10% нейтральном формалине, затем осуществляли стандартную парафиновую проводку. Срезы толщиной 4 микрон окрашивали гематоксилином и эозином.

Для визуализации ядерного нейронального белка NeuN применяли иммуногистохимический метод окрашивания. Срезы депарафинизировали в ксилоле, и регидрировали в этиловом спирте. Высокотемпературную демаскировку проводили в цитратном буфере pH 6 (Target Retrieval Solution, DAKO, Glostrup, Denmark). Срезы охлаждали, трижды промывали в дистиллированной воде, и трижды промывали в фосфатном буфере (PBS IHC Wash Buffer + Tween, Cell Marque, Rocklin, CA, USA) по 5 мин. Для подавления эндогенной пероксидазы срезы выдерживали в 3% перекиси водорода в течении 10 мин. Для предотвращения неспецифического связывания первичных или вторичных антител с белками тканей, использовали (Protein Block Serum-free, Abcam, Cambridge, UK) с экспозицией 30 мин. Срезы инкубировали при 37°C в течение 1 ч с первичными антителами к NeuN (Abcam, Cambridge, UK) разведенными в Antibody Diluent (Abcam, Cambridge, UK). Затем срезы отмывали в PBS трижды по 5 мин. Для детекции связывания первичных антител с антигеном использовали коммерческий набор (Diagnostic BioSystems, Netherlands), содержащий вторичные антитела и субстрат (DAB). После промывания срезов в PBS, их контрастировали гематоксилином, отмывали в проточной воде и дегидратировали в спиртах, заключали под покровные стекла.

Препараты исследовали с помощью микроскопа Nikon Eclipse Ni-U. Среднюю интенсивность окрашивания NeuN-позитивных нейронов определяли на основании показателя Mean Density, используя программное обеспечение для анализа изображений NIS-Elements BR.

Статистический анализ проводили с использованием IBM SPSS Statistics 29.0. Для сравнительного межгруппового анализа использовали непараметрический метод статистического анализа, применяли критерий Краскела–Уоллиса, в качестве апостериорных критериев использовали критерий Данна и поправку Бонферрони. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$  (двусторонний критерий). Статистические данные описывали в виде медиан и интерквартильных диапазонов.

В небольших по размеру нейронах первого слоя коры NeuN локализовался по периферии ядер.

В ядрах второго слоя окрашивалась периферия ядер. Центральная часть ядер была окрашена диффузно и менее интенсивно. В цитоплазме нейронов отмечали слабое и диффузное окрашивание. В отдельных нейронах ядра имели диффузную и интенсивную окраску. Положительную реакцию на NeuN регистрировали в ядрышках ядер. В некоторых нейронах как ядро, так и цитоплазма были окрашены очень слабо или не окрашены.

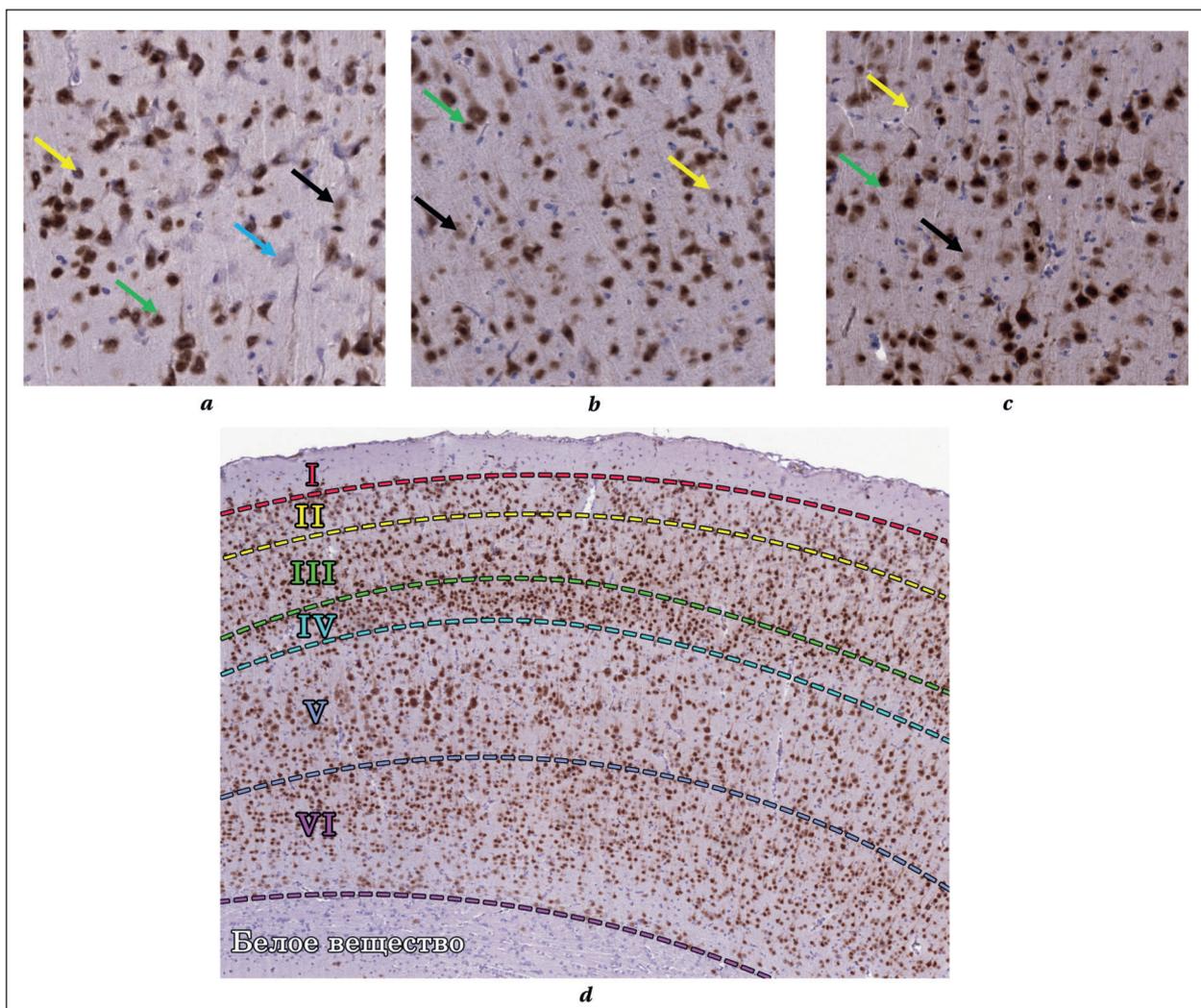
Ядра большинства пирамидных нейронов третьего слоя характеризовались интенсивным диффузным окрашиванием. Встречали нейроны, в которых ядра имели низкую интенсивность окрашивания. Окрашивание цитоплазмы было невысокой интенсивности, диффузное. Положительное окрашивание выявили в начальных отделах отростков нейронов — дендритах, аксонах.

В четвертом слое коры головного мозга наблюдали ядра небольших размеров, более интенсивно окрашенные по периферии. Гиалоплазма имела однородную окраску средней интенсивности. В некоторых нейронах ядра и цитоплазма не были окрашены или имели незначительную интенсивность окрашивания.

В пятом слое ядра многих крупных пирамидных нейронов имели различную интенсивность окраски. В цитоплазме продукт реакции был представлен немногочисленными мелкими гранулами. Преобладало диффузное окрашивание с включением окрашенных гранул. В ряде крупных нейронов ядра и цитоплазма не были окрашены или имели низкую интенсивность окрашивания. В части нейронов выявили низкую интенсивность окрашивания начальных отделов дендритов и аксонов. Ядра и цитоплазма нейронов небольших размеров были окрашены с различной интенсивностью.

Шестой слой полиморфных клеток характеризовался неодинаковым окрашиванием ядер и цитоплазмы нейронов. Отмечали много ядер нейронов с периферической локализацией NeuN. В результате иммуногистохимической реакции формировалось кольцевидное окрашивание по периферии ядер. Выявили много слабо окрашенных или не окрашенных ядер нейронов на границе с белым веществом головного мозга. Отмечали умеренное или менее интенсивное окрашивание начальных отделов аксонов и дендритов нейронов.

Таким образом, на основании особенностей окрашивания NeuN в нейронах коры головного мозга, выделили следующие фенотипы (рис. 1):



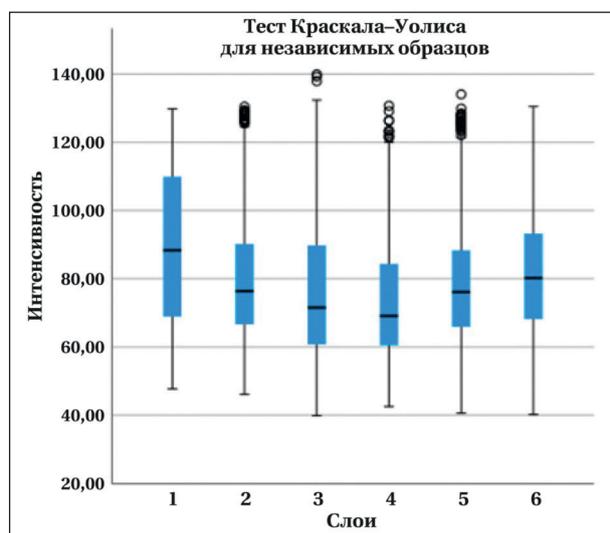
**Рис. 1.** Локализация NeuN в нейронах коры головного мозга крысы.

**Примечание.** Иммуногистохимическое (ИГХ) окрашивание. Ув. об.  $\times 20$ . *a-c* — различная интенсивность окрашивания препаратов от слабой до выраженной. Зеленые стрелки — нейроны с положительной ИГХ-реакцией в ядрах и цитоплазме; желтые стрелки — нейроны с положительной ИГХ-реакцией в ядре; черные стрелки — нейроны с положительной ИГХ-реакцией, но без видимых очертаний ядра; голубые стрелки — неокрашенные нейроны; *d* — цветные линии — границы между слоями коры головного мозга; римские цифры — соответствующие слои.

**Таблица.** Показатели средней интенсивности окрашивания NeuN положительных клеток в разных слоях коры головного мозга крыс, *Me (Q1-Q3)*.

Сравниваемые слои	Средняя интенсивность окрашивания	<i>p</i>
4-3	69 (60-84) 71 (60-89)	0,033*
4-5	69 (60-84) 76 (65-88)	<0,001*
4-2	69 (60-84) 76 (66-90)	<0,000*
4-6	69 (60-84) 68 (80-93)	<0,000*
4-1	69 (60-84) 88 (68-110)	<0,000*
3-5	71 (60-89) 76 (65-88)	<0,000*
3-2	71 (60-89) 76 (66-90)	<0,000*
3-6	71 (60-89) 68 (80-93)	<0,000*
3-1	71 (60-89) 88 (68-110)	<0,000*
5-2	76 (65-88) 76 (66-90)	1,000
5-6	76 (65-88) 68 (80-93)	<0,000*
5-1	76 (65-88) 88 (68-110)	<0,000*
2-6	76 (66-90) 68 (80-93)	0,015*
2-1	76 (66-90) 88 (68-110)	<0,001*
6-1	68 (80-93) 88 (68-110)	0,123

**Примечание.** \* — статистически значимые различия.



**Рис. 2.** Значения интенсивности окрашивания NeuN положительных нейронов в слоях коры головного мозга крысы.

1) нейроны с окрашенным ядром, но неокрашенной цитоплазмой;

2) нейроны с окрашенной цитоплазмой, но неокрашенным ядром;

3) нейроны с окрашенной цитоплазмой и ядром;

4) полностью окрашенные нейроны, в которых ядро не визуализировалось;

5) нейроны с окрашенными отростками (дендритами/аксонами).

Показатели интенсивности окрашивания NeuN- позитивных нейронов различались в зависимости от слоя коры (рис. 2, табл.). В результате сравнительного анализа слоев коры головного мозга по средним показателям интенсивности окрашивания NeuN выявили различия, представленные в таблице.

### Обсуждение

Описанные выше фенотипы нейронов коры головного мозга на основании локализации ИГХ-реакции с антителами к NeuN разрозненно упоминаются в исследованиях. В частности, были предприняты попытки и получены некоторые результаты, объясняющие вариативность окрашивания NeuN.

Самым распространенным фенотипом, согласно данным выполненного исследования, являются нейроны с окрашенными ядром и цитоплазмой. Известно, что ядерный белок мозга NeuN связан с ДНК, а по данным Y. S. Lin и соавт. [12] ИГХ-реакция с белком NeuN преимущественно обнаруживается в ядрах клеток и в меньшей степени — в области перинуклеарной цитоплазмы. Вероятно, что ИГХ-окрашивание ядра и цитоплазмы обусловлено субклеточной локализацией различных подтипов NeuN/Rbfox3. Подтип 46 кДа в основном распределен в ядре, тогда как подтип 48 кДа в основном локализован в цитоплазме [13]. В некоторых нейронах, таких как зернистые клетки мозжечка, отсутствует ядерное окрашивание в афферентных вегетативных нейронах, в то время как цитоплазма демонстрирует положительную ИГХ-реакцию [14].

Различная интенсивность окрашивания и наличие NeuN-негативных нейронов не может свидетельствовать только о повреждении нейронов, а скорее маркирует различную функциональную активность нейрона. Возможно, что интенсивность окрашивания NeuN ядра зависит от состояния хроматина. Обнаружено, что ядра клеток мозга мышей, которые экспрессировали высокие уровни NeuN/FOX3, имели деконденсированный хроматин по сравнению с ядрами со следовым окрашиванием и неокрашенными [15]. Подтверждением того, что NeuN-негативные нейроны присутствуют в головном мозге и не связаны с пато-

логическими факторами являются результаты исследования F. A. Azevedo и соавт. [16], продемонстрировавшие, что мозг взрослого мужчины содержит  $86,1 \pm 8,1$  миллиарда NeuN-положительных клеток («нейронов») и  $84,6 \pm 9,8$  миллиарда NeuN-отрицательных клеток.

M. L. Hernandez и соавт. [17] были получены данные, свидетельствующие о том, что существует постоянная субпопуляция NeuN-негативных нейронов в латеральном неокортексе и что эти нейроны потенциально более уязвимы для позднего повреждения клеточной мембраны. Большая вариативность окрашивания NeuN при исключении воздействия патологических факторов была отмечена в исследовании нейронов черной субстанции интактных лабораторных животных (крыс): помимо NeuN позитивных нейронов выявлены неокрашенные и со следовым окрашиванием нейроны, а также отмечена различная субклеточная компартиментализация NeuN. Авторами сделан вывод о том, что морфометрическая оценка экспрессии NeuN не может быть применена в качестве нейронального маркера в черной субстанции [18].

Исследование I. Unal-Cevik и соавт. [19], в котором сопоставили результаты ИГХ-исследования и вестерн-блот-исследования NeuN в мозге мышей через 6 ч после церебральной ишемии, показало, что в образцах головного мозга, в которых не наблюдалось ИГХ-реакции, уровни белка не были снижены. Следовательно, интенсивность иммуногистохимической реакции при выявлении NeuN снижается в результате метаболических нарушений, а не повреждения или уменьшения количества нейронов.

Данные некоторых исследований предполагают зависимость количества NeuN-позитивных нейронов от возраста и пола [20–22]. Так, A. Sugiura и соавт. [22] показали, что количество нейронов гипоталамуса, содержащих NeuN, уменьшалось со старением. Однако, в нашем исследовании коры головного мозга пациентов, умерших от COVID-19, не было выявлено влияние пола и возраста на окрашивание NeuN [11].

L. Luijckink и соавт. [23] обнаружили, что ИГХ-реакция была слабее при окрашивании парафиновых срезов образцов мозга человека, чем при окрашивании препаратов мозга экспериментальных животных. Авторы связывают снижение окрашивания с влиянием фиксации и техники гистологической подготовки препаратов. Тем не менее, другие исследования на экспериментальном материале показывают высокую вариативность окрашивания нейронов независимо от фиксации материала [18].

Экспрессия NeuN изучалась при заболеваниях и травмах. L. T. McPhail и соавт. [24] было обнаружено, что резекция перифериче-

ского нерва у крысы и мыши приводит к почти полной потере NeuN в лицевых мотонейронах через 3 дня после травмы и не восстанавливается до 28 дней, несмотря на выживание нейронов. Окрашивание NeuN было значительно снижено или утрачено при перинатальной внезапной смерти плода. Однако нейроны со сниженной маркировкой NeuN не показали признаков апоптоза. Также была обнаружена значительная связь между истощением NeuN в нейронах головного мозга плода и курением матери [25].

Исследование М. В. Anderson и соавт. [26], выявившее увеличение экспрессии NeuN в ядрах и цитоплазме нейронов ганглиев дорсальных корешков на экспериментальной модели адьювант-индуцированного артрита, предполагает потенциальную роль NeuN в активации ноцицептивных нейронов и реализации болевых ощущений.

### Литература

- Mullen R. J., Buck C. R., Smith A. M. NeuN, a neuronal specific nuclear protein in vertebrates. *Development*. 1992; 116 (1): 201–211. DOI: 10.1242/dev.116.1.201. PMID: 1483388.
- Kim K. K., Adelstein R. S., Kawamoto S. Identification of neuronal nuclei (NeuN) as Fox-3, a new member of the Fox-1 gene family of splicing factors. *J Biol Chem*. 2009; 284 (45): 31052–31061. DOI: 10.1074/jbc.M109.052969 PMID: 19713214.
- Alekseeva O. S., Gusel'nikova V. V., Beznin G. V., Korzhevskiy D. E. [Prospects for the application of neuron nuclear protein as a marker of the functional state of nerve cells in vertebrates. *J Evol Biochem. Phys.* 2015; 51: 357–369. DOI: 10.1134/S0022093015050014.
- Shen C. C., Yang Y. C., Chiao M. T., Cheng W. Y., Tsuei Y. S., Ko J. L. Characterization of endogenous neural progenitor cells after experimental ischemic stroke. *Curr Neurovasc Res*. 2010; 7 (1): 6–14. DOI: 10.2174/156720210790820208.
- Davoli M. A., Fourtounis J., Tam J., Xanthoudakis S., Nicholson D., Robertson G. S., Ng G. Y., Xu D. Immunohistochemical and biochemical assessment of caspase-3 activation and DNA fragmentation following transient focal ischemia in the rat. *Neuroscience*. 2002; 115 (1): 125–136. DOI: 10.1016/S0306-4522(02)00376-7. PMID: 12401327.
- Sugawara T., Lewén A., Noshita N., Gasche Y., Chan P. H. Effects of global ischemia duration on neuronal, astroglial, oligodendroglial, and microglial reactions in the vulnerable hippocampal CA1 subregion in rats. *J Neurotrauma*. 2002; 19: 85–98. DOI: 10.1089/089771502753460268. PMID: 11852981.
- Alekseeva O. S., Gusel'nikova V. V., Beznin G. V., Korzhevskii D. E. [Prospects of the nuclear protein NeuN application as an index of functional state of the vertebral nerve cells]. *Zh Evol Biokhim Fiziol*. 2015; 51 (5): 313–323. (in Russ.). PMID: 26856070.
- Duan W., Zhang Y. P., Hou Z., Huang C., Zhu H., Zhang C. Q., Yin Q. Novel insights into NeuN: from neuronal marker to splicing regulator. *Mol Neurobiol*. 2016; 53: 1637–1647. DOI: 10.1007/s12035-015-9122-5. PMID: 25680637.
- Kim K. K., Adelstein R. S., Kawamoto S. Identification of neuronal nuclei (NeuN) as Fox-3, a new member of the Fox-1 gene family of splicing factors. *J Biol Chem*. 2009; 284: 31052–31061. DOI: 10.1074/jbc.M109.052969. PMID: 19713214.
- Unal-Cevik I., Kiliç M., Gürsoy-Ozdemir Y., Gurer G., Dalkara T. Loss of NeuN immunoreactivity after cerebral ischemia does not indicate neuronal cell loss: A cautionary note. *Brain Res*. 2004; 1015: 169–174. DOI: 10.1016/j.brainres.2004.04.032. PMID: 15223381.
- Babkina A. S., Yadgarov M. Y., Lyubomudrov M. A., Ostrova I. V., Volkov A. V., Kuzovlev A. N., Grechko A. V., et al. Morphologic findings in the cerebral cortex in COVID-19: association of microglial changes with clinical and demographic variables. *Biomedicines*. 2023; 11 (5): 1407. DOI: 10.3390/biomedicines11051407. PMID: 37239078.
- Lin Y. S., Kuo K. T., Chen S. K., Huang H. S. RbFOX3/NeuN is dispensable for visual function. *PLoS One*. 2018; 13 (2): e0192355. DOI: 10.1371/journal.pone.0192355. PMID: 29401485.
- Maxeiner S., Glassmann A., Kao H. T., Schilling K. The molecular basis of the specificity and cross-reactivity of the NeuN epitope of the neuron-specific splicing regulator, Rbfox3. *Histochem Cell Biol*. 2014; 141: 43–55. DOI: 10.1007/s00418-013-1159-9. PMID: 24150744.
- Van Nassauw L., Wu M., De Jonge F., Adriaensen D., Timmermans J. P. Cytoplasmic, but not nuclear, expression of the neuronal nuclei (NeuN) antibody is an exclusive feature of Dogiel type II neurons in the guinea-pig gastrointestinal tract. *Histochem. Cell Biol*. 2005; 124: 369–377. DOI: 10.1007/s00418-005-0019-7. PMID: 16049694.
- Yu P., McKinney E. C., Kandasamy M. M., Albert A. L., Meagher R. B. Characterization of brain cell nuclei with decondensed chromatin. *Dev Neurobiol*. 2015; 75 (7): 738–756. DOI: 10.1002/dneu.22245. PMID: 25369517.
- Azevedo F. A., Carvalho L. R., Grinberg L. T., Farfel J. M., Ferretti R. E., Leite R. E., Jacob Filho W., et al. Equal numbers of neuronal and nonneuronal cells make the human brain an isometrically scaled-up primate brain. *J Comp Neurol*. 2009; 513 (5): 532–541. DOI: 10.1002/cne.21974. PMID: 19226510.
- Hernandez M. L., Chatlos T., Gorse K. M., Lafrenaye A. D. Neuronal membrane disruption occurs late following diffuse brain trauma in rats and involves a subpopulation of NeuN negative cortical neurons. *Front Neurol*. 2019; 10: 1238. DOI: 10.3389/fneur.2019.01238. PMID: 31824411.

18. Cannon J. R., Greenamyre J. T. NeuN is not a reliable marker of dopamine neurons in rat substantia nigra. *Neurosci Lett.* 2009; 464 (1): 14–17.  
DOI: 10.1016/j.neulet.2009.08.023. PMID: 19682546.
19. Unal-Cevik I., Kilinç M., Gürsoy-Ozdemir Y., Gurer G., Dalkara T. Loss of NeuN immunoreactivity after cerebral ischemia does not indicate neuronal cell loss: a cautionary note. *Brain Res.* 2004; 1015 (1–2): 169–174.  
DOI: 10.1016/j.brainres.2004.04.032. PMID: 15223381.
20. Yagi S., Splinter J. E. J., Tai D., Wong S., Wen Y., Galea L. A. M. Sex differences in maturation and attrition of adult neurogenesis in the hippocampus. *eNeuro.* 2020; 7 (4): ENEURO.0468-19.2020.  
DOI: 10.1523/ENEURO.0468-19.2020. PMID: 32586842.
21. Demarest T. G., Waite E. L., Kristian T., Puche A. C., Waddell J., McKenna M. C., Fiskum G. Sex-dependent mitophagy and neuronal death following rat neonatal hypoxia-ischemia. *Neuroscience.* 2016; 335: 103–113.  
DOI: 10.1016/j.neuroscience.2016.08.026. PMID: 27555552.
22. Sugiura A., Shimizu T., Kameyama T., Maruo T., Kedashiro S., Miyata M., Mizutani K., et al. Identification of Sox2 and NeuN double-positive cells in the mouse hypothalamic arcuate nucleus and their reduction in number with aging. *Front Aging Neurosci.* 2021; 12: 609911.  
DOI: 10.3389/fnagi.2020.609911. PMID: 33776740.
23. Luijckx L., Waters K. A., Machaalani R. Immunostaining for NeuN does not show all mature and healthy neurons in the human and pig brain: focus on the hippocampus. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2021; 29: e46–e56.  
DOI: 10.1097/PAI.0000000000000925. PMID: 33710124.
24. McPhail L. T., McBride C. B., McGraw J., Steeves J. D., Tetzlaff W. Axotomy abolishes NeuN expression in facial but not rubrospinal neurons. *Exp Neurol.* 2004; 185 (1): 182–190.  
DOI: 10.1016/j.expneurol.2003.10.001. PMID: 14697329.
25. Lavezzi A. M., Corna M. F., Matturri L. Neuronal nuclear antigen (NeuN): a useful marker of neuronal immaturity in sudden unexplained perinatal death. *J Neurol Sci.* 2013; 329 (1–2): 45–50.  
DOI: 10.1016/j.jns.2013.03.012. PMID: 23570982.
26. Anderson M. B., Das S., Miller K. E. Subcellular localization of neuronal nuclei (NeuN) antigen in size and calcitonin gene-related peptide (CGRP) populations of dorsal root ganglion (DRG) neurons during acute peripheral inflammation. *Neurosci Lett.* 2021; 24; 760: 135974.  
DOI: 10.1016/j.neulet.2021.135974. PMID: 34146639.

Поступила 18.09.2024  
Принята в печать 17.12.2024