

На правах рукописи

Горбунова Анна Владимировна

**РЕОРГАНИЗАЦИЯ ГИППОКАМПА БЕЛЫХ КРЫС ПОСЛЕ
20-МИНУТНОЙ ОККЛЮЗИИ ОБЩИХ СОННЫХ АРТЕРИЙ**

1.5.22. Клеточная биология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2021

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Акулинин Виктор Александрович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор

Трунов Александр Николаевич

(Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С. Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Новосибирский филиал), руководитель научного отдела)

доктор биологических наук, профессор

Бгатова Наталия Петровна

(Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», заведующий лабораторией ультраструктурных исследований, г. Новосибирск)

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «____» _____ 2022 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета 21.2.046.05, созданного на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, ул. Залесского, д. 4; тел. 8 (383) 222-68-35); <http://ngmu.ru/dissertation/511>)

Автореферат разослан «____» _____ 2022 года.

Ученый секретарь

диссертационного совета

С. В. Залавина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Гиппокамп является структурой, играющей ключевую роль в осуществлении важнейших функций головного мозга, а именно: когнитивных, памяти, эмоций, ориентации в пространстве, – у млекопитающих и человека (Арушанян Э. Б., Бейер Э. В., 2007). В связи с этим данный отдел головного мозга интенсивно изучается (Schultz C., Engelhardt M., 2014; Xiong B. et al., 2017). Механизмы ишемического повреждения головного мозга в целом и гиппокампа в частности хорошо изучены и представлены в многочисленных современных обзорах (Шляхто Е. В. и др., 2012; Schweizer S. et al., 2013; Kawabori M., Yenari M. A., 2015; Quillinan N. et al., 2016; Thornton C. et al., 2017). Большое внимание уделяется изучению глиоцитоархитектоники, взаимоотношениям нейронов и глии гиппокампа (Rose C. R. et al., 2018).

Несмотря на то, что основные типы морфологических изменений нейронов, глиальных клеток, синапсов при ишемии и в постишемическом периоде хорошо описаны в литературе, недостаточно освещены вопросы повреждений гиппокампа при острых дисциркуляторных сосудистых расстройствах головного мозга, не сопровождающихся тотальным или очаговым некрозом. Именно такого рода патология головного мозга приводит к появлению различных дегенеративных заболеваний и инвалидизации пациентов после легких травм, неполной ишемии мозга (Верецагин Н. В. и др., 2002; Гусев Е. И. и др., 2013; Сергеев А. В. и др., 2015; Grau A. J. et al., 2001).

Особое значение уделяется изучению нейропластичности гиппокампа и ее практической значимости при повышении уровня функционирования систем организма, также при стрессе и патологических состояниях (McEwen B. S. et al., 2016; Navidhamidi M. et al., 2017; Cooper C. et al., 2018). Современные нейробиологические методы позволяют более детально исследовать свойства нейронов, показать явную гетерогенность внутри пирамидных типов клеток. Становится очевидным, что внутриклеточная гетерогенность является общей и решающей особенностью мозга млекопитающих – она необходима для функционирования, компенсаторной и репаративной реорганизации поврежденного мозга (Cembrowski M. S., Spruston N., 2019). Изучать нейроглиальные взаимоотношения при диффузно-очаговом повреждении гиппокампа можно на модели 20-минутной окклюзии общих сонных артерий (ООСА).

Работы по патологии нейронов и глии подобного рода отсутствуют, но они необходимы для определения структурной базы механизмов, лежащих в основе нарушения и восстановления деятельности гиппокампа в постишемическом периоде. Слабо изученными остаются закономерности пространственной реорганизации цитоархитектоники, а также отростков астроцитов в сравнительном аспекте – в полях CA₁, CA₃, CA₄ и зубчатой извилины.

Степень разработанности темы диссертации. Анализ литературных

источников указывает на очевидную недостаточность данных для понимания фундаментальных механизмов нейроглиальных взаимоотношений при диффузно-очаговом повреждении гиппокампа после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий (ООСА). Таких работ мало, слабо изученными являются закономерности пространственной реорганизации цитоархитектоники, а также отростков астроцитов в сравнительном аспекте – в полях СА₁, СА₃, СА₄ и зубчатой извилины. Данное диссертационное исследование вносит вклад в изучение разной степени ишемии головного мозга, ее структурной нейропластичности, служит для уточнения прогноза и выработки дополнительных критериев алгоритма оценки постишемического состояния организма.

Предметом планируемого исследования был поиск новых научных знаний о закономерностях реорганизации цитоархитектоники, межнейронных и нейроглиальных взаимоотношений в гиппокампе и зубчатой извилины головного мозга белых крыс при диффузно-очаговых ишемических повреждениях, вызванных 20-минутной ООСА. Объектом исследования были нейроны, межнейронные синапсы и глиальные клетки.

Цель исследования. Выявление структурно-функциональных изменений нервной ткани гиппокампальной формации белых крыс после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий.

Задачи исследования

1. Изучить особенности структурно-функциональной организации СА₁, СА₃, СА₄ и зубчатой извилины головного мозга белых крыс в норме.
2. С помощью гистологических, иммуногистохимических и морфометрических методов оценить характер и структурные проявления постишемических деструктивных изменений нейронов, глиальных клеток и межнейронных синапсов СА₁, СА₃, СА₄ и зубчатой извилины.
3. Выявить вероятные механизмы компенсаторно-восстановительной реорганизации нервной ткани и особенности их проявления в разных отделах гиппокампа в постишемическом периоде. Дать характеристику динамики изменения нейроцито-, глиоцито-, синаптоархитектоники, ядерно-цитоплазматическому и нейроглиальному отношениям.
4. С помощью фрактального анализа исследовать закономерности пространственной реорганизации отростков нейронов и глиальных клеток в полях СА₁, СА₃, СА₄ и зубчатой извилины после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий.
5. Провести сопоставление процессов восстановления межнейронной коммуникации с проявлениями отека-набухания, содержанием темных нейронов, состоянием их цитоскелета, проявлениями реактивного астроглиоза, содержанием нейронов с двумя и более ядрышками в постишемическом периоде.

Научная новизна. Представлены особенности структурно-функциональной реорганизации нейронов, астроцитов, олигодендроглиоцитов и микроглиоцитов как единой интегративно-пусковой и защитно-восстановительной санирующей системы гиппокальной формации. Показана перманентная, продолжительная гетероморфная и гетерохронная перестройка нейронов и астроцитов, их белок-синтетического аппарата, межклеточной коммуникации в полях CA₁, CA₃, CA₄ и зубчатой извилине в ответ на неполную острую ишемию головного мозга. Впервые установлено, что функционирование гиппокампа после 20 мин ООСА происходит на фоне необратимого повреждения в поле CA₁ – 31 %, в CA₃ – 20 %, а в CA₄ – 5,3 % пирамидных нейронов. В зубчатой извилине (ЗИ) сохраняется контрольная плотность клеток-зерен. Все это свидетельствует о неравномерном повреждении входа (ЗИ) и выхода (CA₁) гиппокампа. Впервые показано, что компенсаторно-восстановительная реорганизация гиппокампа после ООСА происходит за счет активации реактивного нейроглиоза и нейропластичности сохранившихся нейронов. Нейроглиальный индекс увеличивается в два раза, при этом усложняется пространственная организация отростков астроцитов, особенно мелких периферических. Доля нейронов с двумя и более ядрышками увеличивается в 2,1–3,0 раза. На этом фоне одновременно реализуется пластичность Геббеса и гомеостатическая пластичность (синаптогенез и избирательная элиминация синапсов). Все это в совокупности обеспечивает адаптацию гиппокампа к частичной потере нейронов.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты данной работы дополняют информацию о морфологии головного мозга экспериментальных животных в норме и после острой глобальной ишемии. В исследовании получены важные данные для понимания процессов повреждения, компенсации и восстановления в гиппокампе и зубчатой извилине белых крыс в разные сроки после 20 мин ООСА. Количественные данные позволили оценить особенности нейроглиальных отношений и роли реактивного астроглиоза в структурно-функциональном восстановлении гиппокампальной формации. Полученные результаты будут полезны в экспериментальной гистологии, фармакологии, нейрофизиологии и неврологии, могут быть использованы в учебном процессе на кафедрах гистологии при изучении разделов «нервная система, сосудистая система, нервная ткань», а также на кафедрах физиологии и неврологии медицинских вузов.

Методология и методы исследования. Методологической основой исследования является сравнительное изучение структурно-функциональной организации гиппокампа и зубчатой извилины на макро- и микроскопическом уровнях в норме и после 20 мин ООСА. В работе использован комплекс гистологических, иммуногистохимических и морфометрических методов исследования нервной ткани

экспериментальных животных. Это позволило дать характеристику процессов повреждения и компенсаторно-восстановительной реорганизации полей СА₁, СА₃, СА₄ и зубчатой извилины после ишемического воздействия.

Степень достоверности. Определяется достаточным объемом и корректным формированием изучаемых выборок, высокой информативностью современных методов исследования, адекватностью математических методов обработки данных поставленным задачам. Сформулированные выводы аргументированы и логически вытекают из результатов исследования.

Основные положения, выносимые на защиту

1. После 20-минутной окклюзии общих сонных артерий в гиппокампе увеличивается степень гидратации нервной ткани. На фоне умеренных проявлений отека-набухания изменяются тинкториальные свойства нейронов, разрушаются перикарионы, дендриты и синаптические терминалы, усиливается фагоцитоз. Преобладают диффузные мелкоочаговые изменения, которые имеют гетерохронный и гетероморфный характер.

2. После ишемии в изученных отделах гиппокампа в ответ на деструкцию части нейронов в разной степени реализуются механизмы компенсаторно-восстановительной реорганизации нервной ткани. Ключевыми проявлениями этой реорганизации являются реактивный астроглиоз и перестройка межнейронных связей. Причем реактивный астроглиоз проявляется усложнением реорганизации глиоархитектоники в основном за счет разветвления мелких отростков астроцитов. В разных отделах гиппокампа эти изменения астроцитов отличаются по степени и времени их проявления.

3. В процессе восстановления межнейронных коммуникаций в постишемическом периоде закономерно уменьшаются проявления отека-набухания, снижается доля темных нейронов, восстанавливается их цитоскелет, усиливаются проявления реактивного астроглиоза, увеличивается содержание нейронов с двумя и более ядрышками, происходит образование избыточного количества синаптических терминалов, активация образования *p38* и каспазы-3 в терминалах.

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на 5-м Национальном конгрессе с международным участием «Здоровые дети – будущее страны» (Санкт-Петербург, 2021), на 15-м конгрессе Международной ассоциации морфологов (Ханты-Мансийск, 2020), на 8-м съезде Научного медицинского общества анатомов, гистологов и эмбриологов (Воронеж, 2019), на 20-й Всероссийской конференции с международным участием «Жизнеобеспечение при критических состояниях» (Москва, 2018), на Society for Neuroscience 49 Annual meeting (Chicago, USA, 2019), на Society for Neuroscience 48 Annual Meeting (San Diego, USA, 2018).

Диссертационная работа апробирована на расширенном межкафедральном заседании кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, кафедры биологии, кафедры анатомии человека, кафедры патологической анатомии, кафедры топографической анатомии и оперативной хирургии, кафедры общей хирургии, кафедры судебной медицины, кафедры правоведения федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Омск, 2021).

Диссертационная работа выполнена в соответствии с утвержденным направлением научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России по теме: «Реорганизация гиппокампа белых крыс после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий», номер государственной регистрации АААА-А19-119012190022-4. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Фонда Содействия Инновациям по программе «УМНИК». «Разработка программного продукта для морфометрического анализа нервной ткани при диагностике заболеваний головного мозга». Договор с А. В. Горбуновой № 12392ГУ/2017 от 12.02.2018.

Внедрение результатов исследования. Основные научные данные, теоретические положения, разработанные на их основе, практические рекомендации настоящего исследования внедрены в процесс преподавания на кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии, на кафедре биологии, на кафедре патологической анатомии, на кафедре патологической физиологии, на кафедре анатомии человека, на кафедре судебной медицины с курсом правоведения Омского государственного медицинского университета при изучении вопросов морфологии и функционирования нервной ткани, органов центральной нервной системы млекопитающих в условиях нормы и при диффузно-очаговых ишемических повреждениях.

Публикации. Основные научные результаты диссертации опубликованы в 22 научных работах, в том числе 1 свидетельство о государственной регистрации программы для электронных вычислительных машин, 1 патент на изобретение и 15 статей в научных журналах, включенных в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 5 статей в журналах, входящих в международную реферативную базу данных и систем цитирования (Scopus).

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 163 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и списка иллюстративного материала.

Список литературы представлен 257 источниками, из которых 196 в зарубежных изданиях. Полученные результаты иллюстрированы с помощью 12 таблиц и 37 рисунков.

Личный вклад автора. Эксперимент, забор материала, приготовление препаратов, микрофотографирование, морфометрический анализ изображений и статистическая обработка полученных данных производились автором самостоятельно.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на базе Омского государственного медицинского университета, одобрена этическим комитетом университета (протокол №112 от 26.09.2019). В качестве экспериментальных животных использовали белых крыс линии Wistar массой 180–210 гр. Исследования проводили в соответствии с рекомендациями Международного комитета по работе с лабораторными животными, принятыми ВОЗ, директивой Европейского Парламента № 2010/63/EU от 22.09.2010 «О защите животных, используемых для научных целей».

Экспериментальная модель. Острую 20 мин ООСА моделировали путем окклюзии общих сонных артерий (2-сосудистая модель неполной глобальной ишемии без гипотонии). Состояние животных в послеоперационном периоде оценивалось в баллах (Корпачев В. Г. и др., 1982). Выбор этой модели был обусловлен тем, что, в отличие от фокальной полной ишемии, данная модель не приводила к крупноочаговым некротическим изменениям нервной ткани (Степанов А. С. и др., 2017). Общая анестезия проводилась наркозом (Zoletil 100, 10 мг/кг). Пережимались артерии на 20 минут хирургическими зажимами. Эксперимент проведен на самцах белых крыс линии Wistar ($n = 54$). Забор материала проводили через 6 часов, через 1, 3, 7, 14, 21 и 30 суток ($n = 6$ в каждой группе). Контролем служили ложнооперированные крысы ($n = 9$). Летальность в эксперименте составила 4,86 %.

Гистологические методы. Животных выводили из эксперимента под наркозом путем обескровливания (рассечение левого желудочка сердца). Мозг фиксировали перфузией 4 % раствора параформа на 0,1 М фосфатном буфере (pH 7,2–7,4) через аорту под давлением 90–100 мм рт. ст. в течение 15 мин. Материал хранился в холодильнике при температуре +4 °C.

Полученный материал заключался в парафин, затем изготавливали серийные фронтальные срезы толщиной 2-4 мкм на уровнях 2,2 – (-)4,8 (от Брегмы) (Rachinos G., Watson C., 2005), окрашивали гематоксилин-эозином на автоматическом стейнере Sakura, тионином по Нисслю. С каждого среза фотографировали 10–15 полей зрения гиппокампа CA₁, CA₃, CA₄ и зубчатой извилины головного мозга белых крыс. При морфометрическом анализе брали 200 (на срок) случайно выбранных полей зрения.

С помощью светового микроскопа Leica DM 1000 делались цифровые микрофотографии (tif, 2048 на 1536 пикселей) на увеличении $\times 4$, $\times 10$, $\times 40$ и $\times 100$. Оценивали общую численную плотность нейронов и глиоцитов гиппокампа, их площадь, ядерно-цитоплазматическое, нейроглиальное соотношение, содержание реактивно (гипохромных и гиперхромных несморщенных), дистрофически (отек-набухание, вакуолизация), некробиотически изменённых (клетки-тени, пикноморфные) и нормохромных нейронов (Weibel E. R., 1979; Mayhew T. M., 1991; Mandarim-de-lacerda C. A., 2003).

Иммуногистохимические методы. Используя ранее изготовленные парафиновые блоки, на микротоме с системой водного транспорта были сделаны серийные фронтальные срезы гиппокампа толщиной 4 мкм. Для иммуногистохимического исследования использовали к NSE – нейрон специфической енолазе (PAA537Ra01) – кроличьи поликлональные антитела, разведение 1 : 100; HSP-70 – белку теплового шока (PAB062Ra01) – кроличьи поликлональные антитела к крысиному антигену; разведение 5–20 мкг/мл (Cloud-Clone Corp.); MAP-2 – белок, ассоциированный с микротрубочками 2 (ab32454) – кроличьи поликлональные антитела, разведение 1 мкг/мл (Abcam, США); GFAP – кислому фибриллярному белку астроцитов (PA0026) – мышинные моноклональные антитела, клон GA5, готовые к применению (Bond Ready-to-Use Primary Antibody; Leica Biosystems Newcastle Ltd, Великобритания); p38 – синаптофизин (PA0299) – мышинные моноклональные антитела, клон 27G12, готовые к применению (Bond Ready-to-Use Primary Antibody; Leica Biosystems Newcastle Ltd, Великобритания); каспаза-3 – (Mob 309) – мышинные моноклональные антитела, клон 3CSP03, разведение 1 : 25 (Diagnostic BioSystems Inc., США); AIF-1 – аллотрансплантат воспалительного фактора (PAC288Ra01) – кроличьи поликлональные антитела, разведение 5–20 мкг/мл (Cloud-Clone Corp.); Bcl-2 – ингибитор каспаз (bcl-2/100/D5) – мышинные поликлональные антитела, готовые к применению (Bond Ready-to-Use Primary Antibody; Leica Biosystems Newcastle Ltd, Великобритания); Ki-67 – маркер пролиферативной активности (MM1) – мышинные поликлональные антитела, готовые к применению (Bond Ready-to-Use Primary Antibody; Leica Biosystems Newcastle Ltd, Великобритания); p53 – проапоптотический белок (DO-7) – мышинные поликлональные антитела, готовые к применению (Bond Ready-to-Use Primary Antibody; Leica Biosystems Newcastle Ltd, Великобритания). Иммуногистохимическую реакцию проводили на срезах, помещенных на полилизинные предметные стекла. 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 реагентов на основе полимера Novolink™ (DAB) Polymer Detection System (Leica Biosystems Newcastle Ltd, Великобритания).

Морфометрический анализ. Для морфометрического исследования применяли программу ImageJ 1.46 (Мыщик А. В. и др., 2012; Ferreira T. A., Rasband W., 2010). По литературным данным, в нейроморфологии для получения достоверных результатов достаточно 6-8 животных в группе, 5-6 серийных срезов и 5-10 случайных полей зрения объекта (отдела головного мозга) на каждом срезе (Bolon B. et al., 2005; Ooigawa H. et al., 2006). В настоящем исследовании мы сравнивали по 25 рандомизированных полей зрения на срез.

Фрактальный анализ. Фрактальный анализ контуров астроцитов на полученных черно-белых изображениях осуществляли с помощью плагина FracLac 2.5 (Box Counting Sampling Methods) по разработанным ранее подходам (Karperien A. et al., 2013). Маски и контуры GFAP-позитивных тел и отростков на бинарных изображениях представлены как срезы единой объемной сети в плоскости фрактального пространства. Поэтому эти клетки с геометрически сложной и нерегулярной организацией количественным образом можно охарактеризовать только путем определения фрактальной размерности. В результате получена информация о заполнении нервной ткани фрактальной структурой (в частности, ветвящимися отростками астроцитов) и мерой сложности пространственной организации астроцитов. Подобный подход ранее применялся для характеристики глиальных клеток головного мозга млекопитающих (Pirici D. et al., 2009). Фрактальный анализ можно использовать не только для отдельных астроцитов, но и более сложных рельефов, например, всего поля зрения, включающего тела, крупные (1-2 порядка) и мелкие (3-4 порядка) отростки. В этом случае измерения закономерно показали более высокие значения фрактальной размерности и позволили оценить лакуарность астроцитарной сети разных отделов гиппокампа.

Статистический анализ. Оценку характера распределения указанных величин проводили с помощью критерия Shapiro-Wilk (Statistica 8.0), проверку статистических гипотез – с помощью непараметрических методов. Первоначально использовали критерий для множественного сравнения (ANOVA Kraskel-Wallis). При получении статистически значимого результата проводили парное сравнение с помощью Mann – Whitney U-test для независимых выборок. Использовались также критерий χ^2 и Фишера. Материал представлен в процентах (95 % доверительный интервал – 95 % ДИ), как медиана (Q2) нижний (Q1) и верхний (Q3) квартили (StatSoft Statistica 8.0; MedCalc 11.6.1.0) (Боровиков В., 2003). В ходе проведения статистического анализа нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Через 1 и 3 сут после 20 мин ООСА в гиппокампе выявлялись пирамидные нейроны с признаками тинкториальных (усиление и уменьшение интенсивности окраски цитоплазмы и ядра – гиперхромные и гипохромные), гидропических (вакуолизация, отек-набухание), дегидратационных (темные клетки с обратимым сморщиванием) и некробиотических (клетки-тени, пикноморфные, гомогенизированные клетки) изменений, фагоцитоза и мелкие поля «выпадения» нейронов. При этом среди необратимо поврежденных преобладали нейроны с признаками коагуляционно-ишемического некроза – пикноморфные темные (красные) нейроны. Нейроглиальные взаимоотношения характеризовались увеличением количества единичных групп астроцитов и микроглиоцитов около патологически измененных нейронов.

Выявленные изменения гиппокампа имели мелкоочаговый характер. Дегенеративно измененные нейроны перемежались с типичными нормохромными нейронами. Встречались участки гиппокампа с преобладанием нормохромных нейронов и участки, заполненные преимущественно темными нейронами. Степень сморщивания также варьировалась.

Через 7, 14 и 30 сут после 20 мин ООСА в гиппокампе выявляли единичные нейроны с проявлениями кариоцитолитизиса, отека-набухания и вакуолизации перикарионов, но сохранялось большое количество пикноморфных нейронов. Максимальное содержание пикноморфных нейронов отмечалось в поле СА₄. Выявлялись очаги выпадения нейронов, а около ишемически измененных нейронов либо отдельно, либо в составе группы с астроцитами располагались микроглиоциты. Отмечалось увеличение количества сателлитарных олигодендроцитов.

Очаговое появление после 20 мин ООСА большого количества темных нейронов сопровождалось увеличением в ядрах неповрежденных нормохромных нейронов количества ядрышек. Вполне вероятно, что в течение 7 суток после острой ишемии в нейронах гиппокампа происходил сдвиг в хромосомном балансе ядер и повышалась активность имеющихся ядрышковых организаторов. В течение данного времени это обеспечивало повышение уровня адаптации нейронов после 20 мин ООСА. Через 14 суток после 20 мин ООСА, вероятно, за счет слияния ядрышек, происходило восстановление их количества до уровня контроля. Максимальная активация ядрышкового аппарата отмечалась в поле СА₃ гиппокампа.

Через 7 и 14 суток после 20 мин ООСА, в сравнении с острым периодом (1 и 3 сут), содержание нормохромных нейронов частично восстанавливалось. При этом общая численная плотность нейронов в течение 14 суток наблюдения (начиная с 3 суток) статистически значимо уменьшалась: после 20 мин ООСА на 16,3 %. То есть,

часть пирамидных нейронов CA_3 после 20 мин ООСА подвергалась необратимым изменениям или полностью разрушалась и элиминировалась путем фагоцитоза. Необходимо отметить, что значительно увеличивался разброс значений общей численной плотности нейронов в разных полях зрения. Это свидетельствовало о явных очаговых проявлениях полиморфизма изначально однотипных по структуре пирамидных нейронов поля CA_3 ; 20 мин ООСА вызывала дегенеративные патоморфологические изменения пирамидных нейронов, что приводило к статистически значимому уменьшению их общей численной плотности. Максимально страдала популяция нейронов поля CA_1 .

В ходе иммуногистохимического изучения постишемической компенсаторно-восстановительной реорганизации нервной ткани гиппокампа нами выявлены два основных структурных компартмента, для которых характерны максимальные изменения. Это тонкие периферические отростки астроцитов (*GFAP*) и зоны, обеспечивающие межнейронную коммуникацию – терминали (*p38*), дендриты (*MAP-2*). Эти компартменты локализуются в нейропиле, поэтому именно в нем происходят основные структурные изменения, связанные с приспособлением гиппокампа к новым условиям функционирования при перманентном уменьшении количества нейронов (Рисунок 1).

По данным иммуногистохимического исследования, после 20 мин ООСА в поле CA_3 уменьшалась плотность распределения *p38*-позитивных (синаптофизин) гигантских терминалей и появлялось большое количество пирамидных нейронов с признаками конденсации и фрагментации цитоскелета в перикарионе и дендритах при реакции на *MAP-2*. Деструкция цитоскелета в основном была характерна для нейронов с дегидратацией и сморщиванием, что, вероятно, свидетельствовало о сопровождающих эти изменения конформационных перестройках белков цитоскелета.

В остром периоде после 20 мин ООСА появлялись очаги с низкой и высокой плотностью частиц *p38*-позитивного материала. Низкая плотность соответствовала зонам CA_3 с высоким содержанием гиперхромных нейронов и выраженным проявлениям отека-набухания нервной ткани, а высокая плотность – зонам с преобладанием нормохромных нейронов.

Через 1 сут после 20 мин ООСА происходило смещение в сторону увеличения доли полей зрения с низкой площадью меток *p38*. Это свидетельствовало о разрушении части синаптических терминалей и содержащегося в них *p38*. Однако уже через 3 суток после 20 мин ООСА было отмечено компенсаторное увеличение общей численной плотности и площади меченых (*p38*) терминалей. Далее показатели численной плотности терминалей были стабильными. Относительная площадь *p38*-позитивных частиц уменьшалась только в зоне апикальных дендритов

(аксодендритические синапсы *stratum lucidum*) поля CA₃, а в зоне скопления тел пирамидных нейронов CA₃ (аксосоматические синапсы) этот показатель не менялся.

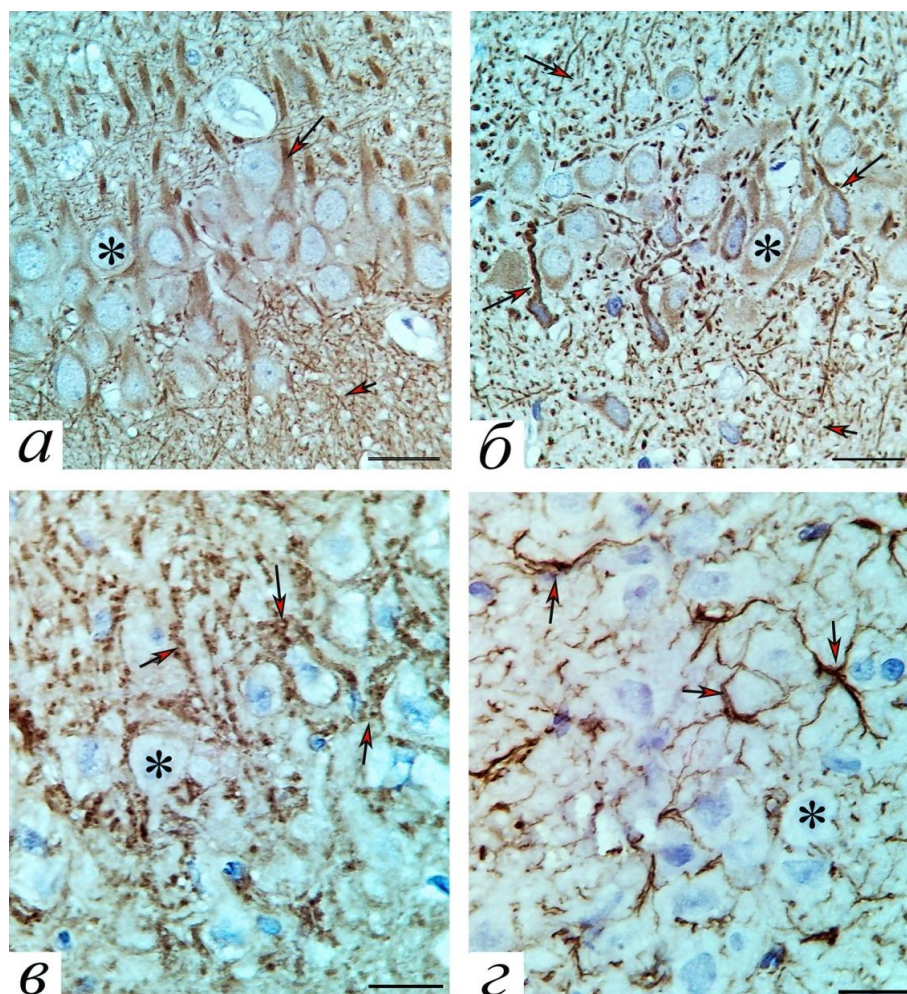


Рисунок 1 – Основные участники процесса реорганизации межклеточных взаимоотношений в гиппокампе после 20 мин ООСА: а – нейроны слоя CA₁ (МАР-2), б – нейроны слоя CA₃ (МАР-2), в – синаптические терминалы (р38), г – астроциты (GFAP). Иммуногистохимическое исследование. Объектив $\times 100$, шкала – 20 мкм.

В остром периоде (1 и 3 сут) после 20 мин ООСА в гиппокампе увеличивалась степень гидратации нервной ткани, изменялись тинкториальные свойства нейронов, разрушались дендриты (их цитоскелет) и синаптические терминалы. Изменения были мелкоочаговыми (мозаичными), имели гетерохронный и гетероморфный характер, преобладали через 1 и 3 сутки. Несомненно, что при наличии подобных реактивных и патологических изменений после 20 мин ООСА неизбежно блокировалась передача импульсов и нарушалась межнейронная коммуникация энторинальной коры, гиппокампа и зубчатой извилины.

После частичного разрушения терминалей активировались компенсаторно-восстановительные процессы за счет синаптической пластичности и постоянной реорганизации сохранившихся нейронных сетей. Одновременно реализовалась пластичность Геббеса и гомеостатическая пластичность – образование и гибель синапсов. Вероятно, что функциональное восстановление гиппокампа после 20 мин ООСА происходило быстро за счет реорганизации связей устойчивых к ишемии нейронов и сопровождалось образованием новых терминалей. При этом восстановление межнейронных отношений сохранившихся нейронов и их компенсаторная реорганизация происходили путем гипертрофии и образования избыточного количества синаптических терминалей с последующей их частичной элиминацией.

Причинно-следственные временные сопоставления позволили считать, что в процессе восстановления межнейронных коммуникаций уменьшались проявления отека-набухания, восстанавливался цитоскелет нейронов, усиливались проявления реактивного астроглиоза, увеличивалась доля нейронов с двумя и более ядрышками. Все это рассматривается как условия, обеспечивающие реализацию механизмов защиты, адаптации, возможности активации нервных клеток и перестройки нейронных сетей под конкретное функционирование нейронных сетей. Усиливалась дренажно-детоксикационная функция астроцитов, активизировалась синаптическая пластичность, обеспечивающая постоянную реорганизацию сохранившихся нейронных сетей.

Нами установлено, что при типировании *p38* локализация его меток соответствовала таковой для каспазы-3. При этом в телах неповрежденных пирамидных нейронов каспаза-3 не выявлялась, она локализовалась только в терминалях аксодендритических, аксошипиковых и аксосоматических синапсов. По своей локализации каспаза-3 в поле СА₃ соответствовала стратегическим зонам реализации механизмов синаптической пластичности. При этом большее ее количество было в терминалях аксошипиковых и аксодендритических синапсов. Это позволило предположить, что данный плейотропный фермент апоптоза может принимать участие в механизмах защиты, компенсации и восстановления межнейронных связей гиппокампа как в норме, так и после ишемического воздействия. При этом острая ишемия головного мозга, вероятно, стимулировала свойства каспазы-3, связанные не с конечной фазой апоптоза, а с механизмами нейропластичности. Вероятно, каспаза-3, как специфический протеолитический фермент, участвовала в remodelировании межнейронных синапсов, обеспечивая более высокую подвижность синаптических терминалей в пространстве нейропиля.

Для проверки этой гипотезы мы сравнивали площадь меток при иммуногистохимическом выявлении *p38* и каспазы-3 в терминалях. Изучение апоптоза сводилось к определению активности про- (*p53*), антиапоптозных (*bcl-2*) белков и каспазы-3 в перикарионе нейронов.

Существенно то, что через 1 сутки после 20 мин ООСА белки регуляции апоптоза (*p53*, *bcl-2*) выявлялись в единичных нейронах. Каспаза-3 имела высокую активность только в синаптических терминалях, а в перикарионах данный белок, как и в контроле, не отмечен. Мы полагаем, что при 20 мин ООСА не происходило выраженной гибели нейронов, поэтому элиминация нейронов путем апоптоза, как механизм удаления необратимо измененных нейронов, не был задействован. Единичные нейроны с признаками активации белков регуляции апоптоза без наличия активной каспазы-3 в цитоплазме сомы нейронов свидетельствовали только о принципиальной возможности реализации данного процесса. Активировались преимущественно защитные и компенсаторные механизмы, обеспечивающие не разрушение, а сохранение поврежденных нейронов. В результате большая часть дистрофически и дегенеративно измененных нейронов СА₃ восстанавливалась до полнофункциональных нормохромных нейронов.

Полученные данные свидетельствовали о существовании какой-то связи каспазы-3 и *p38* в процессе изменения межнейронных взаимоотношений на уровне поля СА₁ и, в меньшей степени, – СА₃ гиппокампа.

После 20 мин ООСА в гиппокампа были отмечены не только очаговые изменения плотности *p38*-, но и *MAP-2*-позитивного материала, свидетельствующие о выраженной конденсации цитоскелета, разрушении и дегидратации его белков. Подобные структурные изменения неизбежно приводили к нарушению функций цитоскелета части нейронов и, наряду с деструкцией *p38*, блокировали передачу импульсов по их отросткам. Найденные изменения цитоскелета в той или иной степени сохранялись на протяжении всего изученного временного периода, но в большей степени проявлялись через 1 и 3 сутки. Именно в это время после 20 мин ООСА отмечены максимальные проявления отека-набухания и наибольшее содержание дистрофически измененных темных нейронов. Далее (7 и 14 сут) происходило восстановление цитоскелета основной массы темных нейронов, а цитоскелет необратимо измененных сморщенных нейронов, вероятно, разрушался в течение длительного времени посредством фагоцитоза астроцитами и микроглиоцитами.

В совокупности найденные изменения необходимо рассматривать как основу для длительной перманентной компенсаторно-восстановительной реорганизации нейронных сетей гиппокампа после острой транзиторной ишемии головного мозга.

Полученные данные можно использовать при изучении феномена полиморфизма, селективного повреждения и восстановления нейронов гиппокампа после незначительного/умеренного диффузно-очагового повреждения нервной ткани. Любые, даже незначительные необратимые повреждения нейронов, неизбежно приводят к существенной реорганизации нейронных сетей гиппокампа. Функция погибших нейронов замещается перестройкой сохранившихся нейронов.

Для восстановления функций гиппокампа после 20 мин ООСА было необходимо: уменьшение проявлений отека-набухания, восстановление цитоскелета нейронов, активация астроцитов, микроглиоцитов и олигодендроцитов, увеличение доли нейронов с двумя и более ядрышками, а также, как следствие, гипертрофия и образование избыточного количества синаптических терминалей с последующей их частичной элиминацией. Все это целесообразно рассматривать как условия, обеспечивающие реализацию механизмов естественной защиты, адаптации, возможности активации нервных клеток и перестройки нейронных сетей под конкретное функционирование нейронных сетей. Поэтому любая дисфункция вышеназванных структур закономерно приведет к дисфункции гиппокампальной формации в целом. Выявлено статистически значимое увеличение нейро-глиального индекса (НГИ).

По данным иммуногистохимического изучения распределения *GFAP*, в остром периоде (1–3 сут) после 20 мин ООСА были выявлены структурные признаки отека-набухания и очаговой деструкции части отростков, преимущественно протоплазматических, астроцитов, что сопровождалось, вероятно, разрушением *GFAP* их глиофибрилл. Мощные стволы большей части волокнистых астроцитов не имели каких-либо признаков разрушения (фрагментация, истончение).

После 20 мин ООСА в составе нейро-глио-микрососудистых комплексов гиппокампа одни астроциты атрофировались, а другие подвергались делению и гипертрофировались, глиальные сети гиппокампа подвергались пространственной реорганизации, которая, вероятно, была обусловлена, с одной стороны, отеком-набуханием и деструкцией части отростков астроцитов, с другой стороны, пролиферацией и гипертрофией астроцитов в ответ на ишемию. В остром периоде (1 и 3 сут) деструкции и фрагментации подвергались в основном тонкие отростки протоплазматических астроцитов. Затем (7 сут) плотность астроцитарной сети восстанавливалась и даже увеличивалась в молекулярном, полиморфном слоях и внутри слоя пирамидных нейронов. Далее признаки реактивного астроцитоза проявлялись через 7, 14 и через 30 суток во всех слоях гиппокампа, но преобладали в *stratum radiatum*, *stratum lacunorum* молекулярного слоя и полиморфном слое.

По данным фрактального анализа в остром периоде после 20 мин ООСА происходила диффузно-очаговая деструкции и фрагментации части тонких отростков астроцитов. Фрактальная размерность увеличивалась, а лакунарность уменьшалась. Это было характерно для всех слоев гиппокампа (Рисунок 2, на примере поля СА₃).

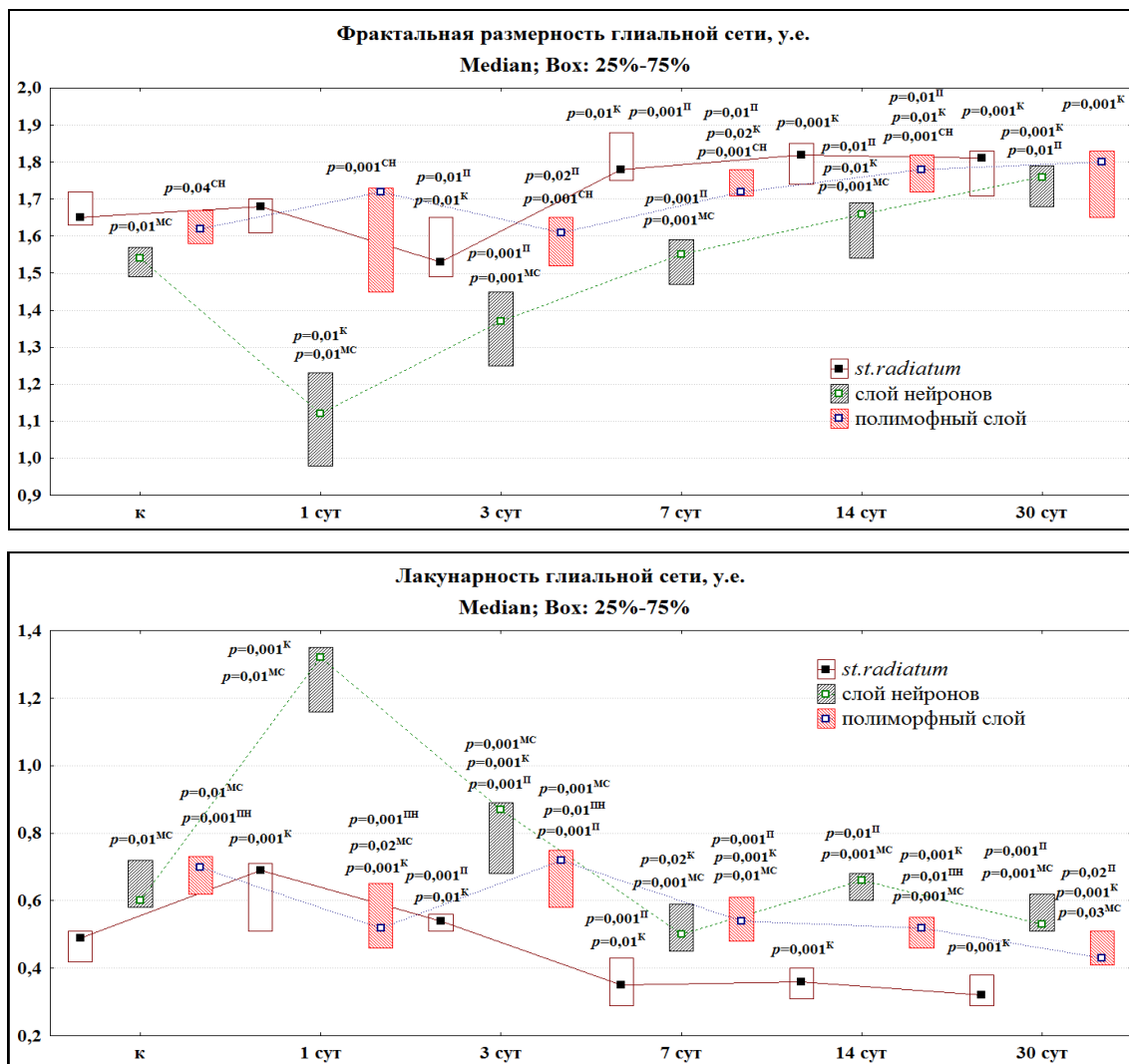


Рисунок 2 – Фрактальная размерность и лакунарность глияльной сети поля СА₃ гиппокампа белых крыс после ООСА. Q2 (Q1-Q2).

^{MC} – различия статистически значимы в сравнении с молекулярным слоем (*Stratum radiatum*), ^{CH} – слоем пирамидных нейронов (критерий Вилкоксона для зависимых выборок), ^K – контролем, ^П – предыдущим сроком (критерий Манна – Уитни).

Нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$.

Восстановление глияльной сети сопровождалось постепенным заполнением изученного фрактального пространства отростками астроцитов. С помощью фрактального анализа показано, что после 20 мин ООСА во всех слоях гиппокампа сначала происходила очаговая деструкция, а затем адаптивная пространственная

реорганизация астроцитарной сети (астроглиоз), которая, в конечном итоге, вероятно, обеспечивала высокую сохранность нейронной сети. Это происходило на фоне незначительного уменьшения общей численной плотности нейронов. Как и в полях СА₁ и СА₃ выявлена количественная гетерогенность и гетерохронность изменений пространственной организации астроцитарных отростков в молекулярном и полиморфном слоях зубчатой извилины. Более лабильными и реактивными были мелкие отростки астроцитов. Максимальные значения характеристик были выявлены в полиморфном слое. В этот период мера структурной сложности глиальных сетей была существенно выше, а лакунарность ниже, чем в контроле и через 3 и 7 суток постишемического периода.

При отсутствии выраженных очагов некроза и небольшом дефиците нейронов, увеличение площади реактивных волокнистых астроцитов следует рассматривать как свидетельство активации естественных защитных функций астроглии, направленное на сохранение и восстановление поврежденных нейронов.

Реакция астроцитов разных отделов гиппокампальной формации на 20 мин ООСА отличалась. Имелись различия по степени изменений и времени их появления.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

После 20 мин ООСА дистрофические и нейродегенеративные изменения нейронов (темные нейроны, уменьшение общей численной плотности нейронов) приводили к активации дренажно-детоксикационной системы (проявления отека-набухания нейропиля, астроцитарных отростков), гиперплазии и гипертрофии астроцитов (изменения показателей фрактального распределения и лакунарности астроцитарной сети, слабые и умеренные проявления астроглиоза), а также активации микроглиоцитов и олигодендроцитов.

В нашей работе было показано, что после 20 мин ООСА количество нейронов уменьшалось, а содержание глиальных клеток возрастало в 2-3 раза. Увеличение нейроглиального индекса сопровождалось: 1) появлением микрососудов с многочисленными разветвленными отростками перицитов, 2) усложнением пространственной организации базальных мембран, 3) структурными признаками активации процессов транцитоза (большое количество кавеол, гладких и клатриновых везикул, крупных везикул) в перицитах и эндотелиальных клетках. Полученные данные свидетельствовали преимущественно о компенсаторно-восстановительных изменениях компонентов нейро-глио-сосудистых комплексов гиппокампа головного мозга белых крыс после 20 мин ООСА.

С помощью методов фрактального анализа выявлена послойная гетерогенность постишемических изменений пространственной организации астроглиальной сети СА₁, СА₃ и зубчатой извилины. То есть, во всех этих отделах астроглиоз проявлялся

по-разному. Наиболее выраженные изменения фрактальной размерности и лакунарности отмечены в молекулярном слое гиппокампа – месте сосредоточения основной части межнейронных синапсов и отростков протоплазматических астроцитов в нейропиле. Реактивные изменения астроцитов сводились к усложнению их доменов и повышению плотности *GFAP*-позитивных структур.

Установлено, что гетерогенность и гетерохронность структурных изменений астроглиальной сети имели место и внутри отделов мозга, например, СА₁, СА₃ и зубчатая извилина по-разному приспосабливались к потере нейронов.

По нашим данным, в гиппокампе после 20 мин ООСА больше страдали нейроны СА₁. В этом поле вероятность необратимой дегенерации для темных нейронов была выше, чем в СА₃, СА₄ и зубчатой извилине.

Таким образом, перспективным направлением при изучении механизмов естественной защиты нейронов после острой ишемии является изучение нейроглии. Именно целенаправленная регуляция активности ее клеток позволит максимально полно сохранить поврежденные нейроны и перепрограммировать их на процесс восстановления. В этой связи проведенное нами исследование может послужить для понимания морфологических изменений в гиппокампе при острой ишемии легкой и средней степени тяжести.

ВЫВОДЫ

1. Нейроцито-, глиоцито-, синаптоархитектоника, ядерно-цитоплазматические и нейроглиальные отношения СА₁, СА₃, СА₄ и зубчатой извилины головного мозга белых крыс в норме статистически значимо отличались.

2. Через 1–3 сут после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий в гиппокампе отмечены проявления отека-набухания нервной ткани до 15 %, в контроле – 6 % поля зрения, доля нормохромных нейронов уменьшалась до 23–27 %, вакуолизировались, разрушались дендриты и синаптические терминалы (площадь меток *p38* уменьшалась до 10–15 %, контроль 20–25 %). Изменения имели диффузно-мелкоочаговые гетерохронный и гетероморфный характер, отличались между полями гиппокампа.

3. Максимальная элиминация дегенеративно измененных темных нейронов происходила в поле СА₁, общая численная плотность нейронов этого поля уменьшилась на 31 %, а в СА₃ – на 20 %. Преобладала деструкция за счет механизмов коагуляционного некроза и фагоцитоза, а иммуногистохимические проявления апоптоза выявлялись в единичных нейронах.

4. Разрушение и элиминация нейронов после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий сопровождалась компенсаторно-восстановительной реорганизацией нейроглиальных комплексов и межнейронных взаимоотношений.

5. Через 3 и 7 сут после окклюзии во всех отделах активировалась пролиферация нейроглии и клеток микрососудов (Ki-67), усиливалась экспрессия GFAP, увеличивался нейроглиальный индекс (до 1,5, контроль – 0,7), появлялось большое количество клеток-сателлитов и реактивных микроглиоцитов.

6. Астроглиоз проявлялся усложнением реорганизации астроглиоархитектоники за счет разветвления мелких отростков астроцитов. В разных отделах гиппокампа эти изменения различались по степени и времени их проявления. Максимальный перепад переменных «фрактальная размерность» и «лакунарность», характеризующих долю и форму отростков в пространстве, отмечен в молекулярном слое гиппокампа.

7. В процессе восстановления межнейронных коммуникаций в постишемическом периоде уменьшались проявления отека-набухания, снижалось содержание темных нейронов, восстанавливался цитоскелет нейронов, усиливались проявления реактивного астроглиоза, увеличивалась доля нейронов с двумя и более ядрышками (до 32–44 %, контроль 15 %), образовывалось избыточное количество синаптических терминалей. Одновременно реализовывались пластичность Геббеса и гомеостатическая пластичность.

8. Острая ишемия головного мозга стимулировала свойства плеiotропного фермента каспазы-3, связанного с механизмами нейропластичности. Содержание каспазы-3 коррелировало с p38 синаптических терминалей.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Особенности изменений неокортекса, архикортекса и миндалевидного тела белых крыс после острой ишемии / В. А. Акулинин, С. С. Степанов, Д. Б. Авдеев [и др., в т. ч. **А. В. Горбунова**] // **Журнал анатомии и гистопатологии**. – 2018. – № 2 (7). – С. 9–17.

2. Функциональная и пролиферативная активность клеток нейро-глио-сосудистых комплексов сенсомоторной коры, гиппокампа и миндалевидного тела головного мозга белых крыс после острой ишемии / А. С. Степанов, В. А. Акулинин, Д. Б. Авдеев, **А. В. Горбунова** // **Журнал анатомии и гистопатологии**. – 2018. – № 2 (7). – С. 85–89.

3. Коммуникация нейронов поля СА3 гиппокампа головного мозга белых крыс после острой ишемии / А. С. Степанов, В. А. Акулинин, С. С. Степанов [и др., в т. ч. **А. В. Горбунова**] // **Общая реаниматология**. – 2018. – № 5 (14). – С. 38–49.

4. Структурно-функциональная реорганизация ядрышкового аппарата нейронов неокортекса, архикортекса и базальных ганглиев головного мозга белых крыс после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий / С. С. Степанов, В. А. Акулинин, Д. Б. Авдеев [и др., в т. ч. **А. В. Горбунова**] // **Журнал анатомия и гистопатология**. – 2018. – № 4(7). – С. 67–74.

5. Синаптическая пластичность и ферменты апоптоза / В. А. Акулинин, Д. Б. Авдеев, А. С. Степанов, **А. В. Горбунова** // 8-й съезд Научного медицинского общества анатомов, гистологов и эмбриологов, 23–26 мая 2019 г., Воронеж : материалы докладов //

Морфология. – 2019. – Т. 155, № 2. – С. 12.

6. Иммуногистохимические проявления апоптоза и нейропластичности коры головного мозга белых крыс после окклюзии общих сонных артерий / Д. Б. Авдеев, С. С. Степанов, **А. В. Горбунова** [и др.] // **Морфология.** – 2019. – Т. 156, № 6. – С. 19–24.

7. Реорганизация астроцитов неокортекса белых крыс после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий / С. С. Степанов, В. А. Акулинин, Д. Б. Авдеев [и др., в т. ч. **А. В. Горбунова**] // **Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова.** – 2019. – № 5 (105). – С. 578–590.

8. Глиоцитоархитектоника зубчатой фасции и поля СА4 гиппокампа головного мозга белых крыс после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий / **А. В. Горбунова**, Д. Б. Авдеев, С. С. Степанов [и др.] // **Общая реаниматология.** – 2019. – № 6 (15). – С. 26–37.

9. Особенности глиоархитектоники неокортекса, архикортекса и миндалевидного тела белых крыс после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий / В. А. Акулинин, Д. Б. Авдеев, А. С. Степанов [и др., в т. ч. **А. В. Горбунова**] // **Бюллетень сибирской медицины.** – 2019. – № 4 (18). – С. 7–15.

10. Сравнительная характеристика структурно-функциональных изменения поля СА₃ гиппокампа после острой ишемии и травмы головного мозга белых крыс / **А. В. Горбунова**, И. П. Кошман, А. Ю. Шоронова [и др.] // **Журнал анатомия и гистопатология.** – 2020. – № 4 (9). – С. 19–30.

11. Immunohistochemical signs of apoptosis and neuroplasticity in the cerebral cortex of white rats after occlusion of the common carotid arteries / D. B. Avdeev, A. S. Stepanov, **A. V. Gorbunova** [et al.] // **Neurosci. Behav. Physiol.** – 2020. – Vol. 50, № 6. – P. 804–809.

12. Единство утилизации и нейропластичности поврежденных нейронов после острой ишемии головного мозга / Д. Б. Авдеев, **А. В. Горбунова**, А. Ю. Шоронова, В. А. Акулинин // 15-й конгресс Международной ассоциации морфологов : материалы докладов // **Морфология.** – 2020. – Т. 157, № 2-3. – С. 8–9.

13. Влияние окклюзии общих сонных артерий на двудерные клеточные образования сенсомоторной коры большого мозга крыс / Д. Б. Авдеев, В. А. Акулинин, С. С. Степанов [и др., в т. ч. **А. В. Горбунова**] // **Общая реаниматология.** – 2021. – № 2 (17). – С. 56–72.

14. Темные нейроны сенсомоторной коры белых крыс после острой неполной ишемии в аспекте артефактов фиксации и нейроглиальных взаимоотношений / Д. Б. Авдеев, С. С. Степанов, **А. В. Горбунова** [и др.] // **Журнал анатомия и гистопатология.** – 2021. – № 2 (10). – С. 9–22.

15. Гидропическая дистрофия сенсомоторной коры белых крыс в контексте формирования темных нейронов и изменения нейроглиальных взаимоотношений после краткосрочной окклюзии общих сонных артерий / **А. В. Горбунова**, С. С. Степанов, В. А. Акулинин [и др.] // **Journal of Siberian Medical Sciences.** – 2021. – № 3. – С. 66–81.

16. **Патент 2731649** С1 Российская Федерация, МПК (51) G01N 33/483, G01N 1/30. Способ оценки степени влияния экспериментальной ишемии на нервную ткань головного

мозга белых крыс при окрашивании препаратов гематоксилином и эозином : № 2019138655 : заявл. 28.11.2019 : опубл. 7.09.2020 // В. А. Акулинин, С. С. Степанов, Д. Б. Авдеев, **А. В. Горбунова**, И. Г. Цускман; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России. – 9 с.

17. **Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ № 2019666200. Neurorat 1.0.** Определение степени ишемии нервной ткани по снимкам гистологических препаратов : № 2019665423; заявл. 28.11.2019; зарегистр. 06.12.2019; опубл. 06.12.2019 / В. А. Акулинин, С. С. Степанов, Д. Б. Авдеев, **А. В. Горбунова**, И. Г. Цускман; правообладатель ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России. // **Бюллетень «Программы для ЭВМ, базы данных и топологии интегральных микросхем».** – 2019. – № 12. – 1 с.

18. Плейотропные ферменты апоптоза и синаптическая пластичность гиппокампа белых крыс после окклюзии общих сонных артерий / Д. Б. Авдеев, В. А. Акулинин, А. С. Степанов [и др., в т. ч. **А. В. Горбунова**] // Сибирский медицинский журнал. – 2018. – № 3 (33). – С. 102–110.

19. Закономерности реорганизации нейроглиальных взаимоотношений в гиппокампальной формации белых крыс после кратковременной окклюзии общих сонных артерий / **А. В. Горбунова**, Д. Б. Авдеев, С. С. Степанов [и др.] // Forcipe. – 2021. – Т. 4, № 2. – С. 26–34.

20. Плейотропность каспазы-3, ее возможная роль в адаптационных и восстановительных процессах нервной ткани головного мозга в период реперфузии / А. С. Степанов, В. А. Акулинин, Д. Б. Авдеев, **А. В. Горбунова** // Жизнеобеспечение при критических состояниях : материалы 20-й Всероссийской конференции с международным участием. – Москва, 2018, – С. 103–104.

21. Features in the structural and functional reorganization of the screen and nuclear nerve centers of white rats after acute transient ischaemic attack / V. A. Akulinin, A. S. Stepanov, D. B. Avdeev, **A. V. Gorbunova** // 48 Annual meeting, NEUROSCIENCE. – San Diego, 2018. – 201.09.

22. Reorganization of the neuronal nucleoli in the neocortex, hippocampus and amygdala of white rats after acute ischemia / V. A. Akulinin, A. S. Stepanov, D. B. Avdeev, **A. V. Gorbunova** // 50 Annual meeting, NEUROSCIENCE. – Chicago, 2019. – 714.09.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ЗИ	– зубчатая извилина
НГИ	– нейроглиальный индекс
ООСА	– окклюзия общих сонных артерий
20 мин ООСА	– 20-минутная окклюзия общих сонных артерий
NSE	– нейрон специфическая енолаза
GFAP	– кислый фибриллярный белок астроцитов
Bcl-2	– ингибитор каспаз
CA ₁ , CA ₂ , CA ₃ , CA ₄	– поля гиппокампа
p38	– синаптофизин
MAP2	– белок, ассоциированный с микротрубочками 2
Ki-67	– маркер пролиферативной активности
HSP	– белок теплового шока