

# ГИСТОАРХИТЕКТОНИКА И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИТОСКЕЛЕТА НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА ПОСЛЕ КРАТКОВРЕМЕННОЙ ОККЛЮЗИИ ОБЩИХ СОННЫХ АРТЕРИЙ БЕЛЫХ КРЫС

**HISTOARCHITECTONICS AND IMMUNOHISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF THE CYTOSKELETON OF HIPPOCAMPAL NEURONS AFTER SHORT-TERM OCCLUSION OF THE COMMON CAROTID ARTERIES OF WHITE RATS**

**Акулинин В.А. Akulinin V.A.**  
**Шоронова А.Ю. Shoronova A.Yu.**  
**Степанов С.С. Stepanov S.S.**  
**Коржук М.С. Korzhuk M.S.**  
**Тагаков К.С. Tagakov K.S.**  
**Цускман И.Г. Tsuskman I.G.**  
**Степанова Л.В. Stepanova L.V.**  
**Гирш А.О. Girsh A.O.**  
**Сергеев В.И. Sergeev V.I.**

ФГБОУ ВО «Омский государственный  
медицинский университет» Министерства здравоохранения  
Российской Федерации,  
г. Омск, Россия

Omsk State Medical University,  
Omsk, Russia

**Цель** – изучение гистоархитектоники гиппокампа и иммуногистохимическая характеристика цитоскелета пирамидных нейронов после кратковременной окклюзии общих сонных артерий у белых крыс.

**Материалы и методы.** У крыс Wistar (n = 30) моделировали 20-минутную окклюзию общих сонных артерий. Нервную ткань гиппокампа изучали с помощью световой микроскопии (окраска гематоксилин-эозином и тионином; иммуногистохимическая реакция на MAP2) и морфометрии через 1, 3, 7, 14 и 30 суток после реперфузии. В качестве контроля использовали животных без окклюзии (n = 6). С помощью программы ImageJ 1.53 подсчитывали общую численную плотность нейронов, численную плотность нормохромных нейронов и иммуногистохимически идентифицированных глиальных клеток (на 1 мм<sup>2</sup> поля зрения), также определяли нейроглиальный индекс. Кроме того, измеряли площадь MAP2-позитивных структур (отростки в полиморфном слое гиппокампа) и расстояние между ядрышками пирамидных нейронов в CA1. Статистический анализ проводили ранговыми методами в программе Statistica 8.0.

**Результаты.** После окклюзии максимальное количество нормохромных нейронов совпадало с максимальными значениями нейроглиального индекса. В течение 14 суток активно проявлялись ключевые события патоморфоза и саногенеза в нервной ткани гиппокампа, а через 30 суток, несмотря на сохранение поврежденных нейронов, реакция глиоцитов нивелировалась. В неповрежденной нервной ткани гиппокампа (зона

**Objective** – to study the histology of the hippocampus and immunohistochemical characteristics of the cytoskeleton of pyramidal neurons after short-term occlusion of the common carotid arteries in white rats.

**Materials and methods:** In Wistar rats (n = 30), a 20-min occlusion of the common carotid arteries was simulated. The nervous tissue of the hippocampus was studied using light microscopy (stained with hematoxylin-eosin and thionin; immunohistochemical reaction to MAP2) and morphometry at 1, 3, 7, 14, and 30 days after reperfusion. Animals without occlusion were used as controls (n = 6). The total numerical density of neurons, numerical density of normochromic neurons, and immunohistochemically identified glial cells (per 1 mm<sup>2</sup> field of view) were calculated using the ImageJ 1.53 program, as well as the neuroglial index. Additionally, the area of MAP2-positive structures (dendrites in the polymorphic layer of the hippocampus) and the distance between the nuclei of pyramidal neurons in the CA1 were measured. Statistical analysis was performed using rank methods in the Statistica 8.0 program.

**Results.** After occlusion, the maximum number of normochromic neurons coincided with the maximum values of neuroglial index. Within 14 days, key events of pathomorphosis and sanogenesis in the nervous tissue of the hippocampus actively manifested, and by 30 days, despite the preservation of damaged neurons, the reaction of glial cells was leveled. In the undamaged nervous tissue of the hippocampus (zone of normochro-

**Для цитирования:** Акулинин В.А., Шоронова А.Ю., Степанов С.С., Коржук М.С., Тагаков К.С., Цускман И.Г., Степанова Л.В., Гирш А.О., Сергеев В.И. ГИСТОАРХИТЕКТОНИКА И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИТОСКЕЛЕТА НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА ПОСЛЕ КРАТКОВРЕМЕННОЙ ОККЛЮЗИИ ОБЩИХ СОННЫХ АРТЕРИЙ БЕЛЫХ КРЫС //ПОЛИТРАВМА / POLYTRAUMA. 2024. № 2. С. 87-94.

**Режим доступа:** <http://poly-trauma.ru/index.php/pt/article/view/534>

**DOI:** 10.24412/1819-1495-2024-2-87-94

нормохромных нейронах) MAP2-позитивные отростки нейронов в полиморфном слое занимали 27 (26-34) %, а в зоне скопления гиперхромных нейронов со штопорообразными дендритами 37,5 (35-47,5) % единицы площади среза полиморфного слоя ( $p = 0,001$ ). В зоне скопления гиперхромных нейронов на 12,5 % ( $p = 0,01$ ) было меньше расстояние между ядрышками соседних пирамидных нейронов. Через 14 и даже 30 суток сохранялись нейроны с признаками деформации перикариона и дендритов в результате дегидратации и констрикции элементов цитоскелета. Эти нейроны соответствовали «темным» (гиперхромным) сморщенным нейронам.

**Заключение.** В зоне скопления гиперхромных нейронов происходило сжатие пространства нейронных сетей. Подобные изменения мы рассматриваем как один из саногенетических механизмов регулирования движения потоков свободной жидкости в гиппокампе после ишемии. Полученные результаты могут быть использованы при объяснении закономерностей пространственной реорганизации нейронной сети гиппокампа после ишемии.

**Ключевые слова:** нейроны; ишемия; гиппокамп; цитоскелет; MAP2

Гиппокамп — это отдел головного мозга, который играет ключевую роль в обработке информации и памяти. Гистоархитектоника гиппокампа крысы описывает его микроскопическую структуру и слоистую организацию. Гиппокамп состоит из нескольких слоев клеток, каждый из которых выполняет определенные функции. Изучение гистоархитектоники гиппокампа имеет важное значение для понимания механизмов памяти, а также для разработки новых методов лечения неврологических и психических заболеваний, связанных с нарушением памяти [1, 2].

По литературным данным, острая ишемия головного мозга может вызывать серьезные гистологические изменения в различных компартаментах гиппокампа. В результате ишемического повреждения развивается отек-набухание тканей, что приводит к нарушению гомеостаза воды в нейронах и глиальных клетках. В гиппокампе после ишемии часто наблюдается увеличение объема межклеточного пространства за счет отека астроцитов, нейронов и других клеток. Это приводит к снижению плотности клеток и нарушению гистоархитектоники. Кроме того, гипер- и дегидратационные изменения могут привести к повреждению цитоскелета нейронов и нарушению их цитоархитектоники и функций [3, 4]. Может также наблюдаться глимоцитоз и реактивный глиоз (наличие в межклеточном пространстве большого количества клеток иммунной системы

mic neurons), MAP2-positive neuronal dendrites in the polymorphic layer occupied 27 (26-34) %, while in the zone of clustering of hyperchromic neurons with stellate dendrites, it was 37.5 (35-47.5) % of the area of the polymorphic layer section ( $p = 0.001$ ). In the zone of clustering of hyperchromic neurons, the distance between the nuclei of neighboring pyramidal neurons was 12.5 % less ( $p = 0.01$ ). Neurocytes with signs of deformation of the perikaryon and dendrites due to dehydration and constriction of cytoskeletal elements were preserved even at 14 and 30 days. These neurons corresponded to "dark" (hyperchromatic) wrinkled neurons.

**Conclusion.** In the zone of clustering of hyperchromic neurons, compression of the space of neuronal networks occurred. We consider these changes as one of the sanogenetic mechanisms regulating the movement of free fluid streams in the hippocampus after ischemia. The results obtained can be used to explain the patterns of spatial reorganization of the hippocampal neural network after ischemia.

**Key words:** neurons; ischemia; hippocampus; cytoskeleton; MAP2

и микроглиоцитов), что свидетельствует о воспалительной реакции и может привести к дополнительному повреждению ткани и усилению нейродегенерации. Определенное значение имеет глимфатическая система мозга [5-7].

Все это обусловлено дисфункцией микрососудистой сети и глимфатической системы гиппокампа, что приводит к нарушению поступления кислорода и питательных веществ к клеткам, а также сбоем механизмов саногенеза. Поэтому повреждение нейронов и глии обусловлено степенью совокупного эффекта вышеназванных составляющих ишемического патоморфоза. Таким образом, по данным литературы, после острой ишемии в гиппокампе наблюдается совокупность гистологических изменений, включающих отек-набухание тканей (онкоз), воспалительную реакцию, нарушение микроциркуляции и дистрофическое повреждение клеток. Эти изменения в совокупности приводят к нарушению функций гиппокампа и могут иметь серьезные последствия для когнитивных и психических функций организма.

Результаты постишемического повреждения гиппокампа зависят от состояния всех структурных компонентов нейронов и могут варьироваться от временных нарушений функций до длительных и стойких структурно-функциональных последствий. Особое значение имеет каркас клетки — его цитоскелет [6-10]. В этой связи целесообразно проведение имму-

ногистохимического исследования ключевого компонента цитоскелета нейронов — MAP2 [11, 12].

Белок MAP2 (microtubule-associated protein 2) относится к семейству MAP-белков, которые связываются с тубулином и стабилизируют структуру микротрубочек за счет изменения продолжительности их разборки [13].

При окклюзии артерий возникает гипоксия и неполная ишемия нейронов, нарушается электрохимический баланс, появляются токсические метаболиты, что неизбежно приводит к реакции элементов их цитоскелета. Кроме того, перемещение воды между нейронами, астроцитами, глимфатической системой и интерстициальным пространством приводит к изменению их объемов. Наименьшее водное пространство характерно для гиперхромных сморщенных нейронов, наибольшее — для астроцитов и периваскулярных зон. Что происходит при этом с MAP2 цитоскелета нейронов в динамике постишемического периода, требует дальнейшего изучения. Таким образом, несмотря на то, что молекулярные механизмы повреждения нейронов головного мозга при окклюзии артерий хорошо изучены, мало экспериментальных работ, проведенных в аспекте сравнения динамики содержания разных типов реактивно измененных пирамидных нейронов в гиппокампе, и иммуногистохимического исследования MAP2 недостаточно для понимания ответа цитоскелета нейронов на эти изменения.

**Цель** — изучение гистоархитектоники гиппокампа и иммуногистохимическая характеристика цитоскелета пирамидных нейронов после кратковременной окклюзии общих сонных артерий у белых крыс.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Экспериментальное исследование выполнено на базе кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России с учетом рекомендаций Международного рабочего комитета по лабораторным животным и директивой № 2010/63/ЕС Европейского парламента и совета от 22 сентября 2010 года «О защите животных, используемых для научных целей». Условия содержания, принципы сбалансированности рациона экспериментальных животных и способы моделирования ишемии были приняты и согласованы на заседании этических комитетов ОмГМУ. Использовали аутобредных половозрелых белых крыс самцов Wistar (n = 36) массой 270-350 г. Интактные крысы (n = 6) использовались для контроля. Эксперимент проводили под общей анестезией (в/м 10 мг/кг препарата Золетила 100). Легкую неполную ишемию головного мозга моделировали путем одномоментной окклюзии общих сонных артерий на 20 минут [4, 14].

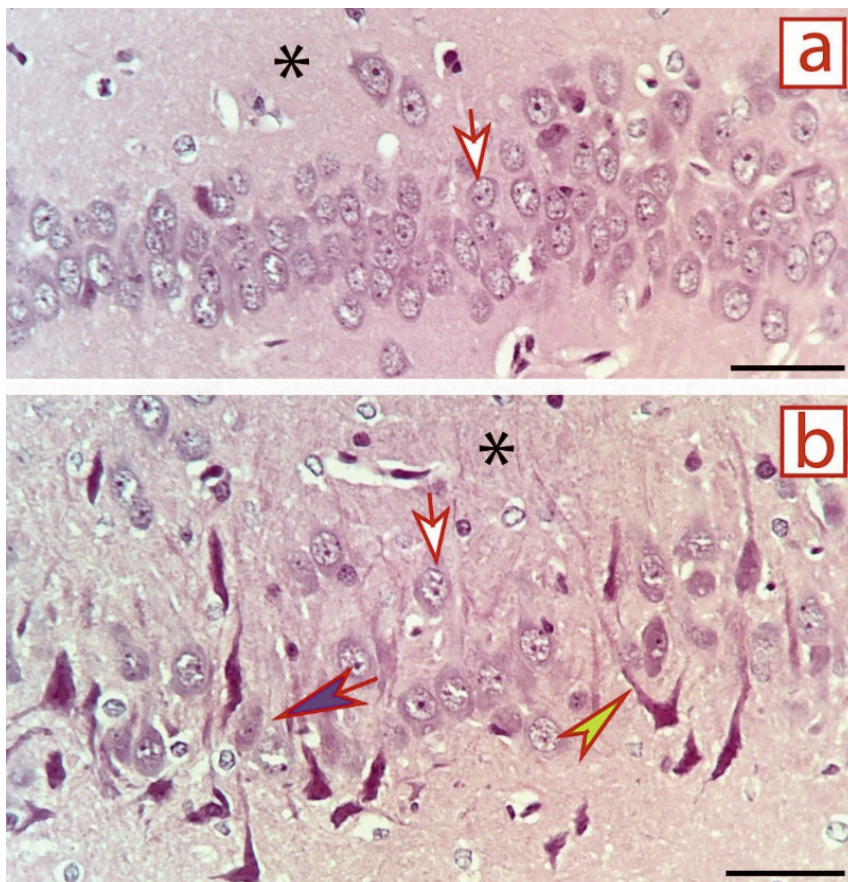
Через 1, 3, 7, 14 и 30 суток после окклюзии общих сонных артерий под общей анестезией проводили забор гистологического материала. Использовали перфузию головного мозга 4%-ном раствором формальдегида (фосфатный буфер, pH 7,2-7,4). При помощи автомата Thermo Fisher STP 120 извлеченный головной мозг заключали в гомогенизированный парафин (HISTOMIX). Фронтальные серийные срезы толщиной 2-4 мкм готовили с использованием микротомы Thermo Fisher HM 450 на уровне гиппокампа [15]. С каждого срока фотографировали по 30 полей зрения, окрашивали гематоксилин-эозином и тионином. Верификацию цитоскелета нейронов (тел и отростков) проводили с помощью реакции на MAP2, астроцитов — GFAP, микроглиоциты определялись как AIF-1-позитивные мелкие клетки.

**Рисунок 1**

**Фрагменты фронтального среза границы CA2 (а — контроль) и CA3 (b — 1-е сутки) гиппокампа без и с ишемическими изменениями: белые стрелки — нормохромные нейроны, зеленая стрелка — зона гиперхромных нейронов без глиальной реакции, синяя стрелка — зона гиперхромных нейронов с выраженной глиальной реакцией, \* — молекулярный слой. Окраска гематоксилином и эозином. Объектив: ×40; шкала — 50 мкм**

**Figure 1**

**Fragments of the frontal section of the CA2 (a — control) and CA3 (b — 1 day) hippocampal boundary without and with ischemic changes: white arrows — normochromic neurons, green arrow — zone of hyperchromic neurons without glial reaction, blue arrow — zone of hyperchromic neurons with pronounced glial reaction, \* — molecular layer. Hematoxylin and eosin staining. Objective: ×40; scale — 50 μm**



Использовались: для MAP-2 — кроличьи поликлональные антитела, разведение 1 мкг/мл (ab32454, Abcam, США); GFAP — мышинные моноклональные антитела, клон GA5, готовые к применению (Bond Ready-to-Use Primary Antibody. Leica Biosystems Newcastle Ltd, Великобритания); AIF-1 — кроличьи поликлональные антитела, разведение 5-20 мкг/мл (CloudClone Corp.) [14].

Иммуногистохимическую реакцию проводили на срезах, помещенных на полилизиновые предметные стекла. После реакции с первичными антителами срезы ин-

кубировали с соответствующими вторичными антителами, хромогеном DAB (3,3'-диаминобензидином), докрашивали гематоксилином, заключали в полистирол. Для визуализации использовали мультимерный набор Novolink™ (DAB) Polymer Detection System (Leica Biosystems Newcastle Ltd, Великобритания) [14].

Препараты фотографировали на микроскопе Leica DM 1000 (камера GXCAM-DM800 Unique Wrap-Around 8MP AUTOFOCUS USB, pixel size 1.4 × 1.4 μm). Для морфометрического исследования использовали программу ImageJ 1.53.

В ходе морфометрического анализа определяли общую численную плотность нейронов и глиальных клеток, численную плотность нормохромных нейронов СА<sub>1</sub> гиппокампа (на 1 мм<sup>2</sup>), рассчитывали нейроглиальный индекс в этом секторе и расстояние между ядрышками соседних пирамидных нейронов, а также относительную площадь MAP2-позитивного материала нейронов.

Статистические гипотезы проверяли с использованием пакета StatSoft, inc. STATISTICA 8.0 (USA), в частности критерия Манна – Уитни для парного сравнения независимых выборок. Полученные числовые данные представлены в виде медианы (Q2 – 50% квартиль), интерквартильного размаха (Q1-Q3 – 25-75% квартили). Так как характер распределения вариационных рядов изучаемых переменных отличался от нормального (тест Шапиро – Уилка, тест Колмогорова – Смирнова:  $p < 0,05$ ) использовали методы ранговой (непараметрической) статистики. Нулевая гипотеза отвергалась при  $p < 0,05$  [16].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

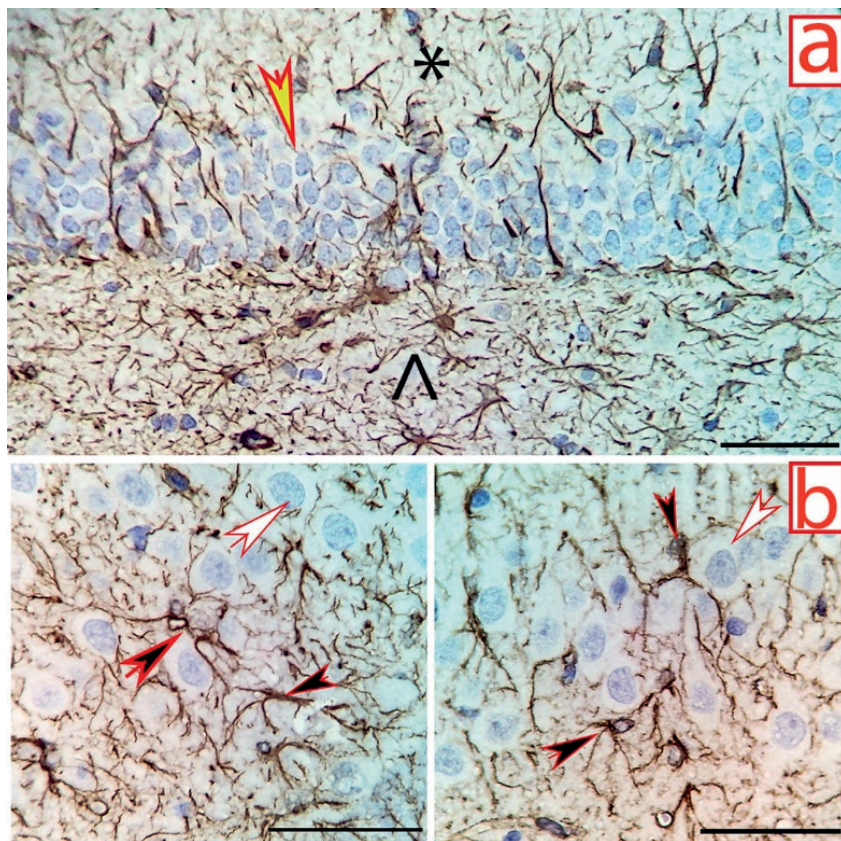
В гиппокампе интактных животных преобладали нормохромные пирамидные нейроны, признаков онкоза и дистрофии, реактивного глиоза, отека-набухания отростков астроцитов и нейронов не выявлено (рис. 1а).

После окклюзии выявлены признаки нарушения микроциркуляции (переваскулярный отек), а также реактивные и деструктивные изменения: де- (гиперхроматоз) и гипергидратационные (гипохромные нейроны, клетки-тени, вакуолеобразные проявления отека-набухания) изменения нейронов. Преобладали изменения по типу темных сморщенных и несморщенных нейронов. Редко отмечались деформация, смещение, эктопия набухших ядер нейронов, кариорексис. Менялась численная плотность глиальных клеток (рис. 1 б). Изменялось соотношение количества астроцитов и нейронов, часть астроцитов гипертрофировалась (рис. 2а, б).

## Рисунок 2

Фрагменты фронтального среза зубчатой извилины (а) и СА3 (б) гиппокампа через 1 сутки после окклюзии: признаки гипертрофии отростков астроцитов. Желтая стрелка – зернистые клетки зубчатой извилины, белые стрелки – пирамидные нейроны СА3, черные стрелки – астроциты, \* – молекулярный слой, ^ – полиморфный слой. Иммуногистохимическая реакция на белок цитоскелета астроцитов GFAP. Объектив: ×40 (а), ×100 (б); шкала – 50 мкм

Figure 2  
Fragments of the frontal section of the dentate gyrus (a) and CA3 (b) hippocampus after 1 day of occlusion: signs of hypertrophy of astrocyte processes. Yellow arrow – granule cells of the dentate gyrus, white arrows – CA3 pyramidal neurons, black arrows – astrocytes, \* – molecular layer, ^ – polymorphic layer. Immunohistochemical



Ранее с помощью фрактального анализа мы выявили, что гипертрофия сопровождалась усложнением пространственной организации дистальной зоны астроцитарных отростков [14]. При этом в остром периоде после окклюзии во всех слоях гиппокампа происходила очаговая деструкция отростков астроцитов. Однако через 7, 14 и 30 суток отмечалась реактивная гиперплазия астроцитарной сети (реактивный астроглиоз), что, вероятно, оказывало благоприятное влияние на нейронную сеть гиппокампа [4].

В течение 7 и 14 суток после окклюзии нейроглиальный индекс (отношение общей численной плотности нейронов и глиальных кле-

ток) положительно коррелировал ( $r = 0,72$ ; Спирмен,  $p < 0,01$ ) с численной плотностью нормохромных нейронов (рис. 3а, б). То есть максимальное количество нормохромных нейронов в постшемическом периоде совпадало с максимальными значениями нейроглиального индекса. Вероятно, в течение 14 суток активно проявлялись ключевые события патоморфоза и саногенеза в нервной ткани гиппокампа, а через 30 суток реакция глиоцитов, несмотря на сохранение поврежденных нейронов, нивелировалась.

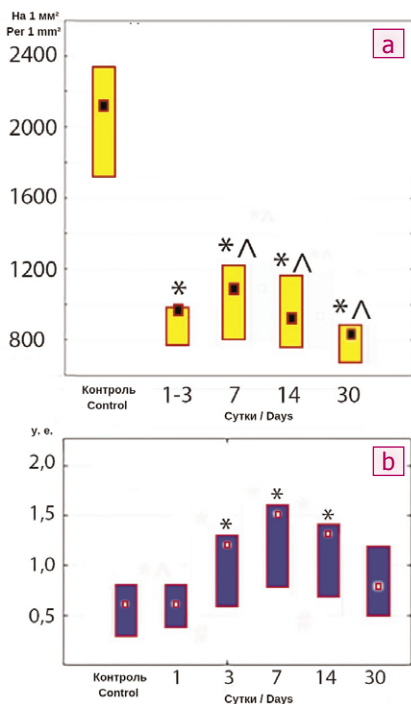
С помощью иммуногистохимической реакции на MAP2 удалось верифицировать цитоскелет нейронов и в какой-то степени количественно характеризовать плотность нейрон-

Рисунок 3

Численная плотность нормохромных нейронов (на мм<sup>2</sup>) (а) и нейроглиальный индекс в CA1 гиппокампа после окклюзии (b), Q2 (Q1–Q3).

\*Различия статистически значимы в сравнении с контролем, ^ – в сравнении с предыдущим сроком (критерий Манна – Уитни,  $p < 0,01$ ). Q2 – медиана, Q1 – нижний, Q3 – верхний квартиль

Figure 3  
Numerical density of normochromic neurons (per mm<sup>2</sup>) and neuroglial index in the CA1 hippocampus after occlusion, Q2 (Q1–Q3).  
\*Differences are statistically significant compared to control, ^ – compared to the previous time point (Mann–Whitney criterion,  $p < 0.01$ ). Q2 – median, Q1 – lower, Q3 – upper quartiles



ной сети в пространстве. Несмотря на то, что знания о функциональной роли этих белков в нервных клетках недостаточны, для зрелого головного мозга млекопитающих специфичность экспрессии MAP2 в нейронах трактуется как несомненное свидетельство принадлежности клетки к нейрональной популяции [13]. Значит, все MAP2-позитивные структуры имели отношение к нейронной сети, образованной близлежащими нейронами (рис. 4а, б).

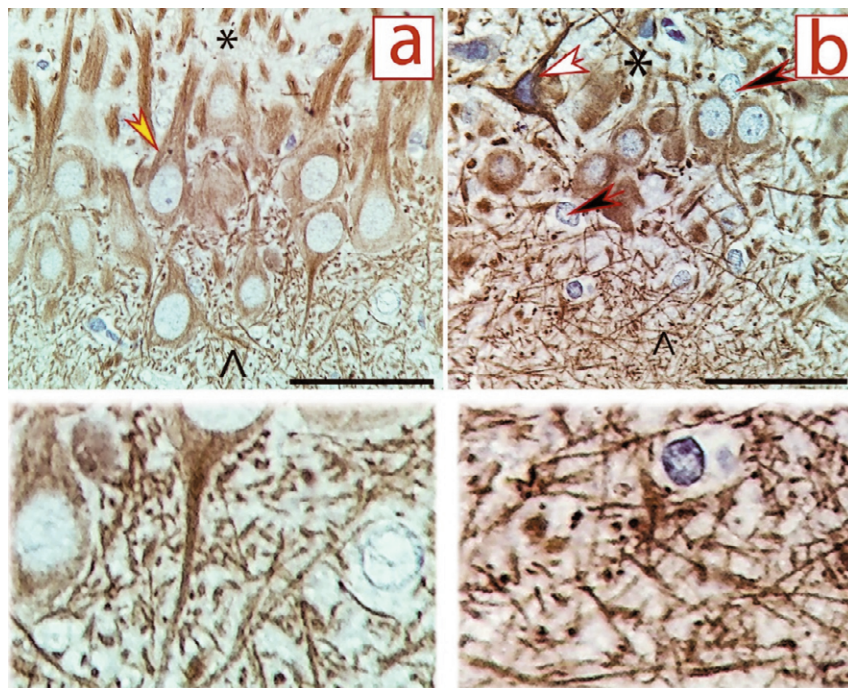
На препаратах, маркированных на экспрессию MAP2, видны все

Рисунок 4

Фрагменты фронтального среза СА3 гиппокампа в норме (а) и через 1 сутки после окклюзии (b) с незначительными и умеренными ишемическими изменениями: желтая стрелка – нейрон без видимых изменений ядра, перикариона и дендритов, белая стрелка – сморщенный нейрон с деформацией ядра, перикариона и констрикцией диаметра дендритов, черные стрелки – астроциты, \* – молекулярный слой, ^ – полиморфный слой.

Отдельно показаны зоны полиморфного слоя. Иммуногистохимическая реакция на белок цитоскелета MAP2. Объектив: ×100; шкала – 50 мкм

Figure 4  
Fragments of the frontal section of the CA3 hippocampus in normal conditions (a) and 1 day after occlusion (b) with slight and moderate ischemic changes: yellow arrow – neuron without visible changes in the nucleus, perikaryon, and dendrites, white arrow – shriveled neuron with deformation of the nucleus, perikaryon, and constriction of dendrite diameter, black arrows – astrocytes, \* – molecular layer, ^ – polymorphic layer. Zones of the polymorphic layer are shown separately. Immunohistochemical reaction for the cytoskeletal protein MAP2. Objective: ×100; scale – 50 μm



части нейронов, содержащих этот белок: перикарион, дендриты и аксоны (последние особенно четко видны в полиморфном слое гиппокампа). В неповрежденной нервной ткани гиппокампа (зона нормохромных нейронов) отростки нейронов в полиморфном слое занимали 27 (26–34) % поля зрения (рис. 4а), остальное место между ними, очевидно, – отростки астроцитов и интерстициальное пространство. В зоне скопления гиперхромных нейронов со штопорообразными дендритами

(рис. 5b) MAP2-позитивный материал занимал 37,5 (35–47,5) % площади среза полиморфного слоя, что было статистически значимо больше (Q1–Q3; критерий Манна – Уитни,  $p = 0,001$ ), чем в зоне нормохромных нейронов. Кроме того, в зоне скопления гиперхромных нейронов на 12,5 % ( $p = 0,01$ ) уменьшалось расстояние между ядрышками соседних пирамидных нейронов. Таким образом, дегидратация и уплотнение цитоскелета нейронов после ишемии в гиппокампе сопровождалась сжатием

пространства объемной нейронной сети.

Даже в отдаленном периоде после окклюзии сохранялись признаки нарушения микроциркуляторных и саногенетических процессов. Часто встречались сосуды с расширенным периваскулярным пространством, что свидетельствовало о дисфункции лимфатической системы головного мозга [17]. Поэтому в течение всего периода наблюдения пирамидные нейроны гиппокампа в результате необратимого нарушения водно-ионного баланса и активации некробиотических процессов непрерывно погибали. В пользу этого свидетельствует то, что при иммуногистохимическом исследовании через 14 и даже 30 суток сохранялось много нейронов с признаками деформации перикариона и дендритов, вероятно, в результате дегидратации и констрикции элементов цитоскелета (рис. 5а, б; 6а, б). Эти нейроны соответствовали «темным» (гиперхромным) сморщенным нейронам при окраске по Нислю и гематоксилином/эозином (рис. 1б).

Таким образом, после кратковременной окклюзии общих сонных артерий нами выявлены признаки ранее описанных изменений нейро-

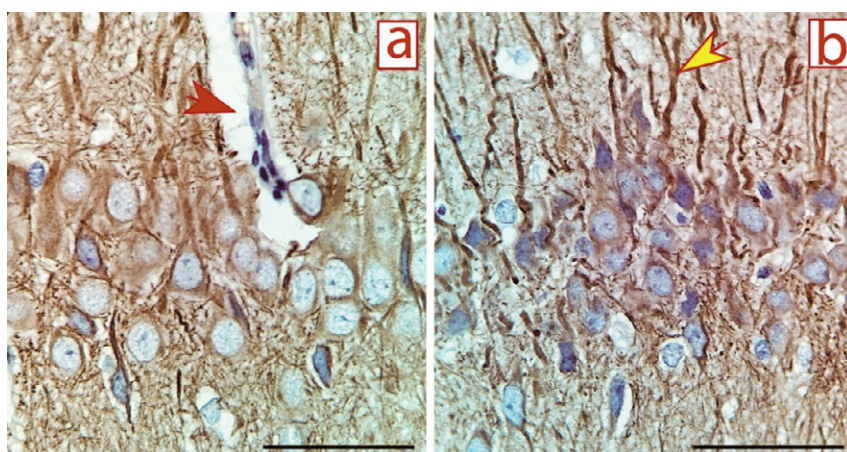
#### Рисунок 5

Фрагменты фронтального среза СА1 гиппокампа через 14 суток после окклюзии с зонами умеренных (а – преобладают нейроны без деформации) и выраженных (б – сморщенные перикарионы, штопорообразные апикальные дендриты, большое количество глиальных клеток) ишемических изменений: красная стрелка – расширение периваскулярного пространства, желтая стрелка – штопорообразные дендриты гиперхромных сморщенных нейронов. Иммуногистохимическая реакция на белок цитоскелета MAP2.

Объектив:  $\times 100$ ; шкала – 50 мкм

#### Figure 5

Fragments of the frontal section of the CA1 hippocampus 14 days after occlusion with zones of moderate (a – neurons without deformation predominate) and severe (b – shriveled perikarya, corkscrew-shaped apical dendrites, a large number of glial cells) ischemic changes: red arrow – expansion of perivascular space, yellow arrow – corkscrew-shaped dendrites of hyperchromic shriveled neurons. Immunohistochemical reaction for the cytoskeletal protein MAP2. Objective:  $\times 100$ ; scale – 50  $\mu\text{m}$

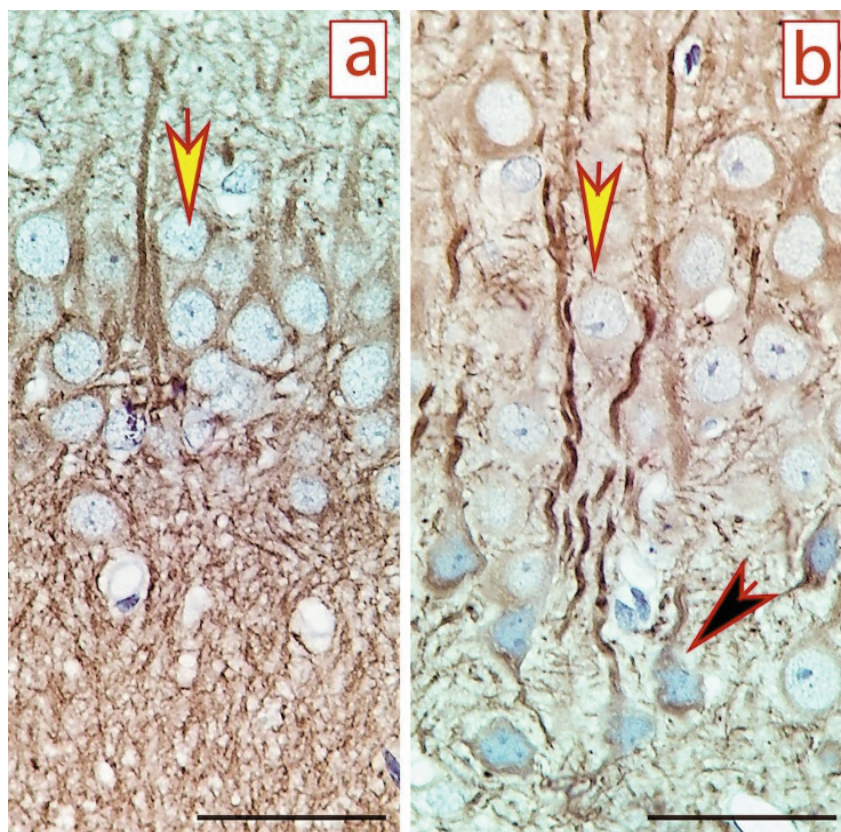


#### Рисунок 6

Фрагменты фронтального среза СА1 (а) и зубчатой извилины (б) гиппокампа через 30 сут после окклюзии с зонами без повреждения (а) и наличием штопорообразных апикальных дендритов (б): желтые стрелки – нормохромные нейроны, черная стрелка – штопорообразные дендриты гиперхромных сморщенных нейронов. Иммуногистохимическая реакция на белок цитоскелета MAP2. Объектив:  $\times 100$ ; шкала – 50 мкм

#### Figure 6

Fragments of the frontal section of the CA1 (a) and dentate gyrus (b) hippocampus 30 days after occlusion with zones without damage (a) and presence of corkscrew-shaped apical dendrites (b): yellow arrows – normochromic neurons, black arrow – corkscrew-shaped dendrites of hyperchromic shriveled neurons. Immunohistochemical reaction for the cytoskeletal protein MAP2. Objective:  $\times 100$ ; scale – 50  $\mu\text{m}$



нов и глиальных клеток. Подобные изменения трактуются в основном как элементы патоморфоза нервной ткани [18-23]. Считается, что в результате их появления происходит гибель нейронов и последующая компенсаторная реорганизация нейронных сетей головного мозга. Однако столь однозначное суждение некорректно с позиций диалектической целостности процессов повреждения, защиты и восстановления живых биологических структур.

Мы полагаем, что выявленное нами после окклюзии общих сонных артерий сокращение нейронных сетей в зоне скопления гиперхромных нейронов в результате дегидратации и конформационных изменений их цитоскелета можно рассматривать еще и как один из физико-химических (структурных) механизмов создания гидродина-

мического градиента для регулирования переноса потоков свободной жидкости в гиппокампе. Вполне вероятно, что в сочетании с глимфатической системой [17] этот механизм участвует в саногенезе нервной ткани после ишемии.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

После кратковременной окклюзии общих сонных артерий на 20 минут без гипотонии, которая считается сравнительно легкой моделью острой ишемии, в гиппокампе белых крыс были выявлены умеренные диффузно-очаговые реактивные и дегенеративные изменения пирамидных нейронов, сопровождающиеся значительным снижением численной плотности нормохромных нейронов. Результаты иммуногистохимического исследования распределения маркера цитоскелета нейронов MAP2 по-

казало, что в зоне скопления гиперхромных нейронов происходило сжатие пространства нейронных сетей. Подобные изменения мы рассматриваем как один из саногенетических механизмов регулирования движения потоков свободной жидкости в гиппокампе после ишемии. Полученные результаты могут быть использованы при объяснении закономерностей пространственной реорганизации нейронной сети гиппокампа и ее роли саногенного фактора после ишемии.

### Информация о финансировании и конфликте интересов

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Nikonenko AG, Radenovic L, Andjus PR, Skibo GG. Structural features of ischemic damage in the hippocampus. *Anatomical record (Hoboken)*. 2009; 292(12): 1914-1921.
- Mai C, Mankoo H, Wei L, An X, Li C, Li D, et al. TRPM2 channel: a novel target for alleviating ischaemia-reperfusion, chronic cerebral hypoperfusion and neonatal hypoxic-ischaemic brain damage. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2020; 24(1): 4-12.
- Deev RV, Bilyalov AI, Zhampeisov TM. Modern concepts of cell death. *Genes & Cells*. 2018; 13(1): 6-19. Russian (Деев Р.В., Билялов А.И., Жампеисов Т.М. Современные представления о клеточной гибели //Гены & Клетки. 2018. Т. 13, № 1. С.6-19.)
- Avdeev DB, Stepanov SS, Akulinin VA, Stepanov AS, Sharonova AYU, Samsonov AA. Reorganization of astrocytes of the hippocampus of white rats after 20-minute occlusion of the common carotid arteries. *Pathological physiology and experimental therapy*. 2019; 63(4): 13-22. Russian (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. Т. 63, № 4. С. 13-22.)
- Kondratiev AN, Tsentsiper LM. The lymphatic system of the brain: structure and practical significance. *Anesthesiology and intensive care*. 2019; (6): 72-80. Russian (Кондратьев А.Н., Ценципер Л.М. Глимфатическая система мозга: строение и практическая значимость //Анестезиология и реаниматология. 2019. № 6. С. 72-80.)
- Zhao SC, Ma LS, Chu ZH, Xu H, Wu WQ, Liu F. Regulation of microglial activation in stroke. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2017; 38(4): 445-458.
- Jayaraj RL, Azimullah S, Beiram R, Jalal FY, Rosenberg GA. Neuroinflammation: friend and foe for ischemic stroke. *Journal of Neuroinflammation*. 2019; 16(1): 142.
- Hossain MA. Hypoxic-ischemic injury in neonatal brain: involvement of a novel neuronal molecule in neuronal cell death and potential target for neuroprotection. *Journal of Developmental Neuroscience*. 2008; 26(1): 93-101.
- Blennow K, Hardy J, Zetterberg H. The neuropathology and neurobiology of traumatic brain injury. *Journal of Neuron*. 2012; 76(5): 886-899.
- Koizumi S, Hirayama Y, Morizawa YM. New roles of reactive astrocytes in the brain; an organizer of cerebral ischemia. *Neurochemistry International*. 2018; 119(10): 107-114.
- Schmidt-Kastner R, Zhao W, Truettner J, Belayev L, Busto R, Ginsberg MD. Pixel-based image analysis of HSP70, GADD45 and MAP2 mRNA expression after focal cerebral ischemia: hemodynamic and histological correlates. *Molecular Brain Research*. 1998; 63(1): 79-97.
- DeGiosio RA, Grubisha MJ, MacDonald ML, McKinney BC, Camacho CJ, Sweet RA. More than a marker: potential pathogenic functions of MAP2. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2022; 15: 1-16.
- Korzhevsky DE, Karpenko MN, Kirik OV. Proteins associated with microtubules as indicators of differentiation and functional state of nerve cells. *Morphology*. 2011; 139(1): 13-21. Russian (Коржевский Д.Э., Карпенко М.Н., Кирик О.В. Белки, ассоциированные с микротрубочками, как показатели дифференцировки и функционального состояния нервных клеток //Морфология. 2011. Т. 139, № 1. С. 13-21.)
- Avdeev DB, Akulinin VA, Stepanov SS, Sharonova AYU, Makarieva LM, Gorbunova AV, et al. The effect of occlusion of the common carotid arteries on the binuclear cell formations of the sensorimotor cortex of the rat brain. *General intensive care*. 2021; 17(2): 55-71. Russian (Авдеев Д.Б., Акулинин В.А., Степанов С.С., Шоронова А.Ю., Макарьева Л.М., Горбунова А.В. и др. Влияние окклюзии общих сонных артерий на двуядерные клеточные образования сенсорной коры большого мозга крыс //Общая реаниматология. 2021. Т. 17, № 2. С. 55-71.)
- Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 5th ed. Amsterdam, Boston: Elsevier Academic Press, 2005. 367 p.
- Borovikov V. Statistica. The art of data analysis on a computer. Peter. Publishing house of St. Petersburg. 2003. 688 p. Russian (Боровиков В. Statistica. Искусство анализа данных на компьютере. 2-ое изд. Санкт-Петербург: Питер, 2003. 688 с.)

17. Bacyinski A, Xu M, Wang W, Hu J. The paravascular pathway for brain waste clearance: current understanding, significance and controversy. *Front Neuroanat.* 2017; 11: 101. doi: 10.3389/fnana.2017.00101
18. Makarieva LM, Akulinin VA, Korzhuk MS, Stepanov SS, Shoronova AYU, Avdeev DB, et al. Structural and functional reorganization of the sensorimotor cortex during ligation of common carotid arteries. *General intensive care.* 2022; 18(5): 32-43. Russian (Макарьева Л.М., Акулинин В.А., Коржук М.С., Степанов С.С., Шоронова А.Ю., Авдеев Д.Б. и др. Структурно-функциональная реорганизация сенсорной коры при перевязке общих сонных артерий //Общая реаниматология. 2022. Т. 18, № 5. С. 32-43.)
19. Janardhan V, Qureshi A. Mechanisms of ischemic brain injury. *Current Cardiology Reports.* 2004; 6(2): 117-123.
20. Amantea D, Nappi G, Bernardi G, Bagetta G, Corasaniti M. Post-ischemic brain damage: pathophysiology and role of inflammatory mediators. *Federation of European Biochemical Societies Journal.* 2009; 276(1): 13-26.
21. Candelario-Jalil E. Injury and repair mechanisms in ischemic stroke: considerations for the development of novel neuro-therapeutics. *Current opinion in investigational drugs.* 2009; 10(7): 644-654.
22. Letko N, Ho E, Shoichet M. Wielding the double-edged sword of inflammation: building biomaterial-based strategies for immunomodulation in ischemic stroke treatment. *Advanced Functional Materials.* 2021; 31(44): 2010674.
23. Ren K, Pei J, Guo Y, Jiao Y, Xing H, Xie Y, et al. Regulated necrosis pathways: a potential target for ischemic stroke. *Burns Trauma.* 2023; 11: 1-19.

#### Сведения об авторах:

**Акулинин В.А.**, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России, г. Омск, Россия.

**Шоронова А.Ю.**, ассистент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России, г. Омск, Россия.

**Степанов С.С.**, д.м.н., научный сотрудник кафедры гистологии и цитологии ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России, г. Омск, Россия.

**Коржук М.С.**, д.м.н., профессор кафедры и клиники военно-морской хирургии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, Россия.

**Тагаков К.С.**, аспирант кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России, г. Омск, Россия.

**Цускман И.Г.**, к. ветеринар. н., доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России, г. Омск, Россия.

**Степанова Л.В.**, к. ветеринар. н., старший преподаватель кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России, г. Омск, Россия.

**Гирш А.О.**, д.м.н., профессор кафедры общей хирургии ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России, г. Омск, Россия.

**Сергеев В.И.**, ординатор кафедры стоматологии ДПО ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России, г. Омск, Россия.

#### Адрес для переписки:

Шоронова Анастасия Юрьевна, ул. Подгорная, д. 52, г. Омск, Россия, 644070

Тел.: +7 (950) 789-32-04

E-mail: nastasya1994@mail.ru

**Статья поступила в редакцию:** 15.05.2024

**Рецензирование пройдено:** 27.05.2024

**Подписано в печать:** 01.06.2024

#### Information about authors:

**Akulinin V.V.**, MD, PhD, professor, head of department of histology, cytology and embryology, Omsk State Medical University, Omsk, Russia.

**Shoronova A.Yu.**, assistant of department of histology, cytology and embryology, Omsk State Medical University, Omsk, Russia.

**Stepanov S.S.**, MD, PhD, researcher of department of histology, cytology and embryology, Omsk State Medical University, Omsk, Russia.

**Korzhuk M.S.**, MD, PhD, professor of department and clinic of Naval Surgery, Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia.

**Tagakov K.S.**, postgraduate student, department of histology, cytology and embryology, Omsk State Medical University, Omsk, Russia.

**Tsuskman I.G.**, candidate of veterinary sciences, associate professor of department of histology, cytology and embryology, Omsk State Medical University, Omsk, Russia.

**Stepanova L.V.**, candidate of veterinary sciences, senior lecturer of department of histology, cytology and embryology, Omsk State Medical University, Omsk, Russia.

**Girsh A.O.**, MD, PhD, professor of department of histology, cytology and embryology, Omsk State Medical University, Omsk, Russia.

**Sergeev V.I.**, resident of department of dentistry, Omsk State Medical University, Omsk, Russia.

#### Address for correspondence:

Shoronova Anastasia Yurievna, Podgornaya St., 52, Omsk, Russia, 644070

Tel: +7 (950) 789-32-04

E-mail: nastasya1994@mail.ru

**Received:** 15.05.2024

**Review completed:** 27.05.2024

**Passed for printing:** 01.06.2024