

DOI: 10.18499/2225-7357-2020-9-4-19-30



УДК 591.481.1+616-005.4-092.9

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

© Коллектив авторов, 2020

Сравнительная характеристика структурно-функциональных изменения поля CA₃ гиппокампа после острой ишемии и травмы головного мозга белых крыс

А. В. Горбунова, И. П. Кошман, А. Ю. Шоронова, Д. Б. Авдеев, В. А. Акулинин*, С. С. Степанов, А. С. Степанов, Л. М. Макарьева, М. С. Коржук

ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Омск, Россия

Цель исследования – изучить пирамидные нейроны и астроциты поля CA₃ гиппокампа головного мозга белых крыс в динамике после острой ишемии и тяжелой черепно-мозговой травмы.

Материал и методы. Острую ишемию моделировали путем 20-минутной окклюзии общих сонных артерий (ООСА), а тяжелая черепно-мозговая травма (ТЧМТ) – ударом свободно падающего груза. Использовали окраску по Ниссию, гематоксилином и эозином, иммуногистохимические реакции на NSE, MAP-2, p38, GFAP. Пролиферативную активность клеток оценивали с помощью реакции на Ki-67. Исследование проведено на тонких (4 мкм) серийных фронтальных срезах в контроле (животные без патологических факторов, n=5), через 1, 3, 7 и 14 суток после экспериментального моделирования ООСА (n=20) и ТЧМТ (n=20). Морфометрический анализ проводили с использованием программы ImageJ 1.52s. Определяли относительную площадь зон отека-набухания в нейропиле, численную плотность пирамидных нейронов, содержание дистрофически и некробиотически измененных нейронов, содержание нейронов с одним и более ядрышками, пролиферирующих клеток, плотность крупных стволов дендритов пирамидных нейронов, общую численную плотность и относительную площадь гигантских синаптических терминалей в stratum lucidum. Оценку характера распределения вариационных рядов, проверку статистических гипотез, построение графиков проводили с помощью программ Statistica 8.0 и среды R.

Результаты. Легальность между группами не различалась и не превышала 7%. Через 1 сутки после ООСА и ТЧМТ статистически значимо увеличивались относительный объем отека-набухания, содержание дистрофически и некробиотически измененных нейронов, уменьшалась общая численная плотность и относительная площадь терминалей, но общая численная плотность нейронов не изменялась. Через 3, 7 и 14 суток активировались механизмы нейро-, глио- и синаптической пластичности. Увеличивалось содержание нейронов с двумя и более ядрышками, общее количество и содержание гипертрофированных астроцитов, восстанавливался цитоскелет поврежденных нейронов и увеличивалось содержание межнейронных синапсов. В течение периода с 3-х до 14-х суток общая численная плотность нейронов при ООСА уменьшалась на 16,3%, а при ТЧМТ – на 33,7% (p=0.001). Патологические и компенсаторно-восстановительные изменения носили диффузно-очаговый характер и проявлялись более выражено после ТЧМТ.

Заключение. Таким образом, после ООСА и ТЧМТ в поле CA₃ гиппокампа отмечались однотипные очаговые гетерохронные и гетероморфные дистрофические, некробиотические и компенсаторно-восстановительные изменения нервной ткани. Структурно-функциональное восстановление происходило на фоне уменьшения общей численной плотности пирамидных нейронов и отека-набухания нервной ткани. Более выраженные дистрофические и некробиотические изменения при ТЧМТ сочетались с более выраженными компенсаторно-восстановительными изменениями астроцитов и гигантских межнейронных синапсов поля CA₃ гиппокампа. Выявленные изменения рассматривались как основа стандартной перманентной компенсаторно-восстановительной реорганизации нервной ткани гиппокампа в посттравматическом и посттравматическом периоде.

Ключевые слова: острая ишемия, черепно-мозговая травма; CA₃ гиппокампа; нейроны, дендриты, синапсы, цитоскелет, астроглия; иммуногистохимия; морфометрия; крысы Wistar.

Comparative Characteristics of Structural and Functional Changes in the Hippocampal CA₃ Region in White Rats After Acute Ischemia and Brain Injury

© A.V. Gorbunova, I.P. Koshman, A.Yu. Shoronova, D.B. Avdeev, V.A. Akulinin*, S.S. Stepanov, A.S. Stepanov, L.M. Makar'eva, M.S. Korzhuk, 2020

Omsk State Medical University, Omsk, Russia

The aim of the study was to study pyramidal neurons and astrocytes of the hippocampal CA₃ region in dynamics in white rats after acute ischemia and severe traumatic brain injury.

Material and methods. Acute ischemia was simulated by 20-minute occlusion of the common carotid arteries (CCA), and severe traumatic brain injury (TBI) by a free-falling weight impact. The Nissl staining, hematoxylin and eosin staining, immunohistochemical reactions for NSE, MAP-2, p38, GFAP were used in the study.

The proliferative activity of the cells was assessed using the Ki-67 response. The study was carried out on thin (4 μ m) serial frontal sections in the animals of the control group (animals without pathological factors, n=5) in 1, 3, 7 and 14 days after the experimental modeling of CCA occlusion (n=20) and TBI (n=20). Morphometric analysis was performed using the ImageJ 1.52s software. The relative area of edema-swelling zones in the neuropil, the number density of pyramidal neurons, the content of dystrophic and necrobiotically altered neurons, the content of neurons with one or more nucleoli, proliferating cells, the density of large trunks of pyramidal neurons dendrites, the total number density and the relative area of giant synaptic terminals in stratum lucidum was detected. The distribution of variation series, the verification of statistical hypotheses, and the construction of graphs were assessed using the Statistica 8.0 software and the R.

Results. Mortality between groups did not differ and did not exceed 7%. In a day after CCA occlusion and TBI, there was a statistically significant increase in the relative volume of edema-swelling, the content of dystrophic and necrobiotically altered neurons, the total number density and the relative area of the terminals decreased, but the total number density of neurons did not change. In 3, 7 and 14 days, the mechanisms of neuro-, glio- and synaptic plasticity were activated. The content of neurons with two or more nucleoli increased, the total number and content of hypertrophied astrocytes increased, the cytoskeleton of damaged neurons was restored, and the content of interneuronal synapses increased. During the period from 3 to 14 days, the total number density of neurons in CCA occlusion decreased by 16.3%, and in TBI – by 33.7% (p=0.001). Pathological and compensatory-restorative changes were of a diffuse-focal nature and were more pronounced after TBI.

Conclusion. Thus, the same type of focal heterochronous and heteromorphic dystrophic, necrobiotic and compensatory-restorative changes in the nervous tissue were observed after CCA occlusion and TBI in the hippocampal CA₃ region. Structural and functional recovery occurred together with a decrease in the total numerical density of pyramidal neurons and edema-swelling of the nervous tissue. More pronounced dystrophic and necrobiotic changes in TBI were combined with more pronounced compensatory-restorative changes in astrocytes and giant interneuronal synapses of the hippocampal CA₃ region. The revealed changes were considered as the basis for the standard permanent compensatory-restorative reorganization of the nervous tissue of the hippocampus in the postischemic and post-traumatic periods.

Key words: acute ischemia, traumatic brain injury; hippocampal CA₃ region; neurons, dendrites, synapses, cytoskeleton, astroglia; immunohistochemistry; morphometry; Wistar rats.

***Автор для переписки:**

Акулинин Виктор Александрович
Омский государственный медицинский университет, ул.
Ленина, 12, Омск, 644099, Российская Федерация

***Corresponding author:**

Viktor Akulinin
Omsk State Medical University, ul. Lenina, 12, Omsk, 644099,
Russian Federation
E-mail: v_akulinin@outlook.com

Введение

Ишемические и травматические повреждения головного мозга в настоящее время являются основными причинами смерти и инвалидизации населения [11, 17, 23].

В этой связи целесообразно проведение сравнительного экспериментального исследования особенностей структурно-функциональных изменений нервной ткани различных отделов головного мозга после острой ишемии и черепно-мозговой травмы. Для этой цели, в силу своего глубокого расположения, идеально подходит гиппокамп, который является частью лимбической системы, играет важную роль в обучении и хранении информации, регуляции эмоций, сна и бодрствования. Гиппокампальная формация играет ключевую роль в осуществлении когнитивных функций, памяти, пространственной ориентации, фильтрации важной информации [20, 23, 24]. Изменения этих функций хорошо изучены при различных патологических состояниях, включая ишемию и травму головного мозга [4, 5, 8, 9]. Даже незначительные повреждения гиппокампа неизбежно приво-

дят к когнитивной дисфункции и нарушениям пространственной ориентации [8].

Структурная организация гиппокампа (нейро-глио-цито-, дендро- и синаптоархитектоника) хорошо изучена в норме. Нейроны гиппокампа отличаются структурным и генетическим полиморфизмом [8]. Кроме того, в поле CA₃ на пирамидных нейронах (в stratum lucidum) имеются гигантские синапсы, которые можно легко идентифицировать и изучать с помощью световой иммуногистохимии в норме и при патологии [12, 16, 26]. Известно, что для гиппокампа характерна высокая синаптическая пластичность, которая обеспечивает адаптивную, компенсаторную и репаративную реорганизацию межнейронных отношений [15].

Хорошо изучены деструктивные последствия острой ишемии и ЧМТ разной этиологии [10, 13, 19, 25, 26]. Кроме того, доказана компенсаторно-восстановительная роль пространственной реорганизации нейро-глиоцито-архитектоники и межнейронных отношений в частично поврежденном гиппокампе [3, 7, 25]. Несмотря на большое количество исследований, посвященных изучению поля CA₃ гиппокампа головного мозга белых крыс при различных патологических состояниях, особенности его реорганизации после ООСА и ТЧМТ в сравнительном аспекте изучены недостаточно полно.

Цель настоящего исследования – изучить пирамидные нейроны (тела, дендриты, крупные синапсы) и астроциты поля CA₃ гиппокампа головного мозга белых крыс в

динамике после острой ишемии и тяжелой черепно-мозговой травмы.

Материал и методы исследования

Исследования выполнены в ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет», одобрены этическими комитетами вуза (протокол № 83 от 14 октября 2016 года; протокол № 107 от 2 октября 2018 года). Использовали аутбредных половозрелых крыс стока Wistar (самцы масса 270–350 гр.) Животных содержали в стандартных лабораторных условиях, эксперимент проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.77 №755) и с рекомендациями Международного комитета по науке о лабораторных животных, поддержанных ВОЗ, директивой Европейского Парламента № 2010/63/EU от 22.09.10 «О защите животных, используемых для научных целей».

Моделировали 20-минутную острую ишемию (окклюзия общих сонных артерий) и тяжелую черепно-мозговую травму (ТЧМТ). Эксперименты проводили под наркозом: Zoletil 100 (5–7 единиц). Контролем служили интактные крысы (n=10).

Через 1, 3, 7, 14 суток после ООСА (n=20, по 5 крыс на каждый срок) и ТЧМТ (n=20, по 5 крыс на каждый срок) (под наркозом Zoletil 100) головной мозг фиксировали перфузией: сначала вводили 100–125 мл раствора 0.9% NaCl и Фрагмина (5000 единиц), а затем – 30 мл 4% раствора параформальдегида на фосфатном буфере (рН 7.2–7.4). Мозг извлекали и хранили в фиксаторе при температуре 3–5°C. Далее с помощью автомата «STP 120» материал заключали в гомогенизированный парафин (HISTOMIX®). Серийные фронтальные срезы толщиной 4 мкм готовили с помощью микротомы HM 450 (Thermo) на уровне (-) 2.40 и (-) 3.36 мм от Bregma [21].

Общую качественную оценку нервной ткани и идентификацию клеток поля CA₃ проводили на препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, при гистохимической реакции на NSE и GFAP; численную плотность пирамидных нейронов и астроцитов определяли при окраске по Ниссля (учитывали только нейроны с видимым ядрышком); цитоскелет нейронов (тела и отростки) изучали с помощью реакции на MAP-2, цитоскелет астроцитов – GFAP; гигантские синаптические терминалы – p38 (синаптофизин); пролиферирующие клетки – Ki-67. Для иммуногистохимической реакции срезы помещали на полилизиновые стекла. В качестве первичных использовали моноклональные мышиные антитела (Bond Ready-to-Use Primary Antibody; Leica Biosystems Newcastle Ltd, Великобрита-

ния) и поликлональные антитела (NSE). Для визуализации GFAP астроцитов и MAP-2 нейронов использовали мультимерный набор Novolink™ (DAB) Polymer Detection System (Leica Biosystems Newcastle Ltd, Великобритания). Для NSE использовали поликлональные антитела (источник кролик) к крысиному антигену (Cloud-Clone Corp.). После реакции с первичными антителами срезы инкубировали со вторичными антителами, а затем с хромогеном DAB (3,3'-диаминобензидин), докрашивали гематоксилином, заключали в полистирол.

Препараты фотографировали на микроскопе Leica DM 1000 (объектив ×100, камера GXCAM-DM800 Unique Wrap-Around 8MP AUTOFOCUS USB, pixel size 1.4×1.4 μm), изображения сохраняли в файлах с расширением tiff (2592×1944 пикселей). Для достижения максимальной контрастности и четкости изображения проводили коррекцию с помощью фильтра Camera Raw (контрастность, баланс белого, четкость) в Photoshop CC. Дальнейшее морфометрическое исследование осуществляли с использованием программы ImageJ 1.52 s. На каждый срок использовали по 50 случайно выбранных полей зрения (область интереса) CA₃ гиппокампа. При иммуногистохимической окраске на p38, MAP-2 и GFAP цветные изображения трансформировали в бинарные, на которых определяли ("Analyze Particles") относительную площадь или численную плотность соответствующих структур: синаптических терминалов (на 1 мм²; область интереса: 25×25 мкм; объектив ×100), плотность светлых и темных дендритных стволов на пересечении с прямой линией (1 мм), доля глиофибрилл в поле зрения (%). Численную плотность пирамидных нейронов определяли по наличию ядрышек на срезах перикарионов (окраска по Ниссля; область интереса: 130×70 мкм; объектив ×100). Отдельно рассчитывали содержание нейронов с одним и более одного ядрышка, а также долю нормо-, гипо- и гиперхромных нейронов (несморщенных и пикноморфных) (на 200 верифицированных нейронов).

Для выявления зон отека-набухания (максимальная яркость пикселей) нервной ткани на препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, использовали плагин-фильтр "Find Maxima" из программы ImageJ 1.52s. Определяли относительную площадь зон максимальной яркости, которые затем переводили в объем (на 1 мм³).

Все изображения с одного срока по окраскам хранили в стеках (программа ImageJ). Из полученных массивов графических изображений с помощью генератора случайных чисел (Statistica 8.0) проводили процедуру рандомизации зон интереса (отбирали n=50, на каждый срок). Характер распределения полученных вариационных рядов оценивали с

помощью теста Shapiro–Wilk (Statistica 8.0) и квантильных графиков (среда R). Вариационные ряды не соответствовали условиям применения методов параметрической статистики. Для анализа данных подобного типа наиболее подходила медиана, которая является робастной характеристикой и не зависит от распределения [1]. Поэтому проверку статистических гипотез осуществляли непараметрическими критериями Манна–Уитни, ANOVA (однофакторный дисперсионный анализ) Краскела–Уоллиса (StatSoft Statistica 8.0). Количественные данные в исследовании представлены как медиана (50% квартиль – мера центральной тенденции), 25–75% квартили, диапазоны без выбросов (Max–Min). Нулевая гипотеза отвергалась при $p \leq 0.05$ [1].

Результаты и их обсуждение

В поле CA₃ гиппокампа животных контрольной группы преобладали типичные нормохромные пирамидные нейроны с крупным ядром, содержащим одно большое ядрышко (диаметр 2.7 ± 0.8 мкм). Нейропил молекулярного слоя представлен однородным субстратом без структурных проявлений отека-набухания (рис. 1а). Тела и отростки пирамидных нейронов равномерно заполнены маркером на MAP-2 (рис. 1 б). Вокруг нейронов (на перикарионе и апикальных дендритах в stratum lucidum) располагалось большое количество гигантских синаптических терминалей (p38-позитивные округлые структуры) (рис. 1 в). В stratum radiatum и lacunosum молекулярного слоя гигантские терминали встречались очень редко. GFAP-позитивный материал выявлялся в телах и отростках астроцитов (рис. 1 г). Волокнистые астроциты имели древовидную организацию, небольшое тело, длинные слабоблаговетвленные отростки с очень высокой плотностью GFAP, локализовались преимущественно в молекулярном и полиморфном слоях (рис. 1г). Для протоплазматических астроцитов было характерно крупное тело, толстые короткие первичные отростки с неровными контурами, рыхлое заполнение хромогеном, преобладали в слое пирамидных нейронов (рис. 1г). Статистически значимых различий между контролем для группы с ООСА и ТЧМТ по всем, указанным в разделе «Материал и методы исследования» переменным для нейронов, астроцитов и синапсов, не выявлено (критерий Манна–Уитни для независимых выборок, $p > 0.4$).

После ООСА и ТЧМТ появлялись типичные для обеих групп структурные проявления гидропической (вакуолизация) и белковой дистрофии (гиперхромия), хроматолиза (гипохромия), отека-набухания тел нейронов, крупных дендритов, тел и крупных отростков астроцитов, олигодендроглиоцитов и нейропиля, а также некробиотические изменения

(сморщенные нейроны, клетки-тени) (рис. 2а).

По данным анализа препаратов, окрашенных тионином и гематоксилин–эозином, в остром периоде (1-е и 3-и сутки) в поле CA₃ сравниваемых групп животных (ООСА, ТЧМТ) преобладали гидропические и гиперхромные обратимые изменения нервной ткани. Однако, встречались участки CA₃, в которых 60–80% (95% ДИ) нейронов имели признаки некробиотических пикноморфных изменений (рис. 2а). В необратимо измененных пикноморфных нейронах дегидратация, конденсация, гомогенизация хроматофильного вещества ядра и цитоплазмы достигали крайней степени, сопровождалась «исчезновением» ядрышка и выраженным уменьшением объема клеток. Максимальное количество очагов таких нейронов выявлено через 3 суток после ТЧМТ (ТЧМТ – 15, ООСА – 9 из 50 полей зрения) на фоне более выраженного, чем после ООСА, отека-набухания нервной ткани (табл. 1, 3). Клетки-тени встречались редко.

Через 7 и 14 суток после ООСА и ТЧМТ, в сравнении с острым периодом (1-е и 3-и сутки), содержание нормохромных нейронов частично восстанавливалось (табл. 1). При этом общая численная плотность нейронов в течение 14 суток наблюдения (начиная с 3-х суток) статистически значимо уменьшалась: после ООСА – на 16.3%, а после ТЧМТ – на 33.7% ($p = 0.001$) (табл. 2). Это свидетельствует о том, что часть пирамидных нейронов CA₃ после ООСА и ТЧМТ (больше) подвергалась необратимым изменениям или полностью разрушалась и элиминировалась путем фагоцитоза. Необходимо отметить, что в обеих группах значительно увеличивался разброс значений общей численной плотности нейронов в разных полях зрения. Это свидетельствовало о явных очаговых проявлениях генетического полиморфизма изначально однотипных по структуре пирамидных нейронов поля CA₃.

О полиморфизме пирамидных нейронов поля CA₃ гиппокампа свидетельствовало также очаговое увеличение после ООСА и ТЧМТ содержания клеток с 2–3 ядрышками (табл. 4). Вероятно, что это связано с компенсаторной активацией белок-синтетической функции ядер устойчивых к ишемии пирамидных нейронов, необходимой для реализации механизмов нейропластичности на фоне частичного повреждения нервной ткани. В наибольшей степени последнее проявлялось после ООСА, в зонах высокого содержания неповрежденных нейронов (табл. 4).

По данным иммуногистохимического исследования, после ООСА и ТЧМТ в поле CA₃ уменьшалась плотность распределения p38-позитивных (синаптофизин) гигантских терминалей (рис. 2в) и появлялось большое количество пирамидных нейронов с признаками

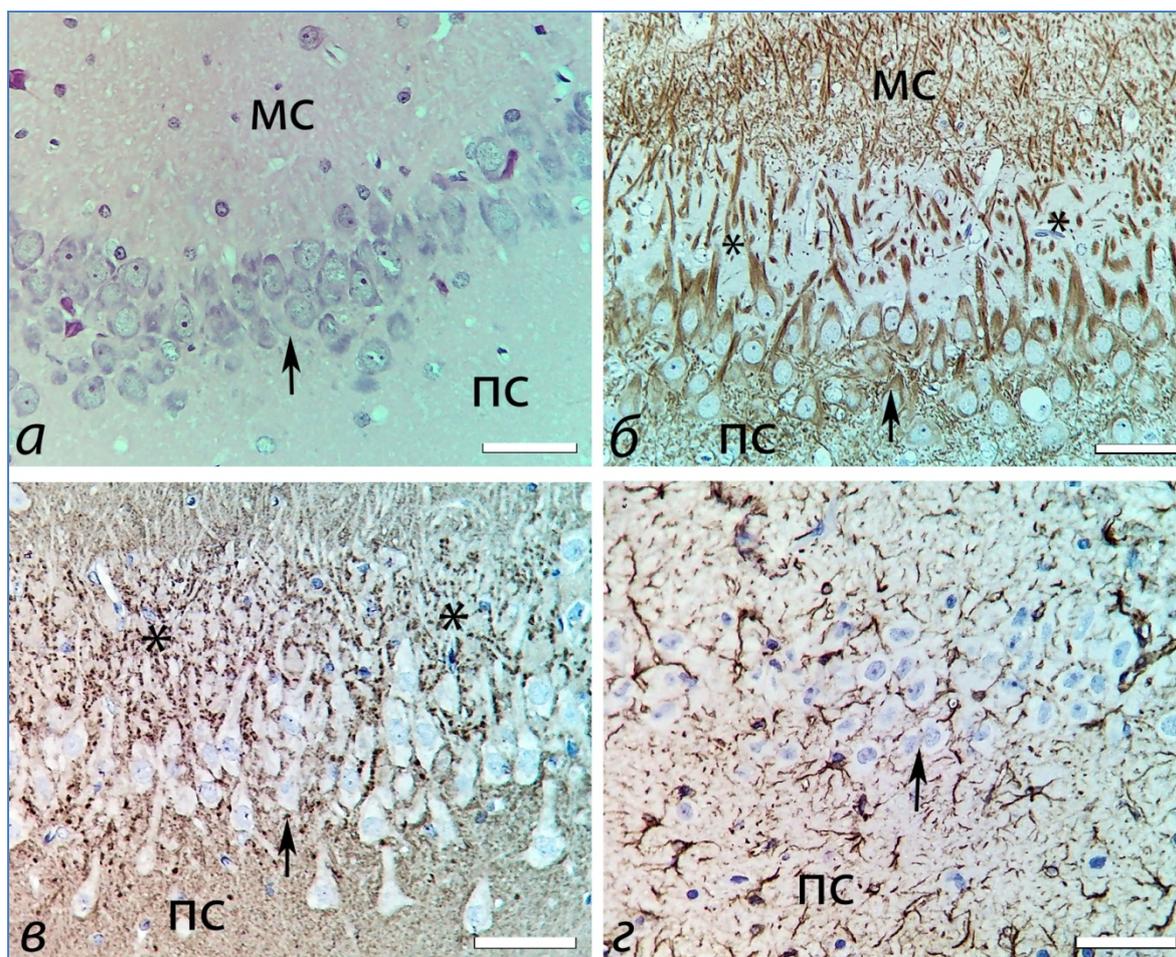


Рис. 1. Фрагменты поля CA₃ гиппокампа головного мозга белых крыс в норме: превалируют нормохромные пирамидные нейроны (а), равномерно заполненные MAP-2-позитивным материалом (б), вокруг тел и дендритов пирамидных нейронов располагается большое количество крупных p38-позитивных синаптических терминалей (в). Стрелки – слой пирамидных нейронов, * – stratum lucidum, MC – молекулярный слой, ПС – полиморфный слой. Окраска гематоксилином и эозином (а), иммуногистохимическая реакция на MAP-2 (б), p38 (синаптофизин) (в), GFAP (z). Об. 40; масштабный отрезок – 50 мкм.

Доля (%) нормохромных пирамидных нейронов (из 200 верифицированных по ядрышку на каждый срок в группе) в поле CA₃ гиппокампа белых крыс в норме, после ООСА и ТЧМТ

Таблица 1

Подгруппы	Группы	
	ООСА, n=20	ТЧМТ, n=20
Контроль, n=5	92.5 (87.9–95.7)	90.8 (85.9–94.4)
1-е сут, n=5	23.2 (17.5–29.7) p=0.0001*	20.8 (15.4–27.1) p=0.0001*
3-и сут, n=5	26.8 (20.8–33.5) p=0.0001*	24.5 (18.7–31.1) p=0.0001*
7-е сут, n=5	38.7 (31.9–45.8) p=0.0001*; p=0.02^	25.8 (19.9–32.5) p=0.0001*; p=0.01#
14-е сут, n=5	76.2 (69.7–81.9) p=0.0001*; p=0.0001^	57.7 (50.5–64.6) p=0.0001*; p=0.0001^; p=0.0001#

Примечание: * – парное сравнение с контролем по группе, ^ – сравнение с предыдущим сроком по группе, # – сравнение между группами (критерий Манна–Уитни). Различия статистически значимы при $p < 0.05$. Материал представлен как %, в скобках – 95% доверительный интервал.

повреждения цитоскелета – выраженная конденсация и фрагментация в перикарионе и дендритах при реакции на MAP-2 (рис. 3а, б, в).

Деструкция цитоскелета в основном была характерна для нейронов с дегидратацией и сморщиванием, что, вероятно, свидетельствовало о сопровождающих эти изменения

конформационных перестройках белков цитоскелета. Максимальная степень конденсации MAP-2-позитивного материала дендритов в обеих группах отмечена в сморщенных гиперхромных нейронах через 1, 3 и 7 суток. При этом наиболее часто крупные очаги сморщенных нейронов с высокой плотностью хромогена встречались через 3 суток после ТЧМТ

Таблица 2

Общая численная плотность пирамидных нейронов (на 1 мм²) в поле СА₃ гиппокампа белых крыс в норме, после ООСА и ТЧМТ (по 50 полей зрения на каждый срок), Me (Q1–Q3); Min–Max

Подгруппы	Группы	
	ООСА, n=20	ТЧМТ, n=20
Контроль, n=5	1601 (1162–1705); 1222–1865	1553 (1051–1662); 1051–1913 <i>p</i> >0.05#
1-е сут, n=5	1415 (1243–1534); 998–1845 <i>p</i> =0.01*	1428 (1186–1545); 943–1913 <i>p</i> =0.03*; <i>p</i> >0.05#
3-и сут, n=5	1370 (1155–1381); 1012–1625 <i>p</i> =0.001*; <i>p</i> =0.02^	1121 (934–1230); 692–1662 <i>p</i> =0.001*; <i>p</i> =0.001^; <i>p</i> =0.001#
7-е сут, n=5	1331 (1141–1387); 987–1699 <i>p</i> =0.001*	909 (638–1051); 332–1671 <i>p</i> =0.001*; <i>p</i> =0.01^; <i>p</i> =0.001#
14-е сут, n=5	1340 (1127–1398); 856–1567 <i>p</i> =0.001*	1030 (683–1114); 100–1536 <i>p</i> =0.001*; <i>p</i> =0.001#
ANOVA	df=3; H=17.2; <i>p</i> =0.04&	df=3; H=33.2; <i>p</i> =0.001&

Примечание: * – парное сравнение с контролем по группе, ^ – сравнение с предыдущим сроком по группе, # – сравнение между группами (критерий Манна-Уитни), & – множественное сравнение по всем срокам в группе (ANOVA Краскела-Уоллиса). Различия статистически значимы при *p*<0.05. Учитывали только нейроны с ядрышком.

Таблица 3

Относительный объем (%) зон отека-набухания в поле СА₃ гиппокампа белых крыс в норме, после ООСА и ТЧМТ (по 50 полей зрения на каждый срок), Me (Q1–Q3); Min–Max

Подгруппы	Группы	
	ООСА, n=20	ТЧМТ, n=20
Контроль	6.9 (6.1–7.4); 4.2–9.5	7.2 (6.4–7.9); 4.9–9.7
1-е сут, n=5	8.1 (7.5–9.2); 7.2–10.1 <i>p</i> =0.001*	9.8 (9.5–11.0); 7.5–12.9 <i>p</i> =0.001*; <i>p</i> =0.001#
3-и сут, n=5	10.3 (9.1–11.8); 8.3–14.7 <i>p</i> =0.001*; <i>p</i> =0.001^	12.5 (11.2–13.4); 8.1–16.5 <i>p</i> =0.001*; <i>p</i> =0.001^
7-е сут, n=5	8.2 (7.3–9.1); 6.8–10.5 <i>p</i> =0.001*; <i>p</i> =0.001^	9.5 (9.0–10.3); 7.9–12.0 <i>p</i> =0.001*; <i>p</i> =0.001^; <i>p</i> =0.01#
14-е сут, n=5	7.3 (6.5–8.0); 6.1–11.3 <i>p</i> =0.02^	10.3 (9.7–11.0); 8.2–11.8 <i>p</i> =0.001*; <i>p</i> =0.001#
ANOVA	df=3; H=23.2; <i>p</i> =0.01&	df=3; H=33.2; <i>p</i> =0.001&

Примечание: * – парное сравнение с контролем по группе, ^ – сравнение с предыдущим сроком по группе, # – сравнение между группами (критерий Манна-Уитни), & – множественное сравнение по всем срокам в группе (ANOVA Краскела-Уоллиса). Различия статистически значимы при *p*<0.05. Учитывали только нейроны с ядрышком

Таблица 4

Доля (%) пирамидных нейронов (из 200 верифицированных по ядрышку на каждый срок в группе) с двумя и более ядрышками в поле СА₃ гиппокампа белых крыс в норме, после ООСА и ТЧМТ

Подгруппы	Группы	
	ООСА, n=20	ТЧМТ, n=20
Контроль, n=5	15.0 (10.4–20.7)	12.8 (8.5–18.2)
1-е сут, n=5	31.5 (25.1–38.4) <i>p</i> =0.0002*	26.8 (20.8–33.5) <i>p</i> =0.001*
3-и сут, n=5	43.6 (36.6–50.8) <i>p</i> <0.0001*; <i>p</i> =0.02^	28.5 (25.4–35.3) <i>p</i> =0.0002*; <i>p</i> =0.002#
7-е сут, n=5	24.8 (19.0–31.4) <i>p</i> =0.02*; <i>p</i> =0.0001^	21.5 (16.0–27.8) <i>p</i> =0.0002*
14-е сут, n=5	12.6 (8.3–18.0) <i>p</i> =0.003^	21.1 (15.7–27.4) <i>p</i> =0.04*; <i>p</i> =0.03#

Примечание: * – парное сравнение с контролем по группе, ^ – сравнение с предыдущим сроком по группе, # – сравнение между группами (критерий χ^2). Различия статистически значимы при *p*<0.05. Материал представлен как %, в скобках – 95% доверительный интервал.

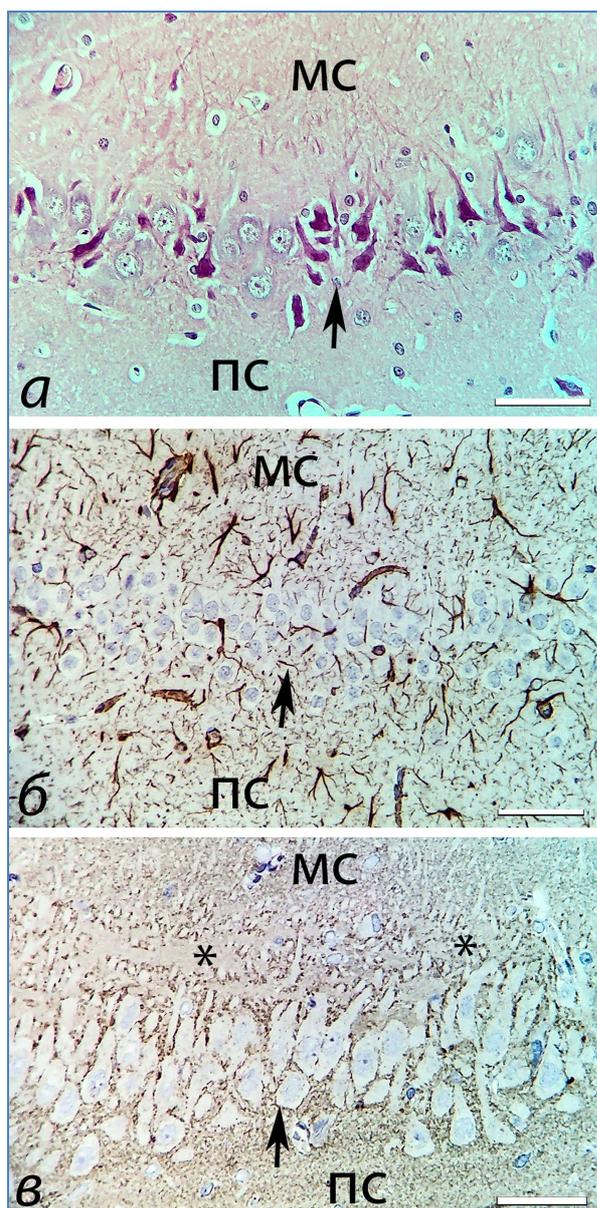


Рис. 2. Фрагменты поля СА₃ гиппокампа головного мозга через 1 (а, в) и 7 (б) суток после ООСА: а – проявления гидропической дистрофии (отека-набухание нейрита, астроцитов, нейронов), высокая плотность астроцитов, уменьшение доли нормохромных нейронов; б – гипертрофия отростков астроцитов; в – уменьшение количества гигантских терминалей в stratum lucidum. Стрелки – слой пирамидных нейронов, * – stratum lucidum, МС – молекулярный слой, ПС – полиморфный слой. Окраска гематоксилин-эозином (а), иммуногистохимическая реакция на GFAP (б) и p38 (в). Об. 40; масштабный отрезок – 50 мкм.

(рис. 3а, б, в). Доля темных апикальных дендритов относительно единицы длины пересекающей их под прямым углом прямой линии после ТЧМТ достигала 82.5–94.2% (95% ДИ), а после ООСА – 58.4–71.5% (95% ДИ, $p=0.01$). Через 14 суток после ООСА и ТЧМТ, доля клеток с выраженной конденсацией микротрубочек цитоскелета перикарионов и дендритов уменьшалась (рис. 3г). Вполне вероятно, что это свидетельствовало о восстановлении гидратации белков цитоскелета несморщенных и

полной деструкции части пикноморфных нейронов.

Таким образом, после ООСА и ТЧМТ в поле СА₃ гиппокампа были отмечены очаговые изменения плотности 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 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 3 суток. Именно в это время после ООСА и ТЧМТ были выявлены и максимальные проявления отека-набухания (табл. 3), и наибольшие дистрофические изменения нейронов. Далее (7-е и 14-е сутки) происходило восстановление цитоскелета основной массы несморщенных нейронов, а цитоскелет необратимо измененных сморщенных нейронов, вероятно, разрушался в течение длительного времени посредством фагоцитоза астроцитами и микроглиоцитами. Пикноморфные нейроны наблюдали на протяжении 14 суток после ООСА и ТЧМТ.

По данным иммуногистохимического изучения распределения GFAP в поле СА₃, в остром периоде (1–3 суток) после ООСА и ТЧМТ были выявлены структурные признаки отека-набухания и очаговой деструкции части отростков астроцитов, что сопровождалось, вероятно, разрушением GFAP глиофибрилл (табл. 5). Затем, через 7 и 14 суток, на фоне снижения проявлений отека-набухания нервной ткани, отмечались признаки активации популяции астроцитов и олигодендроглиоцитов: пролиферация, гиперплазия (реактивный астроглиоз) и рост отростков, увеличение плотности метки к GFAP. Очевидно, в этот период реактивный астроглиоз обеспечивал защиту и восстановление поврежденных нейронов. Причем после ТЧМТ гипертрофические проявления реактивного астроглиоза были немного более выражены, чем после ООСА (табл. 5). По сравнению с контролем, за счет пролиферации, через 3 и 7 суток в 2–3 раза увеличивалось количество Ki-67-позитивных глиоцитов. Однако, статистически значимых различий между группами не было выявлено. Таким образом, после ООСА и ТЧМТ в составе нейро-глио-микрососудистых комплексов одни астроциты атрофировались, а другие подвергались делению и гипертрофировались.

Деструктивные и репаративные изменения пирамидных нейронов, их дендритов и астроцитов поля СА₃ гиппокампа после ООСА и ТЧМТ сопровождалось статистически значимыми изменениями численной плотности и относительной площади крупных и

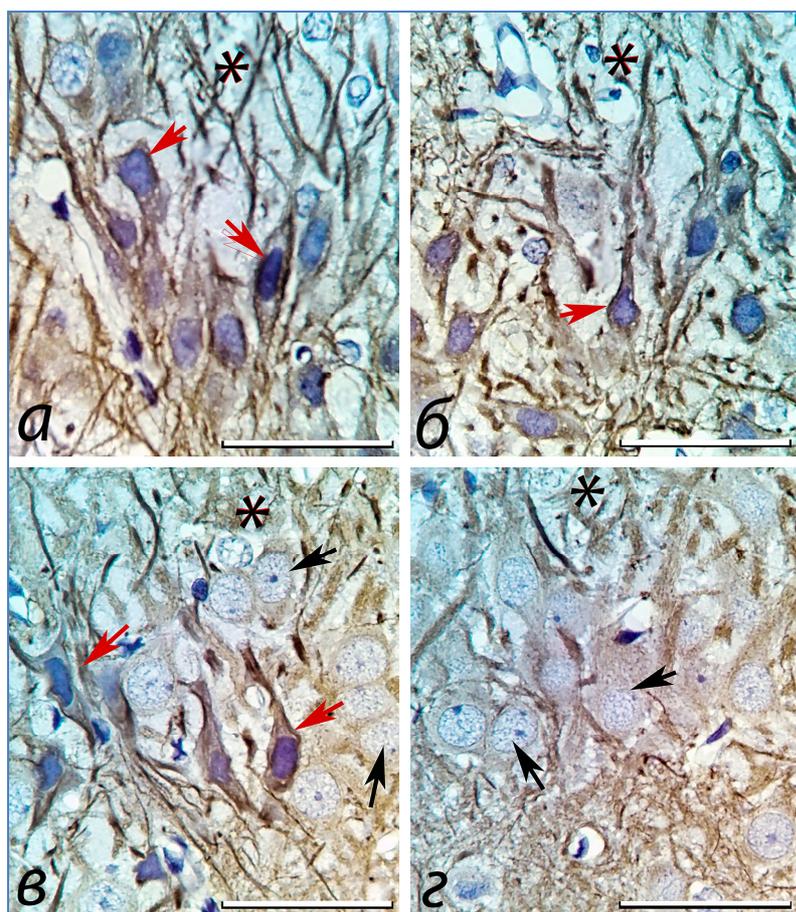


Рис. 3. Фрагменты поля CA₃ гиппокампа головного мозга через 1 (а), 3 (б), 7 (в) и 14 (г) суток после тяжелой черепно-мозговой травмы: увеличение доли гиперхромных сморщенных нейронов (красные стрелки) с выраженной конденсацией микротрубочек цитоскелета по периферии перикариона и дендритах; значительное восстановление гидратации цитоскелета через 14 суток (г). Черные стрелки – нормохромные нейроны, * – stratum lucidum. Окраска – реакция на MAP-2; об. 100; масштабный отрезок – 50 мкм.

Таблица 5
Относительный объем (%) астроцитов (GFAP) в поле CA₃ гиппокампа белых крыс в норме, после ООСА и ТЧМТ (по 50 полей зрения на каждый срок), Me (Q1–Q3)

Подгруппы	Группы	
	ООСА, n=20	ТЧМТ, n=20
Контроль, n=5	10.5 (8.0–13.0)	10.9 (8.6–12.5)
1-е сут, n=5	13.8 (11.2–16.2) <i>p</i> =0.01*	11.2 (9.6–12.8) <i>p</i> =0.01#
3-е сут, n=5	8.6 (6.2–11.3) <i>p</i> =0.001*; <i>p</i> =0.001^	8.2 (6.0–10.5) <i>p</i> =0.001*; <i>p</i> =0.001^
7-е сут, n=5	11.5 (8.9–14.0) <i>p</i> =0.001^	14.6 (10.8–16.7) <i>p</i> =0.001*; <i>p</i> =0.001^; <i>p</i> =0.01#
14-е сут, n=5	9.0 (6.5–11.6) <i>p</i> =0.001^	12.8 (9.9–18.5) <i>p</i> =0.001*; <i>p</i> =0.01#
ANOVA	df=3; H=25.4; <i>p</i> =0.01&	df=3; H=28.2; <i>p</i> =0.01&

Примечание: * – парное сравнение с контролем по группе, ^ – сравнение с предыдущим сроком по группе, # – сравнение между группами (критерий Манна–Уитни). Различия статистически значимы при *p*<0.05.

гигантских терминалей в stratum lucidum (рис. 4а, б, в; рис. 5) Эти терминалы надежно верифицировались с помощью иммуногистохимической реакции на синаптофизин (p38) синаптических пузырьков, а их большие размеры позволяли точно оценить динамику изменения количества и площади терминалей в посттравматическом периоде.

В остром периоде после ООСА и ТЧМТ появлялись очаги с низкой и высокой плотностью частиц p38-позитивного материала (рис. 4а, б, в). Низкая плотность соответствовала зонам CA₃ с высоким содержанием гиперхромных нейронов и выраженным проявлением отека-набухания нервной ткани, а высо-

кая плотность – зонам с преобладанием нормохромных нейронов.

Морфометрическая оценка синаптических терминалей проводилась по количеству и площади меток p38 на бинарных изображениях. Через 1 сутки после ООСА и ТЧМТ происходило смещение в сторону увеличения доли полей зрения с низкой площадью меток. Это свидетельствовало о разрушении части синаптических терминалей и содержащегося в них p38 (рис. 4а).

Однако уже через 3 суток после ООСА и ТЧМТ было отмечено компенсаторное увеличение общей численной плотности и площади меченых (p38) терминалей (рис. 4б; рис. 5а, б,

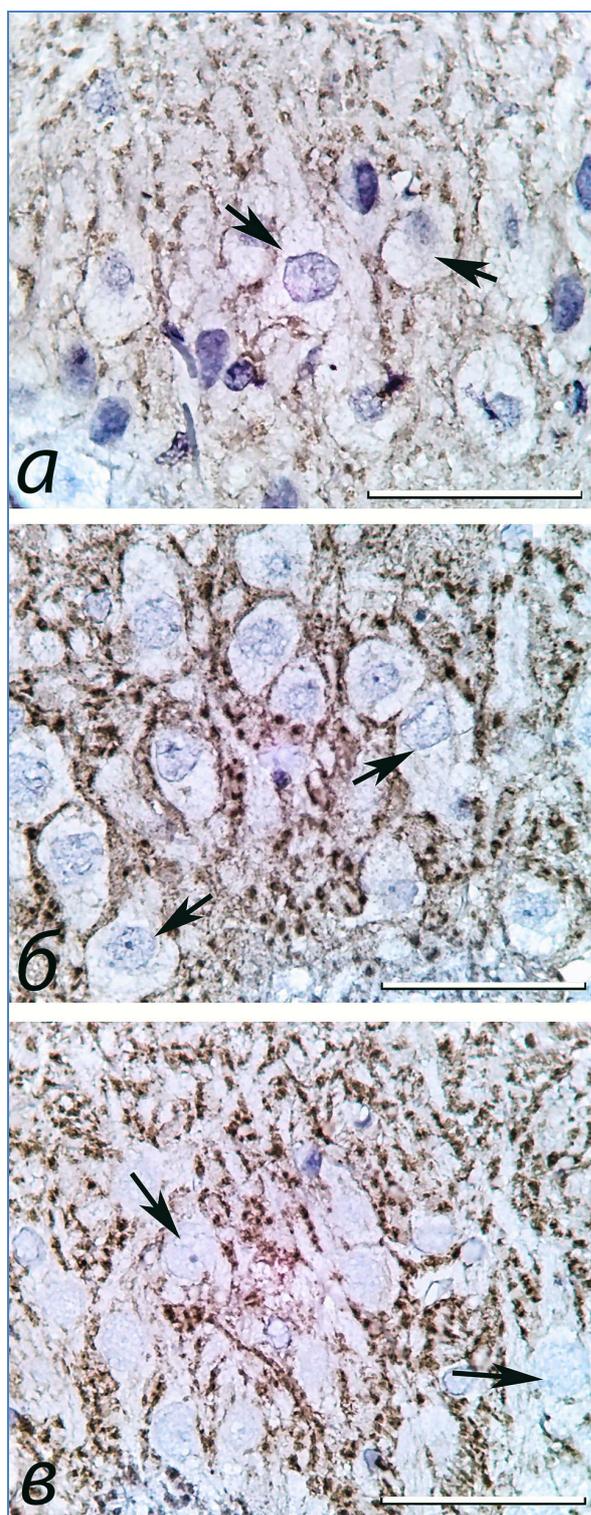


Рис. 4. Фрагменты поля CA₃ гиппокампа головного мозга через 1 (а), 3 (б) и 7 (в) суток после тяжелой черепно-мозговой травмы: через 1 сутки (а) отмечалось явное уменьшение плотности и яркости окраски р38-позитивных структур (синаптические терминалы), через 3 суток (б) появлялось большое количество крупных интенсивно окрашенных синаптических терминалов вокруг тел и отростков пирамидных нейронов (стрелки), через 7 (в) суток происходило восстановление распределения и интенсивности окраски терминалов в *stratum lucidum*. Окраска – реакция на р38; об. 100; масштабный отрезок – 50 мкм.

в, г). Далее показатели численной плотности терминалей были стабильными после ООСА и нестабильными после ТЧМТ (рис. 5а). Последнее, вероятно, свидетельствовало о разной степени активации процесса компенсаторной и репаративной синаптической пластичности на фоне частичной деструкции нейронов после ишемического и травматического патологического воздействия.

Таким образом, реорганизация межнейронных отношений в CA₃ гиппокампа после ООСА и ТЧМТ – длительный процесс, сочетающий в себе деструкцию, восстановление или/и образование новых синапсов. Реорганизация синапсов происходила на фоне очагового отека-набухания нервной ткани, очаговых дистрофических, некробиотических и компенсаторно-восстановительных изменений популяции пирамидных нейронов и астроцитов, а также реактивного астроглиоза. Вполне вероятно, что гетерохронность и очаговость изменения количества межнейронных синапсов в посттравматическом периоде обусловлена полиморфизмом пирамидных нейронов CA₃ – особенностями их реакции, чувствительности, устойчивости и пластичности. После ТЧМТ процесс реорганизации межнейронных связей был более выраженным, чем после ООСА. Общая численная плотность р38-позитивных терминалей через 7 суток после ТЧМТ превосходила контрольное значение на 28.3%, а значение через 1 сутки на 53.4%. Для ООСА таких перепадов значений не было выявлено (рис. 5а, б).

Результаты настоящего экспериментального гистологического и иммуногистохимического морфометрического исследования свидетельствовали о том, что в остром периоде (1-е и 3-и сутки) после ООСА и ТЧМТ в поле CA₃ гиппокампа 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 после ТЧМТ, несмотря на то, что летальность в сравниваемых группах статистически значимо не различалась. Это свидетельствовало о том, что, при одинаковой летальности, патологические изменения нервной ткани CA₃ после ТЧМТ были более выражены, вероятно, в результате присущей для травмы патогенетической многофакторности [8–10].

При наличии подобных реактивных и патологических изменений после ООСА и ТЧМТ на уровне поля CA₃ происходило неизбежное блокирование передачи импульсов и нарушение межнейронной коммуникации энторинальной коры, гиппокампа и зубчатой фации. Известно, что главным условием

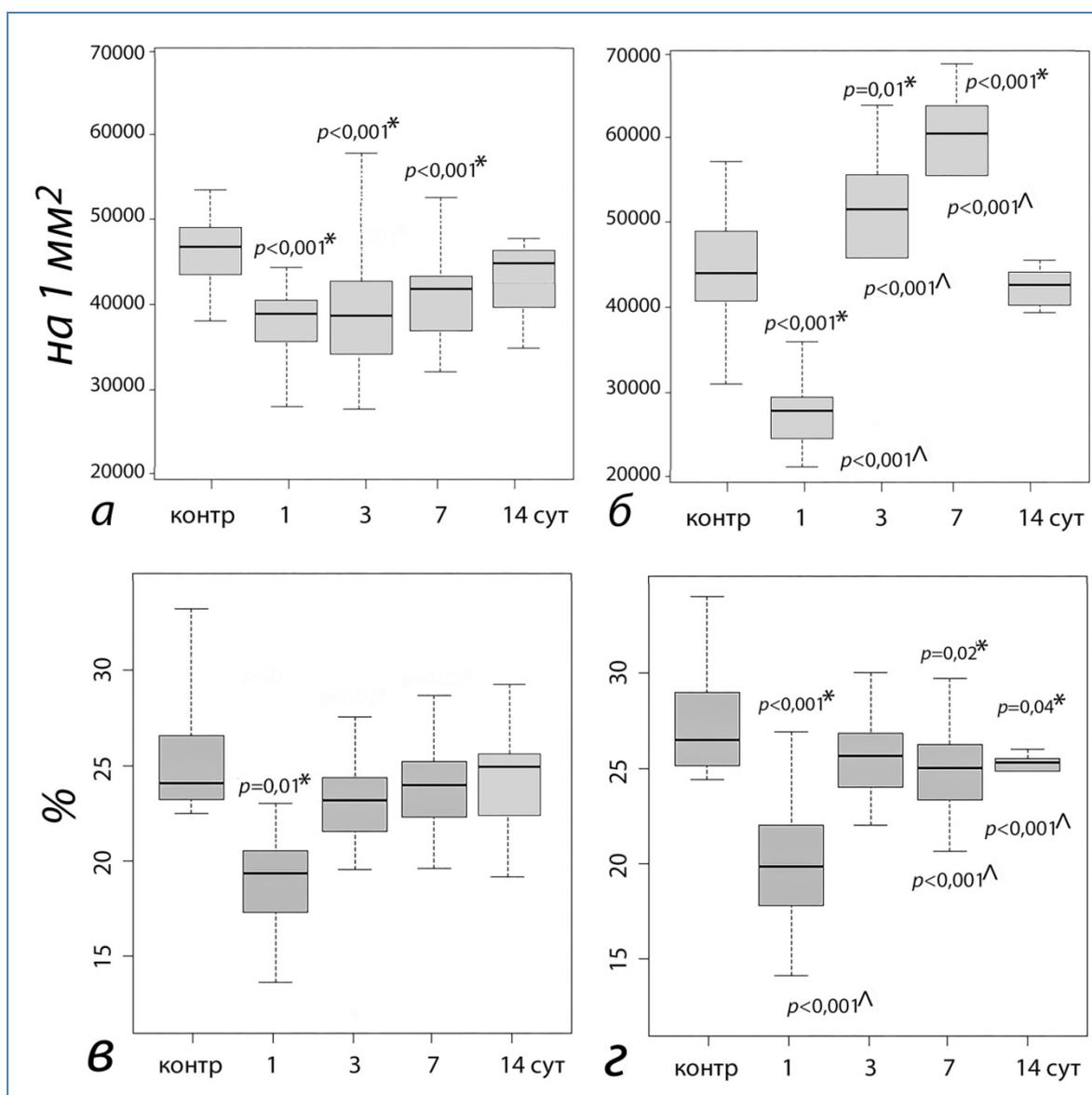


Рис. 5. Общая численная плотность (а, б) и относительная площадь (в, г) гигантских терминалей в stratum lucidum поля CA₃ после ООСА (а, в) и ТЧМТ (б, г): через 1 сутки происходит разрушение части синапсов с уменьшением плотности и общей площади их терминалей. Материал представлен как медиана (50%), 25–75% квантили (боксы), диапазон без выбросов (усы).

восстановления и стабилизации межнейронных связей является накопление нейромедиаторов в терминалях и восстановление цитоскелета дендритов [2, 3, 7]. В поле CA₃ гиппокампа после ООСА и, особенно, после ТЧМТ в течение 14 суток наблюдения этого не происходило. Полная стабилизация межнейронной коммуникации нейронов в поле CA₃ гиппокампа при травматическом повреждении, вероятно, требовала большего времени, чем после «чистой» острой ишемии. По данным ряда авторов, после травмы восстановление структурно-функционального состояния нервной ткани головного мозга до контрольного состояния невозможно в принципе. Вероятно, в нервной ткани взрослых млекопитающих происходит только приспособление к постоянной потере нейронов за счет репаративной синаптической пластичности и постоянной реорганизации сохранившихся ней-

ронных сетей [3]. Одновременно реализуется пластичность Геббеса и гомеостатическая пластичность – образование и гибель синапсов [14]. По литературным данным, частичное функциональное восстановление гиппокампа происходит за счет реорганизации связей устойчивых к ишемии нейронов и сопровождается образованием избыточного количества терминалей [8]. В пользу этого свидетельствуют и наши данные об увеличении выше контрольного уровня общей численной плотности гигантских синаптических терминалей stratum lucidum поля CA₃ гиппокампа через 3 и 7 суток после травмы. Через 7 суток 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 [6].

Полученные в работе новые данные послужат для уточнения основ и особенностей структурно-функциональной реорганизации нервной ткани гиппокампа после ООСА и ТЧМТ.

Выводы

1. После окклюзии общих сонных артерий и тяжелой черепно-мозговой травмы в поле СА₃ гиппокампа увеличивалась степень гидратации нервной ткани, активировались обратимые дистрофические и некробиотические процессы, механизмы реактивного астроглиоза, разрушались дендриты, уменьшалась численная плотность нейронов и синапсов. На этом фоне происходило усиление белок-синтетической функции, восстановление конформационного состояния белков цитоскелета поврежденных нейронов, активировались процессы синаптической пластичности.
2. Выявленные структурные изменения имели очаговый (гетерохронный и гетероморфный) характер и были более выражены после тяжелой черепно-мозговой травмы.
3. Структурно-функциональное восстановление межнейронных отношений в поле СА₃ происходило на фоне образования избыточного количества гигантских синаптических терминалей в stratum lucidum.
4. В совокупности найденные изменения необходимо рассматриваются как основу для перманентной компенсаторно-восстановительной реорганизации нейронных сетей гиппокампа после окклюзии общих сонных артерий и тяжелой черепно-мозговой травмы.
5. Полученные данные можно использовать при изучении феномена полиморфизма, селективного повреждения и восстановления нейронов гиппокампа.

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

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы / References

1. *Боровиков В. Статистика. Искусство анализа данных на компьютере. 2-ое изд. СПб.: Питер; 2003 [Borovikov V. Statistica. Iskusstvo analiza dannyykh na komp'yutere. 2-oe izd. Sain-Petersburg: Piter; 2003] (in Russian).*
2. *Лю Б.Н., Исмаилов С.Б., Лю М.Б. Состояния цитоскелета: связь с «кислородно-перекисными» эффектами в норме, при клеточных патологиях и апоптозе. Биомедицинская химия. 2008;54(1):58–77 [Lyu BN, Ismailov SB, Lyu MB. The state of cytoskeleton and its links "oxygen-peroxide" effects in some pathologies and apoptosis. Biomeditsinskaya Khimiya. 2008;54(1):58–77] (in Russian).*
3. *Семченко В.В., Степанов С.С., Боголепов Н.Н. Синаптическая пластичность головного мозга (фундаментальные и прикладные аспекты). М.: Директ-Медиа; 2014 [Semchenko VV, Stepanov SS, Bogolepov NN. Sinapticheskaya plastichnost' golovnoy mozga (fundamental'nye i prikladnye aspekty). M.: Direkt-Media; 2014] (in Russian).*
4. *Степанов А.С. Сравнительная характеристика синаптоархитектоники неокортекса, гиппокампа и миндалевидного комплекса белых крыс в норме и после острой ишемии. Журнал анатомии и гистопатологии. 2017; 6 (4): 47–54. doi: 10.18499/2225-7357-2017-6-4-47-54 [Stepanov AS. Comparative characteristics of the white rats neocortex, hippocampus and amygdale complex synptoarchitectonics in norm and after acute ischemia. Journal of Anatomy and Histopathology. 2017 Dec 12;6(4):47–54] (in Russian).*
5. *Степанов А.С., Акулинин В.А., Степанов С.С., Авдеев Д.Б., Горбунова А.В. Коммуникация нейронов поля СА₃ гиппокампа головного мозга белых крыс после острой ишемии. Общая реаниматология. 2018; 14(5): 38–49. doi: 10.15360/1813-9779-2018-5-38-49 [Stepanov AS, Akulinin VA, Stepanov SS, Avdeev DB, Gorbunova AV. Neurons Communication in the Hippocampus of Field CA₃ of the White Rat Brain after Acute ischemia. General Reanimatology. 2018 Oct 28;14(5):38–49] (in Russian).*
6. *Степанов С.С., Акулинин В.А., Авдеев Д.Б., Степанов А.С., Горбунова А.В. Структурно-функциональная реорганизация ядрышкового аппарата нейронов неокортекса, архикортекса и базальных ганглиев головного мозга белых крыс после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий. Журнал анатомии и гистопатологии. 2018;7(4):67–74. doi: 10.18499/2225-7357-2018-7-4-67-74 [Stepanov SS, Akulinin VA, Avdeev DB, Stepanov AS, Gorbunova AV. Structural-functional Reorganization of the Nucleolar Apparatus of Neurons of the Neocortex, Archicortex and Basal Ganglia of the Brain of White Rats After a 20-minute Occlusion of the Common Carotid Arteries. Journal of Anatomy and Histopathology. 2019 Jan 11;7(4):67–74] (in Russian).*
7. *Яшкичев В.И. Изменение гидратации белков цитоскелета нейрона – механизм образования и движения нервного импульса. Социально-экологические технологии. 2015;1–2:58–64 [Yashkichev VI. Change of hydration of proteins of the cytoskeleton – mechanism of creation and movement of nerve impulse. Environment and Human: Ecological Studies. 2015;1–2:58–64] (in Russian).*
8. *Arneson D, Zhang G, Ying Z, Zhuang Y, Byun HR, Ahn IS, et al. Single cell molecular alterations reveal target cells and pathways of concussive*

- brain injury. *Nature Communications*. 2018 Sep 25;9(1):3894. doi: 10.1038/s41467-018-06222-0
9. *Blennow K, Brody DL, Kochanek PM, Levin H, McKee A, Ribbers GM, et al.* Traumatic brain injuries. *Nature Reviews Disease Primers*. 2016 Nov 17;2(1): 16084. doi: 10.1038/nrdp.2016.84
 10. *Cole JH, Jolly A, de Simoni S, Bourke N, Patel MC, Scott G, et al.* Spatial patterns of progressive brain volume loss after moderate-severe traumatic brain injury. *Brain*. 2018 Jan 4;141(3):822–36. doi: 10.1093/brain/awx354
 11. *Coronado VG, Xu L, Basavaraju SV, et al.* Surveillance for traumatic brain injury-related deaths – United States, 1997–2007. *MMWR CDC Surveill Summ*. 2011;60:1–32.
 12. *Grievens RM, Duvelle É, Wood ER, Dudchenko PA.* Field repetition and local mapping in the hippocampus and the medial entorhinal cortex. *Journal of Neurophysiology*. 2017 Oct 1;118(4):2378–88. doi: 10.1152/jn.00933.2016
 13. *Harris TC, de Rooij R, Kuhl E.* The Shrinking Brain: Cerebral Atrophy Following Traumatic Brain Injury. *Annals of Biomedical Engineering*. 2019;47(9):1941–59. doi: 10.1007/s10439-018-02148-2
 14. *Hobbiss AF, Ramiro-Cortés Y, Israely I.* Homeostatic Plasticity Scales Dendritic Spine Volumes and Changes the Threshold and Specificity of Hebbian Plasticity. *iScience*. 2018 Oct;8:161–74. doi: 10.1016/j.isci.2018.09.015
 15. *Leal G, Bramham CR, Duarte CB.* BDNF and Hippocampal Synaptic Plasticity. *Vitamins and Hormones*. 2017;104:153–95. doi: 10.1016/bs.vh.2016.10.004
 16. *Legéndy CR.* On the ‘data stirring’ role of the dentate gyrus of the hippocampus. *Reviews in the Neurosciences*. 2017 Jul 26;28(6):599–615. doi: 10.1515/revneuro-2016-0080
 17. *Majdan M, Plancikova D, Brazinova A, Rusnak M, Nieboer D, Feigin V, et al.* Epidemiology of traumatic brain injuries in Europe: a cross-sectional analysis. *The Lancet Public Health*. 2016 Dec;1(2):e76–83. doi: 10.1016/S2468-2667(16)30017-2
 18. *Moser EI, Moser M-B, McNaughton BL.* Spatial representation in the hippocampal formation: a history. *Nature Neuroscience*. 2017 Nov;20(11):1448–64. doi: 10.1038/nn.4653
 19. *Ng SY, Lee AYW.* Traumatic Brain Injuries: Pathophysiology and Potential Therapeutic Targets. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2019 Nov 27;13:528. doi: 10.3389/fncel.2019.00528
 20. *Palacios EM, Sala-Llloch R, Junque C, Fernandez-Espejo D, Roig T, Tormos JM, et al.* Long-term declarative memory deficits in diffuse TBI: Correlations with cortical thickness, white matter integrity and hippocampal volume. *Cortex*. 2013 Mar;49(3):646–57. doi: 10.1016/j.cortex.2012.02.011
 21. *Paxinos G, Watson C.* The Rat brain in stereotaxic coordinates. 5th ed. San Diego: Elsevier Academic Press; 2005.
 22. *Raven F, Van der Zee EA, Meerlo P, Havekes R.* The role of sleep in regulating structural plasticity and synaptic strength: Implications for memory and cognitive function. *Sleep Medicine Reviews*. 2018 Jun;39:3–11. doi: 10.1016/j.smrv.2017.05.002
 23. *Rennert RC, Wali AR, Steinberg JA, Santiago-Dieppa DR, Olson SE, Pannell JS, et al.* Epidemiology, Natural History, and Clinical Presentation of Large Vessel Ischemic Stroke. *Neurosurgery*. 2019 Jun 14;85(suppl_1):S4–8. doi: 10.1093/neuros/nyz042
 24. *Spitz G, Bigler ED, Abildskov T, Maller JJ, O’Sullivan R, Ponsford JL.* Regional cortical volume and cognitive functioning following traumatic brain injury. *Brain and Cognition*. 2013 Oct;83(1):34–44. doi: 10.1016/j.bandc.2013.06.007
 25. *Stein TD, Alvarez VE, McKee AC.* Concussion in Chronic Traumatic Encephalopathy. *Current Pain and Headache Reports*. 2015 Aug 11;19(10):47. doi: 10.1007/s11916-015-0522-z
 26. *van den Bedem H, Kuhl E.* Molecular mechanisms of chronic traumatic encephalopathy. *Current Opinion in Biomedical Engineering*. 2017 Mar;1:23–30. doi: 10.1016/j.cobme.2017.02.003

Поступила в редакцию 16.10.2020

Принята в печать 23.11.2020

Received 16.10.2020

Accepted 23.11.2020

Для цитирования: Горбунова А.В., Кошман И.П., Шоронова А.Ю., Авдеев Д.Б., Акулинин В.А., Степанов С.С., Степанов А.С., Макарьева Л.М., Коржук М.С. Сравнительная характеристика структурно-функциональных изменений поля СА₃ гиппокампа после острой ишемии и травмы головного мозга белых крыс. *Журнал анатомии и гистопатологии*. 2020; 9(4): 19–30. doi: 10.18499/2225-7357-2020-9-4-19-30

For citation: Gorbunova A.V., Koshman I.P., Shoronova A.Yu., Avdeev D.B., Akulinin V.A., Stepanov S.S., Stepanov A.S., Makar'eva L.M., Korzhuk M.S. Comparative characteristics of structural and functional changes in the hippocampal CA₃ region in white rats after acute ischemia and brain injury. *Journal of Anatomy and Histopathology*. 2020; 9(4): 19–30. doi: 10.18499/2225-7357-2020-9-4-19-30