

Научная статья

УДК 616.714.1–616.831–001–091.81–092.9

doi:10.18499/2225-7357-2023-12-2-9-21

1.5.22 – клеточная биология

3.3.2 – патологическая анатомия



Морфологические основы реорганизации межнейронных взаимоотношений гиппокампа белых крыс после тяжелой черепно-мозговой травмы

В. А. Акулинин¹✉, А. Ю. Шоронова¹, С. С. Степанов¹, М. С. Коржук²,
Л. М. Макарьева¹, И. Г. Цускман¹, Д. Б. Авдеев¹, Л. В. Степанова¹

¹Омский государственный медицинский университет, Омск, Россия

²Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

Аннотация. Цель исследования – изучить морфологические изменения нейронов, глии и синаптических терминалей в СА1 и СА3 гиппокампа головного мозга белых крыс после тяжелой черепно-мозговой травмы (ТЧМТ). **Материал и методы.** Проведено экспериментальное исследование на аутбредных половозрелых белых крысах самцах стока Wistar. ТЧМТ (основная группа, n=30) моделировалась под наркозом (Zoletil-100) на оригинальной установке. Для контроля использовали интактных животных (n=6). Морфологическую оценку нервной ткани гиппокампа (СА1, СА3) осуществляли при помощи световой микроскопии (окраска гематоксилин–эозином, тионином по Нисслю), иммуногистохимической реакции на синаптофизин (p38), Caspase 3, GFAP и морфометрических методов исследования (программа ImageJ 1.53) в контроле и через 1, 3, 7, 14, 30 сут после ТЧМТ. Проверку статистических гипотез проводили с помощью непараметрических методов (критерии Колмогорова–Смирнова, Краскела–Уоллиса, Манна–Уитни, Вилкоксона, Спирмена) в программе Statistica 10.0. **Результаты.** Через 1 сут после ТЧМТ появлялись дегенеративно измененные темные нейроны, клетки-тени, отмечались мелкие очаги выпадения нейронов, выраженные проявления отека-набухания в перикарионах и нейропиле. Преобладали коагуляционно-ишемические механизмы гибели нейронов, структурные и иммуногистохимические признаки активации апоптоза (Caspase 3 в перикарионах) выявлялись в единичных клетках поля СА1. В отдаленном периоде исследования (30 сут) сохранялись гидропические изменения, хроматолиз с просветлением цитоплазмы, гиперхромия без и с гомогенизацией структур нейронов. Было характерно увеличение нейроглиального индекса. Между отделами и сроками выявлены статистически значимые различия основных морфометрических показателей. Через 30 сут после травмы в СА1 общая численная плотность нейронов снижалась на 43,8%, а в СА3 – 22,0%, сохранялся значительный (20–40%) дефицит терминалей синапсов нейропиля. Таким образом, компенсаторно-восстановительная реорганизация нейронных сетей гиппокампа происходила на фоне его структурно-функциональной недостаточности. Вероятно, в реализации нейропластичности определенную роль играла Caspase 3. **Заключение.** После ТЧМТ выявлены диффузно-очаговые патоморфологические изменения клеток СА1 и СА3 гиппокампа. Увеличение относительного содержания глиальных клеток свидетельствовало о реализации феномена саногенеза нервной ткани. Реорганизация межнейронных связей происходила на протяжении 30 сут наблюдения, вероятно, с участием каспаз.

Ключевые слова: нейроны; нейроглия; синапсы; гиппокамп; иммуногистохимия; черепно-мозговая травма

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Акулинин В.А., Шоронова А.Ю., Степанов С.С., Коржук М.С., Макарьева Л.М., Цускман И.Г., Авдеев Д.Б., Степанова Л.В. Морфологические основы реорганизации межнейронных взаимоотношений гиппокампа белых крыс после тяжелой черепно-мозговой травмы // Журнал анатомии и гистопатологии. 2023. Т. 12, №2. С. 9–21. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2023-12-2-9-21>

ORIGINAL ARTICLES

Original article

Morphological Bases of Reorganization of the Hippocampal Interneuronal Relationships in White Rats After Severe Traumatic Brain InjuryV. A. Akulinin^{1✉}, A. Yu. Shorono¹, S. S. Stepanov¹, M. S. Korzhuk²,
L. M. Makar'eva¹, I. G. Tsuskman¹, D. B. Avdeev¹, L. V. Stepanova¹¹Omsk State Medical University, Omsk, Russia²S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia

Abstract. The aim of the study was to investigate morphological changes in neurons, glia and synaptic terminals in cytoarchitectonic fields CA1 and CA3 of the hippocampus in white rats after severe traumatic brain injury (STBI). **Material and methods.** This experimental study involved outbred adult white Wistar rats. STBI (main group, n=30) was simulated under anesthesia (Zoletil-100) on the tailor-made device. Intact animals (n=6) were used as controls. Morphological assessment of the hippocampal nervous tissue (in fields CA1 and CA3) was carried out using light microscopy (staining with hematoxylin and eosin, thionin according to Nissl), immunohistochemical reactions for synaptophysin (p38), Caspase 3, GFAP, and morphometric investigation techniques (ImageJ 1.53 program) in animals of the control group and in experimental animals in 1, 3, 7, 14, 30 days after STBI. Statistically hypotheses were tested using nonparametric tests (Kolmogorov–Smirnov, Kruskal–Wallis, Mann–Whitney, Wilcoxon, Spearman tests) in the Statistica program. 10.0. **Results.** In a day after STBI, there were noted degeneratively altered dark neurons, shadow cells, small foci of neuron prolapse, pronounced manifestations of edema-swelling in the perikarya and neuropil. Coagulative-ischemic mechanisms of neuronal death prevailed, structural and immunohistochemical signs of apoptosis activation (Caspase 3 in the perikarya) were detected in sporadic cells of the field CA1. In the late period of the study (in 30 days), hydropic changes, chromatolysis with cytoplasmic clearing, hyperchromia without and with homogenization of neuronal structures persisted. An increased neuroglial index was distinctive. Statistically significant differences in the main morphometric parameters were revealed between segments and terms. The total number density of neurons decreased by 43.8% in CA1 and in CA3 by 22.0% in 30 days after injury; a significant (20–40%) deficit of neuropil synapse terminals remained. Thus, the compensatory-restorative reorganization of the hippocampal neuronal networks occurred combined with its structural and functional insufficiency. Probably, Caspase 3 was crucial in implementing neuroplasticity. **Conclusion.** Post-STBI diffuse-focal pathomorphological changes were revealed in CA1 and CA3 cells of the hippocampus. An increased relative content of glial cells indicated the realization of sanogenesis of the nervous tissue. Reorganization of interneuronal connections occurred during 30 days of observation, caspases might be participants of this process.

Keywords: neurons, neuroglia, synapses, hippocampus, immunohistochemistry, traumatic brain injury

Conflict of interests: the authors declare no conflict of interests.

For citation: Akulinin V.A., Shorono A.Yu., Stepanov S.S., Korzhuk M.S., Makar'eva L.M., Tsuskman I.G., Avdeev D.B., Stepanova L.V. Morphological bases of reorganization of the hippocampal interneuronal relationships in white rats after severe traumatic brain injury. Journal of Anatomy and Histopathology. 2023. V. 12, №2. P. 9–21. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2023-12-2-9-21>

Введение

Изучение особенностей реакций различных отделов головного мозга на повреждение, выявление закономерностей реорганизации нейронов, нейроглии и межнейронных контактов является важной нейробиологической проблемой [5]. При этом тяжелая черепно-мозговая травма оказывает влияние на все отделы и структуры головного мозга по изученным механизмам первичного и вторичного повреждения нервной ткани в остром, подостром и отдаленном посттравматическом периодах [11, 12, 19, 32].

После закрытого повреждения головного мозга особое значение имеет сравнительное изучение не только механизмов повреждения, но и нейропластичности в сенсомоторной коре, как в основной зоне контакта с ударяющей платформой, и гиппокампе, который не имеет прямого контакта с травмирующим агентом. При этом под нейропластично-

стью понимают способность нервной системы восстанавливать функции посредством качественных и количественных нейрональных перестроек за счет изменения нейрональных связей и глиальных компонентов под влиянием экзогенных и эндогенных факторов среды. Таким образом, особенности патологических изменений во многом определяют особенности последующей нейропластической реорганизации гиппокампа [8]. Известно, что повреждение гиппокампа оказывает существенное влияние на когнитивные функции, память и пространственную ориентацию [29, 30]. Хорошо изучены структурные проявления ТЧМТ [12].

Гиппокамп обладает высоким нейропластическим потенциалом, который обеспечивается многообразием нейронов и организацией связей между ними, а также за счет структурного и генетического полиморфизма пирамидных нейронов и синапсов [10, 18, 22, 23]. Поэтому сравнительное комплексное

исследование нейронов, глиальных клеток и синапсов в гиппокампе позволит дополнить информацию об особенностях структурно-функциональной реорганизации нервной ткани после тяжелой черепно-мозговой травмы.

Необходимость исследования морфо-функционального состояния нейрональных синапсов обоснована стремлением к выявлению закономерностей реорганизации межнейронных отношений и активным поиском фармакологических средств для предотвращения деструктивных и стимуляции репаративных процессов, лежащих в ее основе [14, 24].

Несомненно, новые достижения в области нейробиологии, использование иммуногистохимических методов позволяет лучше понять процессы деструкции и компенсации, происходящие в нейронах, нейроглии и синапсах в различных отделах головного мозга при ТЧМТ [7, 31].

Цель настоящего исследования – изучить морфологические изменения нейронов, нейроглии и синаптических терминалей в полях СА1 и СА3 гиппокампа головного мозга белых крыс после оригинального авторского моделирования тяжелой черепно-мозговой травмы.

Материал и методы исследования

Эксперимент выполнен на базе ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» с учетом рекомендаций Международного комитета по работе с лабораторными животными, поддержанных ВОЗ, директивой Европейского Парламента №2010/63/Е от 22.09.2010 г. «О защите животных, используемых для научных целей». Обеспечение условий содержания лабораторных животных и используемый способ моделирования были согласованы и одобрены комиссией локального этического комитета университета (протокол №112 от 26.09.2019 г.). В ходе эксперимента использовали аутбредных половозрелых белых крыс самцов (n=63) сток Wistar массой 350–400 г. Общая летальность составила 47,3% (n=27).

В экспериментальной нейроморфологии для воспроизведения ТЧМТ у половозрелых крыс используются несколько типов воздействия на головной мозг [5]. Мы применяли оригинальный авторский способ моделирования травмы с использованием специальной установки с ударным механизмом, основанном на принципе передачи кинетической энергии падающего цилиндрического груза (Патент № 2788904 от 25.10.2021 г.) [4]. Тяжелая степень повреждения нервной ткани достигалась путем дозированного механического воздействия свободно падающим цилиндрическим грузом массой 598 г с высоты 35 см на затылочно-теменную область головы

и расчета потенциальной энергии удара, по формуле:

$$E \text{ удара} = m \times g \times h = 0,598 \times 9,8 \times 0,35 = 2,05 \text{ Дж},$$

где m – масса падающего груза, g – ускорение свободного падения, h – высота (расстояние от точки начала падения до верхнего края втулки, расположенной на планке).

Эксперимент на животных проводили с предварительной обязательной наркотизацией в/м введением Zoletil-100 в дозировке 10 мг/кг. Ожидали наступления глубокой фазы действия анестезии в виде отсутствия болевого рефлекса и полной миорелаксации. Крыс фиксировали на операционном столике с амортизирующей подушкой из губчатого материала для сохранения целостности и предотвращения перелома челюсти во время нанесения удара. Контролем служили интактные крысы без ТЧМТ (n=6), выживших крыс исследовали через 1, 3, 7, 14 и 30 сут после удара тяжелой степени (n=30).

Взятие материала осуществляли под наркозом. Сосудистое русло головного мозга крыс промывали введением в левый желудочек сердца 0,9% раствора NaCl (100–125 мл) и Фрагмина (5000 единиц). Далее головной мозг фиксировали перфузией 30 мл раствора 4% формальдегида (фосфатный буфер, pH 7,2–7,4) под давлением 90–100 мм рт. ст. в течение 15 мин. После декапитации головной мозг извлекали и хранили в фиксаторе при температуре 3–5°C. Через сутки материал с помощью автомата STP 120 (Thermo FS) заключали в гомогенизированный парафин (HISTOMIX). Фронтальные срезы толщиной 2–4 мкм готовили при помощи микротомы HM 450 (Thermo FS) на уровне от 1.2 – (-3.0) до 2,2 – (-4,8) от Брегмы [26, 28].

Общий качественный и морфометрический анализ структурных элементов нервной ткани гиппокампа проводили по серийным микрофотографиям препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, а также тионином по методу Ниссля, сделанных на микроскопе Leica DM 1000 с получением цифровых микрофотографий высокого разрешения (tiff, 2592×1944 пикселей), обработанных в программе Photoshop CC с использованием фильтра Camera RAW (стандартные четкость, контрастность, баланс белого) и увеличением размерности (до 3780×2835 пикселей/см, разрешение 600 пикселей/дюйм). Идентификацию элементов нервной ткани осуществляли при помощи иммуногистохимических реакций. Синаптические терминалы верифицировали с помощью реакции на синаптофизин (p38). Синаптофизин (PA0299) – мышинные моноклональные антитела, клон 27G12, готовые к применению (Leica Biosystems Newcastle Ltd, Великобритания). Распределение активной формы Caspase 3 в нейронах изучали с помощью моноклональных мышинных антител (клон 3CSP03; изоотипы иммуноглобулинов

IgG2a), разведение 1:25 (Diagnostic BioSystems Inc., USA). Для выявления GFAP использовали мышиные моноклональные антитела (клон GA5; изотипы иммуноглобулинов IgG1), готовые к применению (Leica Biosystems Newcastle Ltd, Великобритания).

Полученные материал гистологических срезов СМК и гиппокампа после взаимодействия с первичными антителами инкубировали с вторичными антителами, хромогеном DAB (3,3'-диаминобензидин), докрашивали гематоксилином, заключали в полистирол. Для визуализации использовали мультимерный набор Novolink™ (DAB) Polymer Detection System (Leica Biosystems Newcastle Ltd, Великобритания).

В процессе морфометрического анализа клеток гиппокампа определяли общую численную плотность нейронов (ОЧПН, на 1 мм²), суммы всех глиальных клеток (ОЧПГК, на 1 мм²), нейроглиальный индекс (ОЧПГК/ОЧПН, отн.ед), а также абсолютное (численная плотность на 1 мм²) и относительное содержание (нейронов относительно ОЧПН, астроцитов, олигодендроцитов и микроглиоцитов относительно ОЧПГК, %) гиперхромных сморщенных (пикноморфных) нейронов (ГСМН), гиперхромных несморщенных нейронов (ГНН), гипохромных нейронов (ГиН) и клеток-теней (КТ), отдельно астроцитов (А), олигодендроцитов (Олд) и микроглиоцитов.

Анализ численной плотности синаптических терминалей проводили с помощью инструментов программы ImageJ 1.53 (<https://imagej.nih.gov/ij/docs/menus/process>). Так как СА1 и СА3 имеют существенное различие cito- и синаптоархитектоники сравнивали только терминали синапсов в stratum lacunosum молекулярного слоя, имеющих сходное строение нейропиля [2, 6]. Stratum lucidum СА3, где локализуются гигантские синапсы, в настоящем исследовании не рассматривали. В процессе морфометрии распознавали пики яркости негативного изображения используя фильтры "Enhance Contrast", "Subtract Background", "Find Maxima" и плагин FindFoci. Рандомизацию из 100 зон интереса (ROI, 20×20 мкм) на каждый срок исследования осуществляли отбором по 15 ROI с помощью генератора случайных чисел. Окончательную идентификацию синаптических терминалей (p38-позитивных меток) от окружающего нейропиля проводили на 8-битных изображениях в Threshold путем ручного управления (Over/Under), затем обработанные изображения считывали с помощью машинного обучения, алгоритм которого интегрирован с плагином FindFoci для ImageJ 1.53. Использование плагинов FindFoci Optimiser и FindFoci Batch сократило время обработки и скорость оценки параметра определения p38-позитивных терминалей на инвертированных цифровых изображениях, обеспечив

прозрачность полученных результатов исследования в режиме реального времени [21]. Автоматизированная обработка изображений с помощью FindFoci позволила исследовать пространство параметра в интерактивном режиме, стандартизовав процесс установки уровня фона, метода поиска, критериев слияния и отображения данных. Полученные результаты (List) переносили в Excel для дальнейшей обработки [6].

Характер распределения вариационных рядов использованных переменных в нашем исследовании отличался от нормального (Kolmogorov–Smirnov test, Shapiro–Wilk test). Поэтому проверку статистических гипотез осуществляли непараметрическими критериями по следующим направлениям: парное сравнение (между независимыми выборками – Mann–Whitney U-test, между зависимыми выборками – Wilcoxon test), множественное сравнение в динамике (1, 3, 7, 14 и 30 сут) посттравматического периода (ANOVA Kruskal–Wallis), парный корреляционный анализ (Spearman's rank correlation test). Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью прикладных программ пакета StatSoft Statistica 10.0. Количественные данные в исследовании представлены как медиана (Me – 50% квартиль, Q₂), интерквартильный разброс (Q₁–Q₃ – 25–75% квартили), (Min–Max), относительные значения (%) пересчитывали из абсолютных [1].

Результаты и их обсуждение

В контроле на срезах полей СА1 и СА3 гиппокампа преобладали нормохромные пирамидные нейроны с крупным светлым ядром, ядрышком правильной формы и глыбками тигроида, равномерно расположенным в виде опоясывающего капошона. Встречались единичные патологически измененные перикарионы, признаков гидропической дистрофии не наблюдалось. Отмечалось умеренное содержание равномерно распределенных в пространстве GFAP-позитивных клеток (рис. 1а, б).

Через 1 сут после ТЧМТ в СА1 гиппокампа появлялось большое количество нейронов с признаками изменения тинкториальных свойств без сморщивания, а также отмечались очаги выпадения нейронов с выраженным отеком нейропиля и пикноморфные нейроны с коагуляционно-ишемическим некрозом. Вокруг этих нейронов отмечали повышенное содержание микроглиоцитов (МГЦ), что, вероятно, свидетельствовало об усилении их фагоцитарной функции в ответ на появление необратимо измененных нейронов (рис. 2а, б).

В СА3 гиппокампа появление различных форм пикноморфных нейронов и гиперхромных нейронов без сморщивания с эктопией ядрышка и гомогенизацией цитоплазмы

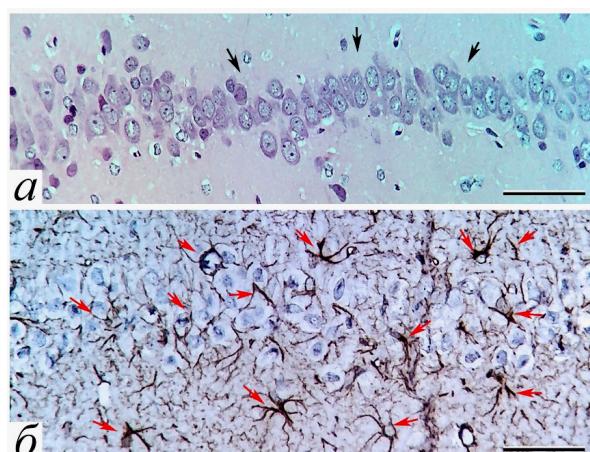


Рис. 1. Поле CA₁ гиппокампа белой крысы из группы контроля: преобладают нормохромные нейроны (а, черные стрелки), умеренное содержание GFAP-позитивных клеток (б, красные стрелки), нет признаков отеčných изменений нейронила. Окраска по методу Ниссля, иммуногистохимическая реакция на GFAP. Об. 40, шкала – 50 мкм.

Fig. 1. Field CA₁ of the hippocampus in a white rat from the control group: normochromic neurons predominate (a, black arrows), moderate content of GFAP-positive cells (b, red arrows), no signs of edematous changes in the neuropil. Staining according to Nissl technique, immunohistochemical reaction for GFAP. Ob. 40, scale – 50 μm.

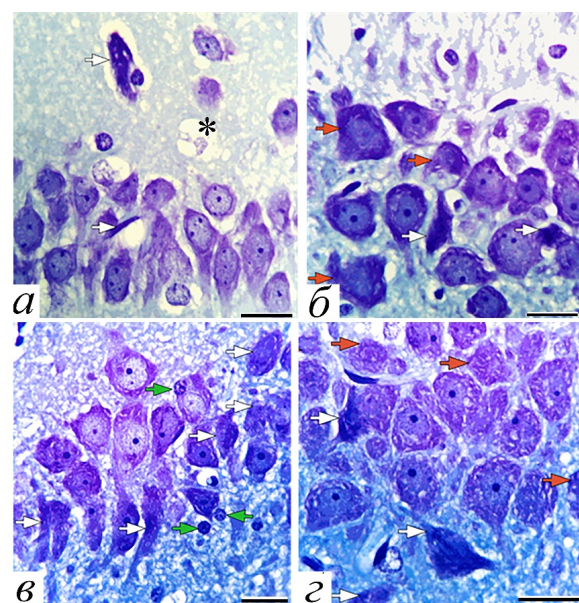


Рис. 2. Пирамидные нейроны поля CA₁ (а, в) и CA₃ (б, г), гиппокампа через 1 (а, б) и 7 (в, г) суток после ТЧМТ: гиперхромные сморщенные (пикноморфные) нейроны с признаками коагуляционно-ишемического некроза (белые стрелки), гиперхромные нейроны с выпадением ядрышка (оранжевые стрелки), глиальные клетки (зеленые стрелки), * – отечные изменения нейронила (*). Окраска по методу Ниссля. Об. 100, шкала – 20 мкм.

Fig. 2. Pyramidal neurons of fields CA₁ (a, в) and CA₃ (б, г) of the hippocampus in 1 (a, б) and 7 (в, г) days after STBI: hyperchromic shriveled (pycnomorphic) neurons with signs of coagulative-ischemic necrosis (white arrows), hyperchromic neurons with prolapsed nucleolus (orange arrows), glial cells (green arrows), * – edematous changes in the neuropil (*). Staining according to Nissl technique. Ob. 100, scale – 20 μm.

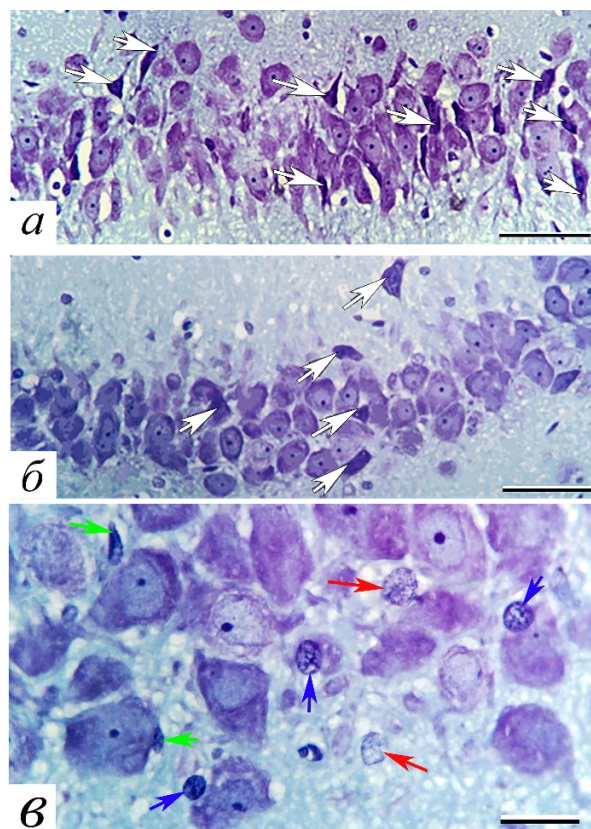


Рис. 3. Изменения поля CA₁ (а, б) и CA₃ (в) гиппокампа через 30 сут после ТЧМТ: гиперхромные сморщенные (пикноморфные) нейроны с признаками коагуляционно-ишемического некроза (белые стрелки), микроглиоциты (зеленые стрелки), астроциты (красные стрелки), олигодендроциты (синие стрелки). Окраска по методу Ниссля. Об. 40 (а, б) и 100 (в), шкалы – 25 мкм (а, б) и 20 мкм (в).

Fig. 3. Changes in fields CA₁ (a, б) and CA₃ (в) of the hippocampus in 30 days after STBI: hyperchromic shriveled (pycnomorphic) neurons with signs of coagulation-ischemic necrosis (white arrows), microglia (green arrows), astrocytes (red arrows), oligodendrocytes (blue arrows). Staining according to Nissl technique. Ob. 40 (a, б) and 100 (в), scales – 25 μm (a, б) and 20 μm (в).

отмечалось лишь через 7 сут после ТЧМТ на фоне общей отеčnosti нейронила (рис. 2в, г).

Отмеченные выше патологические изменения сохранялись в течение всего периода наблюдения. Даже через 30 сут после травмы в CA₁ и CA₃ гиппокампа отчетливо прослеживались необратимые изменения нервной ткани: пикноморфные нейроны, отек нейронила, гиперхромия тел нейронов, эктопия ядрышек (рис. 3а, б, в). Восстановление равномерности пространственного распределения астроцитов и олигодендроцитов в гиппокампе после ТЧМТ, свойственного контролю, не происходило. Прослеживались единичные участки выпадения необратимо поврежденных нейронов и скопления вокруг них глиальных клеток.

Таким образом, при использованной модели ТЧМТ нами выявлены типичные

Таблица 1 / Table 1

Относительное содержание основных типов реактивно и некробиотически измененных пирамидных нейронов в полях СА₁ и СА₃ гиппокампа белых крыс в норме и после тяжелой черепно-мозговой травмы, Q₂ (Q₁–Q₃)

Relative content of the main types of reactively and necrobiotically altered pyramidal neurons in fields CA₁ and CA₃ of the hippocampus of white rat in the norm and after severe traumatic brain injury, Q₂ (Q₁–Q₃)

Группы	Переменные, %			
	ГСМН	ГНН	ГиН	КТ
CA ₁				
1-е сут	6,5 (5,28,7)	8,7 (6,5–10,7)	6,4 (5,1–7,7)	5,7 (4,7–6,5)
3-е сут	10,2 (9,3–11,0) p<0,0001*	6,8 (6,0–8,0) p=0,011*	10,8 (9,2–12,7) p<0,0001*	4,5 (2,8–5,8) p=0,01*
7-е сут	14,8 (12,0–17,6) p<0,0001*	5,6 (3,9–6,9) p=0,004*	13,7 (10,8–17,2) p=0,001*	4,2 (2,9–5,8)
14-е сут	8,9 (6,3–11,5) p<0,0001*	9,6 (7,6–10,7) p<0,0001*	6,7 (5,3–8,6) p<0,0001*	3,7 (2,4–5,4)
30-е сут	8,4 (6,3–10,1)	7,6 (5,3–9,6) p<0,038*	11,7 (9,5–13,2) p<0,0001*	5,1 (3,4–6,5) p=0,02*
ANOVA	H (df=4) =71,9	H (df=4) =31,7	H (df=4) =89,9	H (df=4) =15,4
K–W test:	p <0,0001	p <0,0001	p <0,0001	p =0,004
CA ₃				
1-е сут	10,6 (8,3–14,5) p<0,001^	10,3 (8,2–13,0)	9,0 (7,9–10,7) p<0,001^	7,2 (5,5–9,0) p=0,001^
3-е сут	11,4 (10,3–13,1)	9,2 (6,5–10,7) p=0,002^	11,4 (10,5–13,9) p<0,0001*	9,3 (7,3–11,0) p=0,003* p<0,001^
7-е сут	15,3 (13,3–17,2) p=0,0001*	7,4 (5,5–10,3)	16,7 (14,0–19,6) p<0,0001* p=0,001^	7,3 (5,9–8,8) p=0,01* p<0,001^
14-е сут	11,0 (9,3–15,9) p=0,01* p=0,01^	7,1 (5,6–9,1) p=0,038^	12,5 (9,3–13,8) p<0,0001* p<0,001^	7,6 (5,5–11,6) p<0,001^
30-е сут	11,3 (6,5–14,5) p=0,01^	7,7 (4,3–10,4)	12,2 (8,0–14,8)	9,8 (5,6–12,3) p=0,001^
ANOVA	H (df=4) =20,8	H (df=4) =11,3	H (df=4) =60,9	H (df=4) =10,9
K–W test:	p =0,0004	p =0,02	p <0,0001	p =0,028

Примечание: * – различия в сравнении с контролем и предыдущим сроком (Mann–Whitney U-test), между всеми сроками по полю (ANOVA Kruskal–Wallis), ^ – между полями CA₁ и CA₃ (Wilcoxon watched pairs test) статистически значимы при p<0,01.

морфологические признаки длительно сохраняющихся посттравматических изменений нейронов, глиальных клеток и нейропиля гиппокампа, хорошо описанные ранее в литературе [13, 15, 16, 25, 27].

Морфометрический анализ подтвердил описанные выше качественные изменения структуры СА₁ и СА₃ гиппокампа. В табл. 1 и 2 приведены результаты определения относительного содержания измененных нейронов и разных типов глиальных клеток. Выявлены статистически значимые различия динамики изменения содержания нейронов в СА₁ и СА₃ гиппокампа после ТЧМТ.

В результате появления необратимых патологических изменений в нейронах часть из них подвергалась, вероятно, разрушению и полностью элиминировалась. Как следствие, в течение посттравматического периода прогрессивно уменьшалась общая численная плотность нейронов (ОЧПН) на единицу (1 мм²) площади среза. Между отделами и сроками выявлены статистически значимые различия основных переменных. Через 30 сут после ТЧМТ в СА₁ дефицит ОЧПН составил

43,8%, а в СА₃ – 22,0%. При этом относительное содержание нормохромных нейронов до уровня контроля не восстанавливалось, а НГИ существенно превышал значения контроля (рис. 4).

По данным литературы, процессы удаления необратимо поврежденных нейронов осуществляются при участии клеток нейроглии и, соответственно, как и в нашем исследовании, сопровождаются изменением нейроглиального индекса (НГИ) [13].

По нашим данным, в гиппокампе контрольных животных выявлена сильная отрицательная корреляционная связь между ОЧПН и ОЧПГК, а также средняя связь между ЧПА и ЧПОлд, ЧПМ и ЧПОлд. Именно это, вероятно, определяет баланс между содержанием основных типов глиоцитов (табл. 3). Существенно, то, что структура корреляционных связей контрольных животных в СА₁ и СА₃ мало отличалась.

После травмы сохранялись сильные отрицательные связи между ОЧПН и ОЧПГК, но в силу появления реактивных, дистрофических и некробиотических изменений в

Таблица 2 / Table 2

Относительное содержание астроцитов (А), олигодендроцитов (Олд) и микроглиоцитов (М) в полях СА₁ и СА₃ гиппокампа белых крыс в норме и после тяжелой черепно-мозговой травмы, Q₂ (Q₁–Q₃)

Relative content of astrocytes (A), oligodendrocytes (Old) and microgliocytes (M) in fields CA1 and CA3 of the hippocampus of white rats in the norm and after severe traumatic brain injury, Q₂ (Q₁–Q₃)

Группы	Переменные, %		
	А	Олд	М
СА₁			
Контроль	34,41 (33,1–35,3)	32,3 (29,9–33,8)	33,3 (32,6–35,1)
1-е сут	36,7 (34,7–38,4)	29,2 (26,4–30,7)	34,6 (33,1–35,8)
3-е сут	37,1 (35,8–38,6)	30,1 (28,4–31,5) p=0,02*	32,7 (31,4–34,5) p=0,01*
7-е сут	35,2 (33,6–37,8) p=0,002*	29,9 (28,4–32,4)	34,6 (32,6–36,6) p=0,02*
14-е сут	35,7 (33,3–37,7)	28,9 (27,6–30,9)	35,4 (32,2–37,9)
30-е сут	37,6 (34,7–39,4) p=0,039*	26,2 (25,0–28,0) p=0,0002*	35,9 (34,1–38,5)
ANOVA K–W test:	H (df=4) =10,1 p =0,039	H (df=4) =34,6 p <0,0001	H (df=4) =21,1 p <0,0001
СА₃			
Контроль	35,4 (34,2–37,2)	30,4 (28,9–31,6)	34,0 (32,4–35,4)
1-е сут	40,4 (38,4–41,7) p<0,001^	26,1 (24,3–27,6) p=0,001^	34,0 (32,0–35,4)
3-е сут	38,7 (36,7–40,2) p=0,01*; p=0,01^	26,5 (24,4–28,3) p<0,001^	34,7 (33,9–36,9) p=0,02*; p=0,01^
7-е сут	38,5 (36,6–39,7)	26,5 (24,5–27,2)	35,9 (33,7–37,1)
14-е сут	38,5 (37,3–40,4) p<0,001^	24,7 (22,7–26,7) p=0,03*; p<0,001^	36,5 (34,6–38,4)
30-е сут	40,1 (39,0–42,1) p=0,003*; p=0,001^	27,7 (25,4–28,7) p=0,001*	32,1 (30,3–34,1) p<0,0001*; p=0,001^
ANOVA K–W test:	H (df=4) =23,4 p =0,0001	H (df=4) =13,6 p =0,01	H (df=4) =46,9 p <0,0001

Примечание: * – различия в сравнении с контролем и предыдущим сроком (Mann–Whitney U-test), между всеми сроками по полю (ANOVA Kruskal–Wallis), ^ – между полями СА₁ и СА₃ (Wilcoxon watched pairs test) статистически значимы при p≤0,01.

популяции нейронов и глиальных клеток диапазон парных связей расширился. Причем выявленные связи различались по срокам наблюдения и отделам гиппокампа (табл. 4). Это свидетельствовало о наличии особенностей реакции на повреждение СА₁ и СА₃, а также различиях динамики посттравматических изменений в этих полях.

При сравнительном изучении морфометрических показателей структурной организации СА₁ и СА₃ необходимо учитывать, что у белых крыс в норме в этих отделах существенно отличается не только гисто- и цитоархитектоника, но и синаптоархитектоника. Гиппокамп состоит из 3 основных клеточных слоев: полиморфного слоя, слоя пирамидных нейронов и молекулярного слоя. Стволы апикальных дендритов располагаются в stratum radiatum, претерминальные и терминальные ветвления апикальных дендритов – в stratum lacunosum молекулярного слоя. В СА₃ выделялась светлая зона (stratum lucidum), она состоит из апикальных участков дендритов пирамидных нейронов и гигантских синаптических контактов, сформированных аксонами мшистых волокон. В поле СА₁ гигантские синапсы практически не встречались, поэтому

сравнивать можно только нейропиле похожих зон – stratum lacunosum и radiatum (рис. 5).

При иммуногистохимическом исследовании, для оценки влияния травмы на межнейронные связи, сравнение численной плотности терминалей в нейропиле stratum lacunosum СА₁ и СА₃ после ТЧМТ мы проводили в относительных единицах (относительно контроля соответствующего отдела) (рис. 6, 7).

Типирование терминалей осуществляли с помощью реакции на синаптофизин (p38) – специфический везикулярный гликопротеин синапсов, участвующий в экзоцитозе синаптических пузырьков. В контроле (область интереса ROI, 20×20 мкм) выявлялось 100–160 меченых терминалей (рис. 6). Для их морфометрии использовали плагин FindFoci из программы Image 1.53. Измерения проводили на инвертированных 8-битных изображениях, что позволило, кроме количества, оценить и яркость (содержание меченого материала) каждой терминали (рис. 6). В контроле преобладали терминали с высоким уровнем содержания синаптофизина (рис. 6, наиболее яркие частицы).

По данным проведенного таким

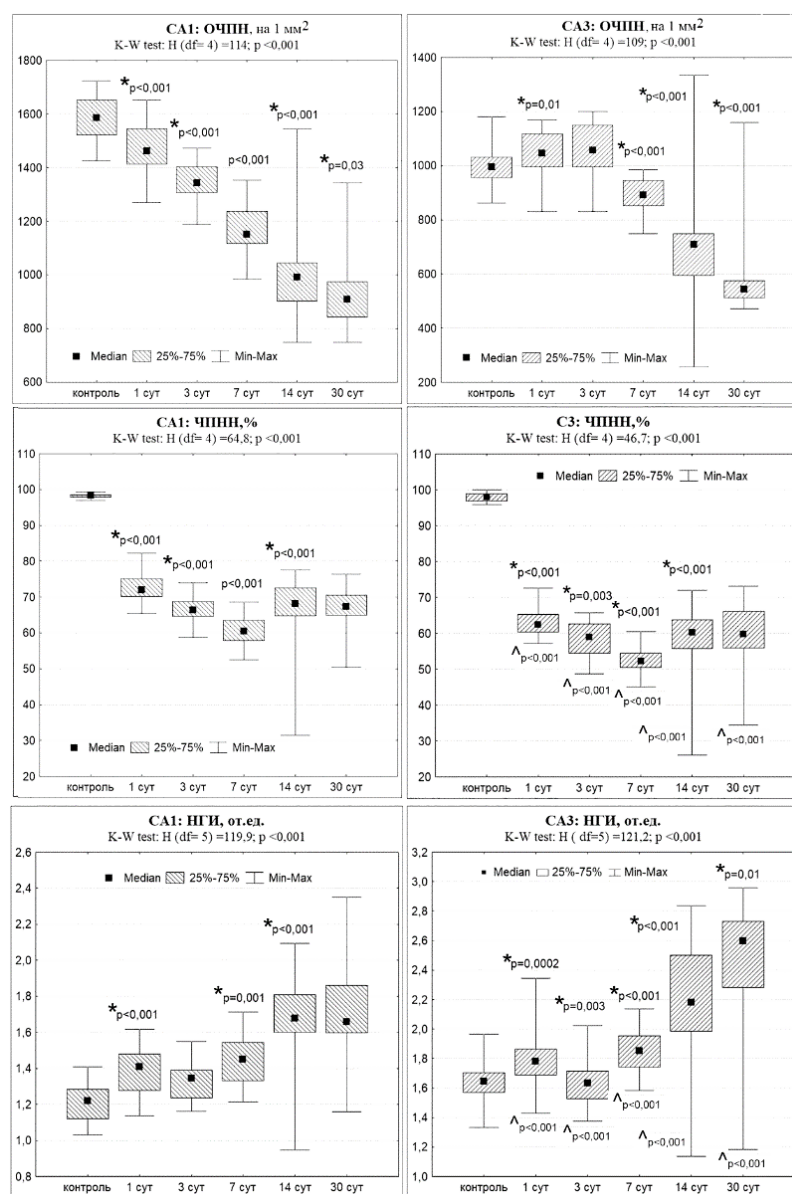


Рис. 4. Общая численная плотность всех нейронов (ОЧПН), относительное содержание нормохромных нейронов (в пересчете из ЧПНН) и нейроглиальный индекс (НГИ) в СА₁ и СА₃ гиппокампа белых крыс в норме и после тяжелой черепно-мозговой травмы, Q₂ (Q₁–Q₃) и Min–Max. Примечание: * – различия в сравнении с контролем и предыдущим сроком (Mann–Whitney U-test), между всеми сроками (ANOVA Kruskal–Wallis), ^ – между СА₁ и СА₃ (Wilcoxon watched pairs test) статистически значимы при p ≤ 0,01.

Fig. 4. Total number density of all neurons (TNDN), relative content of normochromic neurons (calculated from number density of normochromic neurons – NDNN) and neuroglial index (NGI) infields CA₁ and CA₃ of the hippocampus in white rats in the norm and after severe traumatic brain injury, Q₂ (Q₁–Q₃) and Min–Max. Note: * – differences compared to animals from the control group and the previous term (Mann–Whitney U-test), between all terms (ANOVA Kruskal–Wallis), ^ – between CA₁ and CA₃ (Wilcoxon watched pairs test) are statistically significant at p ≤ 0.01.

Таблица 3 / Table 3

Статистически значимые парные корреляционные связи (R коэффициент корреляции, p < 0,05) между независимыми переменными численной плотности клеток, характеризующими нейроглиальные взаимоотношения в полях СА₁ и СА₃ гиппокампа белых крыс в контроле, метод Спирмена

Statistically significant pair correlations (R correlation coefficient, p < 0.05) between independent variables of cell density characterizing neuroglial relationships in fields CA₁ and CA₃ of the hippocampus in white rats from the control group, Spearman's rank correlation

Переменные	ОЧПГК	ЧПНН	ЧПА	ЧПМ
CA ₁				
ОЧПН	-0,74*	–	–	–
ЧПНН	–	–	–	-0,31#
ЧПОЛД	–	–	-0,65^	-0,71*
CA ₃				
ОЧПН	-0,77*	0,28#	–	–
ЧПА	–	–	–	-0,52^
ЧПОЛД	0,32#	–	-0,51^	-0,42#

Примечание: * – сильные, ^ – средние и # – слабые корреляционные связи.

Таблица 4 / Table 4

Статистически значимые парные корреляционные связи (R коэффициент корреляции, $p < 0,05$) между независимыми переменными численной плотностью клеток, характеризующими нейроглиальные взаимоотношения в полях CA1 и CA3 гиппокампа белых крыс после тяжелой черепно-мозговой травмы, метод Спирмена

Statistically significant pair correlations (R correlation coefficient, $p < 0.05$) between independent variables of cell density characterizing neuroglial relationships in fields CA1 and CA3 of the hippocampus in white rats after severe traumatic brain injury, Spearman's rank correlation

Пары	Посттравматический период, сут				
	1	3	7	14	30
CA ₁					
ОЧПН и ОЧПГК	-0,75*	-0,60	-0,74*	-0,91*	-0,91*
ОЧПН и ЧПНН	-0,43#	—	—	-0,59^	—
ОЧПН и ЧПКТ	—	—	0,47#	—	—
ОЧПГК и ЧПКТ	—	—	-0,37#	—	—
ЧПНН и ОЧПГК	—	—	—	0,54^	—
ЧПНН и ЧПГСМН	—	—	-0,58^	-0,40#	-0,39#
ЧПНН и ЧПГНН	-0,57^	-0,54^	—	—	—
ЧПНН и ЧПГиН	-0,45#	-0,48#	—	—	—
ЧПНН и ЧПКТ	—	—	—	—	-0,57^
ЧПНН и ЧПОлд	—	-0,49#	—	—	—
CA ₃					
ОЧПН и ОЧПГК	-0,79*	-0,90*	-0,83*	-0,86*	-0,89*
ОЧПН и ЧПНН	—	-0,37#	—	—	—
ОЧПН и ЧПГНН	—	0,36#	—	—	—
ОЧПН и ЧПОлд	—	—	—	—	-0,41#
ОЧПГК и ЧПНН	—	—	—	—	0,43#
ОЧПГК и ЧПГиН	—	—	-0,38#	—	—
ОЧПГК и ЧПОлд	—	—	—	0,40#	0,43#
ОЧПГК и ЧПМ	—	—	—	-0,42#	—
ЧПНН и ЧПГСМН	-0,41#	-0,58^	-0,41#	—	-0,38#
ЧПНН и ЧПГНН	—	-0,50#	-0,63^	—	-0,44#
ЧПНН и ЧПГиН	—	—	—	—	-0,41#
ЧПНН и ЧПКТ	—	-0,57^	—	—	—
ЧПНН и ЧПА	—	—	—	—	-0,38#

Примечание: * – сильные, ^ – средние и # слабые корреляционные связи.

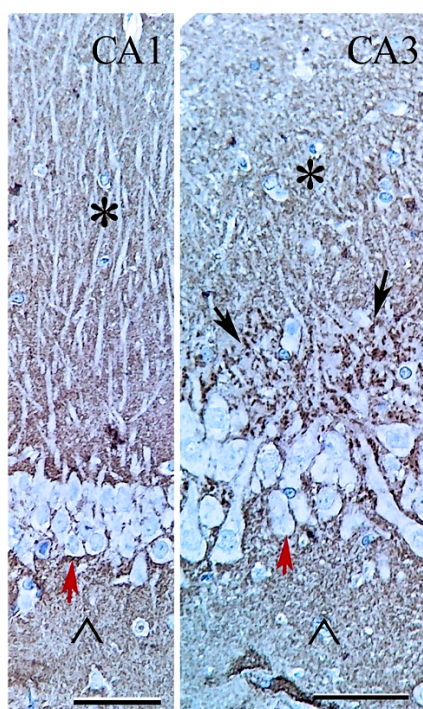


Рис. 5. Распределение синаптофизина (синаптические терминалы) в CA₁ и CA₃ гиппокампа белой крысы контрольной группы. * – зона молекулярного слоя (в CA₁ преобладает stratum radiatum, в CA₃ видна большая часть stratum lacunosum); черные стрелки – stratum lucidum, содержащий круп-

ные терминалы; красные стрелки – слои пирамидных нейронов; ^ – полиморфный слой. Иммуногистохимическая реакция на синаптофизин. Об. 40, шкала – 50 мкм.

Fig. 5. Distribution of synaptophysin (synaptic terminals) in fields CA₁ and CA₃ of the hippocampus in white rats from the control group. * – zone of the molecular layer (stratum radiatum predominates in CA₁; most of the stratum lacunosum is visible in CA₃); black arrows, stratum lucidum containing large terminals; red arrows – layers of pyramidal neurons; ^ – a polymorphic layer. Immunohistochemical reaction for synaptophysin. Ob. 40, scale – 50 μ m.

образом морфометрического анализа установили, что в нейропиле молекулярного слоя CA₁ и CA₃ через 1 сут после ТЧМТ ОЧПТ уменьшалась на 30–40% (Mann–Whitney U-test, $p = 0,01$). Через 7 сут после ТЧМТ в CA₁ отмечена тенденция увеличения этого показателя ($p = 0,01$), что не характерно для CA₃. Вероятно, это было связано с тем, что через 3 и 7 сут относительный показатель снижения ОЧПТ в CA₃ был соответственно на 10 и 20% больше, чем в CA₁ (рис. 7).

Таким образом, несмотря на наличие некоторых различий динамики изменения ОЧПТ, в stratum lacunosum сравниваемых полей гиппокампа на протяжении всего периода наблюдения (30 сут) после ТЧМТ сохранялся

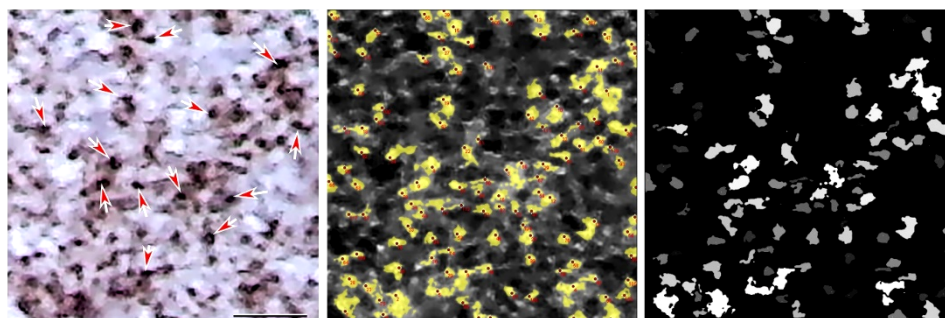


Рис. 6. Синаптические терминалы (стрелки) в нейропиле молекулярного слоя гиппокампа в поле CA₁ белой крысы контрольной группы. Типирование синаптофизина, об. 100, шкала – 5 мкм; маски изображения с указанием количества терминалов и уровня яркости терминалы в градации серого (0–255) на инвертированных изображениях (плагин FindFoci ImageJ 1.53).

Fig. 6. Synaptic terminals (arrows) in the neuropil of the molecular layer in the field CA₁ of the hippocampus in white rats from the control group. Synaptophysin typing, ob. 100, scale: 5 μ m; image masks indicating the number of terminals and the brightness level of each terminal in grayscale (0–255) on inverted images (FindFoci ImageJ plugin 1.53).

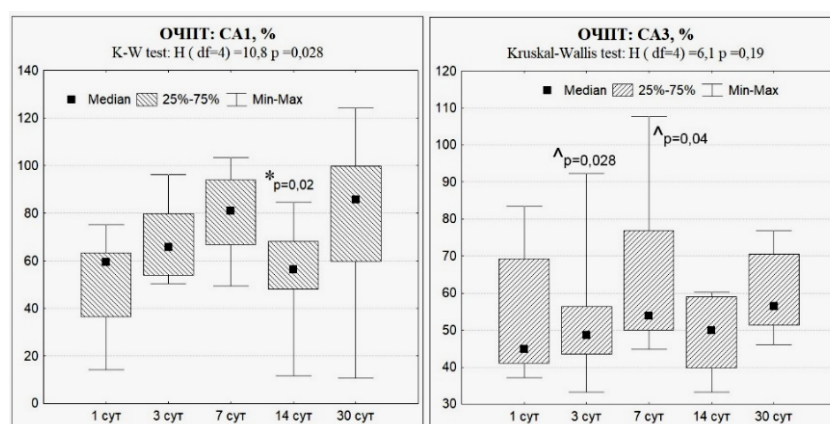


Рис. 7. Общая численная плотность (относительно контрольного значения, 100%) всех p38-позитивных терминалов (ОЧПТ) в stratum lacunosum и stratum radiatum молекулярного слоя CA₁ и CA₃ гиппокампа белых крыс после тяжелой черепно-мозговой травмы, Q₂ (Q₁–Q₃) и Min–Max. Примечание: * – различия в сравнении с предыдущим сроком (Mann–Whitney U-test), между всеми сроками (ANOVA Kruskal–Wallis), ^ – между CA₁ и CA₃ (Wilcoxon watched pairs test) статистически значимы при p≤0,05.

Fig. 7. Total number density (relative to the control value, 100%) of all p38-positive terminals (TNDT) in the stratum lacunosum and stratum radiatum of the molecular layer of fields CA₁ and CA₃ of the hippocampus in white rats after severe traumatic brain injury, Q₂ (Q₁–Q₃) and Min–Max. Note: * – differences compared to the previous term (Mann–Whitney U-test), between all terms (ANOVA Kruskal–Wallis), ^ – between CA₁ and CA₃ (Wilcoxon watched pairs test) are statistically significant at p≤0.05.

значительный (20–40%) дефицит межнейронных синапсов. Необходимо отметить, что это наблюдалось при выраженных проявлениях гидропической дистрофии в нейронах и нейропиле CA₁ и CA₃. Ранее нами изучалась динамика изменения в посттравматическом периоде численной плотности гигантских терминалов в stratum lucidum, в которой аксональные терминалы повреждались меньше, а восстанавливались более полно [2].

Несмотря на выявленные различия общие закономерности реорганизации межнейронных отношений в гиппокампе после ТЧМТ базируются на элиминации излишних или поврежденных (гомеостатическая пластичность) синапсов и образовании новых синапсов (пластичностью Геббеса). Эти два вида пластичности взаимосвязаны, идут параллельно и непрерывно [20]. По литературным данным, частичное функциональное восстановление гиппокампа происходит за счет ре-

организации связей устойчивых к ишемии нейронов и сопровождается образованием избыточного количества терминалов [10]. Однако, необходимо учитывать специфику первичного повреждения и отдел гиппокампа.

Таким образом, после ТЧМТ компенсаторно-восстановительная реорганизация нейронных сетей гиппокампа происходила на фоне его структурно-функциональной недостаточности. Вероятно, в stratum lacunosum быстро формировались нестабильные новые синапсы, которые и быстро разрушались. Мы полагаем, что при этом какую-то роль играли разнообразные каспазы – протеолитические ферменты, относящихся к семейству цистеиновых протеаз. Эти ферменты активируются при ишемии и других патологических состояниях, инициируют апоптоз и протеолиз компонентов цитоскелета [3, 17].

Тем не менее, при исследовании одного из важнейших интегральных маркеров

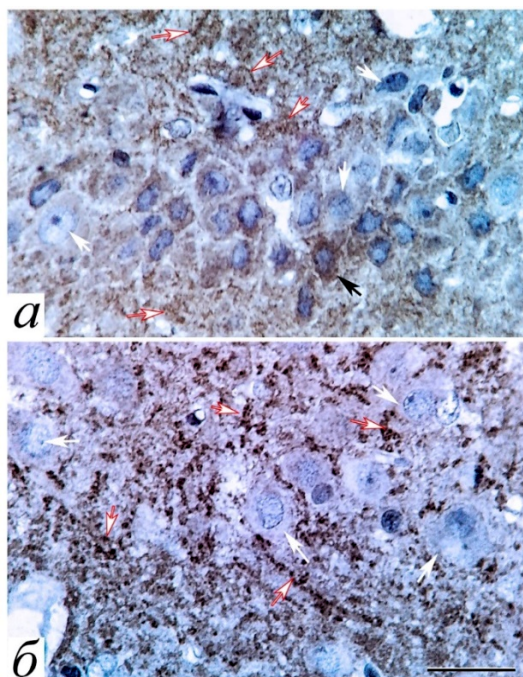


Рис. 8. Распределение (красные стрелки – высокая активность) Caspase 3 в CA1 (а) и CA3 (б) гиппокампа белой крысы из основной группы, через 1 сут после ТЧМТ. Белые стрелки – перикарионы пирамидных нейронов без признаков активности фермента; черные стрелки – единичные пирамидные нейроны с активной формой Caspase 3. Иммуногистохимическая реакция на Caspase 3. Об. 100, шкала – 25 мкм.

Fig. 8. Distribution (red arrows, high activity) of Caspase 3 in fields CA1 (a) and CA3 (b) of the hippocampus in white rats from the main group in 1 day after STBI. White arrows indicate pyramidal neuron perikarya with no signs of enzyme activity; black arrows—single pyramidal neurons with an active form of Caspase 3. Immunohistochemical reaction to Caspase 3. Ob. 100, scale – 25 μm.

апоптоза – Caspase 3, в опытной группе после ТЧМТ, нами отмечались лишь единичные меченые нейроны в поле CA1 с высокой активностью фермента в перикарионе. Основная часть ярко выраженных меток Caspase 3, как и в контроле, соответствовала нейропиллю и поверхности нейронов (рис. 8а, б).

Особо следует отметить то, что активная форма Caspase 3 не встречалась в перикарионах с проявлениями гидропической дистрофии (отек–набухание, вакуоли). Вполне вероятно, что в этих поврежденных нейронах уровень АТФ был недостаточен для реализации энергозависимого процесса апоптоза, и Caspase 3 переключалась на другие каскады ферментативных реакций, связанных, например, с протеолизом или нейропластичностью, реорганизацией синапсов. То есть, происходила своеобразная «защита» таких клеток от необратимой апоптозной дегенерации. Возможность реализации такого механизма защиты частично поврежденных дистрофических нейронов от апоптоза требует специального исследования.

Следовательно, можно предположить, что в гиппокампе при данной модели, ТЧМТ инициирует преимущественно Caspase 3-независимые пути повреждения нейронов. По локализации, в норме и после травмы этот белок совпадал с таковой синаптофизина – преимущественно в зонах синаптических терминалей. Выявленная в нейропиле высокая активность Caspase 3, вероятно, связана с участием этого фермента не в процессах повреждения, а, например, в функционировании и восстановлении межнейронных связей.

По литературным данным, известно, что Caspase 3 может принимать участие в обновлении актиновых филаментов, что важно для нормальной синаптической пластичности [3, 8, 20]. Имеется подтверждение того, что реорганизация нейронального актинового цитоскелета важна для консолидации долговременной памяти и в целом для функционирования синапсов. Именно динамические актиновые филаменты, как предполагают, участвуют в специфических аспектах синаптической пластичности. Практически все белки системы межнейронной коммуникации, включая актин, спектрин, тубулин, белок, ассоциированный с микротрубочками, являясь субстратами каспаз и/или калпаина. Взаимодействие актина и спектрина играет важную роль в формировании дендритных шипиков зрелых нейронов [3, 9].

Пути участия различных каспаз в феноменах нейропластичности после ТЧМТ мало изучены в силу значительной сложности молекулярных взаимоотношений между патологическими и компенсаторно-восстановительными процессами. Весьма вероятно, что исследования в этом направлении дадут новые экспериментальные данные для поиска истины.

Заключение

После тяжелой черепно-мозговой травмы в гиппокампе проследживается неоднородная степень повреждений нейронов CA1 и CA3. Выявленные структурные изменения клеток носят диффузно-очаговый характер и наиболее выражены через 3 сут. Увеличение содержания нейроглии свидетельствует о так называемом феномене саногенеза нервной ткани от необратимо поврежденных нейронов, вероятно, путем фагоцитоза. Деструкция значительной части нейронов компенсируется за счет реорганизации их связей, в которой активную роль принимает Caspase 3 как протеолитический фермент, обеспечивающий высокую структурную пластичность (подвижность) синаптических терминалей.

Список источников / References

1. Боровиков В. Statistica. Искусство анализа данных на компьютере. 2-ое изд. СПб.: Питер; 2003.

- Borovikov V. Statistica. Iskustvo analiza dannykh na komp'yutere. 2-oe izd. Saint-Petersburg: Piter; 2003. (In Russ).
2. Горбунова А.В., Кошман И.П., Шоронова А.Ю., Авдеев Д.Б., Акулинин В.А., Степанов С.С., и др. 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.
Gorbunova AV, Koshman IP, Shoronova AYU, Avdeev DB, Akulinin VA, Stepanov SS, et al. Comparative characteristics of structural and functional changes in the hippocampal CA3 field after acute ischemia and brain injury in white rats. Journal of Anatomy and Histopathology. 2020 Dec;9(4):19–30. (In Russ). doi: 10.18499/2225-7357-2020-9-4-19-30
3. Гуляева Н.В. Неапоптотические функции каспазы 3 в нервной ткани. Биохимия. 2003;68(11):1459–70.
Gulyaeva NV. Non-apoptotic Functions of Caspase-3 in Nervous Tissue. Biochemistry (Moscow). 2003 Nov;68(11):1171–80. (In Russ). doi: 10.1023/b:biry.0000009130.62944.35
4. Кинзерский А.А., Шоронова А.Ю., Коржук М.С., Акулинин В.А., Макарьева Л.М. Патент РФ № 2788904; 2021
Kinzersky AA, Shoronova AYU, Korzhuk MS, Akulinin VA, Makarieva LM. Patent RU № 2788904; 2021 Oct. (In Russ).
5. Радьков И.В., Лаптев В.В., Плехова Н.Г. Технологии моделирования диффузной черепно-мозговой травмы. Современные проблемы науки и образования. 2018;4:1–9.
Radkov IV, Laptev VV, Plekhova NG. Technologies of Modeling the Diffuse Traumatic Brain Injury. Modern problems of science and education. 2018 Aug;4:1–9. (In Russ).
6. Степанов С.С., Макарьева Л.М., Акулинин В.А., Коржук М.С., Шоронова А.Ю., Авдеев Д.Б., Цускман И.Г., Слободская А.В. Сопоставление иммуногистохимического и ультраструктурного изучения реакции аксональных терминалей сенсомоторной коры белых крыс на перевязку общих сонных артерий. Журнал анатомии и гистопатологии. 2022;11(3):65–74.
Stepanov S.S., Makar'eva L.M., Akulinin V.A., Korzhuk M.S., Shoronova A.Yu., Avdeev D.B., Tsuskman I.G., Slobodskaya A.V. Comparison of the immunohistochemical and ultrastructural studies of the white rats sensorimotor cortex synaptic terminals reaction to common carotid arteries ligation. Journal of Anatomy and Histopathology. 2022;11(3):65–74. (In Russ). doi:10.18499/2225-7357-2022-11-3-65-74
7. Храпов Ю.В., Поройский С.В. Роль биомаркеров повреждения вещества головного мозга в диагностике, оценке эффективности лечения и прогнозирования исходов тяжелой черепно-мозговой травмы. Волгоградский научно-медицинский журнал. 2013;3:11–20.
Khrapov YuV, Poroyskiy SV. Role of Brain Damage Biomarkers in Diagnostics, Treatment Assessment and Outcome Prediction in Severe Craniocerebral Injury. Volgograd Scientific Medical Journal. 2013 Sep;3:11–20. (In Russ).
8. Цинзерлинг В.А., Сапаргалиева А.Д., Вайншенкер Ю.И., Медведев С.В. Проблемы нейропластичности и нейропротекции. Вестник Санкт-Петербургского университета. 2013;4:3–12.
Tsinserling VA, Sapargaliev AD, Vainshenker YuI, Medvedev SV. Problems of neuroplasticity and neuroprotection. Vestnik of Saint Petersburg University. Medicine. 2013 Nov;4:3–12. (In Russ).
9. Яковлев А.А., Гуляева Н.В. Прекоondиционирование клеток мозга к патологическим воздействиям: вовлеченность протеаз (обзор). Биохимия. 2015;80(2):204–13.
Yakovlev A, Gulyaeva NV. Possible role of proteases in preconditioning of brain cells to pathological conditions. Biochemistry (Moscow). 2015 Feb 1;80(2):163–71 (In Russ). doi: 10.1134/S0006297915020030
10. Arneson D, Zhang G, Ying Z, Zhuang Y, Byun H, Ahn I, et al. Single cell molecular alterations reveal target cells and pathways of concussive brain injury. Journal of Nature Communications. 2018 Sep;9(1):3894. doi: 10.1038/s41467-018-06222-0
11. Böhmer A, Oses J, Schmidt A, et al. Neuron-specific enolase, S100B, and glial fibrillary acidic protein levels as outcome predictors in patients with severe traumatic brain injury. Journal of Neurosurgery. 2011 Jun;68(6):1624–30. doi: 10.1227/NEU.0b013e318214a81f
12. Cole J, De Simoni S, Bourke N, et al. Spatial patterns of progressive brain volume loss after moderate-severe traumatic brain injury. Brain: a journal of neurology. 2018 Mar;141(3):822–36. doi: 10.1093/brain/awx354
13. Chen Z, Zhong D, Li G. The role of microglia in viral encephalitis. Journal of Neuroinflammation. 2019 Apr;16:76. doi: 10.1186/s12974-019-1443-2
14. Fiala J. Reconstruct: a free editor for serial section microscopy. Journal of Microscopy. 2005 Apr;218(1):52–61. doi: 10.1111/j.1365-2818.2005.01466.x
15. Frankowski JC, Kim YJ, Hunt RF. Selective vulnerability of hippocampal interneurons to graded traumatic brain injury. Journal of Neurobiology of disease. 2019 Sep;129:208–16. doi: 10.1016/j.nbd.2018.07.022
16. Guo H, Zheng L, Xu H, et al. Neurobiological Links between Stress, Brain Injury, and Disease. Journal of Oxidative Medicine and Cellular Longevity Volume. 2022 May;2:1–17. doi:10.1155/2022/8111022
17. Gulyaeva NV. Biochemical Mechanisms and Translational Relevance of Hippocampal Vulnerability to Distant Focal Brain Injury: The Price of Stress Response. Journal of Biochemistry. 2019 Nov;84(11):1306–28. doi: 10.1134/S0006297919110087.
18. Grieves R, Duvelle E, Wood E, Dudchenko P. Field repetition and local mapping in the hippocampus and the medial entorhinal cortex. Journal of Neurophysiology. 2017 Oct;118(4):2378–88. doi: 10.1152/jn.00933.2016
19. Harris T, de Rooij, Kuhl E. The Shrinking Brain: Cerebral Atrophy Following Traumatic Brain Injury. Annals of biomedical engineering. 2019 Sep;47(9):1941–59. doi: 10.1007/s10439-018-02148-2
20. Hobbiss AF, Ramiro-Cortés Y, Israely I. Homeostatic Plasticity Scales Dendritic Spine Volumes and Changes the Threshold and Specificity of Hebbian Plasticity. Journal of iScience. 2018 Oct;8:161–74. doi: 10.1016/j.isci.2018.09.015

21. Herbert AD, Carr AM, Hoffmann E. FindFoci: A Focus Detection Algorithm with Automated Parameter Training That Closely Matches Human Assignments, Reduces Human Inconsistencies and Increases Speed of Analysis. *Journal of PLoS One*. 2014 Dec;9(12):1–33. doi:10.1371/journal.pone.0114749
22. Kesslerling J. Neurorehabilitation: a bridge between basic science and clinical practice. *European journal of neurology*. 2001 May;8(3):221–5. doi: 10.1046/j.1468-1331.2001.00193.x
23. Legendy C. On the 'data stirring' role of the dentate gyrus of the hippocampus. *Journal of Reviews in the Neurosciences*. 2017 Jul;28(6):599–615. doi: 10.1515/revneuro-2016-0080
24. Manto M, Oulad ben Taib N, Luft A. Modulation of excitability as an early change leading to structural adaptation in the motor cortex. *Journal of Neuroscience research*. 2006 Feb;83(2):177–80. doi: 10.1002/jnr.20733
25. Ooigawa H, Nawashiro H, Fukui S, et al. The fate of Nissl-stained dark neurons following traumatic brain injury in rats: difference between neocortex and hippocampus regarding survival rate. *Journal of Acta Neuropathol*. 2006 Oct;112(4):471–81. doi: 10.1007/s00401-006-0108-2
26. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 5-th ed. Amsterdam, Boston: Elsevier Academic Press; 2005.
27. Redell JB, Maynard ME, Underwood EL, et al. Traumatic brain injury and hippocampal neurogenesis: functional implications. *Journal of Experimental neurology*. 2020 Sep;331:113372. doi:10.1016/j.expneurol.2020.113372
28. Sestakova N, Puzserova A, Kluknavsky M. Determination of motor activity and anxiety-related behaviour in rodents: methodological aspects and role of nitric oxide. *Journal of Interdisciplinary Toxicology*. 2013 Sep;6(3):126–35. doi: 10.2478/intox-2013-0020
29. Susanne M, Micaela G, Nikolaus P. Identification of the Vascular Source of Vasogenic Brain Edema following Traumatic Brain Injury Using in Vivo 2-Photon Microscopy in Mice. *Journal of Neurotrauma*. 2015 Jul;32(13):990–1000. doi: 10.1089/neu.2014.3775
30. Spitz G, Bigler E, Abildskov T, Maller J, O'Sullivan R, and Ponsford J. Regional cortical volume and cognitive functioning following traumatic brain injury. *Brain and cognition*. 2013 Oct;83:34–4. doi: 10.1016/j.bandc.2013.06.007
31. Tolias C, Bullock M. Critical appraisal of neuroprotection trials in head injury: What have we learned. *The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*. 2004 Jan;1: 71–9. doi: 10.1602/neurorx.1.1.71
32. Van den B, 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

Информация об авторах

✉ Акулинин Виктор Александрович – д-р. мед. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии, Омского государственного медицинского университета; ул. Ленина, 12, Омск, 644099, Россия; akulinin@omsk-osma.ru

<https://orcid.org/0000-0001-6097-7970>

Шоронова Анастасия Юрьевна – аспирант кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии Омского государственного медицинского университета; nastasya1994@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-0936-3137>

Степанов Сергей Степанович – д-р. мед. наук, старший научный сотрудник кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии Омского государственного медицинского университета; serg_stepanov@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0003-0741-3337>

Коржук Михаил Сергеевич – д-р. мед. наук, профессор кафедры и клиники военно-морской хирургии Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова; gensurg@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-4579-2027>

Макарьева Любовь Михайловна – аспирант кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии Омского государственного медицинского университета; lyuba.mamontova.07@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-1133-6541>

Цускман Ирина Геннадиевна – канд. ветеринар. наук, доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии Омского государственного медицинского университета; ira.tsuskman@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0003-3667-7905>

Авдеев Дмитрий Борисович – канд. ветеринар. наук, доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии Омского государственного медицинского университета; avdeev86@inbox.ru

<https://orcid.org/0000-0003-4976-7539>

Степанова Людмила Владимировна – канд. ветеринар. наук, старший преподаватель кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии Омского государственного медицинского университета; lw1987@yandex.ru

<https://orcid.org/0009-0003-0446-9041>

Information about the authors

✉ Viktor A. Akulinin – Doct. Sci. (Med.), Prof., head of the Department of histology, cytology and embryology of Omsk State Medical University; ul. Lenina, 12, Omsk, 644099, Russia; akulinin@omsk-osma.ru

<https://orcid.org/0000-0001-6097-7970>

Anastasiya Yu. Shoronova – postgraduate student of the Department of histology, cytology and embryology of Omsk State Medical University; nastasya1994@mail.ru;

<https://orcid.org/0000-0002-0936-3137>

Sergei S. Stepanov – Doct. Sci. (Med.), leading researcher of the Department of histology, cytology and embryology of Omsk State Medical University; serg_stepanov@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0003-0741-3337>

Mikhail S. Korzhuk – Doct. Sci. (Med.), professor of the Department and Clinic of Naval Surgery of S.M. Kirov Military Medical Academy; gensurg@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-4579-2027>

Lyubov' M. Makar'eva – postgraduate student of the Department of histology, cytology and embryology of Omsk State Medical University; lyuba.mamontova.07@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-1133-6541>

Irina G. Tsuskman – Cand. Sci. (Vet.), associate professor of the Department of histology, cytology and embryology of Omsk State Medical University; ira.tsuskman@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0003-3667-7905>

Dmitrii B. Avdeev – Cand. Sci. (Vet.), associate professor of the Department of histology, cytology and embryology of Omsk State Medical University; avdeev86@inbox.ru

<https://orcid.org/0000-0003-4976-7539>

Lyudmila V. Stepanova – Cand. Sci. (Vet.), senior lecturer of the Department of histology, cytology and embryology of Omsk State Medical University; ov.skryabina@omgau.org

<https://orcid.org/0000-0003-2700-6683>

Статья поступила в редакцию 28.03.2023; одобрена после рецензирования 24.04.2023; принята к публикации 26.06.2023.
Submitted 28.03.2023; Revised 24.04.2023; Accepted 26.06.2023.