

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная статья

УДК 611.813:616–018:616–002
doi:10.18499/2225-7357-2024-13-4-22-28
1.5.22 – клеточная биология



Особенности экспрессии NeuN в цингулярной коре больших полушарий головного мозга мышей при введении эшерихиозного липополисахарида

А. А. Венедиктов✉

Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова
(Сеченовский Университет), Москва, Россия

Аннотация. Цель исследования – изучить изменения экспрессии NeuN в цингулярной коре больших полушарий головного мозга мышей после внутрибрюшинного введения различных доз бактериального липополисахарида (ЛПС). **Материал и методы.** Исследование проведено на 12 мышах C57Bl/6, которым в одно и то же время на протяжении 4 суток внутрибрюшинно вводили физиологический раствор (группа контроля) или эшерихиозный ЛПС в одной из следующих доз: 0,5 мг/кг/сут (1-я группа), 1 мг/кг/сут (2-я группа) или 2 мг/кг/сут (3-я группа). У животных извлекали головной мозг и изготавливали гистологические препараты толщиной 5 мкм с окрашиванием антителами к маркеру NeuN. Подсчитывали количество клеток, экспрессирующих NeuN, в цингулярной коре больших полушарий головного мозга, в зоне Cg1 / дорсальной передней поясной коре. Данные подвергались статистической обработке. **Результаты.** При иммуногистохимическом исследовании количество нейронов, экспрессирующих NeuN, в 1-й группе (ЛПС в дозе 0,5 мг/кг/сут) составило $8226,9 \pm 336,94$ клетки на 1 мм^2 , во 2-й группе (ЛПС в дозе 1 мг/кг/сут) – $7889,4 \pm 211,83$ клетки на 1 мм^2 , в 3-й группе (ЛПС в дозе 2 мг/кг/сут) – $7039,7 \pm 580,42$ клетки на 1 мм^2 , в группе контроля – $9985,6 \pm 576,75$ клетки на 1 мм^2 . При иммунофлуоресцентном исследовании различия между выборками не установлены. **Заключение.** При внутрибрюшинном введении мышам в течение 4 суток ЛПС в дозах 0,5–2 мг/кг/сут уменьшается экспрессия NeuN, маркера зрелых нейронов. Полученные данные могут быть использованы для создания модели возрастной нейродегенерации.

Ключевые слова: нейродегенерация; нейроны; липополисахарид; NeuN

Конфликт интересов: автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Венедиктов А.А. Особенности экспрессии NeuN в цингулярной коре больших полушарий головного мозга мышей при введении эшерихиозного липополисахарида // Журнал анатомии и гистопатологии. 2024. Т. 13, №4. С. 22–28. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2024-13-4-22-28>

ORIGINAL ARTICLES

Original article

Features of NeuN Expression in the Cingulate Cortex of the Cerebral Hemispheres of Mice After Administration of Escherichia Coli Lipopolysaccharide

А. А. Венедиктов✉

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Abstract. The aim was to observe changes in NeuN expression in the cingulate cortex of the cerebral hemispheres of mice after intraperitoneal administration of various doses of bacterial lipopolysaccharide (LPS). **Material and methods.** The study was conducted on 12 C57Bl/6 mice, which were injected intraperitoneally at the same time for 4 days with saline (control group) or E. coli LPS in one of the following doses: 0.5 mg/kg/day (1st group), 1 mg/kg/day (2nd group) or 2 mg/kg/day (3rd group). Brain sampling was performed in animals and histological preparations with a 5 μm thickness were made and stained with antibodies to the NeuN. The number of NeuN-expressing cells in the cingulate cortex of the cerebral hemispheres, in the Cg1 area/dorsal anterior cingulate cortex, was counted. The data were also statistically processed. **Results.** In immunohistochemical study, the number of neurons expressing NeuN in the 1st group (LPS at a dose of 0.5 mg/kg/day) was 8226.9 ± 336.94 cells per 1 mm^2 , in the 2nd group (LPS at a dose of 1 mg/kg/day) – 7889.4 ± 211.83 cells per 1 mm^2 , in the 3rd group (LPS at a dose of 2 mg/kg/day) – 7039.7 ± 580.42 cells per 1 mm^2 , in the control group – 9985.6 ± 576.75 cells

per 1 mm². Immunofluorescent study revealed no difference between the samples. **Conclusion.** When LPS is administered intraperitoneally to mice for 4 days at doses of 0.5–2 mg/kg/day, the expression of NeuN, a marker of mature neurons, decreases. The data obtained can be used to create a model of age-related neurodegeneration.

Keywords: neurodegeneration; neurons; lipopolysaccharide; NeuN

Conflict of interests: the author declares no conflict of interests.

For citation: Venediktov A.A. Features of NeuN expression in the cingulate cortex of the cerebral hemispheres of mice after administration of *Escherichia coli* lipopolysaccharide. Journal of Anatomy and Histopathology. 2024. V. 13, №4. P. 22–28. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2024-13-4-22-28>

Введение

Нейроны в коре больших полушарий головного мозга представляют собой популяцию сложно устроенных и уязвимых к внешнему воздействию клеток [8]. У каждого из них уникальны наборы поверхностных структур на плазмалемме, шипиков и производимых белков [21]. В силу этого незначительное изменение метаболизма нейронов в коре больших полушарий головного мозга может привести к их гибели или необратимой декомпенсации функций с нарушением цитоархитектоники [2]. Эти процессы лежат в основе многих нейродегенеративных заболеваний и, возможно, преждевременного старения [16].

Одной из наиболее изученных моделей повреждения нейронов является введение мышам или крысам бактериального липополисахарида (ЛПС) *Escherichia coli* M., 1895 [4]. В невысоких дозах ЛПС не способен пройти через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) и вызвать значительные изменения в структуре нейронов. Более высокие дозы ЛПС (от 2,5–3 мг/кг) при однократном внутрибрюшинном введении их мышам сопровождаются периваскулярным отеком, кровоизлияниями и миграцией лейкоцитов через ГЭБ [10, 15]. В то же время, повторные введения невысоких доз ЛПС могут приводить к изменениям структуры нейронов, характерным для нейродегенеративной патологии и старения [7].

Анализ литературных источников показал, что результаты исследований с однократным введением мышам ЛПС в невысоких дозах значительно разнятся. Кроме того, в большинстве этих работ авторы не учитывают изменение количества клеток с положительной реакцией антител к NeuN, хотя этот маркер считают основным для выявления зрелых нейронов в коре больших полушарий головного мозга [4]. Именно белок NeuN появляется в нейронах, вступивших в терминальную дифференцировку, у всех млекопитающих, и по его экспрессии можно оценить сохранность таких нейронов [12], в том числе при введении ЛПС [23].

Например, J. Zhao с соавт. описали многочисленные изменения в коре больших полушарий головного мозга при внутрибрюшинном введении мышам ЛПС в дозах 500 и 750 мкг/кг/сут в течение нескольких дней, не исследуя реакцию антител к маркеру NeuN [25]. Коллектив J. Dean с соавт. использовали NeuN для оценки воздействия ЛПС у овец в

эмбриогенезе, когда многие нейроны не вступили в терминальную дифференцировку [5].

Однако для изучения изменений в нейронах важно оценить экспрессию NeuN при неоднократном введении невысоких доз ЛПС взрослым животным. Это актуально для исследований в области нейродегенеративных заболеваний. Научная новизна проблемы высока, поскольку экспрессия NeuN в коре больших полушарий головного мозга при однократном введении невысоких доз ЛПС взрослым животным по данным вышеупомянутых источников, изучена слабее, чем экспрессия других иммуногистохимических и иммунофлуоресцентных маркеров.

Цель исследования – изучить изменения экспрессии NeuN в цингулярной коре больших полушарий головного мозга мышей после внутрибрюшинного введения различных доз бактериального липополисахарида.

Материал и методы исследования

Объектом исследования были самки мышей линии C57Bl/6 массой 27,5±3,2 г (n=12). Выбор животных одного пола обусловлен необходимостью минимизировать различия в реакции на введение ЛПС, в том числе в связи с активностью тимуса, эндокринной регуляцией и т. п. Кроме того, у самок показана более явная реакция клеточных популяций нервной ткани на введение ЛПС [24]. Количество животных в исследовании соответствовало принципам 3R [6]. Животные пребывали в виварии с поддержанием постоянных температуры, относительной влажности, доступа к воде и корму. Все этапы исследования осуществляли в соответствии с ГОСТ 33215-2014, 33216-2014 от 01.07.2016, Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Сеченовского Университета № 01-22 от 20.01.2022.

Животным в одно и то же время суток через 24 часа в течение 4 дней согласно общепринятой методике [9] проводили внутрибрюшинные инъекции физиологического раствора (0,1 мл 0,9% NaCl; группа контроля) или ЛПС (липополисахарид *Escherichia coli* M., 1895 биовара O111:B4, разведенный физиологическим раствором до 0,1 мл; партия 091M4031V, производства Sigma-Aldrich, США; группы сравнения). В группах сравнения мыши получали ЛПС в дозе 0,5 мг/кг/сут

(1-я группа), 1 мг/кг/сут (2-я группа) или 2 мг/кг/сут (3-я группа). Грызунов выводили из эксперимента спустя 24 ч после последней внутрибрюшинной инъекции при помощи гильотины и осуществляли забор головного мозга.

После фиксации в 10% нейтральном забуференном формалине (ООО «ЭргоПродакшн», Россия) осуществляли проводку через спирты возрастающей концентрации. Заливку выполняли в кассеты с парафином, корональные срезы головного мозга толщиной 5 мкм изготавливали на ротационном микротоме и переносили на адгезивные стекла (ООО «Минимед», Россия).

После выдерживания в термостате в течение трех с половиной недель производили окрашивание препаратов. Для этого были выбраны антитела к маркеру нервных клеток NeuN, который регулирует сплайсинг мРНК и экспрессируется зрелыми и жизнеспособными кортикальными нейронами [12, 19]. Окрашивание выполняли согласно протоколу в инструкции к антителам к NeuN. Основной процедурой окрашивания в настоящем исследовании стало иммуногистохимическое (ИГХ) исследование, поскольку в пилотном эксперименте было показано, что для одних и тех же животных антитела к NeuN конкретной партии (Anti-NeuN, ET1602-12, партия H661803001; Nuabio, КНР) лучше реагируют в иммуногистохимическом исследовании, чем в иммунофлуоресцентном. Тем не менее, для визуального сравнения, а также для верификации качества фиксации было проведено иммунофлуоресцентное (ИФ) окрашивание для группы контроля и группы с введением ЛПС в дозе 1 мг/кг/сут (2-я группа), зарекомендовавшей себя в предыдущих экспериментах как наилучший режим дозирования для получения изменений со стороны нейроглии.

Перед окрашиванием срезы головного мозга выдерживали в депарафинизирующем и демаскировочном фосфатном растворе (партия XF05RT4N9592; Elabscience, КНР). Для промывки на всех этапах использовали фосфатно-солевой буферный раствор (PBS; ООО «ЭКО-СЕРВИС», Россия). После инкубации с 3% перекисью водорода и выдерживанием с бычьим сывороточным альбумином на срезы наносили антитела к NeuN в разведении 1:50 для иммуногистохимического и 1:200 для иммунофлуоресцентного окрашивания (Anti-NeuN, ET1602-12, партия H661803001; Nuabio, КНР), а далее – вторичные антитела. Хромогеном при иммуногистохимическом окрашивании выступал 3,3'-диаминобензидин (CDH, Индия). Докрашивание проводили 4',6-диамидино-2-фенилиндолом (DAPI; Elabscience, КНР) для ИФ или гематоксилином Карацци для ИГХ исследования с заключением срезов в монтирующую среду.

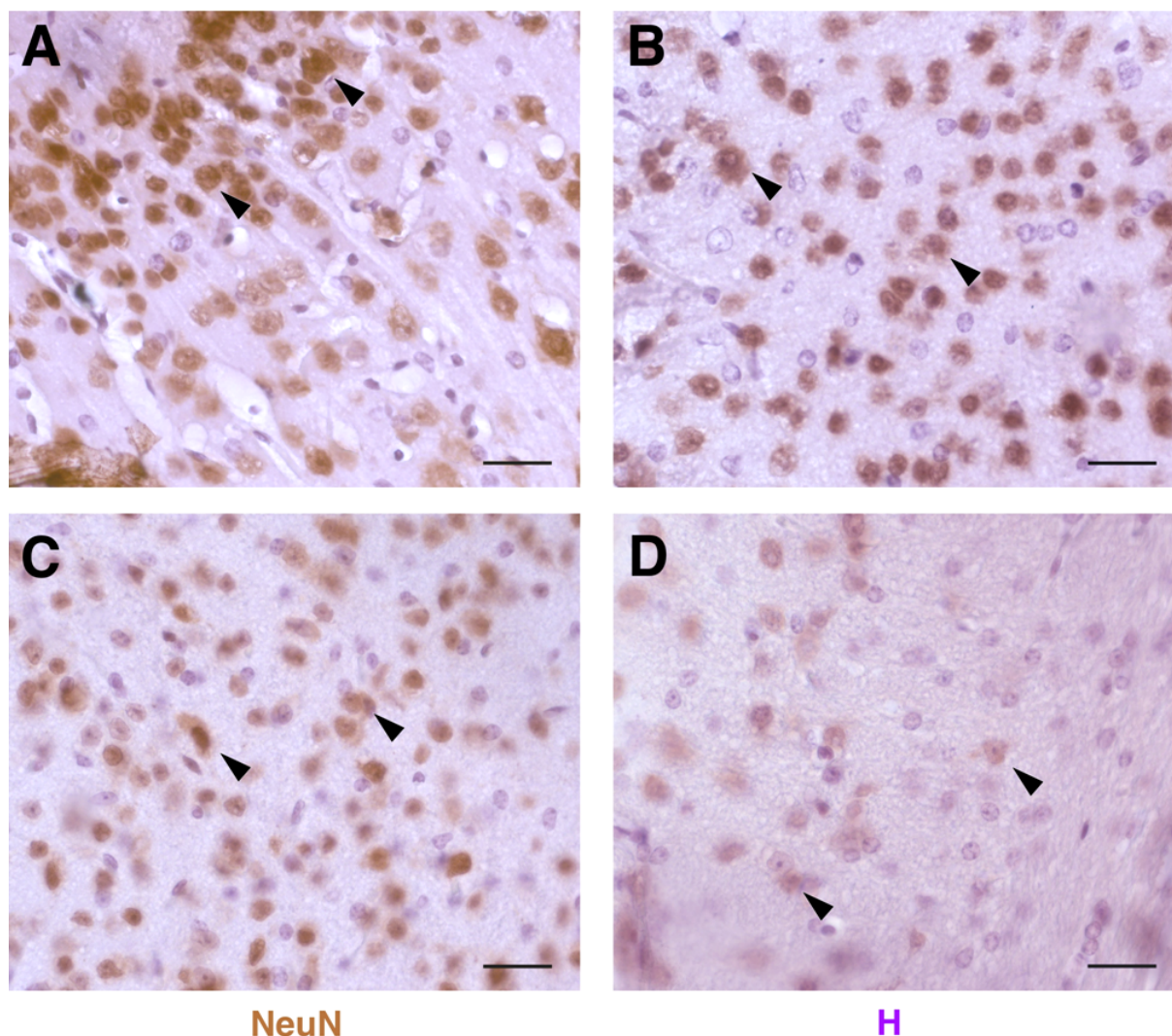
Микроскопию и фотографирование проводили при помощи микроскопа Axio Imager.A1 с камерой AxioCam 305 color и программным обеспечением Zen 3.3 (Zeiss, Германия). На микрофотографиях коры больших полушарий головного мозга определяли участки цингулярной коры по стереотаксическому атласу (Cg1, дорсальная часть передней поясной коры) [13], после чего определяли численную плотность иммунопозитивных клеток в поле зрения при помощи программного обеспечения с открытым кодом QuPath 0.5.0 (Queen's University Belfast, Соединенное Королевство) [3] в режиме обнаружения DAB-положительных структур (при ИГХ исследовании) или флуоресцирующих структур (при ИФ исследовании) на поле зрения размером 600×600 мкм (оценивали по 12 полей зрения у каждого животного). Такие структуры расценивали как ядра клеток, экспрессирующих NeuN.

Статистическая обработка проведена при помощи программного обеспечения Microsoft Excel (Microsoft, США) и OriginPro (OriginLab, США). Она включала оценку характера распределения по критерию Шапиро–Уилка. Поскольку для всех экспериментальных групп распределение было нормальным, для сравнения между выборками данных по критерию «количество NeuN-положительных клеток на поле зрения» использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Значения представляли в виде среднего арифметического и стандартного отклонения. Учитывая отсутствие запланированных сравнений и равенство выборок, для сравнения между ними выбран критерий Тьюки с уровнем статистической значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

При гистологическом исследовании во всех группах не обнаружено пикнотически измененных нейронов, периваскулярного отека, кровоизлияний в коре больших полушарий головного мозга. При этом в группах с введением ЛПС отмечались менее четкие очертания ядер нейронов и более слабое цитоплазматическое накопление NeuN (рис. 1). При иммуногистохимическом исследовании в группе контроля (физиологический раствор) выявлено в среднем $3594,8 \pm 207,63$ NeuN-положительных клетки в поле зрения ($9985,6 \pm 576,75$ на 1 мм^2), в 1-й группе (ЛПС в дозе 0,5 мг/кг/сут) – $2961,7 \pm 121,3$ клетки ($8226,9 \pm 336,94$ на 1 мм^2), во 2-й группе (ЛПС в дозе 1 мг/кг/сут) – $2840,2 \pm 76,26$ клетки ($7889,4 \pm 211,83$ на 1 мм^2), в 3-й группе (ЛПС в дозе 2 мг/кг/сут) – $2534,3 \pm 208,95$ клетки ($7039,7 \pm 580,42$ на 1 мм^2).

Различия средних значений между группами статистически значимы ($p = 0,0004$)



NeuN **H**

Рис. 1. Микрофотографии гистологических препаратов коры больших полушарий головного мозга у мышей. Корональные срезы толщиной 5 мкм, иммуногистохимическое окрашивание с антителами к NeuN и гематоксилином Карацци (H). А – группа контроля (физиологический раствор); В – 1-я группа (0,5 мг/кг/сут); С – 2-я группа (1 мг/кг/сут); D – 3-я группа (2 мг/кг/сутки). Об. 40. Шкала – 100 мкм.

Fig. 1. Microphotographs of histological preparations of cerebral cortex in mice. Coronal sections, $d = 5 \mu\text{m}$, immunohistochemical staining with antibodies to NeuN and Carazzi hematoxylin (H). A – control group (saline solution); B – Group 1 (0.5 mg/kg/day); C – Group 2 (1 mg/kg/day), D – Group 3 (2 mg/kg/day). Ob. 40. Scale bar – 100 μm .

при мощности 0,98. При сравнении с помощью критерия Тьюки (рис. 2В) различия между группой контроля и всеми экспериментальными группами с введением ЛПС также статистически значимы. Различий средних значений в выборках между группами сравнения (ЛПС в дозах 0,5 мг/кг/сут, 1 мг/кг/сут и 2 мг/кг/сут) не выявлено.

При этом при сравнениях по Тьюки (рис. 2С) в паре «Физиологический раствор» – «ЛПС 0,5 мг» нулевая гипотеза отвергалась при $p=0,043$, в паре «Физиологический раствор» – «ЛПС 1 мг» – при $p=0,0112$, а в паре «Физиологический раствор» – «ЛПС 2 мг» – при $p=0,0002$. Снижение количества клеток, экспрессирующих NeuN, произошло во всех группах сравнения с введением ЛПС.

При ИФ исследовании в группе контроля (физиологический раствор) выявлено в среднем $184,6 \pm 14,79$ NeuN-положительных

клетки в поле зрения, т. е. $512,8 \pm 41,08$ на 1 мм^2 , а во 2-й группе (ЛПС в дозе 1 мг/кг/сут) – $192,6 \pm 15,54$ клетки, т. е. $535,0 \pm 320,94$ на 1 мм^2 (рис. 2А, 3).

При исследовании количества клеток, экспрессирующих маркер NeuN, в цингулярной коре больших полушарий головного мозга мышей после внутрибрюшинного введения ЛПС обнаружены статистически значимые различия между группой контроля (физиологический раствор) и экспериментальными группами с введением ЛПС в дозах 0,5 мг/кг/сутки (1-я группа), 1 мг/кг/сутки (2-я группа) и 2 мг/кг/сутки (3-я группа). Так, при введении 1 мг/кг ЛПС в сутки экспрессия NeuN снижается на 20,99 % относительно группы контроля. Следует отметить, что статистически значимых различий между выборками в группах с введением ЛПС нет, несмотря на заметное по микрофотографиям и

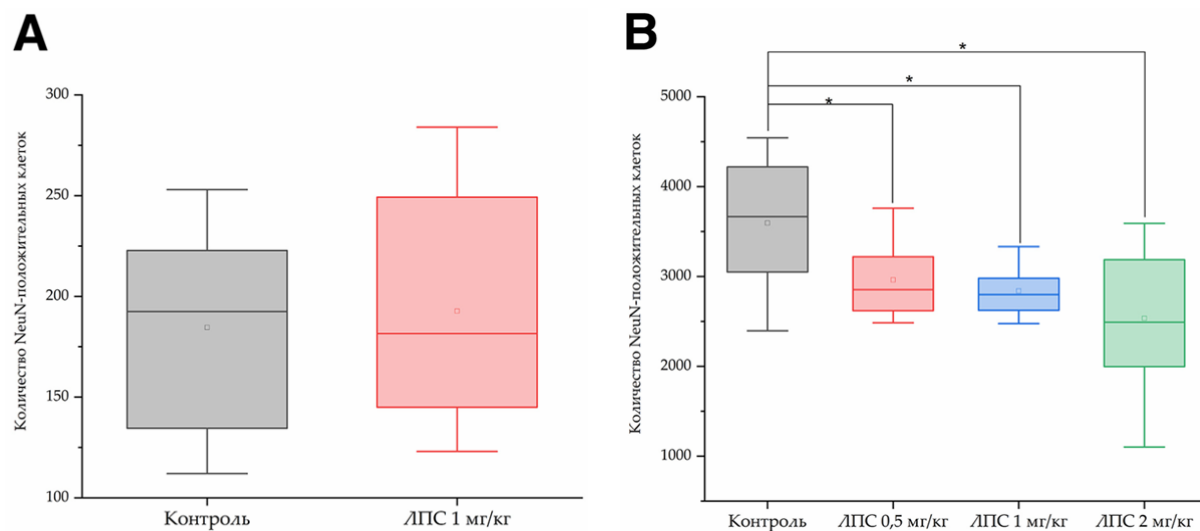
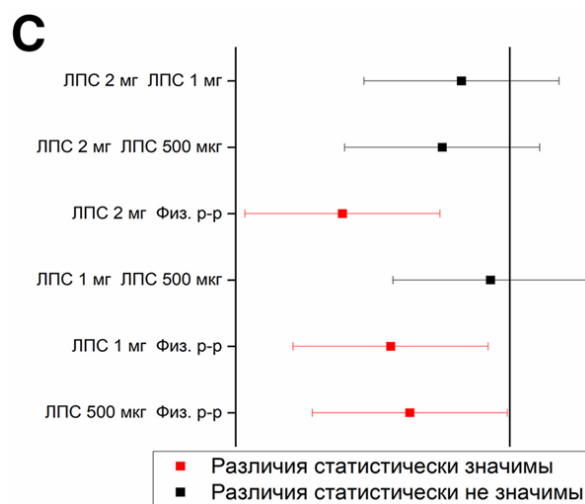


Рис. 2. Количество NeuN-положительных клеток в цингулярной коре больших полушарий головного мозга у мышей. А – график для иммунофлуоресцентного окрашивания; В – график для иммуногистохимического окрашивания; С – попарное сравнение между группами при помощи критерия Тьюки для иммуногистохимического окрашивания. Красные диапазоны – различия статистически значимы, черные диапазоны – не значимы; Т-образные отрезки отображают диапазон значений для каждой из групп; ящичными блоками показан межквартильный размах (25 и 75-й процентиля); горизонтальные линии обозначают медианные, а полые квадраты – средние значения; * – статистически значимые различия между группами.

Fig. 2. The number of NeuN-positive cells in the cingulate cerebral cortex in mice. A – plot for immunofluorescent study; B – plot for immunohistochemical study; C – pair comparison between the groups, Tukey test, immunohistochemical study. Red ranges show statistically significant differences, black ranges show not significant ones; T-shaped segments display the range of values for each of the groups; box plots show the interquartile range (25th and 75th percentiles); horizontal lines indicate the median, and hollow squares – mean values; * – statistically significant differences between groups.



графикам уменьшение абсолютного количества NeuN-положительных клеток по мере увеличения дозы ЛПС при ИГХ исследовании.

Вместе с тем, требуют объяснения выявленные расхождения в данных ИФ и ИГХ исследования по количеству клеток, окрашиваемых антителами к одному и тому же маркеру, NeuN. ИГХ исследование по определению менее подвержено искажению данных в зависимости от времени после окрашивания, чем ИФ исследование. Следовательно, ИГХ реакции приоритетны во всех случаях, кроме необходимости оценить пространственное взаиморасположение белков клеток на одном и том же препарате.

Однако, как показано в работе В.В. Гусельниковой и Д.Э. Коржевского [1], факт положительной реакции к NeuN служит критерием качества фиксации и дополнительной верификацией достоверности полученных данных. Поскольку цель исследования не предполагала изучения пространственного взаиморасположения различных белков, ИФ исследование имеет смысл не для сравнения групп между собой, а для оценки качества фиксации и пригодности срезов для изучения.

В данной работе препараты из одного и того же фиксированного материала изготовлены и окрашены для ИГХ и ИФ исследования практически одновременно. Таким образом, наглядная демонстрация положительной реакции к NeuN при ИФ исследовании делает более убедительной показанные различия между группами при ИГХ исследовании. При этом отсутствие различий между группами в ИФ исследовании нельзя сравнивать с характером различий между группами в ИГХ исследовании, учитывая разницу в разведении антител к NeuN (1:50 для ИГХ и 1:200 для ИФ окрашивания).

Поскольку маркер NeuN характерен только для ядер и околоядерной цитоплазмы нейронов [1], то выявленные закономерности в ИГХ исследовании можно объяснить их гибелью при введении мышам ЛПС (0,5, 1 и 2 мг/кг/сут) в течение 4 суток. Следует подчеркнуть, что все животные оставались в живых до выведения из эксперимента. Можно

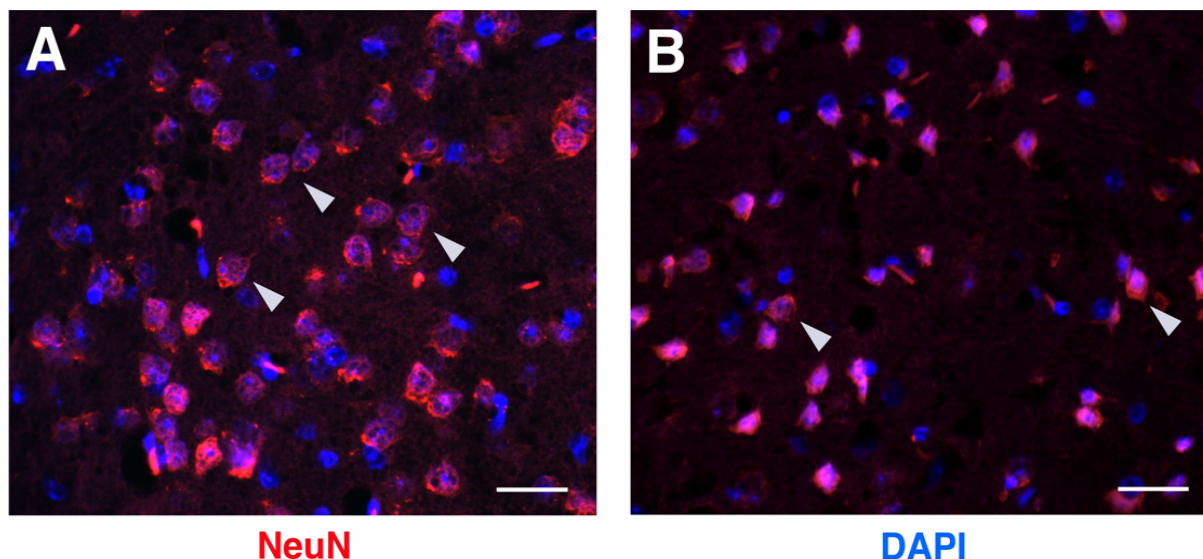


Рис. 3. Микрофотографии гистологических препаратов коры больших полушарий головного мозга мышей. Корональные срезы толщиной 5 мкм, иммунофлуоресцентное окрашивание с антителами к NeuN и DAPI. А – введение физиологического раствора; В – введение ЛПС 1 мг/кг/сут. Об. 40. Шкала – 100 мкм.

Fig. 3. Microphotographs of histological preparations of cerebral cortex in mice. Coronal sections, $d = 5 \mu\text{m}$, immunofluorescent study with antibodies to NeuN and DAPI. A – infusion of saline solution; B – LPS infusion at 1 mg/kg/day. Ob. 40. Scale bar – 100 μm .

предположить, что уменьшение экспрессии NeuN не сопровождалось воспалительными процессами, а воздействие ЛПС на нейроны опосредовано нейроглией ГЭБ без проникновения в кору больших полушарий головного мозга лимфоцитов или макрофагов.

В последнее десятилетие появилась тенденция рассматривать практически любое повреждение клеток в коре больших полушарий головного мозга как воспалительный процесс в нервной ткани или нейровоспаление. При этом большинство авторов, использующих этот термин, фактически описывают в результатах своих работ морфологические изменения без развития воспаления [17, 18, 20]. Отдельные исследования показывают, что введение ЛПС даже в высоких дозах не всегда сопровождается распространением воспалительного процесса через ГЭБ на структуры ЦНС [11].

Следует также отметить, что сигнализация о повреждении, опосредованном клетками астро- и микроглии, отличается от сигнализации при воспалительных реакциях. Так, при введении ЛПС и при инфекционном процессе в нервной ткани клетки микроглии секретируют разные наборы цитокинов [14, 22].

Можно заключить, что в проведенном исследовании достигнуто повреждение нейронов без воспалительной реакции в нервной ткани, учитывая менее четкие очертания ядер, более слабое цитоплазматическое накопление NeuN и численно определяемую меньшую экспрессию NeuN.

Кроме того, различия в экспрессии маркера NeuN между группами с введением ЛПС при иммуногистохимическом окрашивании не было. Однако значение p для сравнения

группы контроля (физиологический раствор) и 1-й группы (ЛПС 0,5 мг/кг/сут) составляет 0,043, т. е. находится на грани статистической значимости. Следовательно, результаты применения ЛПС в дозе 0,5 мг/кг/сут малоубедительны. Из двух групп с высокой статистической значимостью: 2-я и 3-я группы минимальный разброс значений для экспрессии NeuN наблюдается во 2-й группе (ЛПС в дозе 1 мг/кг/сутки). Таким образом, внутрибрюшинное введение мышам ЛПС в дозе 1 мг/кг/сут в течение 4 дней наиболее убедительно приводит к изменению экспрессии NeuN в цингулярной коре больших полушарий головного мозга.

Заключение

Установлено, что ежедневное внутрибрюшинное введение в течение 4 суток самкам мышей эшерихиозного липополисахарида в дозах 0,5, 1 и 2 мг/кг/сут уменьшает экспрессию маркера зрелых нейронов (NeuN) в цингулярной коре по данным иммуногистохимического исследования. При введении 1 мг/кг липополисахарида в сутки экспрессия NeuN снижается на 20,99 % относительно группы контроля. При этом продемонстрированы альтеративные изменения в нейронах цингулярной коры при введении липополисахарида.

Список литературы / References

1. Гусельникова В.В., Коржевский Д.Э. NeuN – нейрональный ядерный антиген и маркер дифференцировки зрелых клеток. Acta Naturae. 2015;7(2):42–47. URL: <https://actanaturae.ru/2075->

- 8251/article/download/10490/pdf. (дата обращения: 19.06.2024).
Gusel'nikova V.V., Korzhevskiy D.E. NeuN as a Neuronal Nuclear Antigen and Neuron Differentiation Marker. *Acta naturae*. 2015;7(2):42–47. Available at: <https://actanaturae.ru/2075-8251/article/download/10490/pdf>. (accessed: 19.06.2024)
2. Кудрявцева В.А., Кузьмин Е.А., Моисеева А.В., и др. Молекулярные и морфологические маркеры гибели нейронов при острых нарушениях мозгового кровообращения. *Сеченовский вестник*. 2022;13(4):18–32. DOI: 10.47093/2218-7332.2022.13.4.18-32.
Kudryavtseva V.A., Kuzmin E.A., Moiseeva A.V., et al. Molecular and morphological markers of neuronal death in acute cerebrovascular accidents. *Sechenov Medical Journal*. 2022;13(4):18–32. DOI: 10.47093/2218-7332.2022.13.4.18-32.
3. Bankhead P., Loughrey M.B., Fernández J.A., et al. QuPath: Open-source software for digital pathology image analysis. *Science Reports*. 2017;7(1):16878. DOI: 10.1038/s41598-017-17204-5.
4. Catorce M.N., Gevorkian G. LPS-induced Murine Neuroinflammation Model: Main Features and Suitability for Pre-clinical Assessment of Nutraceuticals. *Current neuropharmacology*. 2016;14(2):155–164. DOI: 10.2174/1570159X14666151204122017.
5. Dean J.M., van de Looij Y., Sizonenko S.V., et al. Delayed cortical impairment following lipopolysaccharide exposure in preterm fetal sheep. *Annals of neurology*. 2011; 0(5):846–856. DOI: 10.1002/ana.22480.
6. Festing M.F.W., Altman D.G. Guidelines for the design and statistical analysis of experiments using laboratory animals. *ILAR J*. 2002;43(4):244–258. DOI: 10.1093/ilar.43.4.244 Erratum in: *ILAR J*. 2005;46(3):320.
7. Galea E., Graeber M.B. Neuroinflammation: The Abused Concept. *ASN Neuro*. 2023 Jan-Dec;15:17590914231197523. DOI: 10.1177/17590914231197523.
8. Haley M.S., Maffei A. Versatility and Flexibility of Cortical Circuits. *The Neuroscientist: a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry*. 2018;24(5):456–470. DOI: 10.1177/1073858417733720.
9. Harland M., Torres S., Liu, J., Wang X. Neuronal Mitochondria Modulation of LPS-Induced Neuroinflammation. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*. 2020;40(8):1756–1765. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2324-19.2020.
10. Hirotsu A., Miyao M., Tatsumi K., Tanaka T. Sepsis-associated neuroinflammation in the spinal cord. *PLoS one*. 2022;17(6):e0269924. DOI: 10.1371/journal.pone.0269924.
11. Li T., Yuan L., Zhao Y., et al. Blocking osteopontin expression attenuates neuroinflammation and mitigates LPS-induced depressive-like behavior in mice. *Journal of affective disorders*. 2023;330:83–93. DOI: 10.1016/j.jad.2023.02.105.
12. Mullen R.J., Buck C.R., Smith A.M. NeuN, a neuronal specific nuclear protein in vertebrates. *Development (Cambridge, England)*. 1992;116(1):201–211. DOI: 10.1242/dev.116.1.201.
13. Paxinos G., Franklin K. Paxinos and Franklin's the Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates. Elsevier Science. 2012. 360.
14. Roe K. An inflammation classification system using cytokine parameters. *Scandinavian journal of immunology*. 2021;93(2):e12970. DOI: 10.1111/sji.12970.
15. Sumbria R.K., Grigoryan M.M., Vasilevko V., et al. A murine model of inflammation-induced cerebral microbleeds. *Journal of neuroinflammation*. 2016;13(1):218. DOI: 10.1186/s12974-016-0693-5.
16. Venediktov A.A., Bushueva O.Y., Kudryavtseva V.A., et al. Closest horizons of Hsp70 engagement to manage neurodegeneration. *Frontiers in molecular neuroscience*. 2023;16:1230436. DOI: 10.3389/fnmol.2023.1230436.
17. Wang L., Ding J., Zhu C., et al. Semaglutide attenuates seizure severity and ameliorates cognitive dysfunction by blocking the NLR family pyrin domain containing 3 inflammasome in pentylenetetrazole kindled mice. *International journal of molecular medicine*. 2021;48(6):219. DOI: 10.3892/ijmm.2021.5052.
18. Wang Y., Ge X., Yu S., Cheng Q. Achyranthes bidentata polypeptide alleviates neurotoxicity of lipopolysaccharide-activated microglia via PI3K/Akt dependent NOX2/ROS pathway. *Annals of translational medicine*. 2021;9(20):1522. DOI: 10.21037/atm-21-4027.
19. Wolf H.K., Buslei R., Schmidt-Kastner R., et al. NeuN: a useful neuronal marker for diagnostic histopathology. *The journal of histochemistry and cytochemistry: official journal of the Histochemistry Society*. 1996;44(10):1167–1171. DOI: 10.1177/44.10.8813082.
20. Woodburn S.C., Bollinger J.L., Wohleb E.S. The semantics of microglia activation: neuroinflammation, homeostasis, and stress. *Journal of neuroinflammation*. 2021;18(1):258. DOI: 10.1186/s12974-021-02309-6.
21. Wu J. Y., Cho S. J., Descant K., et al. Mapping of neuronal and glial primary cilia contactome and connectome in the human cerebral cortex. *Neuron*. 2024;112(1):41–55. DOI: 10.1016/j.neuron.2023.09.032.
22. Yang J., Li Y., Bhalla A., et al. A novel co-culture model for investigation of the effects of LPS-induced macrophage-derived cytokines on brain endothelial cells. *PLoS one*. 2023;18(7):e0288497. DOI: 10.1371/journal.pone.0288497.
23. Yang Y., Hao T., Yao X., et al. Crebanine ameliorates ischemia-reperfusion brain damage by inhibiting oxidative stress and neuroinflammation mediated by NADPH oxidase 2 in microglia. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*. 2023;120:155044. DOI: 10.1016/j.phymed.2023.155044.
24. Yu Q., Zhang L., Xu T., et al. Oligodendroglia-to-pericyte conversion after lipopolysaccharide exposure is gender-dependent. *PLoS one*. 2024;19(8):e0308132. DOI: 10.1371/journal.pone.0308132.
25. Zhao J., Bi W., Xiao S., et al. Neuroinflammation induced by lipopolysaccharide causes cognitive impairment in mice. *Scientific reports*. 2019;9(1):5790. DOI: 10.1038/s41598-019-42286-8.

Информация об авторах

Венедиктов Артем Андреевич – ассистент кафедры анатомии и гистологии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова; ул. Трубецкая, 8, стр. 2, Москва, 119048, Россия; venediktov_a_a@staff.sechenov.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5604-0461>
SPIN 4791-1926

Information about the authors

Artem A. Venediktov – teaching assistant of Anatomy and Histology Department of I.M. Sechenov State Medical University; ul. Trubetskaya, 8, str. 2, Moscow, 119048, Russia; venediktov_a_a@staff.sechenov.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5604-0461>
SPIN 4791-1926