

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ НЕОКОРТЕКСА, АРХИКОРТЕКСА И МИНДАЛЕВИДНОГО ТЕЛА БЕЛЫХ КРЫС ПОСЛЕ ОСТРОЙ ИШЕМИИ

В. А. Акулинин, С. С. Степанов, Д. Б. Авдеев, А. С. Степанов, В.С. Разумовский,
А. В. Артюхов, А. В. Горбунова
ФГБОУ ВПО «Омский государственный медицинский университет»
Минздрава России, Омск, Россия

Цель исследования – изучить нейроны и синапсы сенсомоторной коры, гиппокампа и миндалевидного тела головного мозга белых крыс в норме и после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий.

Материал и методы. С помощью световой микроскопии, иммуногистохимии (синаптофизин или р38) и морфометрии были изучены общая численная плотность нейронов и площадь срезов синаптических терминалей головного мозга в норме (n=5), через 1, 3, 7, 14 и 30 сут (n=25) после острой ишемии.

Результаты. В течение 30 сут постгемического периода в слое III неокортекса необратимой деструкции подвергалось 21.5%, а в слое V – 19.0% нейронов, в поле CA₁ гиппокампа – 33.0%, CA₃ – 17.4%, CA₄ – 5.3% нейронов, в миндалевидном теле – 15.1% средних и 6.2% крупных нейронов. Уменьшение относительной площади р38-позитивного материала преимущественно аксошипиновых и аксодендритических синапсов изменяло соотношения функционирующих синапсов на телах и дендритах нейронов в пользу аксосоматических, которые являются преимущественно тормозными.

Заключение. Полученные данные могут служить основой восстановления и дисфункции межнейронных отношений, предрасполагающей к развитию постгемической энцефалопатии.

Ключевые слова: крыса; острая ишемия; реперфузия; неокортекс, архикортекс; миндалевидное тело; синаптофизин; морфометрия.

© V. A. Akulinin, S. S. Stepanov, D. B. Avdeev, A. S. Stepanov, V.S. Razumovsky, A.V. Artyukhov,
A. V. Gorbunova, 2018

Omsk State Medical University, Omsk, Russia

Features of the White Rats' Neocortex, Archicortex and Amygdala Changes After Acute Ischemia

The *aim* of the study is to evaluate neurons and synapses of the sensorimotor cortex, hippocampus and amygdala of the brain of white rats in the normal state and after 20-minute occlusion of the common carotid arteries.

Material and methods. Light microscopy, immunohistochemistry (synaptophysin or P38) and morphometry were used to study the total numerical density of neurons and the area of sections of synaptic terminals of the brain in normal (n=5) and 1, 3, 7, 14, 30 days (n=25) after acute ischemia.

Results. Within 30 days of the postischemic period, of the sensorimotor cortex in the layer III irreversible destruction have been 21.5% and in layer V of 19.0% of neurons in field CA₁ of the hippocampus – 33.0%, CA₃ – 17.4%, CA₄ – 5.3% of neurons in the amygdala – the 15.1% average and 6.2% of the large neurons. The decrease in the relative area of P38-positive material of mainly axospines and axodendritic synapses changed the ratio of functioning synapses on the bodies and dendrites of neurons in favor of axosomatic, which are mainly inhibitory.

Conclusion. All of this could be the basis of recovery and of dysfunction of interneuronal relationships, predisposing to the development of postischemic encephalopathy.

Key words: rat; acute ischemia; reperfusion; neocortex, archicortex; amygdala; synaptophysin; morphometry.

Введение

Имеются исследования, в которых описаны основные реакции нейронов на ишемию и реперфузию. Гибель нейронов происходит путем некроза (острого, отсроченного, отдаленного) и апоптоза, а также сочетания обоих процессов – параапоптоза [3, 11, 9, 10]. Есть работы, посвященные изучению коры головного мозга белых крыс после окклюзии общих сонных артерий [2, 7]. Однако структурные механизмы реорганизации нервной ткани головного мозга в период реперфузии во многом остаются неясными [8, 6]. Особенно это касается сравнительного изучения реакции на ишемию и реперфузию экранных и ядерных нервных центров.

Поэтому иммуногистохимические исследования в этом направлении актуальны и полезны для понимания механизмов повреждения и структурно-функционального восстановления высших отделов головного мозга млекопитающих в постгемическом периоде. Особое значение имеет изучение реорганизации citoархитектоники и межнейронных отношений в разных отделах, например, неокортексе, архикортексе и миндалевидном теле головного мозга [12].

Целью настоящего исследования было изучение соматосенсорной коры, гиппокампа и миндалевидного комплекса с помощью иммуногистохимического выявления синаптических терминалей в норме и после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий.

Таблица 1

Общая численная плотность нейронов (на мм²) в слое III и V сенсомоторной коры в постишемическом периоде, Ме (QL–QU)

Группы животных	Слои неокортекса		Сравнение слоев
	Слой III	Слой V	
Ложно оперированные	405.2 (375.4–438.0)	270.0 (245.0–290.0)	$p = 0.0001\#$
1 сут	310.5 (288.2–395.0) $p = 0.001^*$	240.5 (215.5–262.4) $p = 0.02^*$	$p = 0.001\#$
3 сут	320.8 (292.4–370.6) $p = 0.001^*$ $p = 0.08^\wedge$	210.8 (178.5–225.6) $p = 0.001^*$ $p = 0.01^\wedge$	$p = 0.003\#$
7 сут	280.2 (220.0–312.5) $p = 0.0001^*$ $p = 0.03^\wedge$	208.2 (180.2–240.9) $p = 0.001^*$ $p = 0.8^\wedge$	$p = 0.001\#$
14 сут	310.5 (236.2–321.0) $p = 0.0001^*$ $p = 0.07^\wedge$	190.5 (185.0–230.5) $p = 0.0001^*$ $p = 0.8^\wedge$	$p = 0.0001\#$
21 сут	320.6 (295.6–356.8) $p = 0.0001^*$ $p = 0.08^\wedge$	215.5 (165.2–228.0) $p = 0.001^*$ $p = 0.6^\wedge$	$p = 0.0001\#$
30 сут	318.0 (278.6–345.8) $p = 0.0001^*$ $p = 0.3^\wedge$	218.8 (125.3–235.0) $p = 0.001^*$ $p = 0.8^\wedge$	$p = 0.0001\#$
ANOVA	df=6; H=25.2; $p = 0.03\&$	df=6; H=28.2; $p = 0.04\&$	–

Примечание: * – сравнение с ложнооперированными животными, $^\wedge$ – сравнение с предыдущим сроком (критерий Манна–Уитни), # – между слоями (критерий Вилкоксона), & – между всеми сроками по данному слою (ANOVA); различия статистически значимы при $p < 0.05$; Ме – медиана QL – нижний (lower), QU – верхний (upper) квартили, ANOVA – однофакторный дисперсионный анализ Краскела–Уоллиса.

Материал и методы исследования

Работа выполнена на базе ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России. Данное исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО ОмГМУ. В качестве экспериментальных животных использовали белых линейных крыс ($n=30$, линия Wistar, самцы) массой 180–200 г. Исследования проводили в соответствии с правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных.

Острую 20-минутную ишемию мозга путем пережатия общих сонных артерий (2-сосудистая модель неполной глобальной ишемии без гипотонии) моделировали на фоне премедикации (сульфатом атропина 0.1 мг/кг, подкожно) и общей анестезии (Zoletil 100, 10 мг/кг). Взятие материала проводили через 1, 3, 7, 14 и 30 сут после ишемии. Контролем ($n=5$) служили ложнооперированные (без окклюзии артерий) животные того же возраста. Головной мозг фиксировали путем перфузии 4% раствором параформа на 0.1 М фосфатном буфере ($pH=7.4$) через восходящую часть дуги аорты. Фронтальные срезы (2–4 мкм) окрашивали гематоксилином и эозином, тионином по Нисслю, а также с помощью иммуногистохимического метода против синаптофизина (p38) (производитель: Leica Biosystems Newcastle Ltd, Великобритания). Окраска осуществлялась согласно рекомендациям фирмы производителя реагентов.

На микроскопе Leica DM 1000 делались цифровые микрофотографии (по 200 полей зрения с каждого отдела). Морфометрический анализ проводили с использованием ранее разработанного подхода к оценке систем межнейронной коммуникации с помощью иммуногистохимических методов и программы ImageJ 1.46 [4, 5]. Определяли общую численную плотность нейронов и относительную площадь p38-позитивного материала. Проверку статистических гипотез осуществляли непараметрическими критериями Манна–Уитни, ANOVA (однофакторный дисперсионный анализ) Краскела–Уоллиса и критерия χ^2 (StatSoft Statistica 8.0) [1]. Результаты представлены как медиана (нижний, верхний квартили) и в процентах (95% доверительный интервал – 95% ДИ). В ходе проведения статистического анализа нулевая гипотеза отвергалась при $p \leq 0.05$.

Результаты и их обсуждение

В течение 30 сут после двусторонней 20-минутной окклюзии общих сонных артерий (ООСА) в слое III неокортекса необратимой деструкции подвергалось 21.5%, а в слое V – 19.0% нейронов (табл. 1). Дефицит нейронов в поле CA_1 составил 33.0%, в CA_3 – 17.4%, а в поле CA_4 – 5.3% (табл. 2). В миндалевидном теле необратимой деструкции подвергалось 15.1% средних (по размеру перикариона) и 6.2% крупных нейронов (табл. 3). Таким образом, реорганизация межнейронных отношений

Таблица 2

**Общая численная плотность (на 1 мм² площади клеточных слоев) нейронов
гиппокампальной формации в постшемическом периоде, Me (QL–QU)**

Группы животных	Отделы		
	CA ₁	CA ₃	CA ₄
Ложно оперированные	2936 (2726–3652)	1983 (1755–2106)	1430 (1256–1495)
1 сут	2322 (2167–2553)*	1754 (1541–1902)*	1294 (1095–1412)*^
3 сут	2308 (1960–2456)*	1699 (1432–1712)*^	1285 (1106–1428)*
7 сут	2135 (1865–2301)*^	1650 (1415–1720)*	1392 (1123–1399)*
14 сут	2090 (1767–2115)*^	1662 (1398–1734)*	1338 (1214–1402)*
21 сут	2005 (1978–2354)*	1624 (1267–1658)*	1398 (1196–1415)*
30 сут	1983 (1764–2213)*	1638 (1178–1702)*	1354 (1205–1420)*
ANOVA	df=6; H=19.2; p = 0.02&	df=6; H=17.5; p = 0.03&	df=6; H=15.5; p = 0.04&

Примечание: * – сравнение с ложнооперированными животными, ^ – сравнение с предыдущим сроком (критерий Манна–Уитни), & – между всеми сроками по данному полю (ANOVA); различия статистически значимы при $p < 0.05$; Me – медиана QL – нижний, QU – верхний квартили, ANOVA – однофакторный дисперсионный анализ Краскела–Уоллиса.

Таблица 3

**Общая численная плотность (на 1 мм²) средних и крупных нормохромных нейронов
миндалевидного тела головного мозга белых крыс в постшемическом периоде, окраска
по Нисслю, Me (QL–QU)**

Группы и время	Тип ядер по размерам клеток	
	Средние клетки	Крупные клетки
Ложно оперированные	490.5 (445.3–534.5)	246.5 (203.2–253.2)
1 сут	498.8 (436.4–517.4)	238.6 (221.1–248.3)
3 сут	475.8 (432.2–501.7)	252.2 (212.3–258.8)
7 сут	413.2 (388.8–421.4)*^	234.8 (197.7–241.4)*^
14 сут	422.3 (375.5–476.2)*^	232.4 (187.8–239.2)*
21 сут	418.6 (345.3–434.2)*	230.1 (193.2–244.2)*
30 сут	416.5 (347.8–438.5)*	231.2 (218.2–240.5)*

Примечание: * – различия статистически значимы в сравнении с контролем, ^ – в сравнении с предыдущим сроком (критерий Манна–Уитни, при $p < 0.05$).

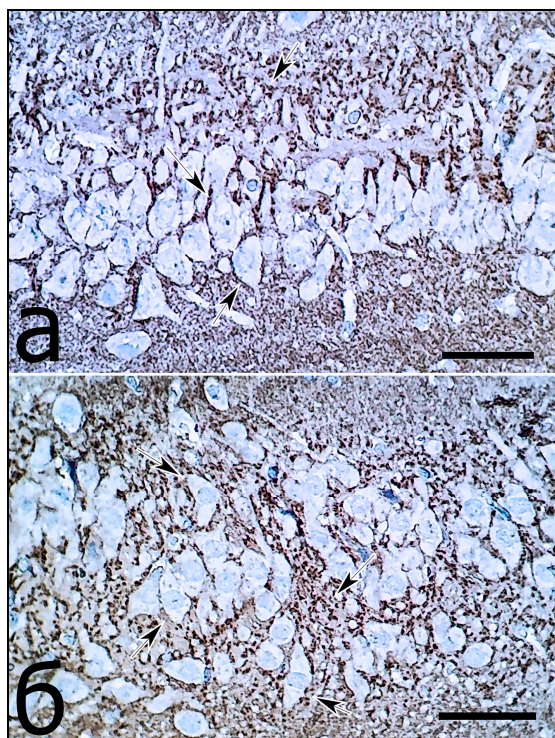


Рис. 1. Распределение гигантских терминалей аксонов (отмечено стрелками) в поле CA₃ (а) и CA₄ (б) гиппокампа, контроль. Окраска: иммуногистохимия (синаптофизин). Об. 40, шкала – 50 мкм.

после реперфузии происходила на фоне уменьшения количества нейронов. В большей степени страдали нейроны CA₁ гиппокампа и слоя III неокортекса.

Изучение распределения локализации синаптофизина (p38) в терминалях позволило выявить особенности не только синапто-, но и citoархитектоники неокортекса, архикортекса и миндалевидного тела (рис. 1, 2). Особенностью поля CA₃ и, в меньшей степени, CA₄ является наличие гигантских синапсов на апикальных дендритах и телах пирамидных нейронов. В поле CA₃ выделяется целая зона гигантских терминалей (stratum lucidum). Нами установлено, что в группе контрольных животных и после ишемии в поле CA₃ основная масса меченных p38 крупных аксодендритических терминалей локализовалась в зоне апикальных дендритов, а в CA₄ терминали были расположены диффузно – на телах и между телами пирамидных нейронов (рис. 1, табл. 1).

Диаметр срезов одной p38-позитивной частицы (гигантские терминали stratum lucidum) варьировал от 1.4 до 2.9 мкм. Это вполне достаточно для проведения точного морфометрического анализа синаптоархитектоники зон расположения подобных терми-

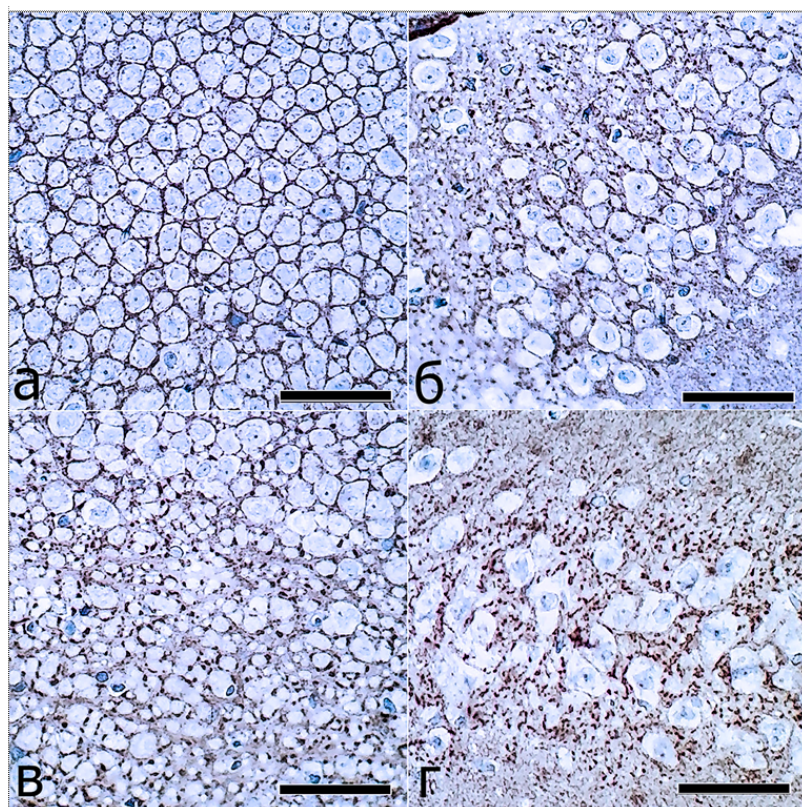


Рис. 2. Зубчатая фасция (а), поля CA₃ (б, в) и CA₄ (г) гиппокампа головного мозга белой крысы, через 14 (а), 7 (б), 3 (в), 30 (г) сут реперфузии: четко видны контуры перикарионов и крупных апикальных дендритов, терминали синапсов содержат метки на синаптофизин, гигантские терминали аксонов нейронов зубчатой фасции (ЗФ) на дендритах и телах пирамидных нейронов (б, в, г), а – тангенциальный срез зубчатой фасции. Окраска: иммуногистохимия, синаптофизин. Об. 40, шкала – 50 мкм.

налей с помощью светоптического микроскопа.

Установлено, что через 1 сут после ООСА в stratum lucidum CA₃ относительная площадь срезов р38-позитивных терминалей статистически значимо уменьшилась на 8.8% (95% ДИ: 0.59–16.9%) по сравнению с контролем. Для CA₄ этого не было выявлено. Через 3, 7, 14 и 30 сут после ишемии этот показатель восстанавливался до контрольного значения (табл. 1), а структура распределения р38-позитивного материала (терминалей) не отличалась от нормы (рис. 2).

Необходимо отметить, что относительная площадь р38-позитивных частиц уменьшалась только в зоне дендритов CA₃, а в зоне скопления тел пирамидных нейронов и в CA₃, и в CA₄ этого не было выявлено (табл. 4).

Таким образом, в остром постишемическом периоде (1-е сут) в поле CA₃ происходило значительное увеличение доли афферентов на телах нейронов. В норме отношение апикальные дендриты/тела – 1.7 (24.6/14.9), через 1 сут – 0.96 (15.8/16.5). Это можно рассматривать как один из механизмов изменения межнейронных отношений в раннем периоде после острой ишемии.

В поле CA₁, зубчатой фасции и неокортексе гигантские синапсы практически не встречались (рис. 2–5).

В гиппокампе и неокортексе р38-позитивные дискретные частицы различной формы и размеров были выявлены на телах нейронов, крупных апикальных дендритах и в нейропиле. При этом четко видны контуры тел и апикальных дендритов пирамид-

ных нейронов (рис. 4 и 5). В норме поле CA₁ представлена небольшими, плотно расположенными в 2–3 ряда пирамидными нейронами. Апикальные дендриты пирамид CA₁ отмечались на значительном расстоянии от тел клеток в виде единого ствола. КЗ и пирамидные нейроны CA₁ не покрыты крупными р38-позитивными терминалями (рис. 3–5).

Через 1 сут распределение терминалей в неокортексе и гиппокампе соответствовали описанному в контроле, но отмечались умеренные проявления отека-набухания перикарионов (рис. 4). Через 3 и 7 сут после ООСА принципиальная структура синаптоархитектоники изученных отделов головного мозга не изменялась. Были видны контуры перикарионов и крупных апикальных дендритов, терминали синапсов содержат метки на синаптофизин, в CA₃ и CA₄ большое количество крупных терминалей (рис. 5).

Тем не менее, морфометрический анализ показал статистически значимое уменьшение относительной площади частиц р38-позитивного материала в неокортексе и гиппокампе (но не МТ) белых крыс через 1 сут после ООСА (табл. 5, 6).

Поле CA₁ отличалось небольшими однотипными, плотно расположенными в 2–3 слоя пирамидными нейронами. Апикальные дендриты пирамид CA₁ выявлялись на значительном расстоянии от тела клетки в виде единого ствола. Через 30 сут общая численность плотность пирамидных нейронов в CA₁ гиппокампа в отдельных местах снижалась практически в 2.0 раза (критерий Манна–Уитни, $p=0.001$). В CA₁ нейроны располагались в виде одного

Таблица 4

Относительная площадь (%) частиц р38-позитивного материала в полях СА₃ и СА₄ гиппокампа белых крыс в норме и после восстановления кровотока (по 200 полей зрения на каждый срок)

Группы	Зоны сравнения		
	СА ₃ (stratum lucidum и radiatum)	СА ₃ (слой тел нейронов)	СА ₄ (слой тел нейронов)
Контроль	24.6 (ДИ: 18.8–31.2)	14.9 (ДИ: 10.3–20.6) $\chi^2 = 5.3; p = 0.021^*$	20.2 (ДИ: 14.9–26.4) $\chi^2 = 3.9; p = 0.047^{\wedge}$
1 сут	15.8 (ДИ: 11.0–21.6) $\chi^2 = 4.3; p = 0.038^{\kappa}$	16.5 (ДИ: 11.6–22.4) $\chi^2 = 0.003; p = 0.95^*$ $\chi^2 = 0.1; p = 0.76^{\kappa}$	16.1 (ДИ: 11.3–21.9) $\chi^2 = 0.001; p = 0.98^{\wedge}$ $\chi^2 = 0.8; p = 0.87^{\kappa}$
3 сут	22.0 (ДИ: 16.5–28.4) $\chi^2 = 0.2; p = 0.61^{\kappa}$ $\chi^2 = 2.1; p = 0.15^{\Pi}$	14.8 (ДИ: 10.2–20.5) $\chi^2 = 3.0; p = 0.08^*$ $\chi^2 = 0.0; p = 0.99^{\kappa}$ $\chi^2 = 0.1; p = 0.74^{\Pi}$	22.9 (ДИ: 17.3–29.4) $\chi^2 = 3.8; p = 0.05^{\wedge}$ $\chi^2 = 0.3; p = 0.59^{\kappa}$ $\chi^2 = 2.5; p = 0.11^{\Pi}$
7 сут	29.2 (ДИ: 23.0–36.0) $\chi^2 = 0.9; p = 0.36^{\kappa}$ $\chi^2 = 2.4; p = 0.12^{\Pi}$	16.8 (ДИ: 11.9–22.7) $\chi^2 = 8.0; p = 0.005^*$ $\chi^2 = 0.2; p = 0.70^{\kappa}$ $\chi^2 = 0.1; p = 0.74^{\Pi}$	21.2 (ДИ: 15.7–27.5) $\chi^2 = 0.99; p = 0.32^{\wedge}$ $\chi^2 = 0.01; p = 0.90^{\kappa}$ $\chi^2 = 0.1; p = 0.77^{\Pi}$
14 сут	22.3 (ДИ: 16.7–28.7) $\chi^2 = 0.2; p = 0.67^{\kappa}$ $\chi^2 = 2.1; p = 0.14^{\Pi}$	17.1 (ДИ: 10.7–20.6) $\chi^2 = 1.4; p = 0.23^*$ $\chi^2 = 0.2; p = 0.64^{\kappa}$ $\chi^2 = 0.0; p = 0.96^{\Pi}$	18.3 (ДИ: 13.2–24.4) $\chi^2 = 0.03; p = 0.85^{\wedge}$ $\chi^2 = 0.1; p = 0.72^{\kappa}$ $\chi^2 = 0.4; p = 0.55^{\Pi}$
30 сут	28.2 (ДИ: 22.1–35.0) $\chi^2 = 0.5; p = 0.48^{\kappa}$ $\chi^2 = 1.6; p = 0.21^{\Pi}$	16.7 (ДИ: 11.8–22.6) $\chi^2 = 5.3; p = 0.021^*$ $\chi^2 = 0.2; p = 0.70^{\kappa}$ $\chi^2 = 1.0; p = 0.98^{\Pi}$	19.7 (ДИ: 14.4–25.9) $\chi^2 = 0.4; p = 0.5^{\wedge}$ $\chi^2 = 0.0; p = 1.0^{\kappa}$ $\chi^2 = 0.1; p = 0.81^{\Pi}$

Примечание: \wedge – в сравнении с аналогичной зоной СА₃, * – в сравнении с СА₃ (дендриты), κ – в сравнении с контролем, Π – в сравнении с предыдущим сроком. Различия статистически значимы при $p \leq 0.05$ (критерий χ^2 ; отмечено полужирным начертанием). ДИ – 95% доверительный интервал.

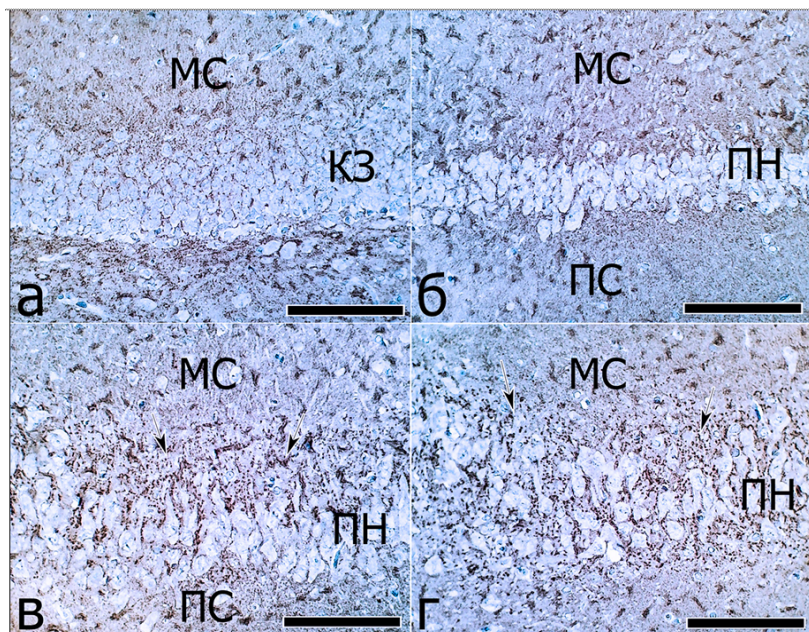


Рис. 3. Кора гиппокампа белой крысы в норме: экранное образование, четко выделяется молекулярный слой (МС), полиморфный слой (ПС) и слои пирамидных нейронов (ПН), б – СА₁, в – СА₃, г – СА₄, КЗ – клетки-зерна зубчатой фассии, стрелки крупные р38-позитивные терминалы на дендритах (СА₃) и телах (СА₄) пирамидных нейронов. Окраска: иммуногистохимия, синаптофизин. Об. 40, шкала – 100 мкм.

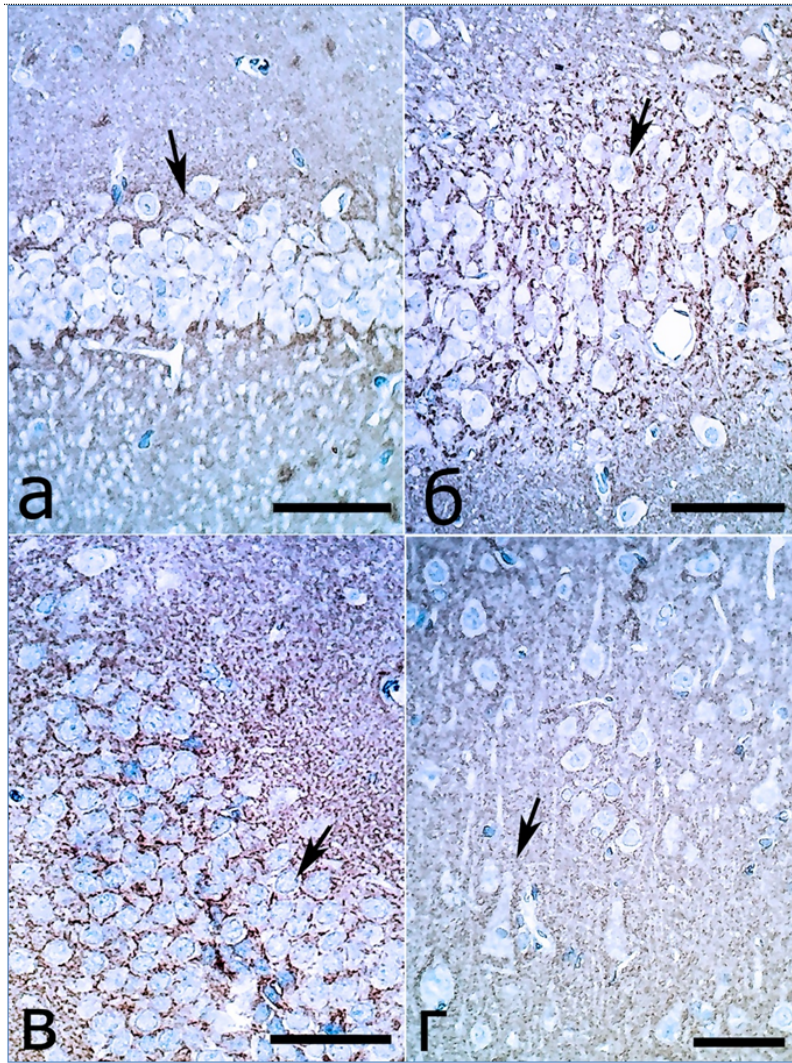


Рис. 4. CA₁ (а), CA₃ (б), зубчатая фасция (в) и слой V сенсомоторной коры (г) головного мозга белой крысы, 6 ч (а), 1 сут (б, в, г) реперфузии: четко видны контуры перикарионов и крупных апикальных дендритов, терминали синапсов содержат метки к р38 (стрелки), умеренные проявления отека-набухания перикарионов. Окраска: иммуногистохимия, синаптофизин (р38). Об. 40, шкала – 50 мкм.

Таблица 5
Относительная площадь (%) частиц р38-позитивного материала в неокортексе белых крыс в норме и после восстановления кровотока (по 200 полей зрения на каждый срок)

Группы	Результаты сравнения
Контроль	19.1 (ДИ: 13.9–25.2)
1 сут	11.4 (ДИ: 7.4–16.6) $\chi^2 = 4.0; p = 0.045^*$
3 сут	14.2 (ДИ: 9.7–19.8) $\chi^2 = 1.4; p = 0.23^*$ $\chi^2 = 0.5; p = 0.49^{\wedge}$
7 сут	18.9 (ДИ: 13.7–25.0) $\chi^2 = 0.0; p = 0.94^*$ $\chi^2 = 1.3; p = 0.25^{\wedge}$
14 сут	16.8 (ДИ: 11.9–22.7) $\chi^2 = 0.22; p = 0.63^*$ $\chi^2 = 1.8; p = 0.68^{\wedge}$
30 сут	21.2 (ДИ: 15.7–27.5) $\chi^2 = 0.2; p = 0.69^*$ $\chi^2 = 1.0; p = 0.32^{\wedge}$

Примечание: * – в сравнении с контролем, \wedge – в сравнении с предыдущим сроком. Различия статистически значимы при $p \leq 0.05$ (критерий χ^2 ; отмечено полужирным начертанием). ДИ – 95% доверительный интервал.

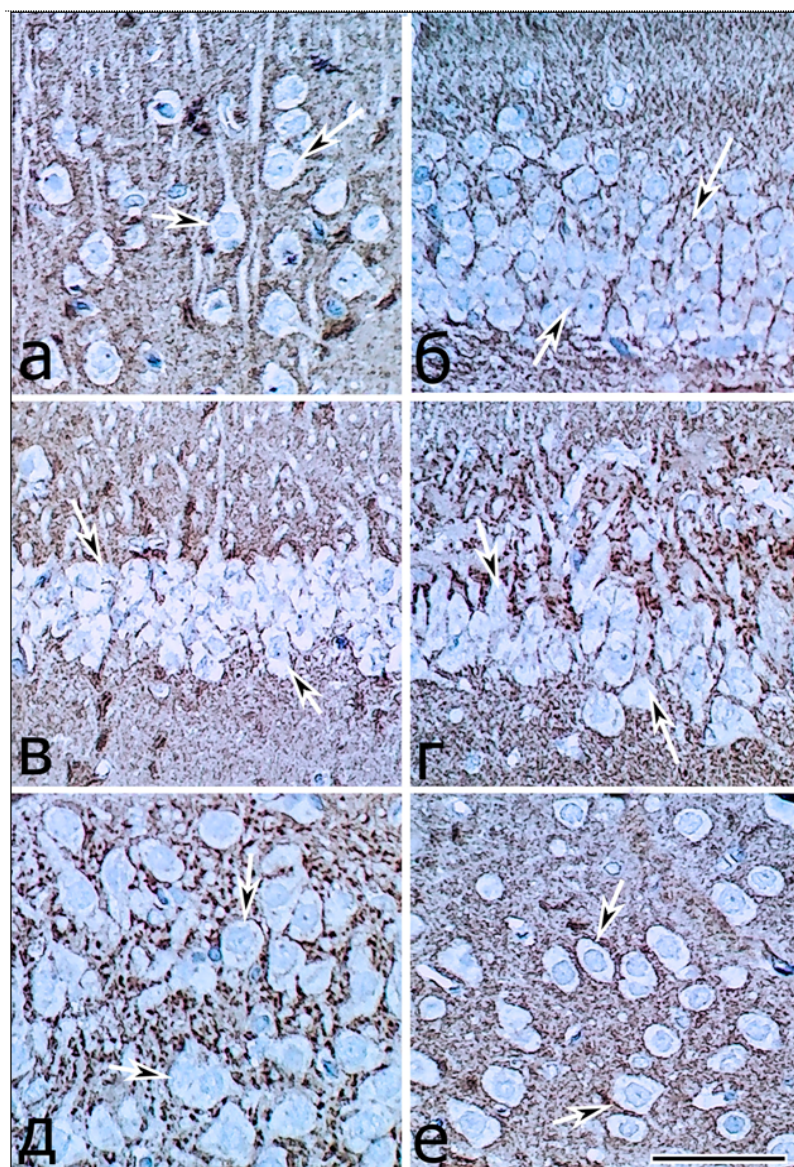


Рис. 5. Неокортекс (а), зубчатая фасция (б), СА₁ (в), СА₃ (г) и СА₄ (д) гиппокампа и центральное ядро миндалевидного тела (е) головного мозга белой крысы, 7-е сут реперфузии: четко видны контуры перикарионов и крупных апикальных дендритов, терминали синапсов содержат метки на синаптофизин (стрелки), в СА₃ и СА₄ большое количество крупных терминалей, отсутствуют очаги выпадения клеток и пустые зоны нейропилля. Стрелки – тела нейронов. Окраска: иммуногистохимия, синаптофизин. Об. 40, шкала – 50 мкм.

Таблица 6
Относительная площадь (%) частиц p38-позитивного материала в поле СА₁ гиппокампа белых крыс в норме и после восстановления кровотока (по 200 полей зрения на каждый срок)

Группы	Зона СА ₁		Отношение между зонами, %
	Молекулярный слой (дендриты, нейропилль)	Слой пирамидных нейронов	
Контроль	20.2 (ДИ: 14.9–26.4)	7.5 (ДИ: 4.3–12.1) $\chi^2 = 12.5; p = 0.0004^{\wedge}$	2.7
1 сут	9.1 (ДИ: 5.5–14.0) $\chi^2 = 8.9; p = 0.003^*$	7.2 (ДИ: 4.0–11.7) $\chi^2 = 0.0; p = 0.94^*$ $\chi^2 = 0.96; p = 0.3^{\wedge}$	1.3
3 сут	11.4 (ДИ: 7.4–16.6) $\chi^2 = 5.2; p = 0.02^*$	8.0 (ДИ: 4.6–12.7) $\chi^2 = 0.0; p = 0.99^*$ $\chi^2 = 0.96; p = 0.3^{\wedge}$	1.4
7 сут	16.7 (ДИ: 11.8–22.6) $\chi^2 = 0.6; p = 0.44^*$	7.3 (ДИ: 4.1–11.8) $\chi^2 = 0.01; p = 0.91^*$ $\chi^2 = 7.5; p = 0.006^{\wedge}$	2.3
14 сут	12.8 (ДИ: 8.1–17.7) $\chi^2 = 3.5; p = 0.06^*$	8.2 (ДИ: 4.8–12.9) $\chi^2 = 0.0; p = 0.94^*$ $\chi^2 = 1.8; p = 0.18^{\wedge}$	1.6
30 сут	17.5 (ДИ: 12.5–23.5) $\chi^2 = 0.3; p = 0.57^*$	10.2 (ДИ: 6.4–15.3) $\chi^2 = 0.6; p = 0.44^*$ $\chi^2 = 3.9; p = 0.049^{\wedge}$	1.7

Примечание: * – в сравнении с контролем, \wedge – в сравнении с молекулярным слоем. Различия статистически значимы при $p \leq 0.05$ (критерий χ^2 ; отмечено полужирным начертанием). ДИ – 95% доверительный интервал.

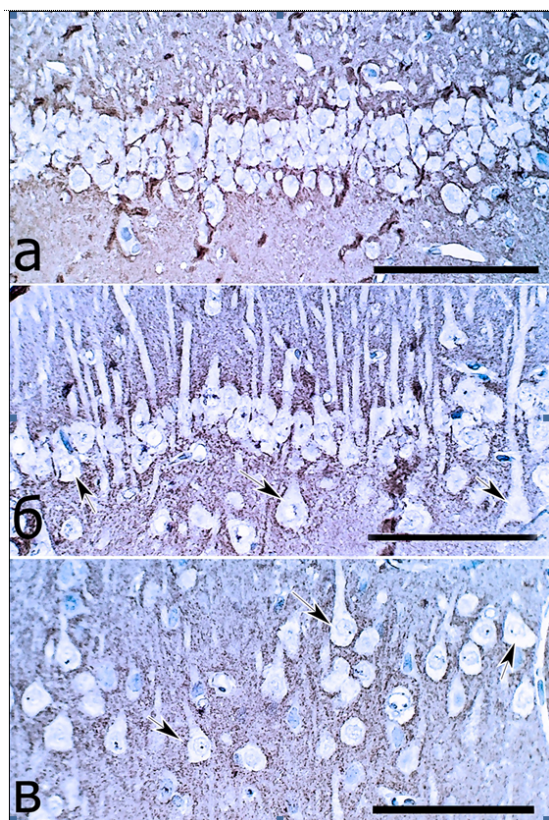


Рис. 6. Поле СА₁ гиппокампа головного мозга белой крысы, 3-е (а) и 30-е (б, в) сут реперфузии: четко видны контуры перикарионов и крупных апикальных дендритов, терминалы синапсов содержат метки на синаптофизин, уменьшение плотности и гипертрофия нейронов и апикальных дендритов через 30 сут после ишемии. Стрелки – крупные нейроны. Окраска: иммуногистохимия, синаптофизин. Об. 40, шкала – 100 мкм.

слоя (рис. 6б), встречались участки полного выпадения нейронов (рис. 6в). При этом сохранившиеся нейроны гипертрофировались. У них увеличивались размеры тела и апикальных дендритов (рис. 6б, в). Диаметр дендритов достигал 10–12 мкм (в норме – 5–7 мкм). При этом относительная площадь р38-позитивного материала в молекулярном слое (как и в неокортексе) статистически значимо не отличалась от контроля (табл. 5, 6). То есть, по данным иммуногистохимической окраски р38, после ООСА количество нейронов неокортекса и СА₁ гиппокампа в течение 30 сут уменьшалось, а относительная площадь терминалей начиная с 7-х сут восстанавливалась до контрольного уровня.

Необходимо отметить, что относительная площадь р38-позитивного материала в гиппокампальной формации уменьшалась только в молекулярном слое поля СА₃ и СА₁. Площадь аксосоматических р38-позитивных терминалей после ишемии не изменялась (табл. 5, 6). Это приводило к изменению соотношения функционирующих синапсов на телах и дендритах нейронов в пользу аксосоматических, которые являются преимущественно тормозными. Вполне вероятно, что это

своеобразный механизм естественной защиты нейронов от гипервозбуждения в результате эксайтотоксического воздействия глутамата в остром постишемическом периоде. Повреждение и уменьшение количества афферентных нейронов гиппокампа СА₁, а, следовательно, и нарушения его функций, может быть основой дисфункции архикортекса, predisposing к развитию постишемической энцефалопатии. В отдаленном постишемическом периоде функциональное восстановление головного мозга происходит за счет активации синаптической пластичности и гипертрофии нейронов.

Заключение

Настоящее иммуногистохимическое исследование показало, что после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий в неокортексе, гиппокампе и миндалевидном теле на фоне дефицита нейронов происходит реорганизация межнейронных отношений. В остром периоде (1-, 3-е сут) статистически значимо уменьшалось количество р38-позитивного материала (синаптических пузырьков), но уже через 7 сут происходило восстановление содержания синаптофизина. Это свидетельствует об активации механизмов синаптической пластичности после острой ишемии головного мозга, не сопровождающейся появлением крупных очагов некроза нервной ткани.

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

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Боровиков В. Statistica. Искусство анализа данных на компьютере. Изд-во Питер; 2003: 688.
2. Семченко В. В., Степанов С. С., Боголепов Н. Н. Синаптическая пластичность головного мозга (фундаментальные и прикладные аспекты). М.: Медицина; 2014: 408.
3. Степанов А. С., Акулинин В. А., Степанов С. С. и др. Клеточные системы восстановления и утилизации поврежденных нейронов головного мозга белых крыс после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2017; 103(10): 1135–1147.
4. Степанов А. С., Акулинин В. А., Степанов С. С. и др. Иммуногистохимическая характеристика структур коммуникации нейронов коры головного мозга человека в норме и после реперфузии. Журнал анатомии и гистопатологии. 2016; 5(4): 61–68.
5. Степанов А. С., Акулинин В. А., Степанов С. С. и др. Методические особенности морфометри-

- ческой характеристики синаптоархитектоники неокортекса человека при иммунофлюоресцентном выявлении нейромодулина. *Morphology*. 2018; 153(1): 65–70.
6. Baron J. C., Yamauchi H., Fujioka M., et al. Selective neuronal loss in ischemic stroke and cerebrovascular disease. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2014; 34(1): 2–18. DOI: 10.1038/jcbfm.2013.188.
 7. Nudo R. J. Functional and structural plasticity in motor cortex: implications for stroke recovery. *Phys. Med. Rehabil. Clin. N. Am.* 2003; 14(1): 57–76. PMID: 12625638
 8. Pagnussat A. S., Faccioni-Heuser M. C., Netto C. A., et al. An ultrastructural study of cell death in the CA1 pyramidal field of the hippocampus in rats submitted to transient global ischemia followed by reperfusion. *J. Anat.* 2007; 211(5): 589–599. DOI: 10.1111/j.1469-7580.2007.00802.x
 9. Ruan Y. W., Ling G. Y., Zhang J. L., et al. Apoptosis in the adult striatum after transient forebrain ischemia and the effects of ischemic severity. *Brain Res.* 2003; 982(2): 228–240. PMID: 12915258
 10. Winkelmann E. R., Charcansky A., Faccioni-Heuser M. C., et al. An ultrastructural analysis of cellular death in the CA1 field in the rat hippocampus after transient forebrain ischemia followed by 2, 4 and 10 days of reperfusion. *Anat. Embryol.* 2006; 211(5): 423–434. DOI: 10.1007/s00429-006-0095-z
 11. Zeng Y. S., Xu Z. C. Co-existence of necrosis and apoptosis in rat hippocampus following transient forebrain ischemia. *Neurosci. Res.* 2000; 37(2): 113–125. PMID: 10867174
 12. Zille M., Farr T. D., Przesdzin I., et al. Visualizing cell death in experimental focal cerebral ischemia: promises, problems, and perspectives. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2012; 32(2): 213–231. DOI: 10.1038/jcbfm.2011.150
 6. Baron J. C., Yamauchi H., Fujioka M. et al. Selective neuronal loss in ischemic stroke and cerebrovascular disease. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2014; 34(1): 2–18. DOI: 10.1038/jcbfm.2013.188.
 7. Nudo, R.J. Functional and structural plasticity in motor cortex: implications for stroke recovery. *Phys. Med. Rehabil. Clin. N. Am.* 2003; 14(1): 57–76. PMID: 12625638
 8. Pagnussat A.S., Faccioni-Heuser M.C., Netto C.A. et al. An ultrastructural study of cell death in the CA1 pyramidal field of the hippocampus in rats submitted to transient global ischemia followed by reperfusion. *J. Anat.* 2007; 211(5): 589–599. DOI: 10.1111/j.1469-7580.2007.00802.x
 9. Ruan Y.W., Ling G.Y., Zhang J.L. et al. Apoptosis in the adult striatum after transient forebrain ischemia and the effects of ischemic severity. *Brain Res.* 2003; 982(2): 228–240. PMID: 12915258
 10. Winkelmann E.R., Charcansky A., Faccioni-Heuser M.C. et al. An ultrastructural analysis of cellular death in the CA1 field in the rat hippocampus after transient forebrain ischemia followed by 2, 4 and 10 days of reperfusion. *Anat. Embryol.* 2006; 211(5): 423–434. DOI: 10.1007/s00429-006-0095-z
 11. Zeng, Y.S., Xu Z.C. Co-existence of necrosis and apoptosis in rat hippocampus following transient forebrain ischemia. *Neurosci. Res.* 2000; 37(2): 113–125. PMID: 10867174
 12. Zille M., Farr T. D., Przesdzin I. et al. Visualizing cell death in experimental focal cerebral ischemia: promises, problems, and perspectives. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2012; 32(2): 213–231. DOI: 10.1038/jcbfm.2011.150

Сведения об авторах

Акулинин Виктор Александрович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России. 644099, г. Омск, ул. Ленина, 12. E-mail: akulinin@omsk-osma.ru

Степанов Сергей Степанович – д-р мед. наук, старший научный сотрудник кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России. 644099, г. Омск, ул. Ленина, 12. E-mail: serg_stepanov@mail.ru

Авдеев Дмитрий Борисович – канд. ветеринар. наук, доцент кафедры безопасности жизнедеятельности, медицины катастроф ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России. 644099, г. Омск, ул. Ленина, 12. E-mail: avdeev86@inbox.ru

Степанов Александр Сергеевич – аспирант кафедры гистологии, цитологии и ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России. 644099, г. Омск, ул. Ленина, 12. E-mail: cstepan55@yandex.ru

Артюхов Александр Владимирович – канд. мед. наук, ассистент кафедры ортопедической стоматологии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России. 644099, г. Омск, ул. Ленина, 12. E-mail: alexartom@yandex.ru

Разумовский Вадим Сергеевич – национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева Минздрава РФ.

Горбунова Анна Владимировна – ординатор кафедры онкологии, лучевой терапии ДПО ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России. 644099, г. Омск, ул. Ленина, 12. E-mail: double_energy@mail.ru

Поступила в редакцию 18.05.2018 г.

Для цитирования: Акулинин В.А., Степанов С.С., Авдеев Д.Б., Степанов А.С., Разумовский В.С., Артюхов А.В., Горбунова А.В. Особенности изменений неокортекса, архикортекса и миндалевидного тела белых крыс после острой ишемии. *Журнал анатомии и гистопатологии*. 2018; 7(2): 9–17. doi: 10.18499/2225-7357-2018-7-2-9-17

For citation: Akulinin V.A., Stepanov S.S., Avdeev D.B., Stepanov A.S., Razumovsky V.S., Artyukhov A.V., Gorbunova A. V. Features of the white rats' neocortex, archicortex and amygdala changes after acute ischemia. *Journal of Anatomy and Histopathology*. 2018; 7(2): 9–17. doi: 10.18499/2225-7357-2018-7-2-9-17