

Морфологические нарушения нейронов теменной коры и гиппокампа крыс в динамике ступенчатой субтотальной ишемии головного мозга

Е.И. Бонь, Н.Е. Максимович, С.М. Зиматкин, Н.А. Валько, В.Н. Кот

*Гродненский государственный медицинский университет
Республика Беларусь, 230009, г. Гродно, ул. Горького, 80*

Резюме

Цель работы – анализ изменений морфологических характеристик нейронов филогенетически разных отделов коры головного мозга (теменной коры и гиппокампа) крыс в различные периоды в динамике ступенчатой субтотальной экспериментальной церебральной ишемии. **Материал и методы.** Эксперименты выполнены на 42 самцах беспородных белых крыс. Ступенчатую субтотальную церебральную ишемию осуществляли следующим образом: сначала перевязывали одну общую сонную артерию, моделируя при этом частичную ишемию, затем с интервалом 1 сутки (подгруппа 1), 3 суток (подгруппа 2) или 7 суток (подгруппа 3) – вторую общую сонную артерию. **Результаты.** Микроскопическое изучение размеров, формы, степени хроматофилии цитоплазмы и содержания рибонуклеопротеинов в пирамидных нейронах филогенетически разных отделов коры головного мозга показало зависимость тяжести повреждения головного мозга от интервала между прекращением кровотока по обеим сонным артериям. Адаптация лучше проходила при 7-суточном интервале между перевязками, в то время как при перевязке с интервалом 1 сутки степень морфологических изменений была максимальна, что указывает на недостаточность ресурсов для реализации адаптационных механизмов.

Ключевые слова: ишемия, мозг, нейроны.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Автор для переписки: Бонь Е.И., e-mail: asphodela@list.ru

Для цитирования: Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Зиматкин С.М., Валько Н.А., Кот В.Н. Морфологические нарушения нейронов теменной коры и гиппокампа крыс в динамике ступенчатой субтотальной ишемии головного мозга. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020; 40 (2): 31–39. doi: 10.15372/SSMJ20200204

Morphological disturbances of rat parietal cortex and hippocampus neurons in the dynamics steady subtotal ischemia of the brain

E.I. Bon, N.E. Maksimovich, S.M. Zimatkin, N.A. Valko, V.N. Kot

*Grodno State Medical University of Minzdrav of Russia
Republic of Belarus, 230009, Grodno, Gorkogo str., 80*

Abstract

The purpose of the work is to analyze changes in the morphological characteristics of neurons of phylogenetical different parts of the cerebral cortex (parietal cortex and hippocampus) of rats at different periods in the dynamics of stepwise subtotal experimental cerebral ischemia. **Methods.** The experiments were performed on 42 males of outbred white rats. Step subtotal cerebral ischemia was performed as follows: first, one common carotid artery was ligated, simulating partial ischemia. Then, with an interval of 1 day (subgroup 1), 3 days (subgroup 2) or 7 days (subgroup 3), the second common carotid artery was ligated. **Results.** A microscopic study of the size, shape, degree of chromatophilia of the cytoplasm and the content of ribonucleoproteins in pyramidal neurons of phylogenetically different parts of the cerebral cortex have shown the dependence of the severity of brain damage on the interval between the cessation of blood flow in both carotid artery. Adaptation was better with a 7-day interval between dressings, while the ligation with an interval of 1 day, the degree of morphological changes was maximum indicating a lack of resources for the implementation of adaptation mechanisms.

Key words: ischemia, brain, neurons.

Conflict of interests. Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

Correspondence author: Bon E.I., E-mail: asphodela@list.ru

Citation: Bon E.I., Maksimovich N.E., Zimatkin S.M., Valko N.A., Kot V.N. Morphological disturbances of rat parietal cortex and hippocampus neurons in the dynamics steady subtotal ischemia of the brain. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (2): 31–39. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200204

Введение

Церебральная ишемия представляет собой тяжелое нейродегенеративное состояние, которое, в зависимости от вовлеченной в патологический процесс области, приводит к нарушению реализации когнитивных и сенсомоторных функций головного мозга (ГМ). Даже кратковременная ишемия ведет к глубоким повреждениям ГМ. Ключевыми звеньями патогенеза церебральной ишемии являются недостаток оксигенации нейронов, угнетение в мозге аэробного и активация анаэробного пути утилизации глюкозы, снижение энергообразования, нарушение транспорта потенциал-определяющих ионов, изменение кислотно-основного состояния, эксцитотоксичность, возникновение окислительного, в том числе нитрозирующего стресса, осуществляющегося при участии оксида азота, активация воспаления и апоптоза [3, 4, 10, 11, 13]. Эти процессы не могут быть моделированы *in vitro*, и большая часть исследований ишемических повреждений головного мозга проводится на животных.

В настоящее время для изучения механизмов развития повреждений ГМ ишемического генеза используются различные подходы в моделировании ишемии ГМ, в том числе применяют полную (тотальную), неполную (субтотальную) и некоторые другие [1]. Проведенные нами ранее исследования по изучению морфологических изменений нейронов теменной коры (ТК) и гиппокампа при одночасовой субтотальной церебральной ишемии ГМ выявили уменьшение размеров перикарионов нейронов и увеличение количества гиперхромных и гиперхромных сморщенных нейронов [3, 10]. Однако моделирование ишемии ГМ путем одномоментной компрессии общих сонных артерий (ОСА) не позволяет изучить происходящие адаптационные процессы в динамике в связи с тяжестью повреждения ткани ГМ и быстрой гибелью животных. С этой целью осуществлено моделирование субтотальной ишемии ГМ путем «ступенчатой» компрессии ОСА, суть которой заключается в последовательной перевязке ОСА с различными интервалами. Нейроны коры больших полушарий ГМ и гиппокампа (в особенности его поля CA1) наиболее чувствительны к

недостатку кислорода. Кроме того, нейроны 5-го слоя ТК выполняют важную функцию, связывая кору мозга с подкорковыми узлами, ядрами головных нервов и передними рогами спинного мозга [2].

Целью исследования явился анализ морфологических нарушений нейронов ТК и гиппокампа ГМ крыс при его ступенчатой субтотальной ишемии.

Материал и методы

Эксперименты выполнены на 42 самцах беспородных белых крыс массой 240 ± 20 г с соблюдением требований Директивы Европейского Парламента и Совета № 2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, используемых для научных целей. Животных содержали в кондиционируемом помещении (22 °С) при смешанном освещении на стандартном рационе вивария и свободном доступе к корму и воде не более 5 особей в клетке [5].

Использование крыс обусловлено сходством ангиоархитектоники и морфологии коры ГМ у крыс и человека [2]. В отличие от классической субтотальной ишемии ГМ, моделируемой путём одномоментной перевязки обеих ОСА, ступенчатую субтотальную ишемию ГМ осуществляли следующим образом: сначала перевязывали одну ОСА, моделируя при этом частичную ишемию ГМ (опыт, $n = 36$), затем с интервалом 1 сутки (подгруппа 1), 3 суток (подгруппа 2) или 7 суток (подгруппа 3) перевязывали вторую ОСА. В каждой из подгрупп было по 12 животных, материал забирали через 1 ч ($n = 6$) и 1 сутки ($n = 6$) после операции. Контрольную группу ($n = 6$) составили ложноперированные самцы крыс аналогичной массы. В подгруппе 1 из-за выраженного нарушения кровоснабжения ГМ продолжительность жизни крыс после второй перевязки не превышала двух суток. После декапитации у животных быстро извлекали ГМ, кусочки отдела ТК больших полушарий фиксировали в жидкости Карнуа. Серийные парафиновые срезы окрашивали 0,1%-м толуидиновым синим по методу Ниссля.

Изучение гистологических препаратов, их микрофотографирование и морфометрию про-

водили с помощью микроскопа Axioscop 2 plus (Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры (LeicaDFC 320, Германия) и программы анализа изображения ImageWarp (Bitflow, США). Локализацию ТК и гиппокампа в гистологических препаратах мозга крыс определяли с помощью стереотаксического атласа [17]. У каждого животного оценивали не менее 30 нейронов пятого слоя ТК и пирамидного слоя поля СА1 гиппокампа, что обеспечивало достаточный объем выборки для анализа. Площадь нейронов (S) и форму их перикарионов оценивали по форм-фактору (ФФ, степень округлости тел нейронов) и фактору элонгации (ФЭ, степень вытянутости тел нейронов). Среди нейронов дифференцировали клетки по интенсивности окраски цитоплазмы (хроматофилии): нормохромные нейроны (НН) – умеренно окрашенные; гиперхромные нейроны (ГН) – темные; гиперхромные сморщенные нейроны (ГиперСН) – очень темные, с деформированными перикарионами; гипохромные нейроны (ГипоН) – светлоокрашенные; клетки-тени – почти прозрачные, а также гиперхромные сморщенные с перичеселлюлярным отеком. Подсчитывали количество клеток каждого типа на 1 мм².

Полученные данные анализировали методами непараметрической статистики. Результаты представлены в виде Me (LQ; UQ), где Me – медиана, LQ – значение нижнего квартиля; UQ – значение верхнего квартиля. Оценку различий изучаемых показателей осуществляли по сравнению с контрольной группой, между подгруппами и в пределах подгруппы спустя 1 ч и 1 сут после перевязки ОСА. Достоверными считали различия при значениях $p < 0,05$ (тест Краскелла – Уоллиса с поправкой Бонферрони).

Результаты

Показатели морфометрии перикарионов нейронов. По сравнению со значениями показателей в контрольной группе, площадь перикарионов (S) нейронов ТК ГМ крыс подгруппы 1 (интервал 1 сут) статистически значимо ($p < 0,05$) уменьшилась на 55 % спустя один час после полной перевязки, на 60 % – спустя одни сутки; в подгруппе 2 (интервал 3 сут) – на 53 и 49 %, а в подгруппе 3 (интервал 7 сут) – на 48 и 39 % соответственно (таблица). При этом в подгруппе 1 S нейронов спустя один час уменьшилась по сравнению с S в подгруппе 2 на 11 %, а спустя одни сутки – на 17 %, по сравнению с подгруппой 3 – на 25 и 26 % соответственно. При этом в подгруппе 2 по сравнению со значениями в подгруппе 3 S нейронов была меньше на 10 % спустя один час и на 16 % спустя одни сутки.

В гиппокампе по сравнению с S нейронов в контрольной группе ее значение в подгруппе 1 спустя один час статистически значимо ($p < 0,05$) уменьшилось на 47 %, спустя одни сутки – на 48 %, в подгруппе 2 – на 40 и 34 %, в подгруппе 3 – на 28 и 19 % соответственно. При этом в подгруппе 1 S нейронов спустя один час была меньше, чем в подгруппе 2, на 12 %, спустя одни сутки – на 21 %; по сравнению с подгруппой 3 уменьшилась на 27 и 36 %, а в подгруппе 2 – на 17 и 18 % соответственно.

По сравнению со значениями ФФ перикарионов нейронов в контрольной группе, ФФ нейронов ТК в подгруппе 1 спустя один час после второй перевязки достоверно ($p < 0,05$) уменьшился на 11 %, спустя одни сутки – на 22 %, в подгруппе 2 – на 22 %, а в подгруппе 3 – на 11 %

Таблица. Размеры и форма перикарионов нейронов ТК и гиппокампа крыс со ступенчатой субтотальной ишемией ГМ

Table. Size and shape of parietal cortex and hippocampus neuron pericaryons of rats with brain steady subtotal ischemia

Группа		Площадь, мкм ²		Форм-фактор, ед.		Фактор элонгации, ед.		
		ТК	Гиппокамп	ТК	Гиппокамп	ТК	Гиппокамп	
Контроль	1 ч	161 (143; 165)	96 (92; 100)	0,9 (0,8; 0,9)	0,8 (0,8; 0,9)	1,2 (1,8; 1,3)	1,1 (1,1; 1,2)	
	1 сут	101 (85; 120)	89 (86; 89)	0,9 (0,9; 0,9)	0,9 (0,9; 0,9)	1,2 (1,2; 1,3)	1,2 (1,2; 1,3)	
Ишемия ГМ	1 пг	1 ч	66 (62; 69)*	57 (55; 60)*	0,8 (0,75; 0,8)*	0,7 (0,7; 0,8)*	1,54 (1,4; 1,6)*	1,5 (1,4; 1,6)*
		1 сут	57 (54; 62)*	58 (49; 61)*	0,7 (0,6; 0,7)*	0,7 (0,7; 0,7)*	1,6 (1,5; 1,7)*	1,6 (1,6; 1,7)*
	2 пг	1 ч	69 (65; 71,5)*	66 (65; 68)*	0,7 (0,7; 0,8)*	0,7 (0,7; 0,7)*	1,4 (1,4; 1,4)*	1,4 (1,4; 1,4)*
		1 сут	74 (70; 83,5)**	72 (66; 78)**	0,74 (0,7; 0,8)*	0,8 (0,7; 0,8)*	1,4 (1,4; 1,4)**	1,4 (1,3; 1,4)**
	3 пг	1 ч	77 (76; 79)*	79 (75; 86)**	0,8 (0,75; 0,8)*	0,8 (0,8; 0,8)*	1,3 (1,3; 1,3)**	1,3 (1,3; 1,3)**
		1 сут	88 (77; 89)	88 (85; 93)**#	0,8 (0,75; 0,8)*	0,8 (0,7; 0,8)*	1,3 (1,3; 1,3)**#	1,3 (1,3; 1,3)**#

Примечание. Обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от величин соответствующих показателей:
* – группы контроля, + – подгруппы 1, # – $p < 0,05$ подгруппы 2.

спустя час и сутки соответственно (см. таблицу). В гиппокампе изменения ФФ нейронов не отличались от таковых в ТК ($p > 0,05$). По сравнению со значениями ФЭ перикарионов нейронов контрольной группы, в ТК в подгруппе 1 спустя один час после перевязки статистически значимо увеличился на 20 %, спустя одни сутки – на 25 %, в подгруппе 2 – на 14 % и в подгруппе 3 – на 8 % в обоих временных промежутках. В гиппокампе отмечались изменения ФЭ нейронов, аналогичные изменениям в ТК ($p > 0,05$). Значимых изменений показателей морфометрии в пределах одной подгруппы спустя один час и одни сутки после перевязки ОСА не выявлено.

Итак, наиболее выраженное изменение показателей морфометрии по сравнению с контрольной группой наблюдалось при перевязке ОСА с интервалом 1 сутки (подгруппа 1). Размеры (S) и ФФ перикарионов нейронов ТК и гиппокампа существенно уменьшались, в то время как ФЭ увеличивался.

Изменения хроматофилии цитоплазмы нейронов. В популяции нейронов коры ГМ на препаратах, окрашенных по методу Ниссля, проводили анализ типов клеток по степени хроматофилии цитоплазмы нейронов (интенсивности окраски). После перевязки обеих ОСА во всех подгруппах происходило снижение количества нормохромных нейронов как в ТК, так и в гиппокампе, возрастала доля патологических форм (рис. 1). По сравнению со значениями показателей в контрольной группе количество НН в ТК в подгруппе 1 спустя один час после второй перевязки уменьшилось на 35 %, спустя одни сутки – на 40 %, в подгруппе 2 – на 39 и 24 %, в подгруппе 3 – на 28 и 20 % соответственно, все изменения статистически значимы. При этом в подгруппе 1 количество НН спустя один час было достоверно меньше, чем в подгруппе 2, на 6 %, спустя сутки – на 21 %, а по сравнению с подгруппой 3 – на 16 и 25 % соответственно; в подгруппе 2 – на 21 % спустя один час и на 6 % спустя одни сутки по сравнению с подгруппой 3. В гиппокампе количество НН в подгруппе 1 спустя один час после второй перевязки достоверно уменьшилось на 36 % по сравнению с их числом в контрольной группе, спустя одни сутки – на 38 %, в подгруппе 2 – на 38 и 38 %, в подгруппе 3 – на 20 и 19 % соответственно. В подгруппах 1 и 2 количество НН существенно не отличалось ($p > 0,05$). При этом по сравнению с подгруппой 3 в подгруппе 1 оно было значимо меньше на 19 % спустя один час и на 23 % – спустя одни сутки, в подгруппе 2 – соответственно на 23 и 19 %.

Количество ГиперСН в ТК по сравнению со значениями показателей в контрольной группе

в подгруппе 1 с интервалом одни сутки между перевязками ОСА спустя один час после двухсторонней компрессии сосудов возросло на 78 %, спустя одни сутки – на 83 %, в подгруппе 2 – на 80 и 82 %, в подгруппе 3 – на 75 и 72 % соответственно, все различия статистически значимы. При этом в подгруппе 1 количество ГиперСН спустя один час по сравнению с их количеством в подгруппе 2 увеличилось на 8 %, а спустя одни сутки – на 10 %, а по сравнению с их числом в подгруппе 3 – на 11 и 42 % соответственно. В подгруппе 2 по сравнению с подгруппой 3 их количество было больше на 20 % спустя один час и на 36 % спустя одни сутки. В гиппокампе количество ГиперСН в подгруппе 1 спустя один час после перевязки второй ОСА по сравнению со значениями показателей в контрольной группе увеличилось на 95 %, спустя одни сутки – на 96 %, в подгруппе 2 – на 95 %. В подгруппе 3 в обоих временных промежутках оно было больше на 92 %. В подгруппах 1 и 2, при сравнении их друг с другом, количество ГиперСН спустя один час после двухсторонней перевязки не изменялось, а в подгруппе 2 спустя одни сутки оно было на 25 % меньше, чем в подгруппе 1. По сравнению с подгруппой 3 в подгруппе 1 количество ГиперСН было больше на 40 % спустя один час и на 50 % – спустя одни сутки после сдавливания второй ОСА, в подгруппе 2 – соответственно на 40 и 33 %.

В ТК количество клеток-теней в подгруппе 1 спустя один час после второй перевязки достоверно возросло на 62 %, спустя одни сутки – на 67 %, в подгруппе 2 – на 67 и 50 %, в подгруппе 3 – на 50 и 50 % соответственно. В подгруппах 1 и 2 количество клеток-теней спустя час было одинаковым, а спустя одни сутки в подгруппе 1 их было на 24 % больше, чем в подгруппе 2. По сравнению с подгруппой 3, в подгруппе 1 количество клеток-теней было больше на 24 % спустя час и на 34 % спустя сутки, в подгруппе 2 – на 31 % спустя один час, а спустя одни сутки значения не отличались. По сравнению со значениями показателей в контрольной группе, в гиппокампе количество клеток-теней в подгруппе 1 спустя один час и одни сутки после второй перевязки увеличилось на 50 %, в подгруппе 2 – на 50 и 67 % соответственно, в подгруппе 3 не изменилось. В подгруппах 1 и 2 спустя один час оно было одинаковым, спустя одни сутки в подгруппе 1 клеток-теней было на 20 % больше, чем в подгруппе 2. По сравнению с подгруппой 3 в подгруппе 1 количество клеток-теней спустя один час и спустя одни сутки было на больше 50 и 50 %, в подгруппе 2 – на 50 и 60 % соответственно (рис. 1, 2).

Максимальное количество гиперхромных сморщенных нейронов и клеток-теней наблюда-

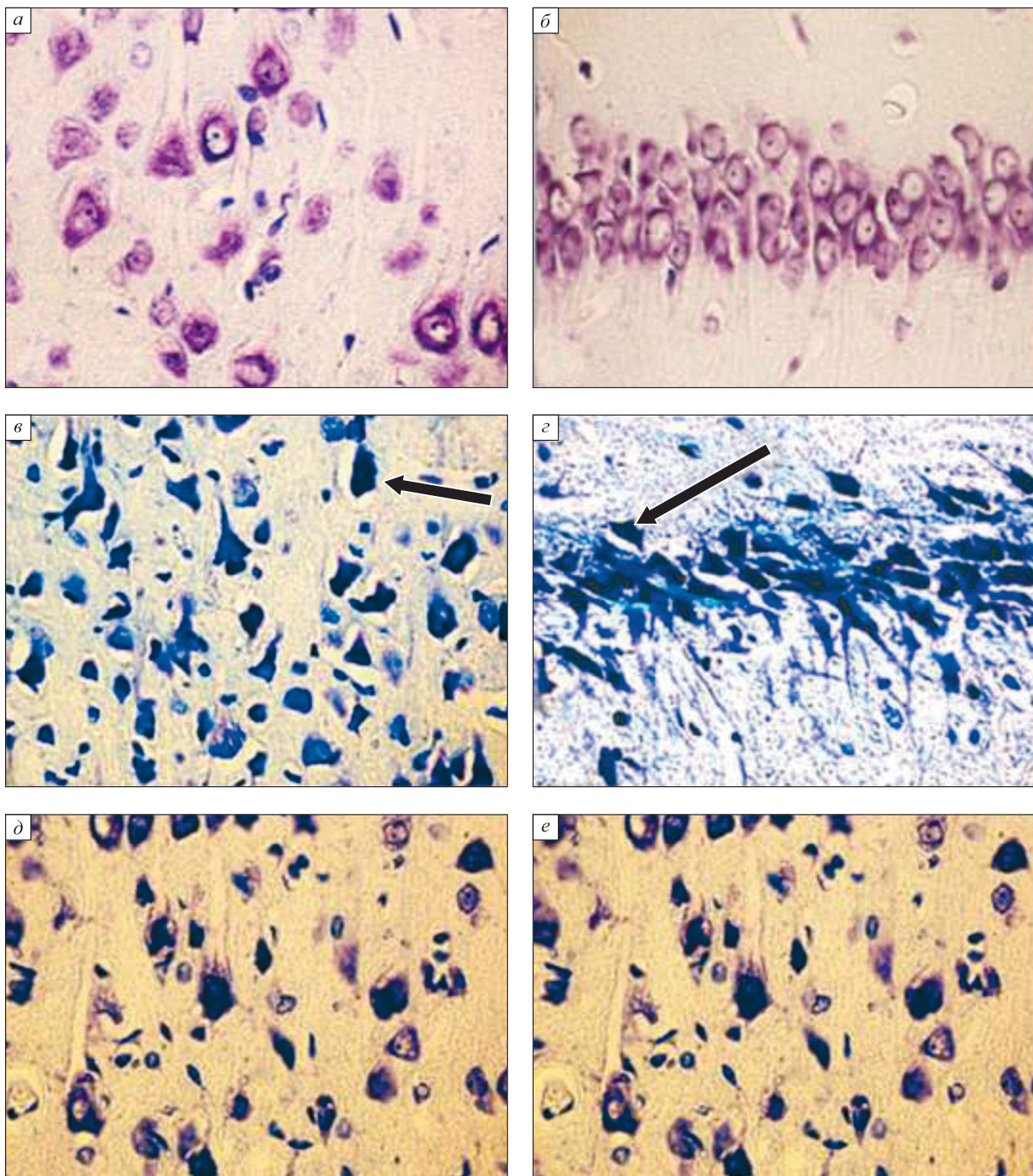


Рис. 1. Нейроны пятого слоя теменной коры (а, в, д) и пирамидного слоя гиппокампа (б, з, е). а, б – контроль; в, з – подгруппа 1, спустя одни сутки после перевязки второй ОСА; д, е – подгруппа 3, спустя одни сутки после перевязки второй ОСА. Цифровая микрофотография. Окраска по Нислю. Ув. объектива $\times 40$. Стрелками указаны клетки с перичеллюлярным отеком

Fig. 1. Neurons of parietal cortex fifth layer (a, b, d) and hippocampus pyramidal layer of the (б, з, е). а, б – control; в, з – subgroup 1, 1 day following second common carotid artery ligation; д, е – subgroup 3, 1 day following second common carotid artery ligation. Digital microphotography. Nissl staining. Magnification $\times 40$. Arrows indicate cells with pericellular edema

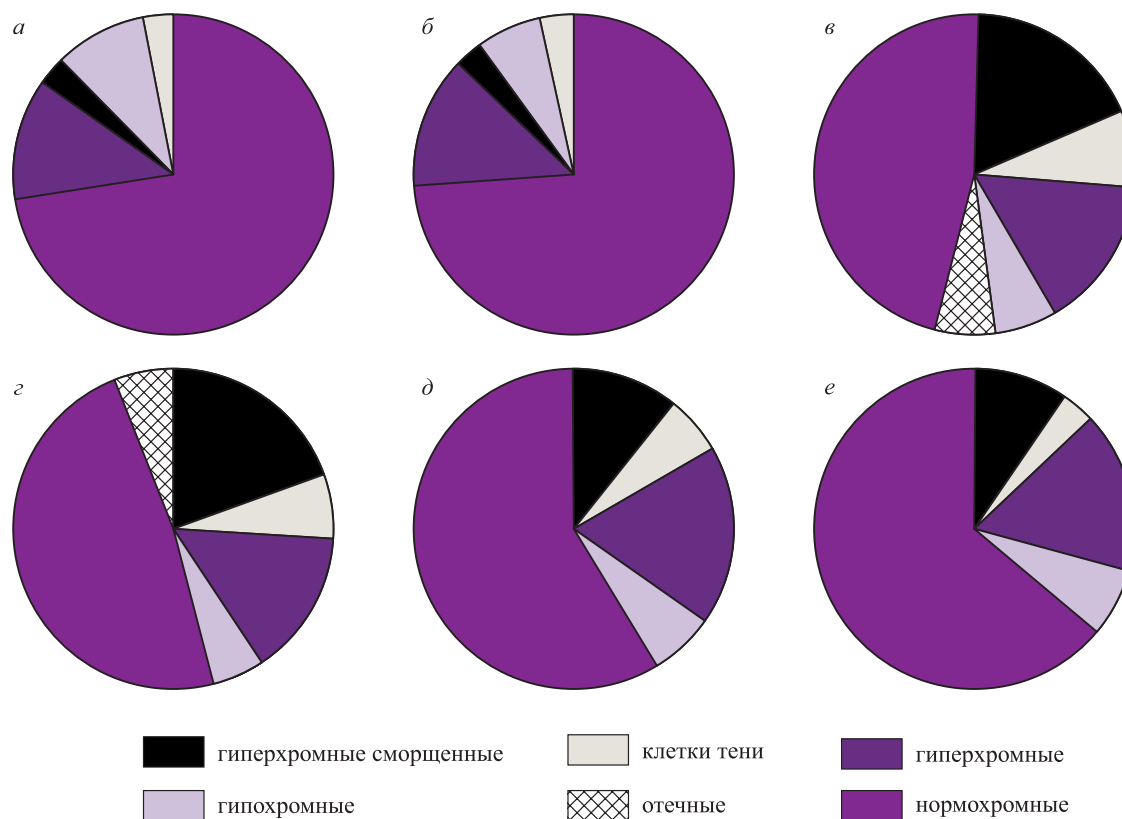


Рис. 2. Соотношение нейронов с различной степенью хромотофилии цитоплазмы пятого слоя ТК ГМ (а, в, д) и пирамидного слоя гиппокампа (б, г, е). а, б – контроль; в, г – подгруппа 1, спустя одни сутки после перевязки второй ОСА; д, е – подгруппа 3, спустя одни сутки после перевязки второй ОСА

Fig. 2. The ratio of neurons with varying degrees of chromatophilia of the cytoplasm of parietal cortex fifth layer (a, b, d) and hippocampus pyramidal layer (б, г, е). а, б – control; в, г – subgroup 1, 1 day following second common carotid artery ligation; д, е – subgroup 3, 1 day following second common carotid artery ligation

лось в подгруппе 1 через сутки после второй перевязки в теменной коре. Кроме того, в подгруппе 1 через одни сутки после второй перевязки ОСА в ТК и гиппокампе появлялись клетки с периферическим отеком (см. рис. 1). Гиперхромных сморщенных нейронов в подгруппе 2 в гиппокампе было меньше на 25 % ($p < 0,05$) и отечных клеток не наблюдалось. Значимых изменений в количестве гипохромных и гиперхромных нейронов в изучаемых подгруппах выявлено не было.

Итак, в обоих изучаемых отделах изменения хромотофилии были однонаправленными, но наиболее выражены в ТК, как более чувствительной к недостатку кислорода.

Обсуждение

В исследовании установлено, что ступенчатая двухсторонняя перевязка ОСА с интервалом в одни сутки приводит к необратимым повреждениям нейронов ТК и гиппокампа крысы, что про-

является в уменьшении их размеров, деформации перикарионов, увеличении количества сморщенных нейронов и клеток-теней. При дефиците кислорода в головном мозге происходит структурная перестройка нейронов ткани головного мозга. Известно, что на ранних этапах ишемии активизируется биосинтез нуклеиновых кислот и белка в нервных клетках для собственных потребностей, в дальнейшем происходит деформация перикарионов, связанная с нарушением водного баланса клетки [3, 4, 6–9, 11, 12]. Выявленные изменения наиболее выражены в подгруппе 1, в которой интервал между перевязками обеих ОСА составил одни сутки. Они были аналогичны изменениям, которые происходят при одномоментной перевязке обеих сонных артерий [4, 5].

При перевязке обеих ОСА с интервалом 3 суток нарушения были не столь выраженными, как в подгруппе 1 – нейроны были больше по размерам, клеток с перичеселлюлярным отеком не наблюдалось. Сутки спустя после второй пере-

вязки усугубления состояния, как в подгруппе 1, не происходило, что свидетельствует о попытке адаптации нейронов к ишемии. При перевязке обеих ОСА с интервалом 7 суток патологических изменений было меньше, особенно в гиппокампе: размеры перикарионов нейронов и соотношение нейронов по степени хроматофилии цитоплазмы отличались несущественно от показателей в контрольной группе, свидетельствуя о том, что данный интервал является достаточным для адаптации ГМ к ишемии.

Полученные результаты согласуются с данными литературы, согласно которым гипоксия способствует развитию адаптивных механизмов, способствующих улучшению микроциркуляции: увеличивается количество и диаметр капилляров, мозговой кровотоки становятся более интенсивными [13]. Улучшение мозгового кровообращения является одним из важных эффектов адаптации к гипоксии. В его основе лежит увеличение плотности сосудов [16, 18].

Ангиогенез ГМ после его ишемии объясняется продукцией NO и активацией транскрипционного фактора, индуцируемого гипоксией (hypoxia inducible factor 1 α , HIF-1 α) [16]. HIF-1 α регулирует адаптивные ответы клетки на изменения оксигенации тканей, способствует улучшению доставки кислорода вследствие стимуляции эритропоэза, ангиогенеза, метаболических процессов (активации транспорта глюкозы, усиления гликолитической продукции АТФ, транспорта ионов) и клеточной пролиферации. К гипоксии чувствительны и другие транскрипционные факторы – металлотранскрипционный фактор (metaltranscription factor-1, MTF-1), ядерный фактор κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B), фосфорилированный CREB (c-AMP response element binding protein), c-Fos и c-Jun и т.д. При адаптации мозга к гипоксии возрастает экспрессия NF- κ B и CREB, особенно в гиппокампе [8, 14–16, 18]. В нейронах увеличивается активность ключевого фермента дыхательной цепи NADPH-цитохром с-оксидоредуктазы. Снижается его сродство к NADPH, что увеличивает устойчивость митохондрий к кислороду. При уменьшении интенсивности окислительных процессов отмечена более эффективная работа дыхательной цепи – «парадоксальный эффект» адаптации к гипоксии [13].

Полученные данные о наличии менее выраженных изменений нейронов при ишемии ГМ в гиппокампе по сравнению с ТК подтверждают сведения о зависимости между филогенетическим возрастом коры ГМ и его устойчивости к гипоксии [8]. Проведенное исследование показало зависимость тяжести повреждения головного мозга от интервала между прекращением крово-

тока по обеим ОСА. Адаптация лучше проходила при 7-суточном интервале между перевязками, в то время как при перевязке с интервалом одни сутки степень морфологических изменений была максимальной, что указывает на недостаточность ресурсов для реализации адаптационных механизмов.

Таким образом, при ступенчатой двухсторонней перевязке обеих ОСА с интервалом в 7 суток негативные изменения были наименее выражены, особенно в гиппокампе. Чем больше интервал между перевязками, тем более эффективно происходит адаптация нейронов к недостатку кислорода, что позволит в дальнейшем более детально изучить динамику механизмов развития повреждений и приспособительных изменений в ГМ.

Список литературы / References

1. Бонь Е.И., Максимович Н.Е. Способы моделирования и морфофункциональные маркеры ишемии головного мозга. *Биомедицина*. 2018; (2): 9–71.

Bon E.I., Maksimovich N.E. Methods of modeling morphological and functional markers of cerebral ischemia. *Biomeditsina = Biomedicine*. 2018; (2): 59–71. [In Russian].

2. Бонь Е.И., Зиматкин С.М. Микроскопическая организация изокортекса крысы. *Новости мед.-биол. наук*. 2017; 16 (2): 80–88.

Bon E.I., Zimatkin S.M. Microscopic organization of the rat isocortex. *Novosti mediko-biologicheskikh nauk = News of Biomedical Sciences*. 2017; 16 (2): 80–88. [In Russian].

3. Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Зиматкин С.М. Морфофункциональные нарушения в гиппокампе крыс при субтотальной ишемии. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2018; 17 (1): 24–29.

Bon E.I., Maksimovich N.Ye., Zimatkin S.M. Morphofunctional disturbances in the hippocampus of rats after incomplete ischemia. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoy meditsinskoy akademii = Vestnik of Smolensk State Medical Academy*. 2018; 17 (1): 24–29. [In Russian].

4. Дубченко Е.А., Иванов А.В., Бойко А.Н., Спирина Н.Н., Гусев Е.И., Кубатиев А.А. Гипергомоцистеинемия и эндотелиальная дисфункция при сосудистых и аутоиммунных заболеваниях головного мозга. *Журн. неврологии и психиатрии*. 2019; 119(11): 133–138. doi: 10.17116/jnevro2019119111133

Dubchenko E.A., Ivanov A.V., Boiko A.N., Spirina N.N., Gusev E.I., Kubatiev A.A. Hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction in patients with cerebral vascular and autoimmune diseases. *Zh. Nevrol. Psikiatr. Im S.S. Korsakova*. 2019; 119 (11): 133–138. doi: 10.17116/jnevro2019119111133

5. Каркищенко Н.Н., Грачева С.В. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях. М.: Профиль-2С, 2010. 358 с.
- Karkishchenko N.N., Gracheva S.V. Guide to laboratory animals and alternative models in biomedical research. Moscow: Profil-2S, 2010. 358 p. [In Russian].
6. Самойлов М.О. Влияние умеренной гипобарической гипоксии в режиме прекодиционирования на экспрессию транскрипционных факторов pCREB И NF-κB в гиппокампе мозга крыс до и после тяжелой гипоксии. *Морфология*. 2009; 136 (6): 38–42.
- Samoilov M.O. The effect of mild hypobaric hypoxia in preconditioning regime on the expression of pcreb and nf-κb transcription factors in rat hippocampus before and after severe hypoxia. *Morfologiya = Morphology*. 2009; 136 (6): 38–42. [In Russian].
7. Семченко В.В., Степанов С.С., Алексеева Г.В. Постаноксическая энцефалопатия. Омск, 1999. 446 с.
- Semchenko V.V., Stepanov S.S., Alekseeva G.V. Postanoxic encephalopathy. Omsk, 1999. 446 p. [In Russian].
8. Шмидт-Ниельсен К. Физиология животных: приспособление и среда: в 2 кн. Т. 1. М.: Мир, 1982. 416 с.
- Shmidt-Niel'sen K. Physiology of animals: adaptation and environment: in 2 books. Vol. 1. Moscow: Mir, 1982. 416 p. [In Russian].
9. Ярыгин Н.Е., Ярыгин В.Н. Патологические и приспособительные изменения нейрона. М.: Медицина, 1973. 191 с.
- Yarygin N.E., Yarygin V.N. Pathological and adaptive changes in the neuron. Moscow: Meditsina, 1973. 191 p. [In Russian].
10. Bon L.I., Maksimovich N.E., Zimatkin S.M. Effects of experimental cerebral ischemia on metabolic characteristics of parietal cortex neurons. *Bio-process Engineering*. 2018; 2 (1): 1–5. doi: 10.11648/j.be.20180201.11
11. Karakayali O., Utku U., Yilmaz S., Uzuner N. Neurological symptoms and evaluation of cerebral blood flow changes with synthetic cannabinoids use. *J. Coll. Physicians. Surg. Pak*. 2019; 29 (12): 1183–1188. doi: 10.29271/jcsp.2019.12.1183
12. Kotoda M., Hishiyama S., Ishiyama T., Mitsui K., Matsukawa T. Amiodarone exacerbates brain injuries after hypoxic-ischemic insult in mice. *BMC Neurosci*. 2019; 20 (1): 62–67. doi: 10.1186/s12868-019-0544-2
13. LaManna J.C., Vendel L.M., Farrell R.M. Brain adaptation to chronic hypobaric hypoxia in rats. *J. Appl. Physiol*. 1992; 72: 2238–2243. doi: 10.1152/jappl.1992.72.6.2238
14. Meerson F.Z., Malyshev I.Yu., Zamotrin'sky A.V. Differences in adaptive stabilization of structures in response to stress and hypoxia relate with the accumulation of hsp 70 isoforms. *Mol. Cell Biochem*. 1992; 111: 87–95. doi: 10.1007/bf00229578
15. Murphy B.J., Andrews G.K., Bittel D., Discher D.J., McCue J., Green C.J., Yanovsky M., Giaccia A., Sutherland R.M., Laderoute K.R., Webster K.A. Activation of metallothionein gene expression by hypoxia involves metal response elements and metal transcription factor-1. *Cancer Res*. 1999; 59 (6): 1315–1322.
16. Patt S., Sampaolo S., Théallier-Jankó A., Tschairkin I., Cervós-Navarro J. Cerebral angiogenesis triggered by severe chronic hypoxia displays regional differences. *J. Cereb. Blood Flow Metab*. 1997; 17: 801–806. doi: 10.1097/00004647-199707000-00010
17. Paxinos G., Watson C. The Rat Brain in stereotaxic coordinates. Australia: Academic Press, 1998. 472 p.
18. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature*. 1997; 386: 671–674. doi: 10.1038/386671a0

Информация об авторах:

Елизавета Игоревна Бонь, к.б.н., e-mail: asphodela@list.ru

Наталья Евгеньевна Максимович, д.м.н., профессор, e-mail: mne@grsmu.by

Сергей Михайлович Зиматкин, д.б.н., профессор, ORCID, e-mail: smzimatkin@mail.ru

Никита Андреевич Валько, e-mail: mailbox@grsmu.by

Виктория Николаевна Кот, e-mail: mailbox@grsmu.by

Information about the authors:

Elizaveta I. Bon, candidate of biological science, e-mail: asphodela@list.ru

Natalia E. Maksimovich, doctor of medical science, professor, e-mail: mne@grsmu.by

Sergey M. Zimatkin, doctor of biological science, professor, e-mail: smzimatkin@mail.ru

Nikita A. Valko, e-mail: mailbox@grsmu.by

Victoria N. Kot, e-mail: mailbox@grsmu.by

Поступила в редакцию 25.10.2019

После доработки 27.12.2019

Принята к публикации 16.03.2020

Received 25.10.2019

Revision received 27.12.2019

Accepted 16.03.2020