**ORIGINAL PAPERS** 

УДК 612.086.1++616.831-005.4-091.81+616-018+576.3.08+611.83

# ЗАКОНОМЕРНОСТИ РЕОРГАНИЗАЦИИ НЕЙРОГЛИАЛЬНЫХ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ В ГИППОКАМПАЛЬНОЙ ФОРМАЦИИ БЕЛЫХ КРЫС ПОСЛЕ КРАТКОВРЕМЕННОЙ ОККЛЮЗИИ ОБЩИХ СОННЫХ АРТЕРИЙ

© Анна Владимировна Горбунова, Дмитрий Борисович Авдеев, Сергей Степанович Степанов, Анастасия Юрьевна Шоронова, Виктор Александрович Акулинин, Любовь Михайловна Макарьева

Омский государственный медицинский университет. 644001, Омск, Ленина ул., д. 12

Контактная информация: Дмитрий Борисович Авдеев — старший преподаватель кафедры гистологии и эмбриологии. E-mail: Avdeev86@inbox.ru

#### Поступила: 03.04.2021

Одобрена: 11.05.2021

Принята к печати: 21.06.2021

РЕЗЮМЕ: Цель. Исследование посвящено изучению нейроглиальных взаимоотношений в гиппокампе и зубчатой фасции белых крыс после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий (ООСА). Методы исследования. Использовали гистологические (гематоксилин-эозин, по Нисслю), иммуногистохимические (МАР-2, GFAP, p38, CASP3) и морфометрические методы изучения астроцитов и нейронов гиппокампальной формации в контроле (интактные животные, n=6) и через 1, 3, 7, 14 и 30 суток (n=30) после 20-минутной ООСА. Для оценки изменений структуры астроцитов использовали классические методы и подходы фрактального формализма (плагин FracLac 2.5 из программы ImageJ 1.53). Статистические гипотезы проверяли непараметрическими критериями. Результаты и обсуждение. После ООСА отмечалась значительная гетерогенность и гетерохронность изменений пространственной организации астроцитов СА1, САЗ и зубчатой фасции. Более лабильными и реактивными были дистальные отростки астроцитов. Эти отростки сначала разрушались (1-е сутки), а через 3 и 7 суток адаптировались к постишемическим изменениям и восстанавливались путем активации механизмов реактивного астроглиоза и усложнения пространственной организации нейроглиальной сети. Заключение. Таким образом, после острой ишемии, вызванной 20-минутной ООСА, получены новые данные о закономерностях качественных и количественных изменений пространственной организации астроцитов гиппокампа.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гиппокамп; ишемия; нейроглиальные взаимоотношения; фрактальный анализ; иммуногистохимия.

# PATTERNS OF NEUROGLIAL RELATIONSHIPS **REORGANIZATION IN THE HIPPOCAMPAL FORMATION OF WHITE RATS AFTER SHORT-TERM OCCLUSION OF THE** COMMON CAROTID ARTERIES

© Anna V. Gorbunova, Dmitry B. Avdeev, Sergey S. Stepanov, Anastasia Yu. Shoronova, Viktor A. Akulinin, Lyubov M. Makarieva

Omsk State Medical University. 644001, Russia, Omsk, Lenina str.,12

Contact information: Dmitry B. Avdeev — Senior Lecturer of the Department of Histology and Embryology. E-mail: Avdeev86@inbox.ru

Received: 03.04.2021

Revised: 11.05.2021

Accepted: 21.06.2021

FORCIPE

ABSTRACT: Goal. The study is devoted to the study of neuroglial relationships in the hippocampus and dentate fascia of white rats after 20-minute occlusion of the common carotid arteries (OCCA). *Research methods*. Histological (hematoxylin-eosin, according to Nissl), immunohistochemical (MAP-2, GFAP, p38, CASP3) and morphometric methods were used to study astrocytes and neurons of the hippocampal formation in the control (intact animals, n=6) and 1, 3, 7, 14 and 30 days (n=30) after a 20-minute OCCA. To assess changes in the structure of astrocytes, we used classical methods and approaches of fractal formalism (the FracLac 2.5 plugin from the ImageJ 1.53 program). Statistical hypotheses were tested using nonparametric criteria. Results and discussion. After OCCA, there was a significant heterogeneity and heterochronicity of changes in the spatial organization of astrocytes CA1, CA3 and dentate fascia. The distal processes of astrocytes were more labile and reactive. These processes were first destroyed (1 day), and after 3 and 7 days they adapted to post-ischemic changes and were restored by activating the mechanisms of reactive astrogliosis and complicating the spatial organization of the neuroglial network. Conclusion. Thus, after acute ischemia caused by 20-minute OCCA, new data on the patterns of qualitative and quantitative changes in the spatial organization of hippocampal astrocytes were obtained.

**KEY WORDS:** hippocampus; ischemia; neuroglial relationships; fractal analysis; immunohistochemistry.

#### введение

В последнее время основным трендом нейроморфологических исследований стало изучение закономерностей реорганизации нейроглиальных взаимоотношений. При этом нейроглия рассматривается как полноценный участник феномена нейропластичности [10, 12]. Ведется поиск способов коррекции нейроглии для восстановления поврежденных нейронов [20].

.....

Установлено, что определенная модуляция микроглиоцитов, астроцитов подавляет нейродегенеративные каскады, которые инициируются ишемическим повреждением, и способствует функциональному восстановлению нервной ткани посредством выделения трофических факторов, противовоспалительных цитокинов и активации олигодендроцитов [10, 15, 12]. Модифицируя активность астроцитов, можно повлиять на течение и исход патологических процессов, запускаемых при ишемическом повреждении [1, 6, 21].

Таким образом, клетки нейроглии играют важную роль в регуляции нейропластичности и обеспечивают нейропротекцию после ишемии. И поэтому именно в аспекте единства всех клеточных систем гиппокампа целесообразно изучать нейроглиальные взаимоотношения. Важное значение имеет изучение последствий воздействия на гиппокамп кратковременной острой ишемии. Именно такая ишемия составляет большую часть клинических случаев. Подобных работ в доступных базах данных мы не выявили, исследовались более тяжелые состояния при длительной пе-

\_\_\_\_\_

ревязке общих сонных артерий [2] или при окклюзии средней мозговой артерии [13, 14].

#### ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение нейроглиальных взаимоотношений в гиппокампе и зубчатой фасции белых крыс после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на базе ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет», одобрена этическим комитетом университета (протокол № 83 от 14 октября 2016 года). В качестве экспериментальных животных использовали белых крыс линии Wistar массой 180-200 г. Исследования проводили в соответствии с рекомендациями Международного комитета по работе с лабораторными животными, поддержанными ВОЗ, директивой Европейского Парламента № 2010/63/EU от 22.09.2010 «О защите животных, используемых для научных целей». Острую 20-минутную ишемию мозга моделировали путем окклюзии общих сонных артерий (ООСА, двухсосудистая модель неполной глобальной ишемии без гипотонии). Контролем служил мозг интактных животных (n=6). Для эксперимента и забора материала использовалась премедикация (сульфат атропина 0,1 мг/кг, подкожно) и общая анестезия (Zoletil 100, 10 мг/кг). Через 6 часов (n=6),  $1 (n=6), 3 (n=6), 7 (n=6), 14 (n=6) \times 30 (n=6)$ 

суток после ООСА проводили перфузию головного мозга 100–125 мл раствора 0,9% NaCl и Фрагмина (5000 единиц) и 30 мл 4% раствора параформальдегида на фосфатном буфере (pH 7,2–7,4) через левый желудочек сердца. Затем материал дофиксировали 12 часов в аналогичном фиксаторе [11, 16].

Головной мозг заключали в гомогенизированный парафин (HISTOMIX<sup>®</sup>). Серийные фронтальные срезы толщиной 4 мкм готовили на уровне 2,5-4,5 мм от Брегмы (гиппокамп) [17]. Препараты окрашивали гематоксилином-эозином и по Нисслю, а также иммуногистохимически для идентификации соответствующих структур по специфическим белкам. МАР-2 — кроличьи поликлональные антитела, разведение 1 мкг/мл (ab32454, Abcam, США). GFAP мышиные моноклональные антитела, клон GA5, готовые к применению (Bond Readyto-Use Primary Antibody; Leica Biosystems Newcastle Ltd, Великобритания). p38 (синаптофизин) — мышиные моноклональные антитела, клон 27G12, готовые к применению (Bond Ready-to-Use Primary Antibody; Leica Biosystems Newcastle Ltd, Великобритания). CASP3 — мышиные моноклональные антитела, клон 3CSP03, разведение 1:25 (Diagnostic BioSystems Inc., США). Для визуализации использовали мультимерный набор Novolink<sup>TM</sup> (DAB) Polymer Detection System (Leica Biosystems Newcastle Ltd, Великобритания).

Препараты фотографировали на микроскопе Leica DM 1000 (камера GXCAM-DM800 Unique Wrap-Around 8MP AUTOFOCUS USB, pixel size  $1,4 \times 1,4 \mu m$ ), изображения сохраняли в файлах с расширением tiff (2592 × 1944 пикселей).

Обзорное гистологическое исследование проводили на срезах, окрашенных гематоксилином-эозином, при разрешении объективов × 10 и × 40. Общую численную плотность пирамидных нейронов, астроцитов и олигодендроцитов определяли при окраске по Нисслю. В ходе морфометрического исследования определяли содержание (%) нормо- и гиперхромных нейронов (темных несморщенных и пикноморфных). Фрактальный анализ контуров астроцитов (GFAP) осуществляли с помощью плагина FracLac 2.5 (Вох Counting Sampling Methods). Подобный подход ранее применялся для характеристики глиальных клеток головного мозга млекопитающих [4, 19].

Для статистического анализа мы сравнивали по 25 рандомизированных полей зрения

.......

на срок. Оценку характера распределения указанных величин проводили с помощью критерия Шапиро-Уилка (Statistica 8.0), проверку статистических гипотез — с помощью непараметрических методов. Первоначально использовали критерий для множественного сравнения (ANOVA Краскела-Уоллиса). При получении статистически значимого результата проводили парное сравнение с помощью U-теста Манна-Уитни для независимых выборок. Использовались также критерии с2 и Фишера. Материал представлен в процентах (95% доверительный интервал — 95% ДИ), как медиана (Q2), нижний (Q1) и верхний (Q3) квартили (StatSoft Statistica 8.0; MedCalc 11.6.1.0) [3]. В ходе проведения статистического анализа нулевая гипотеза отвергалась при р <0,05.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

В ответ на 20-минутную ООСА при изучении нейронов и нейроглиоцитов в гиппокампе выявлена синхронная реорганизация основных структурных компонентов нервной ткани (рис. 1).

Прижизненные дегенеративные изменения нейронной сети гиппокампа после ООСА были в основном связаны с образованием так называемых темных нейронов, разрушением их дендритов и синаптических терминалей. Изменения были мелкоочаговыми, имели гетерохронный и гетероморфный характер. Дегенеративно измененные нейроны перемежались с типичными нормохромными нейронами. Встречались участки гиппокампа с преобладанием нормохромных нейронов и участки, заполненные преимущественно темными нейронами. Степень сморщивания также варьировала (рис. 2, а-в). Иммуногистохимическое проявление апоптоза (CASP3 в перикарионах) было отмечено только через 6 часов после ООСА, позже (1, 3, 7, 14-е сутки) CASP3 выявлялась только в синаптических терминалях (рис. 2, г, д).

Элиминация дегенеративно измененных темных нейронов происходила на протяжении всего изученного периода, с пиком на 1–3-и сутки за счет механизмов коагуляционного некроза (сморщенные темные нейроны) и их фагоцитоза. Вполне вероятно, что большая часть поврежденных пирамидных нейронов разрушалась в более раннем постишемическом периоде (в течение первых суток) и с участием апоптоза. В пользу этого свидетельствуют наши данные по динамике изменения общей численной плот-

.....



Рис. 1. Основные участники процесса реорганизации межклеточных взаимоотношений в гиппокампе после ООСА: а — нейроны слоя CA1; б — нейроны слоя CA3; в — синаптические терминали; г — астроциты. \* — перикарионы; стрелки — локализация меток MAP-2, p38 и GFAP. Окраска: иммуногистохимическое типирование MAP-2, p38 и GFAP, докраска гематоксилином. Объектив: ×100, шкала — 20 мкм

ности нейронов. Особенно наглядно подобный тренд отмечался для поля СА1 (рис. 3).

При множественном сравнении по срокам (ANOVA Краскела–Уоллиса) удалось отвергнуть нулевую гипотезу — CA1 (df=5; H=19,2; p=0,02); CA3 (df=5; H=17,5; p=0,03); CA4 (df=5; H=15.5; p=0,04).

После 20-минутной ООСА дистрофические и нейродегенеративные изменения нейронов (темные нейроны, уменьшение общей численной плотности нейронов) приводили к активации дренажно-детоксикационной системы (проявления отека-набухания нейропиля, астроцитарных отростков), гиперплазии и гипертрофии астроцитов (слабые и умеренные проявления астроглиоза), а также активации микроглиоцитов и олигодендроцитов. Большая часть дегенеративных темных нейронов являлась вариантом обратимого изменения клетки. В пользу этого свидетельствовала сохранность специфических белков цитоскелета (МАР-2) и системы коммуникации (р38). Ранее мы показали, что на этом фоне происходит сначала гибель (уменьшение общей численной плотности и относительной площади меток р38), а затем регенерация пула



Рис. 2. Поля CA1 (а, г), CA3 (б,д) гиппокампа и зубчатая фасция (в) через 1 сутки (а, б, в,д) и б часов (г) после ООСА: нейроны с признаками коагуляционно-ишемического некроза (белые стрелки), большое количество глиальных клеток (красные стрелки), CASP3 в перикарионах (б часов, черные стрелки) и нейроны без метки (1 сутки, желтые стрелки). Окраска: гематоксилином–эозином (а, б, в) и иммуногистохимическое типирование CASP3. Объектив × 100, шкала — 20 мкм

синаптических контактов (увеличение содержания p38 выше контрольного уровня) [5].

.....

#### выводы

.....

Таким образом, после 20-минутной ООСА в изученных отделах гиппокампа параллельно отмечались структурные проявления механизмов необратимого повреждения и компенсаторно-восстановительной реорганизации нейроглиальных комплексов. Реактивный астроглиоз являлся основной частью этой реорганизации. Ранее нами показано, что через 3 и 7 суток после ООСА на фоне повреждения нейронов во всех отделах активировалась пролиферация нейроглии и клеток микрососудов (Ki-67) [5], усиливалась экспрессия GFAP, увеличивался нейроглиальный индекс, появлялось большое количество клеток-сателлитов и реактивных микроглиоцитов. Астроглиоз проявлялся усложнением реорганизации астроглиоархитектоники за счет разветвления мелких отростков астроцитов. В разных отделах гиппокампа эти

Общая численная плотность нейронов, 1 мм<sup>2</sup>



Median; Box: 25%-75%

Рис. 3. Общая численная плотность пирамидных (СА1 и СА3) и полиморфных (СА4) нейронов в гиппокампе белых крыс в норме и после 20-минутной ООСА. \* — различия статистически значимы в сравнении с контролем; ^ — с предыдущим сроком (при р <0,05; критерий Манна–Уитни).

изменения различались по степени и времени их проявления.

На основании проведенного фрактального анализа астроцитарной сети полей СА1 и СА3 гиппокампа и зубчатой фасции нами делается общее важное заключение: реакция астроцитов разных отделов гиппокампальной формации на 20-минутную ООСА отличалась. Имелись различия по степени изменений и времени их появления (рис. 4).

Небольшой разброс показателей переменных отмечен в контроле и через 30 суток после ООСА. Это свидетельствовало о длительной перманентной реорганизации астроцитов в пространстве гиппокампа, а их индивидуальная динамика подтверждала наше предположение о гетерогенности и гетерохронности реакции астроцитов на 20-минутную ООСА.

После ООСА максимальный перепад переменных «фрактальная размерность» и «лакунарность», характеризующих долю и форму отростков в пространстве, отмечен в молекулярном слое гиппокампа.

По нашим и литературным данным можно предположить, что в процессе обратимой и необратимой гидропической дистрофии изменения нейронов развивались так: набухание — отек — резорбция свободной воды из тела и отростков нейронов в компартмент нейроглиальных клеток (преимущественно плазматических астроцитов) → перенос в периваскулярные пространства → резорбция из глиальных клеток в сосуды. Часть свободной воды, вероятно, сохраняется в межклеточных пространствах. Все это происходило в остром периоде на фоне дистрофических и некробиотических повреждений нейронов и астроцитов, а также дисфункции гематоэнцефалического барьера [8, 9, 18].

Разные поля гиппокампа отличались реактивностью дренажно-детоксикационной функшии — в поле CA3 она была выше, чем CA1 в норме. Это могло быть одной из причин разной чувствительности к ишемии пирамидных нейронов поля СА1 и СА3. Вполне вероятно, что найденное нами сочетание высокой реактивности дренажно-детоксикационной функции и длительное сохранение высокой гидратации нейронов и отростков астроцитов в нейропиле можно рассматривать как возможный механизм саногенеза после ишемии и травмы. Происходило своеобразное растворение токсинов в несвязанной воде. При этом в поле САЗ наблюдалось более полное удаление «ишемических токсинов», чем в поле СА1 гиппокампа. В этом направлении необходимо проведение дальнейших экспериментальных исследований [5, 7]. Мы полагаем, что одной из причин различия CA1 и CA3 была плотность пирамидных нейронов. Большая плотность нейронов в СА1 требовала наличия более активной дренажно-летоксикационной системы.

**Примечание.** Материалы II Санкт-Петербургского симпозиума по морфологии ребенка в рамках конгресса «Здоровые дети — будущее страны», 28.05.2021 года, г. Санкт-Петербург, ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России.

#### ЛИТЕРАТУРА

 Авдеев Д.Б., Степанов С.С., Акулинин В.А., Степанов А.С. и др. Реорганизация астроцитов гиппокампа белых крыс после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2019; 63(4): 13–22.



Рис. 4. Наглядное представление сравнения динамики фрактальной размерности и лакунарности астроцитарной сети поля СА1 и 3Ф: критический период — через трое суток

- Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Зиматкин С.М. Морфологические нарушения нейронов гиппокампа крыс с субтотальной и тотальной ишемией. Оренбургский медицинский вестник. 2020; 8, 2(30): 41–6.
- Боровиков В. Statistica. Искусство анализа данных на компьютере. СПб.: Питер; 2003.
- Горбунова А.В., Авдеев Д.Б., Степанов С.С., Акулинин В.А. и др. Глиоцитоархитектоника зубчатой фасции и поля СА4 гиппокампа головного мозга белых крыс после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий. Общая реаниматология. 2019; 15(6): 26–7.
- Горбунова А.В., Кошман И.П., Шоронова А.Ю., Авдеев Д.Б. и др. Сравнительная характеристика структурно-функциональных изменений поля САЗ гиппокампа после острой ишемии и травмы головного мозга белых крыс. Журнал анатомии и гистопатологии. 2020; 9(4): 19–30.
- Калинина Ю.А., Гилерович Е.Г., Коржевский Д.Э. Астроциты и их участие в механизмах терапевтического действия мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток при ишемическом поврежде-

нии головного мозга. Гены и клетки. 2019; 14(1): 33-40.

- Кошман И.П., Шоронова А.Ю., Степанов С.С., Калиничев А.Г. и др. Морфофункциональная характеристика гиппокампа белых крыс в остром периоде после тяжелой черепно-мозговой травмы на фоне применения 1-лизина эсцината. Неотложная медицинская помощь. Журнал им. Н.В. Склифосовского. 2020; 9(4): 529–35.
- Степанов А.С., Акулинин В.А., Мыцик А.В., Степанов С.С., Авдеев Д.Б. Нейро-глио-сосудистые комплексы головного мозга после острой ишемии. Общая реаниматология. 2017; 13(6): 6–17.
- 9. Anderson M.A., Ao Y., Sofroniew M.V. Heterogeneity of reactive astrocytes. Neurosci Lett. 2014; 565: 23–9.
- Bisicchia E., Sasso V., Molinari M., Viscomi M.T. Plasticity of microglia in remote regions after focal brain injury. Semin Cell Dev Biol. 2019; 94: 104– 11.
- Bolon B., Garman R., Jensen K., Krinke G. et al. Best practices approach to neuropathologic assessment in developmental neurotoxicity testing — for Today. Toxicologic Pathology. 2006; 34: 296–313.

FORCIPE

- Li Z., Song Y., He T., Wen R. et al. M2 microglial small extracellular vesicles reduce glial scar formation via the miR–124/STAT3 pathway after ischemic stroke in mice. Theranostics. 2021; 11(3): 1232–48.
- Liu F., Schafer D.P., McCullough D. TTC, Fluoro– Jade B and NeuN staining confirm evolving phases of infarction induced by middle cerebral artery occlusion. J Neurosci Methods. 2009: 179, 1–8.
- Liu P.F., McCullough L.D. Middle cerebral artery occlusion model in rodents: methods and potential. Journal of Biomedicine and Biotechnology. 2011: 1–9.
- 15. McDonough A., Weinstein J.R. The role of microglia in ischemic preconditioning. Glia. 2020; 68(3): 455–71.
- 16. Ooigawa H., Nawashiro H., Fukui S., Otani N. et al. The fate of Nissl-stained dark neurons following traumatic brain injury in rats: difference between neocortex and hippocampus regarding survival rate. Acta Neuropathol. 2006; 112: 471–81.
- Paxinos G. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. 5<sup>th</sup> ed. Elsevier Academic Press, San Diego, CA. 2005.
- Pekny M., Pekna M. Astrocyte reactivity and reactive astrogliosis: costs and benefits. Physiol Rev. 2014; 94: 1077–98.
- Pirici D., Mogoantă L., Mărgăritescu O., Pirici I. et al. Fractal analysis of astrocytes in stroke and dementia. Rom J Morphol Embryol. 2009; 50(3): 381–90.
- Roque C., Pinto N., Vaz Patto M., Baltazar G. Astrocytes contribute to the neuronal recovery promoted by high-frequency repetitive magnetic stimulation in vitro models of ischemia. J. Neurosci Res. 2021; 99(5): 1414–32.
- Schneider J., Karpf J., Beckervordersandforth R. Role of Astrocytes in the Neurogenic Niches. Methods Mol Biol. 2019; 1938: 19–33.

.....

### REFERENCES

- Avdeyev D.B., Stepanov S.S., Akulinin V.A., Stepanov A.S. i dr. Reorganizatsiya astrotsitov gippokampa belykh krys posle 20-minutnoy okklyuzii obshchikh sonnykh arteriy. [Reorganization of astrocytes of hippocampis of white rats after a 20-minute occlusion of common carotid arteries]. Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya. 2019; 63(4): 13–22. (in Russian)
- Bon' Ye.I., Maksimovich N.Ye., Zimatkin S.M. Morfologicheskiye narusheniya neyronov gippokampa krys s subtotal'noy i total'noy ishemiyey. [Morphological disorders of the neurons of the Hippocampus rats with subtotal and total ischemia]. Orenburgskiy meditsinskiy vestnik. 2020; 8, 2(30): 41–6. (in Russian)
- Borovikov V. Statistica. Iskusstvo analiza dannykh na komp'yutere. [The art of data analysis on a computer]. Sankt-Peterburg: Piter Publ.; 2003. (in Russian)
- 4. Gorbunova A.V., Avdeyev D.B., Stepanov S.S., Akulinin V.A. i dr. Gliotsitoarkhitektonika zubchatoy fastsii i

polya SA4 gippokampa golovnogo mozga belykh krys posle 20-minutnoy okklyuzii obshchikh sonnykh arteriy. [Glyochitochitectonics of the toothed fascia and field Ca4 Hippocampus of the brain of white rats after a 20-minute occlusion of common carotid arteries]. Obshchaya reanimatologiya. 2019; 15(6): 26–7. (in Russian)

- 5. Gorbunova A.V., Koshman I.P., Shoronova A.Yu., Avdeyev D.B. i dr. Sravnitel'naya kharakteristika strukturno-funktsional'nykh izmeneniya polya SA3 gippokampa posle ostroy ishemii i travmy golovnogo mozga belykh krys. [Comparative characteristics of structural and functional changes in the Ca3 field of the hippocampus after acute ischemia and brain injury of white rats]. Zhurnal anatomii i gistopatologii. 2020; 9(4): 19–30. (in Russian)
- 6. Kalinina Yu.A., Gilerovich Ye.G., Korzhevskiy D.E. Astrotsity i ikh uchastiye v mekhanizmakh terapevticheskogo deystviya mul'tipotentnykh mezenkhimal'nykh stromal'nykh kletok pri ishemicheskom povrezhdenii golovnogo mozga. [Astrocytes and their participation in the mechanisms of the therapeutic action of multipotent mesenchymal stromal cells with ischemic damage to the brain]. Geny i kletki. 2019; 14(1): 33–40. (in Russian)
- Koshman I.P., Shoronova A.Yu., Stepanov S.S., Kalinichev A.G. i dr. Morfofunktsional'naya kharakteristika gippokampa belykh krys v ostrom periode posle tyazheloy cherepno-mozgovoy travmy na fone primeneniya l-lizina estsinata. [Morphofunctional characteristics of the hippocampus of white rats in the acute period after severe cranial injury on the background of the use of L-lysine escinate]. Neotlozhnaya meditsinskaya pomoshch'. Zhurnal im. N.V. Sklifosovskogo. 2020; 9(4): 529–35. (in Russian)
- Stepanov A.S., Akulinin V.A., Mytsik A.V., Stepanov S.S., Avdeyev D.B. Neyro-glio-sosudistyye kompleksy golovnogo mozga posle ostroy ishemii. [Neuro-glio-vascular brain complexes after acute ischemia]. Obshchaya reanimatologiya. 2017; 13(<u>6</u>): 6–17. (in Russian)
- 9. Anderson M.A., Ao Y., Sofroniew M.V. Heterogeneity of reactive astrocytes. Neurosci Lett. 2014; 565: 23–9.
- Bisicchia E., Sasso V., Molinari M., Viscomi M.T. Plasticity of microglia in remote regions after focal brain injury. Semin Cell Dev Biol. 2019; 94: 104–11.
- Bolon B., Garman R., Jensen K., Krinke G. et al. Best practices approach to neuropathologic assessment in developmental neurotoxicity testing — for Today. Toxicologic Pathology. 2006; 34: 296–313.
- Li Z., Song Y., He T., Wen R. et al. M2 microglial small extracellular vesicles reduce glial scar formation via the miR—124/STAT3 pathway after ischemic stroke in mice. Theranostics. 2021; 11(3): 1232–48.
- Liu F., Schafer D.P., McCullough D. TTC, Fluoro– Jade B and NeuN staining confirm evolving phases of infarction induced by middle cerebral artery occlusion. J Neurosci Methods. 2009: 179, 1–8.

- Liu P.F., McCullough L.D. Middle cerebral artery occlusion model in rodents: methods and potential. Journal of Biomedicine and Biotechnology. 2011: 1–9.
- 15. McDonough A., Weinstein J.R. The role of microglia in ischemic preconditioning. Glia. 2020; 68(3): 455–71.
- 16. Ooigawa H., Nawashiro H., Fukui S., Otani N. et al. The fate of Nissl-stained dark neurons following traumatic brain injury in rats: difference between neocortex and hippocampus regarding survival rate. Acta Neuropathol. 2006; 112: 471–81.
- Paxinos G. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. 5<sup>th</sup> ed. Elsevier Academic Press, San Diego, CA. 2005.

- Pekny M., Pekna M. Astrocyte reactivity and reactive astrogliosis: costs and benefits. Physiol Rev. 2014; 94: 1077–98.
- Pirici D., Mogoantă L., Mărgăritescu O., Pirici I. et al. Fractal analysis of astrocytes in stroke and dementia. Rom J Morphol Embryol. 2009; 50(3): 381–90.
- Roque C., Pinto N., Vaz Patto M., Baltazar G. Astrocytes contribute to the neuronal recovery promoted by high-frequency repetitive magnetic stimulation in vitro models of ischemia. J. Neurosci Res. 2021; 99(5): 1414–32.
- Schneider J., Karpf J., Beckervordersandforth R. Role of Astrocytes in the Neurogenic Niches. Methods Mol Biol. 2019; 1938: 19–33.

. . . . . . . . . . . . . . . . .