

*На правах рукописи*

**Медников Дмитрий Сергеевич**

**Морфофункциональные изменения гиппокампа при экспериментальном моделировании цереброваскулярной болезни**

3.3.2. – Патологическая анатомия

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, государственном бюджетном учреждении «Волгоградский медицинский научный центр»

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор **Смирнов Алексей Владимирович**

**Официальные оппоненты:**

**Забродская Юлия Михайловна**

доктор медицинских наук, Российский научно-исследовательский нейрохирургический институт имени профессора А. Л. Поленова – филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий научно-исследовательской лабораторией патоморфологии нервной системы

**Туманов Владимир Павлович**

доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И.Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры патологической анатомии и клинической патологической анатомии педиатрического факультета, лауреат Государственной премии РФ

**Ведущая организация:**

федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации

Защита состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета 21.2.005.01 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1; и на сайте <http://www.volgmed.ru>

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной научной библиотеке и на сайте федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1; <http://www.volgmed.ru/ru/dsovet/thesis/984/>)

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ года

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор медицинских наук, доцент

Григорьева Наталья Владимировна

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

### **Актуальность темы исследования**

Цереброваскулярные болезни являются разнородной по этиопатогенетическим признакам группой заболеваний, которые обусловлены нарушением церебрального кровотока и ишемическим поражением головного мозга, приводящим к морфологическим и функциональным изменениям (Антоненко Л.М., Вахнина Н.В., Громова Д.О., 2020; Емелин А.Ю. и соавт., 2021; Парфенов В.А., 2020; Преображенская И.С., 2014). По данным Всемирной организации здравоохранения к 2030 году ожидается увеличение заболеваемости почти в два раза (до 75,6 млн). Кроме того, острые формы цереброваскулярной болезни остаются на сегодня второй среди причин смертности от неинфекционной патологии в мире, уступая лишь ишемической болезни сердца (Dementia. Fact sheet №362, 2015). Распространенность основных факторов развития цереброваскулярной болезни (ЦВБ) – церебрального атеросклероза, гипертонической болезни, сахарного диабета, наряду с отчетливой тенденцией к увеличению продолжительности жизни, приводят к неуклонному росту в группе ЦВБ хронических прогрессирующих форм. Частый исход прогрессивного хронического течения ЦВБ в сосудистую деменцию, а также значительная доля сосудистой и смешанной деменции в структуре инвалидности делают ЦВБ не только медицинской, но и социально-значимой проблемой (Суслина З.А. и соавт., 2016; Калинина А.М. и соавт., 2020; Старчина Ю.А., Захаров В.В., 2021). Помимо этого, известно, что факторы риска ЦВБ зачастую пересекаются с факторами риска нейродегенеративных когнитивных нарушений, а по данным патоморфологических исследований около 80% умерших с различными формами ЦВБ имеют и признаки нейродегенерации (Гаврилова С.И., Колыхалов И.В., 2014). Этот факт, а также ограниченность перспектив восстановления утраченных функций мозга, сложности в реабилитации и адаптации пациентов с тяжелыми формами ЦВБ определяют поиск и разработку методов, направленных на диагностику самых ранних проявлений ишемии головного мозга, оптимизацию подходов к прогнозированию и лечению пациентов с додементными стадиями изменений (Степанов В.А. и соавт., 2020; Емелин А.Ю. и соавт., 2021; Парфенов В.А., 2020). В связи с этим, безусловный интерес приобретает всестороннее изучение гиппокампа, как важнейшей структуры лимбической системы, принимающей участие в формировании и регуляции когнитивных функций, ориентации в пространстве, механизмах кратковременной и долгосрочной памяти. Кроме того, гиппокамп является одной из наиболее уязвимых структур головного мозга к различным повреждающим воздействиям, в первую очередь к ишемии.

### **Степень разработанности темы исследования**

В последние годы накоплены многочисленные данные о морфофункциональных изменениях, возникающих в гиппокампе при различных формах цереброваскулярной болезни (Степанов В.А. и соавт., 2020, Экова М.Р. и соавт., 2018, Суслина З.А. и соавт., 2016). Исследование изменений в различных отделах головного мозга в ответ на ишемическое повреждение при артериальной гипертензии, а также выявление закономерностей морфофункциональной реорганизации и механизмов, лежащих в основе повреждения нейронов и межнейронных связей остаются на сегодняшний день одной из важнейших проблем медицины (Антоненко Л.М. и соавт., 2020, Бонь Е.И., и соавт., 2018, Вагнер Н.Е. и соавт., 2020). Всестороннее исследование морфологической реорганизации нейро-глио-сосудистых комплексов необходимо для полного понимания и теоретического обоснования патогенетических механизмов повреждения и клеточной гибели, что имеет прикладное значение для прогноза и подхода к оценке репаративных способностей различных структур головного мозга при ишемии (Горбунова А.В. и соавт., 2019, Калинина Ю.А. и соавт., 2019, Бонь Е.И. и соавт., 2019). Структуры лимбической

системы, различающиеся по морфофункциональным признакам, играют основную роль в возникновении и прогрессировании нарушений когнитивной и эмоциональной сфер на различных стадиях сосудистой деменции. Гиппокамп принимает участие в реализации механизмов памяти и внимания, отвечает за формирование и регуляцию когнитивных навыков, что в конечном счете во многом определяет качество жизни. Наиболее чувствительными к гипоксии являются нейроны пирамидного слоя гиппокампа, в которых отмечается формирование селективных полей апоптоза при моделировании преходящей ишемии (Кошман И.П. и соавт., 2020, Кулеш А.А. и соавт., 2021). Несмотря на значительные успехи в изучении цереброваскулярной болезни, механизмы, лежащие в основе клеточного повреждения и гибели, а также процессы репарации и адаптации в гиппокампе при ишемии головного мозга являются неполноценными, что актуализирует исследования морфологического субстрата структурных и функциональных изменений при цереброваскулярной болезни.

**Цель исследования** – охарактеризовать морфофункциональные изменения гиппокампа крыс в условиях моделируемой гипертензивной энцефалопатии и моделируемого стеноза общих сонных артерий.

#### **Задачи исследования**

1. Изучить качественными и количественными методами особенности и закономерности структурной реорганизации гиппокампа крыс в условиях моделируемой гипертензивной энцефалопатии и моделируемого стеноза сонных артерий.
2. С использованием морфометрического и иммуногистохимического методов исследования охарактеризовать признаки повреждения нейронов с учетом изменения экспрессии маркеров каспаза-зависимого и каспаза-независимого апоптоза, проапоптотических и антиапоптотических белков из суперсемейства bcl-2, различных изоформ NO-синтаз (iNOS, eNOS, nNOS) и сериновой рацемазы в различных зонах гиппокампа крыс при моделировании цереброваскулярной болезни.
3. С использованием иммуногистохимического метода определить иммунофенотипическую характеристику экспрессии маркеров адаптивных и репаративных процессов (GFAP, белков теплового шока Hsp70 и Hsp90) в гиппокампе крыс при моделировании цереброваскулярной болезни.
4. Охарактеризовать морфологические признаки активации аутофагии в различных зонах гиппокампа крыс с учетом изменения экспрессии маркеров аутофагии LAMP-2 и beclin 1 при моделировании цереброваскулярной болезни.

#### **Научная новизна исследования**

На основании комплексного морфологического исследования с применением иммуногистохимического метода исследования в сочетании с программным компьютерным морфометрическим анализом установлено, что в гиппокампе крыс при экспериментальном моделировании острых и хронических форм цереброваскулярной болезни процессы обратимого и необратимого повреждения преобладают в зонах CA1 и CA3 пирамидного слоя и выражаются в значительном нарушении цитоархитектоники, связанным с дегенеративными изменениями нейронов и адаптационной реорганизацией нейропиля.

Впервые при исследовании механизмов регулируемой клеточной гибели показано, что в пирамидных нейронах CA1 гиппокампа крыс с моделируемыми острой и хронической формами цереброваскулярной болезни наиболее выражено увеличение экспрессии маркера каспаз-независимого апоптоза AIF в сочетании с различиями в экспрессии проапоптотического маркера bax на фоне отсутствия экспрессии каспазы-3.

Впервые при экспериментальном моделировании цереброваскулярной болезни с использованием иммуногистохимического метода показаны различия экспрессии трех изоформ NO-синтаз (iNOS, eNOS, nNOS) в нейронах и нейропиле, а также в эндотелии

капилляров, что сопровождается увеличением экспрессии iNOS во всех зонах гиппокампа, при этом наиболее выраженным в СА3 пирамидного слоя гиппокампа крыс с моделируемой гипертензивной энцефалопатией.

Установлено, что в СА1 пирамидного слоя гиппокампа крыс при моделировании цереброваскулярной болезни увеличивается экспрессия сериновой рацемазы, что сопровождается транслокацией иммунореактивного материала в дендриты, располагающиеся в радиальном слое, что свидетельствует о нарушении NMDAR-опосредованной нейротрансмиссии. Показана адаптивная реакция астроцитарной глии, сопровождающаяся увеличением относительной плотности нейропиля, реактивного астроглиоза и увеличением экспрессии астроцитарного белка GFAP.

Впервые при проведении многоуровневого патоморфологического исследования показано, что повреждение нейронов пирамидного слоя гиппокампа крыс при моделировании гипертензивной энцефалопатии сопровождается увеличением цитоплазматической экспрессии маркеров аутофагии beclin 1 и LAMP-2 в нейронах пирамидного слоя СА2, что является морфологическим признаком активации механизмов аутофагии в сочетании с активацией нейропротективных процессов и подтверждается увеличением экспрессии белков теплового шока Hsp70 во всех зонах гиппокампа, при этом в СА1 экспрессия Hsp70 и Hsp90 увеличивалась совместно.

#### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Результаты исследования существенно уточняют сведения о патоморфологических особенностях гиппокампа при моделировании гипертензивной энцефалопатии и стеноза общих сонных артерий. Полученные данные о механизмах повреждения, клеточной гибели, аутофагии, реализации адаптивных изменений позволяют расширить имеющиеся представления о патоморфогенезе заболеваний и состояний, сопровождающихся ишемией головного мозга, могут быть экстраполированы на человека и в последующем внедрены в патологоанатомическую практику для оптимизации принципов и подходов к дифференциальной диагностике различных форм цереброваскулярной болезни, а также в фармакологические исследования для поиска и разработки новых методов патогенетической терапии гипертензивной энцефалопатии и хронической ишемии головного мозга.

Диссертационное исследование выполнено в рамках НИОКТР кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России АААА-А17-117022850040-4 от 28.02.2017г. «Морфофункциональные аспекты процессов адаптации, повреждения, регенерации, нарушений обмена веществ при инфекционных заболеваниях, болезнях системы кровообращения, заболеваниях нервной, эндокринной и других систем».

#### **Методология и методы исследования**

Работа представляет собой экспериментальное исследование и была выполнена на 55 белых крысах-самцах линии «Вистар» в возрасте 12 месяцев. Моделировались две формы цереброваскулярной болезни – гипертензивная энцефалопатия и стенозирование общих сонных артерий, а также две группы с фармакологической коррекцией гипертензивной энцефалопатии препаратами глиатилин и С-40. Моделирование гипертензивной энцефалопатии осуществлялось путем многократных длительных воздействий отрицательных перегрузок в каудо-краниальном векторе. Стеноз общих сонных артерий моделировался путем частичного ограничения кровотока с помощью наложения лигатур. Объектом для морфофункционального исследования являлся гиппокамп. В работе были использованы современные морфологические методы (гистологический, иммуногистохимический, метод программной компьютерной морфометрии), статистический анализ и специализированное технологическое оборудование ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России и лаборатории патоморфологии ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр», что позволило выполнить

поставленные цели и задачи. Исследование было одобрено Региональным независимым этическим комитетом.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Морфофункциональные изменения гиппокампа у крыс с моделируемой цереброваскулярной болезнью характеризуются наиболее выраженными процессами повреждения нейронов пирамидного слоя, активацией каспаза-независимого апоптоза с увеличением экспрессии AIF, сопровождающимися увеличением экспрессии iNOS в сочетании с увеличением экспрессии и транслокацией сериновой рацемазы, что свидетельствует об активации эксайтотоксических механизмов.

2. При моделировании цереброваскулярной болезни процессы повреждения сопровождаются увеличением цитоплазматической экспрессии маркеров аутофагии beclin 1 и LAMP-2 в нейронах пирамидного слоя гиппокампа крыс в сочетании с увеличением экспрессии белков теплового шока Hsp70, Hsp90, что является морфологическим признаком активации механизмов шаперон-зависимой аутофагии.

3. При моделировании гипертензивной энцефалопатии в пирамидных нейронах гиппокампа отмечается активация нейропротективных процессов, сопровождающаяся увеличением экспрессии антиапоптозного маркера bcl-2. Адаптивные процессы сопровождаются увеличением относительной плотности нейропиля, реактивным астроглиозом с увеличением уровня экспрессии GFAP.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность полученных результатов основывается на использовании достаточного объема экспериментального материала, адекватных для поставленных задач современных методах исследования, статистическим анализом значимости выявленных изменений.

Основные результаты диссертационного исследования докладывались и обсуждались на 73-й и 74-й открытых научно-практических конференциях молодых ученых и студентов с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 2015, 2016); 19-й, 20-й Всероссийских медико-исторических конференциях студентов и молодых ученых (Казань, 2016, 2017); XII Международной (XXI Всероссийской) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых (Москва, 2017); XIII Всероссийской Бурденковской студенческой научной конференции (Воронеж, 2017); 90-й всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Мечниковские чтения-2017» (Санкт-Петербург, 2017); Alzheimer's Association International Conference (London, 2017; Los Angeles, 2019; Chicago, 2020); V съезде Российского общества патологоанатомов (Челябинск, 2017); Всероссийской конференции молодых специалистов (Рязань, 2017); VIII съезде научного медицинского общества анатомов, гистологов и эмбриологов (Воронеж, 2019); Всероссийской научной конференции с международным участием «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии» (Москва, 2020).

### **Публикации по теме работы**

По теме диссертации опубликовано 23 научные работы, из них 10 в журналах, входящих в перечень научных изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук, в том числе 3 из перечня журналов, индексируемых базой данных Scopus и 1 из перечня журналов, индексируемых базой данных Web of Science.

### **Объём и структура диссертации**

Диссертация изложена на 176 страницах машинописного текста, содержит 9 таблиц и 59 рисунков, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов,

результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы, включающего 203 источника, в том числе, 57 отечественных и 146 зарубежных.

### **Внедрение результатов исследования**

Основные результаты работы использованы в образовательном процессе на кафедре патологической анатомии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, внедрены в научную работу ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр», практическую работу ГБУЗ «Волгоградское областное патологоанатомическое бюро», ЧУЗ «РЖД-Медицина».

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

В **главе 1** представлен **литературный обзор**, в котором рассматриваются современные представления о цереброваскулярной болезни, морфофункциональные изменения в гиппокампе при различных формах цереброваскулярной болезни, проанализированы адекватные способы моделирования ишемии головного мозга. **Глава 2** посвящена описанию **материала и методов исследования** и представляет экспериментальное моделирование цереброваскулярной болезни<sup>1</sup>, которое проводилось в соответствии с правилами лабораторной практики (GLP) и Приказом МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики». При проведении экспериментов учитывались требования комиссии по проблеме этики отношения к животным Российского национального комитета по биоэтике при Российской академии наук; и этические нормы, признанные мировым сообществом, и изложенные в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных». На проведение исследования получено разрешение регионального этического комитета. Исследование проводилось на 55 крысах линии «Вистар» (ФГУП ПЛЖ «Рапполово») в возрасте 12 месяцев. Экспериментальные животные были разделены на 5 групп: группа 1 - контрольные животные (n=10); группа 2 – животные с экспериментально моделируемой гипертензивной энцефалопатией (n=10); группа 3 - животные, с моделируемым стенозом общих сонных артерий (n=15); группа 4 – животные с экспериментально моделируемой гипертензивной энцефалопатией и фармакологической коррекцией С-40 (n=10); группа 5 – животные с экспериментально моделируемой гипертензивной энцефалопатией и фармакологической коррекцией глиатилином (n=10). Моделирование гипертензивной энцефалопатии осуществлялось путем многократных длительных воздействий отрицательных перегрузок. Для этого крыс помещали в пеналы, размещённые по краям горизонтальной штанги центрифуги в каудо-краниальном направлении и подвергали радиальному ускорению величиной 9 G в течение 5 минут дважды в день с интервалом 12 часов на протяжении 28 дней. Для изучения эффективности фармакологической коррекции лекарственными средствами С-40 и глиатилином при экспериментальном моделировании гипертензивной энцефалопатии препараты вводили внутривенно в течение 2 недель в дозах 9 мг/кг и 100 мг/кг соответственно. Первое введение осуществляли через 14 дней после первого и продолжали до последнего эпизода воздействия на крыс отрицательного продольного ускорения в каудо-краниальном векторе. Стеноз общих сонных артерий моделировался путем частичного ограничения кровотока с помощью наложения лигатур. Оперативным способом выделяли сосудисто-нервный пучок, образованный общей сонной артерией и

<sup>1</sup> *Выражаем искреннюю благодарность зав.кафедрой фармакологии и фармации Института НМФО ВолГМУ, член-корр. РАН, Заслуженному работнику высшей школы РФ, д.м.н., профессору И. Н. Тюренкову, д.фарм.н. Д. В. Куркину, д.м.н. Е. В. Волотовой и всем сотрудникам кафедры за помощь в проведении эксперимента*

блуждающим нервом. После выделения сонной артерии под нее подводили три лигатуры, располагаемые и фиксируемые на расстоянии 2-3 мм друг от друга, добиваясь таким образом ограничения локального мозгового кровотока, подтвержденного методом лазерной доплерографии. На 29-е сутки после моделирования гипертензивной энцефалопатии, а также гипертензивной энцефалопатии с фармакологической коррекцией, и на 22-е сутки после моделирования стеноза общих сонных артерий животные выводились из эксперимента с применением в качестве наркоза хлоралгидрата (400 мг/кг, интраперитонеально), декапитировали гильотинным методом («Гильотина для крыс» АЕ0702, производитель «Open Science»), получали образцы головного мозга. Образцы головного мозга животных фиксировали в 10%-ом растворе формалина, приготовленном на 0,2М фосфатном буфере с дальнейшей гистологической проводкой и изготовлением серийных парафиновых срезов толщиной 5 мкм. которые окрашивали по стандартным методикам гематоксилином и эозином, тионином по Нисслю.

На фронтальных срезах головного мозга с помощью модуля Image Analysis программы ZEN 1.1.2.0 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия) определяли морфометрические показатели: абсолютные - среднюю площадь перикарионов пирамидных нейронов, среднюю площадь ядер пирамидных нейронов, среднюю площадь цитоплазмы пирамидных нейронов, ширину пирамидного слоя; относительные - удельную площадь (УП) перикарионов нейронов и нейропиля. Степень выраженности процессов повреждения определяли методом подсчета удельного количества (УК) пирамидных нейронов с признаками повреждения. К признакам повреждения относили гиперхроматоз ядра и цитоплазмы, гиперхроматоз в сочетании со сморщиванием перикариона, хроматолиз, клетки-тени. Исследование микропрепаратов проводилось с помощью микроскопа «Axio Lab. A1» (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия), фотодокументирование осуществляли камерой «AxioCam 105 color» (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия).

Для иммуногистохимического исследования изготовленные парафиновые срезы (5 мкм) подвергали депарафинизации. Высокотемпературную демаскировку антигенных детерминант проводили с помощью нагревания срезов в 10 мМ растворе высокощелочного фосфатного буфера (pH 9,0) (Thermo Scientific, Fremont, CA, USA) при 98 С в течение 30 минут с последующим за этим охлаждением при комнатной температуре. В качестве промывочного буфера использовали 20 % TBS IHC Wash Buffer with Tween 20 (Cell Marque, USA). Для блокирования эндогенной пероксидазы применяли 3 % раствор H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Cell Marque, USA). В соответствии с рекомендуемыми протоколами фирм производителей подбирали рабочее разведение первичных антител, время, а также условия инкубации. Иммуногистохимическое исследование проводили непрямой пероксидазно-антипероксидазным методом с применением моноклональных и поликлональных антител против: индуцибельной (iNOS, 1:100, экспозиция 1 час,) и эндотелиальной (eNOS, 1:50, экспозиция 1 час) нитрооксидсинтаз; кислого глиального фибриллярного белка (GFAP, 1:100, экспозиция 1 час); белков теплового шока с молекулярной массой 70 кДа (HSP70, 1:100, экспозиция 1 час) и 90 кДа (HSP90, 1:100, экспозиция 1 час); сериновой рацемазы (Serine racemase, 1:50, экспозиция 1 час); Вах (1:1500, экспозиция 1 час); Bcl-2 (1:100, экспозиция 1 час); белка, ассоциированного с мембраной лизосом (LAMP-2, 1:100, экспозиция 1 час); ВН-3-белка beclin 1 (1:100, экспозиция 1 час). В качестве визуализирующей системы использовали полимерную систему UltraVision Quanto Detection System HRP Polymer (Thermo Scientific, Fremont, CA, USA). В качестве хромогена использовали 1 % раствор 3,3-диаминобензидина (Thermo Scientific, Fremont, CA, USA). Затем препараты докрашивали гематоксилином Карацци (БиоВитрум, Россия) и заключали в монтирующую среду (Bio-Mount, Bio-Optica, Italy).

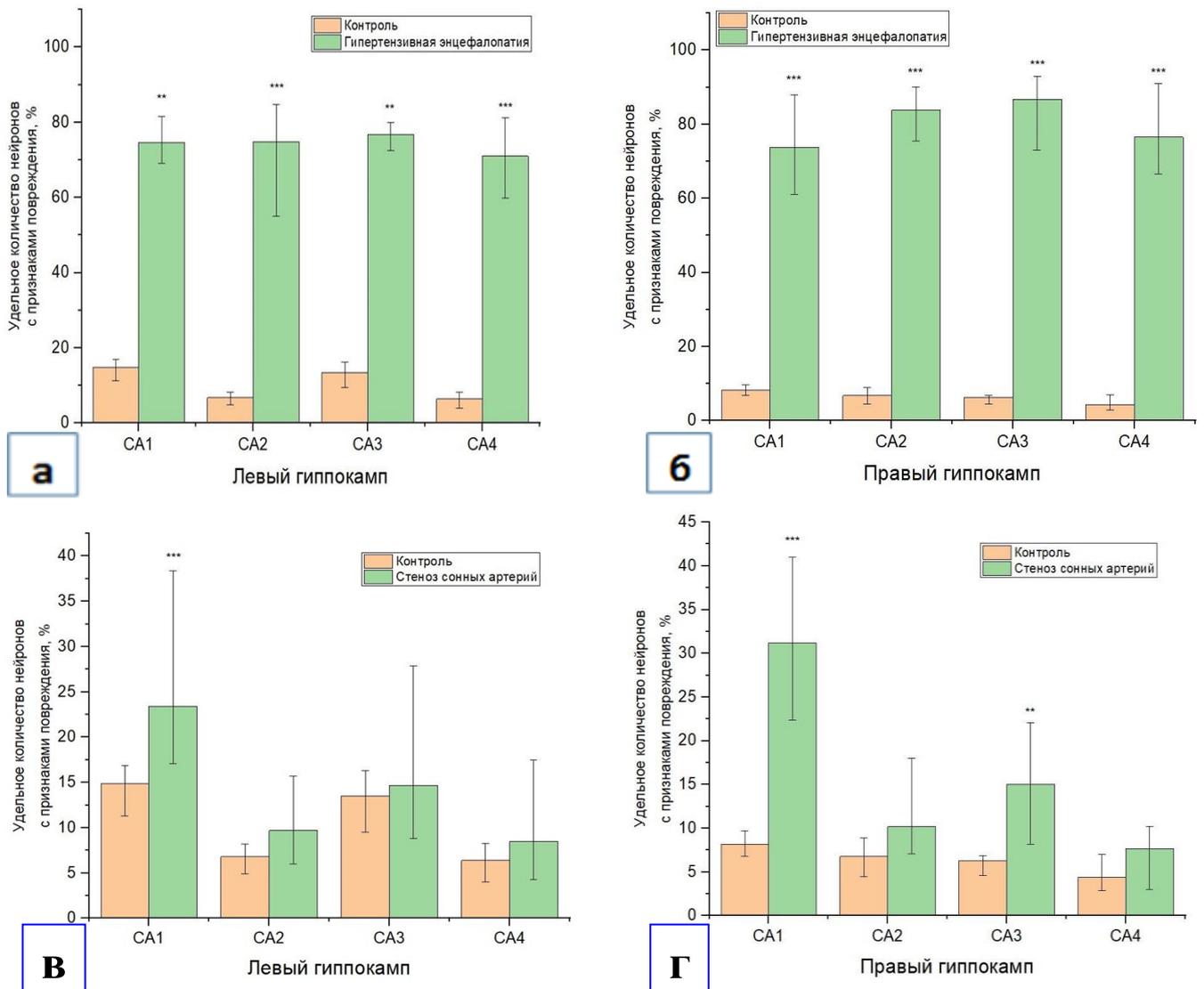
Описание количественных признаков и статистический анализ данных в полученных выборках проводили в соответствии с рекомендациями, изложенными в руководствах. Возможные ошибки и артефакты в экспериментальных данных обнаруживали с помощью Q-теста, если объем выборки был меньше 12, или по методу трех сигм, в случае больших выборок. Проверка соответствия выборочных распределений нормальному проводилась с использованием критерия Шапиро-Уилка. При описании параметров выборки центральную тенденцию характеризовали с помощью медианы (Me). Для оценки вариабельности показателей указывали интерквартильный размах (Q1-Q3), где Q1 – 25 перцентиль, Q3 – 75 перцентиль. Различия между выборками проверяли путем попарного сравнения выборок с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни (Mann-Whitney, U-test). Все статистические расчеты проводили с применением пакета прикладных программ Statistica for Windows 6,0 фирмы StatSoft, Inc (USA).

В главе 3 представлены **результаты собственных исследований**, где дана характеристика морфофункциональных изменений, возникающих в гиппокампе при моделировании гипертензивной энцефалопатии, при моделировании стеноза общих сонных артерий, а также при фармакологической коррекции гипертензивной энцефалопатии.

В **обсуждении полученных результатов** обобщены и интерпретированы с учетом современных литературных источников данные, полученные в результате экспериментального моделирования цереброваскулярной болезни.

Выявленное нами увеличение удельного количества нейронов с признаками повреждения в группе крыс с моделируемой гипертензивной энцефалопатией достоверно отличалось от контроля во всех зонах гиппокампа как левого, так и правого полушария, при этом несколько более выраженное повреждение пирамидных нейронов отмечено в гиппокампе правого полушария (Рисунок 1). Для пирамидного слоя CA1 гиппокампа левого полушария количество нейронов с признаками повреждения увеличилось на 59,7 % ( $p < 0,01$ ), в правом количество поврежденных нейронов увеличилось на 65,5 % ( $p < 0,001$ ); в пирамидном слое CA3 соответственно удельное количество нейронов с признаками повреждения возрастало на 63,3% ( $p < 0,01$ ) в левом, а в правом на 80,4% ( $p < 0,01$ ). Подобная тенденция характерна и для CA2 и CA4, где также преобладало правополушарное повреждение. Так, в CA2 удельное количество пирамидных нейронов с признаками повреждения увеличивалось в гиппокампе левого полушария на 68% ( $p < 0,001$ ), а в правом полушарии на 77% ( $p < 0,001$ ); а в CA4 на 64,6% и 72,1% соответственно в гиппокампе левого и правого полушарий.

При этом, для пирамидного слоя гиппокампа левого полушария крыс с моделируемой гипертензивной энцефалопатией были характерны более выраженные атрофические изменения, чем для гиппокампа правого полушария. Изменения средней площади перикариона пирамидного нейрона выявлены в левом гиппокампе во всех зонах, тогда как в правом гиппокампе этот показатель достоверно снижался лишь в CA1 и CA3. Кроме того, в пирамидном слое гиппокампа левого полушария головного мозга крыс с моделируемой гипертензивной энцефалопатией удельная плотность перикарионов пирамидных нейронов достоверно снижалась также во всех зонах, а в CA4 гиппокампа правого полушария достоверной разницы обнаружено не было. Важным наблюдением является структура признаков повреждения пирамидных нейронов в гиппокампе крыс с моделируемым стенозом – большая из них могут быть охарактеризованы как обратимо поврежденные, так как главным признаком повреждения выступал гиперхроматоз ядра и цитоплазмы, встречались лишь единичные клетки-тени.



**Рисунок 1.** Динамика изменения удельного количества нейронов с признаками повреждения в пирамидном слое гиппокампа. а – гиппокамп левого полушария крыс с моделируемой гипертензивной энцефалопатией; б - гиппокамп правого полушария крыс с моделируемой гипертензивной энцефалопатией; в - гиппокамп левого полушария крыс с моделируемым стенозом сонных артерий; г - гиппокамп правого полушария крыс с моделируемым стенозом сонных артерий.\*\*\* - ( $p < 0,001$ ), \*\* - ( $p < 0,01$ ), различия между группами достоверны (критерий Манна-Уитни).

Несимметричность дегенеративных процессов также подтверждается межполушарными отличиями в показателях ширины пирамидного слоя, который достоверно изменялся в гиппокампе левого полушария в CA2, CA3 и CA4, а в гиппокампе правого полушария лишь в CA2. По нашему мнению, глубокие дегенеративные изменения, заключающиеся в процессах обратимого и необратимого повреждения, а также атрофические изменения, связаны в первую очередь с развитием и персистенцией выраженного отека. Негативные эффекты, возникающие вследствие продольных перегрузок связаны с гемоциркуляторными сдвигами, а их выраженность зависит от направления ускорения, силы, продолжительности, систематичности, а также градиента нарастания. При комбинировании физических характеристик отрицательных продольных перегрузок, обуславливаемые ими эффекты способны оказывать как положительные, так и негативные воздействия [Штемберг А. С., 2012; Nishida Y., 2016;]. Безусловно отрицательные эффекты характерны для многократно

повторяющихся длительных воздействий в продольном направлении в кранио-каудальном векторе (положительные продольные перегрузки), и на их основе была предложена модель тотальной ишемии головного мозга [Литвинов А. А., 2012, Макарова Л. М., 2004]. Продольные перегрузки в обратном, каудо-краниальном векторе (отрицательные продольные перегрузки) могут вызвать более существенное повреждение головного мозга в связи с тем, что защитные приспособительные механизмы при данном типе воздействий гораздо менее эффективны [Гаевый М. Д., 2008; Ogawa Y., 2016]. Мы полагаем, что однократное воздействие отрицательных продольных перегрузок величиной 9G на протяжении 5 минут приводит к срыву ауторегуляции мозгового кровотока, усиленному артериальному притоку, затруднению венозного оттока и подъему давления в церебральных артериях. Резкий подъем давления в сосудах головного мозга служит причиной нарушения функции гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) и увеличения проницаемости стенок капилляров. Развивающиеся в стенках сосудов микроциркуляторного русла адаптивные изменения являются обратимыми, а признаки повреждения нейронов не резко выраженными. Однократное воздействие приводит к обратимому повреждению в сосудистой стенке, которое нарастает по мере повторения воздействий, проходя от альтеративных изменений к деструкции и адаптивной реорганизации. Нарастающие при повторных длительных отрицательных продольных перегрузках дегенеративные изменения сосудистых стенок служат основой дисфункции ГЭБ и персистенции отека головного мозга, и обуславливают выявленную нами картину спонгиоза [Stokum J. A., 2016; Ueno M., 2016; Zhang Y., 2022]. Выраженный перипеллюлярный и периваскулярный отек с нарастанием сосудистых изменений усугубляет клеточную гипоксию и служит главным фактором отсроченного клеточного повреждения и гибели. Выявленная нами асимметрия повреждения в гиппокампе крыс в условиях моделируемой гипертензивной энцефалопатии на наш взгляд связана как с межполушарными различиями в организации нейро-глио-сосудистых комплексов, индивидуальными особенностями васкуляризации, так и со спецификой оказываемого воздействия [Смирнов А. В., 2019; Шаповалова В. В., 2009]. Помимо ускорения в каудо-краниальном векторе, на гемодинамические нарушения также оказывает влияние центростремительное ускорение, возникающее во время перегрузок и с ним может быть связано неравномерное перераспределение крови между левым и правым полушариями, смещению и депонированию крови в полушарии, противоположном направлению движения.

При моделировании стеноза сонных артерий в пирамидном слое гиппокампа крыс также наблюдалось асимметричное повреждение. Несмотря на отчетливую тенденцию в остальных зонах, достоверное увеличение удельного количества нейронов с признаками повреждения отмечено в гиппокампе левого полушария лишь в СА1 на 8,5% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с контролем, тогда как в правом достоверное увеличение наблюдается в СА1 и СА3 соответственно на 23% ( $p < 0,001$ ) и на 8,7 % ( $p < 0,01$ ), что соотносится с литературными данными, описывающими эти зоны как наиболее чувствительные в моделях глобальной, неполной и фокальной ишемии [Авдеев Д. Б., 2018; Medvedeva Y. V., 2017]. Сообщается о разной степени васкуляризации, варибельности относительной площади капилляров, различиях в длине микроциркуляторного русла зон СА1 и СА3 по сравнению с зонами СА2 и СА4, а также в гиппокампе левого и правого полушарий, с чем, по-видимому, связаны менее выраженные компенсаторные способности зон СА1 и СА3 правого гиппокампа в условиях моделируемого стеноза сонных артерий [Авдеев Д. Б., 2018; Горбунова А. В., 2019; Шаповалова В. В., 2009].

Выявленное нами достоверное увеличение относительной площади GFAP-позитивного материала в пирамидном слое СА2 на 8,9% ( $p < 0,001$ ) и в СА4 на 6,9 % ( $p < 0,001$ ) по сравнению с контролем, на наш взгляд свидетельствует об увеличении числа

активированных астроцитов и выступает признаком развивающегося астроглиоза в этих зонах у крыс с моделируемой гипертензивной энцефалопатией (Таблица 1). В то же время, при моделировании стеноза сонных артерий, нами было выявлено достоверное усиление экспрессии GFAP в CA2 на 6,3 % ( $p < 0,01$ ), в CA3 на 6,6 % ( $p < 0,001$ ) и CA4 на 4,1 % ( $p < 0,001$ ) по сравнению с контролем, что согласуется с данными литературы, описывающими подобный астроглиальный ответ у крыс линии SP-SHR и на модели глобальной ишемии головного мозга [Hol E. M., 2015; Tomassoni D., 2004; Yesil H., 2019]. Медленно нарастающие изменения, нейродегенеративные болезни, характеризуются изоморфным типом астроглиоза без значительного ремоделирования астроглиальных сетей. Для острого повреждения головного мозга с массовой гибелью нейронов в ядре ишемии и отсроченной гибелью в пенумбре характерен анизоморфный тип астроглиоза с нарушением доменной организации астроцитов и формированием глиального рубца [Воронков Д. Н., 2017; Коржевский Д. Э., 2007; Takahashi S., 2020]. Выявленное нами усиление экспрессии в CA2 и CA4 пирамидного слоя крыс с моделируемой гипертензивной энцефалопатией сопровождалось более рыхлым расположением перикарионов нейронов на фоне отека, а также смещением GFAP-позитивных астроцитов. В группе крыс с моделируемым стенозом сонных артерий достоверное усиление экспрессии GFAP в CA2, CA3 и CA4 не сопровождалось смещением тел астроцитов с периферии в пирамидный слой, при этом наблюдалось усиленное ветвление отростков между перикарионами пирамидных нейронов. Мы полагаем, что в гиппокампе крыс обеих экспериментальных групп развивается реактивный астроглиоз, имеющий адаптивный характер и направлен как на формирование глиального рубца и ограничение зоны поражения, так и на трофическую поддержку нейронов в условиях ишемии и нарастающего отека.

Достоверное изменение относительной площади CP (сернивая рацемаза) - позитивного материала было выявлено лишь в CA1 пирамидного слоя – в группе крыс с моделируемой гипертензивной энцефалопатией на 5,5% ( $p < 0,05$ ), а в группе крыс с моделируемым стенозом сонных артерий на 6,4% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем (Таблица 2). В группе крыс с моделируемой гипертензивной энцефалопатией достоверное увеличение относительной площади CP-позитивного материала сопровождалось усилением интенсивности, а также транслокацией ИРМ в отростки пирамидных нейронов. Особенности экспрессии CP, по нашему мнению, связаны с большей чувствительностью CA1 к ишемическому повреждению и возможным вовлечением в этот процесс механизма эксайтотоксичности с гиперактивацией NMDAR. Дисфункция D-серин опосредованной NMDA-рецепции в CA1, служит фактором отсроченного повреждения пирамидных нейронов, утяжеляя функциональные нарушения и когнитивные расстройства в обеих экспериментальных группах. С другой стороны, отсутствие достоверной разницы для CA2 и тенденция к снижению уровня экспрессии CP в CA4 могут объяснять более высокую относительную устойчивость пирамидных нейронов к гипоксии в данных зонах по сравнению с CA1 и CA3 [Бонь Е. И., 2018; Mustafa A. K., 2010; Rueda C. B., 2016].

Обнаруженное нами достоверное увеличение относительной площади iNOS (индуцибельная нитрооксидсинтаза) -позитивного материала в пирамидном слое гиппокампа крыс с моделируемым стенозом в CA1 на 7,4 % ( $p < 0,001$ ) и в CA2 на 8,5 % ( $p < 0,01$ ) по сравнению с контролем, сопровождалось отсутствием достоверных отличий в экспрессии nNOS и eNOS во всех зонах. При этом необходимо отметить явную тенденцию к снижению экспрессии eNOS в каждой из зон, что вероятно связано с возникающими адаптивными изменениями сосудистой стенки при длительной ишемии. При моделировании гипертензивной энцефалопатии относительная площадь iNOS-позитивного материала достоверно увеличивалась в пирамидном слое всех зон, но максимально в CA3 – на 8,3 % ( $p < 0,001$ ), при этом также не было выявлено значимых отличий в степени

экспрессии nNOS и eNOS. Мы полагаем, что выраженное повреждение, развивающееся при моделировании гипертензивной энцефалопатии служит фактором нарушения функционирования ГЭБ, формирования отека, последующего приобретения астроцитарной и микроглией провоспалительного фенотипа и переключением с конститутивного типа синтеза NO на преимущественно индуцибельный, связанный с угнетением nNOS и активированием iNOS [Пожилова Е. В., 2015; Liu H., 2015].

Выявленное нами увеличение относительной площади AIF (апоптоз индуцирующий фактор) - позитивного материала в СА1 на 2,7 % ( $p < 0,01$ ), в СА2 на 2,5 % ( $p < 0,05$ ) и в СА4 на 2,9% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем при моделировании гипертензивной энцефалопатии в сочетании с усилением интенсивности экспрессии до 2 баллов свидетельствует, по нашему мнению, о развитии необратимых изменений и активации каспаза-независимого апоптоза в этих зонах. При моделировании стеноза сонных артерий достоверное увеличение относительной площади AIF-позитивного материала обнаружено в СА1 – на 3,1% ( $p < 0,001$ ) и в СА3 – на 2,8% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с контролем, при этом интенсивность реакции также усиливалась до 2 баллов. Слабовыраженное увеличение относительной площади свидетельствуют, на наш взгляд, о различных путях реализации механизмов клеточной гибели с участием AIF-индуцированного апоптоза при моделировании гипертензивной энцефалопатии и стеноза сонных артерий, что согласуется с данными литературы [Фадеева Н. П., 2018; Doti N., 2014; Fricker M., 2018].

Обнаруженное нами достоверное увеличение относительной площади бах-позитивного материала на 0,7% ( $p < 0,001$ ) в пирамидном слое СА1 гиппокампа крыс с моделируемым стенозом сонных артерий свидетельствует, по нашему мнению, о вовлеченности бах в реализацию необратимого повреждения пирамидных нейронов и клеточную гибель в этой зоне. Отсутствие достоверных отличий уровня бах от контроля при моделировании гипертензивной энцефалопатии может свидетельствовать о задействовании иных механизмов нарушения митохондриальной проницаемости и запуска внутриклеточного пути апоптоза, что соотносится с данными литературы [D'Arcy M. S., 2019; Meloni V. P., 2011; Ranjan A., 2016].

При моделировании гипертензивной энцефалопатии в пирамидном слое всех зон гиппокампа крыс относительная плотность bcl-2-позитивного материала достоверно увеличивалась по сравнению с контролем, максимально экспрессия усиливалась в СА2 – на 5,6% ( $p < 0,01$ ) и СА4 – на 5,7% ( $p < 0,01$ ). Более высокий уровень экспрессии bcl-2 в этих зонах может выступать одним из факторов большей устойчивости СА2 и СА4 по отношению к СА1 и СА3 [Горбунова А. В., 2019; Jin X., 2020; Mo Y., 2020]. При моделировании стеноза сонных артерий достоверное увеличение bcl-2-позитивного материала отмечено в СА3 на 3,4% ( $p < 0,01$ ) и СА4 3,1% ( $p < 0,01$ ). Более выраженная экспрессия bcl-2 в группе гипертензивной энцефалопатии по сравнению с группой стеноза сонных артерий соотносится с полученными морфометрическими результатами и объясняет более выраженное повреждение и, соответственно, более значимое напряжение механизмов, обеспечивающих выживаемость и блокирование нейрональной гибели [Meloni V. P., 2011; Mo Y., 2020; Zhao Y. N., 2015]. Важной особенностью достоверного усиления экспрессии bcl-2 в пирамидном слое всех зон гиппокампа крыс в группе моделируемой гипертензивной энцефалопатии служит одновременное отсутствие достоверной разницы в уровне экспрессии бах, что явно свидетельствует в пользу именно антиапоптотической активности [Carloni S., 2008; Gabriel B., 2012; Nikoletopoulou V., 2013]. При моделировании стеноза сонных артерий достоверное усиление bcl-2 в СА3 и СА4 также не сопровождалось изменениями бах, и наоборот – усиление экспрессии бах в СА1 отмечено без изменения уровня bcl-2. Однако, необходимо учитывать, что bcl-2 перекрестно регулирует не только внутренний путь апоптоза, но и посредством

конкурентного взаимодействия с ВН-3-белками влияет на инициацию аутофагии [Mukhopadhyay S., 2014; Petros A. M., 2004; Xu H. D., 2019].

Один из ВН-3-белков – beclin 1 - в неактивном состоянии непосредственно связан с антиапоптотическими гомологами bcl-2/bcl-xl/bcl-w и при диссоциации комплекса участвует в иницировании аутофагии [Dinda B., 2019; Gabriel B., 2012; Galluzzi L., 2017; Nikoletopoulou V., 2013]. LAMP-2, являясь структурным компонентом зрелых лизосом, принимает участие во всех подтипах аутофагии, которые могут быть нацелены как на обеспечение выживания нейрона в условиях гипоксии, так и приводить к аутофагической гибели [Endo Y., 2019; Eskelinen E. L., 2002; Saftig P., 2008]. Beclin 1 является более надежным маркером индуцированной аутофагии, причем в отличие от mTOR-индуцированной и обусловленной ER-стрессом, каскад превращений при beclin 1-зависимой аутофагии значительно короче, что может иметь решающее значение при выраженной ишемии и энергетическом истощении нейронов [Gabriel B., 2012; Hou K., 2019; Mizushima N., 2007]. Выявленное нами достоверное увеличение относительной площади LAMP-2-позитивного материала в пирамидном слое СА1 гиппокампа крыс при моделировании стеноза сонных артерий на 0,8% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем сопровождалось достоверным увеличением относительной площади beclin 1-позитивного материала на 1,1% по сравнению с контролем ( $p < 0,001$ ) в этой же зоне. При моделировании гипертензивной энцефалопатии мы также выявили достоверное увеличение относительной площади beclin 1-позитивного материала в пирамидном слое СА1 и СА2 гиппокампа на 1% ( $p < 0,01$ ) и 0,6 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем, при этом относительная площадь LAMP-2-позитивного материала достоверно увеличивалась в СА2 на 1,3% ( $p < 0,01$ ) Мы полагаем, что при моделировании стеноза сонных артерий и при моделировании гипертензивной энцефалопатии в пирамидных нейронах СА1 гиппокампа крыс включается механизм beclin 1-опосредованной аутофагии, направленный как на реализацию компенсаторных процессов, так и на отдаленную аутофагическую гибель нейронов. В пирамидном слое СА2 и СА4 гиппокампа крыс при моделировании гипертензивной энцефалопатии на фоне резкого увеличения удельного количества поврежденных нейронов усиливается экспрессия LAMP-2, что на наш взгляд свидетельствует об активации процессов аутофагии смешанными механизмами и также имеющих разнонаправленный характер [Степанов А. С., 2017; Che H., 2017; Gabriel B., 2012].

Обнаруженное нами достоверное усиление экспрессии Hsp70 во всех зонах и Hsp90 в СА1 пирамидного слоя гиппокампа крыс с моделируемой гипертензивной энцефалопатией, и отсутствие достоверной разницы в группе моделируемого стеноза подтверждает большее напряжение компенсаторно-приспособительных механизмов при более выраженном повреждении [Fernandez-Fernandez M. R., 2018; Genest O., 2019; Rosenzweig R., 2019]. При моделировании гипертензивной энцефалопатии наиболее значимо относительная площадь Hsp70-позитивного материала увеличивалась в СА1 – на 3,2% ( $p < 0,01$ ) и в СА3 - на 4,9% ( $p < 0,01$ ) по сравнению с контролем, что также соотносится с данными о большей подверженности нейронов этих зон повреждению. Учитывая непосредственное и опосредованное цитопротективное действие шаперонов, мы предполагаем, что при моделировании гипертензивной энцефалопатии, роль Hsp70 и Hsp90 в выживаемости пирамидных нейронов выше, чем при моделировании стеноза сонных артерий.

Таблица 1. Иммунофенотипическая характеристика пирамидного слоя гиппокампа крыс с моделируемой гипертензивной энцефалопатией

| Маркер,                       | Контроль         |                |                 |                   | Моделируемая гипертензивная энцефалопатия |                         |                     |                        |
|-------------------------------|------------------|----------------|-----------------|-------------------|---|-------------------------|---------------------|------------------------|
|                               | CA1              | CA2            | CA3             | CA4               | CA1                                       | CA2                     | CA3                 | CA4                    |
| Hsp 70, ОП ИРМ, %             | 4,3<br>[3,1;4,6] | 6,2<br>[4;8,1] | 4,7<br>[3;6,8]  | 5,5<br>[3,2;7,1 ] | 7,5<br>[4,7;10]**                         | 9,2<br>[7,3;10,9]**     | 9,6<br>[6,4;11,1]** | 8,1<br>[5,9;10,3]*     |
| Hsp 90, ОП ИРМ, %             | 3,2<br>[1,9;4,5] | 4,8<br>[3;6,9] | 5,1<br>[3,3;7]  | 4,6<br>[2,9;6,1 ] | 5,9<br>[4,2;8,1]*                         | 5,7<br>[3,6;7,5]        | 4,9<br>[2,8;6,7 ]   | 6,2<br>[4,3;8,4 ]      |
| GFAP, ОП ИРМ, %               | 5,1 [4,2; 6,5]   | 4,0 [2,2; 5,0] | 1,5 [1,0; 2,6]  | 2,3 [1,8; 2,7]    | 4,0 [3,3; 5,0]                            | 12,9 [9,9; 17,3]**<br>* | 2,9[2,5; 3,6]       | 9,2 [7,9; 11,3]**<br>* |
| Сериновая рацемеза, ОП ИРМ, % | 4,1[3,2;6 ,9]    | 7,7[6,2;8 ,9]  | 8,6[7,3; 9,2]   | 16,1[7, 2;20,4]   | 9,6[8,3; 10,1]*                           | 7,4[6,5; 8,9]           | 6,2[4,7; 7,1]       | 8,2[5;9, 1]            |
| Veclin 1, ОП ИРМ, %           | 0,4 [0,1;0,7]    | 0,9 [0,6;0,9]  | 1,5 [0,9;1,8 ]  | 1,3 [1;2,2]       | 1,4 [1,2;2]**                             | 1,5 [1,2;1,7]*          | 2,3 [1,7;2,8 ]      | 2,6 [2;2,8]            |
| LAMP-2, ОП ИРМ, %             | 0,5 [0,5;0,9]    | 0,6 [0,5;0,8]  | 1,2 [1;1,4]     | 0,6 [0,4;0,8 ]    | 1,1 [0,9;1,4]                             | 1,9 [1,3;1,9]**         | 1,5 [1,2;1,9 ]      | 2,1 [1,7;2,5 ]**       |
| iNOS, ОП ИРМ, %               | 1,8 [1,5;2,4]    | 2,3 [1,4;3,8]  | 3,8 [2,5;4,6 ]  | 4,1 [3,1;5,9 ]    | 5,7 [4,5;6,1]***                          | 6,8 [4,9;8]*            | 12,1 [9,8;14, 3]*** | 8,9 [7;10,2]*          |
| eNOS, ОП ИРМ, %               | 8,8 [6,5;10]     | 8,2 [6;9,4]    | 9,1 [7,3;10, 2] | 9,4 [7,5;12, 1]   | 11,7 [8,9;13, 5]                          | 10,3 [8,7;11]           | 8,5 [6,4;10, 1]     | 8,1 [7,2;11, 2]        |
| Vcl-2, ОП ИРМ, %              | 2,5 [2,1;3,4]    | 3,3 [3;3,5]    | 3,9 [3,7;4,2 ]  | 4 [3;5]           | 6,4 [5,3;17, 1]**                         | 8,9 [8,1;10, 5]**       | 8,3 [6,8;9,4 ]**    | 9,7 [8,7;11, 5]**      |
| Vax, ОП ИРМ, %                | 0,9 [0,7;1]      | 1,2 [0,9;1,4]  | 1,4 [1,1;1,6 ]  | 1,2 [1;1,5]       | 0,7 [0,4;1,2]                             | 1,1 [0,8;1,8]           | 0,8 [0,4;1,5 ]      | 1,4 [1;1,6]            |
| AIF, ОП ИРМ, %                | 4,1 [3,5;4,4]    | 2,9 [1,8;3,4]  | 4,7 [4;5,5]     | 3 [2,3;3,5 ]      | 6,8 [5,7;8]**                             | 5,4 [4,6;7,8]*          | 6,6 [4,7;7,5 ]      | 5,9 [5,1;8,2 ]*        |

Примечание. \*\*\* -  $p < 0,001$  – различия достоверны по сравнению с контрольной группой, \*\* -  $p < 0,01$  – различия достоверны по сравнению с контрольной группой; \* -  $p < 0,05$  – различия достоверны по сравнению с контрольной группой (использован критерий Манна-Уитни). Данные представлены в виде медианы с указанием интерквартильного размаха (Me [Q1;Q3]).

Таблица 2. Иммунофенотипическая характеристика пирамидного слоя гиппокампа крыс с моделируемым стенозом сонных артерий

| Маркер,                         | Контроль         |                |                 |                  | Моделируемый стеноз сонных артерий |                    |                   |                  |
|---------------------------------|------------------|----------------|-----------------|------------------|------------------------------------|--------------------|-------------------|------------------|
|                                 | CA1              | CA2            | CA3             | CA4              | CA1                                | CA2                | CA3               | CA4              |
| Hsp 70, ОП ИРМ, %               | 4,3<br>[3,1;4,6] | 6,2<br>[4;8,1] | 4,7<br>[3;6,8]  | 5,5<br>[3,2;7,1] | 2,6<br>[1,6;3,9]                   | 7,1<br>[5,4;8]     | 3,4<br>[2,7;4,5]  | 2,8<br>[2,5;3,4] |
| Hsp 90, ОП ИРМ, %               | 3,2<br>[1,9;4,5] | 4,8<br>[3;6,9] | 5,1<br>[3,3;7]  | 4,6<br>[2,9;6,1] | 1,4<br>[1;2,1]                     | 5,2<br>[4,7;6,1]   | 4,0<br>[3,3;5,0]  | 2,8<br>[1,8;3,4] |
| GFAP, ОП ИРМ, %                 | 5,1 [4,2; 6,5]   | 4,0 [2,2; 5,0] | 1,5 [1,0; 2,6]  | 2,3 [1,8; 2,7]   | 9,8 [6,1;11, 3]                    | 10,3 [7,8;12,6] ** | 8,1 [5,3;9,4] *** | 5,6 [5,1;7] ***  |
| Сериновая рацемезаза, ОП ИРМ, % | 4,1[3,2;6, 9]    | 7,7[6,2;8, 9]  | 8,6[7,3; 9,4]   | 16,1[7,2 ;20,4]  | 10,5 [8,7;12, 3] *                 | 9,2 [6,5;10,7]     | 10,1 [9,3;13, 5]  | 9 [7,4;14,8 ]    |
| Beclin 1, ОП ИРМ, %             | 0,4 [0,1;0,7]    | 0,9 [0,6;0,9]  | 1,5 [0,9;1,8]   | 1,3 [1;2,2]      | 1,5 [1,4;2,3] ***                  | 1,3 [0,8;1,4]      | 1,8 [1,5;2,7 4]   | 1,6 [1,5;1,8]    |
| LAMP-2, ОП ИРМ, %               | 0,5 [0,5;0,9]    | 0,6 [0,5;0,8]  | 1,2 [1;1,4]     | 0,6 [0,4;0,8]    | 1,3 [1,1;2,1] *                    | 0,9 [0,3;1,4]      | 1,3 [0,8;1,7]     | 1,0 [0,4;1,9]    |
| iNOS, ОП ИРМ, %                 | 1,8 [1,5;2,4]    | 2,3 [1,4;3,8]  | 3,8 [2,5;4,6]   | 4,1 [3,1;5,9]    | 9,2 [6,4;13, 7] ***                | 10,8 [6,6;13] **   | 6,2 [4,1;9,1]     | 7,4 [4,8;9,5]    |
| eNOS, ОП ИРМ, %                 | 8,8 [6,5;10]     | 8,2 [6,9,4]    | 9,1 [7,3;10, 2] | 9,4 [7,5;12, 1]  | 5,3 [4,4;7,4]                      | 4,7 [3,6;6,5]      | 5,8 [4;7,9]       | 5,5 [3,9;7,8]    |
| Bcl-2, ОП ИРМ, %                | 2,5 [2,1;3,4]    | 3,3 [3;3,5]    | 3,9 [3,7;4,2]   | 4 [3;5]          | 3,6 [2,7;4,2]                      | 3,9 [3,1;4,5]      | 7,3 [6,4;7,8] **  | 7,1 [6,6;8,2] ** |
| Bax, ОП ИРМ, %                  | 0,9 [0,7;1]      | 1,2 [0,9;1,4]  | 1,4 [1,1;1,6]   | 1,2 [1;1,5]      | 1,6 [1,3;2] **                     | 1,8 [1,3;2,1]      | 1,5 [1,2;2]       | 1,8 [1,3;2,2]    |
| AIF, ОП ИРМ, %                  | 4,1 [3,5;4,4]    | 2,9 [1,8;3,4]  | 4,7 [4;5,5]     | 3 [2,3;3,5]      | 7,2 [5,8;7,9] ***                  | 4,1 [3,2;4,5]      | 7,5 [6,3;8,1] *** | 3,3 [2,9;3,8]    |

Примечание. \*\*\* -  $p < 0,001$  – различия достоверны по сравнению с контрольной группой, \*\* -  $p < 0,01$  – различия достоверны по сравнению с контрольной группой; \* -  $p < 0,05$  – различия достоверны по сравнению с контрольной группой (использован критерий Манна-Уитни). Данные представлены в виде медианы с указанием интерквартильного размаха (Me [Q1;Q3]).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного нами исследования были получены новые данные о морфофункциональных изменениях, развивающихся в пирамидном слое гиппокампа крыс при экспериментальном моделировании цереброваскулярных болезней. Полученные с применением методов качественной и количественной морфометрической оценки данные существенно дополняют имеющиеся сведения о развитии процессов повреждения, особенностях адаптационных реакций, компенсаторных и нейропротективных способностях гиппокампа как при моделировании гипертензивной энцефалопатии, так и при моделировании стеноза сонных артерий. Результаты иммуногистохимического исследования, в том числе с применением программной количественной морфометрии вносят вклад в понимание особенностей развития процессов обратимого и необратимого повреждения, реализации апоптоза и аутофагии, реакции астроцитарной глии в условиях моделируемого стеноза сонных артерий и гипертензивной энцефалопатии. Выявлено, что многократное воздействие отрицательных продольных перегрузок приводит к повреждению гематоэнцефалического барьера, персистенции периваскулярного и перичеллюлярного отека и значительному увеличению числа клеток с признаками как обратимого, так и необратимого повреждения, сопровождающихся развитием когнитивных и поведенческих нарушений. При моделируемой гипертензивной энцефалопатии увеличение удельного количества пирамидных нейронов с признаками повреждения отмечено во всех зонах гиппокампа, при этом более значительно в гиппокампе правого полушария. Асимметричность повреждения характерна также и для моделируемого стеноза сонных артерий – было отмечено более значительное увеличение числа пирамидных нейронов с признаками обратимого и необратимого повреждения в гиппокампе правого полушария. Отмечена ведущая роль iNOS в образовании NO в пирамидном слое гиппокампа крыс, как при моделировании гипертензивной энцефалопатии, так и при моделировании стеноза сонных артерий. Выявлено участие сериновой рацемазы в опосредовании эксайтотоксического повреждения для CA1 гиппокампа крыс из обеих экспериментальных групп. Наиболее уязвимая зона гиппокампа CA1 характеризовалась значимым увеличением удельного количества пирамидных нейронов с признаками повреждения на фоне активации каспаза-независимых механизмов регулируемой клеточной гибели с усилением экспрессии AIF в обеих экспериментальных группах. Для CA1 гиппокампа крыс с моделируемым стенозом сонных артерий также отмечено увеличение уровня экспрессии проапоптотического протеина bax. Выявлена большая роль системы белков теплового шока в обеспечении нейрональной выживаемости при моделировании гипертензивной энцефалопатии с усилением экспрессии Hsp70 во всех зонах, а в CA1 совместно с усиленной экспрессией Hsp90. В обеих экспериментальных группах отмечена реактивная реакция астроцитарной глии с приобретением ей провоспалительного фенотипа, усилением экспрессии GFAP и развитием астроглиоза. Глубокие дегенеративные и атрофические изменения в пирамидном слое гиппокампа крыс сопровождались усилением экспрессии bcl-2 и включением противоапоптотических механизмов защиты нейронов. В обеих экспериментальных группах отмечена активация аутофагии с вовлечением beclin 1-зависимого механизма и усилением экспрессии LAMP-2.

Таким образом, качественные и количественные результаты настоящего патоморфологического исследования в совокупности с данными анализа иммунофенотипических особенностей в пирамидном слое гиппокампа при экспериментальном моделировании гипертензивной энцефалопатии и экспериментальном моделировании стеноза сонных артерий у крыс могут послужить основой для поиска, разработки и применения фармакологических веществ, обладающих нейропротективным действием в профилактике, лечении и реабилитации пациентов с цереброваскулярной патологией.

## ВЫВОДЫ

1. Комплексное морфологическое исследование с применением программной компьютерной морфометрической оценки и иммуногистохимического метода выявило особенности цитоархитектоники пирамидного слоя гиппокампа крыс в условиях моделируемой гипертензивной энцефалопатии и моделируемого стеноза сонных артерий, что выражается в межполушарной асимметрии повреждения в обеих экспериментальных группах, при этом более выраженный характер повреждения наблюдается в гиппокампе правого полушария. У крыс с моделируемой гипертензивной энцефалопатией в СА3 пирамидного слоя гиппокампа правого полушария удельное количество нейронов с признаками повреждения увеличилось наиболее значительно - на 80,4% ( $p < 0,01$ ); у крыс с моделируемым стенозом сонных артерий наиболее выраженное увеличение удельного количества нейронов с признаками повреждения на 23% ( $p < 0,001$ ) обнаружено в СА1 пирамидного слоя правого гиппокампа.

2. У крыс с моделируемой гипертензивной энцефалопатией резкое увеличение удельного количества пирамидных нейронов с признаками повреждения на фоне выраженного перичеселлюлярного и периваскулярного отека сопровождается активацией процессов каспаза-независимого апоптоза с увеличением экспрессии AIF в СА1 на 2,7 % ( $p < 0,01$ ), в СА2 на 2,5 % ( $p < 0,05$ ) и на 2,9% ( $p < 0,05$ ) в СА4 пирамидного слоя гиппокампа при отсутствии экспрессии каспазы-3 во всех зонах, что свидетельствует о большей роли каспаза-независимого механизма в клеточной гибели. У крыс с моделируемым стенозом сонных артерий на фоне менее выраженного перичеселлюлярного и периваскулярного отека обнаружено увеличение экспрессии AIF в СА1 на 3,1% ( $p < 0,001$ ) и на 2,8% ( $p < 0,001$ ) в СА3 пирамидного слоя гиппокампа, что сопровождается увеличением экспрессии проапоптозного белка bax на 0,7 % ( $p < 0,001$ ) в СА1.

3. У крыс с моделируемой гипертензивной энцефалопатией в СА1 пирамидного слоя гиппокампа выявлено увеличение экспрессии сериновой рацемазы на 5,5% ( $p < 0,05$ ) и сопровождается транслокацией иммунореактивного материала в дендриты пирамидных нейронов, располагающиеся в радиальном слое, что свидетельствует о нарушенном метаболизме глиотрансмиттера D-серина, дисфункции NMDA-опосредованной нейротрансмиссии и избыточном действии глутамата с развитием эксайтотоксического повреждения. У крыс с моделируемым стенозом сонных артерий наиболее значительное увеличение экспрессии сериновой рацемазы на 6,4 % ( $p < 0,05$ ) выявлено в СА1 пирамидного слоя гиппокампа, что служит дополнительным фактором отсроченного повреждения нейронов в условиях ишемии, утяжеляя функциональные нарушения и когнитивные расстройства.

4. У крыс с моделируемой гипертензивной энцефалопатией обнаружено достоверное увеличение экспрессии iNOS во всех зонах гиппокампа, при этом наиболее значительное увеличение на 8,3 % ( $p < 0,001$ ) наблюдается в СА3 пирамидного слоя гиппокампа, что способствует развитию обратимого и необратимого повреждения. У крыс с моделируемым стенозом сонных артерий обнаружено наиболее выраженное увеличение экспрессии iNOS в пирамидном слое гиппокампа в СА1 на 7,4 % ( $p < 0,001$ ) и в СА2 на 8,5 % ( $p < 0,01$ ), резкое увеличение интенсивности экспрессии в сочетании с отсутствием изменения уровня экспрессии nNOS и eNOS свидетельствует о нарушении продукции NO с переключением конститутивного типа на индуцибельный, образовании пероксинитритов, что способствует потенцированию NMDA-зависимой глутаматной цитотоксичности.

5. Морфологические признаки активации компенсаторно-приспособительных процессов наиболее ярко выражены в СА2 и СА4 пирамидного слоя гиппокампа крыс с моделируемой гипертензивной энцефалопатией и в пирамидном слое СА2, СА3 и СА4 гиппокампа крыс с моделируемым стенозом сонных артерий. В группе крыс с моделируемой гипертензивной энцефалопатией в СА2 пирамидного слоя гиппокампа

экспрессия GFAP усилилась на 8,9% ( $p < 0,001$ ), а в СА4 на 6,9 % ( $p < 0,001$ ). В группе крыс с моделируемым стенозом сонных артерий в СА2 пирамидного слоя гиппокампа экспрессия GFAP усилилась на 6,3 % ( $p < 0,01$ ), в СА3 на 6,6 % ( $p < 0,001$ ) и в СА4 на 4,1 % по сравнению с контролем ( $p < 0,001$ ). Адаптивные изменения в СА2 и СА4 гиппокампа крыс из группы моделируемой гипертензивной энцефалопатии сопровождались достоверным снижением относительной площади перикарионов нейронов и смещением GFAP-позитивных астроцитов из радиального и краевого в пирамидный слой. СА2, СА3 и СА4 гиппокампа крыс из группы моделируемого стеноза сонных артерий характеризуются приобретением астроглией провоспалительного фенотипа, усиленным ветвлением отростков, реактивной активацией и диффузным астроглиозом с усилением экспрессии GFAP.

6. В условиях моделируемой гипертензивной энцефалопатии в гиппокампе крыс отмечается активация механизмов аутофагии, что подтверждается увеличением экспрессии *beclin 1* на 0,6 % ( $p < 0,05$ ) и *LAMP-2* на 1,3% ( $p < 0,01$ ) в нейронах пирамидного слоя СА2 в сочетании с активацией нейропротективных процессов, характеризующихся увеличением экспрессии белков теплового шока *Hsp70* во всех зонах гиппокампа, при этом в СА1 экспрессия *Hsp70* и *Hsp90* увеличивалась совместно на фоне возрастания уровня экспрессии *bcl-2* в пирамидных нейронах всех зон, которое было наиболее выражено в СА4 (на 5,7%,  $p < 0,01$ ).

7. Обнаруженное при моделировании стеноза сонных артерий у крыс повышение экспрессии *beclin 1* на 1,1% ( $p < 0,001$ ) и *LAMP-2* на 0,8% ( $p < 0,05$ ) в нейронах пирамидного слоя СА1 гиппокампа свидетельствует об активации механизмов аутофагии, которые могут способствовать реализации нейропротективных процессов, что подтверждается увеличением экспрессии *bcl-2* в СА3 и СА4 пирамидного слоя гиппокампа на 3,4% ( $p < 0,01$ ) и 3,1% ( $p < 0,01$ ) соответственно.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

Результаты патологоанатомического исследования, в том числе иммунофенотипических изменений в различных отделах гиппокампа крыс при моделировании гипертензивной энцефалопатии и стеноза сонных артерий могут быть в значительной степени экстраполированы на человеческий организм и после проведения соответствующих исследований внедрены в патологоанатомическую работу для дифференциальной диагностики состояний, связанных с острой и хронической ишемией головного мозга.

Полученные данные о патоморфологических изменениях в гиппокампе при моделировании цереброваскулярной болезни, включая активацию механизмов клеточной гибели и аутофагии, нейропротективных процессов, можно использовать для преподавания патологической анатомии в высших медицинских учебных заведениях.

Результаты морфологического исследования гиппокампа могут быть использованы при проведении научно-исследовательских работ по изучению механизмов влияния ишемии головного мозга на процессы нейронального повреждения, репаративных возможностей и аутофагии, а также при разработке фармакологических препаратов направленного действия при состояниях, связанных с острой и хронической ишемией головного мозга.

### **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Перспективой дальнейшей разработки темы проведенного диссертационного исследования является продолжение изучения признаков и механизмов нейронального повреждения, запрограммированной клеточной гибели, аутофагии, а также процессов регенерации и адаптации в структурах гиппокампа при цереброваскулярной болезни. Результаты проведенного исследования могут быть использованы для дальнейшего поиска оптимальных методов патологоанатомической диагностики и эффективных способов

коррекции состояний, связанных с ишемией головного мозга. Перспективой развития темы проведенного исследования является также изучение механизмов синаптической пластичности и нейрогенеза в структурах гиппокампа и зубчатой извилины у человека и млекопитающих.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Смирнов, А. В. Морфологические изменения в гиппокампе, вызванные воздействием центробежного ускорения при каудально-краниальном векторе / А. В. Смирнов, М. В. Шмидт, Д. С. Медников [и др.] // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2014. – № 1(41). – С. 16-18.
2. Смирнов, А. В. Морфометрическое исследование гиппокампа правого полушария крыс при моделировании гипертензивной энцефалопатии / А. В. Смирнов, М. В. Шмидт, Д. С. Медников [и др.] // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2016. – № 4(52). – С. 7-11.
3. Смирнов, А. В. Структурные изменения гиппокампа крыс при экспериментальном моделировании гипертензивной энцефалопатии с учетом экспрессии белков теплового шока / А. В. Смирнов, М. В. Шмидт, Д. С. Медников [и др.] // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2016. – № 4(60). – С. 90-95.
4. Медников, Д. С. Иммуногистохимическое исследование гиппокампа крыс при экспериментальном моделировании гипертензивной энцефалопатии / Д. С. Медников // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины: Материалы 74-й открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов ВолГМУ с международным участием, Волгоград, 20–23 апреля 2016 года / Под редакцией В.И. Петрова. – Волгоград: Волгоградский государственный медицинский университет, 2016. – С. 323-324.
5. Медников, Д. С. Иммуногистохимическое исследование гиппокампа крыс с применением антител против LAMP2 при экспериментальном моделировании гипертензивной энцефалопатии / Д. С. Медников, А. В. Смирнов // Молодежный инновационный вестник. – 2017. – Т. 6. – № 2. – С. 167-169.
6. Смирнов А. В. Особенности структурных изменений пирамидного слоя гиппокампа крыс при гравитационном воздействии в каудо-краниальном векторе с учетом экспрессии GFAP / А. В. Смирнов, М. В. Шмидт, Д. С. Медников [и др.] // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2017. – Т. 6, № 2. – С. 75-82.
7. Смирнов, А. В. Особенности экспрессии Hsp70, Hsp90 и GFAP в гиппокампе крыс при моделировании гипертензивной энцефалопатии / А. В. Смирнов, Д. С. Медников, М. В. Шмидт [и др.] // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2017. – № 2(22). – С. 59-64.
8. Smirnov, A. V. Neuronal and glial changes in hippocampus in model of chronic cerebral ischemia / A. V. Smirnov, I. N. Tyurenkov, D. Mednikov [et al.] // Alzheimer's and Dementia. – 2017. – Vol. 13, № S7. – P. 804.
9. Смирнов, А. В. Экспрессия сериновой рацемазы в гиппокампе крыс при моделировании хронических нарушений мозгового кровообращения / А. В. Смирнов, Д. С. Медников, М. В. Шмидт [и др.] // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2017. – № 2(62). – С. 47-51. – DOI 10.19163/1994-9480-2017-2(62)-47-51.
10. Медников, Д. С. Структурные изменения гиппокампа крыс при моделировании гипертензивной энцефалопатии с учетом экспрессии lam32 / Д. С. Медников // Материалы V съезда Российского общества патологоанатомов : с международным участием, Челябинск, 01–04 июня 2017 года / Российское общество патологоанатомов. – Челябинск: Группа МДВ. - 2017. – С. 193-194.

11. Смирнов, А. В. Уровень экспрессии Beclin 1 в гиппокампе крыс при дисциркуляторной энцефалопатии, вызванной длительным воздействием отрицательных продольных перегрузок / А. В. Смирнов, Д. С. Медников // Актуальные вопросы фундаментальной, экспериментальной и клинической морфологии : Материалы Всероссийской конференции молодых специалистов, Рязань, 05–06 октября 2017 года. – Рязань: Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова. – 2017. – С. 118-120.
12. Медников, Д. С. Морфологические изменения и особенности экспрессии сериновой рацемазы в гиппокампе крыс при многократном воздействии отрицательных гравитационных перегрузок / Д. С. Медников, А. В. Смирнов, М. В. Шмидт [и др.] // Морфология. – 2018. – Т. 153. – № 1. – С. 16-22.
13. Смирнов, А. В. Особенности экспрессии Beclin-1 и LAMP-2 в гиппокампе крыс при гравитационном воздействии в каудо-краниальном векторе / А. В. Смирнов, Д. С. Медников, М. В. Шмидт [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2018. – Т. 165. – № 1. – С. 122-126.
14. Смирнов, А. В. Особенности экспрессии Beclin-1 в гиппокампе крыс при экспериментальном моделировании хронических нарушений мозгового кровообращения / А. В. Смирнов, Д. С. Медников, М. В. Шмидт [и др.] // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2019. – № 2. – С. 3-6.
15. Mednikov, D. S. Neuronal changes and level of AIF expression in hippocampus in model of chronic cerebral ischemia / D. S. Mednikov, A. V. Smirnov, I. N. Tyurenkov [et al.] // Alzheimer's and Dementia. – 2019. – Vol. 15, № S7. – P. 677-678.
16. Тюренков, И. Н. Функциональные и морфологические изменения в пирамидном слое гиппокампа крыс при энцефалопатии, вызванной длительными воздействиями гравитационных перегрузок / И. Н. Тюренков, А. В. Смирнов, Д. С. Медников [и др.] // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2019. – Т. 105, № 3. – С. 339-349. – doi 10.1134/S0869813919030075.
17. Медников, Д. С. Экспрессия AIF в пирамидном слое гиппокампа крыс при моделировании стеноза сонных артерий / Д. С. Медников, Л. С. Быхалов, А. А. Замлелов, А. В. Смирнов // Морфология. – 2019. – Т. 155. – № 2. – С. 193-194.
18. Mednikov, D. S. Morphological changes and characteristics of the expression of serine racemase in the hippocampus of rats exposed to multiple negative gravitational overloads / D. S. Mednikov, A. V. Smirnov, M. V. Shmidt [et al.] // Neuroscience and Behavioral Physiology. – 2019. – Vol. 49, № 1. – P. 89-94. – doi 10.1007/s11055-018-0698-x.
19. Смирнов, А. В. Особенности экспрессии AIF в гиппокампе крыс при экспериментальном моделировании стеноза общих сонных артерий / А. В. Смирнов, Д. С. Медников, И. Н. Тюренков [и др.] // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2020. – № 2. – С. 36-40.
20. Mednikov D. S. The features of BECN1 expression in the pyramidal layer of rat hippocampus in chronic cerebral ischemia / D. S. Mednikov, A. V. Smirnov, I. N. Tyurenkov [et al.] // Alzheimer's and Dementia. – 2020. – Vol. 16, № S4. – P. 038818. – doi 10.1002/alz.038818.
21. Smirnov, A. V. Morphofunctional changes and expression of LAMP2 in the rat hippocampus in chronic cerebral ischemia / A. V. Smirnov, D. S. Mednikov, I. N. Tyurenkov [et al.] // Alzheimer's and Dementia. – 2020. – Vol. 16, № S4. – P. 038308. – doi 10.1002/alz.038308.
22. Смирнов, А. В. Оценка экспрессии beclin1 в пирамидном слое гиппокампа крыс при моделировании стеноза сонных артерий / А. В. Смирнов, Д. С. Медников, Л. С. Быхалов, Н. Г. Паньшин // Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии: Сборник научных трудов международной научной конференции, Москва, 12–13 ноября 2020 года. –

Москва: Научно-исследовательский институт морфологии человека. - 2020. – 232 с. – ISBN 978-5-906748-04-1.

**23. Медников, Д. С. Морфометрическое исследование пирамидного слоя гиппокампа крыс при экспериментальном моделировании стеноза общих сонных артерий / Д. С. Медников, А. В. Смирнов, И. Н. Тюренков [и др.] // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2021. – № 1. – С. 4–9.**

### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ГЭБ – гематоэнцефалический барьер

НМК – нарушение мозгового кровообращения

СР – сериновая рацемеза

ЦВБ – цереброваскулярные болезни

АIF – апоптоз индуцирующий фактор

Bak – проапоптотический белок из суперсемейства Bcl-2

Bax - проапоптотический белок из суперсемейства Bcl-2

Bcl-2 – антиапоптотический белок

Becn1-1 – белок регулятор аутофагии и клеточной гибели, ВНЗ-протеин из суперсемейства Bcl-2

CA1 - область I аммонова рога (regio I cornus ammonis)

CA2 - область II аммонова рога (regio II cornus ammonis)

CA3 - область III аммонова рога (regio III cornus ammonis)

CA4 - область IV аммонова рога (regio IV cornus ammonis)

eNOS – эндотелиальная нитрооксидсинтаза

GFAP – глиальный фибриллярный кислый белок

Hsp70 – белок теплового шока с молекулярной массой 70 кДа

Hsp90 – белок теплового шока с молекулярной массой 90 кДа

iNOS – индуцибельная нитрооксидсинтаза

LAMP-2 – ассоциированный с лизосомами мембранный протеин

NMDA - N-метил-d-аспартат

NMDAR – рецептор N-метил-d-аспартата

nNOS – нейрональная нитрооксидсинтаза

SHR – линия спонтанно гипертензивных крыс

SP-SHR – линия спонтанно гипертензивных крыс, склонных к инсульту