

**МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРОЯВЛЕНИЙ ОТЕКА-НАБУХАНИЯ  
ГИППОКАМПАЛЬНОЙ ФОРМАЦИИ ПОСЛЕ ПЕРЕВЯЗКИ ОБЩИХ СОННЫХ АРТЕРИЙ**

*Макарьева Л.М., Акулинин В.А., Степанов С.С.,  
Шоронова А.Ю., Авдеев Д.Б., Мартынова Э.В., Коржук М.С.*

Омский государственный медицинский университет Минздрава России

✓ **Резюме**

*Цель - изучить структурные изменения нейронов и глии, дать морфометрическую характеристику проявлениям отека-набухания гиппокампальной формации белых крыс через 1, 3, 7, 14 и 30 сут в норме и в динамике после двусторонней перевязки общих сонных артерий. Структурно-функциональное восстановление гиппокампа происходит на фоне гипергидратации нейрона, перинеурональных и периваскулярных пространств (ножки астроцитов). Крайняя степень вариации этих проявлений отмечается на 1-14 сут, что свидетельствует о дисфункции астроцитов в результате чрезмерного отека их отростков. Проявления гипергидратации в гиппокампальной формации наблюдались на протяжении всего срока исследования (30 сут).*

*Ключевые слова: ишемия, гиппокамп, зубчатая извилина, морфометрия, крысы.*

**УМУМИЙ УЙҚУ АРТЕРИЯЛАРИ БОҒЛАНГАНДАН КЕЙИН ГИПОКАМПАЛ  
СОҲАНИНГ ШИШИ НАМОЁН БЎЛИШИНИНГ МОРФОМЕТРИК ТАҲЛИЛИ**

*Макариева Л.М., Акулинин В.А., Степанов С.С.,  
Шоронова А.Ю., Авдеев Д.Б., Мартинова Е.В., Коржук М.С.*

Омск давлат тиббиёт университети

✓ **Резюме**

*Мақсад нейронлар ва глиаларнинг структуравий ўзгаришларини ўрганиш, оқ каламушларнинг гиппокамп соҳаси шишининг морфометрик тавсифини умумий уйқу артериялари икки томонлама боғлангандан сўнг 1, 3, 7, 14 ва 30 кундан кейин динамикада ва нормал шароитда ўрганиш ҳисобланади. Гиппокампуснинг структуравий ва функционал тикланиши нейронил, перинеуронал ва периваскуляр бўшлиқларнинг (астроцитларнинг оёқлари) гипергидратацияси фонида содир бўлади. Ушбу белгиларнинг ҳаддан ташқари ўзгариши 1-14 кунларда кузатилади, бу астроцитларнинг ҳаддан ташқари шишиши натижасида дисфункциясини кўрсатади. Гиппокампал соҳанинг ҳаддан ташқари гипергидратациянинг намоён бўлиши бутун тадқиқот даврида (30 кун) кузатилди.*

*Калит сўзлар: ишемия, гиппокамп, тишисимон пушта, морфометрия, каламушлар.*

**MORPHOMETRIC ANALYSIS OF MANIFESTATIONS EDEMA-SWELLING OF THE  
HIPPOCAMPAL FORMATION AFTER LIGGING OF THE COMMON CAROTID ARTERIES**

*Lyubov M. Makarieva, Victor A. Akulinin, Sergei S. Stepanov, Anastasia Yu. Shoronova, Dmitry B. Avdeev, Ella V. Martynova, Mikhail S. Korzhuk.*

Omsk State Medical University, Ministry of Health of Russia

✓ **Resume**

*The aim is to study the structural changes of neurons and glia, to give a morphometric characteristic of the manifestations of edema-swelling of the hippocampal formation in white rats after 1, 3, 7, 14 and 30 days in normal conditions and in dynamics after bilateral ligation of the common carotid arteries. Structural and functional restoration of the hippocampus occurs against the background of hyperhydration of the neuropil, perineuronal and perivascular spaces (legs of astrocytes). The extreme degree of variation of these manifestations is observed on days 1-14, which indicates dysfunction of astrocytes as a result of excessive edema of their processes. Manifestations of overhydration in the hippocampal formation were observed throughout the study period (30 days).*

*Key words: ischemia, hippocampus, dentate gyrus, morphometry, rats.*

## Актуальность

Прекращение кровотока приводит к мгновенному биохимическому и функциональному дефициту, который быстро становится необратимым. Тяжесть клеточного повреждения зависит от многочисленных косвенных и вторичных последствий ишемического воздействия [1]. В настоящем исследовании акцент сделан на проявления де- и гипергидратации в гиппокампальной формации половозрелых крыс в норме и в динамике постоянной двусторонней перевязки общих сонных артерий.

**Цель исследования:** Морфометрический анализ проявлений отека-набухания гиппокампальной формации после перевязки общих сонных артерий в эксперименте.

## Материал и методы

Экспериментальная работа выполнена в ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет», одобрена этическим комитетом вуза (протоколы № 83 от 14.10.2016; № 107 от 02.10.2018; № 112 от 26.09.2019; №123 от 09.10.2020). Исследование проводилось на аутбредных половозрелых крыс стока Wistar (самцы масса 250–350 гр.), которых до и после эксперимента содержали в соответствии со стандартами в лабораторных условиях.

Неполную глобальную ишемию моделировали согласно «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.77 №755) и рекомендациям Международного комитета по науке о лабораторных животных, поддержанных ВОЗ, директивой Европейского Парламента № 2010/63/EU от 22.09.10 «О защите животных,

используемых для научных целей», путем постоянной двусторонней перевязки общих сонных артерий (ПОСА). Для анестезии использовали препарат Zoletil 100 (10 мг/кг). Контролем служили интактные крысы (n=10). Через 1, 3, 7, 14 и 30 сут после перевязки головной мозг крыс (n=6, на срок в каждой группе) фиксировали путём последовательной перфузии раствором 0,9% NaCl (плюс фрагмин) и 4% раствора параформальдегида на фосфатном буфере (pH 7,2–7,4). Серийные фронтальные срезы (толщина 4 мкм) готовили на микротоме HM 450 (Thermo), на уровне от (-) 2,40 до (-) 3,36 мм от Bregma – расположение основных структур гиппокампа [2].

Препараты фотографировали на микроскопе Leica DM 1000 (масляная иммерсия, объектив  $\times 100$ ), на камере GXCAM-DM800 Unique Wrap-Around 8MP AUTOFOCUS USB, pixel size  $1,4 \times 1,4 \mu\text{m}$ , расширение tiff (2592x1944 пикселей). На каждый срок отбирали по 30 случайно выбранных полей зрения. Морфометрическое исследование осуществляли с использованием программы ImageJ 1.53c. Применяли "Find Foci" (набор программ GDSC ImageJ для анализа микроскопических изображений) [<https://imagej.nih.gov/ij/>]. [3].

## Результат и обсуждение

В зубчатой извилине и полях CA<sub>1</sub> и CA<sub>3</sub> животных контрольной группы встречались гиперхромные нейроны, единичные пикноморфные клетки, а также очень яркие неокрашенные зоны - просветы пустых сосудов, немногочисленные проявления перичеселлюлярного (ПЦО) и периваскулярного (ПВО) отёка (рис. 1а). При этом, в общей массе преобладали нормохромные и несморщенные темные нейроны.

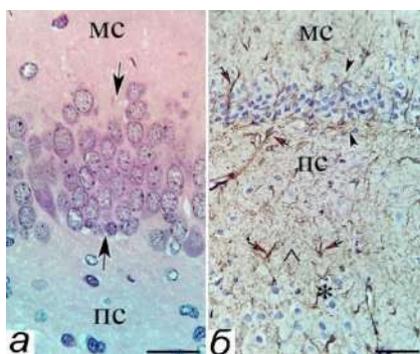


Рис.1. Фрагменты зубчатой извилины гиппокампа животных контрольной группы: преобладание нормохромных нейронов (черные стрелки), незначительные проявления отёка-набухания, МС - молекулярный слой, ПС - полиморфный слой, стрелки - слой клеток-гранул, красные стрелки – волокнистые астроциты. Окраска гематоксилин-эозином (а), иммуногистохимическое типирование GFAP (б). Объектив:  $\times 100$  (а),  $\times 40$  (б), шкала: 25 мкм (а), 50 мкм (б).

С помощью плагина "Find Foci" установлено, что в постишемическом периоде процессы де- и гипергидратации нервной ткани отражались на гистограммах ее изображений сдвигом среднего значения яркости пикселей в двух

противоположных направлениях – для фона – уменьшение значений (потемнение – дегидратация), для зон отека-набухания – увеличением яркости (просветление – гипергидратация – отек-набухание) (рис. 2).

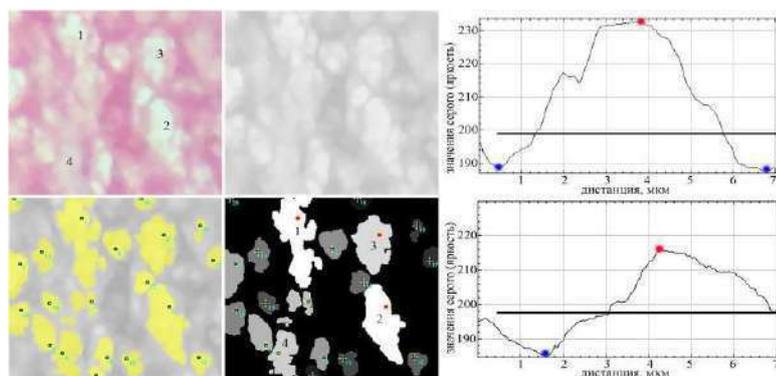


Рис. 2. Последовательные этапы анализа изображения ROI (90000 пикс; 20x20 мкм) нейропиля (исходное, 32-бит, все пиксы, пиксы по оттенкам серого), содержащего участок молекулярного слоя поля СА<sub>1</sub> через 30 сут после ПОСА. Красные квадраты – максимально яркие пиксели 3-х из 20-ти пиков с наибольшей общей интенсивностью. Гистограммы отражают распределение пикселей пика «1» (яркого) и «4» (бледного: линии (яркость около 200) отсекают пиксели фона (ниже) и зон просветления (выше) нейропиля. Красные точки – максимально яркие (235) пиксели зон отека набухания, синие – минимальные значения (180) яркости пикселей фона. Окраска гематоксилин-эозином, объектив  $\times 100$ . Трансформирование и анализ пиков ROI с помощью плагина "Find Foci".

При ПОСА уже через 1 сут реактивные и дегенеративные изменения затрагивали половину полей зрения. Необратимо повреждается система естественной защиты и восстановления ишемически измененных пирамидных нейронов – микродренажная функция астроцитов. Дегенерация цитоскелета астроцитарных отростков, их длительный отек вокруг нейронов и микрососудов вызывают необратимое повреждение и гибель нейронов по механизмам вторичной ишемии [4]. Через 1 сут после ПОСА кроме скоплений

различных темных нейронов выявили гипохромные нейроны с признаками гомогенизации, выраженные проявления отека-набухания и перичеллюлярного отека (рис. 3а, б). Через 3 сут отмечено преобладание дегенеративно измененных нейронов, много темных нейронов было через 7 и 14 сут (рис. 3в, г). Даже через 30 сут сохранялись гипохромные нейроны с признаками гомогенизации, выраженные проявления отека-набухания перикариона и перичеллюлярного отека (рис. 3а, б).

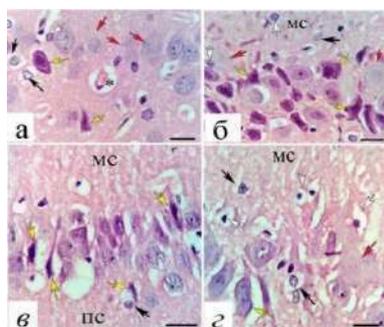


Рис. 3. Фрагменты полей СА<sub>1</sub> (а, в) и СА<sub>3</sub> (б, г) гиппокампа животных через 1 сут (а, б) и 3 сут (в, г) после ПОСА: много темных нейронов (желтые стрелки), гипохромные нейроны с признаками гомогенизации (красные стрелки), выраженные проявления отека набухания перикариона и перичеллюлярного отека, черные стрелки – астроциты, белые стрелки – олигодендроциты с признаками отека-набухания. Окраска гематоксилин-эозином. Объектив  $\times 100$ , шкала: 20 мк.

### Заключение

В зубчатой извилине, полях СА<sub>1</sub> и СА<sub>3</sub> гиппокампа крыс после постоянной двусторонней ПОСА отмечались деструктивные изменения отростков астроцитов, вследствие чего нарушалась микродренажная функция последних, что приводило к необратимой дегидратации нейронов и появлению пикноморфных нейронов с гомогенизацией. Эти изменения проявлялись с 1 сут. Через 3, 7 и 14 сут преобладают дегенеративно измененные нейроны, проявления отека-набухания перикарионов и перичеллюлярного отека сохранялись через 30 сут.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Eszter F., Paul G.M. Luiten, Ferenc B. Permanent, bilateral common carotid artery occlusion in the

rat: A model for chronic cerebral hypoperfusion-related neurodegenerative diseases // Brain research reviews. – 2007. – Т.54, №1. – С.162-180.

2. Paxinos G., Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. 5th ed. San Diego: Elsevier Academic Press; 2005.
3. Herbert A.D., Carr A.M., Hoffmann E. FinDGoci: A focus detection algorithm with automated parameter training that closely matches human assignments reduces human inconsistencies and increases speed of analysis. PLoS 1. 2014; 9(12): e114749.
4. Avdeyev D.B., Akulinin V.A., Gorbunova A.V., Stepanov S.S., Shoronova A.Yu., Makar'yeva L.M., Kucheruk A.N., Korzhuk M.S. Otok-nabukhaniye kak standartnaya dozovavisimaya reaktsiya zubchatoy izviliny gippokampal'noy formy na ostruyu ishemiyu // Zhurnal anatomii i gistopatologii. - 2021. - Т.10, № 3. - S.15-26.

Поступила 09.10.2021