

in control; however, by the end of the third week, i.e. by the beginning of juvenile age, it decreased and was significantly lower than the control value.

**Conclusions.** In the respiratory portions of the solitary nucleus in control rats, a gradual decrease in GAT<sub>1</sub> expression occurs in the first three weeks of postnatal development. Deficiency of serotonin in the prenatal period leads to impaired expression of the GAT<sub>1</sub> transporter in the early postnatal period. The revealed deviations can lead to a change in the transmission of GABA, which, in turn, can cause an imbalance of inhibitory

and excitatory effects in the respiratory center in the early postnatal period and, as a result, to be a basis for the development of respiratory dysfunctions at early age.

**Key words:** *solitary nucleus, serotonin, GAT-1 GABA transporter, early postnatal period*

Laboratory of Ontogenesis of the Nervous System, I.P. Pavlov Institute of Physiology, RAS, 6 Makarova Emb., St. Petersburg 199034; Department of Histology and Embryology n.a. prof. A.G.Knorre, St. Petersburg State Pediatric Medical University, 2 Litovskaya St., St. Petersburg 194100

© Коллектив авторов, 2019  
УДК 616.831-005.4

*Д. Б. Авдеев, С. С. Степанов, А. В. Горбунова, В. А. Акулинин, А. Ю. Шоронова*

## ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ АПОПТОЗА И НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТИ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА БЕЛЫХ КРЫС ПОСЛЕ ОККЛЮЗИИ ОБЩИХ СОННЫХ АРТЕРИЙ

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (зав. — д-р мед. наук В. А. Акулинин), ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России

**Цель** — изучение активности белков апоптоза (bcl-2, p53, каспазы-3) и нейропластичности (p38, MAP-2) сенсомоторной коры (СМК) головного мозга белых крыс в норме и различные сроки после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий (ООСА).

**Материал и методы.** Использованы методы световой микроскопии (окраска гематоксилином — эозином), иммуногистохимии и морфометрии. Материал для исследования: контрольная группа — ложнооперированные животные (n=5), основная группа — животные через 1, 3, 7, 14 и 30 сут после ООСА (n=25).

**Результаты.** Показано, что после ООСА на фоне необратимой деструкции части нейронов СМК (слой III — 21,5%, слой V — 19,0%) происходит реорганизация отростков (MAP-2) и синапсов (p38) сохранившихся нейронов. Относительное содержание меченых антител к p38 и каспазе-3, локализованных в синаптических терминалях, сначала (на 1-е и 3-и сутки) уменьшается, а затем (на 7-е сутки) восстанавливается. Наиболее выраженные изменения каспазы-3 в динамике постишемического периода отмечены через 7, 14 и 30 сут, когда ее содержание превышает таковое p38.

**Выводы.** Постишемическая компенсаторная реорганизация системы коммуникации нейронов (отростки, синапсы) происходит на фоне высокого содержания каспазы-3 в аксонах. При этом проявлений апоптоза (активации каспазы-3 в перикарионе) не выявлено. Каспазу-3 необходимо рассматривать в аспекте ее плейотропии, участия в адапционных и восстановительных процессах — нейропластичности.

**Ключевые слова:** *острая ишемия, неокортекс, каспаза-3, p53, bcl-2, p38, MAP-2*

**Введение.** Известно, что после острой ишемии запускаются механизмы повреждения нервной ткани путем некроза и апоптоза, а также нейропластичность [2, 12, 13]. Необратимые повреждения нейронов при острой ишемии инициируются через активацию c-Jun N-terminal kinase (JNK). Затем следует апоптоз или вторичный (отдаленный) некроз [10]. При этом активную роль играет каспаза-3, которая обладает как про-, так и антиапоптотическим свойством [5, 6]. Нейропротекторная и нейропластическая

функции каспазы-3 могут быть активированы Ca<sup>2+</sup>-зависимым путем, но точные механизмы пока неизвестны [7–9]. Вероятно, апоптотические протеиназы имеют функции, непосредственно связанные с нейропластичностью. Каспазе-3 присуща плейотропия или мультимодальность, что реализуется в вовлечении этого фермента во множество различных прямо противоположных функций. При развитии церебральной патологии этот фермент опосредует как гибель нервных клеток, так и компенсаторные процессы,

### Сведения об авторах:

Авдеев Дмитрий Борисович (e-mail: [avdeev86@inbox.ru](mailto:avdeev86@inbox.ru)), Степанов Сергей Степанович (e-mail: [serg\\_stepanov@mail.ru](mailto:serg_stepanov@mail.ru)), Акулинин Виктор Александрович (e-mail: [akulinin@omsk-osma.ru](mailto:akulinin@omsk-osma.ru)), Шоронова Анастасия Юрьевна (e-mail: [nastasya1994@mail.ru](mailto:nastasya1994@mail.ru)), кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии, Горбунова Анна Владимировна (e-mail: [double\\_energy@mail.ru](mailto:double_energy@mail.ru)), кафедра онкологии, лучевой терапии ДПО, ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 644099, г. Омск, ул. Ленина, 12

необходимые для выживания нейронов и нормального функционирования мозга в целом [7, 8]. Морфологических исследований нервной ткани в этом направлении мало.

Ключевыми структурами, связанными с активацией механизмов нейропластичности, являются межнейронные синапсы и нервные отростки [3, 4]. Современные методы иммуногистохимии позволяют выявить эти структуры даже на светооптическом уровне, например, с помощью верификации синаптофизина (терминали — пресинаптическая зона) и MAP-2 (дендриты — постсинаптическая зона) [1, 4]. Ранее мы продемонстрировали ультраструктурные и иммуногистохимические признаки вероятной связи каспазы-3 и синаптической пластичности в гиппокампе белых крыс, перенесших ООСА [1]. Данных о подобном исследовании коры головного мозга крыс в литературе мы не нашли.

Целью настоящего исследования явилось иммуногистохимическое изучение сенсомоторной коры (СМК) головного мозга белых крыс в контроле и после 20-минутной ООСА для выявления связи нейропластичности и активности каспазы-3, как одного из ключевых ферментов апоптоза.

Материал и методы. Эксперименты проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. № 755) и с рекомендациями Международного комитета по науке о лабораторных животных, поддержанных ВОЗ, директивой Европейского Парламента № 2010/63/EU от 22.09.2010 г. «О защите животных, используемых для научных целей». На проведение исследования было получено разрешение этического комитета ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» (протокол № 83 от 14 октября 2016 г).

Работа выполнена на 30 самцах белых крыс Wistar массой 180–200 г, которых содержали в конвенциональном виварии. Животных выводили из эксперимента путем декапитации.

20-минутную ООСА (2-сосудистая модель неполной глобальной ишемии без гипотонии) воспроизводили на фоне премедикации (сульфат атропина 0,1 мг/кг подкожно) и общей анестезии (Zoletil 100 10 мг/кг). Взятие материала проводили через 1 (n=5), 3 (n=5), 7 (n=5), 14 (n=5) и 30 (n=5) сут после ООСА. Группой сравнения служили ложноперирированные (без окклюзии артерий) животные того же возраста через 3 сут после ложной операции (n=5). Головной мозг фиксировали перфузией 4% раствора параформальдегида на 0,1M фосфатном буфере (рН 7,4) через восходящую часть дуги аорты. Серийные фронтальные срезы (толщина 4 мкм) сенсомоторной коры [11] окрашивали гематоксилином — эозином.

Для иммуногистохимического исследования использовали моноклональные мышиные антитела к Caspase-3 (CPP32 — активная форма; код NCL-CPP32, клон JHM62), bcl-2 (код PA0117, клон 3.1), p38 (код ORG-8848, клон 27G12), p53 (код PA0057, клон DO-7) (Лейка Биосистемс Ньюкасл Лтд, Соединенное Королевство) и поликлональные кроличьи антитела к MAP2 (ab32454) (Abcam, США).

После реакции с первичными антителами срезы последовательно инкубировали с вторичными антителами, затем с хромогеном DAB (3,3'-диаминобензидин), докрашивали гематоксилином и заключали в полистирол. На микроскопе Leica DM 1000 делали цифровые микрофотографии (по 80 полей зрения с каждого среза), изображение сохраняли в файлах с расширением tiff (2592×1944 пикселей). Для достижения максимальной контрастности и четкости мелких отростков нейронов в Photoshop CC проводили коррекцию изображения с помощью фильтра Camera Raw (контрастность, баланс белого, четкость). Дальнейшее морфометрическое исследование осуществляли на масках 8-битовых черно-белых изображений (об. 40) с использованием программы Image J 1.52. Определяли общую численную плотность нейронов, относительную площадь p38- и каспазы-3-позитивного материала. Проверку статистических гипотез осуществляли непараметрическими критериями Манна—Уитни, ANOVA (однофакторный дисперсионный анализ) Краскела—Уоллиса (StatSoft Statistica 8.0). Результаты представлены как медиана (нижний и верхний квартили). В ходе проведения статистического анализа нулевая гипотеза отвергалась при  $p \leq 0,05$ .

Результаты исследования. Гистопатологические изменения в СМК через 1 сут после ООСА показали, что патогномичным и доминирующим маркером последствий ишемии — реперфузии является появление нейронов с ишемическим повреждением (тёмноокрашенных клеток с гиперхроматозом ядер), находящихся на разных стадиях патологического процесса (несморщенные и пикноморфные без и с гомогенизацией хроматина), которые длительно сохраняются в постишемическом периоде (рис. 1, а, б).

Содержание нормохромных нейронов (их численная плотность) через 3 сут после ООСА статистически значимо уменьшалось в слое III в 1,6–7,9 раза, а в слое V — в 2,8–3,9 раза ( $p < 0,05$ ). В отдаленном периоде (на 30-е сутки) отмечались небольшие скопления темных сморщенных нейронов. Это свидетельствует о том, что после 20-минутной ООСА большая часть гиперхромных ишемических нейронов не подвергаются необратимой деструкции и фагоцитозу, а сохраняются в течение всего периода наблюдения. Через 30 сут в слое III дефицит общей численной плотности нейронов составил 21,5%, а в слое V — 19,0%. Сохранившиеся нормохромные нейроны имели гипертрофированные тела. Вероятно, именно за счет подобных нейронов осуществляется реорганизация нейронных сетей в СМК.

По данным иммуногистохимического исследования, после ООСА белки регуляции апоптоза (p53, bcl-2) выявляются в единичных нейронах СМК. Каспаза-3 имеет высокую активность только в аксонах и синаптических терминалях, а в перикарионах не выявляется. Мы полагаем, что при 20-минутной ООСА апоптоз не имеет существенного значения для элиминации поврежденных нейронов. Каспазу-3 в данном случае целесообразно рассматривать в аспекте ее

плейотропии и участия в механизмах нейропластичности.

Исследование также показало, что локализация каспазы-3 в СМК соответствует таковой р38 — в стратегических зонах реализации механизмов синаптической пластичности (терминали аксошипиковых, аксодендритических и аксосоматических синапсов). Подобная локализация наблюдается в течение всего периода наблюдения, изменяется только плотность распределения маркера каспазы-3 и р38 между дендритами (MAP-2) (рис. 2, а–в; 3, а–г).

Математическая обработка полученных данных показала, что в постишемическом периоде происходит статистически значимое (ANOVA Краскела—Уоллиса,  $p < 0,05$ ) изменение относительной площади (ОП) отростков нейронов (MAP-2-позитивные структуры) в поле зрения. Установлено, что в молекулярном слое СМК у животных контрольной группы ОП отростков в нейропиле составляет 28,6 (24,4–32,5)%. У животных основной группы ОП сначала (1–3 сут) снижается до 21,1 (13,5–23,2)%, затем к 7-м суткам восстанавливается до уровня контроля — 25,6 (21,5–29,9)%, а в отдаленном периоде (14 и 30 сут) превышает контрольное значение — 34,8 (28,5–36,3) и 39,7 (31,4–46,2)% (критерий Манна—Уитни,  $p < 0,05$ ). Это свидетельствует о небольшом, но значимом изменении содержания белка MAP-2, связанном с цитоскелетом нейронов, в ответ на ООСА. Уменьшение содержания этого белка через 1 и 3 сут, вероятно, обусловлено деструкцией цитоскелета. Увеличение содержания MAP-2 в отдаленном периоде можно рассматривать как одно из проявлений нейропластичности — компенсаторной реорганизации отростков сохранившихся нейронов путем гипертрофии (утолщение, удлинение, разветвление).

На фоне постишемической реорганизации дендритов и аксонов в СМК происходит изменение ОП меток р38 и каспазы-3 (таблица). В остром периоде (1 и 3 сут) ОП меток р38 и каспазы-3 снижается, вероятно, в результате разрушения синаптических терминалей. Затем, на 7-е сутки этот показатель для р38 восстанавливается до контрольного уровня, а для каспазы-3 — статистически значимо превышает контрольное значение. В отдаленном периоде (14 и 30 сут) ОП каспазы-3 превышает как контрольное значение, так и ОП р38 (см. таблицу).

Обсуждение полученных данных. Таким образом, компенсаторная реорганизация отростков нейронов (MAP-2) и синапсов (р38) через 7, 14 и 30 сут после ООСА происходит на фоне высокого содержания каспазы-3 в аксонных терминалях. В норме относительная пло-

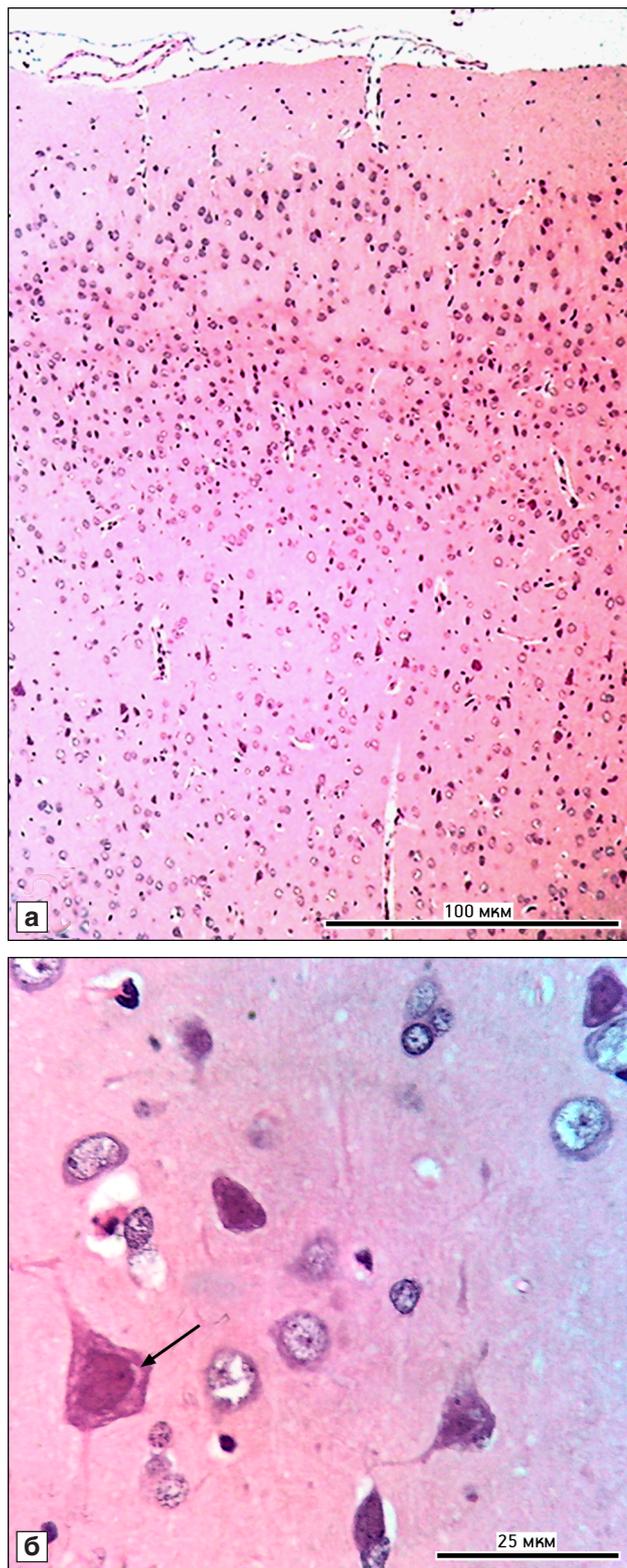


Рис. 1. Микрофотографии сенсомоторной коры головного мозга белых крыс через 1 сут после ООСА.

а — обзорное поле зрения всех слоев; б — темный нейрон (стрелка). Окраска гематоксилином — эозином. Ув.: а — 10; б — 100

щадь меток каспазы-3 в СМК статистически значимо не отличается от таковой р38.

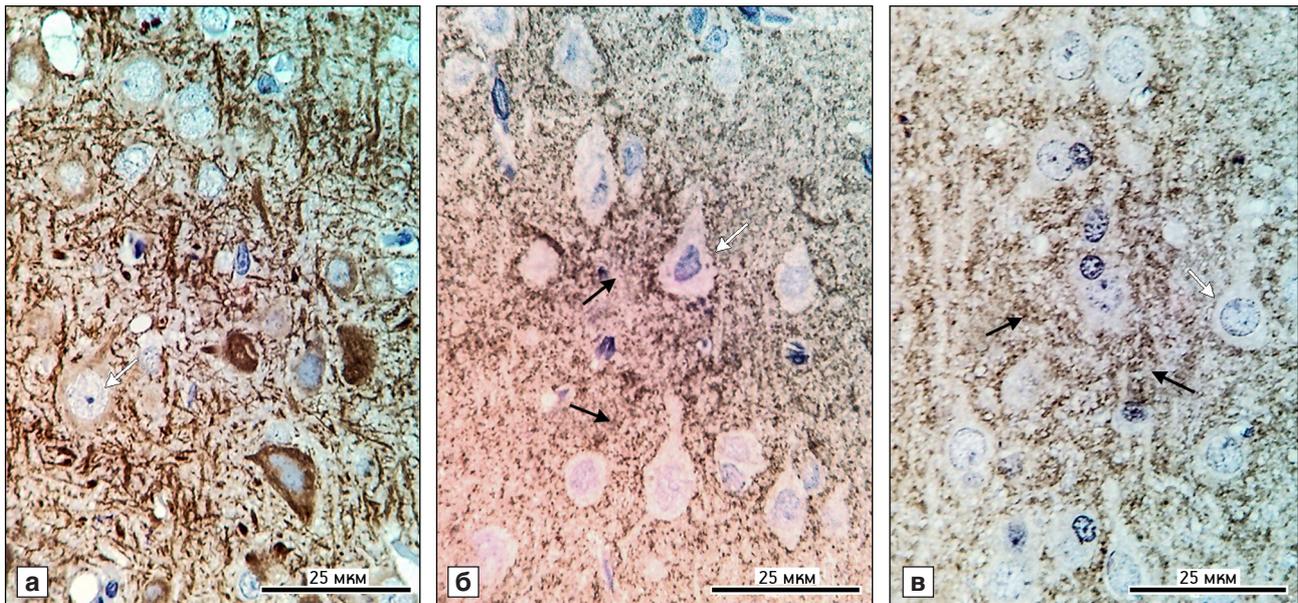


Рис. 2. Микрофотографии сенсомоторной коры головного мозга белых крыс через 1 сут после ООСА.

а — локализация MAP-2 в цитоскелете тел и отростков нейронов (слой V); б — локализация p38 в синаптических терминалях на телах нейронов (белая стрелка) и в окружающем нейропиле (черные стрелки); в — локализация каспазы-3 в синаптических терминалях на телах нейронов (белая стрелка) и в окружающем нейропиле (черные стрелки). Иммуногистохимическая реакция на MAP-2 (а), p38 (б), каспазу-3 (в) (хромоген DAB). Ув. 100

**Относительная площадь (%) меток синаптофизина и каспазы-3 в сенсомоторной коре белых крыс в норме и после окклюзии общих сонных артерий, Me (Q1—Q3)**

| Группы                  | Белки                           |   |
|-------------------------|---------------------------------|---|
|                         | Синаптофизин                    | Каспаза-3                                 |
| Ложнооперированные, n=5 | 19,1 (13,9–25,2)                | 22,8 (17,5–24,0)                          |
| 1 и 3 сут, n=10         | 11,4 (7,4–16,6) <sup>1)*</sup>  | 12,6 (10,5–15,5) <sup>1)*, 2)*</sup>      |
| 7 сут, n=5              | 18,9 (13,7–25,0) <sup>2)*</sup> | 31,1 (23,3–34,4) <sup>1)*, 2)*, 3)*</sup> |
| 14 сут, n=5             | 16,8 (11,9–22,7)                | 35,2 (26,5–37,3) <sup>1)*, 3)*</sup>      |
| 30 сут, n=5             | 21,2 (15,7–27,5)                | 30,9 (20,7–43,6) <sup>1)*, 3)*</sup>      |

<sup>1)\*</sup> Различия статистически значимы по сравнению с контролем, <sup>2)\*</sup> с предыдущим сроком и <sup>3)\*</sup> между белками при  $p \leq 0,05$  (критерий Манна—Уитни).

Использованные нами моноклональные мышьяные антитела (СРР32) выявляют активную форму caspase-3 — члена семейства аспаргат-специфических цистеиновых протеаз, одного из основных медиаторов клеточного апоптоза. Ее активация происходит на ранних стадиях апоптоза путем самопротеолиза и/или за счет воздействия других протеаз. Однако в последнее время каспаза-3 рассматривается не только как ключевой фермент конечной стадии апоптоза, но и как важный химический компонент нейропластичности [5, 7, 8]. Кроме того, локализация неапоптотической формы этой протеазы совпадает с местами максимального проявления процессов нейропластичности — аксонами и синаптическими терминалями [1, 5, 6].

Наиболее подходящей моделью острой ишемии для проверки этого положения является 20-минутная окклюзия общих сонных артерий,

после которой, как правило, возникают умеренные диффузные изменения нервной ткани без очагов некроза [2–4]. С помощью иммуногистохимии нам не удалось показать активацию белков p53 и bcl-2. Кроме того, каспаза-3 в норме и после ООСА была выявлена только в аксонах и синаптических терминалях, а в телах нейронов этот белок отсутствовал. Наличие артефактов окраски нервной ткани в нашем исследовании исключается в силу высокой специфичности меток (окраска только терминалей и аксонов). Все это свидетельствует об отсутствии иммуногистохимических проявлений апоптоза в телах нейронов. При этом в постишемическом периоде количество синаптофизина восстанавливается на фоне высокого относительно контроля содержания каспазы-3 в синаптических терминалях, т.е., по нашим данным, для нейронов СМК при использованной модели ООСА весьма вероят-

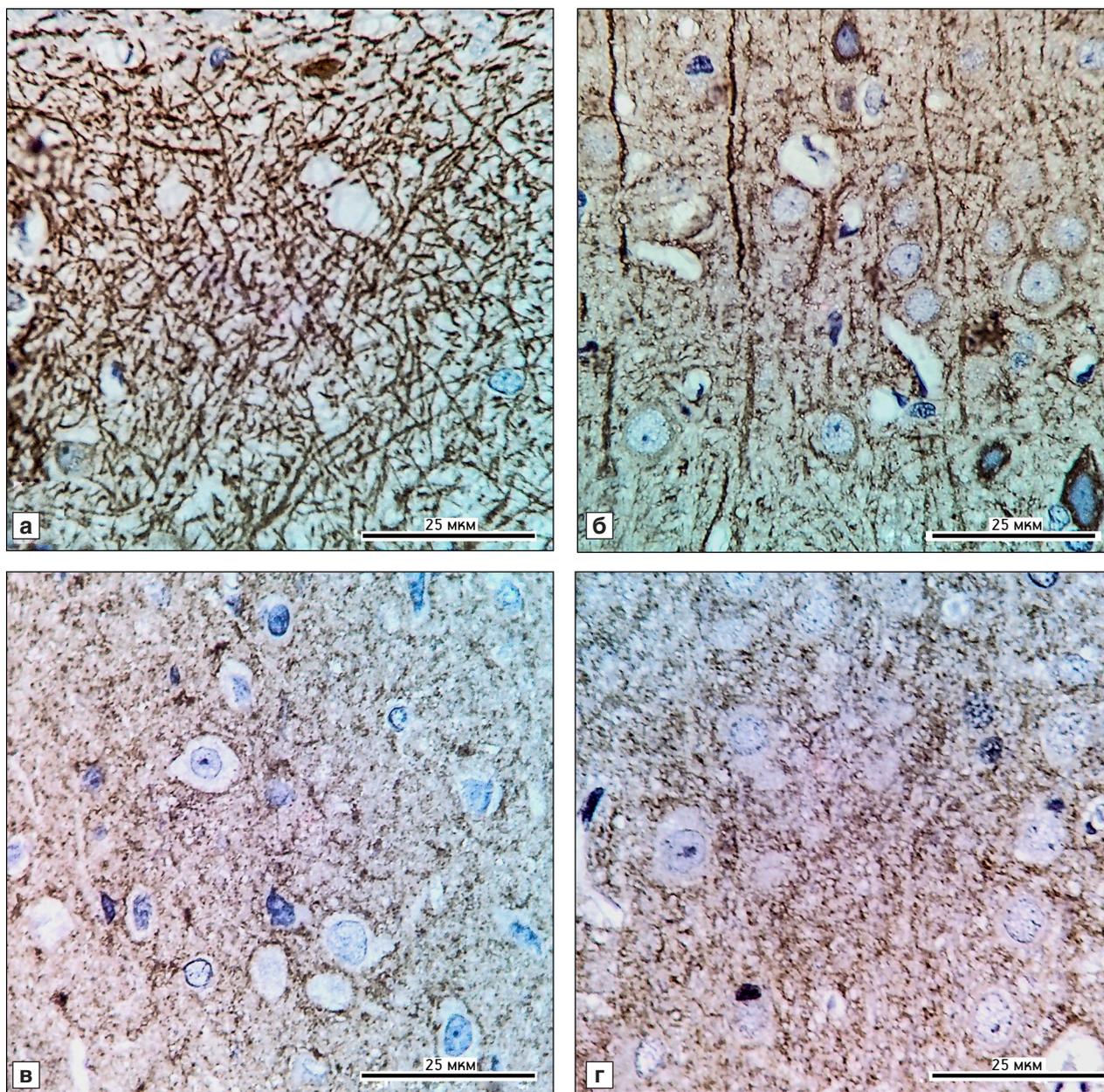


Рис. 3. Микрофотографии сенсомоторной коры головного мозга белых крыс через 30 сут после ООСА.

а — локализация MAP-2 в нейропиле молекулярного слоя; б — локализация MAP-2 в телах и дендритах нейронов слоя III; в — локализация p38 в синаптических терминалах на телах нейронов и в нейропиле; г — локализация и высокая плотность каспазы-3 в синаптических терминалах на телах нейронов и в окружающем нейропиле. Иммуногистохимическая реакция на MAP-2 (а, б), p38 (в), каспазу-3 (г) (хромоген DAB). Ув. 100

но проявление неапоптотических (плейотропных) нейропротекторных и нейропластических эффектов каспазы-3 без каких-либо признаков ее активации в перикарионе, что необходимо для завершения конечной стадии апоптоза.

**Заключение.** Многообразие функций каспазы-3 широко обсуждается [5, 6], но абсолютное подтверждение ее участия в нейропластичности требует дальнейших молекулярных исследований лигандов этого фермента.

Данная работа выполнена при поддержке Фонда содействия инновациям по программе «УМНИК» № 14 от 15.12.2017 г. и внутреннего гранта ФГБОУ

ВО «Омского государственного медицинского университета» № 574 от 24.11.2017 г.

#### Вклад авторов:

Концепция и дизайн исследования: Д. Б. А., С. С. С., А. В. Г., В. А. А., А. Ю. Ш.

Сбор и обработка материала: Д. Б. А., С. С. С., А. В. Г., В. А. А., А. Ю. Ш.

Статистическая обработка данных: Д. Б. А., С. С. С., А. В. Г., В. А. А., А. Ю. Ш.

Анализ и интерпретация данных: Д. Б. А., С. С. С., А. В. Г., В. А. А., А. Ю. Ш.

Написание текста: Д. Б. А., С. С. С., А. В. Г., В. А. А., А. Ю. Ш.

**Авторы сообщают об отсутствии в статье конфликта интересов.**

## ЛИТЕРАТУРА

1. Авдеев Д.Б., Акулинин В.А., Степанов А.С., Горбунова А.В., Степанов С.С. Плейотропные ферменты апоптоза и синаптическая пластичность гиппокампа белых крыс после окклюзии общих сонных артерий // Сибирский медицинский журнал. 2018. Т. 33, № 3. С. 102–110 [Avdeev D.B., Akulinin V.A., Stepanov A.S., Gorbunova A.V., Stepanov S.S. Pleiotropic enzymes of apoptosis and synaptic plasticity in albino rat hippocampus after occlusion of common carotid arteries // Sibirskii meditsinskii zhurnal. 2018. Vol. 33, № 3. P. 102–110. In Russ.]. doi: <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2018-33-3-102-110>
2. Наумов Н.Г., Дробленков А.В. Реактивные изменения клеток паранигрального ядра среднего мозга в условиях переднемозговой ишемии у крыс // Морфология. 2014. Т. 145, вып. 3. С. 137–138 [Naumov N.G., Droblenkov A.V. The reactive changes of the cells of mesencephalic parainfamous nucleus after prosencephalic ishemia in rats // Morphology. 2014. Vol. 145, № 3. P. 137–138. In Russ.].
3. Степанов А.С., Авдеев Д.Б., Акулинин В.А., Степанов С.С. Структурно-функциональные изменения нейронов неокортекса белых крыс после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2018. Т. 62, № 2. С. 30–38 [Stepanov A.S., Avdeev D.B., Akulinin V.A., Stepanov S.S. Structural and functional changes in neocortical neurons of white rats following a 20-minute occlusion of common carotid arteries // Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya. 2018. Vol. 62, № 2. P. 30–38. In Russ.]. doi: <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2018.02.30-38>
4. Степанов А.С., Акулинин В.А., Степанов С.С., Авдеев Д.Б., Горбунова А.В. Коммуникация нейронов поля СА3 гиппокампа головного мозга белых крыс после острой ишемии // Общая реаниматология. 2018. Т. 14, № 5. С. 38–49 [Stepanov A.S., Akulinin V.A., Stepanov S.S., Avdeev D.B., Gorbunova A.V. Neurons Communication in the Hippocampus of Field CA3 of the White Rat Brain after Acute ischemia // Obshchaya reanimatologiya. 2018. Vol. 14, № 5. P. 38–49. In Russ.]. doi: <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2018-5-38-49>
5. Яковлев А.А., Гуляева Н.В. Плейотропные функции протеиназ мозга: методические подходы к исследованию и поиск субстратов каспазы // Биохимия. 2011. Т. 76, № 10. С. 1325–1334 [Yakovlev A.A., Gulyaeva N.V. Pleiotropic functions of brain proteinases: Methodological considerations and search for caspase substrates // Biohimiya. 2011. Vol. 76, № 10. P. 1325–1334. In Russ.]. doi: <https://doi.org/10.1134/s0006297911100014>
6. Яковлев А.А., Гуляева Н.В. Прекодиционирование клеток мозга к патологическим воздействиям: вовлеченность протеаз (обзор) // Биохимия. 2015. Т. 80, № 2. С. 204–213 [Yakovlev A.A., Gulyaeva N.V. Possible role of proteases in preconditioning of brain cells to pathological conditions // Biohimiya. 2015. Vol. 80, № 2. P. 204–213. In Russ.].
7. Khalil H., Peltzer N., Walicki J. et al. Caspase 3 protects stressed organs against cell death // Mol. Cell. Biol. 2012. Vol. 32, № 22. P. 4523–4533. doi: [10.1128/mcb.00774-12](https://doi.org/10.1128/mcb.00774-12)
8. Launay S., Hermine O., Fontenay M. et al. Vital functions for lethal caspases // Oncogene. 2005. Vol. 24, № 33. P. 5137–5148. doi: [10.1038/sj.onc.1208524](https://doi.org/10.1038/sj.onc.1208524)
9. McLaughlin B., Hartnett K.A., Erhardt J.A. et al. Caspase 3 activation is essential for neuroprotection in preconditioning // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003. Vol. 100, № 2. P. 715–720. doi: [10.1073/pnas.0232966100](https://doi.org/10.1073/pnas.0232966100)
10. Muller G.J., Stadelmann C., Bastholm L. et al. Ischemia leads to apoptosis-and necrosis-like neuron death in the ischemic rat hippocampus // Brain Pathol. 2004. Vol. 14, Iss. 4. P. 415–424. doi: [10.1111/j.1750-3639.2004.tb00085.x](https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2004.tb00085.x)
11. Paxinos G., Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. 5th ed. San Diego, CA: Elsevier Academic Press, 2005. 367 p.
12. Winkelmann E.R., Charcansky A., Faccioni-Heuser M.C. et al. An ultrastructural analysis of cellular death in the CA1 field in the rat hippocampus after transient forebrain ischemia followed by 2, 4 and 10 days of reperfusion // Anat. Embryol. (Berl.) 2006. Vol. 211, Iss. 5. P. 423–434. doi: [10.1007/s00429-006-0095-z](https://doi.org/10.1007/s00429-006-0095-z)
13. Zeng Y.S., Xu Z.C. Co-existence of necrosis and apoptosis in rat hippocampus following transient forebrain ischemia // Neurosci. Res. 2000. Vol. 37, Iss. 2. P. 113–125. doi: [10.1016/s0168-0102\(00\)00107-3](https://doi.org/10.1016/s0168-0102(00)00107-3)

Поступила в редакцию 12.07.2019

Получена после доработки 25.09.2019

### IMMUNOHISTOCHEMICAL DEMONSTRATION OF APOPTOSIS AND NEUROPLASTICITY IN THE CEREBRAL CORTEX OF ALBINO RAT AFTER OCCLUSION OF THE COMMON CAROTID ARTERIES

*D. B. Avdeev, S. S. Stepanov, A. V. Gorbunova, V. A. Akulinin, A. Yu. Shoronova*

**Objective** — to study the activity of the apoptotic proteins (bcl-2, p53, caspase-3) and neuroplasticity (p38, MAP-2) of the sensorimotor cortex (SMC) of the brain of intact albino rats, and at different times after a 20-minute occlusion of common carotid arteries (CCAO).

**Material and methods.** Light microscopy (staining with hematoxylin and eosin), immunohistochemistry and morphometry were applied. Material for the study: control group (sham-operated animals, n=5), main group (animals 1, 3, 7, 14, 30 days after the CCAO, n=25).

**Results.** It was demonstrated that after CCAO, when an irreversible destruction of part of SMC neurons occurred (layer III — 21,5%, V — 19,0%), the processes (MAP-2) and synapses (p38) of the surviving neurons were reorganized. The relative labelling ratio of antibodies to p38 and caspase-3 localized in synaptic terminals was first reduced (on the 1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> day), and then restored (on the 7<sup>th</sup> day). In the dynamics of the, The most pronounced changes in caspase-3 during the postischemic period were observed after 7, 14, and 30 days, when its content exceeded the content of p38.

**Discussion.** Post-ischemic compensatory reorganization of the neuron communication system (processes, synapses) is associated with a high content of caspase-3 in axons. No manifestations of apoptosis (activation of caspase-3 in the pericaron) were detected.

**Conclusions.** Caspase-3 must be considered in terms of its pleiotropy, participation in adaptation and recovery processes — neuroplasticity.

**Key words:** acute ischemia, neocortex, caspase-3, p53, bcl-2, p38, MAP-2

Omsk State Medical University, 12 Lenina St., Omsk 644099