

УДК 611.018.84.08:616.831-005.4

DOI: 10.34215/1609-1175-2022-1-72-78

## Нейроглиальная активность в фокусе ишемического инсульта

С.Г. Калиниченко, А.В. Коробцов, Н.Ю. Матвеева, Ю.А. Матвеев

*Тихоокеанский государственный медицинский университет, г. Владивосток, Россия*

**Цель:** исследование динамики морфохимических модификаций глиальных клеток в неокортексе крыс при экспериментальном инсульте, вызванном постоянной окклюзией средней мозговой артерии. **Материал и методы.** Исследовали иммунолокализацию глиального нейротрофического фактора (GDNF), глиального кислого фибриллярного белка (GFAP), Iba-1 и S-100 в теменной коре крыс при постоянной окклюзии средней мозговой артерии. **Результаты.** Астроциты, экспрессирующие GFAP и S-100, локализуются в области пенумбры и определяют ее границы. В поздние сроки инсульта плотность астроцитов возрастает на границе с фокусом инсульта и снижается по периферии пенумбры, что ведет к смещению границ иммунореактивной перифокальной зоны и заметному ее сужению. Отмечена реверсия иммунореактивности на ранних и поздних сроках инсульта. В фокусе инсульта она характеризуется снижением экспрессии S-100 в астроцитах и появлением ее в пирамидных нейронах в 1-3 сутки ишемии. В пенумбре обнаружена противоположная тенденция к смещению локализации GDNF из нейронов в астроцитарную глию на 8-21 сутки инсульта. Iba-1-реактивная микроглия в ядре инсульта проявляет признаки активированных макрофагов: размеры клеток увеличиваются, количество и ветвление отростков редуцируются. Микроглия концентрируется в фокусе инсульта, достигая максимальных значений на 8-е сутки, и соотносится с понижением плотности астроцитов в области пенумбры. **Заключение.** Специфичность морфохимической альтерации глиальных клеток происходит в тесном взаимодействии с состоянием нейронов в очаге инсульта, указывает на границы пенумбры и связана с балансом различных протективных и нейродеструктивных процессов.

**Ключевые слова:** *фокальный ишемический инсульт, нейротрофины, астроциты, микроглия, иммуногистохимические маркеры нейроглии*

Получена в редакцию 08.12.2021. Получена после доработки 26.12.2021. Принята к печати 11.01.2022.

**Для цитирования:** Калиниченко С.Г., Коробцов А.В., Матвеева Н.Ю., Матвеев Ю.А. Нейроглиальная активность в фокусе ишемического инсульта. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2022; 1:72–78. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-72-78

**Для корреспонденции:** Калиниченко Сергей Георгиевич – д-р мед. наук, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии Тихоокеанского государственного медицинского университета (690002, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2); ORCID: 0000-0002-1434-765X; e-mail: sgkalinichenko@gmail.com

## Neuroglial activity in the focus of ischemic stroke

S.G. Kalinichenko, A.V. Korobtsov, N.Yu. Matveeva, Yu. A. Matveev

*Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia*

**Objective:** To study the dynamics of morphochemical modifications in glial cells of rat neocortex under the conditions of experimental stroke, induced by means of constant occlusion of the middle brain artery. **Methods:** We studied the immunolocalisation of glial cell-derived neurotrophic factor (GDNF), glial fibrillary acidic protein (GFAP), Iba-1 and S-100 in the rat parietal cortex during the constant occlusion of middle brain artery. **Results:** Astrocytes, expressing GFAP and S-100, are found in the penumbra area and define its borders. In the later stages of stroke, the density of astrocytes increases on the border of the stroke focus and decreases around penumbra, which leads to immunoreactive perifocal zone borders shifting and its significant narrowing. The reversion of immunoreactivity during the early and late stages of stroke was observed. The reversion was defined by decrease in S-100-expression in astrocytes and expression presence in pyramidal neurons on the 1-3 day of ischemia in the stroke focus. The reverse tendency toward localization changes of GDNF from neurons to astrocytes was detected in penumbra on 8-21 day. Iba-1-reactive microglia at the stroke's core shows the sings of activated macrophages - increase in the cells' size, reduction in quantity and branching. Iba-1-reactive microglia concentrates in the stroke focus, reaching its highest point on the 8 day and corresponds to decreasing spatial density of astrocytes in the penumbra area. **Conclusions.** Specificity of the morphochemical alteration of glial cells closely interacts with the condition of neurons in the stroke focus, points to the penumbra borders and connected with the balance of various protective and neurodestructive processes.

**Keywords:** *focal ischemic stroke, neurotrophins, astrocytes, microglia, immunohistochemical markers of neuroglia*

Received 8 December 2021; Revised 26 December 2021; Accepted 11 January 2022

**For citation:** Kalinichenko S.G., Korobtsov A.V., Matveeva N.Yu., Matveev Yu. A. Neuroglial activity in the focus of ischemic stroke. *Pacific Medical Journal*. 2022;1:72–78. doi: 10.34215/1609-1175-2022-1-72-78

**Corresponding author:** Sergey G. Kalinichenko, MD, PhD, Prof. of the Department of Histology, Embryology, and Cytology, Pacific State Medical University (2 Ostryakova Ave., Vladivostok, 690002, Russian Federation); ORCID: 0000-0002-1434-765X; e-mail: sgkalinichenko@gmail.com

Нейроглия играет решающую роль в развитии адаптивных реакций, связанных с окислительным стрессом и гипервозбудимостью, регуляцией микроциркуляторного русла и медиаторного баланса, а также

нейровоспаления, некроза и апоптоза [1, 2, 3]. Эти функции реализуются через экспрессию разнообразных сигнальных молекул и нейротрофинов. При комплексном исследовании этих факторов состояние

глиальных клеток можно рассматривать как своеобразный «маркер» повреждения ткани мозга при гипоксии и ишемии [4, 5].

Характер и сроки включения разных типов глии в ремоделирование нейрососудистого окружения зависят от масштаба повреждения и этиопатогенетического компонента инсульта. Этим обуславливается противоречивость данных о состоянии астроцитов на тромбоэмболических моделях инсульта, при вазоспазме, постоянной окклюзии сосудов или с реперфузией [1, 4, 6, 7]. Хотя астроциты и микроглия представляют гетерогенные популяции, происходящие от совершенно разных источников, их функции реализуются в весьма тесном взаимодействии. Интегративные звенья этой активности в условиях ишемии остаются невыясненными.

Цель настоящей работы состояла в исследовании динамики морфохимических модификаций глиальных клеток в неокортексе крыс при экспериментальном инсульте, вызванном постоянной окклюзией средней мозговой артерии.

---

#### Материал и методы

---

*Экспериментальные животные и моделирование инсульта.* Работа выполнена на материале 18 крыс-самцов весом 200-250 г. Условия содержания животных, а также экспериментальные условия соответствовали директиве 2010/63/EU Европейского союза 2010 года, определяющей правила научных экспериментов над животными. Эксперимент одобрен междисциплинарным комитетом по этике ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России, протокол № 4 от 03.06.2013 г. Оперативное вмешательство осуществлялось в асептических условиях под ингаляционным однокомпонентным наркозом севофлураном. Фокальный ишемический инсульт моделировали с помощью метода постоянной филаментной окклюзии средней мозговой артерии [8]. По достижении глубокого наркоза крыса фиксировалась на манипуляционном столике с подогревом в положении на спине. После обработки операционного поля антисептиком на передней стороне шеи по средней линии производился разрез кожи длиной 1,5 см, выделялась левая общая сонная артерия (ОСА) и ее бифуркация на внутреннюю (ВСА) и наружную (НСА) сонные артерии, соответственно. Затем выполнялась перевязка ОСА и НСА. Крыло-небная артерия, как коллатераль ВСА, и коллатерали НСА – затылочная и верхняя щитовидная артерии – коагулировались. Через прокол ОСА в ее просвет вводился окклюдер – полиамидная нить (филамент), который надежно заполнял весь поперечник сосуда. Окклюдер проводился интраваскулярно в собственно ВСА на глубину около 1,5-2,0 см. Нить оставалась в просвете артерии и фиксировалась перевязкой ВСА. После чего рана ушивалась. Время операции составляло 40-60 мин. Описанные манипуляции полностью исключают ретроградный и коллатеральный кровоток в ВСА, дают возможность контролировать зону распространения

инсульта в бассейне средней мозговой артерии [8]. Животных выводили из эксперимента через 1, 3, 8, 14 и 21 сутки после операции. На каждом сроке исследовали по 3 крысы. Контролем служили интактные животные (n=3). Для анестезии использовали внутривентральное введение 3% раствора тиопентала натрия, после чего животных декапитировали (приложение 4 к Приказу № 755 МЗ СССР).

Анатомические координаты области инфаркта мозга определяли с помощью окрашивания в растворе 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида (ТТХ). Мозг извлекали на стекло, помещали в холодный физиологический раствор на 10 мин при 4°C и затем разрезали во фронтальной плоскости на ломтики толщиной 2-3 мм. Последние погружали в 2%-й раствор ТТХ и выдерживали в течение 30 мин в темноте при 37°C.

*Иммуноцитохимическое исследование.* Материал головного мозга фиксировали в 4% параформальдегиде на фосфатном буфере в течение 24 часов, после чего промывали 0,1 М Na-фосфатном буфере (pH 7,2) с 6-7 кратной сменой раствора и заливали в парафин по общепринятой методике. Срезы толщиной 15 мкм монтировали на предметные стекла, депарафинировали и инкубировали в 3%-м растворе перекиси водорода для блокирования эндогенных пероксидаз в течение 15 мин. После трех промывок 0,1 М Na-фосфатном буфером (pH 7,2), срезы обрабатывали в течение 1 часа в 2%-м растворе бычьего сывороточного альбумина и 0,25%-го Тритона X-100. Затем инкубировали с первичными антителами (АТ). Для этой цели использовали кроличьи поликлональные АТ против GDNF (Abcam, Великобритания) в разведении 5 мг/мл, моноклональные мышинные S-100-β (Abcam, Великобритания) в разведении 1:200, поликлональные АТ козы Iba-1 (Abcam, Великобритания) в разведении 4 мг/мл и кроличьи поликлональные АТ против GFAP (Vector Laboratories G 805, США) в разведении 1:100. Первичные АТ разводили в фосфатном буфере, содержащем Тритон X-100 и бычий сывороточный альбумин, и инкубировали в течение 24 часов при температуре 4°C. После 3-кратной промывки фосфатным буфером срезы в течение 1 ч инкубировали в растворе биотинилированных вторичных антител против иммуноглобулина кролика и мыши, соответственно, первичным АТ, в разведении по инструкциям фирмы-производителя (Vector Laboratories, США). После отмывки вторичных антител препараты инкубировали в растворе стандартного АВС-комплекса (Vectastain Elite ABC kit, Vector Laboratories, США) в течение 30 мин. Затем срезы обрабатывали хромогеном (NovaRED substrat kit (SK-4800), SG substrat kit (SK-4700), Vector Laboratories, США) на 0,1 М Na-фосфатном буфере (pH 7,2) в течение 5 мин. После чего срезы промывали в буфере, обезвоживали и заключали в балзам по обычным правилам. В качестве контроля из среды исключали первичные антитела, окрашивание клеток отсутствовало. Часть срезов окрашивали толуидиновым синим по методу Ниссля.

Препараты просматривали в световом микроскопе AxioScope A1 (Carl Zeiss, Германия) и фотографировали при помощи цифровой камеры AxioCam ICc3. Морфометрическую обработку полученных фотографий проводили при помощи пакета программ AxioVision 4.8.1. Относительную плотность глиальных клеток вычисляли на участках коры площадью  $0,3 \text{ мм}^2$  с учетом поправки на толщину среза и диаметр ядра. В отдельных случаях определяли долю позитивно окрашенных нейронов. Для этого с помощью окуляр-морфометрической сетки подсчитывали абсолютное количество иммунореактивных клеток на участках коры площадью  $0,29 \text{ мм}^2$  в 20-25 полях зрения и высчитывали их долю от среднего числа клеток, окрашенных в сходных областях по методу Ниссля. Данные

обрабатывали методом вариационной статистики с определением  $t$ -критерия достоверности по Стьюденту ( $p < 0,05$ ).

#### Результаты исследования

При обработке мозга с помощью ТТХ зона ишемического инсульта проявляется в левом полушарии как неокрашенный участок теменной коры (3,5-4 мм кпереди от брегмы) и внутренней капсулы величиной  $0,3 \times 0,5 \times 0,8 \text{ см}$ . На срезах мозга обнаруживается неравномерная реакция глиоцитов в фокусе инсульта и окружающей пенумбре, а исследованные маркеры демонстрируют существенную вариабельность на разных сроках ишемии (рис. 1 а, б).

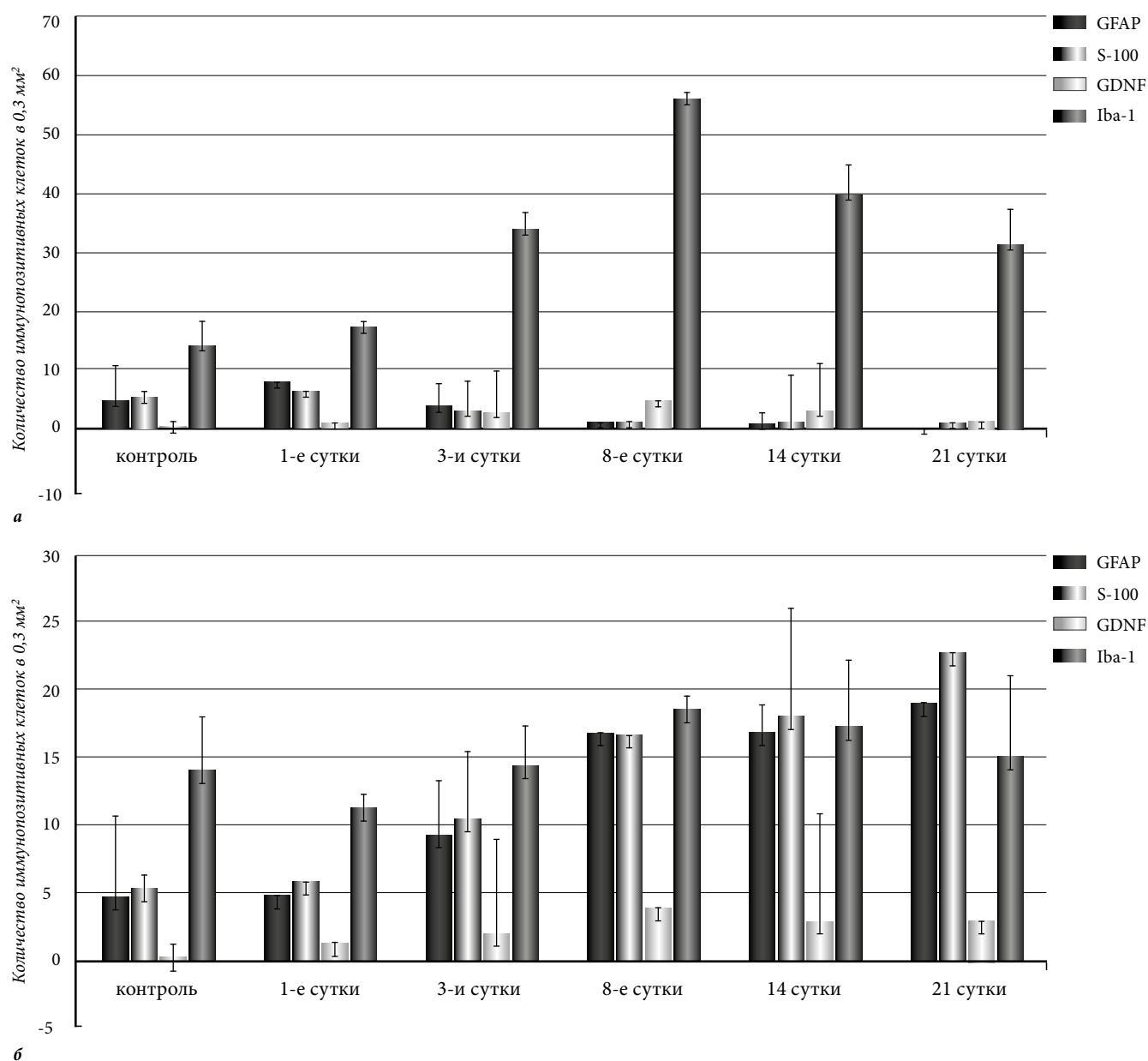


Рис. 1. Пространственная плотность GFAP-, S-100-, GDNF- и Iba-1- иммунореактивных глиальных клеток в  $0,3 \text{ мм}^2$  теменной коры крыс при филаментной окклюзии средней мозговой артерии.

а - ядро инсульта, б - ишемическая пенумбра.

У контрольных животных GFAP локализуется повсеместно в астроцитах всех слоев коры. Иммунореактивные клетки располагаются дискретно и диффузно в нейропиле, или в виде небольших скоплений. Во всех случаях хорошо окрашиваются отростки клеток, оплетающие стенки микрососудов. Распределение GFAP меняется уже в первые сутки ишемии, когда в фокусе инсульта увеличивается количество иммунореактивных астроцитов (рис. 1 а). В дальнейшем количество GFAP-позитивных клеток здесь падает до нуля, но постепенно нарастает в перифокальной зоне. На 8-21 сутки она включает множество астроцитов с высоким содержанием GFAP, окружающих очаг инсульта со всех сторон (рис. 2 а). Ширина GFAP-иммунореактивной пенумбры достигает 500-800 мкм в латеральных направлениях, сверху она занимает слои I/II, а снизу совпадает с положением подкоркового белого вещества (рис. 2 б). На 21 сутки обнаруживается перераспределение реактивных астроцитов: их плотность возрастает на границе с фокусом инсульта и снижается по периферии пенумбры (рис. 1 а, б). Описанные изменения ведут к смещению границ иммунореактивной перифокальной зоны и заметному ее сужению в поздний ишемический период.

Распределение S-100-позитивных астроцитов в норме и на всех сроках ишемии в основном повторяет характеристический паттерн локализации GFAP (рис. 2 в). На 3 и 8 сутки в ядре инсульта, где практически не выявляется S-100-реактивной глии (рис. 1 а), окрашивается субпопуляция пирамидных нейронов (рис. 2 г). Эти последние формируют скопления в слоях III и V и никогда не наблюдаются в области пенумбры. Относительное количество S-100-позитивных пирамидных клеток составляет  $37,3 \pm 3,9\%$  на 1 сутки,  $22,2 \pm 1,2\%$  на 3 сутки и  $16,3 \pm 2,3\%$  на 8 сутки эксперимента. Позднее они не маркируются.

Высокую степень неоднородности демонстрирует топография GDNF (рис. 2 д, е). У контрольных животных маркер локализуется в нейронах слоев II/III и V/VI и очень незначительно – в глии. Если в контроле GDNF-позитивные нейроны составляют  $52 \pm 4,5\%$ , то в первые сутки инсульта их  $29 \pm 2,1\%$ , на 8 сутки –  $13,8 \pm 0,6\%$ , а на 21 сутки лишь  $3,1 \pm 0,2\%$ . Динамика экспрессии GDNF в астроцитах показывает обратную зависимость (рис. 1 а, б). Максимум GDNF-иммунореактивной глии наблюдается в ядре инсульта и перифокальной пенумбре в конце первой недели от индукции ишемии.

Iba-1, как избирательный маркер микроглии, окрашивает ее по всей коре и в подкорковом белом веществе, где в норме она локализуется диффузно без какого-либо регулярного порядка. Типичный Iba-1-позитивный микроглиоцит имеет сому диаметром 7-10 мкм, от которой радиально отходят несколько тонких, шиповидных, маловетвящихся отростков длиной до 40 мкм. Развитие инсульта радикально меняет форму клеток и их положение в коре. Их плотность резко возрастает в фокусе ишемии уже на 3-и сутки

и достигает максимума на 8-е сутки (рис. 1 а). В этот период ядро инсульта окрашивается как сплошная иммунореактивная зона, четко отграниченная от пенумбры. В самой пенумбре численность микроглии мало отличается от контрольных значений. На каждом сроке ишемии активированные микроглиоциты имеют характерную рамификацию. Вначале тела клеток увеличиваются в размерах, отростки их утолщаются и утрачивают часть коллатералей, покрываясь на всем протяжении варикозными утолщениями. На третьи сутки отростки приобретают вид пеньков и коротких вздутий на поверхности разбухшего тела, а затем исчезают (рис. 2 ж, з). В фокусе инсульта на 8-21-е сутки микроглия состоит исключительно из популяции безотросчатых округлых или овальных клеток.

---

#### Обсуждение полученных данных

---

В настоящей работе представлена количественная и морфохимическая характеристика глиоцитов, указывающая на различные способы их участия в развитии фокальной ишемии новой коры. Используемая нами модель редуцированного кровотока соотносится с гемодинамическими изменениями при инсульте у человека [8]. Специфика глиальной реактивности на разных этапах инсульта кардинально меняется и зависит от комплексной перестройки ткани мозга в пенумбре и ядре ишемии.

Индукция основных глиальных белков всегда сопровождает альтерацию нейронов при ишемии, невровоспалении и гипервозбудимости [1, 5, 9]. В одних случаях это явление вызывает цитопротективные эффекты, в других – обращает их на противоположные. Смещение этого молекулярного «реостата» при инсульте, прежде всего сказывается на состоянии нейронов пенумбры – главной мишени протективного воздействия. Однако определение границ пенумбры остается дискуссионным вопросом, особенно при микроскопии ишемизированного мозга. Наши данные по стратификации GFAP позволяют рассматривать его как полезный инструмент в решении этого вопроса. Внутри фокуса инсульта астроциты с повышенной экспрессией GFAP быстро исчезают, но постоянно окружают его в течение всего ишемического периода. При этом GFAP-позитивные астроциты часто группируются в I слое и подкорковом белом веществе, указывая на избирательную локализацию ядра ишемии с преимущественным поражением клеток глубоких слоев коры.

Представления о сложных нейроглиососудистых контактах в последнее время существенно дополнились данными об участии глии в генерации потенциалов действия и синаптической пластичности, а способность астроцитов синтезировать нейротрофины, газотрансмиттеры, рецепторы медиаторов позволяет рассматривать их в качестве равноправного партнера нейронов в информационных процессах мозга [10, 11].

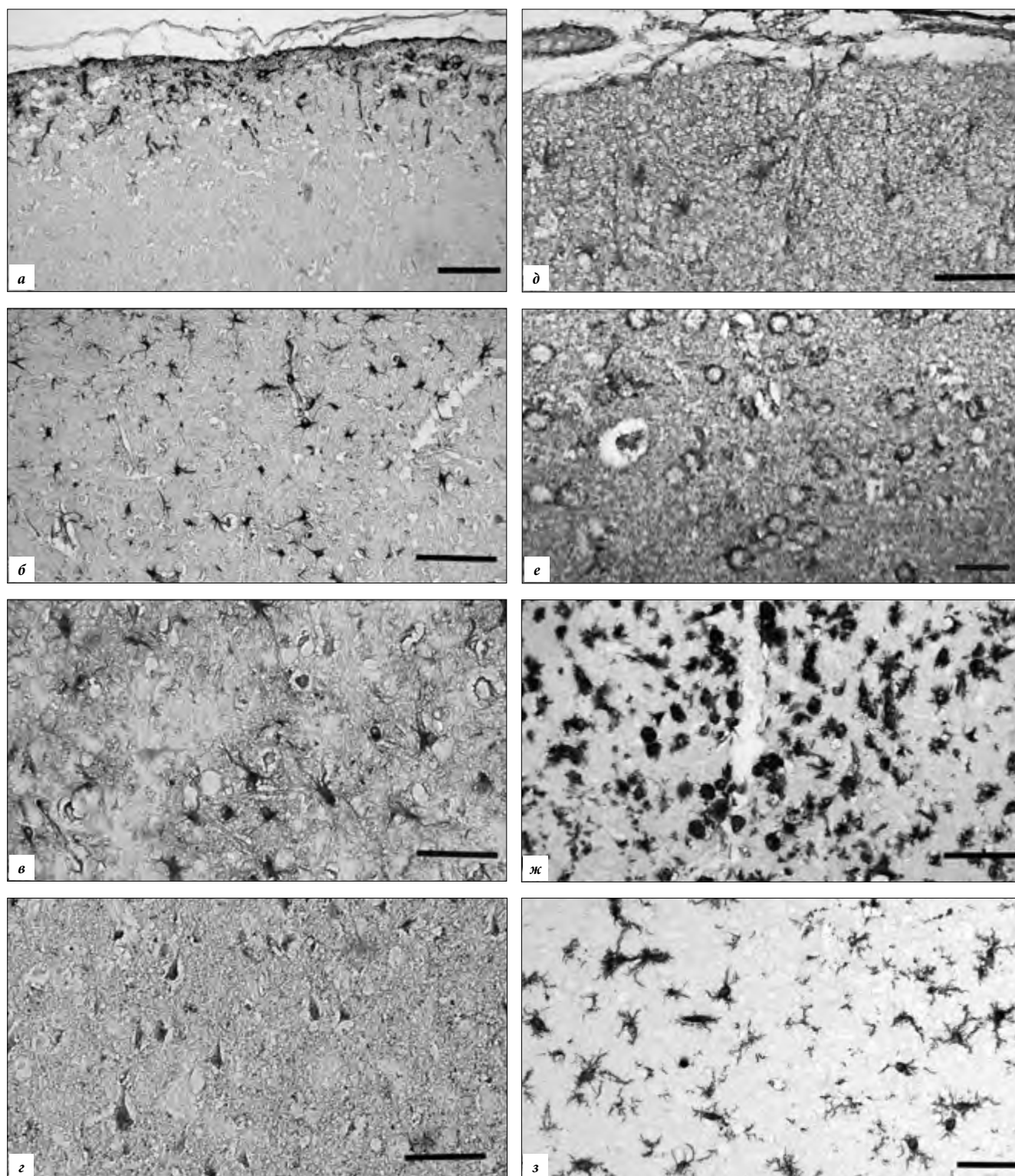


Рис. 2. Топография глиальных маркеров в теменной коре мозга крысы на третьи сутки острого инсульта, вызванного постоянной окклюзией средней мозговой артерии.

*а* – гиперэкспрессия GFAP в астроцитах I слоя ядра ишемии. *б* – GFAP-иммунореактивные астроциты в области пенумбры. *в* – локализация S-100 в астроцитах пенумбры. *г* – S-100-иммунореактивные пирамидные клетки V слоя в фокусе инсульта. *д* – GDNF-иммунореактивные астроциты пенумбры, *е* – экспрессия GDNF в нейронах II слоя пенумбры. *ж* – Iba-1 в активированной микроглии ядра инсульта. *з* – Iba-1-иммунореактивная микроглия области пенумбры. Масштаб: *а-г* – 100 мкм; *д-з* – 50 мкм.

Данные настоящего исследования указывают на тесные метаболические отношения астроцитов и нейронов, адаптирующие их к условиям ишемии. Установленное

нами постепенное смещение GDNF-иммунореактивности из нейронального в глиальный компартмент пенумбры следует рассматривать как проявление

протективных свойств нейротрофина. Способность астроцитов аккумулировать высокие уровни GDNF показана на различных моделях ишемического инсульта [12]. Механизмы подобных взаимосвязей остаются неясны. Однако известно, что индукцию экспрессии GDNF в астроцитах опосредуют аденозиновые A<sub>2A</sub>-рецепторы [1]. Можно полагать, что аноксия быстро истощает нейронный пул АТФ, вызывает нарастание уровня аденозина в нейропиле и вторичное накопление GDNF в астроцитарной глии.

В самом фокусе инсульта мы наблюдали обратный процесс – появление иммунореактивного S-100 в пирамидных нейронах и исчезновение его в астроцитах. Эти процессы происходят в первую неделю после окклюзии сосуда и, видимо, являются следствием постишемической распространяющейся деполяризации. S-100 – кальций-связывающий протеин, вовлекается в утилизацию избытка Ca<sup>2+</sup>, который неизбежно возникает при развитии эксайтотоксичности [5]. Индукция экспрессии S-100 здесь выступает как адаптивный фактор, предохраняющий нейроны от перевозбуждения и гибели. Подобный феномен описан относительно индуцибельной NO-синтазы, которая вырабатывается в активированных астроцитах при эпилептогенезе и пирамидных нейронах в фокусе ишемического инсульта [13]. Не исключен и другой вариант, при котором S-100 поступает в пирамидные клетки путем транслокации белка из цитоплазмы глиоцитов. Ранее было показано, что в условиях ишемии астроциты могут транспортировать функционирующие митохондрии и цитопротекторы непосредственно в нейроны по Ca<sup>2+</sup>-зависимому механизму [14].

Повышение астроцитарной реактивности не всегда носит протективный характер. При интенсивном окислительном стрессе астроциты вступают в молекулярные ассоциации с микроглией и становятся мишенью провоспалительных цитокинов [2]. В этой ситуации астроциты способны усиливать отек и вазоспазм, а также выделять цитотоксические и апоптотические факторы [4]. Видимо, все микроглиоциты окрашиваются на Iba-1 [15]. Они постепенно заполняют фокус инсульта и с 8-х суток составляют превалирующую популяцию. Микроглиоциты закономерно теряют отростки, накапливают высокое содержание Iba-1, что, в целом, подчеркивает их возросшую подвижность и фагоцитарную активность [13].

Мы не можем достоверно утверждать наличие тесных взаимосвязей астроцитов и микроглии в наших экспериментах. Однако сопоставление топографии и плотности GFAP-, S-100 и Iba-1-иммунореактивных клеток показывает смещение их к границам фокуса инсульта и сужение площади пенумбры. Поскольку фокальный инсульт при постоянной окклюзии питающих сосудов сопровождается длительным окислительным стрессом, это явление возникает как результат истощения протективных механизмов в позднем периоде ишемии.

#### Заключение

Проведенное цитохимическое исследование состояния глиальных клеток показало их неоднородное участие в реорганизации зоны ишемического инсульта и позволило установить коррелятивную связь между пространственной плотностью активированных астроцитов и ареалом границ ишемической пенумбры. Активированная популяция Iba-1-реактивных микроглиоцитов соотносится с понижением плотности астроцитов. Выявленные особенности распределения GDNF- и GFAP-реактивной глии обосновывают ее роль в протективных механизмах коры и дают основания для определения границ ишемической пенумбры при их микроскопической диагностике.

**Конфликт интересов:** авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования:** научное исследование выполнено при финансовой поддержке грантов ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России.

#### Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования – КСГ.

Сбор и обработка материала – КСГ, КАВ, МНЮ, МЮА.

Статистическая обработка данных – МНЮ.

Анализ и интерпретация данных – КСГ, КАВ, МНЮ.

Написание и редактирование текста – КСГ.

#### Литература/Reference

1. Yamagata K, Hakata K, Maeda A, Mochizuki C, Matsufuji H, Chino M, Yamori Y. Adenosine induces expression of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in primary rat astrocytes. *Neurosci Res.* 2007;59:467–74. doi: 10.1016/j.neures.2007.08.016
2. Liddelow SA, Guttenplan KA, Clarke LE, Bennett FC, Bohlen CJ, Schirmer L, Bennett ML, Münch AE, Chung WS, Peterson TC, Wilton DK, Frouin A, Napier BA, Panicker N, Kumar M, Buckwalter MS, Rowitch DH, Dawson VL, Dawson TM, Stevens B, Barres BA. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature.* 2017;541:481–7. doi: 10.1038/nature21029
3. Калиниченко С.Г., Матвеева Н.Ю., Коробцов А.В. Нейротрофический фактор мозга (BDNF) как регулятор апоптоза в условиях фокального экспериментального инсульта. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2020;169(5):634–9. [Kalinichenko SG, Matveeva NY, Korobtsov AV. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) as a regulator of apoptosis under conditions of focal experimental stroke. *Bulletin of experimental biology and medicine.* 2020;169(5):701–6 (In Russ).]
4. Bhatia TN, Pant DB, Eckhoff EA, Gongaware RN, Do T, Hutchinson DF, Gleixner AM, Leak RK. Astrocytes do not forfeit their neuroprotective roles after surviving intense oxidative stress. *Frontiers in Molecular Neuroscience.* 2019;12(87):1–12. doi: 10.3389/fnmol.2019.00087
5. Michetti F, D'Ambrosi N, Toesca A, Puglisi MA, Serrano A, Marchese E, Corvino V, Geloso MC. The S100B story: from biomarker to active factor in neural injury. *J. Neurochem.* 2019;148:168–87. doi: 10.1111/jnc.14574
6. Choudhury GR, Ding S. Reactive astrocytes and therapeutic potential in focal ischemic stroke. *Neurobiol. Dis.* 2016;85:234–44. doi: 10.1016/j.nbd.2015.05.003

7. Fluri F, Schuhmann MK, Kleinschnitz C. Animal models of ischemic stroke and their application in clinical research. *Drug Des. Devel. Ther.* 2015;9: 3445–54. doi: 10.2147/DDDT.S56071.
8. Коробцов А.В., Калиниченко С.Г. Экспериментальные стратегии исследования ишемического инсульта. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2017;117(12-2):38-44. [Korobtsov AV, Kalinichenko SG. The experimental strategies in the study of ischemic stroke. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry.* 2017;117(12-2):38-44 (In Russ).] doi: 10.17116/jnevro201711712238-44
9. Коробцов А.В., Калиниченко С.Г., Матвеева Н.Ю. Характеристика нейротрофинов и их локализация в неокортексе крыс при острой экспериментальной ишемии. *Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание.* 2018;12(4):235-41. [Korobtsov AV, Kalinichenko SG, Matveeva NYu. Characterization of neurotrophins and their localization in the neocortex of rats with acute experimental ischemia. *Journal of new medical technologies.* 2018;12(4):235-41. doi: 10.24411/2075-4094-2018-16130
10. Калиниченко С.Г., Матвеева Н.Ю., Мотавкин П.А. Морфофункциональная характеристика нейровазальных связей коры мозжечка. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2015;1:26-9. [Kalinichenko SG, Matveeva NYu, Motavkin PA. Morpho-functional characteristic of neurovazal connections of the cerebellar cortex. *Pacific medical journal.* 2015;1:26-9 (In Russ).]
11. Ma Zh, Stork T, Bergles D, Freeman M. Neuromodulators signal through astrocytes to alter neural circuit activity and behavior. *Nature.* 2016;539:428–32. doi: 10.1038/nature20145
12. Duarte EP, Curcio M, Canzoniero LM, Duarte CB. Neuroprotection by GDNF in the ischemic brain. *Growth Factors.* 2012;30:242-57. doi: 10.3109/08977194.2012.691478
13. Zhou P, Iadecola C iNOS and COX2 in Ischemic Stroke. In: *Lajtha A., Chan P.H. (eds) Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology.* Springer, Boston, MA, 2007;33-45.
14. Hayakawa K, Esposito E, Wang X, Terasaki Y, Liu Y, Xing C, Ji X, Lo EH. Transfer of mitochondria from astrocytes to neurons after stroke. *Nature.* 2016;535(7613):551-5. doi: 10.1038/nature18928.
15. Коржевский Д.Э., Кирик О.В. Микроглия головного мозга и микроглиальные маркеры. *Морфология.* 2015;147(3):37-44. [Korzhevskiy DE, Kirik OV. Cerebral microglia and microglial markers. *Morphology.* 2015;147(3):37-44 (In Russ).]