СТАРЕНИЕ И ИШЕМИЯ НЕЙРОНОВ

^{3,4}Рева И.В., ^{2,3}Рева Г.В., ^{3,4}Ямамото Т., ²Гульков А.Н., ^{2,3}Даниленко М.В.,
³Вершинина С.С., ³Шмелёв М.Е., ³Тясто В.А., ³Овчинникова Е.В., ³Балдаев С.Н.

¹Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, e-mail: avers2@yandex.ru;

²Инженерная школа Дальневосточного федерального университета, Владивосток;

³Школа биомедицины Дальневосточного федерального университета, Владивосток, Россия, RevaGal@yandex.ru;

⁴Международный медицинский научно-образовательный центр, Ниигата, Япония

В работе представлен сравнительный анализ содержания иммунцитов в слизистой оболочке стоматологических больных при миеломе и в её отсутствие. В основе механизмов остеонекроза челюстей авторы признают локальные изменения мезенхимально-эпителиальных взаимодействий, ведущих к индуцированным нарушениям в системе специализированных и камбиальных клеток, а также изменениям в системе локального контроля эффекторными иммунocyтами барьерных свойств эпителиальных пластинок слизистых оболочек и локальным нарушениям репаративной регенерации эпителия и подлежащих тканей, включая костную ткань челюстей. Авторы предполагают, что местные повреждения камбиальных клеток слизистой оболочки полости рта и изменения количества иммунocyтов ещё до первых клинических и даже опережающих морфологических признаков остеонекроза челюстей у человека, вызывают начало генерализованного процесса нарушения в системе регуляции дифференцировки и специализации стволовых клеток костной ткани челюстей. Репаративная регенерация прекращается, с последующим нарушением специализированных опорных и защитных функций барьерных тканей. Миграция стволовых клеток крови в зону альтерации ведёт к развитию вторичного иммунодефицита у миеломных больных, характерного для онкобольных с опухолями любой локализации.

Ключевые слова: ишемия, инсульт, мозг, нейрон, трансферрин, липофусцин, старение, апоптоз, нейроглия, гипоталамус, гематоэнцефалический барьер, ангиогенез.

AGING AND ISHEMIA NEURONS

^{3,4}Reva I.V., ^{2,3}Reva G.V., ^{3,4}Yamamoto T., ²Gulkov A.N., ^{2,3}Danilenko M.V.,
³Vershinina S.S., ³Schmelev M.E., ³Tyasto V.A., ³Ovchinnikova E.V., ³Baldaev S.N.

¹Far Eastern federal university, Vladivostok, Russia, e-mail: avers2@yandex.ru

²Engineering school Far Eastern federal university, Vladivostok, Russia;

³Biomedicine school Far Eastern federal university, Vladivostok, Russia, e-mail: RevaGal@yandex.ru;

⁴International medical research center, Niigata, Japan

This paper presents a comparative analysis of the content of immune cells in the lining of dental patients in multiple myeloma and in her absence. The mechanism of osteonecrosis of the jaw authors recognize local changes in mesenchymal-epithelial interactions leading to induced disturbances in the system of specialized and cambium cells, as well as changes in the system of local control effector immune cells barrier properties of epithelial plates mucous membranes and local violations of reparative regeneration of the epithelium and underlying tissues, including jawbone. The authors suggest that local damage cambium cells of the oral mucosa, and changes in the number of immune cells before the first clinical and morphological characters, even ahead of osteonecrosis of the jaw in humans, cause the beginning of a generalized process violations in the system of regulation of differentiation and specialization of stem cells jaw bone. Reparative regeneration is terminated, followed by violation of the specialized support and protection functions of the barrier tissue. The migration of blood stem cells in the zone of alteration leads to the development of secondary immunodeficiency myeloma patients have characteristic of cancer patients with tumors of any localization.

Keywords: ischemia, stroke, brain, neuron, transferrin, lipofuscin, aging, apoptosis, neuroglia, the hypothalamus, the blood-brain barrier, angiogenesis.

Актуальность проблемы. Инсульт и инфаркт на современном этапе являются одними из наиболее распространённых причин смерти, а у людей старше 60 лет преобладающими [63]. Острый инсульт в последующем может осложниться патологией

сердца, а сердечная недостаточность или инфаркт миокарда усугубляет старение мозга [47]. При обширных инфарктах мозга вопросы прогнозирования исходов являются сложными, по-прежнему перед невропатологами стоит задача поиска предупреждения этой патологии. Несмотря на многочисленные исследования патогенеза повреждения нервной ткани мозга, ни одно из них не соответствует патогенетическим запросам в полной мере для полноценной профилактики повреждения сосудов и нервной ткани головного мозга. На фоне многочисленных экспериментов на животных [15; 23; 26; 45; 49; 59; 64] особую актуальность приобретают исследования, выполняемые на материале человека, так как существуют серьёзные ограничения при использовании моделей патологии на экспериментальных животных в условиях отсутствия интеграции в существующих схемах [4; 40]. Согласно данным ВОЗ, ведущими причинами смерти в Российской Федерации являются инсульт (14,6%) и ишемическая болезнь сердца (13,4%), кроме того, 2,1% смертей составляет комбинация этих патологий. В отношении артериальной гипертензии (АГ) Росстат приводит данные, из которых следует, что повышенные цифры артериального давления (АД) имеют место у 30 миллионов наших соотечественников, что составляет 21% от общего населения страны. При этом официальная статистика учитывает только показатель обращаемости или результаты диспансеризации населения. К сожалению, на практике дела обстоят значительно хуже. На сегодня неизвестно, существует ли связь между гипертензией и частотой развития кардиоваскулярных катастроф, от которых погибает так много людей [32; 53].

Наличие незначительных исследований на материале человека [40], отсутствие системного анализа как в возрастном аспекте, так и при патологии сердца, неизбежное необратимое прогрессирование возрастной и ишемической гибели нейронов оставляют проблему роли нарушений метаболизма нейронов и глии в условиях физиологической регенерации и при инсультах открытой, что диктует продолжение работ в этом направлении [30]. Имеющиеся сведения о том, что зоны генерации стволовых нейронов находятся в субвентрикулярных зонах, их возможная роль в купировании болезни Альцгеймера свидетельствуют о важности морфологических исследований в областях, удалённых от зон острой ишемии [54]. Современные данные о неоднозначной роли пигментных включений в метаболизме нервных клеток и отсутствие исчерпывающих доказательств их участия в физиологической и репаративной регенерации нейронов мозга диктуют необходимость проведения исследований именно морфологического характера [65].

Целью нашего исследования является изучение процессов старения нейронов паравентрикулярной зоны III желудочка головного мозга человека в норме и при ишемии.

Задачи исследования

1. Изучить особенности нейронов паравентрикулярной зоны III желудочка головного мозга человека в возрастном аспекте.
2. Провести анализ причин гибели нейронов паравентрикулярной зоны гипоталамуса человека в норме и при ишемии.

Материал и методы. В работе использован материал 144 пациентов в возрасте от 45 до 80 лет. Группу контроля составили 33 погибших от травм, несовместимых с жизнью, в возрасте от 10 до 80 лет. Исследование было проведено с учётом положений Хельсинкской декларации (2000) и с разрешением этического комитета ФГАОУ ВПО «Дальневосточный федеральный университет». Биоптаты мозга человека были получены в соответствии с приказом Минздравмедпрома РФ от 29.04.94 N 82 «О порядке проведения патологоанатомических вскрытий». Для установления особенностей старения нейронов паравентрикулярной зоны III желудочка были изучены биоптаты в различных возрастных группах. Распределение материала по возрастным группам, полу и патологии представлено в таблицах 1, 2.

Таблица 1

Распределение материала по возрастным группам

№ группы	Возрастные группы								
	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Возраст	10-12 лет	13-16 лет	17-21 лет	22-35 лет	36-55 лет	56-65 лет	66-75 лет	76-80 лет	>80 лет
Контроль	3	3	3	4	5	4	3	3	5
Количество материала					15	56	31	37	5
ИТОГО	144+33=177								

Таблица 2

Распределение материала по полу и патологии

№	Инсульт		Инфаркт/инсульт	
1	Женщины	Мужчины	Женщины	Мужчины
2	52	23	45	24
3	75		69	
Группа контроля				
Женщины		Мужчины		
9			24	

Всего от 177 пациентов было получено и проанализировано 199 биоптатов паравентрикулярной зоны гипоталамуса.

Анализ результатов проведён с помощью микроскопа Olympus BX51, иллюстрации получены с помощью цифровой камеры PDx25, статистическая обработка материала произведена с помощью фирменных компьютерных программ фирмы Olympus.

Результаты и их обсуждение

В наших исследованиях нейроны паравентрикулярной зоны III желудочка имеют крупные размеры, достигая 100–120 мкм. Ядра нейронов имеют круглую форму с эу- и гетерохроматином, либо равномерно распределённым в кариоплазме, либо расположенным в виде кольца по периферии. Возрастные изменения нервной ткани характеризуются гибелью части нейронов с замещением на пролиферирующую нейроглию. При этом в нервной ткани идентифицируются нейроглиальные клетки с гипер- и гипохромными ядрами и хромофобной цитоплазмой, что, по нашему мнению, соответствует молодой астроцитарной нейроглии (рис. 1 а, б). У части нейронов имеется светлоокрашенное неравномерное перинуклеарное пространство, которое может свидетельствовать о вступлении нейрона в апоптоз. Мелкоклеточная глия равномерно распределяется вокруг нейронов (рис. 1 а-е).

а

б

в

г

д

е

жс

з

Рис. 1. Нейроны паравентрикулярной зоны III желудочка. Окраска: а-е) г/э; жс, з) гематоксилином. Микрофото. Ув.х1000: а – эу- и гетерохроматин в ядре распределён неравномерно, по периферии и в центре, в нуклеоплазме идентифицируются глыбки хроматина; б – хроматин распределён равномерно, но ядро окружено светлым кольцом перинуклеарного пространства (указано стрелкой); жс, з) выраженные признаки апоптоза нейронов.

Также к возрастным изменениям можно отнести увеличение ядерно-цитоплазматических отношений, появление светлых зон вокруг ядра и увеличение ядрышка.

Установлено, что в результате хронической ишемии и развившегося обширного инсульта в области прецентральной извилины мозга человека в нейронах переднего гипоталамуса накапливаются крупные гранулы тёмного пигмента, заполняющие всю цитоплазму вокруг ядра (рис. 2а). Следует отметить, что гранулы представлены мелкозернистой (до 0,68 мкм) ярко окрашенной субстанцией с высокой оптической плотностью. При этом ядро может занимать один из полюсов клетки, базофилия нуклеоплазмы снижена по сравнению с клетками, лишёнными гранул. Ядро приобретает сетчатое строение с чётко идентифицирующимся в центре шаровидным уплотнением хроматина, вокруг которого располагается базофильное кольцо. От кольца идут тонкие нити, достигающие кариолеммы и придающие ядру в целом вид колеса со спицами (рис. 2б). Некоторые клетки на одном из полюсов содержат ядра, на другом сосредоточены секреторные гранулы (рис. 2в), а в некоторых гранулы расположены значительными фрагментами (рис. 2г). Наряду со смещением ядер к периферии наблюдаются увеличения ядрышек, но без прозрачного околоядрышкового ободка, как это наблюдается при амавратической идиотии. Это может быть результатом либо накопления включений в динамике, либо результатом постепенного неполного освобождения цитоплазмы от гранул. Часть клеток содержит ядра с чёткими контурами (рис. 2 а, б), но в большей части клеток нуклеолема разрушена (рис. 2 в-е), хроматин распределён хаотично, ядрышки не идентифицируются, как в исследованиях Sendrowski K., Sobaniec W., Sobaniec P., Sobaniec-Lotowska M.E. (2013) [48], относящих, как и мы, этот вид дегенерации клеток к апонекрозу.

а

б

в

г

д

е

ж

Рис. 2. Пигментные включения в нейронах паравентрикулярной зоны головного мозга человека при инсульте в области прецентральной извилины. Окраска г/э. Микрофото. Ув. x1000: а – в клетке слева зернистые включения располагаются равномерно вокруг ядра, а в расположенном рядом нейроне – на одной стороне вдоль длинной оси клетки; б – клетка с гранулами на одном из полюсов, ядро в виде колеса со спицами; в – клетка резко полярна, гранулы располагаются на одном из полюсов; г, д – гранулы располагаются в одном или двух фрагментах на противоположных полюсах клетки; е, ж – вытянутая форма клеток со смещением ядра в один из полюсов, гранулы тёмно-коричневого цвета.

В нейронах переднего гипоталамуса структура ядер свидетельствует о различном уровне дезорганизации хроматина, разрушении ядерной оболочки, апоптозе нейронов (рис. 2д). Гранулы приобретают более тёмный коричневый цвет (рис. 2е). В некоторых клетках вся цитоплазма заполнена гранулами, ядра не идентифицируются. Приобретение резкой базофилии окружающей нейроны глии свидетельствует об апоптозе. Клетки вздуты по направлению к основанию отхождения аксона. Также отмечены клетки в состоянии полного хроматолизиса, с отсутствием ядра, насыщенные пигментными включениями.

Нами выделены IV типа гранулосодержащих клеток: клетки I типа, практически лишенные гранул, возможно, обладают способностью выводить метаболиты; клетки II типа с умеренным темпом выведения метаболитов и потому содержащие его гранулы в небольшом количестве в перинуклеарной зоне; клетки III типа с пониженной активностью выведения пигментных гранул и цитоплазмой, переполненной пигментными включениями. IV тип соответствует апоптозирующим нейронам. Наши данные частично согласуются с данными Braak H., Braak E. (1987), которые при окрашивании нейронов по Нисслю также выделили четыре типа нейронов, но на основе размеров гранул [3]. Клетки I типа, по их данным, содержат крупные гранулы интенсивно окрашенного липофусцина. Клетки II типа характеризуются наличием плотных скоплений мелких гранул. III тип нейронов содержит рассеянные пылевидные гранулы, в то время как IV тип нейронов лишен пигмента. По нашим данным, изменяется не размер гранул, а их количество в цитоплазме нейронов, отражающее секреторную активность клеток. Поэтому мы считаем, что наличие одинаковой величины гранул может подтверждать, что это результат накопления секрета в определённых структурах типа лизосом, как и в исследованиях Feeney E.J., Austin S., Chien Y.H., Mandel H., Schoser B., Prater S., Hwu W.L., Ralston E., Kishnani P.S., Raben N. (2014), предположивших, что накопление липофусцина – результат неэффективных лизосомальных деградаций [12]. Также на основании того, что проводка материала была выполнена с использованием абсолютного этилового спирта в течение суток, мы исключаем наличие в гранулах веществ липидной природы. Такие свойства пигментных включений в нейронах паравентрикулярной зоны более свидетельствуют в пользу данных, утверждающих меланиновую природу или наличие ферритина, как результат метаболической ошибки вследствие нарушения передачи

кислорода от гемоглобина эритроцитов тканям. При этом рядом с клетками с низкими ядерно-цитоплазматическими отношениями располагаются нейроны с ядрами, занимающими большую часть цитоплазмы (рис. 3а).

Также нами установлено, что в нейронах и окружающей их нейроглии паравентрикулярной зоны мозга человека идентифицируются включения, морфологически соответствующие включениям мозгового песка в эпифизе (рис. 3 в-е).

Отложения включений идентифицируются как среди нейроглии, так и в нейронах в цитоплазме, в перинуклеарной зоне, а также на месте апоптозирующих ядер (рис. 3 д-ж).

Одна из гипотез о происхождении мозгового песка эпифиза предполагает участие в его образовании стареющей нейроглии. Гибель астроглии, осуществляющей трофическое обеспечение и защиту нейронов, участвующей в сохранении энергии передачи импульсов за счёт содержания в цитоплазме кристаллинов, вследствие ишемии, сопровождается морфологическими изменениями нейронов, ведущими к нарушениям функциональных нейрональных связей.

Рис. 3. Включения мозгового песка паравентрикулярной зоны III желудочка мозга человека. Окраска г/э. Микрофото. Ув. х600.

Кровеносные сосуды микроциркуляторного русла изученной нами паравентрикулярной зоны не образуют структур гематоэнцефалического барьера, как в других отделах головного мозга. Стенка капилляров в норме представлена плоскими вытянутыми эндотелиоцитами с соответствующей формой ярко базофильных ядер (рис. 4 а-е). Нами отмечено, что диаметр капилляров достигает 10 мкм, в состав стенки более крупных капилляров входят перicyты, располагающиеся в расщеплениях базальной мембраны (рис. 4 д, е). Капилляры имеют типичное строение для соматического типа.

Рис. 4. Микроциркуляторное русло паравентрикулярной зоны III желудочка мозга человека: а-г - продольно срезанные капилляры; д, е – поперечно срезанные капилляры. Окраска г/э. Микрофото. Ув. х600.

В условиях хронической ишемии наблюдаются изменения капилляров, характеризующиеся вздутиями капилляров, агрегацией эритроцитов у сосудистой стенки (рис. 5 а-з), появлением в просвете сосудов лейкоцитов. Выявляются расширенные сосуды, стенка которых находится в тесном контакте с нейронами (рис. 5е). Эритроциты с васкулярной стороны окружают нейроны с признаками апоптоза и гранулами пигмента в цитоплазме. При этом пигмент может идентифицироваться и в просвете сосуда (рис. 5е). Нервная ткань образует ячеистую структуру вследствие гибели нейронов и глиии. Вокруг облитерированных и гиалинизированных сосудов в поле зрения отсутствуют нейроны, имеется только нейроглия (рис. 5и). Количество нейроглиальных клеток вокруг капилляров уменьшается, растёт число апоптозирующих макроглиоцитов. Генерализованное расширение капилляров в зоне, удалённой от области инсульта, сопровождается чрезмерным перенаполнением эритроцитами, эндотелий гипертрофируется. Наблюдается неравномерное расширение перикапиллярного пространства, что, по мнению Niculescu I.T. (1963), указывает на наличие вокруг сосудистого серозного отёка [39]. В наших наблюдениях выявлен переход эритроцитов в перикапиллярное пространство Вирхова-Робэна, а затем последующая миграция с проникновением в нервную ткань, как при инфекциях мозга в доклинический период [39]. Также это может означать начальный период кровоизлияния и

размягчения нервной ткани до появления некротических изменений. Эти данные опровергают отсутствие морфологических изменений в нервной ткани при сосудистых заболеваниях мозга.

а

б

в

г

д

е

ж

з

Рис. 5. Микроциркуляторное русло паравентрикулярной зоны III желудочка головного мозга человека при инсульте в области прецентральной извилины.

Стенка III желудочка представлена таницитами (рис. 6). В наших наблюдениях в возрастном аспекте отмечается частичная гибель клеток по механизму апоптоза с типичными морфологическими признаками. При ишемии установлен практически полный тотальный апоптоз нейроглии на фоне полного отсутствия нейронов вблизи стенки III желудочка (рис. 6в), что может свидетельствовать о нарушении ликворной трофики нейронов и нейроглии паравентрикулярной зоны.

Рис. 6. Стенка III желудочка головного мозга человека. Окраска г/э. Микрофото. Ув. х400.

Заключение. Особенности нейронов гипоталамуса являются чувствительность к составу омывающей их крови, отсутствие гематоэнцефалического барьера между нейронами и кровью, способность нейронов к нейросекреции пептидов, нейромедиаторов [37]. Характерной особенностью кровеносных сосудов гипоталамуса является проницаемость их

стенок для крупных молекул белков. У человека и других млекопитающих в гипоталамусе обычно различают 32 пары ядер. Между соседними ядрами существуют промежуточные нервные клетки или их небольшие группы, поэтому физиологическое значение могут иметь не только ядра, но и некоторые межъядерные гипоталамические зоны. По своим структурным особенностям они напоминают клетки ретикулярной формации и продуцируют физиологически активные вещества — гипоталамические нейрогормоны [38]. Нейросекреторные нервные клетки сконцентрированы непосредственно около стенок III желудочка мозга, при ишемии, по нашим данным, нейроны не идентифицируются.

Возбуждение ядер передней группы гипоталамуса приводит к реакции организма по парасимпатическому типу, т.е. реакциям, направленным на восстановление и сохранение резервов организма. Известно, что различные виды артериальной гипертензии, развивающиеся после стимуляции гипоталамуса, обусловлены комбинированным влиянием симпатической части вегетативной нервной системы и выделением адреналина надпочечниками, хотя в данном случае нельзя исключить влияние нейрогипофиза в генезе устойчивой артериальной гипертензии. В экспериментах на животных установлено, что при острой гипоксии различной этиологии (ишемии, вызванной кровопотерей или перевязкой сосудов, питающих мозг, при уменьшении парциального давления кислорода в барокамере) увеличивается содержание нейросекрета в нейронах супраоптического и паравентрикулярного ядер, что, вероятно, следует рассматривать как признак, указывающий на подавление секреторной активности. При этом отмечается зависимость функциональной активности от циркадных ритмов организма [42].

Принято считать, что липофусцин накапливается в ущерб синтетической функции клеток [2; 7; 31]. При этом до сих пор вопрос природы липофусцина является спорным [36]. Из каких продуктов белкового обмена образуется липофусцин, до сих пор еще точно неизвестно; полагают, что из продуктов ядерного распада. В настоящее время появились данные Lubarsch, Brahn, Schmidtman (2013), Sarpong (2009), что липофусцин является пигментом белковой природы, жиры в нем являются лишь случайной примесью и могут отсутствовать вовсе, причем от этого меняются лишь некоторые микрохимические реакции [13; 46].

По своему качественному составу (C — 50,4%, H — 5,9%, N — 10,8%, S — 3,2%) липофусцин крайне близко примыкает к другому белковому пигменту - меланину, и многими авторами даже идентифицируется с ним [27; 56], а, по нашему мнению, пигментные включения нейронов имеют непосредственное отношение к гемоглобину. Разграничение проводится лишь в той плоскости, что меланин – пигмент эктодермального происхождения, а липофусцин встречается также и в дериватах других зародышевых

лишков и поэтому, вероятно, химически несколько отличается от кожного меланина, для которого главным фактором синтеза являются ультрафиолетовые лучи [9; 16].

Хроническая гипоксия, сопутствующая кровопотере, и связанная с ней дегидратация являются в экспериментах причиной апоптоза астроцитарной нейроглии и повышенной функции нейронов [8; 20]. Аналогичный характер изменений со стороны нейросекреторных ядер переднего гипоталамуса у лиц, умерших от острой кровопотери, наблюдали и другие авторы, отметившие преобладание в «секреторной формуле» ядер гипоталамуса нейронов с морфологическими и цитохимическими признаками, типичными для фаз синтеза и гиперсекреции, при невысоком содержании клеток, находившихся на других фазах секреторного цикла. По мнению авторов, активация функции гипоталамо-нейрогипофизарной системы при острой кровопотере, по-видимому, направлена на развитие защитной вазоконстрикторной реакции периферического сосудистого русла [49]. Визуальная оценка состояния элементов, образующих супраоптические ядра при острой гипоксии в течение от 10 минут до 5 часов не приводит к каким-либо морфологическим сдвигам в нейронах паравентрикулярных ядер, однако отмечено, что высокая активность синтеза нейросекрета не соответствует темпам его выведения. В опытах с наложением лигатур на кровеносные сосуды было установлено, что уже на пятый день наблюдаются морфологические сдвиги в нейронах гипоталамуса с деструкцией части клеток. Хроническая ишемия структур мозга человека приводит к тому, что нейроны уменьшаются в размерах, часто имеют вытянутую форму, со значительным количеством гиперхромного секрета в цитоплазме; появляются дегенеративные («пикноморфные») нейросекреторные элементы, что наблюдалось и в наших исследованиях. Функционально старение сопровождается снижением памяти [34], повышением риска развития болезни Паркинсона [55]. В норме у человека преобладают клетки I типа; 2 и 3 типы содержатся в большем количестве в нейронах переднего гипоталамуса при хронической ишемии. Наши данные согласуются в этом отношении с результатами исследований Moraga A., Pradillo J.M., García-Culebras A., (2015) о снижении регенераторных свойств нервной ткани с возрастом, полученных в экспериментах на животных [35]. При гипоксическом воздействии возрастает число нейронов с морфологическими признаками повышенной экстррузии нейросекреторных гранул. Glees P., Spoerri P.E., El-Ghazzawi E. (1975) на обезьянах показали накопление липофусцина в заднем гипоталамусе у молодых особей и преобладание клеток, содержащих липофусцин в переднем гипоталамусе в старших возрастных группах подопытных животных [16]. Они не только отнесли идентифицированные гранулы к производным митохондрий, но и к факторам старения. Как и в наших исследованиях, наблюдалось наличие гранул в микроглии, расположенной вблизи капилляров.

Одним из спорных вопросов является роль в индукции апоптоза нейронов липофусцина, обнаруженного в ткани мозга у людей различных возрастных групп [52]. Dontsov A.E. с соавторами считают, что липофусцин потенцирует антиоксидантные свойства ДОПА-меланина, а Fernandez de Castro J.P., Mullins R.F., Manea A.M., Hernandez J., Wallen T., Kuehn M.H. (2013) рассматривают липофусцин как элемент нейродегенерации [9; 13]. Наименее изученными и противоречивыми являются вопросы о липофусциновых гранулах в нейросекреторных клетках гипоталамуса человека. Утверждение о липофусцине как пигменте старения сменилось на точку зрения о его защитной роли. Противоречивость знаний о химическом составе, источниках и механизмах образования липофусцина обусловила проведение многочисленных работ с анализом полученного материала на различных уровнях. Осмиофильность гранул позволила отнести липофусцин к липидным включениям, но имеются и данные, отрицающие принадлежность липофусцина нейронов к этому классу веществ. Некоторые авторы утверждают, что липофусцин, как и меланин, является производным тирозина. Наличие в составе гранул липофусцина митохондриальных ферментов позволило считать их производными митохондрий [13], присутствие кислой фосфатазы – предположить, что они происходят из лизосом, являются резидуальными тельцами, которые не реагируют на лизосомальные ферменты. Подтверждают эти результаты и данные Feeney E.J., Austin S., Chien Y.H., Mandel H., Schoser B., Prater S., Hwu W.L., Ralston E., Kishnani P.S., Raben N. (2014) о том, что накопление липофусцина – результат неэффективных лизосомальных деградаций [12].

Принято считать, что это пигмент «старения» нейрона и связан он с процессами неполного расщепления веществ в лизосомах. По теории S.E. Toth (1968), в генезе гранул липофусцина участвуют митохондрии и гранулярная ЭПС, которые после упаковки в диктиосомах комплекса Гольджи приобретают вид гранул. Xue Q., Hou J., Li Y. (1992) и Okamoto K., Hirai S., Amari M., Watanabe M., Sakurai A. (2013) утверждают источниками, ответственными за формирование липофусциновых гранул, только диктиосомы комплекса Гольджи (2013) [41; 60]. Markelic M., Velickovic K., Golic I., Klepal W., Otasevic V., Stancic A., Jankovic A., Vucetic M., Buzadzic B., Korac B., Korac A. (2013) считают липофусцин результатом слияния липидных капель и митохондрий с лизосомами [31]. Противники состоятельности теории S.E. Toth считают накопление липофусцина генетически запрограммированным и отрицают его образование и накопление как результат метаболической поломки органелл в клетке [19].

Многие авторы рассматривают накопление липофусцина в цитоплазме как явление, предшествующее апоптозу нейронов [31]. Но факт его обнаружения в нейронах людей в возрасте 20 лет, погибших в результате причин, не связанных с ишемическим повреждением

мозга, свидетельствует о накоплении липофусцина как о физиологическом процессе, возможно, и для выполнения роли депо кислорода [40]. Липофусцин накапливается в лизосомах, предполагается, что основной его источник – переваренные при аутофагии митохондрии. Исследования, показавшие в гранулах липофусцина митохондриальные ферменты на разных стадиях образования, явились свидетельством повреждения липидной оксигенации клеточных мембран, а Fe-содержащий гемин, цитохром С и миоглобин рассматриваются как катализаторы этого процесса. Считают, что это мёртвый балласт, усложняющий работу нервных клеток. Davies I., Fotheringham A., Roberts C. (1983) не считают, что липофусцин накапливается в ущерб синтетической функции клеток [7; 25]. Kubasik-Juraniec J., Knap N. (2009) выявили накопление липофусцина в нейронах при голодании [28; 29]. Navarro A., Tolivia J., Alvarez-Uría M. (1998) наблюдали при голодании у животных инвагинации ядерных мембран [38], что отмечено и в наших исследованиях в нейронах гипоталамуса людей, умерших от ишемии мозга. Очевидно, проблема при ишемии мозга заключается не только в снижении потребления кислорода, но и в нарушении трофического обеспечения нейронов в целом. Sturrock R.R. связывает накопление липофусцина с синтезом антидиуретического гормона [51]. Некоторые авторы считают, что в основе накопления гранул лежит гидролитический фотораспад ретиноидов под действием ультрафиолетового излучения.

Морфологически наши данные не вписываются в общую картину четырёх морфологических стадий старения нейронов. У молодых нейронов (1-я стадия – диффузная) – липофусцина мало, и он рассеян по цитоплазме нейрона. У зрелых нервных клеток (2-я стадия, околярная) – количество пигмента увеличивается, и он начинает скапливаться в зоне ядра. У стареющих нейронов (3-я стадия – полярная), количество липофусцина нарастает, и скопления его гранул концентрируются около одного из полюсов нейрона. И наконец, у старых нейронов (4-я стадия, биполярная), липофусцин заполняет большой объем цитоплазмы, и его скопления находятся на противоположных полюсах нейрона. В ряде случаев липофусцина в клетке становится так много, что его гранулы деформируют ядро. Накопление липофусцина в процессе старения нейронов и организма связывают также со свойством липофусцина, как каротиноида, связывать кислород. Полагают, что таким образом нервная система адаптируется к происходящему с возрастом ухудшению кислородного питания клеток. В наших исследованиях все клетки содержали только крупные гранулы, степень заполнения цитоплазмы была различной, но в случае переполнения гранулами по всему объёму цитоплазмы сопровождалась смещением ядра к одному из полюсов. Изменения в ядре не всегда носили классическую картину апоптоза. В единичных клетках наблюдались инвагинации кариолеммы. Отмечено

уменьшение плотности нейронов без увеличения количества глии, увеличивается содержание моноаминоксидазы, уменьшается содержание серотонина. Острая ишемия приводит к немедленной гибели нейронов от кислородного голодания, а в последующем к когнитивным расстройствам [6]. Но остаётся неизвестным, что происходит с нейронами в областях внешних по отношению к области инсульта с уменьшенным, но не отсутствующим снабжением кислородом. Было показано, что картина умирания нейронов не полностью соответствует описанию апоптоза. До середины 1990-х большинство исследователей считали, что нейроны, погибшие в ходе инсульта, умирают не в соответствии срабатывания обычной программы апоптоза, но просто за счет разрушения в процессе неконтролируемой формы смерти, некроза. Причины более обширного апоптоза и слабая регенерация нейроглии после ишемии у женщин связана с наличием рецепторов эстрогенов у астроцитов [5], межклеточные взаимодействия являются гормонозависимыми [62], что особенно важно в связи с возможностью трансформации реактивной астроглии в нейроны [11], их роли в метаболизме гликогена [10]. По нашим данным, многие клетки с гранулами имели признаки деструкции и разрушенные ядра с растворённым хроматином, что не совсем вписывается в морфологическую картину, характерную только для апоптоза. Выявленные нами нейроны, содержащие гранулы жёлто-коричневого цвета в цитоплазме, сохранившиеся после проводки материала по спиртам высокой концентрации для обезвоживания, скорее всего, имеют отношение к накоплению продуктов метаболизма гемоглобина - трансферрину. Косвенно это находит подтверждение в успешности применения для лечения последствий инсультов эритропоэтина. Поэтому нервные поражения при хронической ишемии необходимо считать только частью болезни, которая является проявлением генерализованных нарушений в системах, связанных с продукцией эритропоэтина. Это согласуется с парадигмой Krog (цит. по Ivanov K.P., 2012) об исключительной роли капилляров в газообмене между кровью и тканями [22]. Дегенерация нейронов при гипоксии или анемии постулирует связь не только с клеточной генерацией активных форм кислорода (АФК), но и с энергетической недостаточностью. Это означает, что наблюдается дефицитный синтез или полное отсутствие АТФ в клетке при гипоксии, анемии и ишемии [14; 33; 50].

Старение нервной ткани сопровождается не только гибелью нейронов и пролиферацией нейроглии, но и ухудшением кровообращения в целом, что требует разработок новых терапевтических стратегий с учётом факторов роста и индукторов ангиогенеза, играющих важнейшее значение в восстановлении функции мозга [43; 44].

Кора головного мозга может оказывать тормозящий эффект на функции нейронов гипоталамуса, хотя расположенного не в зоне ишемии, но реагирующего на недостаток

кислорода в крови путём снижения секреторной активности [1]. По нашему мнению, с уменьшением секреции нейронами переднего гипоталамуса вазопрессина, как одного из индукторов синтеза эритропоэтина, в связи с тем что зрелые эритроциты зависят не от локального стромального влияния ККМ, а обладают в большей степени местной эритропоэтинчувствительностью, патогенез ишемии зависит не только от количества эритроцитов и гемоглобина, но в большей степени от его способности отдавать кислород тканям.

Выводы.

- Таким образом, проведенные исследования позволяют предположить, что содержание пигментных гранул в отдельных нейронах отражает четыре морфологические стадии старения:

1-я стадия (начальная) характерна для молодых нервных клеток. Пигмент в небольшом количестве рассеян по цитоплазме или отсутствует.

2-я стадия (околоядерная) встречается у зрелых нейронов. Количество пигмента небольшое, идентифицируется в перинуклеарной зоне.

3-я стадия (полярная) наблюдается у стареющих нейронов. Липофусцин концентрируется у одного из полюсов клетки, его количество возрастает, ядро смещено, кариолемма инвагинирует.

4-я стадия (диффузная) встречается у старых нейронов и характеризуется заполнением большого объема цитоплазмы липофусцином и его скоплением на противоположных полюсах клетки. Количество пигмента увеличивается, с последующей деформацией ядра.

5 стадия – гибели нейронов по механизму апоптоза на фоне пролиферации нейроглии. Разрушение ядра с сохранной оболочкой нейрона. Уменьшение нейрона в объёме.

- При хронической ишемии нервной ткани происходит снижение плотности в системе нейрон-нейроглия за счёт апоптоза всех клеточных элементов в результате генерализованных нарушений в системе эритропоэза, ангиогенеза, биохимических процессах тканевого дыхания.

Работа выполнена при поддержке научного фонда ДВФУ, в рамках государственного задания 2014/36 от 03.02.2014 г. и Международного гранта ДВФУ (соглашение № 13-09-0602-м от 6 ноября 2013 г.).

Список литературы

1. Ahn S.M., Kim Y.R., Kim H.N., Shin H.K., Choi B.T. Beneficial Effects of *Polygonum multiflorum* on Hippocampal Neuronal Cells and Mouse Focal Cerebral Ischemia // *Am J Chin Med.* – 2015. - Jun 28;1-15.
2. Boyer N.P., Tang P.H., Higbee D., Ablonczy Z., Crouch R.K., Koutalos Y. Lipofuscin and A2E accumulate with age in the retinal pigment epithelium of *Nrl*^{-/-} mice // *Photochem Photobiol.* – 2012. - Nov-Dec; 88(6):1373-7.
3. Braak H., Braak E. The hypothalamus of the human adult: chiasmatic region // *Anat Embryol (Berl).* - 1987; 175(3):315-30.
4. Chinchalongporn V., Koppensteiner P., Prè D., Thangnipon W., Bilo L., Arancio O. Connectivity and circuitry in a dish versus in a brain // *Alzheimers Res Ther.* – 2015. - Jun 4; 7(1):44.
5. Chisholm N.C., Sohrabji F. Astrocytic response to cerebral ischemia is influenced by sex differences and impaired by aging // *Neurobiol Dis.* – 2015. - Apr 2. pii: S0969-9961(15)00106-0. doi: 10.1016/j.nbd.2015.03.028.
6. Cohan C.H., Neumann J.T., Dave K.R., Alekseyenko A., Binkert M., Stransky K., Lin H.W., Barnes C.A., Wright C.B., Perez-Pinzon M.A. Effect of cardiac arrest on cognitive impairment and hippocampal plasticity in middle-aged rats // *PLoS One.* – 2015. - May 1;10(5):e0124918. doi: 10.1371/journal.pone.0124918. eCollection 2015. PMID: 25933411.
7. Davies I., Fotheringham A., Roberts C. The effect of lipofuscin on cellular function // *Mech Ageing Dev.* – 1983. - Nov-Dec; 23(3-4):347-56.
8. Desal H.A., Lee S.K., Kim B.S., Raoul S., Tymianski M., TerBrugge K.G. Multiple de novo vascular malformations in relation to diffuse venous occlusive disease: a case report // *Neuroradiology.* – 2005. - Jan; 47(1):38-42. Epub 2005 Jan 15.
9. Dontsov A.E., Koromyslova A.D., Sakina N.L. Lipofuscin component A2E does not reduce antioxidant activity of DOPA-melanin // *Bull Exp Biol Med.* – 2013. - Mar; 154(5):624-7.
10. Drulis-Fajdasz D., Wójtowicz T., Wawrzyniak M., Włodarczyk J., Mozrzymas J.W., Rakus D. Involvement of cellular metabolism in age-related LTP modifications in rat hippocampal slices// *Oncotarget.* – 2015. - Jun 10; 6(16):14065-81.
11. Duan C.L., Liu C.W., Shen S.W., Yu Z., Mo J.L., Chen X.H., Sun F.Y. Striatal astrocytes transdifferentiate into functional mature neurons following ischemic brain injury // *Glia.* – 2015. - Jun 1. doi: 10.1002/glia.22837.
12. Feeney E.J., Austin S., Chien Y.H., Mandel H., Schoser B., Prater S., Hwu W.L., Ralston E., Kishnani P.S.1, Raben N. The value of muscle biopsies in Pompe disease: identifying lipofuscin inclusions in juvenile- and adult-onset patients // *Acta Neuropathol Commun.* – 2014. - Jan 2; 2(1):2. doi: 10.1186/2051-5960-2-2.

13. Fernandez de Castro JP, Mullins RF, Manea AM, Hernandez J, Wallen T, Kuehn MH. Lipofuscin in human glaucomatous optic nerves // *Exp Eye Res.* – 2013. - Jun; 111:61-6. doi: 10.1016/j.exer.2013.03.019. Epub 2013 Apr 6.
14. Frol'kis VV, Bezrukov VV. Aging of the central nervous system // *Hum Physiol.* – 1978. - Jul-Aug; 4(4):478-99.
15. Ghosh S, Canugovi C, Yoon JS, Wilson DM 3rd, Croteau DL, Mattson MP, Bohr VA. Partial loss of the DNA repair scaffolding protein, Xrcc1, results in increased brain damage and reduced recovery from ischemic stroke in mice // *Neurobiol Aging.* – 2015. - Jul; 36(7):2319-30.
16. Glees P, Spoerri PE, El-Ghazzawi E. An ultrastructural study of hypothalamic neurons in monkeys of different ages with special reference to age related lipofuscin // *J Hirnforsch.* - 1975; 16(5):379-94.
17. Greenberg DA. Poststroke angiogenesis, pro: making the desert bloom // *Stroke.* – 2015. - May; 46(5):e101-2.
18. Gundersen V, Storm-Mathisen J, Bergersen LH. Neuroglial Transmission // *Physiol Rev.* – 2015. - Jul; 95(3):695-726.
19. Gupta KP, Dholaniya PS, Chekuri A, Kondapi AK. Analysis of gene expression during aging of CGNs in culture: implication of SLIT2 and NPY in senescence // *Age (Dordr).* – 2015. - Jun; 37(3):9789. doi: 10.1007/s11357-015-9789-6.
20. Hung VK, Yeung PK, Lai AK, Ho MC, Lo AC, Chan KC, Wu EX, Chung SS, Cheung CW, Chung SK. Selective astrocytic endothelin-1 overexpression contributes to dementia associated with ischemic stroke by exaggerating astrocyte-derived amyloid secretion // *J Cereb Blood Flow Metab.* – 2015. - Jun 24. doi: 10.1038/jcbfm.2015.109.
21. Ivanova NE, Panuntsev VS // [The use of vinpottopile in chronic brain ishemial]. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova.* - 2008; 108(1):73-5.
22. Ivanov KP. Brain hypoxia and the role of active forms of oxygen and of energy deficit in the neuron degeneration // *Usp Fiziol Nauk.* – 2012. - Jan-Mar; 43(1):95-110.
23. Jiang Y, Liu Y, Zhu C, Ma X, Ma L, Zhou L, Huang Q, Cen L, Pi R, Chen X. Minocycline enhances hippocampal memory, neuroplasticity and synapse-associated proteins in aged C57 BL/6 mice // *Neurobiol Learn Mem.* – 2015. - May; 121:20-9.
24. Johnson WM, Wilson-Delfosse AL, Chen SG, Mieyal JJ. The roles of redox enzymes in Parkinson's disease: Focus on glutaredoxin // *Ther Targets Neurol Dis.* - 2015; 2(2).
25. Kay GW1, Jay NP, Palmer DN. The specific loss of GnRH-positive neurons from the hypothalamus of sheep with CLN6 neuronal ceroid lipofuscinosis occurs without glial activation and has only minor effects on reproduction // *Neurobiol Dis.* – 2011. - Mar; 41(3):614-23. doi: 10.1016/j.nbd.2010.11.008. Epub 2010 Nov 24.

26. Kim HW, Choi WS, Sorscher N, Park HJ, Tronche F, Palmiter RD, Xia Z. Genetic reduction of mitochondrial complex I function does not lead to loss of dopamine neurons in vivo // *Neurobiol Aging*. – 2015. - May 16. pii: S0197-4580(15)00272-9.
27. Krawczyk S, Dziubek K, Lach H. Studies on the lipofuscin pigment in the brain of *Rana temporaria* L. in the annual cycle. II. Tuber cinereum // *Acta Morphol Acad Sci Hung*. - 1981; 29(1):37-44.
28. Kubasik-Juraniec J1, Zauszkiewicz-Pawlak A, Kotlarz G, Woźniak M, Knap N. Ultrastructural response of arcuate nucleus neurons to fasting in aged rats // *lia Morphol (Warsz)*. – 2009. - Nov; 68(4):218-23.
29. Kubasik-Juraniec J, Knap N. Ultrastructural observations on the hypothalamic arcuate nuclei of aged rats in the fasting/refeeding model // *Folia Morphol (Warsz)*. – 2009. - May; 68(2):79-83.
30. Lourbopoulos A, Ertürk A, Hellal F. Microglia in action: how aging and injury can change the brain's guardians // *Front Cell Neurosci*. – 2015. - Feb 23; 9:54. doi: 10.3389/fncel.2015.00054. eCollection 2015.
31. Markelic M, Velickovic K, Golic I, Klepal W, Otasevic V, Stancic A, Jankovic A, Vucetic M, Buzadzic B, Korac B, Korac A. The origin of lipofuscin in brown adipocytes of hyperinsulinaemic rats: the role of lipid peroxidation and iron // *Histol Histopathol*. – 2013. - Apr; 28(4):493-503. Epub 2013 Jan 18.
32. McEvoy LK, Fennema-Notestine C, Eyler LT, Franz CE, Hagler DJ Jr, Lyons MJ, Panizzon MS, Rinker DA, Dale AM, Kremen WS. Hypertension-Related Alterations in White Matter Microstructure Detectable in Middle Age.
33. Moore SM, Zhang H, Maeda N, Doerschuk CM, Faber JE. Cardiovascular risk factors cause premature rarefaction of the collateral circulation and greater ischemic tissue injury // *Angiogenesis*. – 2015. - Jul; 18(3):265-81.
34. Moorthi P, Premkumar P, Priyanka R, Jayachandran KS, Anusuyadevi M. Pathological changes in hippocampal neuronal circuits underlie age-associated neurodegeneration and memory loss: Positive clue toward SAD // *Neuroscience*. – 2015. - Jun 1; 301:90-105.
35. Moraga A, Pradillo JM, García-Culebras A, Palma-Tortosa S, Ballesteros I, Hernández-Jiménez M, Moro MA, Lizasoain I. Aging increases microglial proliferation, delays cell migration, and decreases cortical neurogenesis after focal cerebral ischemia // *J Neuroinflammation*. – 2015. - May 10; 12:87.
36. Murata S1, Kasiwagi M, Tanabe T, Ashida A, Ozaki N, Tamai H. Juvenile neuronal ceroid-lipofuscinosis with hypertrophic cardiomyopathy and left ventricular noncompaction: a case report // *Rinsho Shinkeigaku*. – 2014. - 54(1):38-45.

37. Navarro A, Tolivia J, Alvarez-Uría M. The magnocellular neurosecretory system of the hamster hypothalamus: an ultrastructural and morphometric study during lifetime // *Mech Ageing Dev.* – 1997. - Aug; 97(2):143-61.
38. Navarro A, Tolivia J, Alvarez-Uría M. Quantitative ultrastructural evidences suggest no age-related changes in biosynthesis and processing within parvocellular cells of the paraventricular nucleus in hamsters // *Mech Ageing Dev.* – 1998. - Jun 1; 103(1):91-103.
39. Niculescu I.T. Morfopatologia sistemului nervos.-Editura medicala.Bucuresti. - 1963. - 991 s.
40. Ohta E, Nihira T, Uchino A, Imaizumi Y, Okada Y, Akamatsu W, Takahashi K, Hayakawa H, Nagai M, Ohyama M, Ryo M, Ogino M, Murayama S, Takashima A, Nishiyama K, Mizuno Y, Mochizuki H, Obata F, Okano H. I2020T mutant LRRK2 iPSC-derived neurons in the Sagamihara family exhibit increased Tau phosphorylation through the AKT/GSK-3 β signaling pathway // *Hum Mol Genet.* – 2015. - Jun 8. pii: ddv212. [Epub ahead of print]
41. Okamoto K, Hirai S, Amari M, Watanabe M, Sakurai A. Bunina bodies in amyotrophic lateral sclerosis immunostained with rabbit anti-cystatin C serum // *Neurosci Lett.* – 1993. - Nov 12; 162(1-2):125-8. Связывали с аппаратом Гольджи.
42. Olovnikov AM. Chronographic Theory of Development, Aging, and Origin of Cancer: Role of Chronomeres and Printomeres. Ivanov KP. Brain hypoxia and the role of active forms of oxygen and of energy deficit in the neuron degeneration // *Usp Fiziol Nauk.* – 2012. - Jan-Mar; 43(1):95-110. *Curr Aging Sci.* 2015; 8(1):76-88.
43. Rinker DA, Dale AM, Kremen WS. Hypertension-Related Alterations in White Matter Microstructure Detectable in Middle Age // *Hypertension.* – 2015. - Jun 8. pii: HYPERTENSIONAHA.115.05336.
44. Ruan L, Wang B, ZhuGe Q, Jin K. Coupling of neurogenesis and angiogenesis after ischemic stroke // *Brain Res.* – 2015. - Feb 28. pii: S0006-8993(15)00162-6.
45. Roozbehi A, Joghataei MT, Bakhtiyari M, Mohammadi J, Rad P, Delaviz H. Age-associated changes on axonal regeneration and functional outcome after spinal cord injury in rats // *Acta Med Iran.* – 2015. - May; 53(5):281-6.
46. Sarpong A1, Schottmann G, Rüther K, Stoltenburg G, Kohlschütter A, Hübner C, Schuelke M. Protracted course of juvenile ceroid lipofuscinosis associated with a novel CLN3 mutation (p.Y199X) // *Clin Genet.* – 2009. - Jul; 76(1):38-45. doi: 10.1111/j.1399-0004.2009.01179.x. Epub 2009 May 21.
47. Scheitz JF, Erdur H, Haeusler KG, Audebert HJ, Roser M, Laufs U, Endres M, Nolte CH. Insular cortex lesions, cardiac troponin, and detection of previously unknown atrial fibrillation in acute ischemic stroke: insights from the troponin elevation in acute ischemic stroke study // *Stroke.* – 2015. - May; 46(5):1196-201.

48. Sendrowski K, Sobaniec W, Sobaniec P, Sobaniec-Lotowska ME. Ultrastructural study of hippocampal cortex neurons in an experimental model of valproate encephalopathy // *Folia Histochem Cytobiol.* – 2013. - 51(1):31-7. doi: 10.5603/FHC.2013.005.
49. Seo HB, Kang BK, Kim JH, Choi YW, Hong JW, Choi BT, Shin HK. Partially purified components of *Uncaria sinensis* attenuate blood brain barrier disruption after ischemic brain injury in mice // *BMC Complement Altern Med.* – 2015. - May 27; 15:157.
50. Son S.J., Lee K.S., Chung J.H., Chang K.J., Roh H.W., Kim S.H., Jin T., Back J.H., Kim H.J., Lee Y., Choi S.H., Noh J.S., Lim K.Y., Chung Y.K., Hong C.H., Oh B.H. Increased plasma levels of heat shock protein 70 associated with subsequent clinical conversion to mild cognitive impairment in cognitively healthy elderly // *PLoS One.* – 2015. - Mar 13; 10(3):e0119180.
51. Sturrock R.R. A quantitative histological study of the anterodorsal thalamic nucleus and the lateral mammillary nucleus of ageing mice // *J Hirnforsch.* - 1989; 30(2):191-5.
52. Tominaga I., Hattori M., Kaihou M., Takazawa H., Kato Y., Kasahara M., Onaya M., Nojima T., Kashima H., Iwabuchi K. Dementia and amyotrophy in Kufs disease. The adult type of neuronal ceroid lipofuscinosis // *Rev Neurol (Paris).* – 1994. - Jun-Jul; 150(6-7):413-7. French.
53. Ulfig N., Braak E., Ohm T.G., Pool C.W. Vasopressinergic neurons in the magnocellular nuclei of the human basal forebrain // *Brain Res.* – 1990. – Oct. 15; 530(1):176-80.
54. Vivar C. Adult hippocampal neurogenesis, aging and neurodegenerative diseases: Possible strategies to prevent cognitive impairment // *Curr Top Med Chem.* – 2015. - Jun 10.
55. Wang X., Guan Q., Wang M., Yang L., Bai J., Yan Z., Zhang Y., Liu Z. Aging-related rotenone-induced neurochemical and behavioral deficits: role of SIRT2 and redox imbalance, and neuroprotection by AK-7 // *Drug Des Devel Ther.* – 2015. - May 7; 9:2553-63.
56. Whiting R.E.1, Narfström K., Yao G., Pearce J.W., Coates J.R., Castaner L.J., Katz M.L. Pupillary light reflex deficits in a canine model of late infantile neuronal ceroid lipofuscinosis // *Exp Eye Res.* – 2013. - Nov; 116:402-10. doi: 10.1016/j.exer.2013.10.006. Epub 2013 Oct 14.
57. Wilker E.H., Preis S.R., Beiser A.S., Wolf P.A., Au R., Kloog I., Li W., Schwartz J., Koutrakis P., DeCarli C., Seshadri S., Mittleman M.A. Long-term exposure to fine particulate matter, residential proximity to major roads and measures of brain structure // *Stroke.* – 2015. - May; 46(5):1161-6. doi: 10.1161/STROKEAHA.114.008348.
58. Wu C., Wang J., Peng J., Patel N., Huang Y., Gao X., Aljarallah S., Eubanks J.H., McDonald R., Zhang L. Modeling early-onset post-ischemic seizures in aging mice // *Exp Neurol.* – 2015. - May 2; 271:1-12.
59. Wu K.W., Yang P., Li S.S., Liu C.W., Sun F.Y. VEGF attenuated increase of outward delayed-rectifier potassium currents in hippocampal neurons induced by focal ischemia via PI3-K pathway // *Neuroscience.* – 2015. - Jul 9; 298:94-101. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.04.015.

60. Xue Q., Hou J., Li Y. Age-related morphological changes in the suprachiasmatic nucleus of the rat hypothalamus // Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao. – 1992. - Sep; 23(3):314-7.
61. Yin W., Sun Z., Mendenhall J.M., Walker D.M., Riha P.D., Bezner K.S., Gore A.C. Expression of Vesicular Glutamate Transporter 2 (vGluT2) on Large Dense-Core Vesicles within GnRH Neuroterminals of Aging Female Rats // PLoS One. – 2015. - Jun 8; 10(6):e0129633. doi: 10.1371/journal.pone.0129633. eCollection 2015.
62. Yu L., Boyle P.A., Wilson R.S., Levine S.R., Schneider J.A., Bennett D.A. Purpose in life and cerebral infarcts in community-dwelling older people // Stroke. – 2015. - Apr; 46(4):1071-6.
63. Zakharova O.A, Chekmareva I.A., Tumanov V.P., Vtiurin B.V., Simonenkov A.P. // Arkh Patol. – 2004. - May-Jun; 66(3):16-9.
64. Zhang F., Guo R.M., Yang M., Wen X.H., Shen J. A stable focal cerebral ischemia injury model in adult mice: assessment using 7T MR imaging // AJNR Am J Neuroradiol. – 2012. - May; 33(5):935-9. doi: 10.3174/ajnr.A2887.
65. Zhan X., Cox C., Ander B.P., Liu D., Stamova B., Jin L.W., Jickling G.C., Sharp F.R. Inflammation Combined with Ischemia Produces Myelin Injury and Plaque-Like Aggregates of Myelin, Amyloid- β and A β PP in Adult Rat Brain // J Alzheimers Dis. – 2015. - Mar 19. [Epub ahead of print]

Рецензенты:

Скляр Л.Ф., д.м.н., профессор, ГБУЗ «ККБ № 2», Центр СПИД, г. Владивосток;

Шульгина Л.В., д.б.н., профессор, заведующая лабораторией микробиологии ФГУП «ТИНРО-Центр», г. Владивосток.