

УДК 616-005.4+616-018+611.81, 577.25
DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ49849>

SMI-32 КАК МАРКЕР АКСОНАЛЬНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПРИ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Д.Л. Цыба, О.В. Кирик, Д.Э. Коржевский

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

Для цитирования: Цыба Д.Л., Кирик О.В., Коржевский Д.Э. SMI-32 как маркер аксонального повреждения при ишемии головного мозга // Медицинский академический журнал. — 2020. — Т. 20. — № 4. — С. 63–68. <https://doi.org/10.17816/MAJ51445>

Поступила: 12.10.2020

Одобрена: 09.11.2020

Принята: 14.12.2020

Актуальность данной работы определяется высокой распространенностью и социальной значимостью цереброваскулярных заболеваний и необходимостью разработки эффективных методов верификации нейронального повреждения вследствие ишемии головного мозга в экспериментальных моделях.

Целью настоящего исследования стала оценка возможности использования иммуногистохимической реакции на белки нейрофиламентов для выявления аксонального повреждения при моделировании ишемии головного мозга.

Материалы и методы. На крысах-самцах линий Вистар, SHR и WKY была воспроизведена модель фокальной транзиторной ишемии головного мозга путем окклюзии левой средней мозговой артерии. Повреждение аксонов оценивали с помощью иммуногистохимических реакций на белки нейрофиламентов, используя антитела SMI-32 и 2F11.

Результаты. При ишемии головного мозга происходит повреждение нервных волокон, проявляющееся утолщением аксонов, их варикозным расширением и сегментарным накоплением белков нейрофиламентов, причем данные изменения более заметны при иммуногистохимической реакции на маркер тяжелых цепей нейрофиламентов SMI-32.

Заключение. Использование антител к нефосфорилированной форме тяжелых цепей нейрофиламентов позволяет легко идентифицировать дегенерирующие нервные волокна и может быть рекомендовано в качестве альтернативного метода выявления аксонального повреждения.

Ключевые слова: SMI-32; аксональное повреждение; ишемия головного мозга.

SMI-32 — A NOVEL AXONAL INJURY MARKER FOR INVESTIGATION OF ISCHEMIC BRAIN PATHOLOGY

D.L. Tsyba, O.V. Kirik, D.E. Korzhevskii

Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

For citation: Tsyba DL, Kirik OV, Korzhevskii DE. SMI-32 — a novel axonal injury marker for investigation of ischemic brain pathology. *Medical Academic Journal*. 2020;20(4):63–68. <https://doi.org/10.17816/MAJ51445>

Received: October 12, 2020

Revised: November 9, 2020

Accepted: December 14, 2020

The relevance of this work is determined by the high prevalence and social significance of cerebrovascular diseases and the need to develop effective methods for verifying neuronal damage due to cerebral ischemia in experimental models.

The aim of this study was to assess the possibility of immunohistochemical revealing of neurofilaments to detect axonal injury in cerebral ischemia models.

Materials and methods. A model of transient focal cerebral ischemia by the left middle cerebral artery occlusion was reproduced in male Wistar, SHR and WKY rats. Axonal injury was assessed by immunohistochemical reactions for neurofilament proteins using SMI-32 and 2F11 antibodies.

Results. In cerebral ischemia, damage to nerve fibers occurs, manifested by thickening of axons, their varicose expansion and segmental accumulation of neurofilament proteins. These changes are more noticeable with an immunohistochemical reaction to the SMI-32 marker of neurofilament heavy chain.

Conclusions. The use of antibodies to the non-phosphorylated neurofilament heavy chain makes it easy to identify degenerating nerve fibers and can be recommended as an alternative method for detecting axonal injury.

Keywords: SMI-32; axonal injury; cerebral ischemia.

Проблемы профилактики и лечения цереброваскулярных заболеваний приобретают в последние годы особую актуальность в связи с высокой распространенностью поражений головного мозга сосудистого генеза [1]. В настоящее время определенного успеха удалось

достичь в разработке легко воспроизводимых адекватных экспериментальных моделей ишемии головного мозга, предназначенных для проверки эффективности новых профилактических и терапевтических подходов. Дальнейший прогресс в этом направлении сдерживается

отсутствием простых и информативных методов оценки повреждения нейронов и глиоцитов. Один из способов обнаружения гибнущих нейронов — хорошо зарекомендовавший себя метод иммуногистохимического выявления белка ядер нервных клеток NeuN [2]. Однако использование этого нейрального маркера не дает возможности оценить состояние нервных волокон. Классическая импрегнационная методика Марки позволяет выявлять дегенеративные изменения миелиновых оболочек нервных волокон. Этот метод заключается в длительной (несколько недель) обработке кусочков головного мозга солями тяжелых металлов и осмиевой кислотой, в результате чего окрашивается дегенерирующий миелин [3, 4]. Несмотря на высокое качество получаемых препаратов, длительность обработки материала и использование высокотоксичных веществ затрудняют применение метода Марки в лабораторной практике.

Среди современных методов, пригодных для оценки состояния нервных волокон, может быть использовано иммуногистохимическое выявление различных цитоскелетных маркеров, в ряду которых белки нейрофиламентов наиболее специфичны для отростков нейронов. Нейрофиламенты — это промежуточные филаменты, входящие в состав цитоскелета нервных клеток. Они состоят из нескольких белков (цепей): легких NF-L (68 кДа), промежуточной массы NF-M и тяжелых NF-H (200 кДа) [5]. Иногда к белкам нейрофиламентов относят интернексин — белок, участвующий в формировании их четвертичной структуры. Помимо структурных характеристик важна оценка фосфорилирования цепей нейрофиламентов, поскольку оно в некоторой степени отражает их функциональную активность. В рамках данного исследования для выявления белков нейрофиламентов были выбраны применяемые в клинической морфологической диагностике антитела к нефосфорилированным тяжелым цепям клона 2F11 и широко используемые в научных исследованиях антитела к фосфорилированным легким цепям SMI-32 [6].

Цель настоящего исследования состояла в определении возможности использования иммуногистохимической реакции на белки нейрофиламентов для выявления патологических изменений нервных волокон при моделировании ишемии головного мозга.

Материал и методы

Эксперименты выполнены на архивном материале половозрелых крыс-самцов нормотензивных линий Вистар ($n = 5$) и Вистар Киото

(WKY, $n = 5$) и спонтанно гипертензивной линии SHR ($n = 11$) из экспериментов, проведенных ранее [7, 8]. При содержании и умерщвлении животных руководствовались Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных (приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977), Хельсинкской декларации 1975 г. и ее пересмотренным вариантом 2000 г. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ «ИЭМ» (протокол 3/19 от 25.04.2019). Ишемии моделировали путем эндоваскулярной окклюзии левой средней мозговой артерии под общей анестезией. Продолжительность нарушения кровообращения в бассейне левой средней мозговой артерии в каждом случае составляла 30 мин, а время реперфузии — 48 ч. Контролем служили соответствующие структуры конечного мозга интактных животных линий SHR ($n = 3$), WKY ($n = 3$), Вистар ($n = 5$). Головной мозг фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде, обезжизняли и заливали в парафин по общепринятой методике. Объектом для морфологического исследования служил конечный мозг экспериментальных и интактных животных, поскольку ишемии моделировали путем окклюзии средней мозговой артерии, кровоснабжающей стриатум, гиппокамп и височную долю больших полушарий головного мозга. Морфологическому исследованию подвергали серийные фронтальные срезы конечного мозга толщиной 5 мкм, приготовленные на ротационном микротоме Leica RM2125RT (Leica, Германия). Для иммуногистохимического исследования применяли срезы после депарафинирования, регидратации и теплового демаскирования в свежеприготовленном 10 % растворе тиосульфата натрия [9].

Для иммуногистохимического выявления белков нейрофиламентов были использованы мышинные моноклональные антитела к нефосфорилированным тяжелым (200 кДа) субъединицам — клон SMI-32 (разведение 1 : 1000; BioLegend, США), мышинные моноклональные антитела к фосфорилированным легким (68 кДа) субъединицам — клон 2F11 (разведение 1 : 300, Dako, Дания). Для обнаружения первичных антител использовали набор Reveal Polyvalent HRP DAB Detection System (Spring Bioscience, США). Пероксидазную метку выявляли с помощью диаминобензидинового хромогена (DAB Quanto; Thermo Scientific, США). После проведения иммуногистохимических реакций часть срезов подкрашивали гематоксилином. Для верификации ишемического повреждения у экспериментальных животных применяли обзорную окраску крезилловым фиолетовым по Нисслю и иммуногистохимическую реакцию на белок NeuN [7].

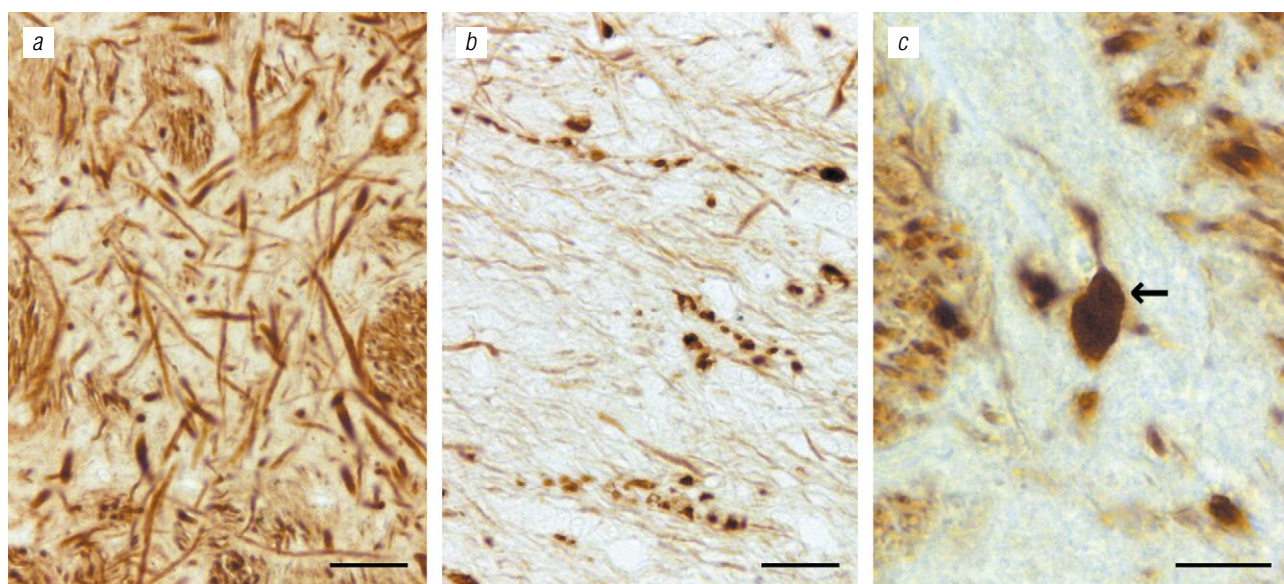
Анализ препаратов для микроскопии в проходящем свете и фотосъемку выполняли с помощью микроскопа Leica DM750 и фотокамеры ICC50 (Leica, Германия).

Результаты

В стриатуме и коре больших полушарий головного мозга интактных животных линий SHR и WKY не было обнаружено признаков дистрофии и дегенерации нервной ткани. При проведении иммуноцитохимической реакции на SMI-32 наиболее отчетливо выявлялись крупные аксоны диаметром от 1,1 до 1,8 мкм в составе белого вещества стриатума, мозолистого тела и бледного шара (рис. *a*). Аксоны окрашивались равномерно на всем протяжении без формирования утолщений. Интенсивность их окрашивания была однородной среди всех наблюдаемых аксонов исследуемых областей конечного мозга. Так же окрашивались перикарионы преимущественно крупных нейронов стриатума и коры полушарий головного мозга. Окраска перикарионов носила менее однородный крупнозернистый характер, ядра нервных клеток при этом не окрашивались. При использовании антител клона 2F11 также наблюдалась равномерная окраска аксонов, но перикарионы нейронов не окрашивались. Морфологические и иммуногистохимические

характеристики нейронов интактных крыс линии Вистар не отличались от описанных нами ранее [10].

Через 48 ч после 30-минутной односторонней ишемии в стриатуме и коре левого полушария у всех исследованных животных наблюдались очаги ишемического повреждения. В зоне повреждения при иммуноцитохимической реакции на SMI-32 аксоны выглядели гиперхромными и утолщенными (от 1,5 до 2,3 мкм) по сравнению с аксонами аналогичных областей у интактных животных, в ряде случаев наблюдалось неравномерное фрагментарное окрашивание аксонов по типу цепочек (рис. *b*). В стриатуме и в V–VI слоях коры ишемизированного полушария при малом увеличении отчетливо определялись многочисленные округлые и овальные гиперхромные структуры, превосходящие в размерах поперечные срезы обычных аксонов. Выявленные структуры не имели неокрашенной центральной области, что исключало возможность их идентификации в качестве мелких иммунопозитивных перикарионов нейронов. При большом увеличении данные структуры можно было охарактеризовать как варикозно расширенные участки аксонов, поскольку большая часть из них выглядела как веретеновидные утолщения, соединенные тонкими участками цитоплазмы (рис. *c*). Описанные изменения затрагивали



Осевые цилиндры нервных волокон в головном мозге крысы: *a* — контрольная крыса линии SHR (стриатум); *b*, *c* — крысы линии SHR через 48 ч после 30-минутной окклюзии средней мозговой артерии (*b* — таламус, *c* — стриатум). Стрелкой указан варикозно расширенный участок аксона. Иммуноцитохимическая реакция на нефосфорилированные белки нейрофиламентов (тяжелые цепи) с использованием антител SMI-32, визуализация с помощью хромогена диаминобензидина без подкраски. Масштабный отрезок равен 20 мкм (*a*, *b*) и 10 мкм (*c*)

The axial cylinders of nerve fibers in rat brain: *a* — control SHR rat (striatum); *b*, *c* — SHR rats in 48 hours after 30-minute middle cerebral artery occlusion (*b* — thalamus, *c* — striatum). Arrow shows varicose expansion of axon segment. Immunocytochemical reaction for the non-phosphorylated neurofilament heavy chain using SMI-32 antibodies, visualization with diaminobenzidine chromogen without counterstaining. Scale is 20 μ m (*a*, *b*) and 10 μ m (*c*)

большинство аксонов, находящихся в очагах ишемического повреждения стриатума и коры ипсилатерального полушария. В контралатеральном полушарии аксоны в стриатуме имели обычный вид, расширения не определялись.

При использовании антител клона 2F11 на малом увеличении каплевидные структуры не определялись. При большом увеличении удалось выявить аналогичные варикозные расширения аксонов, но они не выглядели гиперхромными по сравнению с окружающими их аксонами.

Обсуждение

Сопоставление обнаруженного нами в предыдущих исследованиях раннего исчезновения белка NeuN из перикарионов нейронов стриатума после кратковременной транзиторной ишемии головного мозга [7] с изменениями, выявленными в рамках настоящего исследования, свидетельствует о том, что повреждение нейронов на уровне их перикарионов сопровождается дегенеративными изменениями со стороны их аксонов. Последние проявляются в формировании патологических варикозностей, фрагментации нервных волокон и патологической агрегации нефосфорилированных тяжелых субъединиц нейрофиламентов. Накопления белков фосфорилированных легких цепей нейрофиламентов при этом не отмечается. Трудно представить, что при повреждении нейронов и их отростков может увеличиваться синтез белков нейрофиламентов. Наиболее вероятным объяснением обнаруженной высокой иммунореактивности патологически измененных аксонов является двойной эффект — аномальная агрегация белков нейрофиламентов и их дефосфорилирование. Поэтому именно антитела SMI-32, полученные к нефосфорилированной форме белков нейрофиламентов, оказались более эффективны для визуализации повреждений нервных волокон.

Представленный методический подход позволяет выявлять патологические изменения нервных волокон, формируемых длинноаксонными нейронами. Он не уникален, но обладает рядом преимуществ перед использовавшимися ранее методиками, среди которых простота постановки реакции и четкая визуализация патологических структур. Такие классические методы выявления дегенерации миелина, как метод Марки, предложенный еще в XIX в. и претерпевший ряд модификаций [4], и метод Кловера — Барреры [11], не надежны, требуют особой фиксации материала, а первый из них предполагает использование больших объемов дорогостоящего реагента, обладающего

летучестью и высокой токсичностью, — осмиевой кислоты.

Среди современных методов оценки состояния миелиновых нервных волокон можно отметить методы выявления компонентов миелина — MBP (myelin basic protein) и др. [12–15]. Однако они не вполне пригодны для исследования аксонов в центральной нервной системе, поскольку часто не позволяют проследить ход индивидуальных нервных волокон. Меньшее распространение получил метод выявления накапливающегося в поврежденных аксонах белка APP (amyloid precursor protein) [16]. Не сформулировано непротиворечивого объяснения причин этого накопления сывороточного белка при аксональной дегенерации, что затрудняет интерпретацию получаемых результатов. Антитела к белкам миелина и APP могут обладать видоспецифичностью, препятствующей применению одних и тех же методов для выявления аксональной дегенерации при моделировании заболеваний и при их диагностике у человека. Существенным преимуществом использования антител клона SMI-32 является возможность их применения при исследовании нервной ткани как человека, так и различных видов животных [6, 17–21].

Выводы

Представленный материал свидетельствует, что в результате кратковременной ишемии головного мозга у крыс развиваются нейродегенеративные изменения в ишемизированном полушарии, которые сопровождаются накоплением нефосфорилированных белков нейрофиламентов в патологически измененных нервных волокнах. Использование антител к нефосфорилированной форме тяжелых цепей нейрофиламентов позволяет идентифицировать дегенерирующие нервные волокна и может быть рекомендовано в качестве альтернативного метода выявления аксонального повреждения.

Дополнительная информация

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины».

Соблюдение этических норм. Выполнение исследования одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ «ИЭМ» (протокол 3/19 от 25.04.2019).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов

Д.Л. Цыба — постановка иммуногистохимических реакций, анализ результатов, написание текста статьи.

О.В. Кирик — анализ результатов, написание текста статьи.

Д.Э. Коржевский — общее руководство, редактирование текста статьи.

Литература

- Скворцова В.И., Шетова И.М., Какорина Е.П. и др. Организация помощи пациентам с инсультом в России. Итоги 10 лет реализации комплекса мероприятий по совершенствованию медицинской помощи пациентам с острыми нарушениями мозгового кровообращения // *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. — 2018. — Т. 12. — № 3. — С. 5–12. [Skvortsova VI, Shetova IM, Kakorina EP, et al. Healthcare system for patients with stroke in Russia. Results of 10 years implementation of the measures aimed at improvement of medical care for patients with acute cerebrovascular events. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2018;12(3):5–12. (In Russ.)]
- Гусельникова В.В., Коржевский Д.Э. NeuN — нейрональный ядерный антиген и маркер дифференцировки нервных клеток // *Acta Naturae*. — 2015. — Т. 7. — № 2 (25). — С. 46–51. [Guselnikova VV, Korzhevskiy DE. NeuN as a neuronal nuclear antigen and neuron differentiation marker. *Acta Naturae*. 2015;7(2):42–47. <https://doi.org/10.32607/20758251-2015-7-2-42-47>.]
- Жаботинский Ю.М. Нормальная и патологическая морфология нейрона. — М.: Медицина, 1965. [Zhabotinskiy YuM. Normal'naya i patologicheskaya morfologiya neyrona. Moscow: Meditsina; 1965. (In Russ.)]
- Avci B, Kahveci N, Kahveci Z, Sirmali SA. Using microwave irradiation in Marchi's method for demonstrating degenerated myelin. *Biotech Histochem*. 2006;81(2–3):63–69. <https://doi.org/10.1080/1052090600783044>.
- Коржевский Д.Э., Петрова Е.С., Кирик О.В. и др. Нейральные маркеры, используемые при изучении дифференцировки стволовых клеток // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. — 2010. — Т. 5. — № 3. — С. 57–63. [Korzhevskii DE, Petrova ES, Kirik OV, et al. Neural markers in investigation of stem cells differentiation. *Cellular Transplantation and Tissue Engineering*. 2010;5(3):57–63. (In Russ.)]
- Михалкин А.А., Меркульева Н.С. Динамика накопления тяжелых нейрофиламентов как маркер развития зрительного таламуса кошки // *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*. — 2020. — Т. 56. — № 7. — С. 646. [Mikhalkin AA, Merkulyeva NS. Dinamika nakopleniya tyazhelykh neyrofilamentov kak marker razvitiya zritel'nogo talamusa koshki. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2020;56(7):646. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.31857/S0044452920070979>.
- Коржевский Д.Э., Кирик О.В., Байса А.Е., Власов Т.Д. Моделирование одностороннего ишемического повреждения нейронов стриатума с помощью непродолжительной окклюзии средней мозговой артерии // *Бюллетень экспериментальной биологии*. — 2009. — Т. 147. — № 2. — С. 217–219. [Korzhevskii DE, Kirik OV, Baisa AE, Vlasov TD. Simulation of unilateral ischemic injury to the striatal neurons inflicted by short-term occlusion of the middle cerebral artery. *Bull Exp Biol Med*. 2009;147(2):255–256. <https://doi.org/10.1007/s10517-009-0487-1>.]
- Колпакова М.Э., Бельдиман Л.Н., Яковлева А.А. и др. Применение иммуногистохимической реакции на нестин для определения размеров повреждения мозга при транзиторной окклюзии средней мозговой артерии // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. — 2019. — Т. 63. — № 3. — С. 148–154. [Kolpakova ME, Beldiman LN, Yakovleva AA, et al. The use of an immunohistochemical reaction for nestin in determining the size of brain injury after transient occlusion of the middle cerebral artery. *Pathological physiology and experimental therapy*. 2019;63(3):148–154. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2019.03.148-154>.
- Патент РФ на изобретение № RU 2719163 C1/17.04.2020. Коржевский Д.Э., Кирик О.В., Алексеева О.С. Способ демаскирования антигенов при проведении иммуноцитохимических реакций. [Patent RUS No. RU 2719163 C1/17.04.2020. Korzhevskii DE, Kirik OV, Alexeeva OS. *Method of antigen retrieval during immunocytochemical reactions*.]
- Григорьев И.П., Алексеева О.С., Кирик О.В. и др. Распределение низкомолекулярных белков нейрофиламентов в поясной коре головного мозга крысы // *Морфология*. — 2018. — Т. 154. — № 5. — С. 7–12. [Grigoriyev IP, Alekseyeva OS, Kirik OV, et al. Distribution of neurofilament light chain proteins in rat brain cingulate cortex. *Morphology*. 2018;154(5):7–12. (In Russ.)]
- Kluver H, Barrera E. A method for the combined staining of cells and fibers in the nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1953;12(4):400–403. <https://doi.org/10.1097/00005072-195312040-00008>.
- Коржевская В.Ф., Сухорукова Е.Г., Кирик О.В., Коржевский Д.Э. Особенности судебно-гистологического исследования головного мозга при смерти от тупой травмы головы. — СПб., 2011. [Korzhevskaya VF, Sukhorukova YeG, Kirik OV, Korzhevskii DE. Osobennosti sudebno-gistologicheskogo issledovaniya golovnogo mozga pri smerti ot tupoy travmy golovy. Saint Petersburg; 2011.]
- Жданов Г.Н., Герасимова М.М. Иммунологические критерии в прогнозировании течения и исхода ишемического инсульта // *Неврологический журнал*. — 2005. — Т. 10. — № 1. — С. 19–21. [Zhdanov GN, Gerasimova MM. Immunological criteria in pre-diagnosing the course and outcome of ischemic stroke. *Neurological Journal*. 2005;10(1):19–21. (In Russ.)]
- Gregersen R, Christensen T, Lehrmann E, et al. Focal cerebral ischemia induces increased myelin basic protein and growth-associated protein-43 gene transcription in peri-infarct areas in the rat brain. *Exp Brain Res*. 2001;138(3):384–392. <https://doi.org/10.1007/s002210100715>.
- Zhan X, Cox C, Ander BP, et al. Inflammation combined with ischemia produces myelin injury and plaque-like aggregates of myelin, amyloid- β and A β PP in adult rat brain. *J Alzheim*

- mers Dis. 2015;46(2):507–523. <https://doi.org/10.3233/JAD-143072>.
16. Yam PS, Takasago T, Dewar D, et al. Amyloid precursor protein accumulates in white matter at the margin of a focal ischaemic lesion. *Brain Res.* 1997;760(1–2):150–157. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(97\)00290-4](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(97)00290-4).
 17. Morel A, Loup F, Magnin M, Jeanmonod D. Neurochemical organization of the human basal ganglia: anatomofunctional territories defined by the distributions of calcium-binding proteins and SMI-32. *J Comp Neurol.* 2002;443(1):86–103. <https://doi.org/10.1002/cne.10096>.
 18. Balaram P, Young NA, Kaas JH. Histological features of layers and sublayers in cortical visual areas V1 and V2 of chimpanzees, macaque monkeys, and humans. *Eye Brain.* 2014;6(1):5–18. <https://doi.org/10.2147/EB.S51814>.
 19. Voelker CC, Garin N, Taylor JS, et al. Selective neurofilament (SMI-32, FNP-7 and N200) expression in subpopulations of layer V pyramidal neurons *in vivo* and *in vitro*. *Cereb Cortex.* 2004;14(11):1276–1286. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhh089>.
 20. Михалкин А.А., Меркульева Н.С. Методика анализа популяций γ -нейронов в латеральном коленчатом теле у кошки // Морфология. — 2016. — Т. 150. — № 4. — С. 84–89. [Mikhalkin AA, Merkulyeva NS. The method of analysis of γ -neuron populations in the lateral geniculate body of the cat. *Morphology.* 2016;150(4):84–89. (In Russ.)]
 21. Ouda L, Druga R, Syka J. Distribution of SMI-32-immunoreactive neurons in the central auditory system of the rat. *Brain Struct Funct.* 2012;217(1):19–36. <https://doi.org/10.1007/s00429-011-0329-6>.

Сведения об авторах / Information about the authors

Дарья Леонидовна Цыба — лаборант-исследователь лаборатории функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы отдела общей и частной морфологии. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0003-3016-4260>. SPIN-код: 1656-7652. E-mail: dariasnow97@gmail.com.

Ольга Викторовна Кирик — канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы Отдела общей и частной морфологии. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0001-6113-3948>. SPIN-код: 5725-8742.

Дмитрий Эдуардович Коржевский — д-р мед. наук, профессор РАН, заведующий лабораторией функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы Отдела общей и частной морфологии. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. <https://orcid.org/0000-0002-2456-8165>. SPIN-код: 3252-3029.

Daria L. Tsyba — Research Assistant, Laboratory of Functional Morphology of the Central and Peripheral Nervous System, Department of General and Special Morphology. Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0003-3016-4260>. SPIN-code: 1656-7652. E-mail: dariasnow97@gmail.com.

Olga V. Kirik — PhD, Senior Researcher, Laboratory of Functional Morphology of the Central and Peripheral Nervous System, Department of General and Special Morphology. Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0001-6113-3948>. SPIN-code: 5725-8742.

Dmitrii E. Korzhevskii — MD, PhD, Professor of the RAS, Head of the Laboratory of Functional Morphology of the Central and Peripheral Nervous System, Department of General and Special Morphology. Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. <https://orcid.org/0000-0002-2456-8165>. SPIN-code: 3252-3029.

✉ Контактное лицо / Corresponding author

Дарья Леонидовна Цыба / Daria L. Tsyba
E-mail: dariasnow97@gmail.com