

**МОДЕЛИРОВАНИЕ РИНОХИРУРГИЧЕСКИХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ У КРЫС: ЭКСПРЕССИЯ БЕЛКА P53 И ФОРМИРОВАНИЕ ТЕМНЫХ НЕЙРОНОВ В ГИППОКАМПЕ.**

М.Г.Костяева<sup>1</sup>, С.Г.Драгунова<sup>1</sup>, С.С. Шилин<sup>1</sup>, К.В. Кузнецов<sup>2</sup>, А.И. Кузнецова<sup>3</sup>, В.К.Клейман<sup>1</sup>, Т.Ф. Косырева<sup>1</sup>, Ю.Е. Дьяченко<sup>1</sup>, К.П. Шаламов<sup>1</sup>, С.С. Амирханян<sup>1</sup>, М.А. Калужская<sup>1</sup>, П.В. Яманова<sup>1</sup>, М.В. Городецкий<sup>1</sup>, В.И. Попадюк<sup>1</sup>, А.А. Цымбал<sup>2</sup>, И.В. Кастыро<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

<sup>2</sup>Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России

МГК: <https://orcid.org/0000-0001-5182-0373>, [kostyaeva.71@mail.ru](mailto:kostyaeva.71@mail.ru); СГД: <https://orcid.org/>, [dragunova.s@bk.ru](mailto:dragunova.s@bk.ru); ССШ: <https://orcid.org/0000-0003-2080-608X>, [9060965527@mail.ru](mailto:9060965527@mail.ru); КВК: <https://orcid.org/0000-0001-8465-0809>, [IisI98@mail.ru](mailto:IisI98@mail.ru); АИК: <https://orcid.org/0000-0001-6590-9117>, [arish4.matveeva@yandex.ru](mailto:arish4.matveeva@yandex.ru), ВКК: <https://orcid.org/0000-0001-9391-6998>, [kleyman.vk@gmail.com](mailto:kleyman.vk@gmail.com); ТФК: <https://orcid.org/0000-0003-4333-5735>, [dr.kosyreva@mail.ru](mailto:dr.kosyreva@mail.ru); ЮЕД: <https://orcid.org/0000-0001-8469-6073>, [julika-98@yandex.ru](mailto:julika-98@yandex.ru); КПШ: <https://orcid.org/0000-0002-0563-2694>, [snailik2001@mail.ru](mailto:snailik2001@mail.ru); ССА: <https://orcid.org/0000-0001-7084-3802>, [sofiyaamirkhanyan2002@mail.ru](mailto:sofiyaamirkhanyan2002@mail.ru); МАК: <https://orcid.org/0000-0002-2770-1347>, [mariya\\_2000@icloud.com](mailto:mariya_2000@icloud.com); ПВЯ: <https://orcid.org/0000-0002-4755-8111>, [polyayam@icloud.com](mailto:polyayam@icloud.com); MBF: <https://orcid.org/0000-0003-2116-1025>, [Goodgorod616@mail.ru](mailto:Goodgorod616@mail.ru); ВИП: <https://orcid.org/0000-0003-3309-4683>, [lorval04@mail.ru](mailto:lorval04@mail.ru); ИВК: <https://orcid.org/0000-0001-6134-3080>, [ikastyro@gmail.com](mailto:ikastyro@gmail.com)

**MODELING OF RHINOSURGICAL PROCEDURE IN RATS: EXPRESSION OF P53 PROTEIN AND FORMATION OF DARK NEURONS IN THE HIPPOCAMPUS**

M.G. Kostyaeva<sup>1</sup>, S.G. Dragunova<sup>1</sup>, S.S. Shilin<sup>1</sup>, K.V. Kuznetsov<sup>2</sup>, A.I. Kuznetsova<sup>3</sup>, V.K. Kleyman<sup>1</sup>, T.F. Kosyreva<sup>1</sup>, Y.E. Dyachenko<sup>1</sup>, K.P. Shalamov<sup>1</sup>, S.S. Amirkhanyan<sup>1</sup>, M.A. Kaluzhskaya<sup>1</sup>, M.V. Gorodetskiy<sup>1</sup>, V.I. Popadyuk<sup>1</sup>, A.A. Tsymbal<sup>2</sup>, I.V. Kastyro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, Russia;

<sup>2</sup>I.M.Sechenov First Moscow State Medical University

<sup>3</sup>A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry

**Резюме.** В исследовании оценивается корреляция между экспрессией белка p53 и количеством темных нейронов (ТН) в гиппокампе у крыс при экспериментальном моделировании септопластики. На 15 половозрелых крысах-самцах линии Wistar было проведено моделирование септопластики. Изучены гистологические срезы гиппокампа. В субполе СА1 количество p53-позитивных нейронов достоверно повысилось на 2-й, 4-й (p<0,001) и 6-й дни (p<0,05). В динамике пик роста экспрессии белка p53 в цитоплазме нейронов СА1 и СА2 пришелся на 2-4-е сутки после операции, а на 6-й день количество этих нейронов снизилось (p<0,001). В цитоплазме нейронов СА3 на всех сроках после хирургического вмешательства было отмечено увеличение экспрессии белка p53, по сравнению с контрольной группой. В пирамидном слое СА1 количество ТН на 6-й день снизилось (p<0,001). В СА2 через 2-е суток был отмечен минимум ТН, по сравнению с 4-м днем (p<0,001). В СА3 на 4-й день наблюдался пик ТН, по сравнению с остальными днями (p<0,001). Была обнаружена положительная сильная связь на всех сроках оценки и во всех субполях гиппокампа между ростом количества темных и p53-позитивных нейронов. Появление темных и p53-позитивных нейронов в гиппокампе у крыс после моделирования септопластики является

типичными ответными реакциями нервной ткани на стресс. Базофилия цитоплазмы нейронов может являться следствием экспрессии белка p53, а именно, морфо-функциональных изменений нейрона. Предположительно белок p53 может запускать не только апоптоз поврежденных нейронов в гиппокампе, но и играть нейропротективную роль. Предстоящие исследования должны дифференцировать механизмы экспрессии белка p53.

**Ключевые слова:** септопластика, гиппокамп, темные нейроны, p53, апоптоз, нейрогенез.

**DOI: 10.25792/HN.2022.10.2.S2.28-34**

**Для цитирования:** Костяева М.Г., Драгунова С.Г., Шилин С.С., Кузнецов К.В., Кузнецова А.И., Клейман В.К., Косырева Т.Ф., Дьяченко Ю.Е., Шаламов К.П., Амирханян С.С., Калужская М.А., Яманова П.В., Городецкий М.В., Попадюк В.И., Цымбал А.А., Кастыро И.В. Моделирование ринохирургических вмешательств у крыс: экспрессия белка p53 и формирование темных нейронов в гиппокампе. Head and neck. Russian Journal. 2022; 10 (2, Прил. 2): 28-34.

**Abstract.** The study evaluates the dependence of p53 protein expression on the appearance of dark neurons (DN) in the hippocampus in rats during experimental modeling of septoplasty. Septoplasty simulation was

carried out on 15 sexually mature male Wistar rats. We studied histological sections of the hippocampus stained with Nissl toluidine blue and antibodies to the p53 protein. In the CA1 subfield, the number of p53-positive neurons significantly increased on the 2nd, 4th (p <0.001) and 6th days (p <0.05). In the dynamics, the peak of the growth of p53 protein expression in the cytoplasm of CA1 and CA2 neurons fell on the 2-4th day after the operation, and on the 6th day the number of these neurons decreased (p <0.001). In the cytoplasm of CA3 neurons at all periods after surgery, an increase in the expression of the p53 protein was noted as compared to the control group. In the CA1 pyramidal layer, the number of DN decreased on the 6th day (p <0.001). In CA2, after 2 days, a minimum of DN was noted, compared with the 4th day (p <0.001). In CA3, on the 4th day, there was a peak in DN, compared with the rest of the days (p <0.001). A positive strong association was found at all periods of assessment and in all subfields of the hippocampus between an increase in the number of dark and p53-positive neurons. The appearance of dark and p53-positive neurons in the hippocampal formation in rats after simulating septoplasty are typical responses of nervous tissue to stress. It is obvious that the expression of the p53 protein is associated with the basophilia of the cytoplasm of neurons, their morpho-functional state. Presumably, the p53 protein can trigger not only the activation of damaged neurons in the hippocampus, but also play a neuroprotective role. Upcoming studies should determine the role of the p53 protein in the further fate of damaged neurons in the pyramidal layer and differentiate the mechanisms of its expression.

**Key words:** septoplasty, hippocampus, dark neurons, p53, apoptosis, neurogenesis.

**For citations:** Kostyaeva M.G., Dragunova S.G., Shilin S.S., Kuznetsov K.V., Kuznetsova A.I., Kleyman V.K., Kosyreva T.F., Dyachenko Y.E., Shalamov K.P., Amirkhanyan S.S., Kaluzhskaya M.A., Gorodetskiy M.V., Popadyuk V.I., Tsymbal A.A., Kastyro I.V. Modeling of rhinosurgical procedure in rats: expression of p53 protein and formation of dark neurons in the hippocampus. Head and neck. Russian Journal. 2022; 10 (2, Suppl. 2): 28-34 (In Russian).

**Введение.** Белок p53 вместе с p63 и p73 составляют семейство транскрипционных факторов, которые регулируют фундаментальные процессы, включая пролиферацию, дифференцировку, старение и гибель клеток [1]. Эти белки были широко изучены в онкогенезе, но роль членов семейства в постмитотических нейронах до сих пор изучена недостаточно. Некоторые исследования предполагают, что это семейство может участвовать

как в процессе развития нейронов, так и в нейродегенерации [2, 3]. Белок p53 является активатором транскрипции определенного набора генов-мишеней, ингибирующих клеточный цикл регуляторным фактором и эффектором клеточных ответов на повреждения, которые включают остановку клеточного цикла и апоптоз [4]. Вместе с тем, p53 является нейропротектором в модели таупатии in vivo. Поврежденные (тёмные) нейроны имеют специфические морфологические признаки: усохшая цитоплазма, сморщенное ядро с сегментированным хроматином и неровными границами, штопорообразный аксон [5, 6]. Считается, что в этих нейронах произошел запуск запрограммированной гибели клеток, в том числе и с участием белка p53 [7]. Существует мнение, что p53 участвует и в нейропротекции, в нейрогенезе. Точные механизмы апоптоза у ТН изучены не до конца. Однако не исключается, что темные нейроны при определенных условиях способны к восстановлению своего морфофункционального состояния [5].

Моделирование прямых и опосредованных стрессовых воздействий на головной мозг приводит к нарушению функционального состояния нейронов с последующими морфологическими изменениями [8]. Особое внимание при стрессе уделяется гиппокампу [9-11]. Нейроны его пирамидного слоя чувствительны к различным стрессовым факторам, в том числе и при хирургическом стрессе. Так было показано, что моделирование хирургических манипуляций в полости носа у крыс провоцирует экспрессию белка p53 в нейронах гиппокампа и появление темных нейронов [6, 12, 13]. При этом исследования, оценивающие параллелизм этих процессов при моделировании септопластики у крыс, не проводилось.

**Цель исследования.** В настоящем исследовании оценивается зависимость появления темных нейронов от экспрессии белка p53 в гиппокампе у крыс при экспериментальном моделировании септопластики.

**Материал и методы.** *Хирургическое вмешательство.* Работа была проведена на 20 половозрелых крысах-самцах линии Wistar массой 205,25±10,15 г. 5 крыс составили контрольную группу. За 10 минут до операции 15 крысам, которые составили экспериментальную группу, в целях общей анестезии внутривенно вводили раствор золетила 100 в дозировке 15 мг/кг. Моделирование септопластики проводили стандартным методом путем зигзагообразной скарификации слизистой оболочки полости носа (рис.1 А) [14].

*Иммуногистохимическая и гистологическая оценка головного мозга.* В экспериментальной группе крыс эвтаназию проводили на 2-е, 6-е и 14-е сутки после операции по 5 особей путем введения

летальных доз золетила 100. Фиксацию головного мозга как в контрольной, так и в экспериментальной группах проводили до трепанации черепа путем перфузии через сердце физиологического раствора, а затем 10% раствора формалина в течении 5-10 мин. После трепанации черепа головной мозг фиксировали аппликацией 10% раствором формалина, после чего извлекали и заключали в парафиновые блоки. Получали 8 срезов головного мозга во фронтальной плоскости толщиной 4 мкм с каждой крысы. 4 среза окрашивали методами иммуногистохимии к белку p53 с докрасиванием гематоксилином Майера и 4 среза толуидиновым синим по Нисслю. Окрашенные стекла заключались в специальную полимерную ленту.

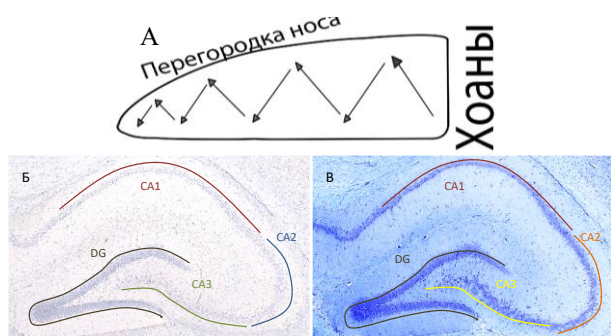


Рис. 1. А. Схема проведения моделирования септопластики. Стрелками указано направление скарификации слизистой перегородки носа. Б. Расположение субполей гиппокампа крысы. Иммуногистохимическая реакция анти-p53. Докрасивание гематоксилином Майера. Ув.х3.5 В. Расположение субполей гиппокампа крысы. Окрашивание по Нисслю.

Изучали субполя гиппокампа CA1, CA2, CA3 и зубчатую извилину (DG) (рис.1 Б, В). В пирамидном слое субполей подсчитывали количество нейронов, у которых была положительная реакция с антителами к белку p53 в цитоплазме, а также количество темных нейронов (рис.2). *Статистический анализ.* Полученные данные подсчета клеток были представлены как среднее значение  $\pm$  SE. Затем их сравнивали между данными подсчета нейронов в контрольной и экспериментальной группах с помощью t-теста с SPSS 21software, а также проводили корреляционный анализ между количеством ТН и количеством p53-позитивных нейронов в экспериментальной группе в программе Microsoft Excel.

**Результаты исследования.** *P53-позитивные нейроны.* Согласно критерию Манн-Уитни, в субполе гиппокампа CA1 количество p53-позитивных нейронов достоверно повысилось на 2-й, 4-й ( $p < 0,001$ ) и 6-й дни ( $p < 0,05$ ) после проведения

моделирования септопластики, по сравнению с контрольной группой. В динамике пик роста экспрессии белка p53 в цитоплазме пирамидного слоя CA1 и CA2 гиппокампа пришелся на 2-4-е сутки после операции, а на 6-й день количество этих нейронов значительно снизилось ( $p < 0,001$ ).

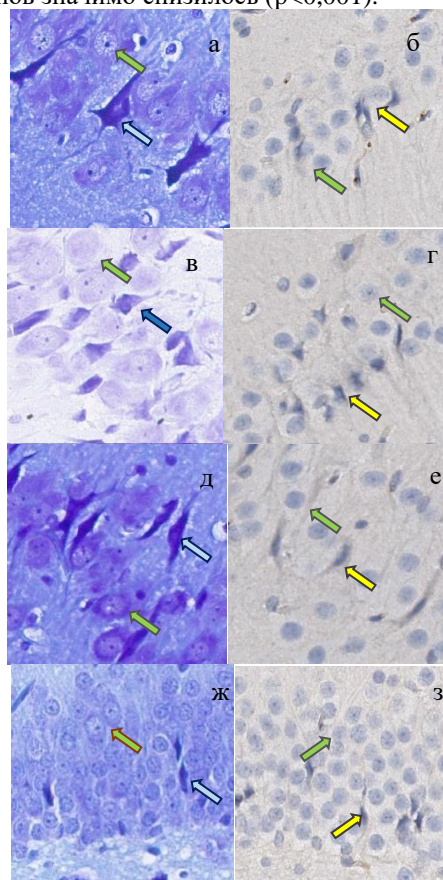


Рис. 2. P53-позитивные нейроны (б, г, е, з) (желтые стрелки, окр. мышинными моноклональными антителами к белку p53, ув.х400) и темные нейроны (а, в, д, ж) (голубые стрелки, окр.толуидиновым синим по Нисслю, ув.х400) в гиппокампе у крыс на 2-й (а, б), 4-й (в, г) и 6-й дни (д, е) после моделирования септопластики. Примечание: зелеными стрелками обозначены интактные нейроны.

При этом в субполе CA2 на 6-й день по p53-позитивным нейронам экспериментальная группа не отличалась от контрольной (рис.3а). В пирамидном слое субполя CA3 на всех сроках после хирургического вмешательства была отмечена повышенная стойкая экспрессия в цитоплазме нейронов белка p53, по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,001$ ).

В зубчатой извилине у крыс экспериментальной группы, по сравнению с интактными крысами, количество p53-позитивных нейронов было значительно выше на всех сроках оценки. При этом пик

численности этих клеток пришелся на 4-й день, по сравнению с остальными постоперационными сроками ( $p < 0,001$ ) (рис.3а)

**Темные нейроны.** По количеству ТН в пирамидном слое гиппокампа в экспериментальной и контрольной группах распределение данных было не Гаусово. Согласно критерию Манн-Уитни, пирамидном слое субполя СА1 количество темных нейронов на 2-й и 4-й постоперационный день достоверно не отличалось от контрольной группы, но на 6-й день после моделирования септопластики было отмечено снижение их количества ( $p < 0,001$ ). В субполе СА2 экспериментальной группы через 2-е суток после операции было отмечено минимальное количество темных нейронов, по сравнению с 4-м

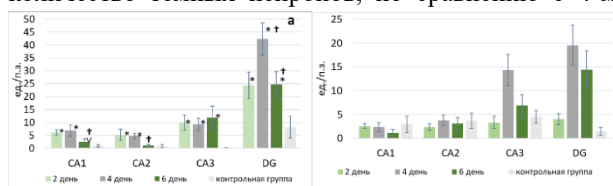


Рис. 3. Динамика изменения количества р53-позитивных нейронов (р53) (а) и темных нейронов (б) при моделировании септопластики. Примечание: \* – достоверные различия между данными контрольной группы и сроками после операции ( $p < 0,001$ );  $\vee$  – достоверные различия между данными контрольной группы и сроками после операции ( $p < 0,05$ );  $\dagger$  – достоверные различия между сроками после операции внутри экспериментальной группы ( $p < 0,001$ );  $\ddagger$  – достоверные различия между сроками после операции внутри экспериментальной группы ( $p < 0,05$ ).

**Корреляция между р53-позитивными и темными нейронами.** При сопоставлении количества нейронов, в которых белок р53 экспрессировался в цитоплазме, и количества темных нейронов, была обнаружена положительная сильная связь на всех сроках оценки и во всех субполях гиппокампа (табл.1). Самый низкий  $R^2$  был обнаружен при оценке субполя СА2 на 4-й день после операции.

Субполя	Дни после моделирования септопластики		
	2й ( $R^2$ )	4-й ( $R^2$ )	6-й ( $R^2$ )
СА1	0,83	0,92	0,74
СА2	0,91	0,64	0,7
СА3	0,84	0,7	0,69
DG	0,92	0,7	0,81

Табл. 1. Коэффициенты детерминации при сопоставлении количества темных нейронов (ТН) и количества р53-позитивных нейронов (р53) в гиппокампальной формации после моделирования септопластики.

**Обсуждение.** Неизбежным фактором, влияющим на морфо-функциональное состояние организма, является стресс [8, 15-17]. Апоптоз нейронов возникает при различных физиологических и

патологических процессах и является генетически контролируемой формой гибели клеток [18].

днем ( $p < 0,001$ ). В субполе СА3 на 4-й день после операции наблюдался пик численности ТН в пирамидном слое, по сравнению с остальными днями ( $p < 0,001$ ). В контрольной группе количество ТН не отличалось от 2-го дня, но было достоверно ниже, по сравнению с 4-м ( $p < 0,001$ ) и 6-м ( $p < 0,05$ ) днями после операции (рис.3б)

В DG наблюдались аналогичные результаты, что и в субполе СА3. Так, на всех сроках после септопластики ТН было значимо больше, чем в контрольной группе ( $p < 0,001$ ). На 4-й день произошло резкое увеличение количества ТН, по сравнению со 2-м днем, а затем – отрицательная динамика на 6-й день ( $p < 0,001$ ) (рис.3б)

патологических процессах и является генетически контролируемой формой гибели клеток [18].

Формирование темных нейронов в субполях СА1 и СА3 гиппокампа крыс в настоящем исследовании, по-видимому, является типовой реакцией на стресс, который в данном случае спровоцирован воспалительными реакциями. Так, ранее было показано, что при моделировании острого перитонита у свиней и крыс в субполях СА1 и СА2 также наблюдается образование темных нейронов [19]. Это связывают с активацией механизмов апоптоза, так как рост количества ТН коррелирует с положительными TUNEL-нейронами [17]. Другие исследования также подтверждают, что сморщивание нейрона и его базофилия могут служить надежными признаками начинающейся его дегенерации [19, 20]

Синтез белка р53 активируется клеточным стрессом и повреждением ДНК. В зависимости от тяжести стресса и конкретного типа клеток он может способствовать адаптивным ответам на стресс, запускать остановку клеточного цикла или апоптоз [21]. Исследования клеточных культур установили сильную корреляцию между экспрессией р53 и эксцитотоксической гибелью нейронов, вызванной глутаматом, N-метил-D-аспаратом (NMDA), агонистом рецептора NMDA хинолиновой кислотой и каиновой кислотой [22, 23].

Кроме широко изученной роли р53 как регулятора запуска апоптоза, была продемонстрирована и его нейропротекторная роль [24]. Так, результаты P. Merlo et al. предполагают, что синапс является важной мишенью р53 в нейропротекции при некоторых нейродегенеративных заболеваниях. Р53 контролирует транскрипцию генов, кодирующих ключевые белки экзоцитоза синаптических пузырьков и рециркуляции. Это показывает новый аспект ответа р53 на клеточное повреждение и предполагает защитный молекулярный механизм против одного из первых проявлений нейродегенерации. Предполагается, что вместо того, чтобы способствовать гибели клеток, р53 может быть



частью древней и консервативной защитной реакцией на стресс, которая необходима для защиты нейронов и поддержания нейронных систем, включая синаптическую функцию [3].

Было показано, что p53 необходим для смягчения нарушений дифференцировки и роста нейронов после их облучения и, таким образом, может играть существенную роль в регулировании поздних эффектов в мозге после проведения радиотерапии [25]. Показано, что p53 регулирует некротическую гибель и аутофагическую активность нейронов [26].

В предыдущих исследованиях нами было продемонстрировано, что при моделировании септопластики в гиппокампе у крыс встречаются нейроны, в которых белок p53 появляется как исключительно в цитоплазме, так и в ядре [6, 27, 28]. В последнем случае нейроны носили характерные морфологические признаки дегенерации – склеивание хроматина, нечеткость границ ядра, а в ряде случаев – распад клетки [6]. Можно предположить, что p53 может и не носить исключительно роль регулятора апоптоза.

Ранее также было показано, что темные нейроны могут восстанавливать свое морфо-функциональное состояние за счет увеличения цистерн гранулярной эндоплазматической сети, переходом этого процесса на астроцитарные отростки и, как следствие, с последующим снижением степени уплотнения клетки [5]. Кроме этого, ТН могут иметь признаки конечного некротического распада клетки независимо от причины гибели нейрона, в том числе и от апоптоза [7]. При этом маркеры апоптоза могут появляться и отсроченно [29], особенно после нейрональных повреждений, индуцированных кортикотропин-релизинг гормоном [30], что в дальнейшей перспективе может привести к различным нейробиологическим последствиям – нарушению памяти, поведенческих реакций и др. [31]. Ранее нами было показано, что моделирование септопластики у крыс провоцирует повышение тонуса симпатической нервной системы и концентрации кортикостерона в плазме крови в течение первых 4-5 дней после операции [32]. Кроме того, в предыдущих исследованиях нами были получены результаты, демонстрирующие, что при данном виде хирургических вмешательств изменяются поведенческие реакции и развивается тревожное состояние у крыс [14], что можно связать не только с развитием общих воспалительных реакций, но и с сенсорной депривацией периферического отдела обонятельного анализатора [6, 32]. Обнаруженные в настоящем исследовании высокие коэффициенты детерминации подтверждают теорию того, что появление темных нейронов в гиппокампе и зубчатой извилине тесно связано с экспрессией белка p53 при хирургическом

стрессе, спровоцированном моделированием септопластики у крыс.

**Заключение.** Появление темных и p53-позитивных нейронов в гиппокампальной формации у крыс после моделирования септопластики является типовыми ответными реакциями нервной ткани на стресс. Очевидно, что экспрессия белка p53 связана с базофилией цитоплазмы нейронов, их морфо-функциональным состоянием.

**Конфликт интересов:** Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES

1. Collavin L., Lunardi A., Del Sal G. p53-family proteins and their regulators: Hubs and spokes in tumor suppression. *Cell Death Differ.* 2010; 17(6): 901–911.
2. Cancino G.I., Yiu A.P., Fatt M.P., Dugani C.B., Flores E.R. Frankland, P.W., Josselyn S.A., Miller F.D., Kaplan D.R. p63 regulates adult neural precursor and newly born neuron survival to control hippocampal-dependent behavior. *J Neurosci.* 2013; 33(31): 12569–12585.
3. Merlo P., Frost B., Peng S., Yang Y.J., Park P.J., Feany M. p53 prevents neurodegeneration by regulating synaptic genes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014; 111 (50): 18055–18060.
4. Sheahan S., Bellamy C. O., Treanor L., Harrison D.J., Prost S. Additive effect of p53, p21 and Rb deletion in triple knockout primary hepatocytes. *Oncogene.* 2003; 23(8): 1489–1497.
5. Csordás A., Mázló M., Gallyas F. Recovery versus death of “dark” (compacted) neurons in non-impaired parenchymal environment. Light and electron microscopic observations. *Acta Neuropathol.* 2003; 106: 37–49.
6. Kastyro I.V., Reshetov I.V., Khamidulin G.V., Shilin S.S., Torshin V.I., Kostyaeva M.G., Popadyuk V.I., Yunusov T.Y., Shmaevsky P.E., Shalamov K.P., Kupryakova A.D., Doroginskaya E.S., Sedelnikova A.D. Influence of Surgical Trauma in the Nasal Cavity on the Expression of p53 Protein in the Hippocampus of Rats. *Doklady Biochemistry and Biophysics.* 2021; 497: 99–103.
7. Kövesdi E., Pál J., Gallyas F. The fate of “dark” neurons produced by transient focal cerebral ischemia in a non-necrotic and non-excitotoxic environment: Neurobiological aspects. *Brain Research.* 2007; 1147: 272–283.
8. Haider S., Naqvi F., Batoool Z., Tabassum S., Perveen T., Saleem S., Haleem D.J. Decreased Hippocampal 5-HT and DA Levels Following Sub-Chronic Exposure to Noise Stress: Impairment in both Spatial and Recognition Memory in Male Rats. *Sci Pharm.* 2012; 80(4): 1001–1011.
9. Kirichuk V.F., Tsymbal A.A. Use of terahertz electromagnetic radiation at nitric oxide frequencies for the correction of thyroid functional state during stress.

Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk. 2010; 4: 37 – 40.

10. Tsymbal A.A., Kirichuk V.F. Changes gas and electrolyte structure of blood under influence terahertz radiations on frequencies nitrogen oxide 150,176-150,664 GHz in the conditions of stress. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2011; 1: 49 – 51.

11. Cui B., Wu M.Q., Zhu L.X., She X.J., Ma Q., Liu H.T. Effect of chronic noise exposure on expression of N-methyl-D-aspartic acid receptor 2B and Tau phosphorylation in hippocampus of rats. *Biomed Environ Sci*. 2013; 26(3): 163-8.

12. Kastyro I.V., Kostyaeva M.G., Torshin V.I., Eremina I.Z., Ermakova N.V., Khamidulin G.V., Fatkhudinov T.K., Guschina Yu.Sh., Surovtsev V.V., Drozdova G.A. The study of the effect of stress on the morphological changes in the hippocampus after surgical interventions in the nasal region. *Morphology*. 2019, 156(4): 25-34 (In Russian);

13. Kostyaeva M., Fatkhudinov T., Dragunova S., Kosyreva T., Kastyro I. Expression of p53 protein in the hippocampus with increased activity of the adrenal cortex after traumatization of the nasal septum in rats. *Virchows Archiv*. 2020; 479.

14. Kastyro I.V., Reshetov I.V., Khamidulin G.V., Shmaevsky P.E., Karpukhina O.V., Inozemtsev A.N., Torshin V.I., Ermakova N.V., Popadyuk V.I. The Effect of Surgical Trauma in the Nasal Cavity on the Behavior in the Open Field and the Autonomic Nervous System of Rats. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2020; 492: 121–123.

15. Kirichuk V.F., Tsymbal A.A., Antipova O.N., Tupikin V.D., Maiborodin A.V., Krenitskii A.P., Betskii O.V. Correction of acute stress-induced disorders of hemostasis using KVCh-NO apparatus. *Biomedical Engineering*. 2006; 40(1):33-37.

16. Ravindran R., Rathinasamy S.D., Samson J., Senthilvelan M. Noise stress induced brain neurotransmitter changes and the effect of *Ocimum sanctum* (Linn) treatment in albino rats. *J. Pharmacol Sci*. 2005; 98:354–360.

17. Rezaei M., Sazegar G., Homayoun M. Effect of chronic noise exposure on neuron in the hippocampus of wistar rats. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research (IJBR)*. 2016; 7(2): 434-442.

18. Saeedi Borujeni MJ, Hami J, Hagher H, Rastin M, Sazegar Gh. Evaluation of Bax and Bcl-2 Proteins Expression in the Rat Hippocampus due to childhood Febrile Seizure. *Iran J Child Neurol*. 2016; 10(1):53-60.

19. Ari I., Kafa I.M., Kurt M.A. Morphometric investigation of neurons in the hippocampal CA1, CA3 areas and dentate gyrus in a rat model of sepsis. *Int. J. Morphol*. 2010; 28(1): 183-192.

20. Kafa I.M., Ari I., Kurt M.A. The perimicrovascular edema in hippocampal CA1 area in a rat model of sepsis. *Neuropathology*. 2007; 27(3): 213-220.

21. Joers A., Jaks V., Kase J., Toivo M. p53-dependent transcription can exhibit both on/off and graded response after genotoxic stress. *Oncogene*. 2004; 23(37): 6175-85.

22. Xiang H., Kinoshita Y., Knudson C.M., Korsmeyer S.J., Schwartzkroin P.A., Morrison R.S. Bax involvement in p53-mediated neuronal cell death. *J. Neurosci*. 1998 18(4):1363-73.

23. Cregan S.P., MacLaurin J.G., Craig C.G., Robertson G.S., Nicholson D.W., Park D.S., Slack R.S. Bax-dependent caspase-3 activation is a key determinant in p53-induced apoptosis in neurons. *J. Neurosci*. 1999; 19(18): 7860-9.

24. Khurana V., Merlo P., DuBoff B., Fulga T.A., Sharp K.A., Campbell S.D., Götz J., Feany M.B. A neuroprotective role for the DNA damage checkpoint in tauopathy. *Aging Cell*. 2012; 11(2): 360–362.

25. Li Y.-Q., Cheng Z.W.-C., Liu S.K.-W., Aubert I., Wong C.S. P53 regulates disruption of neuronal development in the adult hippocampus after irradiation. *Cell Death Discovery*. 2016; 2: 16072.

26. Wang D.B., Kinoshita C., Kinoshita Y., Morrison R.S. p53 and mitochondrial function in neurons. *Biochim Biophys Acta*. 2014; 1842(8):1186-97.

27. Torshin V.I., Kastyro I.V., Reshetov I.V., Kostyaeva M.G., Popadyuk V.I. The Relationship between P53-Positive Neurons and Dark Neurons in the Hippocampus of Rats after Surgical Interventions on the Nasal Septum. // *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2022; 502: 30–35.

28. Kostyaeva M.G., Kastyro I.V., Yunusov T.Yu., Kolomin T.A., Torshin V.I., Popadyuk V.I. Dragunova S.G., Shilin S.S., Kleiman V.K., Slominsky P.A., Teplov A.Y. Protein p53 expression and dark neurons in rats hippocampus after experimental septoplasty simulation. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya (Molecular Genetics, Microbiology and Virology)*. 2022;40(1):39–45.

29. Mikati M.A., Abi-Habib R.J., El Sabban M.E., Dbaibo G.S., Kurdi R.M., Kobeissi M., Farhat F., Asaad W. Hippocampal Programmed Cell Death after Status Epilepticus: Evidence for NMDA-Receptor and Ceramide-Mediated Mechanisms. *Epilepsia*. 2003; 44: 282-291.

30. Ribak C.E., Baram T.Z. Selective death of hippocampal CA3 pyramidal cells with mossy fiber afferents after CRH-induced status epilepticus in infant rats. *Dev Brain Res*. 1996; 91: 245–51.

31. Kastyro I.V., Inozemtsev A.N., Shmaevsky P.E., Khamidullin G.V., Torshin V.I., Kovalenko A.N., Pryanikov P.D., Guseinov I.I. The impact of trauma of the mucous membrane of the nasal septum in rats on behavioral responses and changes in the balance of the

autonomic nervous system (pilot study). J. Phys.: Conf. Ser. 2020; 1611 (012054).

32. Kastyro I.V., Popadyuk V.I., Reshetov I.V., Kostyaeva M.G., Dragunova S. G., Kosyreva T.F., Khamidulin G.V., Shmaevsky P.E. Changes in the Time-Domain of Heart Rate Variability and Corticosterone after Surgical Trauma to the Nasal Septum in Rats. Doklady Biochemistry and Biophysics. 2021; 499: 247–250.