

ОЦЕНКА ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ КОМБИНАЦИЙ НООТРОПОВ С МЕЛАКСЕНОМ ПОСРЕДСТВОМ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА НА МОДЕЛИ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА У КРЫС

Е. В. Ганцгорн*, Д. П. Хлопонин, П. А. Хлопонин, Ю. С. Макляков

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России
344022, Российская Федерация, Ростов-на-Дону, Нахичеванский пер., д. 29

Посредством комплексного морфологического анализа на модели острой церебральной ишемии у крыс изучена церебропротекторная активность ноотропов и их комбинаций с лекарственным препаратом (ЛП) мелатонина — мелаксеном. Получены достоверные данные, свидетельствующие о том, что профилактическое использование комбинации винпоцетина и мелаксена в значительной степени уменьшает летальность животных и выраженность у них ишемического повреждения головного мозга (ГМ). Постулировано мнение о потенциальной целесообразности применения содержащих мелатонин ЛП для повышения эффективности нейропротекции при церебральной ишемии.

Ключевые слова: церебральная ишемия, морфологический анализ, нейропротекция, ноотропы, мелаксен

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Ганцгорн Е.В., Хлопонин Д.П., Хлопонин П.А., Макляков Ю.С. Оценка церебропротекторной активности комбинаций ноотропов с мелаксеном посредством морфологического анализа на модели ишемии головного мозга у крыс. *Биомедицина*. 2019;15(3):41–48. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-3-41-48>

Поступила 01.07.2019

Принята после доработки 18.07.2019

Опубликована 10.09.2019

EVALUATION OF THE CEREBROPROTECTIVE ACTIVITY OF NOOTROPICS IN COMBINATION WITH MELAXEN BY A MORPHOLOGICAL ANALYSIS USING A MODEL OF BRAIN ISCHEMIA IN RATS

Elena V. Gantsgorn*, Dmitriy P. Khloponin, Peter A. Khloponin, Yuriy S. Maklyakov

Rostov State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation
344022, Russian Federation, Rostov-on-Don, Nakhichevanskyj lane, 29

The cerebroprotective activity of nootropics in combination with melaxen (melatonin containing drug) was investigated by a comprehensive morphological analysis using an experimental model of acute cerebral ischemia in rats. According to the obtained data, a preventive use of vinpocetine in combination with melaxen significantly reduces the degree of lethality among experimental animals and the severity of ischemic brain damage. A suggestion is made about the potential feasibility of melatonin-containing drugs for increasing the efficacy of neuroprotection in cerebral ischemia.

Keywords: cerebral ischemia, morphological analysis, neuroprotection, nootropics, melaxen

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Gantsgorn E.V., Khloponin D.P., Khloponin P.A., Maklyakov Yu.S. Evaluation of the Cerebroprotective Activity of Nootropics in Combination with Melaxen by a Morphological Analysis Using a Model of Brain Ischemia in Rats. *Journal Biomed.* 2019;15(3):41–48. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-3-41-48>

Submitted 01.07.2019

Revised 18.07.2019

Published 10.09.2019

Введение

Цереброваскулярные заболевания — одна из основных причин заболеваемости, смертности и инвалидизации в большинстве экономически развитых и развивающихся стран мира [5, 11]. В России уровень заболеваемости, в частности инсультом, — один из самых высоких в мире и составляет более 450 случаев на 100 тыс. населения [6]. Следует подчеркнуть, что в нашей стране от цереброваскулярной патологии люди умирают в более молодом возрасте, чем в странах Запада. Так, в США среди всех случаев смертности от болезней системы кровообращения менее 10% приходится на возраст до 65 лет [8], в то время как в России в этом возрасте умирают до 30% больных. Более того, в России смертность от инсульта — одна из самых высоких в мире. На ее долю приходится около 180 смертей на каждые 100 тыс. человек. Важно отметить, что именно основные последствия ишемии ГМ (ИГМ) — инсульт и сосудистая деменция — являются ведущей причиной первичной инвалидизации населения. По данным Национальной ассоциации по борьбе с инсультом, 30% пациентов, перенесших инсульт, для ухода за собой нуждаются в посторонней помощи, а 20% — не могут самостоятельно ходить [6, 7]. Таким образом, инсульт представляет собой важнейшую медико-социальную проблему.

В связи с этим разработка методов защиты ГМ от повреждающего воздействия ишемии является приоритетным направлением современной фармакологии.

Особый интерес для профилактики и лечения ИГМ представляет гормон эпифиза мелатонин, обладающий многофункциональной активностью, в т. ч. выраженным антиоксидантным действием [1, 9, 14]. В связи с этим потенциально велика роль мелатонина и в осуществлении защиты ГМ от инсульта.

В целях полноценного анализа патологических изменений в органах и тканях животных, подвергшихся воздействию факторов ишемической природы, а также для достоверной оценки нейропротекторной активности ЛПП обязательным и важным является проведение морфологического анализа.

Цель исследования — посредством оценки выживаемости и световой и электронной микроскопии изучить церебропротекторную активность пирацетама, винпоцетина, содержащего мелатонин ЛПП мелаксена и их комбинаций при экспериментальной ИГМ (ЭИГМ) у крыс.

Материалы и методы

Исследование выполнено на 112 крысах-самцах популяции линий Wistar массой 250–300 г. За 14 дней до моделирования ИГМ животные были разделены на группы контроля (ложнооперированные (ЛО) и подвергшиеся ИГМ (ИШ)), получавшие физ. р-р в дозе 0,2 мл/сут в/б, и 5 опытных групп, которым производилась ИГМ путем двухсторонней окклюзии общих сонных артерий (ОСА) по окончании 2-недельного курса введения изучаемых ЛПП: мелаксе-

на (М) в дозе 0,25 мг/кг/сут в/б; пирацетам (П) в дозе 300 мг/кг/сут в/б и винпоцетина (В) в дозе 5 мг/кг/сут в/б, а также их комбинаций с мелаксеном (ПМ и ВМ).

24 ч спустя после ИГМ выжившие крысы подвергались эвтаназии. Забор экспериментального материала (образцы лобной коры ГМ и гиппокампа) производился у 3-х крыс из каждой группы. Обработка материала проводилась согласно общепринятым протоколам. Извлеченные ткани промывали в холодном 0,1 моль/л буферном р-ре натрия фосфата (рН=7,4). Далее в форме кусочков размером 1×1 мм они фиксировались в холодном 2,5% р-ре глутаральдегида на 0,1 М фосфатном буфере (рН=7,4) с последующей постфиксацией 1% р-ром тетраоксида осмия. Материал промывали в холодном р-ре фосфатного буфера, обезживали в спиртах восходящей концентрации и заливали в аралдит. Полимеризацию блоков производили ступенчато при t° = 48; 59 и 80°C. После прицельной заточки блоков ультратонкие срезы (50–90 нм) изготавливали на ультрамикротоме LKB–8800. Срезы контрастировали в 2,5% спиртовом р-ре уранил-ацетата [12, 13] и р-ре цитрата свинца [10], а затем просматривали в просвечивающем электронном микроскопе Tecnai G2 Spirit Bio TWIN с системой фотосъемки Tecnai Plate Camera System и циф-

ровой видеокамерой высокого разрешения SIS MegaView III.

Результаты и их обсуждение

Предварительно проведенный анализ выживаемости крыс показал, что в группе ЛО 24-часовую двухстороннюю окклюзию ОСА пережили 100% крыс.

Как видно из данных, представленных в табл. 1, в группе ИШ (контроль II уровня) суточная выживаемость была минимальной и составила всего 34,8%.

В течение 24 ч постишемического периода процент выживаемости в группе П отличался от контроля на 9,6%, составив 44,4%. На фоне введения мелаксена и винпоцетина показатель выживаемости через 1 сут после ЭИГМ был выше и равнялся 50 и 61,5% соответственно. При превентивном введении комбинации пирацетама и мелаксена выживаемость крыс составила 53,3%, а при совместном введении винпоцетина с мелаксеном — 80,0%.

При световой и электронной микроскопии тканевых элементов ГМ крыс через 24 ч после окклюзии ОСА (рис. 1) были выявлены отчетливые изменения, характерные для острого ишемического состояния нервных клеток, и, прежде всего, их четкая дифференциация на «светлые» и «темные», связанная с выраженным полиморфизмом

Таблица 1. Влияние изучаемых ЛП на показатели выживаемости крыс при ЭИГМ

Table 1. Effect of the studied drugs on the survival rates of rats with acute cerebral ischemia

Группы животных	Количество прооперированных животных	Количество животных, переживших 24-часовую двухстороннюю окклюзию ОСА	Количество животных, умерших после 24-часовой двухсторонней окклюзии ОСА	Выживаемость, %
ИШ	46	16	30	34,8
П	36	16	20	44,4*
М	32	16	16	50,0*
В	26	16	10	61,5**
ПМ	30	16	14	53,3**
ВМ	20	16	4	80,0**

Примечание: * — статистически значимые отличия по сравнению с ИШ при $p \leq 0,05$; ** — статистически значимые отличия по сравнению с ИШ при $p \leq 0,01$.

Note: * — statistically significant differences compared with the control group at $p \leq 0.05$; ** — statistically significant differences compared with the control group at $p \leq 0.01$.

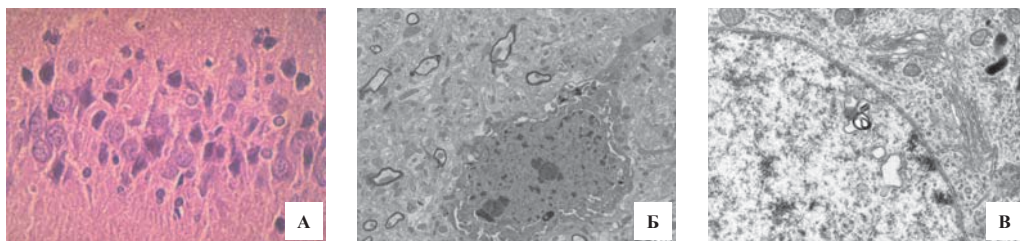


Рис. 1. Кора ГМ и гиппокамп. Группа ИШ. А — световая микроскопия, окраска гематоксилином-эозином. Ув. $\times 400$. Гиперхроматоз нейронов гиппокампа. Б, В — ультраструктура. Электронная микроскопия. Ув. Б) 4200 («темный» нейрон); В) 6500 (деструктивные изменения в кариоплазме нейрона).

Fig. 1. Cortex and hippocampus. The control group (acute cerebral ischemia). А — light microscopy. Staining with hematoxylin and eosin. Magn. $\times 400$. Hyperchromatosis of the hippocampal neurons. Б, В — ultrastructure. Electron microscopy. Magn. Б) 4200 ("dark" neuron); В) 6500 (destructive changes in the neuron karyoplasm).

нейронов по составу, характеру распределения и объему структурных элементов белоксинтезирующей системы.

Кроме того, очевидными морфологическими проявлениями ИГМ были явления хроматолиза; вакуолизация цитоплазмы; набухание и сморщивание тел и отростков нейронов; активация фагоцитоза; изменения структурно-функционального состояния ядер нейрона — модификация их формы; величины, структуры и топологии ядрышка; возрастание количества конденсатов хроматина; выявление множества пор в кариотеке.

Нарушалось при ИГМ и структурно-функциональное состояние гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). Наиболее типичными в этом отношении были выраженные явления отека и снижение электронной плотности цитоплазмы астроцитов. Для ядер астроцитов, как и для нейронов, были свойственны признаки конденсации хроматина. В целом в сосудах микроциркуляторного русла очевидны признаки замедления и даже полного выключения кровотока.

Проведенный сравнительный морфологический анализ изученного материала в группах ЛО и ИШ показал, что в условиях церебральной ишемии отмечаются выраженные дистрофические и дегенераторные изменения нервных и нейроглиальных клеток, но наиболее чувствительными к ишемии оказались пирамидные клетки

3-го слоя коры ГМ и СА1-поля гиппокампа, т. к. именно среди них регистрировалось не только большее число поврежденных нейронов, но и более глубокая степень их повреждения.

Анализ морфологических эффектов исследуемых нами ЛП продемонстрировал ряд особенностей их влияния на элементы нервной ткани в условиях ЭИГМ.

Так, введение мелаксена перед моделированием ЭИГМ (рис. 2) улучшало морфофункциональное состояние и нейронов, и глиоцитов, хотя и не было лишено ряда негативных проявлений влияния на ГМ, к которым можно отнести набухание ядер нейроцитов (особенно выраженное в гиппокампе), поскольку свидетельствовало о нарастании гидрофильности кариоплазмы и способности этого ЛП в условиях гипоксии повышать проницаемость клеточных мембран, а также ядерной оболочки.

Проведенный светооптический и электронно-микроскопический анализ биологического материала, взятого из ГМ экспериментальных животных в группе ПМ (рис. 3), показал, что использование комбинации пирacetama с мелаксеном не оказывало видимого протекторного эффекта на состояние нейронов и глии коры ГМ и гиппокампа. Более того, вероятен был даже неблагоприятный характер воздействия вышеуказанной комбинации ЛП на ишемизированную нервную ткань, про-

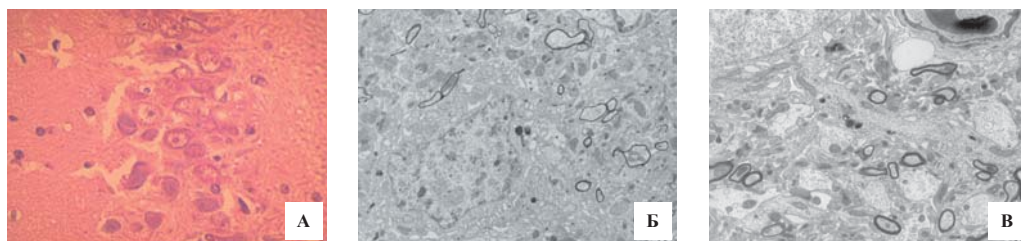


Рис. 2. Кора ГМ и гиппокамп. Группа М. А — световая микроскопия, окраска гематоксилином-эозином. Ув. $\times 400$. Гиперхромные нейроны поля СА1. Б, В — ультраструктура. Электронная микроскопия. Ув. Б) 4200 (конденсация хроматина в кариоплазме «темнеющего» нейрона); В) 6000 («светлый» нейрон).

Fig. 2. Cortex and hippocampus. Melaxen. A — light microscopy. Staining with hematoxylin and eosin. Magn. $\times 400$. Hyperchromic neurons of the CA1 field. Б, В — ultrastructure. Electron microscopy. Magn. Б) 4200 (chromatin condensation in the karyoplasm of the darkening neuron); В) 6000 ("light" neuron).

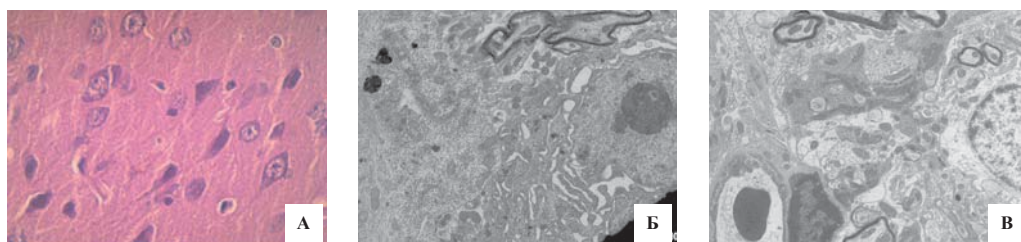


Рис. 3. Кора ГМ и гиппокамп. Группа ПМ. А — световая микроскопия, окраска гематоксилином-эозином. Ув. $\times 400$. Гиперхромные нейрциты коры ГМ. Б, В — ультраструктура. Электронная микроскопия. Ув. Б) 6000 («темный» нейрон); В) 6000 (капилляр с прилежащими перицитом и астроцитом).

Fig. 3. Cortex and hippocampus. Piracetam + Melaxen. A — light microscopy. Staining with hematoxylin and eosin. Magn. $\times 400$. Hyperchromic neurons of the cortex. Б, В — ultrastructure. Electron microscopy. Magn. Б) 6000 ("dark" neuron); В) 6000 (capillary with a pericyte and an astrocyte).

явившийся в форме активации процессов нейродегенерации в тканях обоих изучавшихся отделов ГМ.

Наблюдалось относительное увеличение представительства т. н. «темных» нейронов в общей массе нейроцитов, увеличение доли погибающих (в т. ч. посредством апоптоза) нервных клеток как в пирамидном слое лобного отдела коры, так и гиппокампа. Большая часть как основных тканевых элементов (нейро- и глиоцитов), так и клеток интерстиция, в частности перicyтов кровеносных капилляров, была пикнотична.

Ядерная оболочка большинства нейроцитов была извилиста, наблюдалась деконденсация хроматина в кариоплазме, активация ядрышек и обилие свободных рибосом и полисом в цитоплазме, разви-

тость элементов ЭПС, комплекса Гольджи, набухание и деформация митохондрий с нечетко контурируемыми мембранами и редкими кристами. Характерной была также активация лизосомальной реакции и аутофагосом.

Минимальное повреждение тканей ГМ после ишемии было отмечено нами в группе ВМ, т. е. на фоне введения комбинации винпоцетина с мелаксеном (рис. 4), которое очевидно повышало толерантность нейронов к ишемическому повреждению.

Безусловны были коррективы и в структуре ГЭБ. Именно следствием явного протекторного эффекта винпоцетина с мелаксеном можно считать изменения в микроциркуляторном русле, характеризовавшиеся прежде всего спецификой морфологической реакции выстилающего сосуда эндотелия.

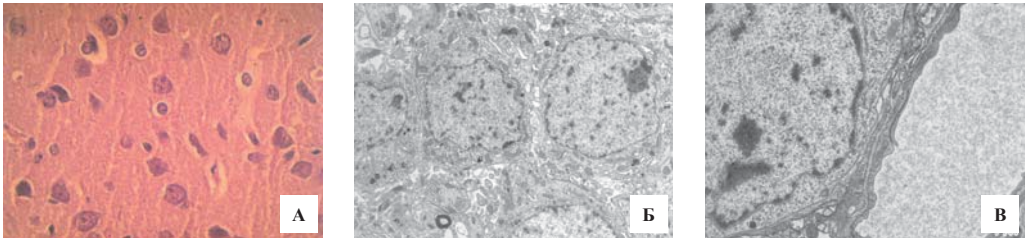


Рис. 4. Кора ГМ и гиппокамп. Группа ВМ. А — световая микроскопия, окраска гематоксилином-эозином. Ув. $\times 400$. «Светлые» и гиперхромные нейроны коры. Б, В — ультраструктура. Электронная микроскопия. Ув. Б) 4200 (4 «светлых» нейрона — обзорная микрофотография); В) 9900 («светлый» нейрон и капилляр).

Fig. 4. Cortex and hippocampus. Vinpocetine + Melaxen. A — light microscopy. Staining with hematoxylin and eosin. Magn. $\times 400$. “Light” and hyperchromic neurons of the cortex. Б, В — ultrastructure. Electron microscopy. Magn. Б) 4200 (4 “light” neurons — a review micrograph); В) 9900 (“light” neuron and capillary).

Это менее выраженная гетероморфность эндотелиоцитов; явное снижение числа их в состоянии внутриклеточного отека; значительное нивелирование проявлений перикапиллярного отека. Наконец, введение винпоцетина и мелаксена способствовало улучшению кровоснабжения ГМ за счет увеличения количества функционирующих тонкостенных сосудов и улучшения реологических свойств крови.

Для объективизации структурно-функционального состояния ГМ нами было проведено определение соотношения числа нейронов и глиоцитов (коэффициента нейроны/глиоциты (Н/Г)) в ГМ контрольных и экспериментальных групп животных — ключевого интегративного показателя, характеризующего тип структурно-функциональных взаимоотношений в центральной нервной системе (ЦНС) (табл. 2).

Из представленных в табл. 2 данных видно, что минимальным коэффициент Н/Г был при моделировании ИГМ в группе ИШ. Использование же изучавшихся ЛП, и особенно комбинации винпоцетина с мелаксеном, сохраняло в норме соотношение между основными клеточными элементами нервной ткани (нейро- и глиоцитами).

Это подтверждает сделанный по итогам светооптического и ультраструктурного анализа, а также на основании проведенных нами ранее оценки биоэлектрической активности ГМ и биохимического анализа на содержание маркеров свободнорадикальных процессов в крови крыс при ЭИГМ вывод о способности комбинации винпоцетина с мелаксеном повышать устойчивость ГМ к гипоксии, выживаемость нейронов в условиях ИГМ, оказывать благоприятное влияние на функциональное состояние ГМ [2–4].

Таблица 2. Результаты анализа коэффициента Н/Г
Table 2. Analysis of the Neurocyte/Glyocyte ratio

№	Группа	Коэффициент Н/Г
1	ЛО	2
2	ИШ	1,31
3	М	2
4	ПМ	2
5	ВМ	2,08

Выводы

На основании проведенного сравнительного морфологического анализа исследованного нами материала при моделировании ЭИГМ установлены проявления нейропротекторного влияния ноотропных средств и мелаксена на тканевые элементы коры ГМ и гиппокампа. В большей степени они свойственны комбинации винпоцетина с мелаксеном. Подтверждением данному заключению является не только более выраженная сохранность структурных характеристик исследованных отделов ГМ, но и очевидное снижение гетероморфности нейронов с изменением степени гиперхроматоза их ядер и цитолиза с увеличением числа или объема ядрышек; улучшение кровоснабжения ГМ за счет повышения количества функционирующих тонкостенных сосудов; улучшение гемореологии.

Комбинация винпоцетина с мелаксеном при ИГМ способна поддерживать на уровне, близком к норме, соотношение между нейронами и нейроглиоцитами — ключевой интегративный показатель, характеризующий тип структурно-функциональных взаимоотношений в ЦНС. Результаты выполненного исследования позволяют позиционировать выраженность нейропротекторной активности изучавшихся ЛП и их комбинаций по вектору: **пирацетам < мелаксен < пирацетам + мелаксен < винпоцетин < винпоцетин + мелаксен.**

В совокупности всех полученных данных, на наш взгляд, целесообразно дальнейшее изучение фармакологических свойств содержащих мелатонин ЛП, т. к. их превентивное применение может способствовать расширению возможностей нейропротекции при профилактике ИГМ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Арушанян Э.Б. Защитная роль мелатонина при нарушениях мозгового кровообращения. *Русский медицинский журнал (Неврология)*. 2010;18(6):57–61. [Arushanyan E.B. Zashchitnaya rol' melatonina pri narusheniyah mozgovogo krovoobrashcheniya [The protective role of melatonin in disorders of cerebral circulation]. *Russkij medicinskij zhurnal (Nevrologiya)* [Rus. Med. J. (Neurology)]. 2010;18(6):57–61. (In Russian)].
2. Ганцгорн Е.В., Колмакова Т.С., Макляков Ю.С., Хлопонин Д.П. Оценка действия церебропротекторных средств методом хемилюминесцентного анализа антиоксидантных свойств крови на модели глобальной ишемии головного мозга. *Биофармацевтический журнал*. 2012;4(2):14–20. [Gantsgorn E.V., Kolmakova T.S., Maklyakov Yu.S., Khloponin D.P. Ocenka dejstviya cerebroprotekturnykh sredstv metodom hemilyuminescentnogo analiza antioksidantnykh svoystv krovi na modeli global'noj ishemii golovnogo mozga [Evaluation of the action of cerebroprotective drugs by chemiluminescent analysis of the antioxidant properties of blood on the model of global cerebral ischemia]. *Biopharmaceuticheskij zhurnal* [Biopharmaceutical J.]. 2012;4(2):14–20. (In Russian)].
3. Ганцгорн Е.В., Макляков Ю.С., Хлопонин Д.П. Количественный фармако-ЭЭГ анализ активности ноотропов и их комбинаций с мелаксеном при глобальной ишемии головного мозга у крыс. *Биомедицина*. 2015;3:87–94. [Gantsgorn E.V., Maklyakov Yu.S., Khloponin D.P. Kolichestvennyj farmako-EEG analiz aktivnosti nootropov i ih kombinacij s melaksenom pri global'noj ishemii golovnogo mozga u krys [Quantitative pharmacological analysis of the activity of nootropics and their combinations with melaxen in global cerebral ischemia in rats]. *Biomedicine*. 2015;3:87–94. (In Russian)].
4. Ганцгорн Е.В., Хлопонин Д.П., Макляков Ю.С. Анализ выживаемости и частотно-пространственного распределения электроэнцефалографических показателей крыс при глобальной ишемии головного мозга. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2017;2:43–49. [Gantsgorn E.V., Khloponin D.P., Maklyakov Yu.S. Analiz vyzhivaemosti i chastotno-prostranstvennogo raspredeleniya elektroencefalograficheskikh pokazatelej krys pri global'noj ishemii golovnogo mozga [Analysis of the survival and frequency-spatial distribution of electroencephalographic indices of rats with global cerebral ischemia]. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik* [Kuban Scientific and Medical Bulletin]. 2017;2:43–49. (In Russian)].
5. Захаров В.В., Калимеева Е.Ю. Нейропротективная терапия в остром и восстановительном периодах ишемического инсульта. *Эффективная фармакотерапия*. 2017;33:10–14. [Zaharov V.V., Kalimeeva E.Yu. Nejroprotektivnaya terapiya v ostrom i vosstanovitel'nom periodah ishemicheskogo insul'ta [Neuroprotective therapy in acute and recovery periods of ischemic stroke]. *Effective pharmacotherapy*. 2017;33:10–14. (In Russian)].

6. Самородская И.В., Зайратьянц О.В., Перхов В.И., Андреев Е.М., Вайсман Д.Ш. Динамика показателей смертности населения от острого нарушения мозгового кровообращения в России и США за 15-летний период. *Архив патологии*. 2018;2:30–37. [Samorodskaya I.V., Zajrat'yanc O.V., Perhov V.I., Andreev E.M., Vajsman D.Sh. Dinamika pokazatelej smertnosti naseleniya ot ostrogo narusheniya mozgovogo krovoobrashcheniya v Rossii i SShA za 15-letnij period [Dynamics of mortality indicators of the population from acute cerebrovascular accident in Russia and the United States over a 15-year period]. *Arch. Pathology*. 2018;2:30–37. (In Russian)].
7. Чазова И.Е., Ощепкова Е.В. Борьба с сердечно-сосудистыми заболеваниями: проблемы и пути их решения на современном этапе. *Вестник Росздрава*. 2015;5:7–10. [Chazova I.E., Oshchepkova E.V. Bor'ba s serdechno-sosudistymi zabolevaniyami: problemy i puti ih resheniya na sovremennom etape [Fight against cardiovascular diseases: problems and ways of solving them at the present stage] *Vestnik Roszdravnadzora [Bulletin of Roszdravnadzor]*. 2015;5:7–10. (In Russian)].
8. Andrew N.E., Thrift A.G., Cadilhac D.A. The prevalence, impact and economic implications of atrial fibrillation in stroke: what progress has been made? *Neuroepidemiology*. 2013;40:227–239.
9. Cardinali D.P. Melatonin, aging, and Alzheimer's disease. In: *Principles and practice of geriatric sleep medicine*. Cambridge University Press, 2010. 448 p.
10. Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.* 1963;17:208–212.
11. Song T., Pan Y., Chen R. Is there a correlation between socioeconomic disparity and functional outcome after acute ischemic stroke? *PLoS One*. 2017;12. ID e0181196.
12. Watson M.L. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 1958;4:475–478.
13. Watson M.L. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals: II. Application of solutions containing lead and barium. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 1958;4:727–730.
14. Watson R.R. *Melatonin in the promotion of health*. 2nd ed. Taylor & Francis Group LLC., 2012. 582 p.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Ганцгорн Елена Владимировна*, к.м.н.,
ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: gantsgorn@inbox.ru

Elena V. Gantsgorn*, Cand. Sci. (Med.), Rostov State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation;
e-mail: gantsgorn@inbox.ru

Хлопонин Дмитрий Петрович, д.м.н., доц.,
ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: khloponin@list.ru

Dmitriy P. Khloponin, Dr. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Rostov State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation;
e-mail: khloponin@list.ru

Хлопонин Петр Андреевич, д.м.н., проф.,
ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России

Peter A. Khloponin, Dr. Sci. (Med.), Prof., Rostov State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

Макляков Юрий Степанович, д.м.н., проф.,
ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: maklus005@gmail.com

Yuriy S. Maklyakov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Rostov State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation;
e-mail: maklus005@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author