



# АКСОТОМИЯ: МОДЕЛЬ НЕЙРОТРАВМЫ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

В. А. Дзряян

Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д. И. Ивановского, лаборатория «Молекулярная нейробиология», Ростов-на-Дону

**РЕЗЮМЕ.** Нейротравма является одной из основных причин инвалидности и смертности во всем мире, особенно у людей молодого и среднего возраста. Однако механизмы, опосредующие процессы выживания и гибели клеток периферической нервной системы, до сих пор до конца не изучены. Поэтому актуальны исследования клеточно-молекулярных механизмов повреждения периферической нервной системы на модельных объектах.

**ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ:** обзор посвящен уникальным характеристикам и перспективам использования моделей аксотомии как объектов для изучения молекулярно-клеточных изменений, вызванных аксональным повреждением периферической нервной системы.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ:** обзор базируется, в первую очередь, на наших экспериментальных данных, полученных в лаборатории «Молекулярная нейробиология» Южного федерального университета, а также включает первоначальный поиск в PubMed, включая термины: «аксотомия», «нейротравма», «гибель нейронов» и «нейропротекция» (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>).

**РЕЗУЛЬТАТЫ.** В наших исследованиях мы использовали три экспериментальные модели нейротравмы (аксотомии) как позвоночных, так и беспозвоночных животных: механорецепторный нейрон (МРН) и ганглии вентральной нервной цепочки (ВНЦ) речного рака, а также аксотомированные ганглии задних корешков (DRG) спинного мозга крысы, полученные путем перерезки седалищного нерва. Использование данных моделей помогает выяснить сложные механизмы различных видов нейротравм, приводящие к гибели нейронов и глиальных клеток.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Полученные знания лягут в основу теоретической базы, которая поможет лучше понять фундаментальные механизмы выживания и гибели нейронов и глиальных клеток после повреждения нервов. Кроме того, открытие механизмов повреждения нейронов и глии аксотомированных ганглиев может выявить новые мишени для лечения нейротравмы и ее последствий.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** апоптоз, дорзальные ганглии спинного мозга крыс, нейротравма, DRG.

*Для цитирования:* Дзряян В. А. Аксотомия: модель нейротравмы периферической нервной системы. Российский нейрохирургический журнал им. проф. А. Л. Поленова. 2022;14(2):204–210

## AXOTOMY: A MODEL OF NEUROTRAUMA IN THE PERIPHERAL NERVOUS SYSTEM

V.A. Dzreyan

Southern Federal University, Academy of Biology and Biotechnology,  
Laboratory of Molecular Neurobiology, Rostov-on-Don, Russia

**SUMMARY.** Neurotrauma is one of the main causes of disability and death in the world, especially in young and middle-aged men. However, the mechanisms that mediate the survival and death of cells of the peripheral nervous system are still not fully understood. Therefore, studies of the cellular-molecular mechanisms of damage to the peripheral nervous system on model objects are relevant.

**MATERIALS AND METHODS:** This review focuses on the obtained data from the Laboratory of Molecular Neurobiology, the Southern Federal University, plus initial PubMed search (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), including the unique characteristic and perspectives these axotomy models as an object for studying molecular and cellular changes caused by axotomy of the peripheral nervous system.

**RESULTS.** In our studies, we used three experimental models of neurotrauma in vertebrates and invertebrates: mechanoreceptor neurons (MRN) and ganglia of the crayfish ventral nerve cord (VNC), as well as the axotomized dorsal root ganglia (DRG) of the rat spinal cord, obtained by the sciatic nerve transection. Thus, the use of these models helps to clarify the complex mechanisms of different types of neurotrauma leading to the death of neurons and glial cells.

**CONCLUSION.** The acquired knowledge will underlie a theoretical background, which will help to better understand the fundamental mechanisms of survival and death of neurons and glial cells after nerve damage. The discovery of pathways of injury in neurons and glia of axotomized ganglia may identify new targets for the treatment of neurotrauma and its consequences.

**KEY WORDS:** apoptosis, dorsal root ganglion, nerve injury, DRG

*For citation:* Dzreyan V.A. Axotomy: A Model of neurotrauma in the peripheral nervous system. Rossiiskii neirokhirurgicheskii zhurnal imeni professora A.L. Polenova. 2022;14(2):204–210

**Введение.** Нейротравма — это невероятно сложный процесс, и любое обсуждение основополагающих механизмов требует хорошей основы. Существующая огромная гетерогенность внутри нейротравм создает дополнительные трудности их исследования, сложности в диагностике и подборе правильного лечения [1,2]. Поэтому будущие исследования необходимы для понимания более конкретных нейрональных и молекулярных механизмов травматического повреждения нервной ткани. Новые исследования в данной теме, с одной стороны, укрепят современное понимание структурных и функциональных изменений, вызванных травмой, с другой стороны, помогут обеспечить инновационные подходы к восстановлению и терапевтическому вмешательству.

Мы остановили свое внимание на аксональном повреждении, которое имеет место быть при бытовых и спортивных травмах, дорожно — транспортных происшествиях, ошибках медперсонала при проведении инъекций и т.д. [3,4]. Помимо этого, повреждение аксона сопровождается ранние стадии нейродегенеративных расстройств, таких как болезнь Альцгеймера и Паркинсона, а кроме того, развитие бокового амиотрофического склероза [5,6].

К сожалению, по сей день не найдено ни одного эффективного нейропротектора для защиты ткани в первые часы после повреждения [7]. Поэтому актуальными остаются исследования клеточно-молекулярных механизмов повреждения периферической нервной системы на модельных объектах.

**Цель.** Обзор посвящен уникальным характеристикам и перспективам использования моделей аксотомии как объектов для изучения молекулярно-клеточных изменений, вызванных аксональным повреждением периферической нервной системы.

Несмотря на значительные микрохирургические инновации в восстановлении периферических нервов, результаты лечения с 1940-х годов мало улучшились, что отражает не достаточное понимание нейрональных и молекулярных механизмов и нейробиологии, в целом, при повреждении и регенерации нервов. Индуцированная аксотомией гибель нейронов является наиболее фундаментальной проблемой, и, учитывая недавно опубликованные данные, обзор является своевременным.

**Методы.** Обзор базируется, в первую очередь, на экспериментальных данных, полученных в лаборатории «Молекулярная нейробиология» Южного федерального университета, а также включает первоначальный поиск в PubMed, включая термины: «аксотомия», «нейротравма», «гибель нейронов» и «нейропротекция» (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>).

**Результаты. Модели нейротравмы.** С конца 1980-х многие исследователи пытались разработать модели, которые могут точно воспроизводить раз-

личные аспекты нейротравм. На сегодняшний день разработано несколько моделей нейротравм: модели растяжения, механического или гидростатического сдавливания, гидродинамического удара, удара падающего груза, рассечения нерва [8–10].

Аксотомия относится к механическим повреждением нервов и представляет собой полную перерезку нерва, инициирующую сложный каскад сигнальных и метаболических процессов, направленных на гибель или выживание нейрона. Перерезка нерва (аксотомия) характеризуется тремя основными молекулярно-клеточными событиями: валлерова дегградация отрезанного аксона, гибель поврежденного нейрона или его регенерация с отрастанием аксона и восстановлением нервных связей. Аксотомия (механическое повреждение аксонов) предоставляет полезные парадигмы для изучения клеточных ответов на повреждение, механизмов регенерации и пластичности, а также процессов, ведущих к дегенерации нервных клеток [7,9]. Модели аксотомии ценны для проверки экспериментальных подходов в терапии. Кроме того, аксотомия является ценным инструментом для моделирования патологических процессов, развивающихся в нейронах на фоне нейродегенеративных заболеваний, таких как, болезнь Альцгеймера, Паркинсона и боковой амиотрофической склероз [5,6]. Например, аксотомия зрительного нерва — классическая модель нейродегенерации [11].

Различные модели аксотомии на объектах с разным уровнем организации (*Danio rerio*, zebra fish, цыплята, хомяки, крысы, мыши и т.д.) хорошо приспособлены для изучения биохимических изменений в ответ на травму и для быстрой оценки возможных терапевтических стратегий [10]. Перечислим популярные модели аксотомии и нейродегенерации периферических нервов: аксотомия зрительного нерва [11], модель повреждения аксона у *Drosophila* [12], модель *zebrafish* с аксотомией зрительного нерва [13], повреждение спинного мозга [14], модель бокового амиотрофического склероза на клеточной культуре [15], модель аксотомии на культуре клеток спинного мозга [16], аксотомия лицевого нерва хомяка [17] и другие.

**Экспериментальные модели, используемые в нашей лаборатории.** В нашей лаборатории исследование молекулярно — биохимических изменений при травматическом повреждении периферической нервной системы проводилось на следующих модельных объектах с разным уровнем организации: абдоминальном рецепторе растяжения (PPP) и ганглиях брюшной нервной цепочки (БНЦ) речного рака *Astacus leptodactylus* и в аксотомированных ганглиях корешков спинного мозга (DRG, dorsal root ganglia) крысы. Используемые нами модели аксотомии представлены на рисунке 1.

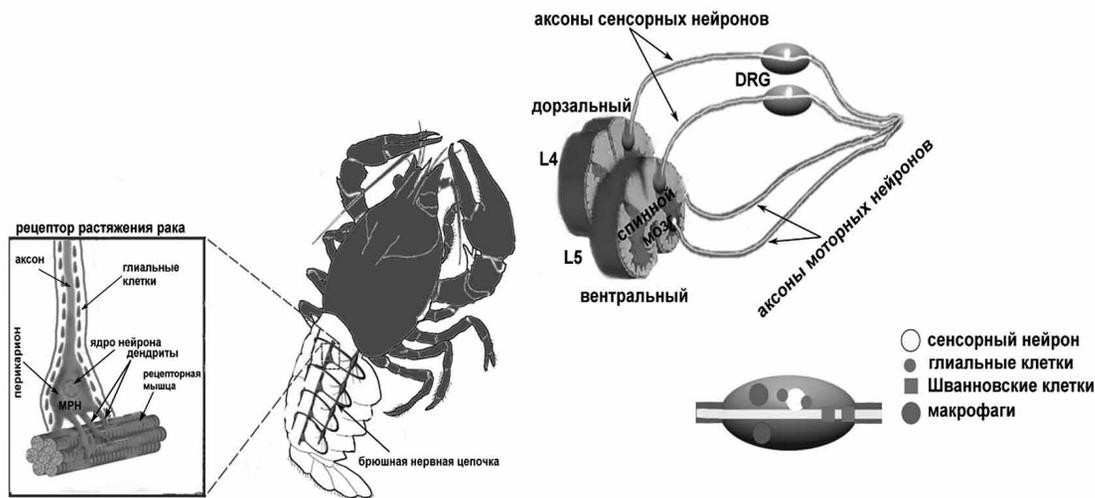


Рисунок 1. Экспериментальные модели аксотомии: а — механорецепторный нейрон (МРН), флуорохромированный Hoechst 33342, придающий синюю флуоресценцию ядерному хроматину и визуализирующий ядра живых клеток, и пропидием, окрашивающим в красный цвет ядра некротических клеток, а также схематический рисунок морфологии МРН: N — ядро нейрона, P — перикарион, D — дендриты, g — глиальные клетки, a — аксон, PM — рецепторная мышца. б — аксотомированные ганглии брюшной нервной цепочки. с — дорзальные ганглии крысы (адаптировано из Rodkin et al., 2021)  
 Figure 1. Experimental models of axotomy: a — stretch receptor neuron (SRN), stained with Hoechst 33342, which imparts blue fluorescence to nuclear chromatin and images all cell nuclei, and propidium iodide, staining necrotic cell nuclei in red, and the schematic picture of SRN morphology: N — nucleus, P — perikaryon, D — dendrites, g — glial cells, a — axon, RM — receptor muscle. б — axotomized ventral nerve cord ganglia. с — dorsal ganglia of rat. (adapted from Rodkin et al., 2021)

Проводимые нашим коллективом на протяжении многих лет исследования направлены на поиск веществ, ингибиторов или активаторов, направленно воздействующих на разные сигнальные пути, участвующие в выживании и гибели нервных клеток с перспективой их использования в терапии нейротравмы [18–23].

За время проведенной работы нам удалось выявить ряд белков, вовлеченных в механизмы повреждения и защиты нервной ткани [18–23], одним из которых является белок теплового шока Hsp70 [23].

Проведение экспериментов сразу нескольких экспериментальных моделей, как на позвоночных, так и на беспозвоночных животных с разным уровнем организации позволяет получить сравнительные данные, а полученные знания смогут послужить теоретической базы, что поможет лучше понять фундаментальные механизмы выживания и гибели нейронов и глиальных клеток при повреждении нервов. Исследования нервов беспозвоночных животных оправданы также и тем, что у них изменения экспрессии белков после повреждения происходит быстрее, чем у позвоночных, уже через несколько часов после травмы. Это подтверждают наши прошлые исследования в рамках этой темы [18].

#### Абдоминальный рецептор растяжения рака (PPP)

Рецептор растяжения (PPP) рака *Astacus leptodactylus* — это простой модельный объект, состоящий из двух механорецепторных нейронов (МРН), окруженных сателлитными глиальными

клетками, и пары рецепторных мышц [19,20]. Его структура представлена на рисунке 1. Два PPP находятся в каждом сегменте брюшка на внутренней ее поверхности с дорзальной стороны. Механорецепторные нейроны имеют несколько больших дендритов, разветвляющихся на мышце на более мелкие ветви, и аксон. В процессе растяжения мышцы мембрана дендритов деполяризуется и генерируется рецепторный потенциал.

Рецептор растяжения рака — уникальный объект для исследования физиологии и биохимии нейронов и глиальных клеток и их взаимодействий в условиях стресса. Это одиночный нейрон с точно контролируемой функциональной активностью. Глиальные клетки окутывают только этот нейрон, что позволяет изучать нейроглиальные взаимодействия. Физиологические, биохимические свойства, ультраструктура и реакции МРН и окружающей глии на разные физико-химические воздействия детально изучены. PPP удобен для флуоресцентно-микроскопического и электронно-микроскопического изучения детальных ультраструктурных изменений при нейротравме и других воздействиях. Использование ингибиторов или активаторов различных ферментов позволяет подробно изучить молекулярные механизмы физиологических процессов и клеточных реакций [19–23].

Наши работы продолжает серию исследований эволюционных аспектов нейротравмы у различных беспозвоночных.

Молекулярно — клеточные реакции на нейротравму имеют общие черты у разных видов. Так у беспозвоночных и млекопитающих аксотомия вызывает

схожие реакции со стороны нейронов и глиии [24,25]. Ранее были показаны ультраструктурные изменения в аксотомированных нейронах гиппокампа [25–27] и ганглиях задних корешков крысы [25], а также у беспозвоночных включая аплизию [28], дождевого червя, кальмаров и раков [29,30]. Нейроглиальные взаимодействия РРР в условиях фотоокислительного стресса и аксотомии ранее нами изучались и были получены важные результаты в этой области исследования. Так, в частности, в нашей лаборатории были подробно изучены электрофизиология, морфология, ультраструктура и биохимия МРН и окружающих глиальных клеток [19–21], а также их ответы на различные физико-химические воздействия, ингибиторы или активаторы различных белков, с целью оценки их нейропротекторной активности в условиях фотодинамического воздействия и аксонального повреждения [22,23,31,32].

Нами разработана методика выделения МРН при котором аксон сохраняет связь с соответствующим ганглием БНЦ [20]. Модель аксотомии механорецепторного нейрона подробно описана в наших прошлых работах [19–23,31,32].

Таким образом, РРР представляет собой удобную экспериментальную модель изучения сигнальных механизмов выживания и гибели нейронов и глиальных клеток в условиях различных стрессовых воздействий.

#### Двусторонне аксотомированные ганглии вентральной нервной цепочки речного рака

Аксотомированные ганглии брюшной нервной цепочки речного рака состоят из 6 ганглиев, содержащих 500–1000 нейронов, соединенных между собой коннективами, состоящими из нескольких сот аксонов [33]. После удаления хитина с вентральной стороны хвоста рака быстро извлекали БНЦ и переносили в ванночку с раствором ван Харревелида. Контрольные БНЦ пересекали на переднем и заднем концах, а в подопытных коннективы разрезались по краям и между ганглиями, так что получалось 6 двусторонне аксотомированных ганглиев [33–35]. Нервная система рака и аксотомия брюшной нервной цепочки изображены на рисунке 1. Более подробно методика аксотомии ганглиев ВНЦ рака описана в наших предыдущих работах [18,22].

#### Аксотомированные ганглии корешков спинного мозга крысы

Преимуществом наших исследований является использование экспериментальных моделей аксотомии как на беспозвоночных животных, так и млекопитающих. Поэтому следующая модель нейротравмы, используемая в настоящей работе — аксотомированные ганглии корешков спинного мозга крысы (DRG, dorsal root ganglion) (Рис. 2). Уникальные характеристики дорзальных ганглиев делают их идеальным объектом для изучения молекулярно — клеточных механизмов повреждений периферической нервной системы, а также нейромодуляции [36–38].

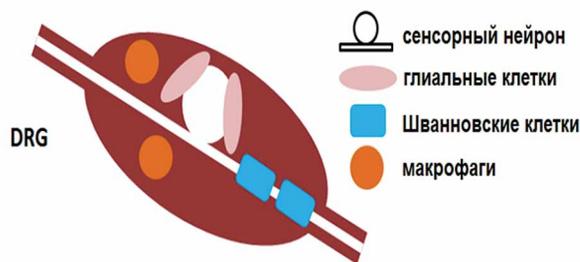


Рисунок 2. Объект исследования — ганглии дорсальных корешков спинного мозга крыс (DRG, dorsal root ganglia) (адаптировано из Martin et al., 2019)

Figure 2. The object of study is the rat dorsal root ganglia (DRG, spinal ganglia) (adapted from Martin et al., 2019)

Седалищный нерв содержит аксоны сенсорных, соматических и автономных мотонейронов, расположенных, в основном, в дорсальных ганглиях 4-го и 5-го корешков спинного мозга (Рис. 3) [9,36,37]. Сенсорные нейроны, получают информацию от седалищного нерва, иннервирующего задние конечности. Тела мотонейронов находятся в спинном мозге внутри позвонков, а тела сенсорных нейронов образуют ганглии дорсальных корешков спинного мозга вне позвоночника (Рис. 3). Двигательные волокна управляют движениями задних конечностей животного, а сенсорные волокна передают информацию о положениях и движениях конечностей, а также о болевых механических и термических повреждениях в центральную нервную систему [37–39].

Нейроны DRG являются псевдобиполярными нейронами и имеют две аксональные ветви: периферический аксон, который регенерирует при повреждении, и центрально выступающий аксон, который не способен к регенерации (Рис. 2,3) [39]. Нейроны DRG не имеют дендритов и синапсов, но содержат рецепторы различных нейромедиаторов.

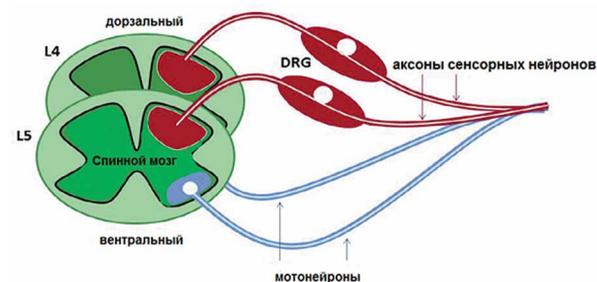


Рисунок 3. Псевдобиполярные нейроны дорсальных ганглиев и их аксоны (адаптировано из Martin et al., 2019)

Figure 3. Pseudo-bipolar dorsal ganglion neurons and their axons (adapted from Martin et al., 2019)

Нейроны составляют около 15 % всех клеток DRG (Рис. 2) [37–39]. Вокруг нейронов находятся сателлитные глиальные клетки (СГК), которые обеспечивают трофическую поддержку нейронов и были широко изучены, а также меньшее количе-

ство Шванновских клеток и иммунных клеток, таких как макрофаги (Рис. 2). В дополнение к изменениям, наблюдаемым в поврежденных нейронах, клетки сателлитной глии также подвергаются изменению экспрессии генов, что приводит к фенотипическим изменениям клеток. Основная роль Шванновских клеток заключается в миелинизации аксонов для улучшения скорости проведения потенциалов действия. Тогда как, экспрессия генов нейротрофических и воспалительных цитокинов тесно связана с активацией макрофагов. Следовательно, успех регенерации нейронов и функционального восстановления зависит как от нейронов, так и от поддерживающей сети глиальных и иммунных клеток внутри DRG. Известно, что как нейроны, так и глиальные клетки могут вносить разный вклад в процессы, возникающие после повреждения нерва, поэтому интерес возникает в изучении ни сколько общих изменений во всем ганглии, а в конкретных типах клеток ганглии [39].

В своей прошлой работе мы провели визуализацию DRG и седалищного нерва путем окрашивания двумя флуорохромами, пропидиум йодид и Hoechst 33342, что позволило по-разному визуализировать ганглии и нервы в изолированном DRG крыс [40].

Перерезка седалищного нерва (sciatic nerve transection, SNT) на бедре у грызунов — одна из важных экспериментальных моделей нейротравмы (Рис. 4) [41,42].



**Рисунок 4.** Модель аксотомии седалищного нерва: после перерезки седалищного нерва нейроны DRG оказываются аксотомизированными (адаптировано из Martin et al., 2019)  
**Figure 4.** Sciatic nerve axotomy model: after the sciatic nerve transection DRG neurons are axotomized (adapted from Martin et al., 2019)

Модель перерезки седалищного нерва имитирует состояние, которое возникает у людей после ампутации или при повреждении позвоночника [9]. Кроме того, данная модель предполагает такую степень рассечения нерва, при которой возможно повторное соединение нервов из-за способности периферических аксонов к регенерации и восстановлению утраченных связей. Это продемонстрировано как в литературе [37,42], так и в наших прошлых работах [40,43]. Это позволяет использовать данную модель как в изучении механизмов раннего ответа на нейротравму (1, 4 или 24 часа после перерезки) так и для исследования особенностей регенеративного периода, развивающегося к 7 суткам после аксонального повреждения [40].

Популярность этой модели также связана с доступностью седалищного нерва в средней части бедра животного для хирургического рассечения и меньшим неудобством, и стрессом животного в сравнении с аксотомией нервов верхних конечностей [41]. Кроме того, нейроны DRG уникальны тем, что являются псевдобиполярными нейронами и имеют две аксональные ветви [44]; длинная сенсорная ветвь ЦНС поднимается по спинному столбу спинного мозга, а вторая ветвь проходит через периферический нерв (Рис. 3). Сенсорные аксоны в спинном мозге взрослого человека не регенерируют после травмы, в то время как периферическое повреждение приводит к устойчивой регенеративной реакции. Поэтому DRG представляют собой полезную модельную систему для изучения молекулярно — клеточных механизмов повреждений как центральной, так и периферической нервной системы [41,44,45].

После перерезки седалищного нерва нейроны DRG оказываются аксотомизированными (Рис. 4). Опыты по изучению участия белков, регулирующих процессы гибели и выживания в реакции спинальных ганглиев на аксотомию, были проведены на крысах, на которых уже отработана методика перерезки седалищного нерва в нашей лаборатории [40,43]. В качестве экспериментальных животных выступали взрослые самцы крыс возрастом 2–2,5 месяцев и весом 200–250 г. Перерезку седалищного нерва и изоляцию DRG осуществляли согласно стандартному протоколу, описанному Savastano et al. [41]. Умерщвление животных путем декапитации гильотиной проводили через 1, 4, 24 часа или 7 суток после односторонней перерезки правого седалищного нерва [40,43]. Данные сроки выбраны не случайно: изменения экспрессии белков раннего ответа наблюдаются в первые 24 часа после аксонального повреждения, тогда как к 7 суткам запускается устойчивая регенеративная реакция, которая имеет свои особенности белкового набора клетки [38]. Таким образом, выбранная модель и сроки исследования позволяют наблюдать биохимические изменения, вызванные апоптозом клеток и аксотомией, а также их особенности, на разных этапах.

Мы использовали окрашивание TUNEL, иммуноблоттинг и метод двойной иммунофлуоресценции для анализа апоптоза клеток и биохимических изменений, вызванных аксотомией.

В ходе работы нами был изучен апоптоз сенсорных нейронов и сателлитных глиальных клеток в DRG крысы после аксотомии. Апоптоз глиальных клеток наблюдался через 24 ч после перерезки седалищного нерва и усиливался на 7-е сутки, когда апоптоз единичных нейронов только начинался. Таким образом, глиальные клетки были гораздо более уязвимы к повреждению, чем нейроны DRG. Следует отметить, что эти глиальные клетки находились на расстоянии 2–3 см от места пересечения нерва и не могли быть повреждены напрямую [40].

Используя данную модель нейротравмы, мы показали, что наиболее ранние и специфичные изменения в аксотомированных DRG ганглиях наблюдались со стороны эпигенетических регуляторов гистондеацетилазы HDAC1 и HDAC2 [43], а также факторов транскрипции E2F1 и p53 [40]. Мы также разработали новый метод дифференциальной визуализации дорзальных ганглиев и нервных волокон седалищного нерва с использованием двойной маркировки йодидом пропидия и Hoechst 33342 [40]. Использование данной модели аксотомии продемонстрировало успешное применение ингибиторов исследуемых белков в экспериментах *in vivo* [43].

**Заключение.** Таким образом, использование данных моделей помогает выяснить сложные механизмы различных видов нейротравм, приводящие к гибели нейронов и глиальных клеток. Полученные знания лягут в основу теоретической базы, которая поможет лучше понять фундаментальные механизмы выживания и гибели нейронов и глиальных клеток после повреждения нервов. Кроме того, открытие механизмов повреждения нейронов и глии аксотомированных ганглиев может выявить новые мишени для лечения нейротравмы и ее последствий.

*При поддержке гранта Минобрнауки РФ № 0852-2020-0028 и стипендии Президента РФ для молодых ученых.*

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. **Conflict of interest.** The author declares no conflict of interest.

**Финансирование.** Исследование проведено при поддержке гранта Минобрнауки РФ № 0852-2020-0028 и стипендии Президента РФ для молодых ученых. **Financing.** This study was funded by a grant from the Ministry of Education and Science of the Russian Federation No. 0852-2020-0028 and a stipend from the President of the Russian Federation for young researchers.

**Этическое одобрение.** Соблюдались международные, национальные и/или институциональные рекомендации по уходу и использованию животных. Все экспериментальные процедуры проводились в соответствии с директивами Европейского союза 86/609/ЕЕС об использовании экспериментальных животных и местным законодательством об этике экспериментов на животных. Протоколы животных прошли оценку и одобрены Комитетом по уходу и использованию животных Южного федерального университета (Разрешение № 08/2016). В нашем исследовании не участвовали люди.

**Ethics approval.** International, national, and/or institutional guidelines for the care and use of animals have been followed. All experimental procedures were carried out following European Union directives 86/609/EEC on the use of experimental animals and local legislation on the ethics of animal experiments. The animal protocols have been evaluated and approved by the Animal Care and Use Committee of the Southern Federal University (Permit No. 08/2016). Our study did not involve any human subjects.

**ORCID авторов/ ORCID of authors:**

Дзряян Валентина Александровна/  
Dzryayan Valentina Aleksandrovna  
<https://orcid.org/0000-0003-3249-5020>

## Литература/References

- Rishal I, Fainzilber M. Axon-soma communication in neuronal injury. *Nat Rev Neurosci.* 2014;15(1):32–42. doi:10.1038/nrn3609
- Richardson PM, Miao T, Wu D, Zhang Y, Yeh J, Bo X. Responses of the nerve cell body to axotomy. *Neurosurgery.* 2009;65(4 Suppl):A74-A79. doi:10.1227/01.NEU.0000352378.26755.C3
- Abe N, Cavalli V. Nerve injury signaling. *Curr Opin Neurobiol.* 2008;18(3):276–283. doi:10.1016/j.conb.2008.06.005
- Casas C, Isus L, Herrando-Grabulosa M, et al. Network-based proteomic approaches reveal the neurodegenerative, neuroprotective and pain-related mechanisms involved after retrograde axonal damage. *Sci Rep.* 2015;5:9185. Published 2015 Mar 18. doi:10.1038/srep09185
- Gandhi S, Abramov AY. Mechanism of oxidative stress in neurodegeneration. *Oxid Med Cell Longev.* 2012;2012:428010. doi:10.1155/2012/428010
- Batulan Z, Taylor DM, Aarons RJ, et al. Induction of multiple heat shock proteins and neuroprotection in a primary culture model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Dis.* 2006;24(2):213–225. doi:10.1016/j.nbd.2006.06.017
- Li R, Liu Z, Pan Y, Chen L, Zhang Z, Lu L. Peripheral nerve injuries treatment: a systematic review. *Cell Biochem Biophys.* 2014;68(3):449–454. doi:10.1007/s12013-013-9742-1
- Wang HC, Ma YB. Experimental models of traumatic axonal injury. *J Clin Neurosci.* 2010;17(2):157–162. doi:10.1016/j.jocn.2009.07.099
- Challa SR. Surgical animal models of neuropathic pain: Pros and Cons. *Int J Neurosci.* 2015;125(3):170–174. doi:10.3109/00207454.2014.922559
- Hill CS, Coleman MP, Menon DK. Traumatic Axonal Injury: Mechanisms and Translational Opportunities. *Trends Neurosci.* 2016;39(5):311–324. doi:10.1016/j.tins.2016.03.002
- Magharious MM, D'Onofrio PM, Koeberle PD. Optic nerve transection: a model of adult neuron apoptosis in the central nervous system. *J Vis Exp.* 2011;(51):2241. Published 2011 May 12. doi:10.3791/2241
- Purice MD, Ray A, Münzel EJ, et al. A novel Drosophila injury model reveals severed axons are cleared through a Draper/MMP-1 signaling cascade. *Elife.* 2017;6: e23611. Published 2017 Aug 21. doi:10.7554/eLife.23611
- Nagashima M, Fujikawa C, Mawatari K, Mori Y, Kato S. HSP70, the earliest-induced gene in the zebrafish retina during optic nerve regeneration: its role in cell survival. *Neurochem Int.* 2011;58(8):888–895. doi:10.1016/j.neuint.2011.02.017
- Gower DJ, Hollman C, Lee KS, Tytell M. Spinal cord injury and the stress protein response. *J Neurosurg.* 1989;70(4):605–611. doi:10.3171/jns.1989.70.4.605
- Batulan Z, Taylor DM, Aarons RJ, et al. Induction of multiple heat shock proteins and neuroprotection in a primary culture model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiol Dis.* 2006;24(2):213–225. doi:10.1016/j.nbd.2006.06.017

16. Batulan Z, Nalbantoglu J, Durham HD. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs differentially affect the heat shock response in cultured spinal cord cells. *Cell Stress Chaperones*. 2005;10(3):185–196. doi:10.1379/csc-30r.1
17. Newfry GA, Jones KJ. Differential effects of facial nerve transection on heat shock protein 70 expression in the developing and adult hamster facial nucleus. *Metab Brain Dis*. 1998;13(3):253–257. doi:10.1023/a:1023280110386
18. Demyanenko S, Dzreyan V, Uzdensky A. Axotomy-Induced Changes of the Protein Profile in the Crayfish Ventral Cord Ganglia. *J Mol Neurosci*. 2019;68(4):667–678. doi:10.1007/s12031-019-01329-5
19. Fedorenko GM, Uzdensky AB. Dynamics of ultrastructural changes in the isolated crayfish mechanoreceptor neuron under photodynamic impact. *J Neurosci Res*. 2008;86(6):1409–1416. doi:10.1002/jnr.21587
20. Khaitin AM, Rudkovskii MV, Uzdensky AB. The method of isolation of the crayfish abdominal stretch receptor maintaining a connection of the sensory neuron to the ventral nerve cord ganglion. *Invert Neurosci*. 2015;15(1):176. doi:10.1007/s10158-014-0176-2
21. Rudkovskii MV, Fedorenko AG, Khaitin AM, Pitinova MA, Uzdensky AB. The effect of axotomy on firing and ultrastructure of the crayfish mechanoreceptor neurons and satellite glial cells. *Mol Cell Neurosci*. 2020;107:103534. doi:10.1016/j.mcn.2020.103534
22. Rodkin S, Khaitin A, Pitinova M, et al. The Localization of p53 in the Crayfish Mechanoreceptor Neurons and Its Role in Axotomy-Induced Death of Satellite Glial Cells Remote from the Axon Transection Site. *J Mol Neurosci*. 2020;70(4):532–541. doi:10.1007/s12031-019-01453-2
23. Demyanenko S, Nikul V, Rodkin S, Davletshin A, Evgen'ev MB, Garbuz DG. Exogenous recombinant Hsp70 mediates neuroprotection after photothrombotic stroke. *Cell Stress Chaperones*. 2021;26(1):103–114. doi:10.1007/s12192-020-01159-0
24. Purice MD, Ray A, Münzel EJ, et al. A novel Drosophila injury model reveals severed axons are cleared through a Draper/MMP-1 signaling cascade. *Elife*. 2017;6: e23611. Published 2017 Aug 21. doi:10.7554/eLife.23611
25. Spaeth CS, Fan JD, Spaeth EB, Robison T, Wilcott RW, Bittner GD. Neurite transection produces cytosolic oxidation, which enhances plasmalemmal repair. *J Neurosci Res*. 2012;90(5):945–954. doi:10.1002/jnr.22823
26. McGill CH, Bhupana Padu Sunkesula SR, Poon AD, Mikesh M, Bittner GD. Sealing frequency of B 104 cells declines exponentially with decreasing transection distance from the axon hillock [published correction appears in *Exp Neurol*. 2017 Nov;297:190]. *Exp Neurol*. 2016;279:149–158. doi:10.1016/j.expneurol.2016.02.001
27. Yoo S, Nguyen MP, Fukuda M, Bittner GD, Fishman HM. Plasmalemmal sealing of transected mammalian neurites is a gradual process mediated by Ca(2+)-regulated proteins. *J Neurosci Res*. 2003;74(4):541–551. doi:10.1002/jnr.10771
28. Spira ME, Benbassat D, Dormann A. Resealing of the proximal and distal cut ends of transected axons: electrophysiological and ultrastructural analysis. *J Neurobiol*. 1993;24(3):300–316. doi:10.1002/neu.480240304
29. Eddleman CS, Smyers ME, Lore A, Fishman HM, Bittner GD. Anomalies associated with dye exclusion as a measure of axolemmal repair in invertebrate axons. *Neurosci Lett*. 1998;256(3):123–126. doi:10.1016/s0304-3940(98)00709-5
30. Lichstein JW, Ballinger ML, Blanchette AR, Fishman HM, Bittner GD. Structural changes at cut ends of earthworm giant axons in the interval between dye barrier formation and neuritic outgrowth. *J Comp Neurol*. 2000;416(2):143–157. doi:10.1002/(sici)1096-9861(2000110)416:2<143::aid-cne2>3.0.co;2-3
31. Berezhnaya EV, Bibov MY, Komandirov MA, Neginskaya MA, Rudkovskii MV, Uzdensky AB. Involvement of MAPK, Akt/GSK-3 $\beta$  and AMPK/mTOR signaling pathways in protection of remote glial cells from axotomy-induced necrosis and apoptosis in the isolated crayfish stretch receptor. *Mol Cell Neurosci*. 2017;83:1–5. doi:10.1016/j.mcn.2017.06.003
32. Fedorenko GM, Uzdensky AB. Dynamics of ultrastructural changes in the isolated crayfish mechanoreceptor neuron under photodynamic impact. *J Neurosci Res*. 2008;86(6):1409–1416. doi:10.1002/jnr.21587
33. Seichter HA, Blumenthal F, Smarandache-Wellmann CR. The swimmeret system of crayfish: a practical guide for the dissection of the nerve cord and extracellular recordings of the motor pattern. *J Vis Exp*. 2014;(93): e52109. Published 2014 Nov 25. doi:10.3791/52109
34. Skinner K. The structure of the fourth abdominal ganglion of the crayfish, *Procambarus clarki* (Girard). II. Synaptic neuropils. *J Comp Neurol*. 1985;234(2):182–191. doi:10.1002/cne.902340205
35. Mulloney B, Tschuluun N, Hall WM. Architectonics of crayfish ganglia. *Microsc Res Tech*. 2003;60(3):253–265. doi:10.1002/jemt.10265
36. Attwell CL, van Zwielen M, Verhaagen J, Mason MRJ. The Dorsal Column Lesion Model of Spinal Cord Injury and Its Use in Deciphering the Neuron-Intrinsic Injury Response. *Dev Neurobiol*. 2018;78(10):926–951. doi:10.1002/dneu.22601
37. Esposito MF, Malayil R, Hanes M, Deer T. Unique Characteristics of the Dorsal Root Ganglion as a Target for Neuromodulation. *Pain Med*. 2019;20(Suppl 1): S23-S30. doi:10.1093/pm/pnz012
38. Weng YL, Joseph J, An R, Song H, Ming GL. Epigenetic regulation of axonal regenerative capacity. *Epigenomics*. 2016;8(10):1429–1442. doi:10.2217/epi-2016-0058
39. Martin SL, Reid AJ, Verkhatsky A, Magnaghi V, Faroni A. Gene expression changes in dorsal root ganglia following peripheral nerve injury: roles in inflammation, cell death and nociception. *Neural Regen Res*. 2019;14(6):939–947. doi:10.4103/1673-5374.250566
40. Dzreyan V, Rodkin S, Nikul V, Pitinova M, Uzdensky A. The Expression of E2F1, p53, and Caspase 3 in the Rat Dorsal Root Ganglia After Sciatic Nerve Transection. *J Mol Neurosci*. 2021;71(4):826–835. doi:10.1007/s12031-020-01705-6
41. Savastano LE, Laurito SR, Fitt MR, Rasmussen JA, Gonzalez Polo V, Patterson SI. Sciatic nerve injury: a simple and subtle model for investigating many aspects of nervous system damage and recovery. *J Neurosci Methods*. 2014;227:166–180. doi:10.1016/j.jneumeth.2014.01.020
42. Dubový P, Klusáková I, Hradilová-Sviženská I, Joukal M. Expression of Regeneration-Associated Proteins in Primary Sensory Neurons and Regenerating Axons After Nerve Injury-An Overview. *Anat Rec (Hoboken)*. 2018;301(10):1618–1627. doi:10.1002/ar.23843
43. Dzreyan VA, Rodkin SV, Pitinova MA, Uzdensky AB. HDAC 1 Expression, Histone Deacetylation, and Protective Role of Sodium Valproate in the Rat Dorsal Root Ganglia After Sciatic Nerve Transection. *Mol Neurobiol*. 2021;58(1):217–228. doi:10.1007/s12035-020-02126-7
44. Abe N, Cavalli V. Nerve injury signaling. *Curr Opin Neurobiol*. 2008;18(3):276–283. doi:10.1016/j.conb.2008.06.005
45. McKay Hart A, Brannstrom T, Wiberg M, Terenghi G. Primary sensory neurons and satellite cells after peripheral axotomy in the adult rat: timecourse of cell death and elimination. *Exp Brain Res*. 2002;142(3):308–318. doi:10.1007/s00221-001-0929-0