

С.О. Худолій¹
С.В. Зябліцев²

¹ Медичний центр сучасної аддиктології «MedicoMente»,
² Національний медичний університет імені О.О. Богомольця,
Київ, Україна

Надійшла: 29.09.2020
Прийнята: 20.10.2020

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2020.3.104-111>

УДК 616.833:616.714+616.831]-001-073-092.9

МОРФОЛОГІЧНИЙ СТАН КОРИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВІЙ ТРАВМІ НА ТЛІ АКТИВАЦІЇ ТА БЛОКАДИ ХОЛІНЕРГІЧНИХ СИСТЕМ

Khudoley S.A.  , Ziablitsev S.V.   Morphological state of the cerebral cortex in experimental traumatic brain injury against the activation and blockade of cholinergic systems.

Medical Center for Modern Addictology "MedicoMente", Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.

ABSTRACT. Background. Central cholinergic systems play a key role in the adaptation of the central nervous system to traumatic brain injury. **Objective** – to establish the effect of cholinergic systems activation and blockade on the morphological state of the cerebral cortex in the acute period of traumatic brain injury. **Methods.** Trauma was simulated with a free fall of a load on fixed head of animal. To activate the cholinergic systems, choline alfoscerate (gliatilin, 6 mg/kg) was administered to rats before injury, and biperiden hydrochloride (akinetone; 0.6 mg/kg) was used for blocking. Histological and immunohistochemical studies were performed 3, 24, 48 and 72 hours after trauma. Sections of the cerebral cortex for light microscopy were stained with hematoxylin and eosin. For immunohistochemical studies, antibodies to neuron-specific enolase (NSE) and glial fibrillar acidic protein (GFAP) were used. Antibodies were visualized using a DAKO Poly Vue HRP/DAB polymer detection system. Light microscopy was performed on the Olympus BX 40 microscope with the Olympus C3030-ADU digital camera and Olympus DP-Soft. **Results.** The activation of the cholinergic systems in the acute period led to a significant decrease in the lethality of experimental animals. At the same time, an increase of the normochromic neurons number and the synthesis of neuron-specific proteins: NSE and GFAP were noted in the cerebral cortex, which was a reflection of the full functioning of neurons and neuroglia. The cholinergic systems blockade was accompanied by high mortality and caused inhibition of the functional activity of neurons, the development of neurodestructive changes with a significant decrease in NSE-positive staining and GFAP activity, which reflected progressive disorders of neurons and astrocytic neuroglia. **Conclusion.** The results obtained confirmed the key role of central cholinergic systems for the implementation of the adaptive response in traumatic brain injury and showed the nature of morphological changes in the brain during their activation and blockade.

Key words: central cholinergic systems, traumatic brain injury, NSE, GFAP, neuromorphology of the brain.

Citation:

Khudoley SA, Ziablitsev SV. [Morphological state of the cerebral cortex in experimental traumatic brain injury against the activation and blockade of cholinergic systems]. Morphologia. 2020;14(3):104-11. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2020.3.104-111>

 Khudoley S.A. 0000-0001-9710-5105

 Ziablitsev S.V. 0000-0002-5309-3728

 khudoley.sergey@gmail.com; zsv1965@gmail.com

© SI «Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine», «Morphologia»

Вступ

Черепно-мозкова травма (ЧМТ) в сучасних умовах має велике медичне та економічне значення, оскільки переважно трапляється у осіб працездатного віку, де вона за летальністю посідає перше місце [1, 2]. Крім того, частота ЧМТ впевнено зростає і в інших вікових групах, що в Україні перевищує аналогічні показники країн Європи [3, 4].

Каскад патологічних реакцій, що розви-

вається у головному мозку після ЧМТ включають некроз, аксональні пошкодження, запальні явища, нейрогліоз, демієлінізацію та нейрогенерацию [5]. Найбільше значення має первинна реакція регуляторних нейрохімічних систем в ранньому періоді ЧМТ, коли їх адекватність визначає тяжкість перебігу і ймовірність летального кінця [6, 7].

Первинна реакція головного мозку на ЧМТ включає ішемію тканин, яка запускає некроз,

нейродегенерацію і апоптоз нервових клітин [8, 9]. Вторинна реакція проявляється формуванням періцелюлярного набряку, прогресуванням гіпоксії та внутрішньочерепною гіпертензією [9, 10]. Ключова роль у процесах адаптації ЦНС належить центральним холінергічним системам (ЦХС) та ацетилхоліну, який діє через мускаринові (M-) і нікотинові (N-) рецептори [11, 12]. М-холінорецептори пов'язані з G-білками, які мобілізують внутрішньоклітинний кальцій, N-холінорецептори представляють собою Na⁺-, K⁺- і Ca²⁺-іонні канали. Останні (підтип альфа7) має велике значення в реалізації нейропластичності, розвитку когнітивних порушень, ішемічної нейропротекції [13, 14]. Показано, що активність ЦХС при ЧМТ зменшується внаслідок зменшення вивільнення ацетилхоліну і активації ацетилхолінестерази [15, 16]. Введення холіноміметиків, наприклад, цитидин-5'-дифосфату холіну, при експериментальній ЧМТ покращує когнітивні здібності і вивільнення ацетилхоліну [17, 18]. Також і блокада ацетилхолінестерази покращує когнітивні функції після ЧМТ [19], але існують й зворотні дані [20]. Отже, можна вважати, що патогенетичне значення холінореактивності ЦНС при ЧМТ потребує уточнення, що має значення для розробки адекватних лікувальних заходів.

Мета – визначення впливу активації та блокади ЦХС на морфологічний стан кори головного мозку в гострому періоді ЧМТ.

Матеріал та методи

У роботі використано білі щурі-самці лінії Вістар масою 200-215 г (n=96). При виконанні досліджень дотримувалися вимог Гельсінкської декларації (2008), норм та принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідницьких й інших наукових цілей та діючого законодавства України.

Зміну стану ЦХС моделювали шляхом введення центральних холіноміметика та холіноблокатора. Для цього використовували сертифіковані фармацевтичні препарати: холіну альфосцерат («Гліатілін», «Фармакор ПРО-ДАКШЕН», РФ; холіноміметик центральної дії, який посилює передачу імпульсів у холінергічних нейронах, поліпшує нейропластичність клітин, функцію рецепторів та синаптичну передачу) та біперидену гідрохлорид («Акинетон», «Laboratorio PHARMACEUTICO SIT, s.r.l.», Італія; антихолінергічний препарат центральної дії, який знижує активність холінергічних нейронів ЦНС). Для досягнення ефективною концентрації речовин у структурах головного мозку та максимального холіномодуючого впливу на ЦНС, а також з урахуванням періодів накопичення активної речовини та напіврозпаду, кліренсу виведення, допустимої добової дози і з розрахунку на середню масу тва-

рини була розроблена така схема введення препаратів. За 24, 12, 6 та 1 годин до моделювання ЧМТ внутрішньоочередово вводили: в 1-й групі розчин Рінгера 0,5 мл (контроль); у 2-й групі – розчин Рінгера 0,47 мл та 0,03 мл холіну альфосцерат (доза препарату становила 6 мг/кг); та в 3-й групі – розчин Рінгера 0,44 мл та 0,06 мл біперидену гідрохлориду (доза препарату становила 0,6 мг/кг). Кількість тварин в кожній групі складала 32 особини.

ЧМТ завдавали стандартним методом при вільному падінні металевого вантажу на фіксовану голову тварини [21]. Вантаж являв собою круглий металевий стрижень масою 50 г, який вільно пересувався продовж металевій трубки довжиною 65 см, фіксованою строго перпендикулярно на металевій станині. З використанням поверхневого ефірного наркозу голову тварини фіксували під вертикально розташованою металевією трубкою таким чином, щоб отвір трубки знаходився вздовж сагітального шву та симетрично йому на 5 мм вперед від інтраурикулярної лінії. Вантаж вільно падав продовж трубки та здійснював одномоментний удар по склепінню черепа. За нашими попередніми даними ця модель давала змогу отримати стандартизовану ЧМТ середнього ступеню тяжкості [21]. Патологоанатомічне дослідження показало, що у тварин мала місце закрита ЧМТ за наявності підшкірної гематоми, без зсуву головного мозку та з розтрощенням кори скроневих і тім'яних часток у зоні удару та у зоні протиудару – основи лобових і скроневих часток. У речовині головного мозку спостерігали чисельні дифузні дрібноточкові крововиливи.

У тварин проводили гістологічні та імуногістохімічні дослідження головного мозку через 3, 24, 48 та 72 години після моделювання ЧМТ. Отриманий матеріал фіксували в 10% нейтральному забуференому розчині формальдегіду (pH 7,4) протягом 48 годин. Після дегідратації фіксованого матеріалу матеріал заливали у парафінові блоки. За допомогою ротаційних мікромомів МПС-2 та Microm HM 335 E проводили виготовляли гістологічні зрізи завтовшки 3-4 мкм, їх візуальну оцінку, фарбування і фіксацію на предметних скельцях для подальшої мікроскопії та імуногістохімічних досліджень. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином. Світлову мікроскопію проводили на світлооптичному мікроскопі «Olimpus BX 40» додатково обладнаному цифровою камерою «Olimpus C3030-ADU» та програмним забезпеченням «Olimpus DP-Soft» при збільшенні об'єктива x5, x10, x20, x40, біокулярною насадкою x1,5 та окуляром x10. Для імуногістохімічного дослідження зрізи тканин головного мозку розміщували на покриті адгезивом скельця Super Frost Plus (Menzel, ФРН). Для «демаскування» антигенів регідратовані зрізи термічно обробля-

ли в розчині Target Retrieval Solution (DAKO, Данія) із використанням мікрохвильової печі. Потім зрізи обробляли протеїназою К (DAKO) протягом 5 хвилин. Надалі здійснювали блокування ендогенної пероксидазної активності і неспецифічного зв'язування, після чого наносили первинні антитіла до нейроспецифічної ендолази (NSE; code N1557) та гліального фібрилярного кислого протеїну (GFAP; code IS 524). Візуалізацію первинних антитіл виконували за допомогою високочутливої полімерної системи детекції DAKO Poly Vue HRP/DAB.

Результати та їх обговорення

При ЧМТ летальність складала у 1-й групі 25,0% тварин, у 2-й групі – 0,0% і у 3-й групі – 12,5%. Отже, активація ЦХС запобігала летальним випадкам, тоді як їх блокада супроводжувалася летальними випадками. Різниця за рівнем летальності між контролем та групою з активацією ЦХС була статистично значимою ($p=0,003$).

У контрольній групі патологічні зміни кори головного мозку розвивалися в нейронах, клітинах глії та васкулярних структурах, відповідно, їх можна було розділити на цитопатичні та вазопатичні [22]. Через 3 та 24 години структурні порушення нейронів проявлялися хроматолізом або тигролізом з різною локалізацією та ступенем вираженості. Первинні ознаки ушкоджень нейронів проявлялися змінами субстанції Нісля у вигляді центрального хроматолізу при відсутності змін в ядрах клітин. Однак у частині клітин відзначалося зменшення діаметра ядра і зміщення ядерця до ядерної мембрани. Цитоплазма нейронів мала слабобазофільне забарвлення. Виявляли перичелюлярний набряк різного ступеня вираженості.

Вимірювання розширення перичелюлярної зони набряку навколо нейронів кори головного мозку через 24 години після ЧМТ показало десятикратне збільшення товщини набрякового простору у порівнянні з гістологічної картиною у інтактних тварин. У групі щурів з ЧМТ зона набряку складала $0,1\pm 0,02$ мкм, а у інтактних тварин при відсутності набряку навколо нейронів – не більше 0,01 мкм. Це призводило до стискання навколишніми набряклими тканинами аксональних і дендритних відростків нейропілю, посилюючи нейродегенеративні порушення.

До характерних цитопатичних змін можна віднести некротичні явища в нейронах, що протікали за типом коагуляційного пікноморфного некрозу і коліквацийного пошкодження з формуванням «клітин-тіней», які становили до 20% від загальної кількості нейронів кори і характеризувалися глибокою дегенерацією цитоплазми, відсутністю ядра та ядерця. До клітинних тіней відносили і фрагменти нейронів, які було неможливо відрізнити від пошкоджених клітин [22]. В окремих ділянках кори великих півкуль були виражені явища гліальної реакції,

скупчення гліоцитів навколо загиблих нейронів з ознаками мікрогліального сателітозу і нейронофагії, на тлі появи блідих міжклітинних зон нейроглії. У порівнянні з більш раннім періодом спостереження можна відзначити помітне збільшення гліальних елементів між нейронами і в навколосудинних просторах.

Судинне русло характеризувалося структурною неоднорідністю: частина артеріол була спазмована, частина розширена. Однак незалежно від ступеню вазоспазму у всіх випадках визначалося повнокров'я судин, яке супроводжувалося явищами стазу та сладжу еритроцитів, що може бути свідченням уповільнення інтрацеребрального кровотоку з явищами порушення кровообігу і тканинної гіпоксії. Стан мікроциркуляторного русла характеризувався зменшенням діаметра кровеносних капілярів головного мозку, пошкодженням ендотелію судин з різким набряком та звуженням просвіту судини, дрібними діapedезними крововиливами з вираженим повнокров'ям і стазом формених елементів. Для венозних судин характерним було збільшення просвіту з порушенням венозного відтоку з мозкової тканини. Відзначалися ранні ознаки периваскулярного набряку з формуванням «муфтоподібних» порожнин, гемо- та плазморагії; інтерстиціального набряку, виявлялися поодинокі тромби з еритроцитів, тромбоцитів і малочислених лейкоцитів. Був виражений фібринозний набряк волокнистих структур стінок судин з нерівномірним потовщенням і розпушуванням шарів судин.

Таким чином, нейроморфологічні дослідження при ЧМТ дозволили встановити певні етапи та реакції пошкодження: 1) гіперкоагуляція з утворенням мікротромбів та оклюзією капілярів в головному мозку, що може призвести до збільшення зони ішемії; 2) прогресування периваскулярного і перичелюлярного набряку з розвитком нейронодистрофії; 3) специфічний захист тканин головного мозку – імунофагоцитоз з нейронофагією; 4) неспецифічна захисна реакція і відновлення нейропілю, нейроваскулярних контактів за участю макроглії і поліморфноядерних лейкоцитів.

Для оцінки нейрометаболічної активності нейронів кори було проведено імуногістохімічне дослідження NSE (рис. 1). Імуногістохімічна реакція NSE є гарним індикатором активності всіх типів нейронів кори головного мозку [23]. Посилення метаболічної активності нейронів супроводжується збільшенням кількості цього білка в їх цитоплазмі.

При ЧМТ відбувалися зміни розподілу, кількості, розмірів і форми імунопозитивних NSE-клітин в корі головного мозку. Загальна площа імунопозитивних NSE-гранул суттєво знижувалась у порівнянні з інтактними тваринами. Велика частина нейронів не мали NSE-

позитивного забарвлення, а, отже були функціонально неактивними. При цьому в збережених нейронах відмічено посилення експресії NSE, що можна розглядати як компенсаторну реакцію [23].

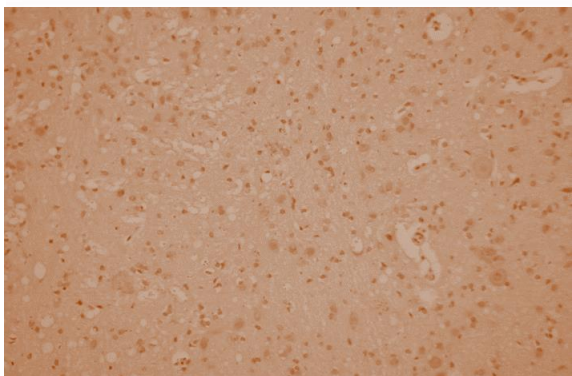


Рис. 1. Імунопозитивне фарбування NSE в нейронах кори головного мозку з додатковим фарбуванням гематоксиліном (контрольна група). $\times 200$.

В результаті спостереження за розподілом GFAP-імунопозитивних гранул в корі головного мозку було встановлено збільшення кількості маркерного білка цитоскелету астроцитів (рис. 2).



Рис. 2. Імунопозитивне фарбування GFAP в астроцитах кори головного мозку з додатковим фарбуванням гематоксиліном (контрольна група). $\times 200$.

Астроцитарна глія має регуляторну функцію, контролюючи виділення глутамату – основного нейромедіатора кори головного мозку в синаптичну щілину за рахунок захоплення вільного глутамату з міжклітинної простору [24]. Це є перешкодою для розвитку механізмів ексайтотоксического пошкодження, яке супроводжується некрозом і апоптозом. Гіпертрофія клітин нейроглії забезпечує видалення надлишку глутамату з міжклітинного простору, тим самим, знижуючи ймовірність активації кальцій-залежних механізмів цитотоксичності, яка прогресує в результаті некерованого наростання

збудливої активності глутаматергіческіх нейронів [24].

При аналізі гістоstruktur кори головного мозку на тлі активації ЦХС виявлені такі особливості. Нормохромні нейрони, зокрема пірамідні, при забарвленні по Ніслю уявляли собою клітини великого і середнього розмірів з добре забарвленою цитоплазмою. У цитоплазмі нормохромних пірамідних нейронів видно темні грудочки речовини Ніслю – гранулярної ендоплазматичної мережі, в центрі ядро, що займає основну частину тіла клітини, з темнофарбованим ядерцем. При цьому зафарблювалися тільки початкові сегменти проксимального дендрита. Також було відзначено невелику кількість реактивно змінених клітин – гіперхромних незморщених і зморщених. Гіперхромні незморщені пірамідні нейрони відрізнялися більш інтенсивним забарвленням; структура клітин змінювалась несуттєво, всі компоненти нейрона чітко простежувалися, на значній відстані фарбувалися апікальні і базальні дендрити. Як правило, обсяг клітини в цілому, трохи зменшувався, що свідчило про незначну дегідратацію. Ступінь перипелюлярного набряку була менш виражена у порівнянні з контрольною групою, за рахунок зменшення товщини набрякового простору навколо нервових клітин. Гіперхромні зморщені клітини або пікноморфні нейрони утворювалися в результаті каріоцитопікноза, мали веретеноподібну або наближену до трикутної форми і невеликі розміри. Інтенсивно забарвлені відростки нерідко звивисті й простежувалися на значній відстані. Цитоплазма і ядро таких клітин гомогенізовані, інтенсивно забарвлені та, в ряді випадків, між ними не виявлялася чітка межа. Такі нервові клітини відображали стадію коагуляційного нейронекрозу. Пікнотичні ядра нейронів виявлялися на тлі зменшення в розмірах цитоплазми, яка поступово перетворювалася на тінь, у вигляді гіперхромних, неправильної форми, що розпадались на дрібні зерна і грудочки, кутастих утворень. Гіпохромні нейроцити відрізнялися світлим забарвленням цитоплазми через зменшення кількості базофільної речовини, РНК і білка. При цьому цитоплазма мала нерівномірне забарвлення, що було пов'язано з різними типами хроматолізу: осередкового, центрального і периферичного. Дані морфологічні зміни, ймовірно, свідчили про попередньо високу функціональну активність нейронів. Визначались не чисельні клітини-тіні, які візуалізувалися у вигляді утворень неправильної форми з нерівномірним забарвленням і були наслідком лізису тіла і ядра, розвитку коливачійного нейронекроза.

Імуногістохімічне дослідження маркерів функціональної активності нейронів і астроцитарної глії кори головного мозку показало, що в збережених нейронах та нейронах, що мали реактивні зміни кількість NSE-позитивних гранул

суттєво збільшувалася у порівнянні з контролем, що свідчило про більш високий рівень метаболічної активності нейронів. Посилення експресії NSE зазначалося в пірамідних і непірамідних нейронах кори (рис. 3), що можна було розглядати як протективну реакцію нейронів на посилення холінергічного впливу. Отже, посилення холінореактивності супроводжувалося нейропротекторним впливом, що призводило до збереження міжнейронних і нейрогліальних зв'язків і підвищувало пластичність і регенерацію нервової тканини. Це могло пояснювати зменшення летальності у тварин цієї групи.

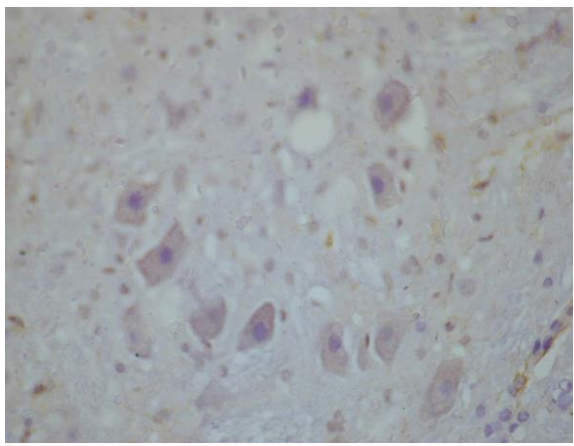


Рис. 3. Імунопозитивне фарбування NSE в нейронах кори головного мозку з додатковим фарбуванням гематоксиліном (активація ЦХС).×200.

Оцінка розподілу GFAP-позитивного матеріалу в корі головного мозку показала посилення його синтезу в астроцитах. Через 3 години визначалося суттєве збільшення вмісту імунопозитивних клітин і відростків, що в подальшому прогресувало (рис. 4).

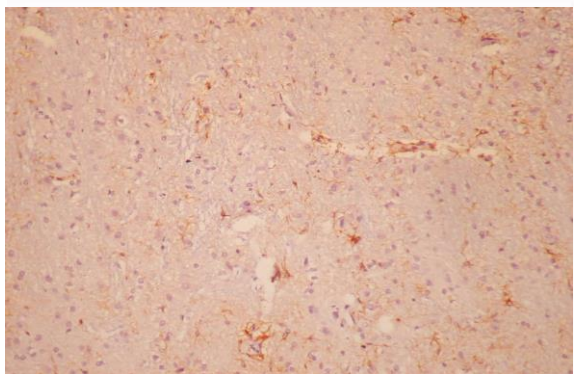


Рис. 4. Імунопозитивне фарбування GFAP в астроцитах кори головного мозку з додатковим фарбуванням гематоксиліном (активація ЦХС).×200.

Морфологічний стан структурних елементів кори головного мозку на тлі блокади ЦХС харак-

теризувалося зменшенням кількості незмінених і реактивно змінених нейронів при збільшенні числа клітин з дегенеративними змінами і клітин-тіней. Виражені морфологічні зміни відзначалися в судинному руслі сірої та білої речовини, включаючи капіляри, дрібні артерії та вени. Стінки венозних судин мали розширені просвіти, стоншену стінку, збільшувалися проміжки між ендотеліальними клітинами, стінки судини простежувалися неповно. На тлі суттєвого збільшення міжендотеліальних просторів формувалася периваскулярний набряк, вени були спазмовані. У капілярному руслі спостерігалася надлишкове кровонаповнення з явищами стазу. В артеріолах відзначалася неоднорідність – частина судин була спазмована, частина – розширена. Дані зміни були найбільш виражені через 48 годин після ЧМТ.

Через 24-48 годин після ЧМТ в нейронах кори головного мозку визначалися дистрофічні зміни у вигляді набряку, базofilії перикаріона та явища вираженого перичелюлярного набряку, спостерігалися ознаки загибелі нейронів. До таких ознак відносилися втрата характерної форми пірамідних клітин, лізис ядер, зниження тінкторіальних властивостей. В окремих випадках в корі великого мозку виявлялися виражені морфологічні зміни нейронів у вигляді коліквацийного некрозу. Дані зміни характеризувалися каріолізисом, набуханням, сателітозом, нейронофагією і утворенням «клітин-тіней». Була виражена гліальна реакція, скупчення гліоцитів навколо загиблих нейронів з формуванням зони нейронофагії. Найбільш характерною формою загибелі нейронів був пікноморфний коагуляційний некроз.

Імуногістохімічна реакція на NSE показала істотне зменшення кількості NSE-імунопозитивних клітин (рис. 5). Переважна кількість нейронів не мали NSE-позитивного забарвлення, що вказувало на відсутність їх функціональної активності.

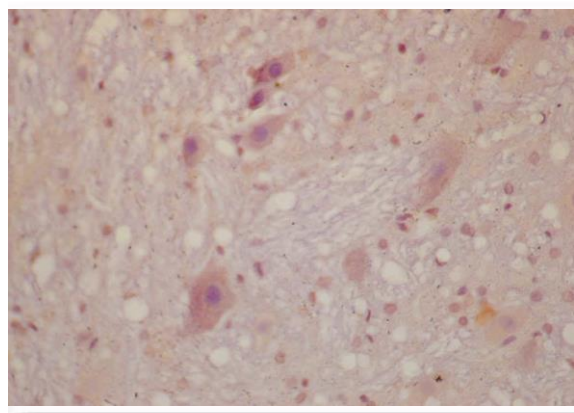


Рис. 5. Імунопозитивне фарбування NSE в нейронах кори головного мозку з додатковим фарбуванням гематоксиліном (блокада ЦХС).×200.

Визначення GFAP-імунопозитивних елементів астроцитарної глії виявило послаблення експресії цього білка (рис. 6). У порівнянні з контролем кількість GFAP-імунопозитивних астроцитів суттєво та прогресивно зменшувалася

протягом спостереження. Порушення структурно-функціонального стану астроцитарної глії, ймовірно, було пов'язано з нейрональною дисфункцією, обмеженням нейрогліальних і судинно-гліальних контактів.

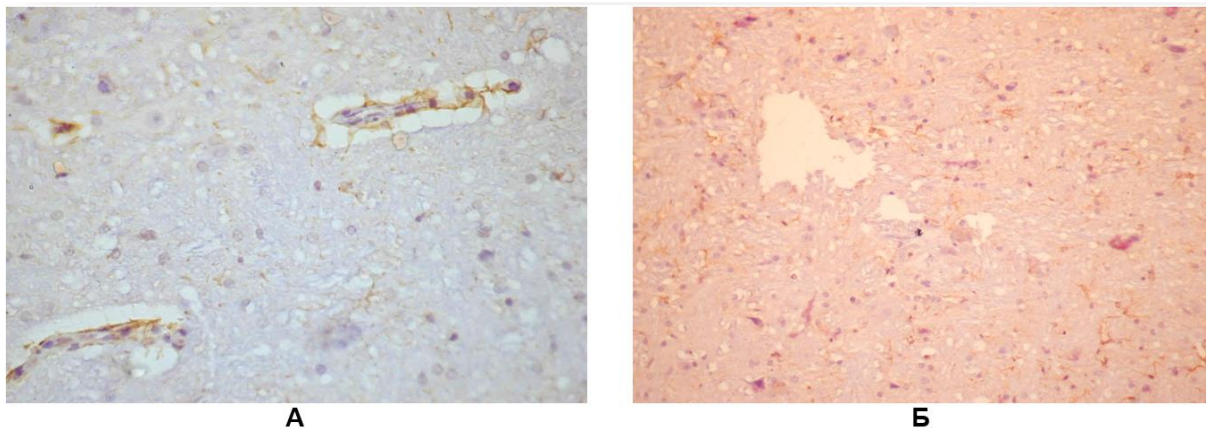


Рис. 6. Імунопозитивне фарбування GFAP в астроцитах кори головного мозку з додатковим фарбуванням гематоксиліном (блокада ЦХС). А – наявність імунопозитивного матеріалу в стінці судин, Б – зменшення щільності GFAP-позитивного матеріалу в клітинах кори. $\times 200$.

Підсумок

Таким чином, активація ЦХС супроводжувалася збільшенням нормохромії нейронів та синтезу нейроспецифічних білків, що регулюють метаболічні процеси нервових клітин. Збільшення інтенсивності NSE- та GFAP-позитивного забарвлення було відображенням повноцінного функціонування нейронів та нейроглії, що забезпечувало адекватну трофіку нервової тканини та захист гематоенцефалічного бар'єру. Такі зміни пояснювали зниження летальності при активації ЦХС.

Блокада ЦХС викликала пригнічення функціональної активності нейронів, а також супроводжувалася розвитком нейродеструктивних змін, суттєво зменшувалася NSE-позитивне

забарвлення. Зменшенні активності GFAP відобразило прогресуючі порушення астроцитарної нейроглії.

Перспективи подальших досліджень

Отримані результати показали перспективність використання центральних холіноміметиків для корекції морфологічних порушень головного мозку у гострому періоді ЧМТ. Надалі необхідним є з'ясування механізмів такого впливу, а саме – реакції нейро-гормональної регуляції, метаболізму мозку, процесів нейрозапалення.

Інформація про конфлікт інтересів

Автори заявляють про відсутність будь-якого конфлікту інтересів і власної фінансової зацікавленості при підготовці цієї статті.

Літературні джерела References

1. Pedachenko EG, Semisalov SYa, Elskyy VN, Kardash AM. Clinical epidemiology of traumatic brain injury. Donetsk: Apex;2002. Russian.
2. Levkin OA, Goldovsky BM, Serikov KV. Analysis of the provision of specialized (emergency) medical care by victims of severe traumatic brain injury. Med urgent states.2014;7:118-120. Ukrainian.
3. Guk AP. Regularities of mortality from head injuries and craniocerebral injuries in Ukraine. Ukraine. Health Nation.2010;3:48-53. Ukrainian.
4. Guk AP. Clinical and epidemiological characteristics of traumatic brain injury in Ukraine for 1999-2008. Ukraine. Health Nation.2011;2:52-56. Ukrainian.
5. Abou-El-Hassan H, Dia B, Choucair K, Eid SA, Najdi F, Baki L, Talih F, Eid AA, Kobeissy F. Traumatic brain injury, diabetic neuropathy and altered-psychiatric health: The fateful triangle. Med Hypotheses. 2017 Oct;108:69-80.
6. Elskyy VN, Kardash AM, Gorodnik GA. Pathophysiology, diagnosis and intensive care of severe traumatic brain injury. Ed. by prof. Cherniy VI. Donetsk: New world, 2004. Ukrainian.
7. Ziablitsev SV, Elskyy VM. Syndromes of traumatic disease in traumatic brain injury. Kramatorsk: Kashtan, 2020. Ukrainian.
8. Laurer HL, McIntosh TK. Pharmacologic

therapy in traumatic brain injury: update on experimental treatment strategies. *Curr. Pharm. Des.* 2001 Oct;7(15):1505-16.

9. Nokkari A, Abou-El-Hassan H, Mechref Y, Mondello S, Kindy MS, Jaffa AA, Kobeissy F. Implication of the kallikrein-kinin system in neurological disorders: quest for potential biomarkers and mechanisms. *Prog Neurobiol.* 2018 Jun-Aug; 165-167: 26-50.

10. Bortolotti P, Faure E, Kipnis E. Inflammasomes in tissue damages and immune disorders after trauma. *Front Immunol.* 2018 Aug 16;9:1900.

11. Zhao J, Hylin MJ, Kobori N, Hood KN, Moore AN, Pramod K, Dash PK. Post-injury administration of galantamine reduces traumatic brain injury pathology and improves outcome. *J Neurotrauma.* 2018 Jan 15;35(2):362-374.

12. Belluardo N, Mudo G, Blum M, Amato G, Fuxe K. Neurotrophic effects of central nicotinic receptor activation. *J. Neural Transm.* 2000;Suppl.227-245.

13. Mudo G, Belluardo N, Fuxe K. Nicotinic receptor agonists as neuroprotective/neurotrophic drugs. *Progress in molecular mechanisms. J Neural Transm (Vienna).* 2007 Jan;114(1):135-47.

14. Kalappa BI, Sun F, Johnson SR, Jin K, Uteshev VV. A positive allosteric modulator of $\alpha 7$ nAChRs augments neuroprotective effects of endogenous nicotinic agonists in cerebral ischaemia. *Br J Pharmacol.* 2013 Aug;169(8):1862-78.

15. Gorman LK, Fu K, Hovda DA, Murray M, Traystman RJ. Effects of traumatic brain injury on the cholinergic system in the rat. *J Neurotrauma.* 1996 Aug;13(8):457-63.

16. Shin SS, Dixon CE. Alterations in cholinergic pathways and therapeutic strategies targeting cholinergic system after traumatic brain injury. *J Neurotrauma.* 2015 Oct 1;32(19):1429-40.

17. Dixon CE, Ma X, Marion DW. Effects of CDP-choline treatment on neurobehavioral deficits after TBI and on hippocampal and neocortical acetylcholine release. *J Neurotrauma.* 1997 Mar;14(3):161-9.

18. Jonnala RR, Buccafusco JJ. Relationship between the increased cell surface $\alpha 7$ nicotinic receptor expression and neuroprotection induced by several nicotinic receptor agonists. *J Neurosci Res.* 2001 Nov 15;66(4):565-72.

19. Yu TS, Kim A, Kernie SG. Donepezil rescues spatial learning and memory deficits following traumatic brain injury independent of its effects on neurogenesis. *PLoS One.* 2015 Feb 25;10(2):e0118793.

20. Shaw KE, Bondi CO, Light SH, Massimino LA, McAloon RL, Monaco CM, Kline AE. Donepezil is ineffective in promoting motor and cognitive benefits after controlled cortical impact injury in male rats. *J Neurotrauma.* 2013 Apr 1;30(7):557-64.

21. Elskyy VN, Ziablitsev SV. Modeling of traumatic brain injury. Donetsk: New World; 2008. Russian.

22. Mytsik AV. Actual problems of studying the structural and functional state of neurons of the human cerebral cortex in the postischemic period. *J of Anatomy and Histopathology.* 2012;1(1):37-48. Russian.

23. Yardimoğlu M, İlbağ G, Dalçık C, Dalçık H. Immunocytochemistry of neuron specific enolase (NSE) in the rat brain after single and repeated epileptic seizures. *Int J Neuroscience.* 2008;118(7):981-93.

24. Chvatal A, Anderova M, Neprasova H. Pathological potential of astroglia. *Physiol Res.* 2008;57(3):101-10.

Худолій С.О., Зяблицев С.В. Морфологічний стан кори головного мозку при експериментальній черепно-мозковій травмі на тлі активації та блокади холінергічних систем.

РЕФЕРАТ. Вступ. Ключова роль у процесах адаптації центральної нервової системи до черепно-мозкової травми належить холінергічним системам. **Мета** – визначення впливу активації та блокади холінергічних систем на морфологічний стан кори головного мозку в гострому періоді черепно-мозкової травми. **Методи.** Травму моделювали при вільному падінні вантажу на фіксовану голову тварини. Для активації холінергічних систем шурам до травми вводили холіну альфосцерат (гліатілін; 6 мг/кг), для блокування – біперидену гідрохлорид (акінетон; 0,6 мг/кг). Гістологічні та імуногістохімічні дослідження проводили через 3, 24, 48 та 72 години після травми. Зрізи кори головного мозку для світлової мікроскопії фарбували гематоксіліном та еозіном. Для імуногістохімічного дослідження використовували антитіла до нейронспецифічної енолази (NSE) та гліального фібрилярного кислого протеїну (GFAP). Візуалізацію антитіл виконували за допомогою системи детекції DAKO Poly Vue HRP/DAB. Світлову мікроскопію проводили на мікроскопі «Olimpus BX 40» з цифровою камерою «Olimpus C3030-ADU» та програмним забезпеченням «Olimpus DP-Soft». **Результати.** Активация холінергічних систем у гострому періоді призводила до істотного зменшення летальності експериментальних тварин. При цьому у корі головного мозку відмічено збільшення кількості нормохромних нейронів та синтезу нейроспецифічних білків: NSE та GFAP, що було відображенням повноцінного функціонування нейронів та нейроглії. Блокада холінергічних систем викликала пригнічення функціональної активності нейронів, а також супроводжувалося розвитком нейродеструктивних змін, суттєвим зменшенням NSE-позитивного забарв-

лення та активності GFAP, що відображало прогресуючі порушення нейронів та астроцитарної нейроглії. **Підсумок.** Отримані результати підтвердили значну роль центральних холінергічних систем для реалізації адаптивної відповіді при черепно-мозковій травмі та розкрили характер морфологічних змін головного мозку при їх активації та блокаді.

Ключові слова: центральні холінергічні системи, черепно-мозкова травма, NSE, GFAP, нейроморфологія головного мозку.

Худолей С.А., Зяблицев С.В. Морфологическое состояние коры головного мозга при экспериментальной черепно-мозговой травме на фоне активации и блокады холинергических систем

РЕФЕРАТ. Введение. Ключевая роль в процессах адаптации центральной нервной системы к черепно-мозговой травме принадлежит центральным холинергическим системам. **Цель** – установить влияние активации и блокады холинергических систем на морфологическое состояние коры головного мозга в остром периоде черепно-мозговой травмы. **Методы.** Травму моделировали при свободном падении груза на фиксированную голову животного. Для активации холинергических систем крысам до травмы вводили холина альфосцерат (глиатилин, 6 мг/кг), для блокировки – биперидена гидрохлорид (акинетон; 0,6 мг/кг). Гистологические и иммуногистохимические исследования проводили через 3, 24, 48 и 72 часа после травмы. Срезы коры головного мозга для световой микроскопии окрашивали гематоксилином и эозином. Для иммуногистохимического исследования использовали антитела к нейронспецифичной енолазе (NSE) и глиальному фибриллярному кислому протеину (GFAP). Визуализацию антител выполняли с помощью полимерной системы детекции DAKO Poly Vue HRP/DAB. Световую микроскопию проводили на микроскопе «Olimpus BX 40» с цифровой камерой «Olimpus C3030-ADU» и программным обеспечением «Olimpus DP-Soft». **Результаты.** Активация холинергических систем в остром периоде приводила к существенному уменьшению летальности экспериментальных животных. При этом в коре головного мозга отмечено увеличение количества нормохромных нейронов и синтеза нейронспецифических белков: NSE и GFAP, что было отражением полноценного функционирования нейронов и нейроглии. Блокада холинергических систем сопровождалась высокой летальностью, и вызвала угнетение функциональной активности нейронов, развитием нейродеструктивных изменений при существенном уменьшении NSE-позитивного материала и активности GFAP, что отражало прогрессирующие нарушения нейронов и астроцитарной нейроглии. **Заключение.** Полученные результаты подтвердили ключевую роль центральных холинергических систем для реализации адаптивного ответа при черепно-мозговой травме и показали характер морфологических изменений головного мозга при их активации и блокаде.

Ключевые слова: центральные холинергические системы, черепно-мозговая травма, NSE, GFAP, нейроморфология головного мозга.