

НЕЙРОДЕСТРУКЦІЯ ГІПОТАЛАМІЧНИХ ЯДЕР ПРИ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВІЙ ТРАВМІ. ДІЯ КАРБАЦЕТАМУ

Зяблицев С.В., Панова Т.І., Стародубська О.О.

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Київ, Україна

zsv1965@gmail.com

Рецензенти: проф. Кришталь М.В., проф. Єльський В.М.

Актуальність. Ключову роль у патогенезі черепно-мозкової травми (ЧМТ) відіграють деструктивні зміни нервової тканини головного мозку, які полягають у пошкодженні нейронів та гліальних клітин. На сьогоднішній день інтенсивно розробляються і досліджуються різноманітні лікарські препарати, які розглядаються в перспективі корекції та відновлення функціонального стану мозку. До таких речовин відноситься нейропротектор карбацетам – модулятор ГАМК-бензодіазепінового рецепторного комплексу, похідний алкалоїду b-карболіну.

Мета: дослідити вплив карбацетама на процеси нейродеструкції у паравентрикулярному і супраоптичному ядрах гіпоталамуса при експериментальній ЧМТ.

Матеріали і методи. Дослідження проведено на 20 білих безпородних самцях щурів масою 200±10 г. Для моделювання ЧМТ щурам наносили один удар по склепінню черепа вантажем, що вільно падав, за методикою В.М. Єльського та С.В. Зяблицева (2008). Енергія удару складала 0,52 Дж, летальність за перші 5 діб після травми становила 84%. У контрольній групі (n=10) внутрішньочеревно одноразово щоденно вводили 1 мл фізіологічного розчину протягом 10 діб після травми. Тварини дослідної групи (n=10) отримували внутрішньочеревні ін'єкції карбацетама у дозі 5 мг/кг у 1 мл фізіологічного розчину за такою ж схемою. Після закінчення експерименту тварин декапітували з вилученням головного мозку, з якого після відповідної гістологічної обробки виготовляли гістологічні препарати за допомогою мікротома. Частину зрізів забарвлювали гематоксилином та еозином, на інших проводили імуногістохімічну реакцію з антитілами проти білків-нейромаркерів NSE, S-100 і GFAP.

Результати. Карбацетам впливав на зменшення дегенеративних процесів у нервовій тканині паравентрикулярного і супраоптичного ядер гіпоталамуса. Нейрони тварин з ЧМТ, які отримували карбацетам, характеризувалися відновленням нормальних морфологічних ознак на відміну від щурів, які не отримували препарату. Імуногістохімічне дослідження нейромаркерів головного мозку підтвердило відновлення функцій нейронів і астроцитів у досліджуваних ділянках гіпоталамуса щурів після введення карбацетама. Спостерігалось зниження рівня експресії гліальних маркерів GFAP та S-100, що ілюструвало зменшення дегенеративних змін у нервовій тканині. Тоді як рівень експресії маркера нейронів NSE зростав, що демонструвало високу метаболічну активність нервових клітин. Разом зміни експресії маркерів нейронів і глії свідчили про відновлення нормальної нейрональної активності під дією карбацетама.

Висновки. Подальше дослідження ефектів карбацетама представляється перспективним в аспекті відновлення нейрональної функції при ЧМТ.

Ключові слова: черепно-мозкова травма, нейроспецифічний білок S-100B, NSE, GFAP, карбацетам.

Актуальність. Проблема лікування наслідків черепно-мозкової травми (ЧМТ) представляє високу актуальність у сучасній медицині, тому що цей тип пошкодження головного мозку характеризується високою летальністю та виступає причиною інвалідизації осіб працездатного віку серед усіх інших травматичних пошкоджень (особливо небезпечні травми середнього та важкого ступеня). Крім того, навіть після травми легкого ступеня можуть формуватися остаточні явища. Небезпечність ЧМТ проявляється в широкому діапазоні негативних наслідків – від фізичного пошкодження тканин до психологічних і когнітивних проблем [5].

Ключову роль у патогенезі ЧМТ відіграють деструктивні зміни нервової тканини головного мозку, які полягають у пошкодженні нейронів та гліальних клітин. Морфологічні порушення елементів нервової тканини спряжені з функціональними порушен-

нями, зокрема, з дисфункцією міжклітинних взаємодій, що лежить в основі різних захворювань [6]. Зважаючи на високу небезпечність наслідків ЧМТ, на сьогоднішній день інтенсивно розробляються і досліджуються різноманітні лікарські препарати, які розглядаються в перспективі корекції та відновлення функціонального стану мозку.

Одним з таких препаратів є карбацетам, який чинить антиамнестичний, антигіпоксичний, анксиолітичний та антишоковий ефекти, тому цей препарат розглядається як перспективний засіб для попередження нейрогенної дисфункції при ЧМТ [4].

У зв'язку з цим викликає інтерес вивчення впливу карбацетама на морфологічні та імуногістохімічні особливості нервової тканини різних ділянок ушкодженого внаслідок ЧМТ мозку. Тому представляє важливість вивчення морфології нервової тканини та експресії маркерів нейронів (NSE) та

астроцитів (GFAP і S-100) у гіпоталамічних ядрах щурів з ЧМТ при введенні карбацетаму. Варто зауважити, що досліджувані нейромаркери є досить інформативними при дослідженні захворювань, що супроводжуються нейродегенеративними процесами, що має місце при ЧМТ. Крім того, вказані маркери нейронів і астроцитів дозволяють об'єктивно оцінити терапевтичний ефект досліджуваного препарату і виявити функціональні зміни в нервовій тканині [10].

Мета: дослідити вплив карбацетаму на процеси нейродеструкції у паравентрикулярному і супраоптичному ядрах гіпоталамуса при експериментальній черепно-мозковій травмі (ЧМТ).

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ

Експерименти здійснені на 20 білих безпородних щурах-самцях, яким наносили ЧМТ середньоважкого ступеня за моделлю В.М. Єльського, С.В. Зяблицева (2005) [3]. Під час патологоанатомічного макроскопічного дослідження було встановлено, що ЧМТ характеризувалася наявністю шкірної та «оболонкової» гематом у зоні удару; переломами кісток склепіння черепа без зсуву середньоважкого ступеня; розтрощенням кори тім'яних і скроневи часток (у зоні удару) й основи лобових і скроневи часток (у зоні протиудару). У тканині головного мозку були наявні дифузні дрібноточкові крововиливи.

Вітчизняний препарат карбацетам був розроблений в Інституті фізико-органічної хімії та вуглехімії НАН України (м. Донецьк) [2]. Карбацетам належить до модуляторів ГАМК-бензодіазепінового рецепторного комплексу, похідних β-карболіну та представляє собою карболіновий ізостер (1-оксо-3,3,6-триметил-1,2,3,4-тетрагідроіндоло[2,3-с]хінолін); β-карболінова структура є основою для алкалоїдів (β-карболінів), які виділені з квітки – гармали звичайної (*Peganum harmala*).

На 7 добу головний мозок, який отримали при декапітації під загальною анестезією, поміщали в нейтральний забуферений розчин формальдегіду (рН 7,4) і фіксували протягом 24 годин. Після дегідратації шматочки заливали в парафін за стандартною методикою. Зрізи завтовшки 3-4 мікрони отримували на ротаційних мікротомах МПС-2 та Microm HM 335 E. Надалі зрізи досліджували за допомогою світлової мікроскопії. Використовували світлооптичний мікроскоп «Olimpus BX 40» із цифровою камерою «Olimpus C3030-ADU» та C2000 ZOOM, «Olimpus BX 43» з цифровою камерою «Olimpus SC100» та програмним забезпеченням «Olimpus DP-Soft» і світлооптичний мікроскоп Axio Imager.A2 «Carl Zeiss» (ФРН) із системою опрацювання даних «Axiovision» при збільшенні об'єктива ×5, ×10, ×20, ×40, біокулярної насадки ×1,5 та оку-

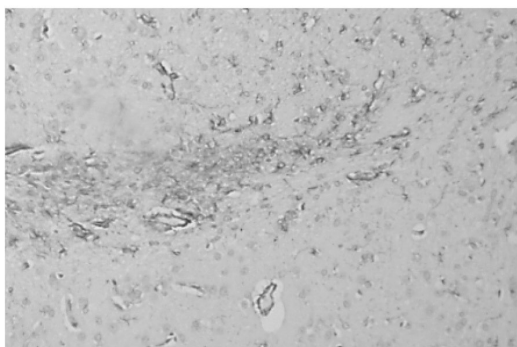
ляра ×10. Зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином. Для імуногістохімічного дослідження зрізи розміщували на покритих адгезивом скельця Super Frost Plus (Menzel, ФРН). Для «демаскування» антигенів регідратовані зрізи термічно обробляли в розчині Target Retrieval Solution (DAKO, Данія) із використанням мікрохвильової печі. Потім зрізи ферментативно обробляли протеїназою К (DAKO) протягом 5 хвилин. Надалі здійснювали блокування ендогенної пероксидазної активності пероксидазним блоком і блоком неспецифічного зв'язування – протеїновим блоком (DAKO). Після цього наносили первинні антитіла – білок S-100 (багатофункціональний, code z0311), нейроспецифічну енолазу (NSE; code N1557), гліальний фібрилярний кислий протеїн (GFAP; code IS 524). Візуалізацію первинних антитіл виконували за допомогою високочутливої полімерної системи детекції DAKO Poly Vue HRP/DAV.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

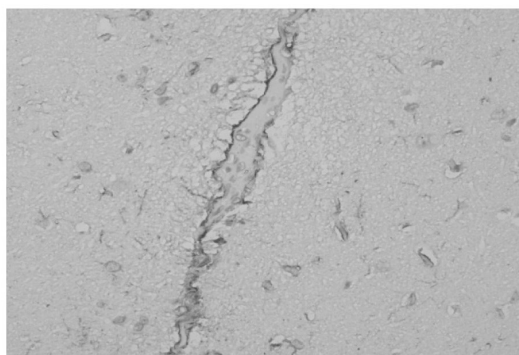
Паравентрикулярне ядро гіпоталамуса. ПВЯ належить до крупноклітинних ядер гіпоталамуса. В щурів контрольної групи ПВЯ представлене нейронами та гліальними клітинами, які тісно контактують між собою. Нейронам притаманні крупні світлі ядра круглої чи овальної форми. В деяких ядрах помітні невеликі глибини хроматину, які розподілені дифузно з певною концентрацією під ядерною мембраною. Гліальні клітини характеризувалися меншим розміром порівняно з нейронами. Вони розташовані навколо нейронів та суттєво переважали їх за кількістю (рис. 1А). Аналогічні морфологічні характеристики ПВЯ зустрічаються й в інших авторів [7].

Найбільш поширеним типом гліальних клітин є астроцити, які добре виявляються імуногістохімічними методами, оскільки маркером цих клітин виступає GFAP. У даній групі тварин ступінь експресії GFAP не досить виражений, що свідчило про наявність нетяжкого ушкодження нервової тканини. Морфологічно це підтверджувалося переважною кількістю нормальних нейронів, без дегенеративних ознак. Лише незначна частина нервових клітин мала гіперхромні ядра неправильної форми (рис. 1А), що відображало порушення функціональної активності аж до повної втрати функцій. В цілому в ПВЯ щурів контрольної груп спостерігалися морфологічні та імуногістохімічні ознаки деструктивних змін нервової тканини.

ПВЯ щурів з ЧМТ при введенні карбацетаму загалом зберігало ті ж морфологічні риси, як і у тварин контрольної групи. В даній групі щурів зустрічалися гетерогенні нейрони: як овальні зі світлими ядрами, так і клітини неправильної форми з гіперхромними ядрами. Показовою ознакою астроцитів щурів даної групи був значно менший ступінь експ-



А

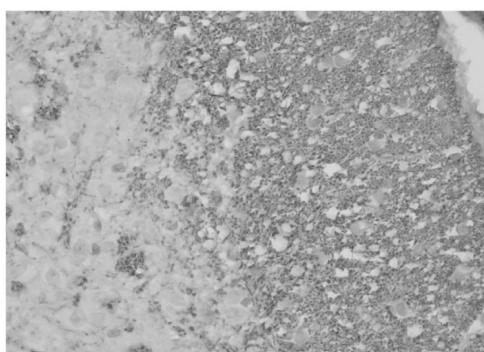


Б

Рис. 1. Мікрофотографія ПВЯ гіпоталамуса щура при ЧМТ. Імуногістохімічне виявлення GFAP. $\times 400$. А) контрольна група; Б) при введенні карбацетаму



А



Б

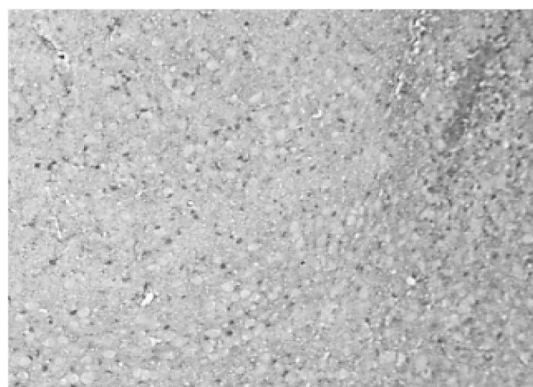
Рис. 2. Мікрофотографія ПВЯ гіпоталамуса щура при ЧМТ. Імуногістохімічне виявлення NSE. $\times 400$. А) контрольна група; Б) при введенні карбацетаму

ресії GFAP, ніж у тварин контрольної групи (рис. 1Б). Такі зміни могли бути пов'язані з коригуючим впливом карбацетаму на деструкційні зміни нервової тканини внаслідок ЧМТ, зокрема, на гліальний компонент [12].

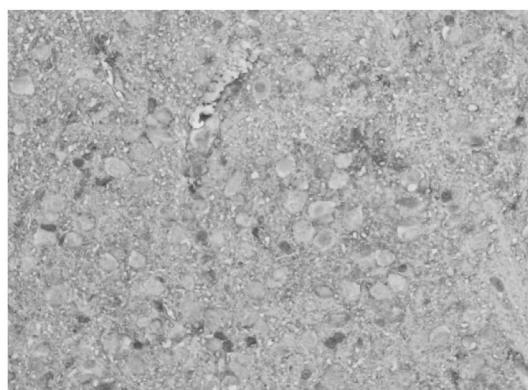
При дослідженні експресії NSE в ПВЯ гіпоталамуса щурів спостерігався невисокий рівень експресії даного нейромаркера в контрольній групі (рис. 2А). Оскільки NSE вважається маркером метаболічно активних нейронів, незначний рівень його експресії можна розглядати як ознаку низького енергообміну в нервовій тканині [11].

Після введення карбацетаму в ПВЯ гіпоталамуса щурів спостерігався високий рівень експресії NSE порівняно з контрольною групою (рис. 2Б), що ілюструвало підвищення метаболічної активності нейронів у результаті дії даного препарату.

При імуногістохімічному дослідженні експресії S-100 в ПВЯ гіпоталамуса щурів контрольної групи були виявлені астроцити, які виділяють цей білок (рис. 3А). Порівняно невелика кількість таких клітин свідчила про незначний ступінь ураження нервової тканини після ЧМТ та збереження здатності нейронів та глії до регенерації.



А



Б

Рис. 3. Мікрофотографія ПВЯ гіпоталамуса щура при ЧМТ. Імуногістохімічне виявлення S-100. $\times 400$. А) контрольна група; Б) при введенні карбацетаму

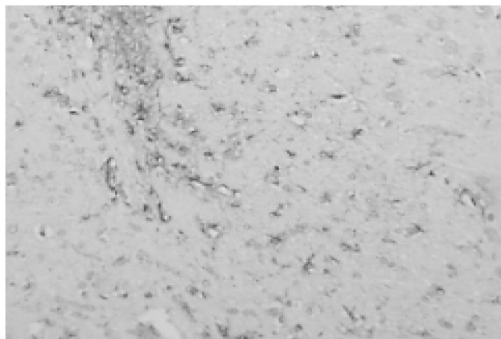
У щурів, які отримували карбацетам, у ПВЯ гіпоталамуса також виявлялися клітини, що експресували білок S-100 (рис. 3Б). Ступінь експресії S-100 в даній групі щурів незначно зменшувався порівняно з контролем, тобто карбацетам спричинив певне зниження експресії цього нейромаркера. Відповідно під впливом карбацетаму відбулося відновлення астроцитарної функції внаслідок ЧМТ.

Супраоптичне ядро гіпоталамуса. СОЯ, як і ПВЯ, належить до крупноклітинних ядер гіпоталамуса. В контрольній групі щурів СОЯ представлене нейронами та більш дрібними гліальними клітинами, що оточують нейрони. Такий опис узгоджується з даними інших дослідників [7]. У частини нейронів відмічалися крупні округлі світлі ядра з невеликими глибокими хроматину, які зміщені переважно на периферію ядра, що відображало високу функціональну активність клітин. Але у значній частині нервових клітин переважав гетерохроматин, через що ядра набували темного забарвлення (рис. 4А). Так проявлялася низька функціональна активність клітин. Крім того, ядрам нейронів була притаманна певна зморшкуватість (відхилення від характерної круглої чи овальної форми), що вказувало на дегенеративні процеси в клітині. Крім того, в даній групі щурів навколо нейронів був помітний високий рівень експресії GFAP, що притаманне для за-

гибелі клітин і підтверджувалося морфологічними даними. Інтенсивне виділення GFAP пояснювалося тим, що у випадку пошкодження нейронів астроцити максимально підсилювали свою функціональну активність для компенсації частини втрачених нейрональних функцій, що було необхідно для забезпечення нормальної життєдіяльності клітин ураженої ділянки мозку.

Після введення карбацетаму, в СОЯ гіпоталамуса щурів спостерігалось зниження експресії GFAP порівняно з контролем, що свідчило про зменшення дегенеративних уражень нервової тканини внаслідок ЧМТ. Крім того, нормальний функціональний стан нейронів тварин цієї групи тварин підтверджувався морфологічно – більшості нервових клітин була притаманна округла форма ядер та велика кількість еухроматину (ознака інтенсивності синтетичних процесів) (рис. 4Б).

Таким чином, в СОЯ гіпоталамуса щурів під впливом карбацетаму спостерігалось відновлення дегенеративних змін нервової тканини, причинених ЧМТ, що проявлялося як морфологічно, так і в зміні рівня експресії GFAP.

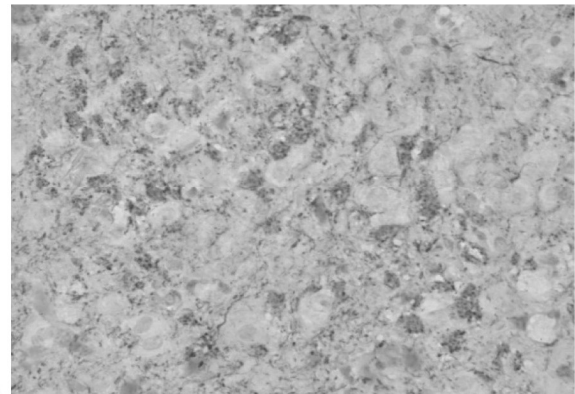


А

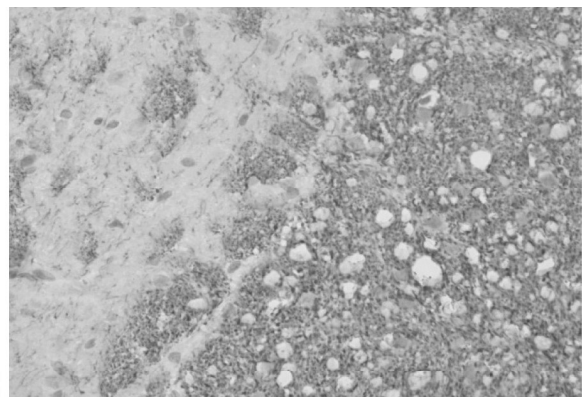


Б

Рис. 4. Мікрофотографія СОЯ гіпоталамуса щура при ЧМТ. Імуногістохімічне виявлення GFAP. $\times 400$. А) контрольна група; Б) при введенні карбацетаму



А



Б

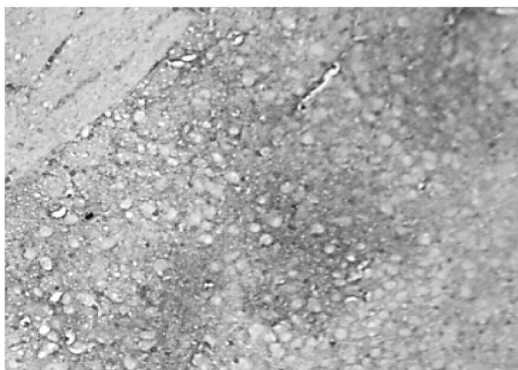
Рис. 5. Мікрофотографія СОЯ гіпоталамуса щура при ЧМТ. Імуногістохімічне виявлення NSE. $\times 400$. А) контрольна група; Б) при введенні карбацетаму

Результати дослідження експресії NSE в СОЯ гіпоталамуса щурів контрольної групи показали високий рівень експресії даного нейромаркера (рис. 5А), що можна було пов'язати з низькою метаболічною активністю більшості нейронів.

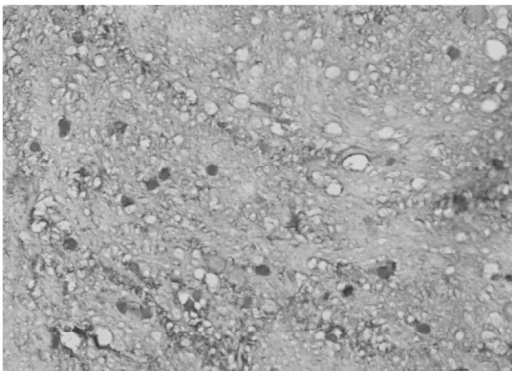
У щурів, яким вводили карбацетам, спостерігалася експресія NSE в усіх нейронах даної ділянки мозку. Тобто введення цього препарату спричинило зростання рівня експресії NSE в СОЯ гіпоталамуса щурів порівняно з контролем (рис. 5Б). Такі зміни в рівні експресії даного нейромаркера можна пояснити підсилюючим впливом карбацетаму на метаболізм у нейронах [8].

Імуногістохімічне виявлення S-100 в СОЯ гіпоталамуса щурів контрольної групи показало, що даний нейромаркер експресувався в багатьох астроцитах цієї ділянки гіпоталамуса (рис. 6А), що вказувало на значний рівень пошкодження нервової тканини внаслідок ЧМТ.

У щурів, яким вводили карбацетам, ступінь експресії S-100 в СОЯ гіпоталамуса незначно відрізнялася від контрольної групи в бік зменшення (рис. 6Б). Тому можна було зазначити, що препарат у певній мірі пригнічував інтенсивність дегенеративних процесів у даній ділянці гіпоталамуса після ЧМТ.



А



Б

Рис. 6. Мікрофотографія СОЯ гіпоталамуса щура при ЧМТ. Імуногістохімічне виявлення S-100. $\times 400$. А) контрольна група; Б) при введенні карбацетаму

В цілому, дослідження морфології нервової тканини СОЯ і ПВЯ гіпоталамуса показало, що при ЧМТ частина нейронів даних ділянок мозку мала виражені в різній ступені ознаки пошкодження: неправильну форму та темний колір ядер, скупчення гетерохроматину тощо.

Імуногістохімічне виявлення неймаркерів GFAP, NSE та S-100 підтвердило наявність дегенеративних змін у нервовій тканині при ЧМТ.

В нервовій тканині GFAP та S-100 експресуються астроцитами, а S-100 – нейронами. В свою чергу, у СОЯ та ПВЯ гіпоталамуса тварин з ЧМТ спостерігалися високі рівні експресії GFAP та S-100, що свідчило про порушення нейро-гліальних взаємодій та всіх процесів, які залежать від скоординованої роботи нейронів і астроцитів. В той же час експресія NSE була незначна, що пов'язано з порушенням метаболізму в нейронах внаслідок ЧМТ. Отже, в досліджуваних гіпоталамічних ділянках щурів з ЧМТ спостерігалися морфологічні та імуногістохімічні ознаки пошкодження нервової тканини, що відображалася у порушенні функціональних можливостей нервових і гліальних клітин.

У щурів, які отримували карбацетам, нейрони СОЯ і ПВЯ гіпоталамуса мали морфологічні ознаки клітин з нормальними функціональними можливостями: округла чи овальна форма ядер, високий вміст еухроматину, відсутність дистрофічних ознак. При дослідженні експресії нейромаркерів спостерігалася зниження рівня експресії GFAP та S-100, що ілюструвало зменшення/зникнення дегенеративних змін у нервовій тканині. Крім того, зростання рівня експресії цих маркерів, особливо GFAP, відображало активацію астроцитів, які виконують ряд важливих функцій, пов'язаних з забезпеченням нейрональної активності. Зростання рівня експресії маркерів астроцитів пов'язане з певними порушеннями в нервовій тканині, в даному дослідженні з ЧМТ, внаслідок чого порушується нейрональна функція. Астроцити, в свою чергу, активуються для максимальної компенсації функцій пошкоджених нейронів, що має місце при ЧМТ [1]. Експресія нейромаркера NSE, в свою чергу, спостерігалася в усіх нейронах СОЯ і ПВЯ гіпоталамуса щурів, що демонструвало високу метаболічну активність у нервових клітинах [9].

ВИСНОВКИ

Комплексне морфологічне та імуногістохімічне дослідження СОЯ і ПВЯ гіпоталамуса щурів при ЧМТ показало, що карбацетам корегує (зменшує) дегенеративні посттравматичні зміни в нервовій тканині.

Карбацетам діє як на нейрони, так і на глію, покращуючи метаболізм нейронів та активуючи астроцитарну функцію, що має ключову роль у підтри-

манні нормального функціонального стану нервової тканини.

Вплив карбацетама проявлявся як в морфологічних змінах нейронів, так і в імуногістохімічних показниках експресії нейромаркерів, які відображають стан нервової тканини.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що не мають конфлікту інтересів.

Джерела фінансування. Робота виконана у рамках держбюджетної НДР кафедри патофізіології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця «Механізми нейрогормональних та імунних порушень при черепно-мозковій травмі і шляхи їх патогенетичної корекції», № держреєстрації 0116U004319, строки виконання: 2016–2017 р.р.

ЛІТЕРАТУРА

1. Chvatal A., Anderova M., Neprasova H. Pathological Potential of Astroglia // *Physiol. Res.* 2008. Vol. 57, Suppl. 3. P. 101-110.
2. Dulenko V.I., Komissarov I.V., Doljenko A.T., & Nikolukin U.A. в-Carbolini. *Himia i neurobiologia [в-Carbolines. Chemistry and Neurobiology]*. Kiev: Nauk. Dumka. 1992. 120 p. [in Russian].
3. Elskyy, V.N., & Ziablitsev, S.V. Modelirovanie cherepno-mozgovej travmy [Design of brain injury]. Donetsk: Publishing by "New World". 2008. [in Russian].
4. Kibalny A.V. Dulenko V.I., Khabarov K.M. New high-effective neuroprotector – carbacetam // *Drugs of the future. Brussel. Suppl. A.* 2010. Vol. 35. P. 198.
5. Li M., Zhao Z., Yu G., Zhang J. Epidemiology of Traumatic Brain Injury over the World: A Systematic Review // *Gen. Med. (Los Angel)*. 2016. Vol. 4, No. 5. P. 1-13.
6. Maia P.D., KutzJ.N. Reaction time impairments in decision-making networks as a diagnostic marker for traumatic brain injuries and neurological diseases // *J. Comput. Neurosci.* 2017. Vol. 42, No. 3. P. 323-347.
7. Semenov S.N., Polyakova N.D., Dolgopolova T.V. Ultrastrukturnaya kharakteristika krupnokletochnykh yader gipotalamusa i neyrogipofiza krysa pri prolongirovannoy alkogolnoy intoksikatsii i vvedenii tokoferola // *Zhurnal anatomii i gistopatologii.* 2012. T. 1. № 1. S. 65-73 [in Russian].
8. Singh H.V. et al. Prognostic value of neuron specific enolase and IL-10 in ischemic stroke and its correlation with degree of neurological deficit // *Clin. Chim. Acta.* 2013. Vol. 419. P. 136-138.
9. Vedunova M.V. et al. Determining Concentration of Neurotrophic Factors and Neuron specific Enolase in the blood of Newborns with Central Nervous system Damages as a New Approach in Clinical Diagnostics / *CTM.* 2015. Vol. 7, No. 2. P. 25-30.
10. Wolf H. et al. Predictive value of neuromarkers supported by a set of clinical criteria in patients with mild traumatic brain injury: S100B protein and neuron-specific enolase on trial: clinical article // *J. Neurosurg.* 2013. Vol. 118, No. 6. P. 1298-1303.
11. Yardimoglu M. et al. Immunocytochemistry of neuron specific enolase (NSE) in the rat brain after single and repeated epileptic seizures // *Int. J. Neurosci.* 2008. Vol. 118, No. 7. P. 981-993.
12. Ziablitsev S.V., Starodubska O.O. Condition of neurohormonal systems in traumatic brain injury and influence of Carbacetam // *Pathology.* 2017. Vol. 14, No. 1 (39). DOI: 10.14739/2310-1237.2017.1.9750 [in Ukrainian].

Отримано 20.03.2018

НЕЙРОДЕСТРУКЦИЯ ГИПОТАЛАМИЧЕСКИХ ЯДЕР ПРИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ. ДЕЙСТВИЕ КАРБАЦЕТАМА

Зяблицев С.В., Панова Т.И., Стародубская А.А.

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев, Украина

Актуальность. Ключевую роль в патогенезе черепно-мозговой травмы (ЧМТ) играют деструктивные изменения нервной ткани головного мозга, которые заключаются в повреждении нейронов и глиальных клеток. На сегодняшний день интенсивно разрабатываются и исследуются различные лекарственные препараты, которые рассматриваются в перспективе коррекции и восстановления функционального состояния мозга. К таким веществам относится нейропротектор карбацетам – модулятор ГАМК-бензодиазепинового рецепторного комплекса, производный алкалоида в-карболина.

Цель: исследовать влияние карбацетама на процессы нейродеструкции в паравентрикулярном и супраоптическом ядрах гипоталамуса при экспериментальной ЧМТ.

Материал и методы. Исследование проведено на 20 белых беспородных самцах крыс массой 200±10 г. Для моделирования ЧМТ крысам наносили один удар по своду черепа свободнопадающим грузом по методике В.Н. Ельского и С.В. Зяблицева (2008). Энергия удара 0,52 Дж, летальность за первые 5 суток после травмы 84%. В контрольной группе (n=10) внутрибрюшинно вводили 1 мл физиологического раствора однократно ежедневно в течение 10 суток после травмы. Животные опытной группы (n=10) получали внутрибрюшные инъекции карбацетама в дозе 5 мг / кг в 1 мл физиологического раствора по той же схеме. После окончания эксперимента животных декапитировали с изъятием головного мозга, из которого после соответствующей гистологической обработки изготавливали гистологические препараты с помощью микротомы. Часть срезов окрашивали гематоксилином и эозином, на других проводили иммуногистохимическую реакцию с антителами против белков-нейромаркеров NSE, S-100 и GFAP.

Результаты. Карбацетам влиял на уменьшение дегенеративных процессов в нервной ткани паравентрикулярного и супраоптического ядер гипоталамуса. Нейроны животных с ЧМТ, получавших карбацетам, характеризовались восстановлением нормальных морфологических признаков в отличие от крыс, не получавших препарата. Иммуногистохимическое исследование нейромаркеров головного мозга подтвердило восстановление функций нейронов и астроцитов в исследуемых участках гипоталамуса крыс после введения карбацетама. Наблюдалось снижение уровня экспрессии глиальных маркеров GFAP и S-100, что иллюстрировало уменьшение дегенеративных изменений в нервной ткани. Тогда как уровень экспрессии маркера нейронов NSE рос, что демонстрировало высокую метаболическую активность нервных клеток. Изменения экспрессии маркеров нейронов и глии свидетельствовали о восстановлении нормальной нейрональной активности под действием карбацетама.

Вывод. Дальнейшее исследование эффектов карбацетама представляется перспективным в аспекте восстановления нейрональной функции при ЧМТ.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, нейроспецифические белок S-100B, NSE, GFAP, карбацетам.

NEURODESTRUCTION OF HYPOTHALAMIC NUCLEI IN BRAIN INJURY. EFFECT OF CARBACETAM

Ziablitsev S.V., Panova T.I., Starodubska O.O.

O.O. Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

Relevance. A key role in the pathogenesis of brain injury (BI) is played by destructive changes in the neural tissue of the brain, which consist in damage to neurons and glial cells. To date, various drugs are being intensively developed and studied, which are considered in the perspective of correction and restoration of the functional state of the brain. These substances include the neuroprotector carbacetam, an modulator of the GABA-benzodiazepine receptor complex, a derivative of the alkaloid v-carboline.

Objective. To investigate the effect of carbacetam on neurodestruction processes in the paraventricular and supraoptic nuclei of the hypothalamus in experimental BI.

Material and methods. The study was carried out on 20 white non-native male rats weighing 200±10 g. To simulate the BI, rats were subjected to one stroke along the cranial vault with a free-fall load according to the V.N. Yelsky and S.V. Ziablitsev method (2008). The energy of impact was 0.52 J, the lethality for the first 5 days after injury was 84%. In the control group (n=10) 1 ml of saline was injected intraperitoneally once daily for 10 days after injury. Animals of the experimental group (n=10) received intraperitoneally injections of carbacetam at a dose of 5 mg/kg in 1 ml of saline according to the same scheme. After the experiment was over, the animals were decapitated with the removal of the brain, from which histological preparations were made with a microtome after appropriate histological treatment. Some sections were stained with hematoxylin and eosin, others were immunohistochemically reacted with antibodies against neuronmarkers proteins NSE, S-100 and GFAP.

Results. Carbacetam influenced the decrease of degenerative processes in the nervous tissue of the paraventricular and supraoptic nuclei of the hypothalamus. Neurons of animals with BI that received carbacetam, were characterized by the restoration of normal morphological features in contrast to rats not receiving the drug. Immunohistochemical study of brain neuromarkers confirmed the restoration of the functions of neurons and astrocytes in the investigated parts of the rat's hypothalamus after the administration of carbacetam. There was a decrease in the expression level of glial markers GFAP and S-100, which illustrated the decrease in degenerative changes in the nervous tissue. While the expression level of the neuron marker NSE grew, this demonstrated the high metabolic activity of nerve cells. Changes in the expression of markers of neurons and glia indicated a restoration of normal neuronal activity under the action of carbacetam.

Conclusion. Further investigation of the effects of carbacetam seems promising in terms of the restoration of neuronal function at BI.

Key words: brain injury, neurospecific proteins, S-100B, NSE, GFAP, carbacetam.