

УДК 591.481.1-001:57.012.4

Д. В. САВЦЬКА¹, С. А. МИХАЛЬСЬКИЙ¹, В. В. БІЛОШИЦЬКИЙ², Н. В. СКРИПНИК³, Т. Ю. КВІТНИЦЬКА-РИЖОВА¹¹ ДУ «Інститут геронтології імені Д. Ф. Чеботарьова НАМН України»,² ДУ «Інститут нейрохірургії імені А.П. Ромоданова НАМН України»,³ ННЦ «Інститут біології» КНУ імені Тараса Шевченка

СТРУКТУРНІ ТА МОРФОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ РЕАКЦІЇ СЕНСОМОТОРНОЇ КОРИ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ ПІСЛЯ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЇ ТРАВМИ І ГЕННОЇ ТЕРАПІЇ

На моделі тяжкої черепно-мозкової травми (ЧМТ) у дорослих і старих щурів лінії Вістар показано істотні модифікації цитоархітекtonіки кори головного мозку, що виражаються у зміні нормальної структури нервової тканини, зменшенні числа нейронів та різкому збільшенні нейроглиї. «Випадіння нейронів» та поодинокі апоптотичні клітини частіше спостерігались у шарах кори, розташованих ближче до волокон білої речовини. Генна терапія шляхом ліпосомальної трансфекції тканини головного мозку плазмідним вектором, що несе ген апоЕ3, суттєво зменшувала реактивний гліоз кори та позитивно впливала на кількість нейронів, запобігаючи їх втраті у дорослих і, особливо, у старих щурів.

Ключові слова: черепно-мозкова травма, генна терапія, кора, структурні зміни, морфометрія, вікові особливості.

ВСТУП

Черепно-мозкова травма (ЧМТ) є однією з основних причин інвалідності та смертності в усьому світі [9]. Вона продовжує залишатися актуальною проблемою суспільства та системи охорони здоров'я [2]: на сьогодні від 40% до 50% пацієнтів з помірною та важкою ЧМТ виживають, проте потерпають від патологічних наслідків [9].

ЧМТ щорічно зустрічається у понад 10 мільйонів людей в усьому світі [11] та особливо поширена серед населення промислово розвинених країн [5]. У Європейському Союзі мільйони пацієнтів на рік госпіталізуються з ЧМТ [11], так у Німеччині травматизм ЦНС складає близько 10 000 випадків на рік [4]. За рік у Сполучених Штатах більше ніж 50 000 людей гине й 70000 — 90 000 людей стають інвалідами в результаті ЧМТ [5, 14].

Згідно статистичних даних, упродовж 1999-2008 рр. в Україні щороку отримували ЧМТ близько 100 тис. осіб. Частота реєстрації внутрішньочерепних травм у 2008 р. становила 19,6 на 10 тис. населення. Серед травмованих переважають особи молодого й середнього віку, проте зростання абсолютного числа осіб старших вікових груп (постаріння населення) збіль-

шує кількість постраждалих із ЧМТ у літньому та старечому віці. Хоча серед тих, хто отримав ЧМТ, люди старше 60 років становлять близько 8%, в реальному обчисленні цей відносно невисокий відсоток становить по нашій країні тисячі постраждалих. Враховуючи прогнозоване постаріння населення, для більшості країн світу зростає актуальність дослідження особливостей перебігу ЧМТ та лікування травматичних уражень мозку в пізні вікові періоди [2].

Крім того у багатьох людей ЧМТ може стати причиною серйозних сенсомоторних і когнітивних розладів [5]. Останнє, ймовірно, пов'язано з прогресивним розвитком нейродегенеративних процесів, супутніх захворювань, старіння, поведінкових та/або психологічних факторів. Також існують вагомі підстави вважати, що ЧМТ може збільшити ризик розвитку Хвороби Альцгеймера (ХА) [11].

Саме тому дослідження мозку, і зокрема кори, після ЧМТ у людей старших вікових груп може допомогти у вирішенні не лише локальних посттравматичних проблем, а й більш глобальних біомедичних питань.

Однак, незважаючи на очевидні наслідки посттравматичних порушень для суспільної

охорони здоров'я, ще й досі бракує перевірених способів їхнього лікування та корекції. Наступним кроком має стати розробка фармакологічних препаратів для стабілізації та покращення посттравматичних станів з наступним відновленням когнітивних та поведінкових функцій [3, 12].

Одним з чинників, що впливає на посттравматичні процеси, є аполіпопротеїн Е (АпоЕ) — глікопротеїн плазми крові, який відіграє центральну роль у метаболізмі, транспорті й регуляції рівнів холестеролу та тригліцеридів. В ЦНС також існує апоЕ-опосередкований механізм транспорту й підтримки гомеостазу ліпідів. АпоЕ можна розглядати як гомеостатичний та репаративний чинник, що в нормі не тільки доставляє ліпіди, але й сприяє оптимізації синаптичних взаємодій та усуненню токсинів [10]. Не менш суттєві його функції пов'язані з відновленням цитоархітекtonіки мозку після ЧМТ: синтез АпоЕ набуває важливого значення для репарації ліпідного компоненту мембран нейронів і гліоцитів, забезпечуючи транспорт холестеролу й фосфоліпідів у процесі реінервації [6, 13]. Крім цих широко відомих адаптивних функцій АпоЕ при пошкодженнях ЦНС, останніми роками стало відомо, що головними детермінантами його захисних властивостей є здатність модифікувати запальні реакції активованої мікроглії в головному мозку та захищати нервові клітини від ексайтотоксичного ураження [7, 8].

Мета роботи. Дослідження структурних особливостей та апоптотичних змін сенсомоторної кори мозку щурів різного віку після експериментальної ЧМТ та генної терапії (ГТ) плазмідом, що несе ген апоЕ3, у комплексі з катіонними ліпосомами.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.

Дослідження проведено на 15 дорослих (6-8 міс) та 12 старих (24 міс) щурах-самцях лінії Wistar (розведення віварію Інституту нейрохірургії), яких забивали через 10 діб після завдання ЧМТ та/або введення плазмиди. Тварини були розподілені на 6 груп:

- *Контроль* — інтактні дорослі (5 щурів) та старі (4 щура);
- *ЧМТ* — дорослі (5 щурів) та старі (4 щура) тварини з експериментальною ЧМТ;
- *ЧМТ + Пл* — дорослі (5 щурів) та старі (4 щура) тварини з експериментальною ЧМТ, яким вводили плазмідний вектор (за допомогою встановленої в лівий боковий шлуночок мозку канюлі, з'єднаною з імплантованою під шкіру спини осмотичною помпою ALZET, що забезпечувала

інфузію катіонних ліпосом із плазмідним вектором, який несе ген апоЕ3, протягом 25 год зі швидкістю 1 мкл/год (1 мкг плазмиди/год)).

Тяжка ЧМТ завдавалась щурам у результаті вільного падіння вантажу вагою 450 г з висоти 1,5 м. Моделювання експериментальної ЧМТ і всі подальші хірургічні маніпуляції, пов'язані зі встановленням канюлі та введенням відповідних розчинів, виконували під загальним наркозом (каліпсол, із розрахунку 0,7 мг/кг маси тіла, в/м). В якості лікувального препарату використовували комплекс катіонних ліпосом *DOTAP Methosulfate (Sigma, США)* і 25 мкг плазмідного вектора *pCMV·SPORT6 (Invitrogen, США)*, що містив ген апоЕ3 людини під контролем цитомегаловірусного промотору.

Тварин умертвляли шляхом внутрішньочеревної ін'єкції розчину тіопентал-натрію (200 мг/кг). Мозок вилучали з порожнини черепа, макроскопічно оцінювали стан м'яких оболонок, рельєфу, наявності кроволивів та локалізацію видимих осередків забою.

Ефективність трансфекції була підтверджена наявністю апоЕ3-мРНК у мозочку і довгастому мозку за допомогою *RT-PCR*-дослідження.

Для морфологічного дослідження мозок фіксували протягом 20 год в 4 % розчині параформальдегіду на 0,1 М фосфатному буфері (рН 7,4). Зразки промивали у тому ж буфері. Частину зразків (права частина мозку від хіазми до середнього мозку) зневоднювали та заливали в парафін (парафінова суміш «Парапласт»®) за стандартною методикою. З одержаних блоків на рівні сенсомоторної кори на ротаційному мікромтомі «*Microm*» *HM 325 (Carl Zeiss, Німеччина)* виготовляли фронтальні серійні зрізи товщиною 6 мкм і монтували на предметні скельця, покриті полі-L-лізином. Частину зрізів фарбували тіоніном за Нісслем і використовували для оцінки цитоархітекtonіки кори. Іншу частину серійних зрізів використовували для імуногістохімічного дослідження апоптозу за *TUNEL*-методом (*Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling*).

Імуногістохімічне дослідження апоптозу. Для оцінки фрагментації ядерної ДНК, що характеризує кінцеву стадію апоптозу клітини, застосовували метод TUNEL із використанням набору реагентів «*Apoptag® Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit*» («*Chemicon*», США) згідно рекомендацій виробника. Метод ґрунтується на визначенні вільних 3'-ОН-кінцевих груп ДНК шляхом їх хімічного мічення модифікованими (зв'язаними з діоксигеніном) нуклеотидами за

допомогою ензиму термінальної дезоксирибонуклеотидилтрансферази (*TdT*) з наступним утворенням імунокомплексів з вторинними антидіоксигеновими антитілами, кон'югованими з пероксидазою. Візуалізація апоптотичних (*TUNEL*-позитивних) ядер відбувалася після взаємодії пероксидази вторинних антитіл з діамінобензидином у присутності пероксиду водню з утворенням нерозчинного коричневого продукту реакції. Для візуалізації ядер клітин, що не перебували в апоптотичному стані, проводили фарбування зрізів метиленовим зеленим.

Морфометрія проводилася на фотографіях кори головного мозку щурів різного віку, отриманих на світловому мікроскопі Olympus BX51 з використанням об'єктива $\times 40$ та окуляра $\times 10$. Проводили підрахунок кількості нейронів, гліоцитів та ендотеліоцитів на тестову площу ($322 \times 241 \mu\text{m}^2$). Підрахунок кількості нормальних та апоптотичних ядер на тестову площу здійснювали на (20 + 2) полях зору з використанням програми ImageJ.

Аналіз даних проводився як у програмі STATISTICA за допомогою тесту на нормальність Шапіру-Уїлка і подальшої статистичної обробки, так і за допомогою порівняння різних груп тварин з використанням F-тесту та t-тесту в програмі Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ.

Після експериментальної ЧМТ за допомогою «моделі ударного прискорення» на світлооптичному рівні спостерігали значні структурні гістологічні зрушення. Зокрема мікроскопічне дослідження кори виявило суттєві деструктивно-дистрофічні зміни (ДДЗ) її цитоархітекtonіки як у старих, так і дорослих щурів. Цитоморфологічні модифікації проявлялись у зміні форми клітин та оптичної щільності їх забарвлення, загальному дистрофічному виснаженні клітин та утворення зон «випадіння» нейронів



Рис. 1. Цитоархітекtonіка кори головного мозку дорослого щура після ЧМТ (забарвлення за Ніслем, панорама, X200).

Підрахунки нейронів кори в посттравматичний період показали, що їх кількість помітно зменшується. Проте необхідно зазначити, що кора виявилась більш стійкою до ЧМТ (особливо

у дорослих щурів), порівняно з гіпокампом [2]. Кількість нейронів у корі мозку дорослих щурів змінюється з $103,18 \pm 6,56$ у контрольних групах до $95,45 \pm 8,96$ після ЧМТ, що на 5-8% менше за початкові показники. У старшій віковій групі ці показники зменшуються від $66,5 \pm 3,35$ до $27,45 \pm 3,67$, що свідчить про суттєве посттравматичне зниження кількості нейронів кори приблизно у 2,4 рази.

Було помічено, що кількість нейронів у різних ділянках кори змінюється неоднаково. Шари кори, розташовані ближче до волокон білої речовини, значно більше піддаються делеції нейронів, ніж зовнішні ділянки. (На досліджуваних нами полях зору умовно базальними шарами кори вважали IV – VI, а латеральними – I – III).

Особливо ця тенденція прослідковується у дорослих щурів. Кількість нейронів базальних шарів кори у дорослому контролі – $109,67 \pm 8,26$, а у групі ЧМТ (Д) – $51,75 \pm 11,7$, що приблизно у 2 рази менше за нормальні показники; у той час як у латеральних шарах їх кількість коливається з $113,33 \pm 13,719$ до $87,25 \pm 10,66$, зменшуючись лише на 23%.

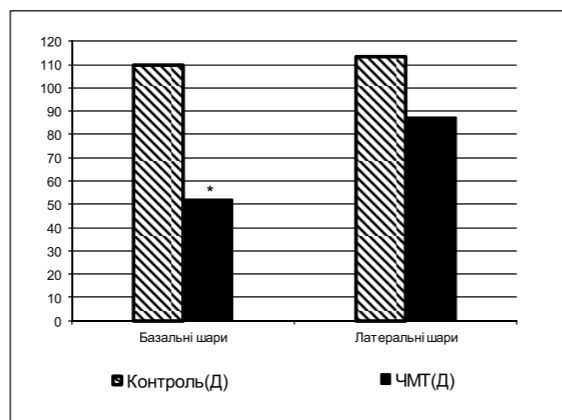


Рис.2. Пошарові зміни кількості нейронів у корі дорослих щурів після ЧМТ:

* – $p < 0,05$ порівняно з контролем, # – $p < 0,05$ порівняно з латеральними шарами. По осі ординат відкладено кількість клітин на тестову площу (мкм^2).

У старих тварин різниця у кількості нейронів базальних (з $55,67 \pm 6,15$ у контролі до $20,17 \pm 3,38$ після ЧМТ) і латеральних (з $76 \pm 5,63$ до $30,71 \pm 3,91$) шарів кори становить 2,7 та 2,4 рази відповідно. Ці дані свідчать про те, що посттравматичні втрати нейронів у старших вікових груп інтенсивніші та більш рівномірні, ніж у дорослих, що, ймовірно, пов'язано з віковими змінами нервової тканини при старінні.

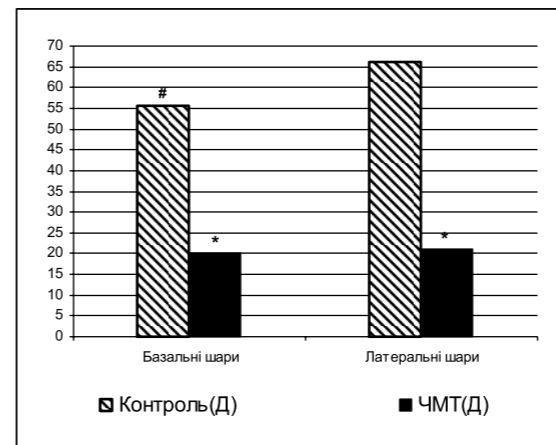


Рис.3. Пошарові зміни кількості нейронів у корі старих щурів після ЧМТ:

* – $p < 0,05$ порівняно з контролем, # – $p < 0,05$ порівняно з латеральними шарами. По осі ординат відкладено кількість клітин на тестову площу (мкм^2).

Кількість гліоцитів у корі дорослих $44,36 \pm 2,24$ та старих $57,95 \pm 2,75$ щурів після ЧМТ зросла приблизно у 3 рази і становила $150,95 \pm 6,22$ та $149,75 \pm 5,62$ відповідно. Отримані дані показують, що в контролі існує вікова різниця між кількістю клітин нейроглії у дорослих і старих тварин, що пов'язано з незначним підвищенням кількості гліоцитів при нормальному старінні. Травматичні ушкодження мозку значно збільшують їх кількість, підводячи до певного критичного рівня, що, за результатами наших досліджень, становить близько $150,35 \pm 5,92$.

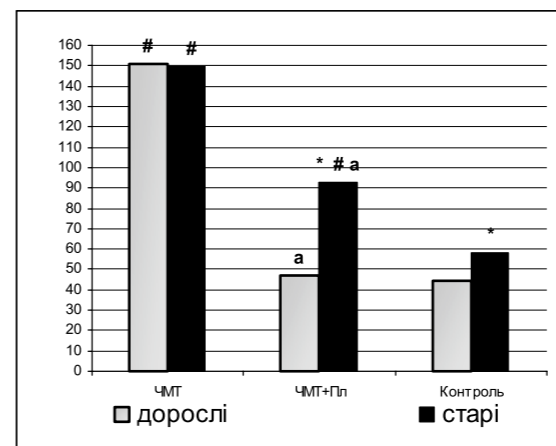


Рис. 4. Вплив ЧМТ і посттравматичної ліпосомальної трансфекції плазмідним вектором, що несе ген АпоЕ3, на кількість гліоцитів у корі щурів різних вікових груп: * – $p < 0,05$ порівняно з дорослими відповідної групи, # – $p < 0,05$ порівняно з відповідною групою контролю, а – $p < 0,05$ порівняно з відповідною групою ЧМТ. По осі ординат відкладено кількість клітин на тестову площу (мкм^2).

Кількість ендотеліальних клітин також зростає після нанесення черепно-мозкових ушкоджень. Їх показники збільшуються з $8,364 \pm 0,509$ до $20,75 \pm 1,732$ у дорослих та з $8,7 \pm 0,86$ до $14,25 \pm 0,99$ у старих щурів, що приблизно у 2,4 та 1,6 раз перевищує початкові значення.

Зазначимо, що подібні дані, що засвідчують зростання ендотеліальних клітин, спостерігали і в інших експериментальних роботах, де показано, що середня кількість ендотеліальних клітин починає зростати на 3-тю добу посттравматичного періоду, але статистично достовірні зміни числа ендотеліоцитів спостерігаються на 7 добу, тоді як починаючи з 10 до 18 доби їх кількість падає і досягає тих значень, що спостерігалися у ранній період після ЧМТ. Ці дані дозволяють припускати, що повільна редукція неоангіогенезу в перифокальній зоні травматичного ураження лежить в основі вторинного збільшення розмірів вогнищ травматичного ураження в головному мозку [1].

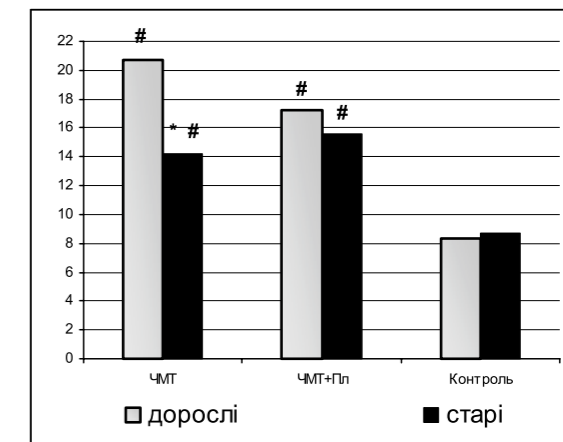


Рис. 5. Вплив ЧМТ і посттравматичної ліпосомальної трансфекції плазмідним вектором, що несе ген АпоЕ3, на кількість ендотеліоцитів у корі щурів різних вікових груп: * – $p < 0,05$ порівняно з дорослими відповідної групи, # – $p < 0,05$ порівняно з відповідною групою контролю, а – $p < 0,05$ порівняно з відповідною групою ЧМТ. По осі ординат відкладено кількість клітин на тестову площу (мкм^2).

Лікування плазмідом мало позитивний ефект на кількість нейронів, запобігаючи їх надмірним втратам внаслідок ЧМТ. Аналіз даних показав, що у дорослих тварин при ЧМТ цей показник становив $95,45 \pm 8,96$, а в групі ЧМТ+Пл – $103 \pm 5,71$, і хоча достовірної різниці між групами Контроль – ЧМТ – ЧМТ+Пл відмічено не було, проте внаслідок ГТ втрати нейронів зменшуються на 4-8% відсотків, наближаючись до контрольних показників.

Високоєфективний вплив ГТ був відзначений у старих щурів: при ЧМТ їх кількість становила $27,45 \pm 3,67$, а при ЧМТ+Пл — $53,5 \pm 3,58$. Лікувальна терапія суттєво сприяла збереженню нейронів кори, зменшуючи їх «випадіння» майже у 2 рази.

Позитивна дія ГТ також позначилась на нормалізації кількості гліальних клітин. Порівнюючи показники у дорослих ЧМТ ($150,95 \pm 6,22$) і ЧМТ+Пл ($47 \pm 1,92$) та старих ЧМТ ($149,75 \pm 5,62$) і ЧМТ+Пл ($92,5 \pm 3,99$) тварин, можна стверджувати, що відбувається достовірне зменшення реактивного гліозу в корі. Кількість гліоцитів у дорослих тварин зменшується у 3,2 рази, спадаючи майже до значень контрольної групи, у старих — цей показник знижується в 1,6 рази і наближається до значення, що лише на 37% перевищує норму.

Достовірного впливу ГТ на кількість ендотеліоцитів відзначено не було, що залишає питання для подальших наукових досліджень.

У дорослих тварин сумарна кількість апоптотичних клітин на усі досліджувані поля зору виявилась більшою, ніж у старих, проте втрати нейронів при ЧМТ були незначні, у той час як у старих тварин апоптоз зустрічався значно рідше, проте кількість нейронів після травми зменшилась у 2,4 рази. Спираючись на отримані результати, можна припустити, що у старшій віковій групі інтенсивні апоптотичні процеси відбулись в короткий посттравматичний період, тоді як дорослі щури виявились стійкішими до ЧМТ і у них процеси клітинної загибелі протікали повільніше, ніж у старих тварин.

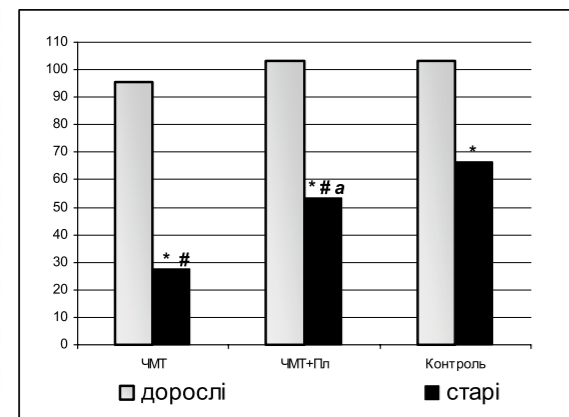


Рис. 6. Вплив ЧМТ і посттравматичної ліпосомальної трансфекції плазмідним вектором, що несе ген АпоЕ3, на кількість нейронів у корі щурів різних вікових груп: * – $p < 0,05$ порівняно з дорослими відповідної групи, # – $p < 0,05$ порівняно з відповідною групою контролю, а – $p < 0,05$ порівняно з відповідною групою ЧМТ. По осі ординат відкладено кількість клітин на тестову площу (мкм²).

Зазначимо, що поодинокі апоптотичні клітини, що були відмічені у корі, найчастіше зустрічались у шарах, розташованих ближче до волокон білої речовини, що співвідноситься з більшою втратою нейронів саме у цих ділянках.

Результати інших досліджень підтверджують, що ізоформи АпоЕ3 і АпоЕ2 мають значний репараційний потенціал. Протягом всього життя, і особливо з віком, нейрони мають «відновлюватися» для підтримання синаптичних контактів. Маючи здатність транспортувати ліпіди, АпоЕ3 і АпоЕ2 виступають важливими факторами в реалізації цього процесу, тоді як АпоЕ4 справляє протилежний ефект [10].

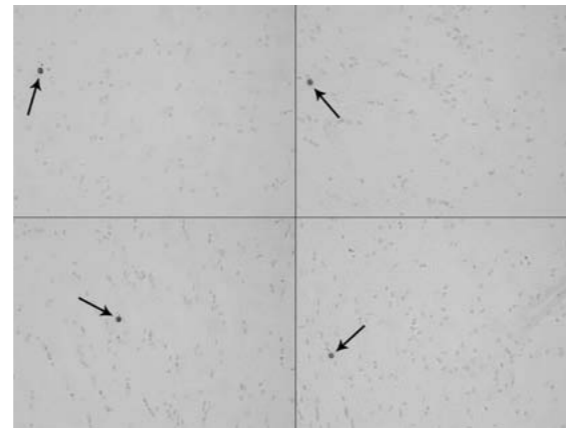


Рис. 7. Апоптотичні (TUNEL-позитивні) клітини у корі мозку дорослих щурів при ЧМТ (36. X400)

Специфічна доменна взаємодія АроЕ4 спричинює ряд нейропатологічних ефектів, зокрема збільшення синтезу амілоїду β (А β), сприяння викликаному А β витоку лізосомальних ферментів і, як наслідок, підвищенню протеолітичного розщеплення в нейронах і апоптозу. Погіршення пізнавальної діяльності у людини з віком пов'язують з активністю апоЕ4 алелю. Крім того, взаємодіючи з пептидом А β , АроЕ4 може призвести до збільшення відкладень А β в бляшках, послабити його утилізацію [10].

Таким чином, наші дослідження мали на меті вивчення терапевтичного впливу АпоЕ шляхом ліпосомальної трансфекції однієї з його репараційно активних ізоформ. Отримані результати показали позитивний вплив на нейрони та нейроглию як у дорослих, так і старих груп тварин. Лікувальна терапія сприяла суттєвому зменшенню кількості клітин нейроглиї у 3,2 і 1,6 рази у дорослих та старих тварин відповідно, а також запобігала «випадінню» нейронів. Хоча достовірна різниця у кількості нейронів між контрольною та двома експериментальними ЧМТ та ЧМТ+Пл групами дорослих щурів зафіксована не була, проте зниження нейронних втрат

на 4–8% після лікування плазмідом у дорослих та майже у 2 рази у старих щурів, свідчить про значний корегувальний ефект ГТ.

ВИСНОВКИ

Світлооптичне дослідження кори мозку щурів різних вікових груп засвідчило наявність значних порушень її цитоархітектоніки після ЧМТ. Морфометричний аналіз показав різницю у кількості нейронів, гліальних та ендотеліальних клітин при ЧМТ у дорослих і старих групах. Нейрони кори дорослих щурів виявились більш стійкими до травми, тому їх кількість змінюється не суттєво, у той час як у старих щурів вона зменшується приблизно у 2 рази, що, ймовірно, пов'язано з віковими деструктивно-дистрофічними змінами нервової тканини. Після травми значно збільшується кількість гліальних клітин. Хоча у контрольних групах гліоз спостерігався лише у старих тварин, при ЧМТ кількість гліоцитів збільшується в обох вікових групах і стає майже однаковою.

Втрати нейронів та апоптотичні клітини найчастіше зустрічаються у шарах кори, розташованих ближче до волокон білої речовини.

Генна терапія шляхом ліпосомальної трансфекції тканини головного мозку плазмідним вектором, що несе ген апоЕ3, мала суттєвий позитивний вплив на кількість нейронів і нейроглиї кори, корегуючи її у рази та/або наближаючи до контрольних значень.

Генна терапія є перспективним методом лікування ЧМТ, який потребує подальшого дослідження та вдосконалення.

ЛІТЕРАТУРА

1. Кудайбергенова А.Д. Диагностика сроков давности очагов ушиба /размозжения головного мозга по микроскопическим признакам // Оригинальные статьи. Нейрохирургия. — 2000. — N 4. — С. 45 — 50.
2. Михальський С. А., Квітницька-Рижова Т. Ю., Білошицький В. В., Малишева С. П. Апоптоз клітин мозку щурів різного віку при черепно-мозковій травмі і генній терапії // Пробл. старения и долголетия. — 2011. — Т. 20, N 4. — С. 371 — 380.
3. Педаченко Є.Г., Білошицький В. В., Михальський С. А., Гридін Н.Я., Квітницька-Рижова Т. Ю. Можливості генної терапії пошкоджень головного мозку і функціонального дефіциту при черепно-мозковій травмі у щурів різного віку // Журнал НАМН України. — 2012. — Т. 18, N 2. — С. 171 — 185.
4. Победный А.Л. Распространенность и струк-

тура черепно-мозговой травмы в крупном промышленном регионе // Український нейрохірургічний журнал. — 2011. — N 3. — С. 32 — 35.

5. Fujimoto S. T., Longhi L., Saatman K. E. Motor and cognitive function evaluation following experimental traumatic brain injury // Neurosci. Biobehav. Rev. — 2004. — Vol. 28. — P. 365 — 378.
6. Hauser P. S., Narayanaswami V., Ryan R. O. Apolipoprotein E: from lipid transport to neurobiology // Prog. Lipid Res. — 2011. — Vol. 50. — P. 62 — 74.
7. Hayashi H., Campenot R. B., Vance D. E., Vance J. E. Apolipoprotein E-containing lipoproteins protect neurons from apoptosis via a signaling pathway involving low-density lipoprotein receptor-related protein-1 // J. Neurosci. — 2007. — Vol. 27, N 8. — P. 1933 — 1941.
8. Laskowitz D. T., Vitek M. P. Apolipoprotein E and neurological disease: therapeutic potential and pharmacogenomic interaction // Pharmacogenomics. — 2007. — Vol. 8, N 8. — P. 959 — 969.
9. Longhi L., Gesuete R., Perego C., Ortolano F., Sacchi N., Villa P., Stocchetti N., De Simoni M.-G. Long-lasting protection in brain trauma by endotoxin preconditioning // Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism. — 2011. — Vol. 31. — P. 1919 — 1929.
10. Mahley R.W., Weisgraber K.H., Huang Y. Apolipoprotein E4: A causative factor and therapeutic target in neuropathology, including Alzheimer's disease // PNAS. — 2006. — Vol. 103, N 15. — P. 5644 — 5651.
11. Moretti L., Cristofori I., Weaver S.M., Chau A., Portelli J.N., Grafman J. Cognitive decline in older adults with a history of traumatic brain injury // Lancet Neurol. — 2012. — Vol. 11. — P. 1103 — 1112.
12. Narayan R. K., Michel M. E., Ansell B. et al. Clinical trials in head injury // Experimental & Translational Stroke Medicine. — 2002. — Vol. 19, N 5. — P. 503-557.
13. Poirier J. Apolipoprotein E in animal models of CNS injury and in Alzheimer's disease // Trends Neurosci. — 1994. — Vol. 17, N 12. — P. 525 — 530.
14. Veenith T., Goon S.H., Burnstein R.M. Molecular mechanisms of traumatic brain injury: the missing link in management // World Journal of Emergency Surgery. — 2009. — Vol. 4, N 7. — P. 201 — 206.

УДК 591.481.1-001:57.012.4

Д.В. Савицька¹, С.А. Михальський¹, В.В. Белошицкий², Н.В. Скрипник³, Т.Ю. Квитницька-Рыжова¹¹ГУ «Институт геронтології імені Д. Ф. Чеботарева НАМН України»,²ГУ «Институт нейрохірургії імені А.П. Ромоданова НАМН України»,³УНЦ «Институт біології» КНУ імені Тараса Шевченка**СТРУКТУРНЫЕ И МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РЕАКЦИИ СЕНСОМОТОРНОЙ КОРЫ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА ПОСЛЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ И ГЕННОЙ ТЕРАПИИ**

На модели тяжелой черепно-мозговой травмы (ЧМТ) у взрослых и старых крыс линии Вистар показано существенные модификации цитоархитектоники коры головного мозга, выражающиеся в изменении нормальной структуры нервной ткани, уменьшении числа нейронов и резком увеличении нейроглии. «Выпадение нейронов» и одиночные апоптотические клетки наблюдались в основном в слоях коры, расположенных ближе к волокнам белого вещества. Генная терапия путем липосомальной трансфекции ткани головного мозга плазмидным вектором, несущим ген апоЕ3, существенно уменьшала реактивный глиоз коры и положительно влияла на количество нейронов, предотвращая их потерю у взрослых и, особенно, у старых крыс.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, генная терапия, кора, структурные изменения, морфометрия, возрастные особенности.

UDC: 591.481.1-001:57.012.4

D. V. Savitska¹, S. A. Mikhalsky¹, V. V. Biloshytsky², N. V. Skrypnyk³, T. Yu. Kvitnytska-Ryzhova¹¹State Institution «D. F. Chebotarev Institute of Gerontology NAMS Ukraine»,²State Institution «A. P. Romodanov Institute of Neurosurgery NAMS Ukraine»,³ESC «Institute of biology» National Taras Shevchenko University of Kyiv**STRUCTURAL AND MORPHOMETRIC INDICATORS OF SENSOMOTOR CORTEX REACTION OF RATS OF DIFFERENT AGES AFTER TRAUMATIC BRAIN INJURY AND GENE THERAPY**

Based on the model of severe traumatic brain injury (TBI) of adult and old Wistar rats has been shown substantial modifications of cortex cytoarchitectonic, that were reflected in the change of the normal structure of the nervous tissue, reducing the number of neurons and abrupt increase in neuroglia. «Loss of neurons» and rare apoptotic cells were observed more frequently in the layers of the cortex, located closer to the white fibers. Gene therapy by means of liposomal transfection brain tissue using plasmid vector carrying the gene apoE3, significantly decreased reactive gliosis of the cortex and positively affected the number of neurons, preventing their loss in adults and especially in old rats.

Keywords: brain injury, gene therapy, the cerebral cortex, structural changes, morphometry, age features.

Адреса для листування:

04114, м. Київ, вул. Вишгородська, 67
тел.: 044-430-40-68

Надійшла до редакції:

29.06.2013 р.

УДК 615.015^541.182.024(02):577.33

І. С. ЧЕКМАН, С. Б. ФРАНЦУЗОВА

Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця

Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України

ІСТОРИЧНІ ЕТАПИ РОЗВИТКУ ФАРМАКОЛОГІЇ: ДОСЯГНЕННЯ, ПЕРСПЕКТИВИ ДОСЛІДЖЕНЬ (ПОГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ)

Присвячується пам'яті всесвітньо відомого вченого-біохіміка, члена-кореспондента НАН України, професора А.М. Утевського

В статті обобщены данные литературы и результаты собственных исследований, касающиеся исторических этапов развития фармакологической науки различных направлений: фенологической (физиологической), биохимической, молекулярной, физико-химической, квантовой, а также нанофармакологии. Сделан вывод, что молекулярные механизмы первичной фармакологической реакции лекарственных средств еще окончательно не установлены и остаются предметом дальнейших интенсивных исследований ученых различных специальностей.

Наукові дослідження з розробки нових лікарських засобів, дослідження механізму їх дії та застосування у клінічній практиці є основною метою спеціалістів різного профілю — хіміків, фармакологів, (провізорів), технологів, клініцистів. Встановлення механізму лікувальної дії медикаментів — первинної фармакологічної реакції, їх впливу на рецептори, функцію органів і систем організму, а також обмін речовин є важливим аспектом лікознавства. В науковій літературі, яка стосується досліджень механізмів первинної фармакологічної реакції лікарських засобів, виділяють декілька історичних етапів: феноменологічна (фізіологічна), біохімічна, молекулярна, фізико-хімічна, квантова фармакологія, а також нанофармакологія.

Феноменологічна (фізіологічна) фармакологія, як фундаментальна дисципліна, розгорнула експериментальні дослідження на тваринах для вивчення механізму дії лікарських засобів ще на початку XIX століття. На перших етапах зародження та еволюційного розвитку фармакології, як самостійної науки, дослідники вивчали вплив препаратів на діяльність органів і систем організму. Фармакологи реєстрували здебільшого функціональні зміни під впливом лікарських засобів, тобто проводили дослідження у галузі експериментальної або феноменологічної фармакології.

Експериментальні фармакологічні лабораторії були відкриті Р. Бухгеймом університеті м. Тарту (1847), О.О. Соколовським у — Московському університеті (1865) та І.В. Забелінін у Петербурзькій медико-хірургічній академії (1869). Одним з перших у світі дослідження з експериментальної (феноменологічної) фармакології розпочав завідувач кафедри фармакології університету Святого Володимира (м. Київ) В.І. Дибковський (1836-1870).

Дослідження з феноменологічної (фізіологічної) фармакології, які досягли кульмінації у 50–80 роках XX століття, тривають і донині. Науковці різних країн світу детально вивчили і продовжують вивчати вплив лікарських засобів на діяльність органів і систем організму, також розвиток побічних реакцій [2, 4]. Однак дослідження з феноменологічної (фізіологічної) фармакології не могли відповісти на питання: чому той чи інший лікарський засіб викликає певний, характерний саме для нього лікувальний або токсичний ефекти? Це слугувало підставою для виникнення біохімічної фармакології.

Біохімічна фармакологія. У 20-их роках XX століття зароджується новий напрямок досліджень — біохімічна фармакологія. Біохімічна фармакологія вивчає вплив лікарських засобів на