

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная статья

УДК 591.481:616.36–008.811.6:599.323.4
doi:10.18499/2225-7357-2025-14-1-45-53
1.5.22 – клеточная биология



Влияние холестаза на холинергические нейроны поясной коры головного мозга крыс

Т. В. Климуть¹✉, А. В. Заерко¹, С. В. Емельянчик², С. М. Зиматкин¹

¹Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Республика Беларусь

²Гродненский государственный университет им. Янки Купалы, Гродно, Республика Беларусь

Аннотация. Холестаз, характеризующийся застоем желчи в печени и затруднением выведения ее в кишечник, вызывает нарушение пищеварения и поступление токсических компонентов желчи в кровь и головной мозг. Исследование влияния холестаза на холинергические нейроны поясной коры головного мозга крыс позволяет понять механизмы патологических изменений в мозге. **Целью исследования** явилось изучение влияния холестаза на холинергические нейроны поясной коры головного мозга крыс. **Материал и методы.** В работе использовано 72 беспородные белые крысы-самцы массой 225±25 г. Подпеченочный холестаз моделировали по методу Л.С. Кизюкевича. Животным контрольной группы проводили ложную операцию. Крыс контрольной и опытной группы декапитировали на 2-, 5-, 10-, 20-, 45-е и 90-е сутки. Для исследования брали фрагменты больших полушарий головного мозга, заключали в парафин и изготавливали фронтальные срезы толщиной 5 мкм, с окрашиванием антителами к белку холин-ацетилтрансферазы (ХАТ). Исследовали нейроны поясной коры мозга крыс. Подсчитывали количество холинергических нейронов, а также цитофотометрически оценивали относительное содержание ХАТ в их цитоплазме. Данные подвергались статистической обработке. **Результаты.** Установлено, что в норме в мелкоклеточном слое поясной коры количество холинергических нейронов больше, чем в крупноклеточном слое. Содержание ХАТ в цитоплазме перикарионов нейронов мелкоклеточного слоя через 5 и 10 суток после холестаза снижается. При продолжении холестаза (на 10-е и 20-е сутки после операции) количество холинергических нейронов в мелкоклеточном слое поясной коры уменьшается, что свидетельствует об их гибели. Содержание ХАТ в цитоплазме нейронов крупноклеточного слоя снижается только к 10-м суткам холестаза. При этом максимальная гибель холинергических нейронов выявляется на 45-е сутки. Холинергические нейроны мелкоклеточного слоя быстрее реагируют на холестаз и сохранившиеся нейроны раньше нормализуются после его устранения, по сравнению с нейронами крупноклеточного слоя поясной коры. **Заключение.** Уменьшение содержания ХАТ, указывающее на нарушение синтеза ацетилхолина и потеря холинергических нейронов в поясной коре могут лежать в основе когнитивного дефицита, наблюдаемого у пациентов с холестазом.

Ключевые слова: крысы; мозг; поясная кора; холинергические нейроны; холестаз

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Климуть Т.В., Заерко А.В., Емельянчик С.В., Зиматкин С.М. Влияние холестаза на холинергические нейроны поясной коры головного мозга крыс // Журнал анатомии и гистопатологии. 2025. Т. 14, №1. С. 45–53. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2025-14-1-45-53>

ORIGINAL ARTICLES

Original article

Effect of Cholestasis on Cholinergic Neurons of Cingulate Cortex in Rats

T. V. Klimut¹✉, A. V. Zaerko¹, S. V. Emelyanchik², S. M. Zimatkin¹

¹Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus

²Yanka Kupala Grodno State University, Grodno, Republic of Belarus

Abstract. Cholestasis, characterized by stagnation of bile in the liver and impaired excretion of bile into the intestine, causes digestive disorders and the entry of toxic components of bile into the blood and brain. The study of the effect of cholestasis on cholinergic neurons of the cingulate cortex in rats allows us to understand the mechanisms of pathological changes in the brain. **The aim** was to investigate the effect of cholestasis on cholinergic neurons of cingulate cortex in rats. **Material and methods.** The study involved 72 outbred white male rats weighing 225±25 g. Subhepatic cholestasis was modeled using the method of L.S. Kizyukevich. The animals of the control group underwent a sham operation. Rats of the control and experimental groups were decapitated on the 2nd, 5th, 10th, 20th, 45th and 90th days. fragments of the cerebral hemispheres were embedded in paraffin and 5 µm thick frontal sections were prepared, stained with antibodies to the choline acetyltransferase (ChAT) protein. Neurons of the cingulate cortex of the rat brain were studied. The number of cholinergic neurons in the preparations was counted, and the relative content of ChAT in their cytoplasm was cytophotometrically

estimated. The data were subjected to statistical processing. **Results.** It was found that, under normal conditions, the number of cholinergic neurons in the parvocellular layer of the cingulate cortex is greater than in the magnopyramidal layer. The content of ChAT in the cytoplasm of the perikarya of neurons in the parvocellular layer decreases 5 and 10 days after cholestasis. With continued cholestasis (on the 10th and 20th days after surgery), the number of cholinergic neurons in the parvocellular layer of the cingulate cortex decreases, indicating their death. The content of ChAT in the cytoplasm of neurons of the magnopyramidal layer decreases only by the 10th day of cholestasis. In this case, the maximum loss of cholinergic neurons is detected on the 45th day. Cholinergic neurons of the parvocellular layer respond faster to cholestasis and the surviving neurons normalize earlier after its disappearance, compared with neurons of the magnopyramidal layer of the cingulate cortex. **Conclusion.** A decrease in the content of ChAT, indicating a violation of acetylcholine synthesis, and the loss of cholinergic neurons in the cingulate cortex may underlie the cognitive deficit observed in patients with cholestasis.

Keywords: rats; brain; cingulate cortex; cholinergic neurons; cholestasis

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

For citation: Klimut T.V., Zaerko A.V., Emelyanchik S.V., Zimatkin S.M. Effect of cholestasis on cholinergic neurons of cingulate cortex in rats. *Journal of Anatomy and Histopathology.* 2025. V. 14, №1. P. 45–53. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2025-14-1-45-53>

Введение

Холестаз – застой желчи, в результате нарушения ее оттока из печени в двенадцатиперстную кишку. Это осложнение возникает при различной патологии печени и желчевыводящих путей, особенно часто при желчно-каменной болезни, которой страдает более 10% населения планеты [2]. Холестаз приводит не только к нарушению пищеварения (особенно жиров) в кишечнике, но и к повышению поступления компонентов желчи в кровь, что может оказывать токсическое воздействие на различные органы и системы, включая ЦНС [4, 5].

Когнитивные и поведенческие нарушения являются одним из осложнений заболеваний печени у людей и животных [20]. В клинической практике отмечено, что холемическая и печеночная интоксикации оказывают угнетающее действие на ЦНС. При начальных стадиях холестаза описаны так называемые «малые симптомы» в виде головных болей, головокружений, тяжести в голове, бессонницы ночью и сонливости днем, апатии, разбитости, невозможности длительного сосредоточения внимания. Затем могут проявляться более выраженные неврологические симптомы в виде неврастении, энцефалопатии, энцефаломиелопатии и полинейропатии. У пациентов с дисфункцией печени наблюдаются нарушения интеллекта, обучения и памяти, а также зрительно-пространственных функций, а крысы с холестазом хуже справляются с прохождением водного лабиринта Морриса, у них отмечается пассивность и нарушение памяти узнавания [18, 19]. При продолжении холестаза развиваются разнообразные морфологические и гистохимические нарушения в головном мозге [5].

Поясная кора относится к лимбической системе и является переходной между филогенетически новой (неокортекс, изокортексом) и старой корой (палеокортекс, аллокортексом). Она принимает участие в выполнении когнитивных функций: отвечает за формирование и обработку информации, эмоции,

обучение и память [13]. Особая роль в выполнении перечисленных функций отводится холинергическим нейронам этой коры. Известно, что холинергическая система участвует в ряде важнейших функций мозга, включая нейропластичность, восприятие, вознаграждение и зависимость, обучение, внимание, память [3]. Учитывая роль холинергических нейронов в такой разнообразии функций, их изменения могут приводить к когнитивным и поведенческим нарушениям при холестазе. Поясная кора и ее холинергические нейроны при холестазе ранее не исследовались.

В связи с этим значительный интерес представляет изучение влияния холестаза на холинергические нейроны поясной коры головного мозга крыс, что и послужило целью данного исследования.

Материал и методы исследования

В работе использовано 72 беспородные белые крысы-самца массой 225 ± 25 г. Контрольных и опытных животных содержали в стандартных условиях вивария Гродненского государственного медицинского университета, в индивидуальных клетках со свободным доступом к воде и полноценной пище. Исследование проведено в соответствии с принципами биоэтики и требованиями Директивы Европейского Парламента и Совета № 2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, использующихся для научных целей [16]. На проведение данного исследования получено разрешение Комитета по биомедицинской этике Гродненского государственного медицинского университета от 11.01.2024, протокол №1.

Для моделирования подпеченочного холестаза использовали перерезку общего желчного протока (ОЖП) между двумя лигатурами на 2–3 мм ниже места слияния печеночных протоков по методу Л.С. Кизюкевича [8]. Перевязка/перерезка ОЖП выше этого уровня может не приводить к полному холестазу, а ниже – в него впадают многочисленные протоки поджелудочной железы,

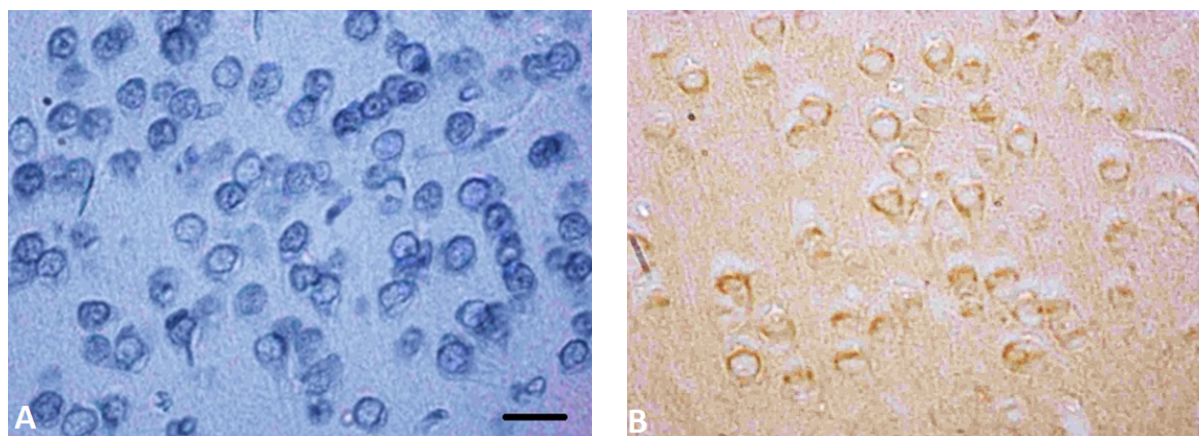


Рис. 1. Нейроны II (мелкоклеточного) слоя контрольных животных. А – окраска по методу Ниссля, В – иммуноцитохимическая реакция на холинацетилтрансферазу, $\times 400$. Масштабный отрезок – 20 мкм.
Fig. 1. Neurons of the II (parvocellular) layer of control animals. A – Nissl staining, B – immunocytochemical reaction for choline acetyltransferase, $\times 400$. Scale bar – 20 μm .

перевязка которых приводит к развитию панкреатита и быстрой гибели всех животных [8].

Животным контрольной группы проводили ложную операцию с сохранением физиологического оттока желчи в двенадцатиперстную кишку на протяжении всего эксперимента. Через 2, 5, 10, 20, 45 и 90 суток в утренние часы опытных и контрольных животных синхронно выводили из эксперимента путем декапитации, предварительно усыпив парами эфира. Для исследования брали фрагменты больших полушарий головного мозга, фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде [11] при $+4^{\circ}\text{C}$ (на ночь), затем заключали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм готовили с помощью микротом (Leica RM 2125 RTS, Германия), монтировали на предметные стекла. Срезы окрашивали 0,1% раствором тионина по методу Ниссля, или обрабатывали согласно протоколу иммуноцитохимической реакции для световой микроскопии без теплового демаскирования антигенов.

Для иммуногистохимического выявления маркера холинергических нейронов – холинацетилтрансферазы (ХАТ) – цитозольного белка, который является ключевым ферментом синтеза нейромедиатора ацетилхолина из ацетил-коэнзима А и холина, применяли первичные моноклональные кроличьи антитела фирмы Abcam (Великобритания) – ab. 178850 (в разведении 1:1600, при $+4^{\circ}\text{C}$, 20 ч во влажной камере). Для выявления связавшихся первичных антител использовали набор детекции EXPOSE Rabbit specific HRP/DAB detection IHC kit ab.80437 Abcam (Великобритания).

Для идентификации поясной коры крысы использовали схемы стереотаксического атласа [21]. Морфометрию нейронов проводили во II, мелкоклеточном и V, крупноклеточном слоях поясной коры [1].

Иммуногистохимические препараты изучали, фотографировали и анализировали с

помощью микроскопа Axioskop 2 plus (Zeiss, Германия), встроенной цифровой видеосъемки Leica (DFC 320, Германия), а также программы компьютерного анализа изображения Image Warp (Bit Flow, США).

В препаратах подсчитывали количество холинергических нейронов на 1000 мкм^2 среза изучаемого слоя поясной коры, а также цитометрически оценивали относительное содержание ХАТ в их цитоплазме по оптической плотности полученного осадка хромогена и выражали в единицах оптической плотности (ед. опт. пл.).

В результате морфометрических исследований получены количественные непрерывные данные. Их обрабатывали с помощью лицензионной компьютерной программы Statistica 10.0 для Windows (США) с применением описательной статистики. Так как в эксперименте нами использовались малые выборки, которые не всегда имели нормальное распределение (согласно построенным гистограммам), анализ проводили методами непараметрической статистики. Для каждого показателя определяли медиану (Me), значения нижнего (LQ) и верхнего (UQ) квартилей и интерквартильного диапазона (IQR). Объекты исследования набирали в группы независимо друг от друга, поэтому сравнение групп по одному признаку проводили с помощью критерия Манна–Уитни для независимых выборок. Для оценки динамики изменений (сравнения трех или более независимых групп по одним и тем же критериям) использовали критерий Краскела–Уоллиса. Различия между группами считали статистически значимыми, если вероятность ошибочной оценки не превышала 5% ($p < 0,05$; где p – критическое значение уровня значимости) [14].

Результаты и их обсуждение

В мелкоклеточном слое поясной коры количество холинергических нейронов на

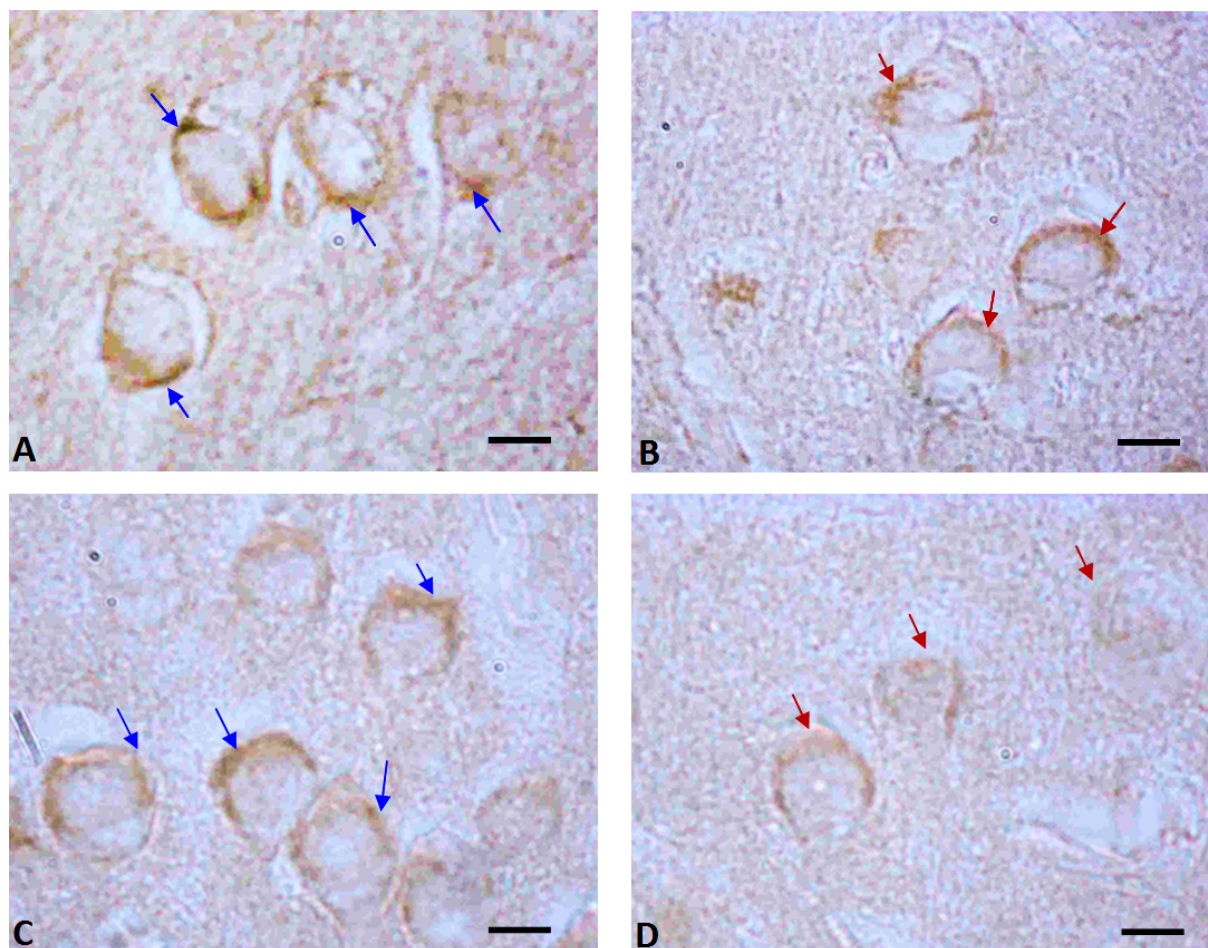


Рис. 3. Содержание ХАТ в нейронах мелкоклеточного слоя поясной коры мозга крысы на 5-е сутки эксперимента в контрольной (А) и опытной группе (В); и на 10-е сутки после операции в контрольной (С) и опытной группе (D). Синие стрелки – нейроны контрольной группы; красные стрелки – нейроны опытной группы, с пониженным содержанием ХАТ (в сравнении с контролем). Иммуноцитохимическая реакция на холинацетилтрансферазу, $\times 1000$. Масштабный отрезок – 8 μm .

Fig. 3. The content of ChAT in the neurons of the parvocellular layer of the cingulate cortex of the rat brain on the 5th day of the experiment in the control (A) and experimental group (B); and on the 10th day after surgery in the control (C) and experimental groups (D). Blue arrows – neurons of the control group; red arrows – neurons of the experimental group, with a reduced content of ChAT (in comparison with the control). Immunocytochemical reaction to choline acetyltransferase, $\times 1000$. Scale bar – 8 μm .

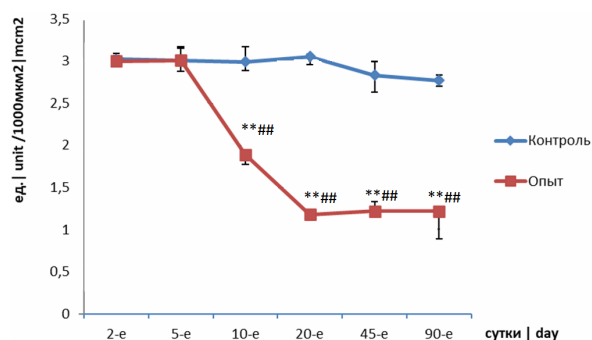


Рис. 2. Плотность расположения холинергических нейронов мелкоклеточного слоя поясной коры после перевязки ОЖП. Примечание: ** – $p < 0,01$, при сравнении с контролем того же срока (Mann–Whitney U test); ## – $p < 0,01$ – при сравнении между сроками (Kruskal–Wallis).

Fig. 2. Density of cholinergic neurons in the parvocellular layer of the cingulate cortex after CBD ligation. Note: * – $p < 0,01$, in comparison with control of the same period (Mann–Whitney U test), # – $p < 0,01$ – when compared between the terms (Kruskal–Wallis).

1000 μm^2 площади у контрольных животных составило 74% от числа нейронов, выявляемых при окраске по методу Ниссля (рис. 1).

На 2-е и 5-е сутки после перерезки ОЖП количество холинергических нейронов на единицу площади, по сравнению с контролем статистически значимо не изменялось. На 10-е сутки опыта оно снижалось на 37%, а на 20-е сутки – на 61% по сравнению с контролем и это снижение сохранялось на 45-е и 90-е сутки (рис. 2).

Содержание ХАТ в цитоплазме нейронов мелкоклеточного слоя поясной коры через 5 и 10 суток после перерезки ОЖП снижалось на 17% и 24% соответственно, по сравнению с контролем этих же сроков, а затем, в сохранившихся нейронах, постепенно нормализовалось (рис. 3, табл. 1).

В V, крупноклеточном слое поясной коры контрольных животных количество холинергических нейронов составляло всего 30%

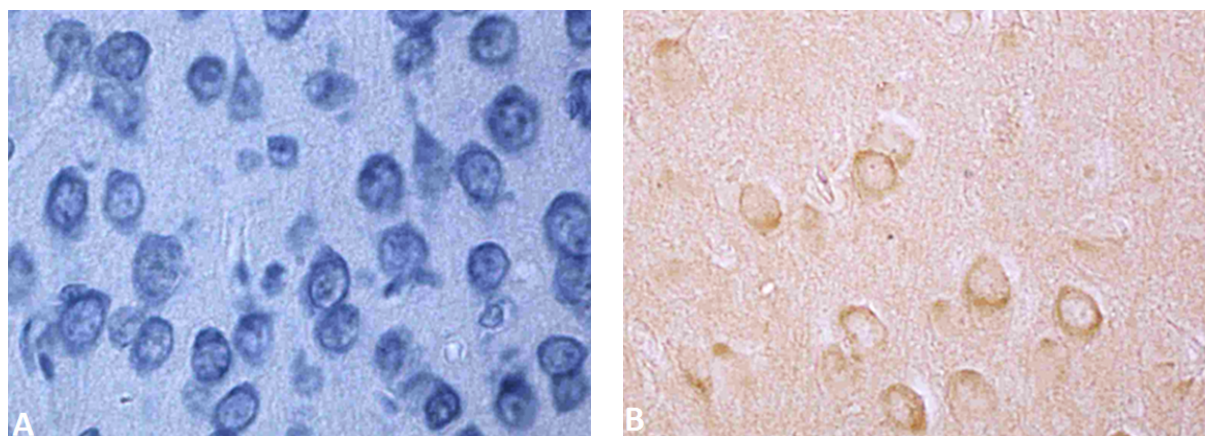


Рис. 4. Нейроны крупноклеточного слоя поясной коры контрольной крысы. А – окраска по методу Ниссля, В – иммуноцитохимическая реакция на холинацетилтрансферазу, $\times 400$. Масштабный отрезок – 20 мкм.

Fig. 4. Neurons of the magnopyramidal layer of the cingulate cortex of a control rat. A – Nissl staining, B – immunocytochemical reaction for choline acetyltransferase, $\times 400$. Scale bar – 20 μm .

Таблица 1 / Table 1

Содержание холинацетилтрансферазы (в ед. опт. пл.) в цитоплазме нейронов мелкоклеточного слоя, Me (Q1; Q3)
The content of choline acetyltransferase (in optical units) in the cytoplasm of parvocellular layer neurons, Me (Q1; Q3)

Сутки	Контроль	Опыт
2-е	0,20 (0,19; 0,23)	0,20 (0,18; 0,22)
5-е	0,23 (0,20; 0,24)	0,19 (0,17; 0,21)*** ##
10-е	0,21 (0,17; 0,23)	0,16 (0,15; 0,18)*****
20-е	0,20 (0,18; 0,22)	0,18 (0,16; 0,21)
45-е	0,21 (0,19; 0,23)	0,21 (0,20; 0,23)
90-е	0,21 (0,20; 0,23)	0,22 (0,21; 0,24)

Примечание: *** – $p < 0,001$, при сравнении с контролем того же срока, ## – $p < 0,001$ – при попарном сравнении между всеми сроками.

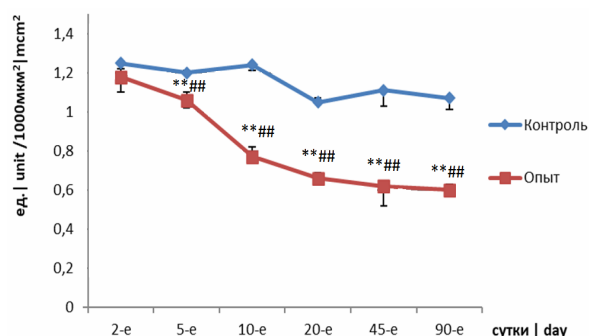


Рис. 5. Плотность расположения холинергических нейронов крупноклеточного слоя поясной коры после перевязки ОЖП. Примечание: ** – $p < 0,01$, при сравнении с контролем того же срока (Mann-Whitney U test), ## – $p < 0,01$ – при сравнении между сроками (Kruskal-Wallis).

Fig. 5. Density of cholinergic neurons in the magnopyramidal layer of the cingulate cortex after CBD ligation. Note: ** – $p < 0,01$, in comparison with control of the same period, ## – $p < 0,01$ – when compared between the terms (Kruskal-Wallis).

от числа нейронов, выявляемых по методу Ниссля (рис. 4).

На 2-е сутки после перерезки ОЖП количество холинергических нейронов на единицу площади, по сравнению с контролем, не изменялось. На 5-е сутки опыта их количество уменьшалось на 12%, на 10-е сутки – на 38%,

на 20-е сутки – на 37%, 45-е сутки – на 44% и оставалось таким же на 90-е сутки исследования (рис. 5).

Через 10, 20 и 45 суток после перевязки ОЖП обнаружено уменьшение содержания ХАТ в цитоплазме нейронов крупноклеточного слоя поясной коры на 29%, 16% и 11,5%, соответственно, по сравнению с контролем тех же сроков. На 90-е сутки данный показатель нормализовался (рис. 6, табл. 2).

Нами установлено, что во II, мелкоклеточном слое поясной коры холинергические нейроны составляли 70%, а в V, крупноклеточном слое – только 30% от всех нейронов, выявляемых при окраске по методу Ниссля. Это согласуется с данными литературы, о том, что наибольшее количество холинергических нейронов в коре мозга приходится на II и III слои [3].

Содержание ХАТ в цитоплазме перикарионов нейронов мелкоклеточного слоя поясной коры через 5 и 10 суток после холестаза статистически значимо уменьшалось. Следовательно, холинергические нейроны этого слоя начинали реагировать на холестаз уже на 5-е сутки. При продолжении холестаза (на 10-е и 20-е сутки после операции) количество холинергических нейронов в мелкоклеточном слое поясной коры уменьшалось, что

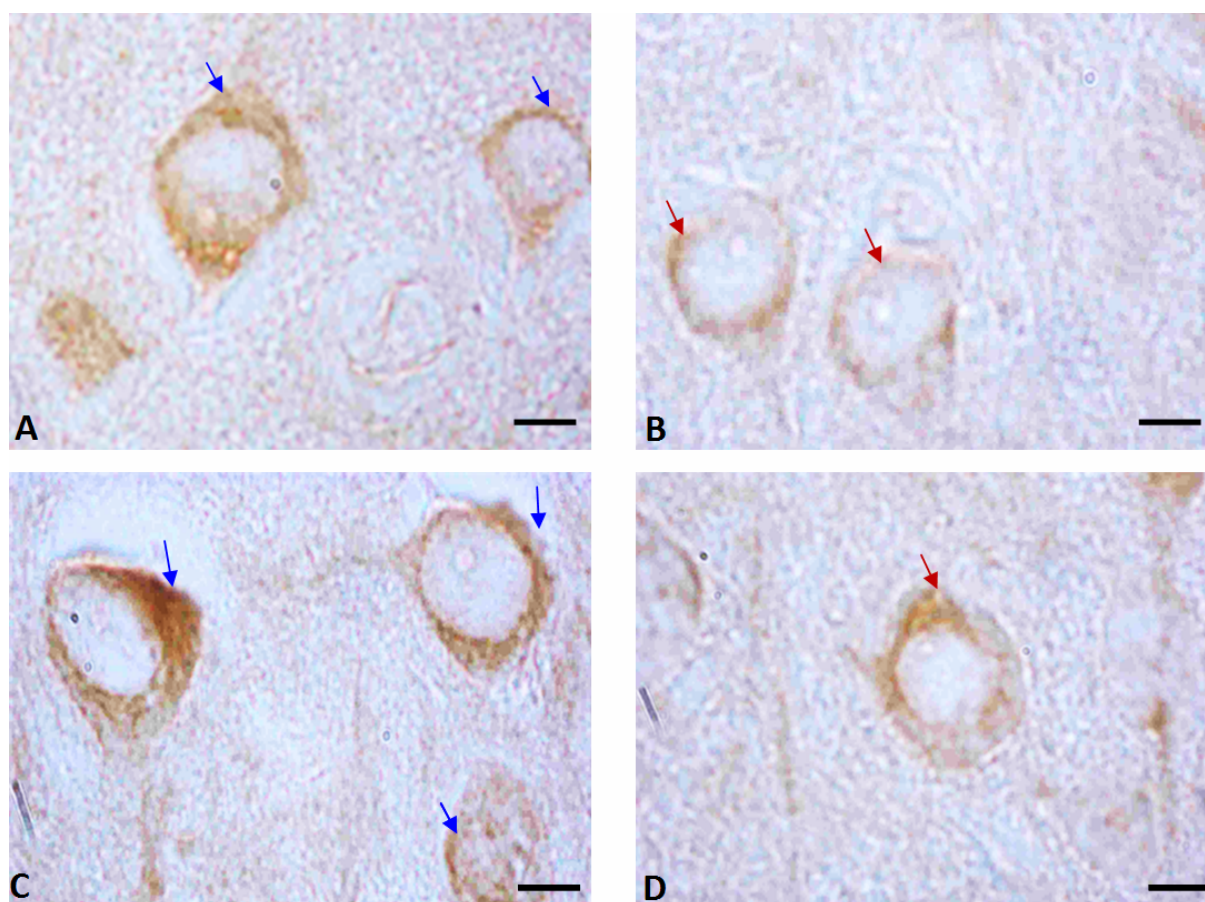


Рис. 6. Содержание ХАТ в нейронах крупноклеточного слоя поясной коры мозга крысы на 10-е сутки эксперимента в контрольной (А) и опытной группе (В); и на 20-е сутки после операции в контрольной (С) и опытной группе (D). Синие стрелки – нейроны контрольной группы; красные стрелки – нейроны опытной группы, с пониженным содержанием ХАТ (в сравнении с контролем). Иммуноцитохимическая реакция на холинацетилтрансферазу, $\times 1000$. Масштабный отрезок – 8 мкм.

Fig. 6. The content of ChAT in the neurons of the magnopyramidal layer of the cingulate cortex of the rat brain on the 10th day of the experiment in the control (A) and experimental group (B); and on the 20th day after surgery in the control (C) and experimental groups (D). Blue arrows – neurons of the control group; red arrows – neurons of the experimental group, with a reduced content of ChAT (in comparison with the control). Immunocytochemical reaction to choline acetyltransferase, $\times 1000$. Scale bar – 8 μm .

Таблица 2 / Table 2

Содержание холинацетилтрансферазы (в ед. опт. пл.) в цитоплазме нейронов крупноклеточного слоя, Me (Q1; Q3)
The content of choline acetyltransferase (in optical units) in the cytoplasm of magnopyramidal layer neurons, Me (Q1; Q3)

Сутки	Контроль	Опыт
2-е	0,31 (0,29; 0,32)	0,29 (0,25; 0,33)
5-е	0,30 (0,25; 0,33)	0,28 (0,25; 0,31)
10-е	0,31 (0,30; 0,33)	0,22 (0,19; 0,25) ****
20-е	0,25 (0,21; 0,27)	0,21 (0,19; 0,23) ****
45-е	0,26 (0,24; 0,29)	0,23 (0,21; 0,25) ****
90-е	0,26 (0,23; 0,28)	0,27 (0,26; 0,30)

Примечание: *** – $p < 0,001$, при сравнении с контролем того же срока, **** – $p < 0,001$ – при попарном сравнении между всеми сроками.

свидетельствовало об их гибели (до 61%). Это указывает на более высокую чувствительность этих нейронов к холестазу, по сравнению с общей популяцией нейронов данного слоя, выявляемой при окраске по Нисслю (максимальная общая гибель которых по нашим данным, при этом воздействии составила 32%) [10]. Стоит отметить, что пик холестаза, по результатам биохимического анализа крови животных, приходится также на 10–20-е

сутки после операции и именно в этот период выявлялись максимальные нарушения нейронов теменной и лобной коры мозга крыс [5].

Содержание ХАТ в цитоплазме нейронов крупноклеточного слоя снижалось только к 10-м суткам холестаза. При этом гибель холинергических нейронов этого слоя наблюдалась также на 10-е сутки (38%), с максимумом на 45-е сутки (44%). Следовательно, холинер-

гические нейроны крупноклеточного слоя несколько позднее реагировали на холестаз, чем в мелкоклеточном слое и их чувствительность существенно не превышала таковую в общей популяции нейронов этого слоя (с максимумом гибели 35% на 20–45-е сутки) [10].

Известно, что печеночная энцефалопатия характеризуется нарушениями многих нейромедиаторных систем и функций головного мозга. Согласно исследованиям N. Hosseini и др., у грызунов с перевязкой ОЖП наблюдалось ухудшение памяти при выполнении ряда тестов, которое авторы объясняли нарушением глутаматергической системы дорсального гиппокампа (CA1) [18].

Известно, что потеря холинергических нейронов также способствует нарушению памяти и внимания. Нейромедиатор ацетилхолин играет важную роль в развитии коры головного мозга, контроле мозгового кровотока, модуляции когнитивных функций и процессов обучения и памяти [6]. Дефицит холинергической системы мозга потенциально может влиять на все аспекты познания и поведения, включая обработку информации в коре [3]. Показано влияние холинергической системы на процесс восстановления памяти у крыс с холестазом. Введение антихолинергических препаратов в гиппокамп ухудшает обучение и память у крыс [17]. Это согласуется с мнением, что ацетилхолин является важным нейронным субстратом когнитивных функций.

При холестазе может быть нарушена целостность гематоэнцефалического барьера, что позволяет токсинам и воспалительным медиаторам проникать в головной мозг и повреждать нейроны. Желчные кислоты стимулируют образование активных форм кислорода, что приводит к повреждению митохондрий, и как следствие снижению продукции АТФ, что и было нами ранее установлено [9]. Помимо того, при холестазе активируются системные и локальные воспалительные реакции, повышенный уровень провоспалительных цитокинов и других медиаторов воспаления может вызывать апоптоз или некроз нейронов. Билирубин (особенно неконъюгированный) и некоторые желчные кислоты (например, литохолевая кислота) способны напрямую повреждать липидные компоненты мембран и нарушать ионные градиенты, что приводит к дисфункции оболочки клетки и вызывает ее гибель [12].

Мы предполагаем, что гибель нейронов в поясной коре головного мозга крыс при холестазе обусловлена комплексным взаимодействием перечисленных процессов. Эти механизмы могут сочетаться и усиливать друг друга, что ведет к прогрессирующему повреждению нейронов и дисфункции центральной нервной системы.

Согласно данным нашего исследования, можно предположить, что уменьшение содержания ХАТ, указывающее на нарушение

синтеза ацетилхолина, и гибель холинергических нейронов в поясной коре, могут лежать в основе когнитивного дефицита, наблюдаемого у пациентов с холестазом.

Таким образом, данное исследование может помочь в понимании механизмов когнитивных и поведенческих нарушений при холестазе и в разработке новых подходов к лечению данной патологии.

Заключение

Во II, мелкоклеточном слое поясной коры холинергические нейроны составляют 70%, а в V, крупноклеточном слое – 30% от всех нейронов, выявляемых по Ниссию.

На пике холестаза, на 10-е и 20-е сутки после перевязки/перерезки общего желчного протока, количество холинергических нейронов в мелкоклеточном слое поясной коры необратимо снижается на 37% и 61% соответственно. Содержание холинацетилтрансферазы в цитоплазме этих нейронов через 5 и 10 суток опыта уменьшается на 17% и 24%, а затем в сохранившихся нейронах постепенно нормализуется.

В крупноклеточном слое гибель холинергических нейронов при холестазе происходит постепенно: на 5-, 10-, 20-, 45-е и 90-е сутки опыта количество холинергических нейронов снижается на 12%, 38%, 37%, 44% и 45%, соответственно. Через 10, 20 и 45 суток после холестаза обнаружено уменьшение содержания ХАТ в цитоплазме сохранившихся нейронов этого слоя на 29%, 16% и 11,5%, соответственно. Это указывает на особенности реакции холинергических нейронов разных слоев поясной коры на холестаз.

Список источников/References

1. Банин В.В., Быков В.Л. Terminologia Histologica. Международные термины по цитологии и гистологии человека с официальным списком русских эквивалентов. М. ГЭОТАР-Медиа; 2009. 272.
Banin VV, Bykov VL. Terminologia Histologica. Mezhdunarodnye terminy po citologii i gistologii cheloveka s oficial'nyim spiskom russkikh ekvivalentov. M. GEOTAR-Media; 2009. 272 (In Russ.).
2. Вахрушев Я.М., Хохлачева Н.А. Желчнокаменная болезнь: эпидемиология, факторы риска, особенности клинического течения, профилактика. Архив внутренней медицины. 2016;6(3):30–35. doi: 10.20514/2226-6704-2016-6-3-30-35.
Vakhrushev YaM, Khokhlacheva NA. Zhelchnokamennaya bolezni': epidemiologiya, faktory riska, osobennosti klinicheskogo techeniya, profilaktika. Archive of Internal Medicine. 2016;6(3):30–35. doi: 10.20514/2226-6704-2016-6-3-30-35. (In Russ.).
3. Дзяк Л.А., Цуркаленко Е.С. Роль холинергического дефицита в патогенезе психоневрологических заболеваний. Международный невро-

- логический журнал. 2019;3(105):39-47. doi:10.22141/2224-0713.3.105.2019.169917.
- Dzyak LA, Tsurkalenko ES. Rol' holinergicheskogo deficyta v patogeneze psichonevrologicheskikh zabolevanij. Mezhdunarodnyj nevrologicheskij zhurnal. 2019;3(105):39–47. doi:10.22141/2224-0713.3.105.2019.169917. (In Russ.).
4. Емельянчик С.В., Карнюшко О.А. Зиматкин С.М. Состояние митохондрий в клетках Пуркинье мозжечка крысы при холестазе. Клиническая и экспериментальная морфология. 2019;8(2):41-47. doi:10.31088/2226-5988-2019-30-2-41-47. Emelyanchik SV, Karnyushko OA, Zimatkin SM. Costoyaniye mitohondriy v kletkah Purkin'e mozhechka krysy pri holestaze. Klinicheskaya i eksperimental'naya morfologiya. 2019;8(2):41-47. doi:10.31088/2226-5988-2019-30-2-41-47. (In Russ.).
5. Зиматкин С.М., Емельянчик С.В. Нейроны мозга при нарушениях циркуляции желчи. Гродно : ГрГМУ; 2021, 368. Zimatkin SM, Emelyanchik SV. Nejrorny mozga pri narusheniyah cirkulyacii zhelchi. Grodno: GrSMU; 2021, 368. (In Russ.).
6. Каркищенко В.Н., Фокин Ю.В., Люблинский С.Л., Помыткин И.А., Алимкина О.В., Табокова Л.А., Капцов А.В., Борисова М.М., Каркищенко Н.Н. Центральные механизмы липосомированных форм ацетилхолина и инсулина посредством анализа когнитивных, психоэмоциональных и поведенческих параметров крыс. Биомедицина. 2022;18(1):32–55. doi:10.33647/2074-5982-18-1-32-55. Karkishchenko VN, Fokin YuV, Lyublinskii SL, Pomytkin IA, Alimkina OV, Taboyakova LA, Kaptsov AV, Borisova MM, Karkishchenko NN. Tsentral'nye mekhanizmy liposomirovannykh form atsetilkholina i insulina posredstvom analiza kognitivnykh, psikhoemotsional'nykh i povedencheskikh parametrov krysy. Biomeditsina. 2022;18(1):32–55. doi:10.33647/2074-5982-18-1-32-55. (In Russ.).
7. Кизюкевич Л.С. Причины развития полиорганной недостаточности при хирургической патологии желчевыводящих путей. Вести Национальной академии наук Беларуси. Серия медицинские науки. 2005;2:118–121. Kizyukevich LS. Prichiny razvitiya poliorgannoi nedostatochnosti pri khirurgicheskoi patologii zhelchevyvodyashchikh putei. Vesti Natsional'noi akademii nauk Belarusi. Seriya meditsinskie nauki. 2005;2:118–121. (In Russ.).
8. Кизюкевич Л.С. Реактивные изменения в почках при экспериментальном холестазе. Гродно : ГрГМУ; 2005, 239. Kizyukevich LS. Reaktivnye izmeneniya v pochkah pri eksperimental'nom holestaze. Grodno: GrSMU, 2005, 239. (In Russ.).
9. Климуть Т.В., Заерко А.В., Емельянчик С.В., Зиматкин С.М. АТФ-синтаза в нейронах поясной коры мозга крыс при подпеченочном холестазе. Клиническая и экспериментальная морфология. 2025;14 (1):54–61. doi: 10.31088/CEM2025.14.1.54-61. Klimut' TV, Zaerko AV, Emel'yanchik SV, Zimatkin SM. ATF-sintaza v nejronah poynasnoj kory mozga krysy pri podpechenochnom holestaze. Klinicheskaya i eksperimental'naya morfologiya. 2025;14(1):54–61. doi: 10.31088/CEM2025.14.1.54-61. (In Russ.).
10. Климуть Т.В., Заерко А.В., Емельянчик С.В., С.М. Зиматкин. Изменения хроматофилии цитоплазмы и содержания РНК в нейронах поясной коры мозга крыс при подпеченочном холестазе. Морфология. 2024;162(1):41-53. doi: 10.17816/morph.629000. Klimut' TV, Zaerko AV, Emel'yanchik SV. S.M. Zimatkin. Izmeneniya hromatofilii citoplazmy i sodержaniya RNK v nejronah poynasnoj kory mozga krysy pri podpechenochnom holestaze. Morfologiya. 2024;162(1):41-53. doi: 10.17816/morph.629000. (In Russ.).
11. Коржевский Д.Э., Григорьев И.П., Отеллин В.А. Применение обезвоживающих фиксаторов, содержащих соли цинка, в нейрогистологических исследованиях. Морфология. 2006;129(1):85–86. Korzhevsky DE, Grigoriev IP, Otellin VA. Primeneniye obezvozhivayushchih fiksatorov, sodержashchih soli cinka, v nejrogistologicheskikh issledovaniyah. Morphology. 2006;129(1):85–86. (In Russ.).
12. Кудрявцева В.А., Кузьмин Е.А., Моисеева А.В., Обельчакова М.С., Синицына П.А., Филистович Т.И., Карташкина Н.Л., Пьявченко Г.А., Голубев А.М., Кузнецов С.Л. Молекулярные и морфологические маркеры гибели нейронов при острых нарушениях мозгового кровообращения. Сеченовский вестник. 2022;13(4): 18–32. doi: 10.47093/2218-7332.2022.13.4.18-32. Kudryavtseva VA, Kuz'min EA, Moiseeva AV, Obel'chakova MS, Sinitsyna PA, Filistovich TI, Kartashkina NL, Pyavchenko GA, Golubev AM, Kuznetsov SL. Molekulyarnye i morfologicheskie markery gibeli neuronov pri ostrykh narusheniyakh mozgovogo krovoobrashcheniya. Sechenovskii vestnik. 2022;13(4): 18–32. doi: 10.47093/2218-7332.2022.13.4.18-32. (In Russ.).
13. Мажирина К.Г., Первушина О.Н., Федоров А.А., Штарк М.Б. Нейровизуализация и феномен морального выбора. Успехи физиологических наук. 2021;52(1):16–30. doi: 10.31857/So301179821010057. Mazhirina KG, Pervushina ON, Fedorov AA, Shtark MB. Neirovizualizatsiya i fenomen moral'nogo vybora. Uspekhi fiziologicheskikh nauk. 2021;52(1):16–30. doi: 10.31857/So301179821010057. (In Russ.).
14. Омельченко В.П., Демидова А.А. Информатика, медицинская информатика, статистика. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2021. 608. Omel'chenko VP, Demidova AA. Informatika, medicinskaya informatika, statistika. Moskva: GEOTAR-Media, 2021. 608. (In Russ.).
15. Теоретические основы и практическое применение методов иммуногистохимии : руководство. Под ред. Д. Э. Коржевский. 2-е изд., испр. и доп. СПб. : СпецЛит; 2014. 119. Teoreticheskie osnovy i prakticheskoe primeneniye metodov immunogistokhimii : rukovodstvo. Pod red. D. E. Korzhevskii. 2-e izd., ispr. i dop. SPb. : SpetsLit; 2014. 119. (In Russ.).
16. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes : text with EEA relevance 20.10.2010. Strasbourg : Official Journal of the European Union. 2010. 46.
17. Esfahani DE, Zarrindast MR. Cholestasis and behavioral disorders. Gastroenterol Hepatol Bed Bench. 2021;14(2):95-107. doi: 10.33647/2074-5982-18-1-32-55.

18. Hosseini N, Nasehi M, Radahmadi M, Zarrindast M-R. Effects of CA glutamatergic systems upon memory impairments in cholestatic rats. Behavioural Brain Research. 2013;256:636–18. doi: 10.1016/j.bbr.2013.08.018.
19. Huang LT, Chen CC, Sheen JM, Chen YJ, Hsieh CS, Tain YL. The interaction between high ammonia diet and bile duct ligation in developing rats: Assessment by spatial memory and asymmetric dimethylarginine. Int J. Dev Neurosci. 2010;28:169–74. doi: 10.1016/j.ijdevneu.2009.11.006.
20. Huang LT, Tiao MM, Tain YL, Chen CC, Hsieh CS. Melatonin ameliorates bile duct ligation-induced systemic oxidative stress and spatial memory deficits in developing rats. Pediatr Res. 2009;65:176–80. doi: 10.1203/PDR.obo13e31818d5bc7.
21. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. London: Academic Press; 2007. 448.

Информация об авторах

✉Климут Татьяна Викторовна – аспирант кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии Гродненского государственного медицинского университета; ул. Горького, 80, Гродно, 230009, Республика Беларусь; klimuts@yandex.ru
<https://orcid.org/0009-0001-5670-9030>
Заерко Анастасия Викторовна – канд. биол. наук, доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии Гродненского государственного медицинского университета; wersall_91@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6155-040X>
Емельянчик Сергей Владимирович – д-р биол. наук, доцент, зав. кафедрой экологии Гродненского государственного университета им. Янки Купалы; semel@grsu.by
<https://orcid.org/0009-0009-3032-8203>
Зиматкин Сергей Михайлович – д-р биол. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии Гродненского государственного медицинского университета; smzimatkina@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5728-2588>

Information about the authors

✉Tatyana V. Klimut – Graduate Student, Department of Histology, Cytology and Embryology, Grodno State Medical University; ul. Gor'kogo, 80, Grodno, 230009, Republic of Belarus; klimuts@yandex.ru
<https://orcid.org/0009-0001-5670-9030>
Anastasia V. Zaerko – Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor, Department of Histology, Cytology and Embryology, Grodno State Medical University; wersall_91@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6155-040X>
Sergey V. Emelyanchik – Doct. Sci. (Biol.), Associate Professor, Head of Department of Ecology, Yanka Kupala Grodno State University; semel@grsu.by
<https://orcid.org/0009-0009-3032-8203>
Sergey M. Zimatkin – Doct. Sci. (Biol.), Professor, Head of Department of Histology, Cytology and Embryology, Grodno State Medical University; smzimatkina@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5728-2588>

Статья поступила в редакцию 6.09.2024; одобрена после рецензирования 5.03.2025; принята к публикации 24.03.2025.
Submitted 6.09.2024; Revised 5.03.2025; Accepted 24.03.2025.