

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені І.Я.ГОРБАЧЕВСЬКОГО**

ТИМОФІЙЧУК ІНГА РОМАНІВНА

612.826.4+ 616.45–001.1/.3]:599.323.4

**ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ШЕМИЧНО-РЕПЕРФУЗІЙНОЇ РЕОРГАНІЗАЦІЇ
КАТЕХОЛАМІНЕРГІЧНИХ СИСТЕМ ЛІМБІКО-ГІПОТАЛАМІЧНИХ СТРУКТУР
МОЗКУ ТА СТРЕС-РЕАКТИВНОСТІ В САМЦІВ ЩУРІВ**

14.03.04 – патологічна фізіологія

АВТОРЕФЕРАТ

**дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук**

Тернопіль - 2006

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Буковинському державному медичному університеті МОЗ України.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор, член-кореспондент АПН України
Пішак Василь Павлович, Буковинський державний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри медичної біології, генетики та гістології

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, професор **Абрамов Андрій Володимирович**,
Запорізький державний медичний університет МОЗ України,
професор кафедри патологічної фізіології

доктор медичних наук, професор **Шандра Олексій Антонович**,
Одеський державний медичний університет МОЗ України,
завідувач кафедри нормальної фізіології

Провідна установа: Донецький державний медичний університет ім. М.Горького МОЗ України,
кафедра патологічної фізіології

Захист відбудеться 26 травня 2006 р. о 14 год на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 58.601.01 у Тернопільському державному медичному університеті імені І.Я.Горбачевського МОЗ України (46001, м. Тернопіль, Майдан Волі, 1)

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Тернопільського державного медичного університету імені І.Я.Горбачевського МОЗ України (46001, м. Тернопіль, вул. Січових стрільців, 8)

Автореферат розісланий 14 квітня 2006 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
доктор медичних наук, професор

Я.Я. Боднар

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Проблема гострої та хронічної ішемії мозку має надзвичайно важливу медичну й соціальну значимість. Ріст розповсюдженості судинних захворювань, зафіксований протягом останніх років, зумовив збільшення частоти гострих порушень мозкового кровообігу (Б.С. Виленский, 2002; М.Ф. Исмагилов, 2005). У більшості країн, у тому числі й в Україні, інсульт займає 2-3-тє місце в структурі загальної смертності населення та стає основною причиною інвалідизації і соціальної дезадаптації, що робить цю патологію багато в чому визначальною щодо рівня здоров'я і тривалості життя (Т.С. Мищенко, 2001; С.М. Виничук, Т.М. Черевко, 2003; А.И. Федин, 2005).

Згідно із сучасними поглядами ішемічні інсульти розглядають як комплекс взаємозв'язаних багатокомпонентних метаболічних, гемодинамічних змін, які послідовно розгортаються в мозку на певних стадіях недостатності його кровопостачання (І.С. Магура, 2003; В.И. Скворцова, 2003).

Окрім численних електрофізіологічних, морфологічних, біохімічних порушень у тканині мозку, церебральна ішемія супроводжується нейрогормо-нальною відповіддю, яка є компонентом реакції єдиної нейроімуноендокринної системи (А. Scheepens, 1999; В.И. Скворцова и др., 2000).

Гормони є еволюційно найбільш древніми та універсальними регуляторами диференціації нервових клітин, тому зміни гормонального балансу, біосинтезу, секреції та метаболізму гормонів є неодмінною складовою реакції організму на чинники зовнішнього та внутрішнього середовища (А.Г. Резников, Н.Д. Носенко, 2002; Н.Д. Носенко, 2003; А.Г. Резников и др., 2004). Саме реакція компонентів системи стрес-реалізації та стрес-обмеження забезпечує метаболічну основу компенсаторно-приспосувальних змін, від яких багато в чому залежить перебіг ішемічно-реперфузійних пошкоджень нервової тканини (В.И. Скворцова и др., 2000; В.П.Пишак и др., 2002; С.С.Ткачук та ін., 2003). Вираженість стресорних нейрогормональних перебудов відображає тяжкість ішемії, впливає на перебіг патологічного процесу та має прогностичне значення (N. Adachi et al., 2001; Е.И. Гусев, В.И. Скворцова, 2002). Однак традиційно склалося так, що питання порушення стрес-реактивності за умов ішемії мозку тривалий час вважалося другорядним, а тому маловивченим. Вікові ж аспекти стрес-реактивності при ішемії та їх корекція взагалі залишилися поза увагою науковців, що свідчить про необхідність та актуальність подібних досліджень.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана в Буковинському державному медичному університеті і є фрагментом планової міжкафедральної наукової роботи “Дослідження порушень водно-електролітного обміну, закономірностей центральних стресіндукованих та ішемічних дисфункцій, паренхіматозно-стромального дисбалансу при ушкодженні внутрішніх органів за умов впливу екологічно несприятливих

чинників з розробкою шляхів корекції виявлених патологічних змін” (№ державної реєстрації 0104U009029). Автору належить дослідження стану системи стрес-реалізації та стрес-обмеження при ішемічно-реперфузійних пошкодженнях мозку. Тема дисертації затверджена Проблемною комісією "Фізіологія людини" 14 травня 2003 року (протокол № 47).

Мета дослідження. З'ясувати вікові особливості реакції катехоламінергічних систем лімбіко-гіпоталамічних структур мозку та деяких інших компонентів стрес-реалізуючої і стрес-лімітуючої систем організму щурів при ішемічно-реперфузійних пошкодженнях мозку.

Задачі дослідження:

1. Проаналізувати реакцію гормональних показників стрес-реактивності на гостру каротидну ішемію в одно- та тримісячних щурів.

2. Оцінити реакцію катехоламінергічних систем деяких структур лімбіко-гіпоталамічного комплексу в самців щурів різних вікових груп на двобічну каротидну ішемію.

3. Зіставити вираженість оксидативного стресу (окиснювальної модифікації білків, пероксидного окиснення ліпідів) та стан антиоксидантного захисту в структурах лімбіко-гіпоталамічного комплексу самців щурів різних вікових груп за умов каротидної ішемії.

4. З'ясувати реакцію тканинної протео- та фібринолітичної активності в структурах лімбіко-гіпоталамічного комплексу мозку самців щурів різних вікових груп на двобічну каротидну ішемію.

5. Встановити механізми впливу емоксипіну на показники стрес-реактивності за реакцією катехоламінергічних систем лімбіко-гіпоталамічних структур мозку, показників вільнорадикального окиснення ліпідів та білків, активності антиоксидантних ферментів, протеолітичної та фібринолітичної активності.

Об'єкт дослідження: ішемічно-реперфузійна модифікація стрес-реактивності.

Предмет дослідження: ішемічно-реперфузійна реорганізація катехоламінергічних систем лімбіко-гіпоталамічних структур мозку та показників стрес-реактивності в самців щурів різного віку.

Методи дослідження:

- імуноферментний з метою визначення вмісту кортизолу, пролактину, трийодтироніну, тетрайодтироніну в плазмі крові;

- біохімічний з метою визначення показників вільнорадикального окиснення та антиоксидантного захисту, інтенсивності неферментативного й ферментативного тканинного фібринолізу, ступеня протеолітичної деградації низько- і високомолекулярних білків та колагену;

- гістохімічний з метою вивчення інтенсивності флуоресценції катехоламінів.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше показано, що в одномісячних щурів за умов неповної глобальної ішемії мозку гормональна стресорна відповідь у пізньому

постішемічному періоді докорінно відрізняється від такої у тримісячних. Отримані результати свідчать про збереження в цей період високої стрес-реактивності в одномісячних щурів та виснаження її в тримісячних. Виявлено наявність вікових особливостей у реагуванні на ішемічно-реперфузійне пошкодження катехоламінергічних систем лімбіко-гіпоталамічних структур мозку, які полягають у більш значному постішемічному зниженні інтенсивності флуоресценції катехоламінів майже в усіх досліджених відділах мозку тримісячних щурів. Показано, що конститутивні показники функціонального стану прооксидантно-антиоксидантної системи вищі в тримісячних щурів. Ішемія також спричиняє більш вагомі порушення показників ліпопероксидації та антиоксидантного захисту у тварин старшої вікової групи, що свідчить про взаємозв'язок конститутивних та індукбельних параметрів функціонування даної системи. Особливо значні постішемічні порушення в тримісячних щурів виявлено стосовно активності антиоксидантних ферментів. Вперше встановлено, що більш обширні зміни окиснювальної модифікації білків та фібринолітичної активності, спричинені ішемією, також притаманні тримісячним щурам, а порушення протеолітичної активності майже однаковою мірою виражені в лімбіко-гіпоталамічних структурах тварин обох вікових груп.

Вперше продемонстрована залежність впливу емоксипіну на патогенетичні ланки ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку від віку тварин. Виявлено, що за впливом на катехоламінергічні системи лімбіко-гіпоталамічних структур мозку, активність антиоксидантних ферментів препарат має вищий нейропротекторний ефект в одномісячних щурів. У тварин даної групи препарат має здатність підвищувати активність антиоксидантних ферментів, у той час як у тримісячних щурів він може навіть посилювати ефекти ішемії. Разом із тим, на постішемічні зміни окиснювальної модифікації білків препарат має більш виражений позитивний вплив у структурах мозку тримісячних щурів, що свідчить про меншу залежність окиснювальних змін білків від активності антиоксидантних ферментів у порівнянні з ліпідами. Встановлено, що незалежно від вираженості та поширеності постішемічних змін фібрино- й протеолітичної активності емоксипін має більш обширні та значні впливи у тварин молодшої вікової групи. Показано, що стрес-реактивність за умов ішемії мозку в одномісячних щурів остаточно не сформована і зазнає вікової еволюції.

Практичне значення одержаних результатів. Робота належить до фундаментальних досліджень. Результати досліджень розкривають нові церебральні і гуморальні механізми активації та пригнічення систем стрес-реалізації та стрес-обмеження при ішемічно-реперфузійному пошкодженні мозку, їх вікові та структурні особливості. Отримані дані щодо нейрохімічних та біохімічних корелятивів ефективності емоксипіну в лімбіко-гіпоталамічних структурах розширюють уяву про центральні механізми дії препарату та обґрунтовують ступінь його ефективності у тварин різних вікових груп.

Результати роботи можуть бути використані в навчальному процесі при викладанні нормальної та патологічної фізіології, нервових та дитячих хвороб, медичної хімії, ендокринології, у роботі науково-дослідних лабораторій із відповідним науковим спрямуванням, при написанні підручників та монографій із зазначених галузей теоретичної медицини.

Результати досліджень впроваджено в навчальний процес кафедр патофізіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, Тернопільського державного медичного університету імені І.Я.Горбачевського, Запорізького державного медичного університету, Донецького державного медичного університету імені М. Горького.

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно підібрана та проаналізована література за темою дисертації, здійснено всі експериментальні втручання, статистичну обробку отриманих результатів, написано всі розділи дисертаційної роботи. Формулювання мети, задач дослідження та інтерпретацію отриманих результатів здійснено сумісно з науковим керівником.

Біохімічні, гістохімічні та імуноферментні дослідження виконано за безпосередньою участю дисертанта.

У наукових працях, опублікованих у співавторстві, автору належить виконання експериментальних досліджень, статистична обробка даних, підготовка матеріалів до друку.

У тій частині актів впровадження, що стосуються науково-практичної новизни, викладено фактичний матеріал автора.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертації оприлюднено на науково-практичній конференції з міжнародною участю "Фізіологія регуляторних систем", присвяченій 90-й річниці з дня народження проф. Я.Д. Кіршенבלата (Чернівці, 2003), 58-й та 59-й науково-практичних конференціях студентів та молодих учених Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця з міжнародною участю "Актуальні проблеми сучасної медицини" (Київ, 2003, 2004), VII Міжнародній науково-практичній конференції "Наука і освіта 2004" (Дніпропетровськ, 2004), науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 200-річчю з дня заснування Харківського державного медичного університету "Від фундаментальних досліджень – до прогресу в медицині" (Харків, 2005), 85-й, 86-й підсумкових конференціях професорсько-викладацького складу Буковинської державної медичної академії.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 12 наукових праць, із них 8 – у фахових наукових журналах, 4 – у матеріалах і тезах конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 200 сторінках, ілюстрована 47 таблицями. Структура дисертації складається зі вступу, семи розділів, висновків і списку використаних джерел, який налічує 305 найменувань вітчизняної та зарубіжної літератури, додатків. Бібліографічний опис джерел літератури та додатки викладені на 54 сторінках.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріал і методи дослідження. Дослідження проведено на безпородних білих самцях щурів віком один та три місяці (всього використано 236 тварин). Експериментальні втручання та евтаназія тварин проводилися паралельно в дослідних та контрольних групах із дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985), ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2000). Комісією з питань біоетики Буковинського державного медичного університету (протокол №6 від 15.12.2005р.) порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

Вікові групи експериментальних тварин сформовані на підставі даних літератури про відмінність у них ступеня зрілості ЦНС, нейроендокринної регуляції, мозкового кровообігу, гемодинамічних показників (Г.Б. Вайнштейн, И.А. Журавин, 1996; R. Bauer, J. Koudelova, 1999; А.Г. Резников и др., 2004).

Неповну глобальну ішемію мозку моделювали двобічним 20-хвилинним кліпсуванням загальних сонних артерій. Контрольним тваринам проводили розтин шкіри, сепарацію м'язів і виділення судин без порушення в них кровообігу. Усі оперативні втручання здійснювали під каліпсоловим наркозом (75 мг/кг маси тіла). Частині щурів у перші три хвилини по закінченні ішемічного періоду, потім щоденно, протягом 5 днів внутрішньоочеревинно вводили емоксипін у дозі 5 мг/кг (М.Д. Гаевый и др., 1998).

У відповідності з метою дослідити відстрочені наслідки ішемії-реперфузії тварин виводили з експерименту на шосту добу ішемічно-реперфузійного періоду, спираючись на дані літератури щодо динаміки морфологічних, біохімічних змін у мозку (Г.Г. Скибо, 2002; A. Schurr, 2001), неврологічного статусу тварин (В.В. Дрозд, 2000).

Вміст кортизолу, пролактину, тетраодтироніну, трийодтироніну в плазмі крові визначали імуноферментним методом із використанням стандартних комерційних наборів реактивів фірми "Хьюмен" (Німеччина).

Інтенсивність флуоресценції катехоламінів (умовні одиниці) вивчали за методом Фалька-Овмена в модифікації А.Ю. Буданцева (1978). У кожному препараті проводили 50 замірювань флуоресценції в досліджуваних структурах та 50 - фону.

Інтенсивність вільнорадикальних процесів оцінювали за вмістом у тканині структур мозку продуктів пероксидного окиснення - дієнових кон'югатів та малонового альдегіду (В.А. Костюк и др., 1984; И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили, 1977), продуктів окиснювальної модифікації білків - альдегідо- та кетоніпохідних нейтрального й основного характеру (І.Ф. Мещишен, 1998). Стан антиоксидантного захисту в структурах мозку оцінювали за активністю супероксиддисмутази [КФ

1.15.1.1] (R. Fried, 1975; N. Nashikimi, K. Jagi, 1972), каталази [КФ 1.11.1.6] (М.А. Королюк и др., 1988) та глутатіонпероксидази [КФ 1.11.1.9] (И.Ф. Мещишен, 1991).

Обмежену тканинну протеолітичну активність визначали за лізисом азоальбуміну, азоказеїну та азоколу (В.М. Магальяс, 2001), інтенсивність фібринолізу – за лізисом азофібрину (О.Л. Кухарчук, 1996).

Статистичну обробку даних здійснено з використанням значення середньої арифметичної, стандартної похибки, середньоквадратичного відхилення, критерію Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення. Секрецію кортикостероїдів, пролактину, тиреоїдних гормонів вважають одними з основних ендокринних показників стрес-реактивності (J.E. Whitewelkley et al., 1996; С.С. Ткачук та ін., 2002; А.Г.Резников и др., 2004), однак дані літератури щодо вмісту різних гормонів стресу в динаміці розвитку ішемічного пошкодження мозку поодинокі, а вікові особливості цього процесу зовсім не вивчені.

У наших дослідженнях в одномісячних щурів достовірні постішемічні зміни виявлено стосовно вмісту в плазмі крові пролактину та трийодтироніну, рівень яких зріс у 2 рази та 1, 8 рази відповідно (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст кортизолу, пролактину, тироксину та трийодтироніну в плазмі крові щурів різного віку в пізньому постішемічному періоді ($M \pm m$; $n=8$)

Група спостереження	Рівень			
	кортизолу (мкмоль/л)	пролактину (мкг/л)	тироксину (нмоль/ л)	трийодтироніну (нмоль/ л)
один місяць				
Контроль	4,29±0,58	4,15±0,37	1,34±0,17	1,12±0,28
Ішемія	4,67±0,42	8,32±0,78*	1,48±0,16	1,96±0,12*
три місяці				
Контроль	5,22±0,51	2,50±0,29 [^]	1,29±0,67	1,29±0,12
Ішемія	2,90±0,23* [#]	3,03±0,28 [#]	1,36±0,18	0,82±0,06* [#]

Примітки: достовірність: * – змін, стосовно показників у контрольних тварин відповідного віку; [^] – міжвікових відмінностей конститутивного вмісту гормонів; [#] - міжвікових відмінностей постішемічного вмісту гормонів

Відмінності конститутивного вмісту гормонів у тварин представлених вікових груп стосувалися лише пролактину, який в 1,7 раза був вищим в одномісячних щурів.

У тримісячних тварин відстрочена гормональна реакція на ішемію полягала в зниженні вмісту кортизолу (в 1,8 раза) та трийодтироніну (в 1,6 раза). Постішемичний вміст кортизолу та трийодтироніну був достовірно нижчим у тримісячних щурів (в 1,6 та 2,4 раза відповідно).

Таким чином, гормональні показники стрес-реактивності при неповній глобальній ішемії мозку мають принципові вікові відмінності.

Одним із універсальних механізмів розвитку стрес-реакції при дії стресорів достатньої сили та тривалості є активація катехоламінергічних систем мозку, зокрема гіпоталамуса й лімбічних структур (R.Otsuka et al., 2003).

За нашими даними, ішемія спричинила довготривале суттєве зниження інтенсивності флуоресценції катехоламінів майже у всіх досліджених структурах мозку тварин обох вікових груп (табл. 2-4). Виняток становили преоптико-латеральне та вентромедіальне ядра гіпоталамуса одномісячних щурів, де достовірних відмінностей не виявлено. Слід зазначити, що у тварин старшої вікової групи постішемичне зниження флуоресценції катехоламінів у ядрах перегородки та мигдалика набагато перевершувало подібний ефект ішемії в одномісячних.

Таблиця 2

Вплив ішемії та емоксипіну на інтенсивність флуоресценції катехоламінів у ядрах перегородки
($M \pm m$; $n=10$)

Група спостереження	Назва ядра					
	дорзальне	латеральне	медіальне	прилегле	ложа термінальної смужки	діагональної зв'язки
один місяць						
Контроль	62,4±6,79	76,8±6,18	35,8±2,23	57,5±3,01	49,3±5,43	56,9±2,75
Ішемія	38,3±3,12*	43,2±3,78*	20,8±2,45*	40,7±2,52*	29,0±5,55*	42,7±3,14*
Корекція	52,5±3,95 [^]	60,7±2,77* [^]	37,9±2,68 [^]	51,5±3,39 [^]	50,8±3,54 [^]	56,4±4,35 [^]
три місяці						
Контроль	84,9±5,28	97,4±3,73	60,8±5,33	79,1±2,40	68,8±2,59	78,7±2,58
Ішемія	50,4±2,79*	51,9±3,15*	29,7±2,27*	48,6±2,53*	38,5±1,69*	46,0±3,85*
Корекція	60,3±3,04* [^]	71,9±2,72* [^]	53,6±3,19 [^]	60,3±2,86* [^]	59,8±4,98 [^]	67,1±3,21* [^]

Примітки: у табл. 2-4 - достовірність змін у порівнянні: * - з контролем; [^] - з ішемією

Вплив ішемії та емоксипіну на інтенсивність флуоресценції катехоламінів у ядрах гіпоталамуса
($M \pm m$; $n=10$)

Група спостереження	Назва ядра				
	паравентрикулярне	преоптико-медіальне	преоптико-латеральне	аркуатне	вентро-медіальне
	один місяць				
Контроль	276±7,04	276±5,51	180±7,27	236±10,5	175±4,13
Ішемія	223±7,39*	219±8,75*	186±5,51	197±4,57*	181±6,30
Корекція	254±5,30*^	246±3,90*^	195±6,88	212±3,80*^	197±6,88*^
три місяці					
Контроль	325±8,47	316±13,3	227±8,13	265±14,23	208±5,16
Ішемія	249±4,92*	240±5,55*	187±5,41*	210±7,48*	177±6,72*
Корекція	273±4,25*^	250±6,15*	206±6,41*^	217±4,90*	202±6,93^

Таблиця 4

Вплив ішемії та емоксипіну на інтенсивність флуоресценції катехоламінів у ядрах мигдалика
($M \pm m$; $n=8$)

Група спостереження	Назва ядра			
	кортикомедіальне	центральне	базолатеральне	кінцева смужка
один місяць				
Контроль	34,5±1,48	120±3,67	73,2±4,45	124±4,01
Ішемія	25,8±3,04*	97,4±4,07*	61,7±4,52*	85,2±6,16*
Корекція	38,3±3,41^	118±3,98^	76,9±3,39^	113±7,79^
три місяці				
Контроль	58,9±2,72	147±7,78	84,4±6,04	149,1±5,62
Ішемія	26,1±1,51*	98,2±2,54*	65,6±4,72*	79,2±2,39*
Корекція	44,1±3,12*^	126±5,21*^	91,3±3,11^	131±8,24*^

Уведення емоксипіну значною мірою зменшувало постішемичні зміни інтенсивності флуоресценції катехоламінів у досліджених структурах мозку тварин обох вікових груп, а в деяких випадках навіть запобігало їх виникненню (див. табл. 2-4). Особливо виражений корегувальний ефект емоксипіну спостерігався в одномісячних тварин - у чотирьох із шести ядер перегородки та

у всіх ядрах мигдалика тварин даної вікової групи препарат повністю нормалізував вміст катехоламінів.

Збільшення вмісту продуктів пероксидації ліпідів поруч зі змінами вмісту гормонів кори надниркових залоз широко використовують як показник вираженості стрес-реакції, а активацію системи антиоксидантного захисту вважають однією з ключових стрес-лімітуючих ланок, функціонування якої перебуває під модулювальним впливом гормонів стресу (П.А. Вундер, 1999; М.Г. Пшенникова, 2000). У зв'язку з цим стан вільнорадикальних процесів та антиоксидантного захисту в тих структурах мозку, які вважаються морфологічним еквівалентом стрес-реакції, може дати характеристику ішемічно-реперфузійного впливу як стресора.

Ішемія мала суттєвий вплив на показники окисного гомеостазу в лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку тварин обох вікових груп (табл. 5,6).

Таблиця 5

Вплив ішемії та емоксипіну на вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів і активність антиоксидантних ферментів у лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку одномісячних щурів

(M+m, n=8)

Структура	Група спостереження	Дієнові кон'югати (нмоль/мг білка)	Малоновий альдегід (нмоль/мг білка)	Супероксид-дисмутаза (од/хв·мг білка)	Каталаза (мкмоль/хв·мг білка)	Глутатіон-пероксидаза (нмоль/хв·мг білка)
Перегородка мозку	Контроль	5,51±0,42	4,24±0,46	8,11±0,80	2,98±0,30	3,77±0,31
	Ішемія	4,23±0,24*	3,97±0,19	5,47±0,46*	2,09±0,13*	2,81±0,16*
	Корекція	4,93±0,37	3,61±0,61	8,64±0,28^	3,63±0,28^	4,34±0,18^
Преоптична ділянка	Контроль	5,67±0,60	2,59±0,36	6,49±0,69	1,29±0,12	3,17±0,26
	Ішемія	8,48±0,36*	2,09±0,51	6,04±1,23	1,64±0,57	5,61±0,13*
	Корекція	5,48±0,57^	2,48±0,31	5,98±0,59	1,38±0,10	3,24±0,23^
Медіобазальний гіпоталамус	Контроль	6,59±0,33	4,19±0,22	7,81±0,40	1,50±0,32	5,17±0,32
	Ішемія	6,87±0,51	4,42±0,32	6,68±0,49	2,19±0,28	5,51±0,27
	Корекція	6,28±0,24	3,76±0,27	8,48±0,74^	2,29±0,33	5,88±0,23
Мигдалеподібний комплекс	Контроль	8,74±0,33	5,50±0,49	7,07±0,50	2,27±0,32	5,66±0,61
	Ішемія	8,45±0,45	5,59±0,27	6,74±0,34	1,49±0,15*	5,40±0,46
	Корекція	7,60±0,44	4,40±0,27^	8,01±0,26^	2,37±0,21^	5,06±0,38

Примітки: тут та в наступній таблиці - вірогідність змін у порівнянні з показниками: * – у контрольних тварин; ^ – у тварин після ішемії

У перегородці мозку щурів молодшої вікової групи ішемія знижувала вміст дієнових кон'югатів, супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидазу (див. табл.5), а емоксипін запобігав цим змінам. У тримісячних тварин також знижувалися як інтенсивність ліпопероксидації, так й антиоксидантна активність, однак більш значних змін зазнавала антиоксидантна активність (табл. 6). При зменшенні вмісту дієнових кон'югатів у 1,2 раза активність супероксиддисмутази та каталази знижувалась у 2,8 та 4,1 раза відповідно, що свідчить про значне розбалансування прооксидантно-антиоксидантної рівноваги. Емоксипін посилював вплив ішемії на досліджені показники ліпопероксидації та антиоксидантного захисту, зменшуючи вплив ішемії лише на активність супероксиддисмутази.

Таблиця 6

Вплив ішемії та емоксипіну на вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів і активність антиоксидантних ферментів у лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку тримісячних щурів (M+m, n=8)

Структура	Група спостереження	Дієнові кон'югати (нмоль/мг білка)	Малоновий альдегід (нмоль/мг білка)	Супероксиддисмутаза (од/хв·мг білка)	Каталаза (мкмоль/хв·мг білка)	Глутатіонпероксидаза (нмоль/хв·мг білка)
Перегородка мозку	Контроль	11,7±0,18	7,76±1,12	19,3±3,53	6,03±1,12	6,10±0,52
	Ішемія	9,57±0,76*	6,65±0,56	6,82±1,35*	1,47±0,17*	5,56±0,29
	Корекція	5,00±0,30*^	4,92±0,60*^	11,0±1,49*^	1,85±0,25*	3,21±0,16*^
Преоптична ділянка	Контроль	15,6±1,35	4,57±0,98	35,5±3,11	7,19±0,70	9,01±1,25
	Ішемія	5,46±0,18*	2,01±0,39*	6,44±1,04*	0,97±0,24*	4,86±0,64*
	Корекція	5,48±0,56*	2,48±0,31*	5,99±0,74*	1,13±0,09*	3,23±0,22*^
Медіобазальний гіпоталамус	Контроль	9,95±0,42	5,64±0,19	10,5±0,46	1,71±0,19	5,64±0,44
	Ішемія	1,30±0,22*	9,45±0,16*	6,58±0,37*	1,21±0,13*	4,35±0,77
	Корекція	4,44±0,45*^	5,37±0,20^	8,77±0,53*^	1,96±0,21^	5,28±0,30
Ібний комплекс	Контроль	7,28±0,68	4,40±0,44	7,27±0,33	2,01±0,16	5,91±0,49
	Ішемія	11,2±0,33*	6,11±0,23*	7,07±0,37	2,04±0,29	5,56±0,24

	Корекція	7,03±0,47 [^]	4,36±0,35 [^]	6,67±0,21	1,85±0,25	4,97±0,36
--	----------	------------------------	------------------------	-----------	-----------	-----------

У преоптичній ділянці одномісячних щурів ішемія спричинила достовірне зростання вмісту дієнових кон'югатів та активності глутатіонпероксидази (див. табл.5), а емоксипін повертав ці показники до контрольного рівня.

У тримісячних щурів реакція на ішемію була більш обширною та глибокою й полягала в зниженні всіх досліджених показників (у 2,8, 2,3, 5,5, 7,4, 1,9 раза відповідно для дієнових кон'югатів, малонового альдегіду, супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази). Знову ж таки привертає увагу переважаюче зниження активності ферментів антиоксидантного захисту. Незважаючи на тотальні постішемичні зміни досліджених прооксидантно-антиоксидантних параметрів, емоксипін не справляв на них жодного корегувального впливу, а порушення активності глутатіонпероксидази навіть посилював (див. табл. 6).

У медіобазальному гіпоталамусі одномісячних тварин жодних постішемичних змін не спостерігалися, чим, імовірно, пояснюється відсутність суттєвих ефектів емоксипіну.

У тримісячних щурів ішемія мала вагомий вплив, який полягав у зниженні вмісту дієнових кон'югатів, активності супероксиддисмутази, каталази в 7,6, 1,6, 1,4 раза та зростанні вмісту малонового альдегіду в 1,8 раза. Емоксипін у цій ділянці мозку мав добре виражений захисний ефект.

Реакція на ішемію в мигдалеподібному комплексі мозку одномісячних щурів обмежувалася зниженням активності каталази. Емоксипін нормалізував активність цього ферменту, а також, незважаючи на відсутність достовірних постішемичних змін, підвищував активність супероксиддисмутази та знижував вміст малонового альдегіду. Причиною цих ефектів, імовірно, є тенденція даних показників до постішемичних змін, яка зникла під впливом емоксипіну.

У даній структурі тримісячних щурів ішемія спричинила зростання вмісту первинних та вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів, а емоксипін запобігав виникненню цих змін.

Таким чином, за кількістю змінених параметрів та глибиною змін прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу відстрочені наслідки ішемії значно домінують у тварин старшої вікової групи. Особливо вагомий вплив ішемія в цих тварин справляє на активність антиоксидантних ферментів, викликаючи їх глибоку депресію, що вважається несприятливою ознакою перебігу патологічного процесу. Що стосується ефектів емоксипіну, то в одномісячних щурів препарат має виражену вибіркочу тропність до порушених ішемією показників ліпопероксидації та антиоксидантного захисту. У тримісячних щурів вплив препарату

неоднозначний в різних структурах і коливається від корегувального до посилюючого ішемічні впливи.

У дослідях на щурах було показано, що ішемія мозку має надзвичайно виражений пошкоджувальний вплив на білки, викликає зростання рівня протеїнових карбонільних дериватів, знижує специфічну активність глутамінсинтетази (A.Z. Haghghi, K. Malpes, 1996). Однак відстрочені наслідки ішемії на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у структурах мозку, які ототожнюють зі стрес-реактивністю, недосліджені, так само як і їх вікові особливості.

У перегородці мозку одномісячних щурів внаслідок ішемічно-реперфузійного втручання знизився вміст альдегідо- та кетоніо- похідних нейтрального і основного характеру (табл. 7).

Таблиця 7

Вплив ішемії та емоксипіну на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку щурів різних вікових груп ($M \pm m$, $n=8$)

Вік тварин	Група спостереження	Вміст альдегідо- та кетоніо- похідних	
		нейтрального характеру (о.о.г./г білка, 370 нм)	основного характеру (о.о.г./г білка, 420 нм)
перегородка мозку			
1 місяць	Контроль	46,2±1,90	14,7±0,79
	Ішемія	40,1±2,08*	12,1±1,05*
	Корекція	50,2±1,31^	18,6±1,89*^
3 місяці	Контроль	42,6±0,94	17,5±0,57
	Ішемія	40,3±1,07	18,3±0,44
	Корекція	50,7±5,54^	19,4±3,45*^
преоптична ділянка			
1 місяць	Контроль	38,0±1,30	16,7±0,55
	Ішемія	41,8±2,12	17,6±0,82
	Корекція	38,8±1,78	17,1±0,78
3 місяці	Контроль	35,3±0,62	15,2±0,29
	Ішемія	40,3±1,07*	17,8±0,48*
	Корекція	35,3±1,42^	14,4±0,70^
медіобазальний гіпоталамус			
1 місяць	Контроль	42,6±0,94	17,5±0,57
	Ішемія	40,3±1,07	18,2±0,44
	Корекція	45,9±1,37*^	18,7±0,67
3 місяці	Контроль	35,9±0,61	15,3±0,49

	Ішемія	40,3±1,07*	15,9±0,34
	Корекція	40,6±0,44*	16,8±0,28*^
мигдалеподібний комплекс			
1 місяць	Контроль	42,4±0,28	17,4±0,29
	Ішемія	44,1±1,97	19,1±1,11*
	Корекція	42,41±0,84	18,2±0,38*
3 місяці	Контроль	42,5±0,99	17,9± 0,42
	Ішемія	38,7±1,04*	15,8±0,69*
	Корекція	44,3±1,38^	18,5±0,61^

Примітки: вірогідність змін у порівнянні з: * – контролем; ^ – ішемією

Емоксипін нормалізував вміст продуктів нейтрального характеру, а вміст продуктів основного характеру під впливом препарату зростав навіть вище контрольного рівня. У тварин старшої вікової групи відстрочених наслідків ішемії щодо вмісту модифікованих білків не спостерігалось. Незважаючи на це, емоксипін достовірно підвищував постішемичний вміст альдегідо- та кетоніпохідних нейтрального і основного характеру. Таке накопичення модифікованих форм білків можна розцінювати як несприятливий вплив препарату.

У преоптичній ділянці одномісячних щурів достовірних змін вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків після ішемії не виявлено, емоксипін також не мав жодного впливу на ці показники (див. табл. 7). У тримісячних щурів у даній структурі достовірно зріс вміст продуктів як нейтрального, так і основного характеру. Емоксипін повністю запобігав цим пошкоджувальним впливам ішемії.

Не виявлено жодних наслідків ішемічно-реперфузійного втручання щодо вмісту вільнорадикально модифікованих білків у медіобазальному гіпоталамусі одномісячних щурів, а в тримісячних тварин ішемія спричинила достовірне зростання вмісту альдегідо- та кетоніпохідних нейтрального характеру (див. табл. 7). Ефекти емоксипіну в медіобазальному гіпоталамусі тварин обох вікових груп були спрямовані на показники, які не зазнали ішемічного впливу - в одномісячних щурів відбулося підвищення вмісту продуктів нейтрального, а в тримісячних - основного характеру.

У мигдалеподібному комплексі щурів молодшої вікової групи ішемічно-реперфузійне втручання спричинило накопичення альдегідо- та кетоніпохідних основного характеру (див. табл. 7), а ефекти емоксипіну щодо постішемичних змін не набували достовірних значень. У тримісячних щурів у постішемичному періоді достовірно знижувався вміст всіх продуктів окиснювальної модифікації білків. Емоксипін практично повертав ці показники до контрольних величин.

Таким чином, обширність та глибина постішемічних порушень окиснювальної модифікації білків і антиішемічні ефекти емоксипіну за даними параметрами переважають у тварин старшої вікової групи.

Результати сучасних досліджень не залишають сумніву, що реакція протеолітичних систем організму є неодмінною складовою стрес-реакції та її надійним маркером (Н.О. Гарська, 2000). Тканинна фібрино- та протеолітична активність відіграє важливу роль у процесах деструкції клітин при ішемії, ангіогенезі та ремодуляції судин, у регуляції кровообігу та кровопостачання головного мозку (М.У. Ahn, 1999; P.Tabrizi et al., 1999).

Нами встановлено, що в перегородці мозку одномісячних щурів ішемія спричинила зростання сумарної, неферментативної та ферментативної фібринолітичної активності в 1,6, 1,5, 1,6 рази відповідно. Емоксипін фактично повертав всі ці показники до рівня, притаманного контрольним тваринам. У тварин тримісячного віку в даній структурі також мало місце постішемічне зростання всіх показників фібринолітичної активності (в 1,2 рази для сумарної, неферментативної та ферментативної фібринолітичної активності, $p < 0,05$ в усіх випадках). Під впливом емоксипіну повернення до контрольних величин зазнали сумарна та ферментативна фібринолітична активність.

Внаслідок ішемічно-реперфузійного втручання в перегородці мозку одномісячних тварин достовірно зростали також показники протеолітичної активності (в 1,2, 1,4, 1,3 рази для низько-, високомолекулярних білків та колагену відповідно). Вплив емоксипіну на протеолітичну активність у перегородці мозку одномісячних щурів був неоднозначним. Лізис низькомолекулярних білків під впливом препарату нормалізувався, лізис колагену зазнав часткового повернення до контрольних показників, а лізис високомолекулярних білків зазнав змін, характерних для ішемічного впливу. У тримісячних щурів інтенсивність протеолізу за жодним із визначених показників вірогідних змін не зазнала, проте емоксипін достовірно знижував всі види протеолітичної активності.

У преоптичній ділянці одномісячних щурів ішемія не справила достовірних впливів на фібринолітичну активність, однак під впливом емоксипіну ферментативний фібриноліз достовірно зріс у порівнянні як із контролем, так і з постішемічним рівнем (в 1,2 та 1,4 рази відповідно). У тримісячних щурів зміни також були необширними і полягали лише в зниженні в 1,6 рази ферментативної фібринолітичної активності. Емоксипін достовірно підвищував сумарну та ферментативну фібринолітичну активність (в 1,5 та 1,8 рази щодо контролю і в 1,7 та 2,9 рази стосовно показників при ішемії).

Внаслідок ішемії у преоптичній ділянці одномісячних щурів достовірно знизився лізис низькомолекулярних білків (в 1,2 рази) та колагену (в 2 рази). Емоксипін запобігав лише змінам лізису низькомолекулярних білків. У тварин старшої вікової групи постішемічні зміни

проявлялися зниженням лізису низько-, високомолекулярних білків та колагену в 1,3, 1,5, 1,8 раза відповідно. Емоксипін нівелював наслідки ішемії щодо лізису азоколу.

Ішемічно-реперфузійні впливи не мали наслідків щодо показників фібринолітичної активності в медіобазальному гіпоталамусі одномісячних щурів, однак емоксипін спричинив зниження сумарного та неферментативного фібринолізу в 1,3 та 1,6 раза відповідно ($p < 0,05$) у порівнянні як із контролем, так і з постішемичними показниками. У тримісячних щурів постішемичні зміни полягали в зниженні сумарної та неферментативної фібринолітичної активності в 1,2 та 1,3 раза відповідно, а емоксипін підвищував обидва показники.

Постішемичні зміни протеолітичної активності в медіобазальному гіпоталамусі одномісячних щурів представлені зростанням в 1,3 раза ($p < 0,05$) лізису високомолекулярних білків. Емоксипін нормалізував цей показник. У тримісячних тварин зміни протеолітичної активності були більш обширними і проявлялися зниженням лізису низькомолекулярних білків (в 1,2 раза, $p < 0,05$) та колагену (в 1,4 раза, $p < 0,05$), а емоксипін не мав жодного ефекту.

У мигдалеподібному комплексі ядер одномісячних щурів внаслідок ішемії сумарна, неферментативна та ферментативна фібринолітична активність достовірно знизилася в 1,3, 1,4, 1,3 раза відповідно. У тварин, які отримували емоксипін, всі показники знаходилися на рівні, притаманному контрольним щурам. Зміни фібринолітичної активності в мигдалику тримісячних тварин також проявлялися зниженням (в 1,2, 1,2, 1,3 раза) сумарної, неферментативної та ферментативної фібринолітичної активності. Застосування емоксипіну виявилось неефективним, хоча недостовірне зменшення впливу ішемії на сумарний та неферментативний фібриноліз мало місце.

Внаслідок ішемічно-реперфузійного втручання в мигдалеподібних ядрах одномісячних щурів відбулося зниження лізису низькомолекулярних білків та колагену в 1,3 та 1,5 раза відповідно. Застосування емоксипіну повністю нормалізувало ці показники. У тримісячних щурів лізис азоальбуміну, азоказеїну та азоколу після ішемії зріс в 1,2, 1,2, 1,4 раза, а емоксипін не зменшував жоден із цих наслідків.

Сукупний аналіз отриманих результатів свідчить, що формування механізмів стрес-реактивності, які активуються ішемією мозку, в одномісячних щурів не завершене, а ефекти емоксипіну характеризуються структурними та віковими особливостями.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне та експериментальне узагальнення даних щодо вікових особливостей функціонування системи стрес-реалізації та стрес-обмеження за окремими ендокринними, нейрохімічними, біохімічними показниками та патогенетично обґрунтовано вплив емоксипіну на ці показники.

1. За гормональними показниками стресорна відповідь на неповну глобальну ішемію мозку в одномісячних щурів полягала в достовірному зростанні в плазмі крові вмісту пролактину в 2 рази та трийодтироніну в 1,8 раза, а в тримісячних – у зниженні вмісту кортизолу в 1,8 раза та трийодтироніну в 1,6 раза, що свідчить про високу стрес-реактивність у тварин молодшої вікової групи та виснаження її у старших.

2. Неповна глобальна ішемія мозку знижує інтенсивність флуоресценції катехоламінів у лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку тварин обох вікових груп, за винятком преоптико-латерального та вентромедіального ядер гіпоталамуса одномісячних. У тримісячних щурів за даними показниками наслідки ішемічного втручання більш виражені.

3. За кількістю та глибиною змін показників ліпопероксидації та активності антиоксидантних ферментів відстрочені наслідки ішемії значно домінують у структурах мозку тварин старшої вікової групи. Найбільш вразливими до дії ішемії-реперфузії в одномісячних щурів є перегородка мозку (активність супероксиддисмутази, каталази і глутатіонпероксидази знизилася в 1,5, 1,4, 1,3 раза), у тримісячних щурів – перегородка мозку (активність супероксиддисмутази і каталази знизилася в 2,8, 4,1 раза) преоптична ділянка (активність супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази знизилася в 5,5, 7,4, 1,9 раза) і медіобазальний гіпоталамус (активність супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази та каталази знизилася в 7,6, 1,4, 1,6 раза). Значне постішемичне зниження активності антиоксидантних ферментів у тримісячних щурів свідчить про виснаження цієї важливої ланки системи обмеження стрес-реакції.

4. В одномісячних тварин достовірні постішемичні зміни окиснювальної модифікації білків відбулися в перегородці мозку (на 15% і 21% знизився вміст продуктів нейтрального і основного характеру відповідно), мигдалику (на 10% зріс вміст продуктів основного характеру), у тримісячних – у преоптичній ділянці (на 14% та 17% зріс вміст продуктів нейтрального і основного характеру), медіобазальному гіпоталамусі (на 12% зріс вміст продуктів нейтрального характеру) та мигдалику (вміст продуктів нейтрального і основного характеру знизився на 10% і 13% відповідно), що свідчить про більшу вразливість білків мозку до вільнорадикальних пошкоджень у тримісячних тварин.

5. Неповна глобальна ішемія мозку викликає значні порушення фібринолітичної активності в перегородці мозку й мигдалику одномісячних щурів та в усіх досліджених структурах, за винятком преоптичної ділянки, тварин старшої вікової групи. Постішемичні зміни протеолітичної активності виражені в перегородці мозку, преоптичній ділянці, мигдалику одномісячних тварин та в преоптичній ділянці, медіобазальному гіпоталамусі, мигдалику - тримісячних.

6. Емоксипін запобігав постішемичним змінам інтенсивності флуоресценції

катехоламінів або значно зменшував їх у всіх досліджених структурах мозку тварин обох вікових груп (за винятком преоптико-медіального і аркуатного ядер гіпоталамуса тримісячних щурів і преоптико-латерального ядра гіпоталамуса - одномісячних), однак в одномісячних щурів повна корекція мала місце в 46% ядер, а в тримісячних - лише у 20%.

7. У лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку одномісячних щурів корекція постішемічних прооксидантно-антиоксидантних змін емоксипіном відбувається, головним чином, за рахунок його здатності посилювати активність антиоксидантних ферментів. У тримісячних щурів вплив препарату неоднозначний у різних структурах і коливається від корегуючого до посилюючого ішемічні впливи. Найвищий корегуючий ефект щодо постішемічних змін окиснювальної модифікації білків емоксипін здійснює в перегородці мозку одномісячних та преоптичній ділянці і мигдалеподібному комплексі мозку тримісячних щурів.

8. Емоксипін запобігає постішемічним змінам фібринолітичної активності в перегородці мозку і мигдалику одномісячних щурів та медіобазальному гіпоталамусі тримісячних, зменшує їх у перегородці тримісячних щурів. В одномісячних щурів емоксипін нормалізує показники протеолітичної активності або зменшує їх порушення в усіх досліджених структурах мозку, у тримісячних - практично не впливає на них.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Тимофійчук І.Р., Анохіна С.І. Вплив мелатоніну на тромбоеластографічні показники плазми крові в гіпертиреодних щурів // Буковинський медичний вісник.- 2003.- Т.7, № 1-2. - С. 11-13. (Дисертантка самостійно здійснила дослідження, статистичну обробку, підготовку матеріалів до друку).
2. Тимофійчук І.Р. Вікові особливості впливу емоксипіну на постішемічні зміни фібрино- та протеолітичної активності в структурах проміжного мозку щурів // Буковинський медичний вісник. - 2004. - Т.8, № 3-4. - С. 280-284.
3. Тимофійчук І.Р. Характеристика модулюючого впливу ішемії на постішемічні показники окиснювальної модифікації білків у лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку щурів // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія "Медицина". - 2004. - Вип.23. - С. 26-29.
4. Тимофійчук І.Р. Патогенетичне обґрунтування вікових аспектів ефективності емоксипіну при неповній глобальній ішемії мозку // Таврический медико-биологический вестник. - 2004. - Т.7, №4. - С.120-123.
5. Тимофійчук І.Р. Вікові особливості постішемічних проокисно-антиоксидантних взаємовідносин у структурах лімбіко-гіпоталамічного комплексу щурів //Клінічна та експериментальна патологія. - 2004. -Т.ІІІ, №2, ч.1. - С.165-167.

6. Тимофійчук І.Р., Пішак В.П., Мислицький В.Ф. Постішемична реорганізація катехоламінергічних систем лімбіко-гіпоталамічних структур мозку та її корекція емоксипіном у щурів різного віку // Клінічна та експериментальна патологія. - 2005. -Т.IV, №2. - С.96-99. (Дисертантка самостійно здійснила дослідження, статистичну обробку та аналіз одержаних результатів).

7. Тимофійчук І.Р., Пішак В.П., Ткачук С.С., Мислицький В.Ф. Деякі біохімічні кореляти вікової чутливості окремих структур мозку до неповної глобальної ішемії мозку // Буковинський медичний вісник. - 2005. - Т.9, № 3-4. - С. 201-203. (Дисертантка самостійно провела експериментальну частину роботи, статистичну обробку, підготовку матеріалів до друку).

8. Тимофійчук І.Р., Пішак В.П. Вікові особливості реакції кортикостерону, пролактину, тироксину та трийодтироніну на неповну глобальну ішемію мозку // Клінічна та експериментальна патологія. – 2005. –Т.IV, №4. – С.87-89. (Дисертанткою самостійно проведено експериментальні втручання, статистична обробка, аналіз та підготовка матеріалів до друку).

9. Тимофійчук І.Р. Вікові та регіонарні особливості відстроченої реакції структур мозку на ішемічно-реперфузійне пошкодження // Матеріали VII Міжнародної науково-практичної конференції "Наука і освіта "2004". - Т. 54 "Фізіологія людини та тварин". - Дніпропетровськ: Наука і освіта, 2004. - С. 58-59.

10. Тимофійчук І.Р., Пішак В.П. Оцінка впливу емоксипіну на стан прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в деяких структурах проміжного мозку щурів різного віку після двосторонньої каротидної ішемії // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 200-річчю з дня заснування Харківського державного медичного університету "Від фундаментальних досліджень - до прогресу в медицині".- Харків, 2005.- С.41. (Дисертантка самостійно здійснила експериментальну частину роботи, статистичну обробку, підготовку матеріалів до друку).

11. Тимофійчук І.Р. Вплив емоксипіну на деякі відстрочені наслідки ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку // Тези 58 науково-практичної конференції студентів та молодих вчених Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця з міжнародною участю "Актуальні проблеми сучасної медицини". - Київ, 2003. - С. 90.

12. Тимофійчук І.Р. Характеристика чутливості деяких структур проміжного мозку щурів до ішемії за показниками вільнорадикальної модифікації білків // Тези 59-ї науково-практичної конференції студентів та молодих вчених Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця "Актуальні проблеми сучасної медицини". – Київ, 2005. – С. 126.

АНОТАЦІЯ

Тимофійчук І.Р. Вікові особливості ішемічно-реперфузійної реорганізації катехоламінергічних систем лімбіко-гіпоталамічних структур мозку та стрес-реактивності в самців щурів. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. – Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, 2006 р.

У дисертації представлено результати дослідження гормональних, нейрохімічних та біохімічних показників функціонального стану систем стрес-реалізації та стрес-обмеження в однієї та тримісячних самців щурів із неповною глобальною ішемією мозку та впливу на ці показники препарату емоксипіну.

Встановлено, що в пізньому постішемічному періоді в однієї щурів реакція гормональних показників стрес-реактивності збережена, а в тримісячних - має місце її виснаження. Вікові особливості церебральних проявів стрес-реактивності полягають у більш вагому зниженні в лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку тримісячних щурів інтенсивності флуоресценції катехоламінів, суттєвішому порушенні показників ліпопероксидації та антиоксидантного захисту, а також в обширніших структурних змінах вмісту окиснювальної модифікації білків та показників фібринолітичної активності.

Встановлено, що вплив емоксипіну на патогенетичні ланки ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку також залежить від віку тварин. За впливом на постішемічні зміни інтенсивності флуоресценції катехоламінів, активності антиоксидантних ферментів, фібрино- й протеолітичної активності емоксипін має більш обширні та вагомі впливи у тварин молодшої вікової групи, а позитивний вплив препарату щодо змін окиснювальної модифікації білків переважає в структурах мозку тримісячних щурів.

Отримані результати свідчать, що механізми стрес-реактивності, які активуються за умов ішемії мозку, в однієї щурів остаточно не сформовані і зазнають подальших онтогенетичних змін, а корекція їх порушень потребує урахування віку тварин.

Ключові слова: неповна глобальна ішемія мозку, стрес-реактивність, лімбіко-гіпоталамічні структури, вікові особливості.

АННОТАЦИЯ

Тимофийчук И.Р. Возрастные особенности ишемически-реперфузионной реорганизации катехоламинергических систем лимбико-гипоталамических структур мозга и стресс-реактивности у самцов крыс. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.04 – патологическая физиология. – Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского МЗ Украины, Тернополь, 2006 г.

В диссертации представлены результаты исследования возрастных особенностей гормональных, нейрохимических и биохимических показателей функционального состояния систем стресс-реализации и стресс-ограничения у самцов крыс с неполной глобальной ишемией мозга, а также влияния на эти показатели препарата эмоксипина.

Исследование проведено на самцах беспородных белых лабораторных крыс возрастом один и три месяца. Неполную глобальную ишемию мозга моделировали 20-минутным наложением клипс на общие сонные артерии. В качестве системных показателей стресс-реактивности на шестые сутки ишемически-реперфузионного периода изучали содержание кортизола, пролактина, трийодтиронина, тетраiodтиронина в плазме крови, а церебральные проявления стресс-реактивности оценивали по интенсивности флуоресценции катехоламинов, содержанию продуктов пероксидного окисления липидов (диеновых конъюгатов, малонового альдегида), продуктов окислительной модификации белков (альдегидо- и кетонпроизводных нейтрального и основного характера), активности ферментов антиоксидантной защиты (супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы), показателям ограниченного тканевого фибринолиза и протеолиза в перегородке мозга, преоптической области, медиобазальном гипоталамусе и миндалевидном комплексе мозга.

Установлено, что в позднем постишемическом периоде у одномесячных крыс реакция гормональных показателей стресс-реактивности сохранена, а у трехмесячных – снижена, о чем свидетельствует повышение уровня пролактина и трийодтиронина у животных младшей возрастной группы и снижение уровня кортизола и трийодтиронина – в старшей.

В изученных лимбико-гипоталамических структурах мозга трехмесячных животных обнаружены более высокие конститутивные показатели интенсивности флуоресценции катехоламинов, содержания продуктов липопероксидации и активности большинства ферментов антиоксидантной защиты. Ишемически-реперфузионные повреждения мозга также вызывают более существенные нарушения функционального состояния катехоламинергических систем и прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза у животных старшей возрастной группы, что свидетельствует о взаимосвязи конститутивных и индуцибельных параметров функционирования данных систем. В то же время между конститутивными и индуцибельными показателями содержания продуктов окислительной модификации белков такая связь отсутствует.

Показано также, что обнаруженные изменения характеризуются структурными особенностями как в пределах каждой возрастной группы, так и при сравнении межвозрастных

параметров. По показателям интенсивности липопероксидации и активности антиоксидантных ферментов наиболее высокой чувствительностью к ишемически-реперфузионным повреждениям обладает перегородка мозга у животных обеих возрастных групп, преоптическая область и медиобазальный гипоталамус трехмесячных животных; по выраженности процессов окислительной модификации белков – перегородка мозга у одномесячных, преоптическая область и амигдала – у трехмесячных крыс. Более обширные постшемические нарушения фибринолитической активности также характерны для животных старшей возрастной группы, а изменения протеолитической активности не имели выраженных возрастных отличий.

Установлено, что влияние эмоксипина на патогенетические звенья ишемически-реперфузионного повреждения мозга также зависят от возраста животных. По степени воздействия на постшемические изменения интенсивности флуоресценции катехоламинов, активности антиоксидантных ферментов, фибрино- и протеолитической активности эмоксипин имеет более обширные и выраженные эффекты у животных младшей возрастной группы, а положительное влияние препарата касательно изменений окислительной модификации белков более существенно в структурах мозга трехмесячных крыс.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что механизмы стресс-реактивности, активирующиеся при ишемии мозга, у одномесячных крыс окончательно не сформированы и претерпевают дальнейшие онтогенетические изменения, а коррекция их нарушений должна производиться с учетом возраста животных.

Ключевые слова: неполная глобальная ишемия мозга, стресс-реактивность, лимбико-гипоталамические структуры, возрастные особенности.

ANNOTATION

Tymofiiichuk I. R. Age-related specific characteristics of ischemic-reperfusing reorganization of the catecholaminergic systems of the brain limbico-hypothalamic structures and stress-reactivity in male rats. – Manuscript.

The thesis for obtaining the academic degree of a Candidate of Medical Sciences in speciality 14.03.04 – Pathologic Physiology. – I. Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University of Ukraine's ТНР, Ternopil, 2006.

The dissertation presents the findings of investigating the hormonal, neurochemical parameters of the functional state of the system of stress-realization and stress-limitation in one- and three month old male rats with incomplete global cerebral ischemia and effect exerted on these parameters by the Emoxipin remedy.

It has been established that at a later stage of the postischemic period the reaction of the hormonal indices of stress-reactivity is preserved, whereas in three month old animals there occurs its exhaustion.

The age-related peculiarities of the cerebral manifestation of stress-reactivity consist in a more considerable decrease in the limbico-hypothalamic cerebral structures of three-month old rats of the catecholamine fluorescence intensity, the most essential disturbances of the indices of lipid peroxidation and antioxidant defense, as well as in the most extensive structural changes of the content of the oxidative modification of proteins and the parameters of the fibrinolytic activity.

It has been ascertained that the effect of Emoxipin on the pathogenetic components of the ischemic-reperfusing damage of the brain also depends on the age of animals. Emoxipin exerts more extensive and considerable effects in animals of the junior year class as to its influence on postischemic changes of the fluorescence intensity of catecholamines, whereas a positive influence of the medication, concerning changes of the oxidative modification of proteins, predominates in the brain structures of three-month old rats.

The obtained findings are indicative that the mechanisms of stress-reactivity, activated under conditions of cerebral ischemia in one month old rats, are not completely formed and undergo further ontogenetic changes and a correction of their disturbances requires taking into consideration the age of animals.

Key words: incomplete global cerebral ischemia, stress-reactivity, limbico-hypothalamic structures, age-related peculiarities.