

Міністерство охорони здоров'я України
Буковинський державний медичний університет

На правах рукопису

Ткачук Олексій Володимирович

УДК – 616.45 – 001.1/.3 – 092.001.6

**ПАТОГЕНЕТИЧНІ ОСНОВИ НЕЙРОХІМІЧНОЇ ТА
ІМУНОЛОГІЧНОЇ ДИЗРЕГУЛЯЦІЇ В САМЦІВ ЩУРІВ ІЗ
СИНДРОМОМ ПРЕНАТАЛЬНОГО СТРЕСУ**

14.03.04 – патологічна фізіологія

Дисертація
на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Науковий керівник
Мислицький Валентин Францович,
доктор біологічних наук, професор

Чернівці - 2005

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	4
ВСТУП.....	5
Розділ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙРОІМУНОЕНДОКРИННИХ ВЗАЄМОВІДНОСИН У КОНТРОЛЬНИХ ТА ПРЕНАТАЛЬНО СТРЕСОВАНИХ ТВАРИН	13
1.1. Нейроендокринний контроль морфо-функціонального стану тимуса.....	13
1.2. Нейроендокринні передумови дизрегуляції імунного статусу при синдромі пренатального стресу.....	28
Розділ 2. МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	39
2.1. Обґрунтування принципу відбору тварин за віком та статтю.....	39
2.2. Формування експериментальних груп за реактивністю тварин.....	40
2.3. Модель іммобілізаційного стресу та пренатального стрес-синдрому.....	41
2.4. Обґрунтування вибору структур для дослідження.....	41
2.5. Характеристика біологічної активності Т-активіну.....	42
2.6. Евтаназія тварин, спосіб забору та зберігання досліджу- ваного матеріалу.....	43
2.7. Вивчення структури лімфоїдної популяції вилочкової залози, морфометричних та денситометричних характеристик лімфоїдних клітин.....	44
2.8. Імуноферментні дослідження.....	45
2.9. Гістохімічне визначення моноамінів.....	46
2.10. Визначення продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активності ферментів антиоксидантного захисту.....	46
2.11. Визначення обмеженого тканинного фібринолізу та протеолізу.....	48

2.12. Статистична обробка цифрового матеріалу.....	48
Розділ 3. ДЕЯКІ ІМУНОФЕРМЕНТНІ, ГІСТОХІМІЧНІ ТА БІОХІМІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ТИМУСА У ТВАРИН З ПРЕНАТАЛЬНИМ СТРЕС-СИНДРОМОМ.....	50
3.1. Модифікація вмісту циклічних нуклеотидів у виличковій залозі самців-щурів пренатальними стресорними впливами.....	50
3.2. Вплив іммобілізаційного стресу на функціональний стан катехоламінвмісних структур тимуса контрольних та пренатально стресованих самців щурів.....	52
3.3. Вплив іммобілізаційного стресу на процеси ліпоперок- сидації та антиоксидантного захисту у виличковій залозі щурів	56
Розділ 4. ВПЛИВ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ НА МОРФО- ФУНКЦІОНАЛЬНУ ОРГАНІЗАЦІЮ ЛІМФОЇДНОЇ ПОПУ- ЛЯЦІЇ ТИМУСА У КОНТРОЛЬНИХ ТА ПРЕНАТАЛЬНО СТРЕСОВАНИХ ТВАРИН.....	63
Розділ 5. ДЕЯКІ АСПЕКТИ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ ВЗАЄМОДІЇ ТИМУСА ТА НЕЙРОХІМІЧНИХ, НЕЙРОПЕПТИДНИХ СИСТЕМ МОЗКУ Й ПОКАЗНИКІВ ЕНДОКРИННОГО СТАТУСА В КОНТРОЛЬНИХ ТА ПРЕНАТАЛЬНО СТРЕСОВАНИХ ТВАРИН.....	101
Розділ 6. ВПЛИВ ТИМІЧНИХ ПЕПТИДІВ НА СТАН ФІБРИНО- ТА ПРОТЕОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ В СТРУКТУРАХ МОЗКУ	108
Розділ 7. АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	117
ВИСНОВКИ.....	151
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	154
ДОДАТКИ.....	189

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АКТГ	адренокортикотропний гормон (кортикотропін)
ВІП	вазоінтестинальний пептид
ВКГС	великий комплекс гістосумісності
ГР	гормон росту (соматотропний гормон)
ЕЦМ	екстрацелюлярний матрикс
ІІ	інтерлейкін
ІРФ-1	інсуліноподібний фактор росту-1
ПОМК	проопіомеланокортин
ПРЛ	пролактин
T ₃	трийодтиронін
T ₄	тетрайодтиронін
ТЕК	тимічні епітеліальні клітини
ТТГ	тиротропін

ВСТУП

Останнє десятиліття ознаменувалося зростанням інтересу до вивчення ролі імунних процесів у центральних механізмах регуляції фізіологічних функцій в нормі та при різноманітних патологічних станах. Пояснюється це тим, що імунологічна недостатність є постійним супутником багатьох негативних впливів на організм, тобто, неспецифічного адаптаційного синдрому [10]. В основі адекватної реакції нейроімуноендокринної системи на різноманітні впливи лежать двосторонні зв'язки між окремими її ланками [5, 6, 190]. Вони здійснюються шляхом впливу системних гормонів на клітини імунної системи, тоді як цитокіни, які секретуються імунокомпетентними клітинами, беруть участь у регуляції різноманітних нейроендокринних функцій [44, 214, 254]. Різноманітні інтерлейкіни та рецептори до них знайдено в гіпоталамусі, гіпокампі, перегородці, стріатумі, корі мозку, таламусі, мозочку та ін. [1,241]. Надзвичайної уваги заслуговують ефекти інтерлейкінів на нейромедіаторні та нейропептидні системи мозку, які є провідними в нейроімунній інтеграції [244].

Накопичено факти, котрі свідчать про безпосередню участь імунних медіаторів у розвитку центральних механізмів стрес-реакції [325]. Є цілий ряд робіт, які демонструють односпрямований вплив інтерлейкінів і стресу на нейрогормональні та поведінкові реакції [54, 66, 108].

Актуальність теми. Особлива роль у реалізації нейроімуноендокринних взаємодій належить тимусу, котрий будучи центральним органом імунної системи, у той самий час є й ендокринним органом, який синтезує низку біологічно активних речовин пептидної природи. Тимічні фактори мають суттєвий вплив на нейроендокринні функції [200]. Про це свідчать ті факти, що відсутність тимуса чи неонатальна тимектомія стають причиною дегенеративних змін у гіпофізі, наднирниках, щитоподібній та статевих залозах, а також зниження рівня АКТГ, кортикостероїдів, β -ендорфіну в плазмі крові тварин [267, 303].

Участь нейроендокринних чинників у регуляції функцій системи імунітету, зокрема тимуса, не менш значна [296, 322]. Особливо виражений вплив на функціональний стан імунокомпетентних клітин мають гормони гіпоталамо-гіпофізарно-адреналової системи [302]. АКТГ у низьких дозах стимулює імунні реакції, модулюючи функції Т- та В-лімфоцитів, макрофагів, а у високих – пригнічує антитілоутворення, продукцію Т-клітинами цитокінів [173].

Якщо постстресорні нейроімуноендокринні зміни у дорослому організмі є оборотними, то наслідки дії стресу впродовж ранніх періодів індивідуального розвитку, як правило, довготривалі, а деякі з них носять необоротний характер [95, 99, 101,]. Саме тому серед стрес-обумовлених патологій синдром пренатального стресу, який розвивається в потомків при дії стресорів на організм вагітної самки, займає особливе місце.

Дані літератури про порушення імунного статусу в людей і тварин із синдромом пренатального стресу в даний час практично не виходить за межі констатації різних їх проявів [53, 87, 283]. Разом з тим, численні нейрохімічні та ендокринні модифікації, які лежать в основі виникнення даного синдрому, неминуче повинні спричиняти дизрегуляцію імунних процесів. Важливими аргументами на користь можливості імпринтингових порушень функціонування тимуса є його пренатальна реактивність до дії різноманітних чинників середовища, екзогенних глюкокортикоїдів і деяких інших гормонів [199], а також здатність до експресії їх рецепторів [238, 245, 270, 335].

Адекватна корекція нейроімуноендокринних порушень, з урахуванням змін у всіх ланках системи, можлива лише за умов розуміння патогенезу їх виникнення. Тому ми вважаємо дослідження особливостей нейроімуноендокринної взаємодії у тварин із синдромом пренатального стресу актуальним і своєчасним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана в Буковинському державному медичному університеті та є

фрагментом планової міжкафедральної фундаментальної 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 01049U009029). У рамках даної тематики автором досліджено механізми імунологічної дизрегуляції в самців щурів із синдромом пренатального стресу. Тема дисертації затверджена Проблемною комісією "Патологічна фізіологія та імунологія" 20 лютого 2003 року (протокол № 25).

Мета дослідження. Дослідити вплив пренатального стресу на окремі механізми нейроімуноендокринних взаємовідносин.

Задачі дослідження:

1. Вивчити вплив пренатального стресу на вміст циклічних нуклеотидів у структурно-функціональних зонах вилочкової залози.
2. З'ясувати реакцію катехоламінвмісних структур тимуса на гострий та хронічний іммобілізаційний стрес у контрольних та пренатально стресованих щурів.
3. Дослідити вплив пренатального стресу на показники пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у структурно-функціональних зонах тимуса та їх реактивність до дії хронічного іммобілізаційного стресу.
4. Вивчити вплив пренатального стресу на структуру лімфоїдної популяції тимуса, морфометричні та денситометричні характеристики тимоцитів та чутливість цих показників до дії хронічного іммобілізаційного стресу.
5. Дослідити вміст β -ендорфіну та серотоніну в лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку й рівні тиреотропного гормону, тироксину,

трийодтироніну та пролактину в плазмі крові контрольних та пренатально стресованих щурів після хронічного уведення Т-активіну.

б. З'ясувати реактивність показників тканинного фібринолізу та протеолізу в лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку контрольних і пренатально стресованих щурів до хронічного уведення Т-активіну.

Об'єкт дослідження: механізми нейроімуноендокринної взаємодії.

Предмет дослідження: вплив іммобілізаційного стресу на інтенсивність флуоресценції моноамінів, прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз, структуру лімфоїдної популяції тимуса та реактивність β -ендорфін- і серотонінергічної систем, протео- та фібринолітичної активності лімбіко-гіпоталамічних структур мозку, гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдної системи, пролактину до уведення Т-активіну в щурів із пренатальним стрес-синдромом.

Методи дослідження: для реалізації задач дослідження використано наступні методи:

- імуноферментний (визначення вмісту тиреотропного гормону, тетраодтироніну, трийодтироніну, пролактину серотоніну, β -ендорфіну цАМФ, цГМФ);
- гістохімічний (визначення інтенсивності флуоресценції катехоламінів);
- біохімічні (визначення вмісту дієнових кон'югатів, малонового альдегіду, активності супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази, інтенсивності тканинного сумарного, неферментативного, ферментативного лізису азофібрину, протеолітичної деградації низько-, високомолекулярних білків та колагену);
- морфологічні й морфометричні (вивчення структури лімфоїдної популяції зон вилочкової залози, морфометричних і денситометричних характеристик тимоцитів); математичні (варіаційний, методи математичного класифікаційного аналізу).

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше:

- отримано дані щодо здатності пренатального стресу впливати на онтогенез цАМФ та цГМФ у тимусі щурів і показано диференціальну структурну чутливість різних зон залози до дії пренатального стресу за даними показниками.

- встановлено, що гострий іммобілізаційний стрес стимулює реактивність катехоламінвмісних структур тимуса контрольних та пренатально стресованих тварин із більш слабкою реакцією амінопоглиначів у останніх, а хронічна іммобілізація виснажує катехоламіновий резерв залози, особливо в глибокій кортикальній зоні дослідних тварин.

- доведено, що пренатальний стрес модифікує конститутивні та стрес-індуковані показники прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в тимусі, переводячи його на інший, здебільшого нижчий рівень функціонування.

- Показано, що пренатальний стрес призводить до перерозподілу загальної щільності клітин лімфоїдної популяції, а також окремих субпопуляцій тимоцитів у межах структурно-функціональних зон тимуса, та модифікує реактивність деяких показників морфо-функціонального стану залози до дії хронічного іммобілізаційного стресу.

- виявлено, що екзогенні тимічні пептиди впливають на вміст β -ендорфіну в окремих лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку контрольних тварин за принципом негативного або позитивного зворотного зв'язку (залежно від структури), а пренатальний стрес обмежує ці впливи мигдалеподібним комплексом.

- продемонстровано пригнічувальний вплив тимічних пептидів на вміст серотоніну у всіх досліджених структурах та порушення цих зв'язків під впливом пренатального стресу.

- показано здатність пренатального стресу модифікувати вплив Т-активіну на функціонування гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдної системи та секрецію пролактину.

- встановлено модифікуючий вплив пренатального стресу на окремі конститутивні та стрес-індуковані показники фібрино- й протеолітичної активності в досліджених структурах мозку.

Практичне значення одержаних результатів. Робота належить до фундаментальних досліджень. Отримані експериментальні дані розширюють і поглиблюють існуючі уявлення про патогенез розвитку пренатального стрес-синдрому. Виявлені механізми нейроімуноендокринної взаємодії в стані функціонального спокою і при дії іммобілізаційного стресу чи навантаженні тимічними пептидами та їх порушення при синдромі пренатального стресу сприяють більш глибокому розумінню причин виникнення хвороб адаптації.

Результати роботи можуть також враховуватися при створенні критеріїв ризику виникнення дизрегуляторних патологій у нащадків чоловічої статі, матері яких виношували вагітність у несприятливих умовах і при розробці засобів корекції та профілактики нейроімуноендокринних порушень.

Отримані дані можуть бути корисними при викладанні нормальної і патологічної фізіології, нервових хвороб, медичної хімії, у роботі лабораторій науково-дослідних інститутів із відповідними науковими напрямами, при написанні підручників та монографій із зазначених галузей медицини.

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

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно підібрана та проаналізована література з проблеми дослідження, виконано всі

експериментальні втручання на тваринах, проведена статистична обробка отриманих результатів, написання розділів дисертаційної роботи та публікацій, сумісно з керівником сформульовано основні положення та висновки.

За безпосередньою участю дисертанта виконано біохімічні та імуноферментні дослідження.

Вивчення структури лімфоїдної популяції тимуса і морфометричних характеристик тимоцитів виконано на базі кафедри патофізіології Запорізького державного медичного університету. За надану можливість виконати дане дослідження й сприяння в роботі автор висловлює щире подяку ректору Запорізького державного медичного університету, завідувачу кафедри патофізіології проф. Ю.М.Колесніку.

У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та узагальнення одержаних даних, підготовка матеріалу до друку. У тій частині актів впровадження, що стосуються науково-практичної новизни, викладено фактичний матеріал автора.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертації оприлюднено та обговорено на: Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій пам'яті проф. Шостаковської І.В. (Львів, 2002), VI з'їзді Всеукраїнського лікарського товариства (Чернівці, 2001), Міжнародній науково-практичній конференції "Екологічні проблеми міст і промислових зон: шляхи їх вирішення" (Львів, 2003), науково-практичній конференції з міжнародною участю "Фізіологія регуляторних систем", присвяченій 90-й річниці з дня народження проф. Я.Д.Кіршенבלата (Чернівці, 2003), Всеросійських конференціях з міжнародною участю "Нейроендокринологія - 2003" та "Нейроендокринологія - 2004" (Санкт-Петербург, 2003, 2004), IV Національному Конгресі патофізіологів України з міжнародною участю (Чернівці, 2004), 58-й та 59-й науково-практичних конференціях студентів та

молодих вчених Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця з міжнародною участю (Київ, 2003, 2005), 84-й, 85-й підсумкових конференціях професорсько-викладацького складу БДМУ.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 21 наукову роботу, з них 9 статей у фахових наукових журналах, 12 – в матеріалах і тезах конференцій.

РОЗДІЛ 1

ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙРОІМУНОЕНДОКРИННИХ ВЗАЄМОВІДНОСИН У КОНТРОЛЬНИХ ТА ПРЕНАТАЛЬНО СТРЕСОВАНИХ ТВАРИН

1.1. Нейроендокринний контроль морфо-функціонального стану тимуса

Наукові доробки останнього десятиліття не залишають сумніву в тому, що розвиток захисних реакцій організму здійснюється при взаємодії нейроендокринної та імунної систем. Для реалізації їх взаємозв'язків використовуються фізіологічні інтра- та інтерсистемні комунікації, які відіграють важливу роль у підтриманні гомеостазу. Зростає кількість фактів на користь того, що гормони, нейромедіатори та нейропептиди є потужними імуномодуляторами, які беруть участь у різних аспектах функціонування імунної системи як в нормі, так і при патології [165, 256]. З іншого боку, цитокіни, що продукуються імунними клітинами, впливають на функціональну активність нейроендокринної системи [313]. Двосторонність регуляторних взаємодій пояснює поєднаний характер патології цих інтегративних систем, незалежно від локалізації первинного виникнення патологічного процесу. Тому вивчення механізмів імуноендокринної регуляції залишається актуальною задачею.

Оскільки наші експериментальні дослідження присвячені взаємовідносинам нейроендокринної системи та тимуса, при огляді літератури ми зосредили увагу саме на цій ланці імунної системи.

Тимус є центральним лімфоїдним органом, в якому відбуваються комплексні процеси дозрівання попередників Т-клітин із кісткового мозку з подальшою міграцією лімфоцитів, які пройшли позитивну селекцію, в периферійні лімфоїдні органи – селезінку, лімфовузли, Пейєрові бляшки, мигдалики [295]. Процеси диференціації включають послідовну експресію

різноманітних мембранних маркерів та генів рецепторів Т-клітин.

Величезна кількість взаємодіючих факторів контролює процеси диференціації тимоцитів на всіх етапах, починаючи з надходження Т-попередників до тимуса й до виходу зрілих клітин з органа [67].

На процеси диференціації/міграції клітин впливає тимічне мікрооточення. Тимічні епітеліальні клітини (ТЕК) та дендритні клітини (ДК) продукують ІЛ-1 [216]. Тимічний епітелій продукує різні цитокіни, наприклад, ІЛ-3, ІЛ-6, ІЛ-7, ІЛ-8, гранулоцит-колонієстимулювальний фактор, гранулоцит-макрофаг-колонієстимулювальний фактор, трансформуючий фактор росту β , фактор, що інгібує лейкемію, фактор стовбурових клітин [305]. Особливо важливим для диференціації тимоцитів є ІЛ-7 [108].

Крім продукції цитокінів, ТЕК секретують гормони – тимозин $\alpha 1$, тимопоетин, тимулін, котрі також контролюють загальні процеси дозрівання тимоцитів [234, 175, 226].

Під нейроендокринним контролем знаходяться й мембранні зв'язки між тимоцитами та клітинами мікрооточення.

Гормони та нейропептиди впливають на експресію тимічними клітинами мікрооточення генів великого комплексу гістосумісності (ВКГС). Наприклад, лейкоцити периферійної крові людини в присутності культури суміші лімфоцитів мали значно вищий рівень проліферації та цитотоксичності (у 4-7 разів) за умов наявності гормону росту (ГР) [171]. Це узгоджується з даними автора, що в дітей після трансплантації нирки ГР погіршував функцію алотрансплантата. Інші факти (посилення цитокін-індукованої *up*-регуляції експресії молекул ВКГС класу I та II [251], секреції інтерферону- γ та ін. [171, 250]) дозволили зробити заключення, що опосередкований вплив ВКГС на диференціацію тимоцитів може модулюватися флюктуаціями ГР.

Ще більш очевидним є ефект глюкокортикоїдних гормонів [277, 298, 299]. Тимічні дендритні клітини, оброблені дексаметазоном, *in vitro*

проявляли суттєве посилення мембранної експресії молекул ВКГС I класу.

Отже, експресія ВКГС тимічним мікрооточенням знаходиться під впливом гормональної регуляції.

Взаємозв'язки між тимічними епітеліальними клітинами та тимоцитами, опосередковані екстрацелюлярним матриксом (ЕЦМ), також модулюються гормонами. Показано, що інтратимічна продукція протеїнів ЕЦМ (фібронектину, ламініну та колагену IV типу) *in vivo* після ін'єкції гідрокортизону зростає як у кортикальних, так і в медулярних зонах тимічних часточок мишей уже через 24 год [232, 254]. Уважають, що вплив гідрокортизону реалізується прямою активацією тимічного епітелію. Подібні ефекти мали статеві стероїди [222].

Тривале (30-денне) введення T_3 мишам також приводило до змін інтратимічного розподілу профілю білків ЕЦМ із підвищенням товщини їх фібрил, особливо в кортикальній зоні тимічних часточок [280]. Подібний результат спостерігали *in vitro* в тих випадках, коли різні культури ТЕК піддавали впливам ПРЛ, гормону росту або ІРФ-1 [192]. При цьому мало місце посилене утворення не лише фібронектину чи ламініну, але й експресія їх відповідних рецепторів.

Частковий контроль глюкокортикоїдами, тироксином, гіпофізарними гормонами адгезії тимоцитів та ТЕК показала їх здатність модулювати ці гетеротипічні клітинні взаємозв'язки. Всі ці гормони підвищували ступінь адгезії тимоцитів до культури ТЕК [192].

Є багато досліджень, які свідчать, що під гормональним контролем знаходяться також щілинні контакти, які здійснюють зв'язки між суміжними тимічними епітеліальними клітинами. Послаблення клітинних зв'язків між сусідніми ТЕК мало місце, коли культура оброблялася статевими гормонами – тестостероном, естрогенами та прогестероном, а також АКТГ, ГР і нейропептидами кальцитоніном і субстанцією У [228, 268]. Навпаки, посилення зв'язків між ТЕК-клітинами спостерігалось, коли культуру обробляли глюкокортикоїдами [219].

Крім дії на мембранні взаємозв'язки, гормони та нейропептиди можуть модулювати продукцію цитокінів і гормонів клітинами мікрооточення тимуса та тимоцитами.

Екзогенний ІЛ1 β підвищує продукцію цитокінів і гормонів культурою клітин тимічного мікрооточення людини, а гідрокортизон здійснює селективний блок пізніх ефектів цих факторів [232]. Продукція неепітеліальними тимічними клітинами мікрооточення ІЛ1 α та ІЛ-1 β *in vitro* підвищується екзогенними ГР та ПРЛ [321]. Секреція ІЛ-6 також зазнає підвищення цими гормонами, однак цей ефект відмінюється застосуванням антагоністів рецепторів ІЛ-1. Це означає, що гормональний вплив на секрецію клітинами мікрооточення ІЛ-6, принаймні частково, опосередковується через продукцію ІЛ-1. Автокринний/паракринний контроль продукції цитокінів тимічним мікрооточенням здійснюється також нейропептидами, які секретуються ТЕК [258].

Продукція цитокінів тимоцитами теж знаходиться під впливом нейроендокринних чинників [92]. Наприклад, тимоцити старіючих тварин, які отримували ГР, посилювали продукцію ІЛ-6 та викликану конкаваліном-А мітогенну відповідь, а ПРЛ індукував продукцію тимоцитами ІЛ-2 [309]. Вазопресин може посилювати роль інтерферону- γ в запуску продукції ІЛ-2, а субстанція Р стимулює синтез ІЛ-2 тимічною лімфоною мишачих клітин [179]. Навпаки, ВІП, РАСАР27 і РАСАР 38 мають пригнічувальний вплив на продукцію деяких цитокінів, похідних тимоцитів, включаючи ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-10 [194, 218]. Сукупність цих даних демонструє роль гормон-нейропептидного балансу в контролі продукції цитокінів тимоцитами.

Не викликає сумніву той факт, що секреція тимічних гормонів також знаходиться під нейроендокринним контролем. Було показано, що введення Т₃ *in vivo* підвищує секрецію тимуліну тимічними епітеліальними клітинами мишей, а при введенні інгібітора синтезу тиреоїдних гормонів мав місце протилежний ефект [280]. Ці результати узгоджуються з даними інших дослідників [288]. У старих мишей ін'єкція Т₄ також підвищувала плазмовий

рівень тимуліну. У пацієнтів з гіпертиреозом рівень циркулюючого тимуліну підвищений, а при гіпотиреозі має місце протилежний ефект. В обох випадках корегуюча терапія повертає рівень тимуліну до норми [200, 280]. Експерименти з використанням ТЕК-культури показали, що ефекти тиреоїдних гормонів на секрецію тимуліну викликані прямою дією гормонів на епітеліальні клітини і залежать від синтезу тимуліну *de novo* [267].

Гіпофізарні гормони також здійснюють *up*-регуляцію секреції тимічних гормонів. Експериментальна гіперпролактинемія підвищує рівень тимуліну в молодих та старих тварин, а пригнічення біосинтезу ПРЛ дає дозозалежне зниження його продукції [267]. Експериментальні результати узгоджуються з клінічними спостереженнями - в пацієнтів з гіперпролактинемією мають місце ненормально високі рівні тимуліну [178, 261, 330].

Флюктуації рівня ГР також модулюють секрецію тимуліну [267, 302]. Гіпофізектомія викликає глибоке, але транзиторне зниження плазмового рівня тимічних гормонів у щурів [309]. Дефіцит ГР в дітей супроводжується низьким рівнем тимуліну, а лікування гормоном росту значною мірою відновлює тимічну ендокринну функцію вже через 24 год після ін'єкції [302]. Більше того, призначення ГР індукує підвищення плазмового рівня тимуліну, яке корелює з плазмовим рівнем циркулюючого ІРФ-1. У пацієнтів з акромегалією високі титри тимуліну також корелюють із високим плазмовим рівнем ІРФ-1 [320].

Стимулювальні ефекти ПРЛ та ГР на секрецію тимічних гормонів культурою ТЕК відмінялися відповідними антигормональними антитілами [191]. *In vitro* ефекти ГР попереджалися антитілами проти ІРФ-1 чи його рецепторів, що дозволяє вважати цей фактор медіатором ефектів ГР на ТЕК. Це підтвердилося тим, що антитіла до ІРФ-1 та його рецепторів також блокували залежне від ГР посилення адгезії ТЕК та тимоцитів

β -ендорфін та Leu-енкефалін також можуть підвищувати секрецію тимуліну культурою ТЕК [240, 296].

Стероїдні гормони мають переважно комплексний механізм дії на

продукцію тимічних гормонів, із можливим залученням інших біологічних контурів регуляції [14].

При вивченні впливу стероїдних гормонів на культуру ТЕК людини та миші було показано, що фізіологічні концентрації ГК, естрадіолу, прогестерону, тестостерону підвищують секрецію тимічних гормонів у супернатанті. Цей ефект відмінявся одночасною інкубацією ТЕК із певним гормоном та специфічним антагоністом його рецепторів [209].

Таким чином, загальний контроль секреції тимічних гормонів є комплексним, він включає декілька гормонів, які визначають загальний баланс секреції на даний момент.

Концепція двосторонніх зв'язків між нейроендокринною та імунною системами підтверджується тим, що тимічні гормони модулюють продукцію гормонів і нейропептидів гіпоталамо-гіпофізарними осями та деякими їх ендокринними залозами-мішенями [203].

Перші дослідження цього спрямування показали, що тимектомія сприяє атрофії статевих органів [34]. Є дані, що продукція статевих стероїдів підвищується *in vivo* та *in vitro* тимуліном [267].

Тимектомія при народженні спричиняє також зниження числа секреторних гранул в ацидофільних клітинах аденогіпофіза [312]. Це узгоджується з тим, що в атимічних мишей *nude* значно знижений рівень різних гормонів гіпофіза, включаючи ПРЛ, ГР, ФСГ [176, 189].

Було показано, що тимозин- β 4 стимулює секрецію ЛГ та РГЛГ *in vivo* та *in vitro* [14, 227]. Інші пептидні компоненти тимозину також підвищували продукцію ПРЛ та ГР [185]. Призначення тимопоетину дітям підвищувало плазмові рівні ГР та кортизолу, а його синтетичний аналог тимопентин стимулював продукцію дериватів проопіомеланокортину (ПОМК) – АКТГ, β -ендорфіну, β -ліпотропіну [242, 267]. При перфузії гіпофізів щурів тимуліном підвищувалося виділення ГР, ПРЛ, ТТГ [309]. Стосовно ГР було показано залежний від віку, знижений у старіючих тварин ефект тимуліну [177]. Інший гормон тимуса, тимозин- α 1, здійснював down-регуляцію секреції ТТГ, АКТГ,

ПРЛ *in vivo*, а ефект на секрецію ГР не виявлявся [227, 262]. Цей пригнічувальний ефект здійснювався через гіпоталамічні шляхи, оскільки продукція відповідних рилізінг-гормонів гіпоталамічними нейронами також була зниженою після обробки фрагментів медіобазального гіпоталамуса тимозином- $\alpha 1$.

Крім впливу на гіпоталамо-гіпофізарні системи, тимічні гормони можуть діяти прямо на їх залози-мішені. Експерименти показали, що тимулін може прямо модулювати структуру гонад. Проліферація оогоній з фетальних яєчників щура та гоноцитів із фетальних сім'яників суттєво підвищувалася в присутності тимуліну [284]. Стосовно гермінативних клітин такої культури самців, тимулін-індукований проліферативний ефект значною мірою попереджався ТФР- $\beta 1$.

В інших експериментах ін'єкція тимуліну мишам підвищувала рівень циркулюючого прогестерону [205], а також рівень тестостерону *in vivo* та *in vitro* [332].

Тимулін також може модулювати периферійні сенсорні функції, наприклад, больову. Високі дози тимуліну суттєво знижують гіпералгію [300].

Під гормональним впливом знаходиться й проліферація тимічних клітин. Гіпофізарні гормони – ПРЛ, ГР, а також ІРФ-1 значно посилюють проліферацію ТЕК *in vitro* [178], а соматостатин є потужним блокатором проліферації культури ТЕК [141].

Є дані про послаблення проліферації щурячих ТЕК після обробки прогестероном, естрогенами чи андрогенами [67, 206]. Подібний пригнічувальний ефект показано для кортизолу [287, 288].

Метапрокламід, який викликає гіперпролактинемію, підвищує число епітеліальних острівців у тимусі дорослих щурів. Наведено також морфометричні докази того, що тиреоїдні гормони можуть індукувати проліферацію ТЕК [13]. Ріст ТЕК може знаходитися під контролем і власне тимічних гормонів. Наприклад, тимопентин індукує синтез ДНК в лініях

людських ТЕК [225].

Гормони та нейропептиди модулюють проліферацію не лише ТЕК, але й тимоцитів.

Проліферація тимоцитів *in vitro* може стимулюватися супернатантом культури ТЕК, відмінитися антитимуліновими моноклональними антитілами та посилюватися тироксином. У той же час, прямого ефекту тироксин на проліферацію тимоцитів не має [267, 237]. Подібні проліферативні ефекти мали місце за умов присутності в супернатанті ТЕК ПРЛ чи ГР [207, 208]. Більше того, ГР є синергістом антиCD3 у його стимулювальних ефектах на проліферацію тимоцитів [223, 224]. Це узгоджується з даними, що в трансгенних мишей з суперекспресією ГР чи його ліберину спостерігається надмірний ріст тимуса, а проліферація тимоцитів, індукована ГР, опосередковується ІРФ-1 [194]. Інші роботи демонструють, що ІРФ-1 сам має здатність підвищувати загальну кількість тимоцитів [231]. Цікаво, що ін'єкція цього фактора росту щурам після отримання ними дексаметазону прискорює відновлення $CD4^+CD8^+$ клітин тимуса, які вважаються основними мішенями глюкокортикоїдів. Посилюючий вплив на проліферацію тимічних клітин з боку ГР/ІРФ-1 дістав клінічне підтвердження - в пацієнтів з акромегалією (значним підвищенням цих чинників), має місце гіперплазія тимуса. Ін'єкція старим щурам клітин гіпофізарної аденоми, яка продукує ГР та ПРЛ, викликає реверсію залежної від віку атрофії тимуса зі значним підвищенням кількості тимоцитів. Подібні результати досягалися ін'єкціями ІРФ-1 [267].

Тироксин та синтетичний ТТГ також значно посилюють проліферацію тимічних клітин [46]. У самок щурів, які отримували агоніст ЛГРГ, відбувалося значне підвищення маси тимуса [14]. Підвищували масу тимуса та кількість клітин ін'єкції мишам мет-енкефаліну [254]. Стимулювальний ефект цього опіюда на проліферацію тимоцитів пізніше був показаний також у дослідах *in vitro*.

Деякі гормони, наприклад, статеві стероїди, мають пригнічувальний

вплив на проліферацію тимоцитів [167]. Кастрація молодих мишей самців спричиняє швидке посилення проліферації *in vivo*, особливо кортикальних клітин з незрілим фенотипом $CD4^- CD8^-$ та $CD4^+ CD8^+$ [14, 302]. Це відповідає даним про те, що кастрація старих щурів приводить до зростання маси тимуса. Цей ефект відміняється при замісній терапії кастрованих тварин андрогенами.

Всі ці факти свідчать, що окремі гормони та нейропептиди можуть здійснювати позитивний чи негативний вплив на проліферацію тимоцитів.

Існують переконливі докази, того що інтратимічна диференціація Т-клітин також модифікується гормонами.

Показано, що імплантація гіпофізарних клітин GH3 старіючим щурам підвищує загальну кількість тимоцитів та відсоток $CD3^-$ клітин з паралельним зниженням $CD4^- CD8^-$ -бінегативних тимоцитів, котрі в нормі акумулюються в старіючому тимусі [220]. Роль ГР в розвитку тимуса була підтверджена дослідженнями на карликових мишах з дефіцитом гормону росту. На додаток до передчасного зниження рівня тимуліну в плазмі, у них мала місце також прогресуюча гіпоплазія тимуса зі зниженням числа $CD4^+ CD8^+$ -біпозитивних тимоцитів. Цей дефект долався тривалим лікуванням гормоном росту [302].

Ін'єкція тироксину спричиняє підвищення відносної та абсолютної кількості $CD44^-$ тимоцитів, а високі дози глюкокортикоїдних гормонів навпаки, призводять до значного зниження відсотку $CD4^+ CD8^+$ - тимоцитів з відповідним підвищенням $CD4^- CD8^-$, $CD4^- CD8^+$ та $CD4^+ CD8^-$ [220]. Введення мишам естрадіолу також викликає виснаження абсолютного числа $CD4^+ CD8^+$, $CD4^- CD8^+$ та $CD4^+ CD8^-$ тимоцитів зі зниженням пропорції біпозитивних клітин та зростання відсотку бі- та монопозитивних зрілих клітин [325]. Виражене зниження за цих умов дуже незрілих $CD3^- CD4^- CD8^-$ клітин показано також іншими авторами. Цікаво, що естроген-індукована інволюція тимуса може відбуватися й без глюкокортикоїдів - вона має місце в адреналектомованих тварин [221].

Інтратимічний ПРЛ може скеровувати напрямки диференціації Т-

клітин [230, 233, 264]. Інтратимічна продукція глюкокортикоїдів також впливає на генерацію різновидів Т-клітин тимуса шляхом модуляції позитивної та негативної селекції тимоцитів [216].

Накопичено достатню кількість даних про те, апоптоз тимоцитів здійснюється за участю гормонів. Добре вивчені в цьому відношенні ефекти глюкокортикоїдів [270].

Статеві стероїди також впливають на апоптоз тимоцитів. Наприклад, введення щурам естрадіолу спричиняє виснаження кортикальних тимоцитів з посиленням апоптозу та зниженням мітотичного індексу [259]. Досліди на мишах показали, що естрогени спричиняють суттєву редукцію розмірів тимуса та кількості клітин. Спостерігалася редукція всіх похідних CD4/CD8, особливо CD4⁺CD8⁺ біпозитивних клітин. Показано також значне зниження прогресивного розвитку ранніх попередників Т-клітин [201, 294].

Природним станом для вивчення впливу статевих стероїдів на апоптоз тимоцитів є вагітність, протягом якої тимус зазнає прогресивної та вираженої інволюції зі зниженням CD4⁺CD8⁺ клітин, частково шляхом апоптозу. Цікаво, що ця прогресивна атрофія тимуса вагітних зворотно корелює з рівнем циркулюючого прогестерону [184]. У цей процес втягнуті також інші гормони – гіпофізарні та глюкокортикоїдні.

Андрогени, такі як тестостерон, також індукують загибель тимоцитів *in vivo* [14, 249]. Так як рівень мРНК андрогенних рецепторів у 6 разів вищий на ТЕК, ніж на тимоцитах, це означає, що індукція апоптозу тимоцитів андрогенами опосередковується дериватами ТЕК. Прискорення апоптозу тимоцитів андрогенами було показано *in vitro* при використанні органної культури тимуса [166].

Під нейроендокринним контролем знаходяться також захисні антиапоптотичні механізми. Наприклад, дигідроепіандростерон протидіє апоптозу тимоцитів, індукованого глюкокортикоїдами [328]. Індукований глюкокортикоїдами апоптоз дозозалежно пригнічують ПРЛ чи ГР [178, 264, 285], а також ВІП. Останній зменшує фрагментацію ДНК та підвищує

виживання клітин [326, 327].

Епіфізарний гормон мелатонін також частково попереджає апоптоз, індукований глюкокортикоїдами, як *in vivo* так й *in vitro* [316]. Він зменшує вікову та стрес-індуковану атрофію тимуса [279, 316]. Інтратимічна імплантація епіфізарних клітин від молодих мишей реципієнтам того ж віку, приводила до значного довготривалого збереження розмірів тимуса та кортико-медулярної архітекτονіки, тобто, відстрочувалася вікова атрофія залози [279, 316]. Механізм, шляхом якого мелатонін справляє антиапоптотичну дію, принаймні частково, полягає в down-регуляції експресії рецепторів глюкокортикоїдів [204, 301].

Ці дані означають, що нейроендокринна регуляція апоптозу може полегшувати його чи запобігати клітинній загибелі. При цьому переважаючим є контроль негативної селекції в порівнянні з позитивною.

Під нейроендокринним контролем знаходиться і такий процес, як міграція тимоцитів [229].

Гормон росту посилює міграцію Т-клітин у тимус мишей [267]. Введення ІРФ-1 разом з клітинами кісткового мозку старим реципієнтам підвищувало кількість клітин у тимусі в порівнянні з тими тваринами, яким вводили лише клітини кісткового мозку. У цьому ж дослідженні показано, що ІРФ-1 посилює колонізацію культури фетального тимуса попередниками Т-клітин.

Дексаметазон та гідрокортизон також посилюють міграцію клітин кісткового мозку в тимус *in vitro* [257]. Естрадіол *in vivo* посилює проникність кортикальних судин [260], що полегшує входження протимоцитів.

Під нейроендокринним контролем знаходиться й інтратамична лімфоїдна міграція. Спонтанна та індукована рухливість тимоцитів пригнічується ВІІ та гіпофізарними пептидами - активаторами аденілатциклаз [193, 327].

Вважають, що в інтратамичній міграції тимоцитів відіграють роль

тиреоїдні гормони, ПРЛ, ГР [267]. Тироксин прискорює вихід тимоцитів з комплексів, утворених тимічними клітинами-нянями (ТКН). Виділення тимоцитів з ТКН підвищується в культурі, обробленій ПРЛ, ГР чи ІРФ-1 [215, 302].

У дорослих тварин через 16 год після інтратимічної ін'єкції тироксину мало місце суттєве зростання числа мічених флуоресцентною міткою тимоцитів у лімфатичних вузлах [267]. Гормон росту модулює й кількість тимічних емігрантів, підвищуюючи їх число в лімфовузлах та зменшуючи – в селезінці [302].

Незрілі $CD4^+CD8^+$ Т-клітини були знайдені в периферичних лімфоїдних органах (це свідчить про порушення міграції тимоцитів) при послабленні функції кортикостероїдних рецепторів шляхом їх часткового нокауту в трансгенних мишей [265]. У таких тварин мало місце порушення в ГГНС з ненормальними рівнями циркулюючого АКТГ та кортикостерону. Інтратимічний рівень мРНК рецепторів ГК був на 50% нижчим, а здатність тимічних екстрактів зв'язувати гідрокортизон була редукована на третину в порівнянні з контрольними тваринами [267]. Ненормальний притік $CD4^+CD8^+$ -клітин визначався в лімфоїдних вузлах карликових мишей. Цей феномен прогресував з віком і супроводжувався паралельним зниженням числа кортикальних тимоцитів. У цих тварин зі значним зниженням $CD4^+CD8^+$ -тимоцитів відсоток $CD3^+CD4^+CD8^+$ клітин у лімфатичних вузлах сягав 50%. Кількість $CD4^+CD8^+$ тимоцитів та їх відсоток на периферії відновлювався після ін'єкції ГР [302].

Вплив на вихід незрілих $CD4^+CD8^+$ тимоцитів можуть справляти статеві гормони. У дорослих тварин, які отримували естрадіол, в селезінці вивлялися $CD4^+CD8^+$ клітини, що пов'язували з підвищеною проникністю кортикальних кровоносних судин [259].

Отже, порушення в системі нейроендокринних компонентів може стати причиною часткового дисбалансу процесів міграції тимоцитів. Це дозволяє незрілим клітинам покидати орган. Враховуючи автореактивний потенціал

CD4⁺CD8⁺ клітин [160], зрозуміло, що нейроендокринний дисбаланс через порушення виходу незрілих тимоцитів у периферійні лімфоїдні органи може спровокувати розвиток деяких автоімунних захворювань.

При обговоренні ролі гормонів та нейропептидів у фізіології тимуса не можна не згадати, що тимічні клітини мають здатність до експресії рецепторів цих молекул.

Рецептори глюкокортикоїдів локалізовані в цитоплазмі та ядрах тимоцитів, а також у культурі тимічного епітелію, а їх ізоформи - в медулярних тимічних епітеліальних клітинах [331].

У тимусах тварин та людей показана наявність рецепторів статевих гормонів [154]. Показано, що щільність мРНК рецепторів андрогенів у 6 разів вища в ТЕК, ніж в тимоцитах [249]. Імуноцитохімічним методом на ізольованих тимоцитах показано, що експресія рецепторів андрогенів має місце в підтипах клітин CD4/CD8 з найвищим рівнем у клітинах CD4⁻CD8⁻, включаючи найбільш незрілі клітини [328]. Доведена співлокалізація прогестеронових та естрогенових рецепторів на ТЕК, тимоцитах, в ретикуло-епітеліальній стромі залози [246].

Тимоцити мають специфічні зв'язуючі місця для тиреоїдних гормонів. Ядерні рецептори тироксину NT₃-R ідентифіковані як в ТЕК, так і в тимоцитах [302].

У певних типах тимічних клітин ідентифіковано також рецептори різних гіпофізарних гормонів. Експресія рецепторів ПРЛ та їх функціональна активність модулює продукцію тимуліну та ріст ТЕК [267]. Високий рівень циркулюючого ПРЛ (наприклад, як при лактації), підвищує рівень його рецепторів у тимічних клітинах [212].

Експресія рецепторів ГР та їх мРНК показана в культурі ТЕК [191]. Подібні дослідження на людських тимоцитах виявили експресію рецепторів ГР на клітинах фенотипу CD34⁺CD2⁺ CD3⁻CD4⁻CD8⁻. Це означає прямі ефекти гормону росту на процеси, що мають відношення до селекції різновидів Т-клітин [182].

Для тимоцитів, ТЕК та інших компонентів тимічного мікрооточення показана інтратимічна експресія рецепторів різних нейропептидів - окситоцину, вазопресину, сімейства рецепторів соматостатину, ВІП-1, особливо на найбільш фенотипічно незрілих клітинах CD4⁺CD8⁻ [267].

На мембранах екстрактів тимуса знайдено також рецептори ендогенних опіоїдних пептидів – β-ендорфіну, мет-енкефаліну [47, 254].

Тимус не лише реагує на циркулюючі гормони, але й сам продукує гормони та нейропептиди.

Наприклад, ТЕК продукують кортикостерон [154, 278]. Пізніше було показано, що секреція глюкокортикоїдів ТЕК посилюється АКТГ та блокується антагоністами глюкокортикоїдних рецепторів або блокаторами біосинтезу кортикостерону [253]. У тканині тимуса знайдено ензими та кофактори синтезу глюкокортикоїдів.

Хоча низькі та помірні дози глюкокортикоїдів попереджають антиCD3-індукований апоптоз, є точка зору, що тимічні глюкокортикоїди беруть участь у позитивній селекції Т-лімфоцитів [288]. У нормі ендогенні ГК можуть попереджати апоптоз тимоцитів після взаємодії РТК/пептид-ВКГС [323].

Інші стероїдні гормони, в тому числі статеві, також продукуються інтратимічно. Це є важливим для розуміння статевого диморфізму імунної відповіді в нормі та при автоімунних станах.

Тимічні клітини мають здатність до експресії "класичних" аденогіпофізарних гормонів - ПРЛ та ГР [154, 183, 285].

Інтратимічна експресія ГР визначалася в кортикальних епітеліальних, септальних клітинах, та тимоцитах [267]. Експресія генів ГР тимоцитами підвищується рилізінг-гормоном гормону росту, а в клітинах тимічного мікрооточення людини показано наявність транскрипційного фактора Pit-1/GHF-1, який контролює експресію ГР у гіпофізі [162]. ГР тимічного походження може підвищувати проліферацію тимоцитів через ІРФ-1 [154]. Ідентифікація рецепторів ІРФ-1 на тимоцитах щура та людини [181], разом із

виявленню у цій тканині різних протеїнів, зв'язуючих ІРФ, свідчать про їх важливу роль у фізіології тимуса.

У тимусі людини [324] та миші [292] показана експресія інсуліну.

Інтратимічна продукція нейропептидів, а також транскрипція відповідних мРНК не викликає сумніву [317]. Той факт, що після процесингу окситоцин прямо експортується на поверхню мембрани в більшій мірі, ніж в секреторні гранули, означає, що хоча б частково фрагменти цих пептидних гормонів беруть участь у диференціації тимоцитів. Інтратимічна експресія пептидних гормонів може також мати відношення до негативної селекції тимоцитів. Крім нейрогіпофізарних гормонів, у людських тимоцитах знайдено ЛГРГ [14]. Показано, що після кастрації в тимусі має місце підвищення ЛГРГ, яке попереджується тестостероном. Багатьма дослідниками показана інтратимічна продукція КРФ [274]. Джерелом інтратимічного КРФ вважають макрофаги. Разом із даними про продукцію ТЕК АКТГ та кортикостерону, ці результати свідчать про цілісний набір у тимусі гормонів, подібних до тих, що продукуються компонентами ГГНС.

У відповідності до експресії генів РОМК в екстрактах тимуса та ТЕК знайдено β -ендорфін, соматостатин [154, 267]. У тимусі виявлено також попередник ТТГ [263].

Доведена інтратимічна експресія гена ВІП [327]. Показано, що цей нейропептид експресують $CD4^+CD8^+$ біпозитивні та $CD4^+$ і $CD8^+$ монопозитивні тимоцити. Автокринна/паракринна секреція ВІП тимоцитами разом з його роллю в протидії апоптозу, індукованого глюкокортикоїдами, вказує на його участь у загальних процесах генерації різновидів Т-клітин у тимусі [197]. Ця точка зору дістає підтвердження у тому, що ВІП посилює антиген-індуковану диференціацію $CD4^+CD8^+$ незрілих тимоцитів у $CD4^+$ позитивну зрілу форму після взаємодії зі специфічними антиген-презентуючими клітинами [276].

Наведені в даному огляді літератури дані не залишають сумніву щодо наявності тісних двосторонніх взаємозв'язків між окремими компонентами

нейроімунноендокринної системи та вказують на їх полідромність.

1.2. Нейроендокринні передумови дизрегуляції імунного статусу при синдромі пренатального стресу

В ембріональному та фетальному періодах онтогенезу виділяють критичні періоди, протягом яких плід має підвищену чутливість до ушкоджуючих факторів середовища [289]. У ці періоди переважають процеси активного клітинного й тканинного диференціювання та підвищення обмінних процесів. Саме тому дія несприятливих чинників у цей час може стати причиною порушення генетичної програми розвитку організму. Останні десятиліття ознаменувалися підвищеною увагою медиків та біологів до проблеми так званого функціонального тератогенезу, який не супроводжується макроструктурними порушеннями, а більшою мірою проявляється функціональними розладами. Він виникає при дії стресорів різного генезу на організм самки наприкінці вагітності (в останньому її триместрі) [77, 105, 106]. Комплекс ультраструктурних, нейроендокринних, імунних, метаболічних порушень в організмі потомків проявляється в першу чергу порушеннями статевої поведінки та адаптації, які можуть зберігатися тривалий час, а іноді й протягом усього життя [105, 292]. Ці порушення дістали назву синдрому пренатального стресу. Багатолітні дослідження патогенетичних механізмів розвитку цього синдрому дозволили акад. О.Г.Резнікову сформулювати оригінальну теорію, згідно якій він розглядається як результат порушення гормонально-медіаторного імпринтингу [77, 289]. У відповідності з цією теорією гормони та нейротрансмітери є провідними факторами раннього онтогенезу, програмуючи нормальний розвиток нейроендокринних регуляторних систем [105]. Саме тому ті чинники, які викликають гормон-медіаторний дисбаланс у мозку під час критичних періодів його розвитку, можуть змінити індивідуальну програму формування нейроімунноендокринної відповіді організму на дію чинників середовища [101, 289].

Основні відомі на теперішній час віддалені ефекти пренатального стресу пов'язані з порушенням статевої диференціації мозку та адаптації.

Поведінкові прояви порушення статевої диференціації мозку в дорослих щурів полягають у демаскулізації та фемінізації статевої поведінки дорослих самців і послабленні фертильності в самок [282, 289]. Вони є наслідками численних ультраструктурних [81, 77, 243] та нейрохімічних модифікацій [106, 291], які виявляються вже в перинатальному періоді розвитку. Наприклад, морфометричний аналіз об'єму секс-диморфних ядер гіпоталамуса у 10-денних щурів показав, що пренатальний стрес викликає неповну їх маскулінізацію та часткову фемінізацію супрахіазматичного ядра у самців [77, 101]. У цей же час пренатальний стрес спричиняв появу статевих відмінностей вмісту НА та 5 α -редуктазної активності в медіобазальному гіпоталамусі, що не притаманно інтактним тваринам [101, 105]. При цьому статеві розбіжності вмісту катехоламінів зникали за рахунок збільшення концентрації НА в преоптичній ділянці самців і ДА в медіобазальному гіпоталамусі самок, а також зменшення вмісту ДА в преоптичній ділянці самок. Авторами зроблено висновок, що порушення статевої диференціації мозку, яке відбувається під впливом пренатального стресу, здійснюється при посередництві катехоламінів гіпоталамуса, переважно преоптичної ділянки самців [80, 263].

У реалізації впливу пренатального стресу на нейроендокринну систему важлива роль належить також серотонінергічній системі мозку завдяки її високій чутливості до флуктуацій рівнів АКТГ та кортикостерону, що мають місце при стресуванні вагітних [81, 290]. Результати досліджень цих авторів дозволяють вважати, що саме порушення активності серотонінергічної системи преоптичної ділянки самок та медіобазального гіпоталамуса самців є однією з причин модифікації статевої поведінки та регуляції секреції гонадотропінів.

Пренатальний стрес зменшує ароматазну активність преоптичної ділянки самців [101, 103, 292]. Досліди із введенням екзогенних

кортикостероїдів показали, що цей ефект зумовлений зниженням секреції тестикулярних андрогенів та порушенням їх метаболізму в мозку внаслідок підвищення материнських глюкокортикоїдів у крові [85, 103, 121].

Однією з причин порушення репродуктивної функції (зниження тестикулярного андрогенопоезу з наступним послабленням сперматогенезу) в пренатально стресованих самців щурів є недостатня активація гіпоталамічної ланки гіпоталамо-гіпофізарно-гонадної системи [101, 103].

Іншою найбільш дослідженою складовою синдрому пренатального стресу є порушення стрес-реактивності [77, 95, 104, 106]. Причини їх розвитку полягають у стресорних впливах на раннє програмування розвитку нейроендокринної регуляції стрес-реактивності, яке здійснюється на рівні як екстрагіпоталамічних структур, так і гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової осі за рахунок підвищення секреції материнських та власних кортикостероїдів плода [95, 101, 196].

Незважаючи на те, що ГГНС у ссавців не досягає повної зрілості впродовж пренатального онтогенезу, вона починає функціонувати до народження [213, 180]. Показано, що фетальний гіпофіз може стимулювати синтез та секрецію глюкокортикоїдів корою надниркових залоз [169]. Взагалі, нормальна пренатальна функціональна активність ГГНС необхідна для онтогенезу різних систем органів. Разом з тим, вона відіграє важливу роль у відповіді плода на стрес [88].

Фетальна відповідь на стрес, найімовірніше, здійснюється за участю як материнської, так і власної ГГНС. Встановлено, що мічений кортиколіберин, введений інтраперитонеально вагітним самкам, практично не проникає через фето-плацентарний бар'єр [314], тому можна думати про можливість автономної стрес-індукованої активації фетальної ГГНС. Доцільність самостійної пренатальної секреції кортиколіберину у відповідь на стресорні впливи полягає в його важливій захисній ролі. Вважають, що незалежно від генезу стресора, універсальним механізмом його дії є гіпоксія плоду внаслідок плацентарної вазоконстрикції [88]. Кортиколіберин, який при

цьому виділяється, має вазодилататорний ефект і протидіє вазоконстрикції через NO/цГМФ-залежний механізм [186]. Разом з тим, саме можливість пренатальної реакції ГГНС на стрес робить її вразливою до дії надмірних стресорних впливів.

Одна з причин порушення стрес-реактивності у тварин з пренатальним стрес-синдромом полягає в пренатальній модифікації катехоламінергічної системи мозку, яка відіграє тригерну роль у механізмах активації ГГНС [77, 104, 292]. Як показали ці дослідження, гострий стрес не викликає типової реакції катехоламінів гіпоталамуса у пренатально стресованих тварин. Крім того, динаміка стресорної реакції катехоламінів також відрізнялася від тієї, що мала місце в контрольних тварин.

Введення екзогенних глюкокортикоїдів вагітним самкам упродовж останньої третини вагітності повністю відтворювало ефекти пренатального стресу стосовно віддалених порушень стрес-реактивності в їх нащадків, що підтверджує провідну роль материнських глюкокортикоїдів у розвитку даної патології [82, 84].

Дослідження останніх років показали, що пренатальний стрес викликає численні модифікації не лише в системі стрес-реалізації, але й у системі обмеження стрес-реакції. Зазнають модифікації такі потужні стрес-лімітуючі чинники, як ГАМК, α -передсердний натрійуретичний пептид (α -ПНП), стрес-протекторні простагландини, антиоксидантний захист та ін. [[123, 140].

Пренатальний стрес інактивує функціональний ембріогенез ГАМК_A-рецепторів. Це проявляється втратою регуляторної дії ГАМК на секрецію кортикостерону, пролактину та тироксину через ГАМК_A-рецептори під час іммобілізаційного стресу [91, 95]. Пренатальне введення гідрокортизону ацетату також викликало зміни ГАМК-ергічної регуляції ГГНС в умовах стресу [83]. Стрес-лімітуюча взаємодія ГАМК та β -ендорфіну теж послаблюється внаслідок впливу пренатального стресу [79, 95]. У лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку пренатально стресованих щурів знижується конститутивний вміст α -ПНП та має місце втрата його реакції на гострий

стрес [140]. У контрольних тварин за умов іммобілізації зростає вміст як стрес-протекторних (ПГЕ₂ та 6-кето-ПГФ_{1α}), так і простресорних (ПГФ_{2α} та ТхВ₂) простагландинів, що свідчить про паралельну активацію стрес-реалізуючої та стрес-лімітуючої систем, а пренатальний стрес знижує активність обох систем та усуває їх реакцію на іммобілізацію [95, 73]. Пренатальний стрес викликає стійке зниження активності глутатіонпероксидази та відсутність її реакції на стрес, спричиняє накопичення окисдованих форм протеїнів [35]. У тварин, які зазнали впливу пренатального стресу, мелатонін втрачає модулюючий вплив на стрес-індукований рівень глюкокортикоїдів, пролактину в плазмі крові та стимулюючий - на рівень β-ендорфіну у гіпоталамусі й активність антиоксидантних ферментів у структурах мозку, а його дія на окремі показники вільнорадикального окиснення макромолекул значно обмежена [35].

Недавно проведені дослідження показали, що пренатальний стрес має суттєвий вплив на функціональний стан ендокринної частини підшлункової залози [3, 122]. Це проявляється зростанням кількості α- і β-клітин, концентрації інсуліну в β-ендокриноцитах, зниженням резистентності β-клітин до дії β-цитотоксичного антибіотику стрептозотоцину та їх реактивності до дії стимуляторів секреції інсуліну [2-4, 122]. Цими ж дослідниками встановлено наявність статевого диморфізму ендокринної функції підшлункової залози у пренатально стресованих тварин, який полягає в більшій чисельності β- і α-клітин і вищому питомому вмісті інсуліну й глюкагону в підшлунковій залозі дорослих самок щурів [3,4].

Таким чином, численні нейроендокринні модифікації, які мають місце у тварин із синдромом пренатального стресу, дозволяють прогнозувати порушення в них нейроімуноендокринної взаємодії.

Як згадувалося вище, провідну роль у розвитку пренатального стрес-синдрому відіграють материнські та фетальні глюкокортикоїди. Тому порушення імунного статусу, які мають місце в людей та тварин із

пренатальним стрес-синдромом, також можуть, принаймні частково, опосередковуватися цими гормонами. Можливість цього підтверджується експериментальними дослідженнями, які свідчать про пренатальний онтогенез глюкокортикоїдних рецепторів у тимусі та інших імунокомпетентних органах.

Так, показано що в щурів мРНК глюкокортикоїдних рецепторів знайдено в ембріональному тимусі на 13-й день гестації [245], а концентрація їх рецепторів знижувалася по мірі дозрівання плода [170]. Глюкокортикоїдні рецептори знайдено також у фетальній культурі тимічного епітелію [267], а їх ізоформи - в медулярних тимічних епітеліальних клітинах [209]. Цікаво, що в трансгенних мишей із частковим нокаутом глюкокортикоїдних рецепторів, тимічне мікрооточення страждало вже на ранніх етапах онтогенезу тимуса з подальшим утворенням великих просторів, вільних від ТЕК, у дорослих тварин [297].

Є дослідження, які демонструють більш ранню експресію молекул класу I та II ВКГС впродовж онтогенезу тимуса в плодів щурів, матері яких зазнали адреналектомії [297, 164]. Таким чином, відсутність глюкокортикоїдів в ранньому фетальному періоді прискорює інтратимічну експресію ВКГС. Це підтверджується авторами, які проводили дослідження інших маркерів диференціації ТЕК у фетальному тимусі адреналектомованих матерів. Нестача материнських глюкокортикоїдів у вагітних адреналектомованих щурів прискорює ранню колонізацію первинного тимуса лімфоїдними попередниками [277, 297, 298].

Глюкокортикоїди можуть брати участь у пренатальній позитивній селекції Т-клітин. Хоча механізми глюкокортикоїдного апоптозу добре вивчені, залишається незрозумілим наступний парадокс: низькі дози глюкокортикоїдів протистоять апоптозу [257] й частково рятують тимоцити від апоптозу, індукованого додаванням до фетальної культури тимуса антиCD3 антитіл.

Додавання селективного інгібітора біосинтезу кортикостероїдів до фетальної органної тимічної культури мишей показує, що інтратимічні глюкокортикоїди запобігають апоптозу тимоцитів лише тоді, коли рецептори тимічних клітин здатні розпізнавати власний антиген ВКГС з достатньою авідністю для нормальної позитивної селекції [323].

Однак, ці дані протирічять іншим дослідженням, в яких антагоніст глюкокортикоїдних рецепторів блокує антиCD3-індукований апоптоз в культурі тимуса новонароджених [269]. Цей же антагоніст у трансгенних мишей також попереджає апоптоз тимоцитів, індукований специфічною антигенною стимуляцією. Очевидно, що пошкоджувальні чи захисні ефекти глюкокортикоїдів залежать від багатьох чинників і визначаються конкретною ситуацією.

Вже згадувалося, що внутрішньотимічні переміщення тимоцитів та їх вихід із тимуса знаходиться під впливом нейроендокринної системи. У плодів адреналектомованих щурів еміграція тимічних клітинних рецепторів ТКР $\alpha\beta$ в селезінку відбувається раніше, ніж у контрольних [298]. Це означає, що виділення зрілих тимоцитів контролюється, принаймні впродовж фетального періоду, глюкокортикоїдами. Використовуючи модель органної культури фетального тимуса, було показано, що поширення тимоцитів може стимулюватися інсуліном [215, 267].

Не лише дефіцит, але й надлишок глюкокортикоїдів у пренатальному періоді онтогенезу може мати необоротні наслідки для розвитку новонароджених [170]. Проведено вивчення можливих віддалених наслідків короткотривалої пренатальної дії глюкокортикоїдів на розвиток тимуса, селезінки та ГГАС. На 17-й – 19-й дні вагітності самкам давали дексаметазон і через 1-20 днів після народження досліджували тимус, селезінку, гіпоталамус і плазму крові потомства, порівнюючи наслідки з подібними при застосуванні препарату в дорослих тварин. Пренатальна експозиція дексаметазону привела до зниження числа Т-клітин в тимусі й селезінці через 1 день після народження. Регенерація тимуса після пренатального

застосування дексаметазону та в контрольній групі була повною через 24 дні. Проте кінетика регенерації тимуса після пренатальної експозиції препарату відрізнялася від наслідків його застосування в дорослих. Дексаметазон, що вводився впродовж вагітності, приводив до зміщення співвідношення $CD4^+/CD8^-$ - $CD4^-/CD8^+$ тимоцитів на користь перших у порівнянні з контрольною групою у всі терміни спостереження. У дорослих препарат не міняв цієї пропорції. Число Т-клітин у селезінці тварин дослідної групи було значно нижчим у всіх досліджених періодах. У гіпоталамусі дексаметазон пошкоджував модель неонатальної динаміки експресії пептидів КРФ-нейронів з вибірковою редукцією запасів КРФ в медіальній еміненції з одночасним підвищенням запасів аргінін-вазопресину (АВ). Співвідношення АВ/КРФ залишалося значно вищим на всіх досліджених стадіях. Т.ч., кінетика регенерації тимуса після дексаметазону в період вагітності відрізнялася від такої в дорослих. Автори вважають, що пренатальне застосування препарату затримує міграцію Т-клітин в селезінку і має великий вплив на гіпоталамічні КРФ-нейрони, що моделює стрес-реактивність і в більш пізні періоди життя [168].

В експериментах на щурах вивчали первинну імунну відповідь (ПІВ) вилочкової залози та брижових лімфатичних вузлів 1-місячних тварин, які розвивалися за умов пренатального впливу індометацину (з 18-го по 21-й день вагітності). Показано, що ПІВ у контрольних щурів та тих, що розвивалися в умовах пренатального впливу індометацину односпрямована. Функціональна активність тимуса дослідних щурів, знижена в перші 3-4 тижні, відновлюється до місячного віку, проте в першій фазі залишається постійно зниженою реакція бласттрансформації. Функціональна активність брижових лімфовузлів дослідних тварин була знижена у всі терміни спостереження, що свідчить про пригнічення імунної відповіді [75].

Дослідження компенсаторних реакцій на природні імунні навантаження в лімфовузлах щурят, народжених самками, котрим з 18-го по

21-й день вагітності вводили індометацин у різних дозах показало дозозалежну затримку розвитку лімфовузлів [94].

Можливість пренатального реагування імунної системи на інші чинники також підтверджена експериментально. Показано, що в останньому триместрі вагітності лімфоцити плода спонтанно продукують деякі інтерлейкіни та реагують на деякі мітогени [335], а розвиток фетальних тимічних Т-клітин активується презентацією пошкоджених пептидів різних тканин плода [195].

При вивченні тимуса потомства самок щурів, які зазнали піврічної інтоксикації малими дозами пестициду симазину з антифолієвою активністю показано, що в новонароджених щурят виявляється зниження вагового коефіцієнта тимуса, розширення площі мозкової речовини й скорочення площі кіркової. Через 1-2-й тижні в тимусі виявляються фокуси делімфотизації кіркової речовини, збільшення в ній кількості лімфобластів, а також кількості середніх, малих лімфоцитів і клітин з фігурами мітозу. Мікроскопічно виявлено порушення контактів епітелію з тимоцитами. У мозковій речовині була збільшена кількість ретикулоепітеліоцитів, середніх і малих лімфоцитів. Автори вважають, що тривала пренатальна інтоксикація пестицидом симазином у малій дозі форсує гістогенез тимуса плодів з явними ознаками посилення функціональної активності, що надалі може призвести до ймовірних дисфункцій імунної системи [30].

Виражений пригнічувальний вплив на імунну систему новонароджених та дорослого організму має пренатальна гіпоксія. Вплив гіпоксії під час другого триместру вагітності спричиняє формування імунодефіциту в новонароджених мишей. При імунізації цих тварин у дорослому віці еритроцитами барана має місце зниження антитілоутворення, що супроводжується порушенням міграції гемопоетичних попередників з кісткового мозку в селезінку [25].

Пролонговані наслідки мають не лише пренатальні, але й деякі неонатальні впливи. У досліджах з неонатальним введенням алілестренолу

показано підвищення числа рецепторів глюкокортикоїдів у тимусі дорослих тварин. У дорослих щурів, які не зазнавали неонатальних впливів, бензпірен редукує число глюкокортикоїдних рецепторів. Цей ефект відсутній у дорослих тварин, котрі зазнали неонатального впливу алілестренолу. Даний експеримент свідчить про перманентний ефект стероїдного імпринтингу. Неонатальне застосування стероїдів модифікує також їх більш пізні ефекти [187].

Вивчення наслідків психофізіологічного стресу в макак, який моделювали введенням АКТГ вагітним самкам, показало, що нащадки цих самок відрізнялися від контрольних за декількома імунологічними показниками: низьким рівнем повноцінних білків, зниженою активністю змішаних лімфоцитів, підвищеною сприйнятливістю до захворювань. Крім того, мало місце зниження рухової активності, м'язового тону та короткий період утримання уваги [281].

Усі наведені факти свідчать, що тимус активно реагує на нейроендокринні коливання вже в перинатальному періоді розвитку.

Функціонування двосторонніх зв'язків між нейроендокринною та імунною системами впродовж раннього онтогенезу підтверджується здатністю тимуса в цей період модулювати продукцію гормонів та нейропептидів ГГАС та деяких їх залоз-мішеней. Показано, що неонатальна тимектомія провокує розвиток атрофії жіночих статевих органів, модулює щільність нікотинових холінергічних рецепторів у скелетних м'язах та мозку, порушує формування нейроендокринних центрів гіпоталамуса [266]. Однак ці дані поодинокі й не висвітлюють механізмів порушення імунонейроендокринної взаємодії.

Представлений перелік фактів та механізмів переконливо свідчить про функціонування нейроімуноендокринної системи як єдиного цілого в стані фізіологічного спокою та, особливо, при дії на організм несприятливих чинників. Разом з тим він свідчить, що невирішеним у проблемі нейроімуноендокринних взаємовідносин залишається цілий ряд питань, у

тому числі, ефекти нейроендокринних збурень, якими супроводжуються стресорні впливи, на морфофункціональний стан тимуса, вміст у ньому деяких біологічно активних чинників у тварин з пренатальним стрес-синдромом, а також особливості впливу тимічних факторів на нейроендокринну систему цих тварин. Деякі аспекти цих взаємодій ми спробували в'яснити в нашому дослідженні.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Обґрунтування принципу відбору тварин за віком та статтю

Робота виконана на тримісячних самцях білих лабораторних щурів з фіксованою датою народження. Контрольна група представлена самцями, народженими інтактними самками, а дослідну склали тварини, матері яких впродовж останньої третини вагітності зазнавали впливу щоденного одногодинного іммобілізаційного стресу (усього використано 224 тварини).

Відомо, що більшість функцій в організмі, в тому числі нейроендокринна регуляція та реактивність імунної системи характеризуються статевим диморфізмом. Існує велика кількість доказів того, що механізми адаптації в самок більш досконалі, а резерви системи адаптації – більш потужні, що робить їх значно стійкішими до дії стресорів різного генезу [8, 38]. Тому ми зупинили свій вибір на самцях, оскільки в них наслідки впливу різноманітних несприятливих чинників упродовж пренатального онтогенезу більш масштабні та глибокі [95]. Це пояснюється принаймні декількома причинами.

По-перше, статевий диморфізм має місце у функціонуванні ГГАС. Самки мають вищий конститутивний рівень кортикостероїдогенезу, кортикостерону, та у 2-3 рази вищий вміст катехоламінів й активність відповідних ферментів їх синтезу, більші розміри основного норадренергічного утворення мозку - блакитної плями [9]. Стрес-індукована амплітуда секреції катехоламінів та глюкокортикоїдів також вища в самок [38, 217]. Крім того, в самок відновний постстресорний період перебігав без порушень стероїдного гомеостазу, а в самців спостерігалось сповільнене відновлення резервів гіпофізарно-адrenокортикального комплексу. Встановлено також існування статевого диморфізму реактивності імунної системи. У самок має місце вищий рівень імуноглобулінів, більш виражена

відповідь на антигени, більша частота автоімунних захворювань, ніж у самців. Спонтанні автоімунні синдроми в мишей превалюють і відрізняються більшою різноманітністю в самок у порівнянні з самцями, а перебіг захворювань модулюється змінами рівня стероїдних статевих гормонів [217].

Більш розвинена в самок щурів і серотонінергічна система мозку [38], яка має виражений імуномодулювальний вплив [24] та зазнає модифікацій при синдромі пренатального стресу [81, 84].

Одним з провідних механізмів пошкоджувальної дії стрес-реакції, в тому числі й при дії пренатальних стресорів, є надмірне посилення вільнорадикальних процесів, ефект яких стримується антиоксидантною системою, що вважається важливим компонентом системи обмеження стрес-реакції. Більша потужність та резервна ємність цієї системи в самок, швидша та активніша мобілізація її під час стресу також є причиною меншої вразливості нейроімуноендокринної системи в порівнянні з самцями [96].

Сукупність названих причин обґрунтовує вибір статі тварин.

Основним аргументом щодо вибору віку тварин є термін дозрівання нейроендокринної системи в самців щурів [95], що приводить його у відповідність із завданням дослідити віддалені результати пренатальних стресових впливів.

2.2. Формування експериментальних груп за реактивністю тварин

Щурів утримували за умов природного фотоперіоду, при кімнатній температурі, на стандартному харчовому раціоні віварію, з вільним доступом до води. Усі втручання та забій тварин проводилися паралельно в дослідній та контрольній групах, зранку, натще, з 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).

Більшість досліджень проведено у весняно-літній період.

Зважаючи на індивідуальну реактивність нейроендокринної та імунної систем [117, 118], для проведення всіх експериментів відбирали середньостійких тварин. Для цього за тиждень до початку досліджень проводили вивчення стійкості щурів до емоційного стресу за поведінкою тварин у відкритому полі (оцінювали латентний період першого руху та виходу в центр, а також рухову активність по периферії і в центрі) [63].

2.3. Модель іммобілізаційного стресу та пренатального стрес-синдрому

Експериментальний пренатальний стрес-синдром відтворювали шляхом щоденної одногодинної жорсткої іммобілізації самок на спині з 15-го по 21-й день вагітності. Початком вагітності вважали наступний день після еструсу за умов виявлення сперматозоїдів у вагінальних мазках [95]. Із самців, народжених самками, які зазнавали іммобілізації, формували дослідні групи. Потомки самок, які не зазнавали дії стресу, склали контрольні групи.

Для вивчення нейроендокриноімунних взаємовідносин була використана експериментальна модель іммобілізаційного стресу, яка за даними літератури дозволяє оцінити вклад різних ланок нейроендокринної та імунної систем у реалізацію стрес-індукованих реакцій [11, 26, 308].

По досягненню трьох місяців частину тварин дослідної та контрольної груп піддавали дії гострого одногодинного або хронічного іммобілізаційного стресу (одногодинний щоденний, протягом 7 діб), після чого вивчали морфофункціональний стан тимуса, окремі біохімічні зміни в ньому та вміст моноамінів.

2.4. Обґрунтування вибору структур для дослідження

Для дослідження взаємовідносин між функціональним станом тимуса та нейроендокринною системою вміст серотоніну та β -ендорфіну визначали в перегородці мозку, преоптичній ділянці, медіобазальному гіпоталамусі та

ядрах мигдалеподібного комплексу. Структури обрано з урахуванням даних літератури стосовно участі їх нейрохімічних та нейропептидних механізмів у реалізації стрес-реакції, що підтверджено на молекулярному рівні посиленням у них експресії генів раннього реагування [236, 237, 272]. Встановлено, що експресія гена *c-fos* у мозку починає зростати вже на 5-й – 7-й хв іммобілізації [306]. Найбільш виражене підсилення експресії гена *c-fos* мало місце в латеральній перегородці, преоптичній ділянці, паравентрикулярному ядрі гіпоталамуса, медіальному відділі мигдалика, блакитній плямі [272].

Крім того, дані структури впродовж критичних періодів розвитку мозку є об'єктами статевої диференціації, що свідчить про їх вразливість до дії пренатального стресу [78, 95, 101].

Входячи до складу нейроендокринної системи дані структури мають пряме відношення до регуляції імунних функцій. Показано, наприклад, що стереотаксична ізоляція переднього гіпоталамуса у самців щурів знижує імунну відповідь (рівень антитіл) у відповідь на введення еритроцитів барана, а також рівень циркулюючих моноцитів, лімфоцитів, еозинофілів [271].

Для вивчення впливу пренатального стресу на органи імунної системи ми обрали тимус, який є мішенню для гормонів багатьох ендокринних залоз: гіпофіза [44, 310], наднирників [31, 102, 221], епіфіза [68], щитовидної та статевих [109, 36, 67, 222], що забезпечує ендокринний контроль імунних процесів. У той же час, порушення гормон-медіаторного імпринтингу впливає на дільність цих залоз у тварин із синдромом пренатального стресу, що може стати причиною модифікації показників морфофункціонального стану виличкової залози.

2.5. Характеристика біологічної активності Т-активіну

Тимічні гормони мають здатність модулювати продукцію гормонів інших залоз і нейропептидів [303], впливаючи на стан нейроендокринної

системи в цілому. Тимічні пептиди стимулюють секрецію пролактину, гормону росту, лютропіну, фолітропіну, тиротропіну та ін. гормонів [256, 304]. Згідно даних літератури, між секрецією тимічних пептидів та гормонів більшості ендокринних залоз існує взаємодія за принципом плюс-плюс, оснований на взаємному підсиленні функціонального стану [303].

Для вивчення функціональних взаємозв'язків тимуса та чинників нейроендокринної регуляції ми обрали препарат Т-активін - природний комплекс тимічних пептидів (не менше 30 пептидів), виділених із тимуса великої рогатої худоби. Він має імунокоригуючу активність і регулює цілий ряд важливих біологічних процесів [57, 120]. У дітей з імунодефіцитами найбільш виражений клінічний ефект мав Т-активін, а не інші пептиди тимуса. При цих станах пептиди тимуса посилювали експресію CD8+ субпопуляціями Т-лімфоцитів [86].

Т-активін вводили впродовж п'яти днів (внутрішньочеревно, в дозі 5 мкг/кг маси тіла, щоденно). Встановлено, що така доза має суттєвий вплив на імуноендокринні взаємовідносини [18].

2.6. Евтаназія тварин, спосіб забору та зберігання досліджуваного матеріалу

По закінченню терміну спостереження тварин виводили з експерименту шляхом декапітації. У відповідності до положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985), кожну тварину перед декапітацією наркотизували ефіром.

Мозок та тимус швидко виймали на холоді й одразу занурювали в рідкий азот. Робили кріостатні зрізи мозку товщиною 300 мкм, виділяли перегородку мозку, преоптичну ділянку, медіобазальний гіпоталамус та мигдалеподібний комплекс за методом [275], звіряючись з атласом стереотаксичних координат [247]. Кров збирали в охолоджені на крижаній

бані центрифужні пробірки, попередньо промарковані відповідно до серійного номера тварини. За 15 хв до забору крові їх обробляли розчином Na- ЕДТА (Трилону Б). Пробірки з кров'ю центрифугували 30 хв із прискоренням 1500 g, плазму тубували в пластикові мікропробірки по 0,25 мл і заморожували при -20°C , зберігаючи не довше 1 місяця.

2.7. Вивчення структури лімфоїдної популяції вилочкової залози, морфометричних та денситометричних характеристик лімфоїдних клітин

Дослідження проводили на випадково відібраних зрізах різних частин вилочкової залози, пофарбованих гематоксилін-еозином. Вивчення морфометричних та денситометричних характеристик лімфоїдної популяції проводили на комп'ютерній системі цифрового аналізу зображення VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина). Зображення, отримане на мікроскопі AXIOSKOP, за допомогою високочутливої відеокамери COHU-4722 (COHU Inc., США) вводилося в комп'ютерну систему цифрового аналізу зображення VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина) та оцифровувалося по денситометричній шкалі з 256 -ма градаціями сірого кольору. У скануючому режимі вводили всі поля зору в кожній із зон вилочкової залози. Ідентифікація клітин в отриманому зображенні проводилася в автоматичному режимі за допомогою пакета прикладних програм VIDAS-2.5 (Kontron Elektronik, Німеччина). Основними морфометричними характеристиками клітин були їх площа, периметр, максимальний і мінімальний діаметри. Додатковими морфометричними характеристиками клітин були коефіцієнти форми, елонгації та еквівалентний діаметр [7, 147]. В якості денситометричних характеристик клітин, визначених також в автоматичному режимі, було обрано абсолютну та питому оптичну щільність.

Для проведення математичного класифікаційного аналізу використовували мікроскоп Axioskop (Zeiss, Німеччина) та систему цифрового аналізу зображення VIDAS 2.5 (Kontron Electronik, Німеччина), у

результаті чого було виділено 9 класів клітин лімфоїдної популяції виличкової залози:

1-й клас - лімфобласти; 2-й клас - лімфобласти з ознаками деструкції; 3-й клас – великі лімфоцити; 4-й клас – великі лімфоцити з ознаками деструкції; 5-й клас - середні лімфоцити; 6-й клас - середні лімфоцити з ознаками деструкції; 7-й клас - малі лімфоцити; 8-й клас - малі лімфоцити з ознаками деструкції; 9-й клас - лімфоцити в стані апоптозу (апоптотичні тільця).

Крім вказаних характеристик лімфоїдних клітин обчислювалася абсолютна кількість клітин (на 1 мм² площі залози) та відносна (%) щільність розподілу кожного класу клітин в межах окремих зон виличкової залози.

Дослідження проведено на базі кафедри патофізіології Запорізького державного медичного університету. За надану можливість виконати дослідження та сприяння в роботі автор висловлює щире подяку ректору університету, завідувачу кафедри проф. Ю.М.Колеснику та співробітникам Центральної науково-дослідної лабораторії Запорізького державного медичного університету.

2.8. Імуноферментні дослідження

Вміст β-ендорфіну та серотоніну в структурах мозку, циклічних нуклеотидів у структурно-функціональних зонах тимуса та тиреотропного гормону (ТТГ), трийодтироніну (Т₃) тироксину (Т₄) й пролактину (ПРЛ) у плазмі крові визначали імуноферментним методом з використанням стандартних комерційних наборів реактивів. Гомогенізацію наважок мозку та тимуса проводили в охолодженому (2-4°C) фосфатному буфері (рН 7,4) за допомогою скляного гомогенізатора. Вміст серотоніну визначали набором "Serotonine" ("Immunotech", Франція), а β-ендорфіну - набором фірми "Inc Star" (США) згідно інструкцій, які додавалися. Визначення проводилися в перегородці мозку, преоптичній ділянці, медіобазальному гіпоталамусі та

мигдалеподібному комплексі. Кількість серотоніну розраховували в нмоль/г тканини, а β -ендорфіну — в пмоль на г тканини мозку.

У гомогенатах епітеліальної та внутрішньої зон кіркової речовини, премедулярної зони та мозкової речовини тимуса визначали вміст цАМФ та цГМФ наборами фірми "Amersham", (Англія). Кількість циклічних нуклеотидів розраховували в нмоль на г тканини.

Рівень тиротропіну (ТТГ), трийодтироніну (T_3), тироксину (T_4) та пролактину в плазмі крові визначали наборами фірми "Хьюмен" (Німеччина). Концентрацію трийодтироніну та тироксину виражали в нмоль/л плазми, ТТГ - в мОД/л, пролактину – у мкг/л плазми.

2.9. Гістохімічне визначення моноамінів

Визначення моноамінів проводили за методом Фалька-Овмена [211] в модифікації А.Ю.Буданцева [72]. Тимус швидко виймали на холоді, занурювали в рідкий азот, робили кріостатні зрізи, проводили їх ліофільне висушування під вакуумом $0,66 \times 10^{-5} - 10^{-6}$ Кпа. Висушені зрізи обробляли парами параформу, після чого проводили вимірювання інтенсивності флуоресценції катехоламінів, користуючись люмінесцентним мікроскопом МЛ-4 з мікрофотометричною насадкою ФМЭЛ – 1А. У кожному препараті проводили 50 замірювань у досліджуваних структурах та таку ж кількість замірювань фону. Інтенсивність флуоресценції моноамінів виражали в умовних одиницях.

2.10. Визначення продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активності ферментів антиоксидантного захисту

Про інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів у структурно-функціональних зонах тимуса контрольних та дослідних тварин судили за вмістом гідропероксидів ліпідів (дієнових кон'югатів) та одного з

вторинних продуктів ліпопероксидації - малонового альдегіду. Первинні продукти пероксидного окиснення ліпідів – дієнові кон'югати й вторинні – малоновий альдегід визначали за методами [65, 115]. Вміст зазначених продуктів визначали на спектрофотометрі СФ-46 ("ЛЮМО", Росія). Кількість малонового альдегіду та дієнових кон'югатів розраховували в нмоль/мг білка.

Для проведення необхідних визначень гомогенізацію наважок структур проводили в охолоджену 0,25 М трис-НСІ буфері (рН 7,4), після чого аліквоти гомогенатів центрифугували при 900g протягом 15 хв і відокремлювали супернатант.

Інтенсивність ліпопероксидації в організмі регулюється як процесами радикало- і перекисоутворення, так і станом ендогенних антиоксидантних систем [49, 50], активність яких характеризує адаптивні можливості організму при різних патологічних станах.

У якості показників стану антиоксидантної активності ми використали активність супероксиддисмутази [КФ 1.15.1.1], каталази [КФ 1.11.1.6] та глутатіонпероксидази [КФ 1.11.1.9].

Головною ланкою ферментативної антиоксидантної системи вважають супероксиддисмутазу, яка інактивує супероксидні аніон-радикали [69]. Активність супероксиддисмутази визначали за методом, який оснований на здатності ферменту конкурувати з нітросинім тетразолієм за супероксиданіони, утворені при аеробній взаємодії НАДН та феназинметасульфату [119, 149]. Про активність ферменту судили за ступенем пригнічення процесу відновлення нітросинього тетразолію в присутності НАДН. Активність супероксиддисмутази виражали в од/хв·мг білка. За одиницю активності приймали 50% гальмування процесу відновлення нітросинього тетразолію за 1 хв інкубації.

Принцип визначення глутатіонпероксидази полягає в кількісному спектрофотометричному визначенні окисненого глутатіону, що утворюється в ході ферментативної реакції [43]. Активність ферменту виражали в нмоль

окисненого глутатіону за хв на мг білка.

Одним з важливих компонентів антиоксидантного захисту є каталаза, яка запобігає накопиченню пероксиду водню [334]. Визначення активності каталази проводили шляхом спектрометричного аналізу утвореного стійкого забарвленого комплексу залишкових кількостей пероксиду водню після взаємодії з каталазою досліджуваної проби та молібдату амонію й виражали в мкмоль за хв·на мг білка [71].

Вміст білка визначали за утворенням біуретового комплексу, котрий у присутності фенольного реактиву Фоліна-Чокальтеу набуває синього забарвлення, інтенсивність якого пропорційна кількості білка [286].

2.11. Визначення обмеженого тканинного фібринолізу та протеолізу

У гомогенатах лімбіко-гіпоталамічних структур мозку проводили визначення тканинної фібрино- та протеолітичної активності. В основі методу визначення фібринолітичної активності лежить утворення плазміну при інкубації азофібрину зі стандартною кількістю плазміногену в присутності активаторів фібринолізу, які містяться в гомогенаті. За ступенем забарвлення розчину в лужному середовищі в присутності ϵ -амінокапронової кислоти визначають активність неферментативного фібринолізу, а без неї – сумарну фібринолітичну активність. Різниця між цими показниками становить інтенсивність ферментативного фібринолізу [119].

Протеолітичну активність в гомогенатах досліджуваних структур визначали на основі інтенсивності забарвлення після реакції з азоальбуміном, азоказеїном та азоколом [21, 119].

В усіх дослідженнях використано реактиви Simko Ltd, Україна

2.12. Статистична обробка цифрового матеріалу

Отримані експериментальні дані оброблено на ІВМ-сумісному

персональному комп'ютері з використанням пакету прикладних і статистичних програм VIDAS 2.5 (Kontron Elektronik, Німеччина) та EXCELL з пакета MS Office 2000 (Microsoft Corp., США) і проаналізовано з використанням t-критерію Ст'юдента.

Числові значення в таблицях наведені у вигляді середніх величин та їх стандартних похибок. Статистично вірогідними вважали зміни при $P \leq 0,05$.

РОЗДІЛ 3

ДЕЯКІ ІМУНОФЕРМЕНТНІ, ГІСТОХІМІЧНІ ТА БІОХІМІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ТИМУСА У ТВАРИН З ПРЕНАТАЛЬНИМ СТРЕС-СИНДРОМОМ

3.1. Модифікація вмісту циклічних нуклеотидів у виличковій залозі самців-щурів пренатальними стресорними впливами

Для розуміння патогенезу розвитку імунологічних порушень за умов синдрому пренатального стресу однаково важливим є вивчення як механізмів нейроімуноендокринної дизрегуляції, так і безпосередніх змін в органах імунної системи. Оскільки виличкова залоза швидко реагує на дію несприятливих чинників зміною морфофункціональних параметрів ще в період внутрішньоутробного розвитку [11, 76], вивчення її стану при синдромі пренатального стресу може дати певну інформацію про характер порушень імунологічного статусу за даної патології.

Зважаючи на те, що циклічні нуклеотиди виконують роль внутрішньоклітинних посередників дії багатьох гормонів і медіаторів, котрі зазнають пренатальної стресорної модифікації, інформація про відстрочену реакцію цих внутрішньоклітинних посередників на пренатальний стрес може стати суттєвою для нейроімуноендокринології пренатального стресу.

Найвищим конститутивним вмістом цАМФ та цГМФ у контрольних тварин характеризувалися премедулярна зона та епітеліальна зона кіркової речовини тимуса (табл.3.1).

Пренатальний стрес спричинив зниження вмісту цАМФ та циклазного індексу в епітеліальній зоні кіркової речовини в 2,4 та 2 рази відповідно.

У внутрішній зоні кіркової речовини тварин дослідної групи відбулося зростання вмісту цАМФ в 1,3 раза та ще більш значне (в 2,5 раза) збільшення циклазного індексу за рахунок одночасного деякого зниження вмісту цГМФ.

Таблиця 3.1

Вплив пренатального стресу на вміст циклічних нуклеотидів у виличковій залозі щурів ($M \pm m$; $n=6$)

Група спостереження	цАМФ (нмоль/г тканини)	цГМФ (нмоль/г тканини)	Циклазний індекс (цАМФ/цГМФ)
епітеліальна зона кіркової речовини			
Контрольні	7,20±0,58	2,69±0,22	2,68±0,33
Пренатально стресовані	3,06±0,29 $p < 0,005$	2,25±0,39	1,36±0,18 $p_1 < 0,01$
внутрішня зона кіркової речовини			
Контрольні	4,20±0,39	1,65±0,29	2,54±0,28
Пренатально стресовані	5,36±0,47 $p < 0,05$	0,86±0,42	6,23±0,41 $p < 0,005$
премедулярна зона			
Контрольні	8,26±0,76	2,39±0,52	3,46±0,48
Пренатально стресовані	4,03±0,32 $p < 0,005$	3,62±0,39 $p < 0,05$	1,11±0,33 $p < 0,005$
мозкова речовина			
Контрольні	3,26±0,24	0,69±0,16	4,72±0,38
Пренатально стресовані	4,03±0,58	1,05±0,25	3,84±0,41

Примітки: p - вірогідність змін стосовно показників у інтактних тварин. У решті випадків зміни невірогідні

Найбільш виражені наслідки пренатальний стрес мав для досліджуваних показників премедулярної зони, в якій вміст цАМФ суттєво (в 2 рази) знизився, цГМФ – зріс (в 1,5 раза), внаслідок чого циклазний індекс зазнав вираженого (в 3 рази) зниження. Нечутливою до дії пренатальних

стресорних впливів за вивченими нами показниками виявилася мозкова речовина тимуса.

Отримані дані свідчать, що пренатальний стрес справляє довготривалі наслідки на такі показники внутрішньоклітинної трансдукції, як циклічні нуклеотиди.

3.2. Вплив іммобілізаційного стресу на функціональний стан катехоламінвмісних структур тимуса контрольних та пренатально стресованих самців щурів

Швидкість диференціювання та викиду лімфоцитів у периферичну кров регулюється за участю біоамінвмісних структур вилочкової залози шляхом синтезу, секреції та інактивації біогенних амінів [102, 112]. Тому порушення цих процесів у різних структурах тимуса впливає не лише на стан імунної, але й нервової та ендокринної систем, які тісно взаємодіють за рахунок існування прямих і зворотних зв'язків.

Ми не зустріли в літературі даних стосовно впливу стресогенних чинників на стан катехоламінвмісних структур тимуса та їх взаємодію, хоча вплив гострого та хронічного стресу на морфофункціональний стан тимуса є беззаперечним, а біогенні аміни першими реагують на стрес [239]. Крім того, загальновідомим фактом у патогенезі пренатального стрес-синдрому є численні нейроендокринні модифікації, які впливають на лімфопоетичну та гормонпродукувальну функції тимуса. Виходячи з цих міркувань, ми поставили за мету дослідити вплив гострого й хронічного іммобілізаційного стресу на вміст катехоламінів у структурно-функціональних зонах вилочкової залози контрольних та пренатально стресованих самців щурів.

Проведені дослідження показали (табл.3.2 – 3.3), що найвищий конститутивний вміст катехоламінів має місце в клітинах премедулярної зони тимуса. Суттєвої різниці між конститутивними показниками

інтенсивності флуоресценції у контрольної групи тварин та щурів з пренатальним стрес-синдромом не виявлено.

Таблиця 3.2

Вплив гострого та хронічного іммобілізаційного стресу на інтенсивність флуоресценції моноамінів в епітеліальній зоні та внутрішній корі тимуса контрольних та пренатально стресованих тварин ($M \pm m, n=8$)

Група спостереження	Інтенсивність флуоресценції моноамінів (умовні одиниці)		
	конститутивний показник	перша доба іммобілізації	сьома доба іммобілізації
епітеліальна (субкапсулярна) зона кіркової речовини			
Контрольні	140±1,85	282±2,30 $p < 0,005$	75,4±0,74 $p < 0,005$ $p_1 < 0,005$
Пренатально стресовані	143±1,22	197±3,08 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,005$	43,6±1,70 $p_2 < 0,005$ $p_3 < 0,005$ $p_4 < 0,005$
внутрішня зона кіркової речовини			
Контрольні	105±2,70	67,2±0,60 $p < 0,05$	44,6±1,58 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$
Пренатально стресовані	101±1,95	72,3±1,84 $p_1 < 0,005$ $p_2 < 0,005$	73,2±1,72 $p_2 < 0,005$ $p_3 < 0,005$ $p_4 < 0,005$

Примітки: вірогідність змін у порівнянні з показниками - p – у контрольних тварин; p_1 - у контрольних тварин після гострої іммобілізації; p_2 – у пренатально стресованих тварин; p_3 – у пренатально стресованих тварин після гострої іммобілізації; p_4 - у контрольних тварин після хронічної іммобілізації

Таблиця 3.3

Вплив гострого та хронічного іммобілізаційного стресу на інтенсивність флуоресценції моноамінів у премедулярній зоні та мозковій речовині тимуса контрольних та пренатально стресованих тварин ($M \pm m$, $n=8$)

Група спостереження	Інтенсивність флуоресценції моноамінів (умовні одиниці)		
	конститутивний показник	перша доба іммобілізації	сьома доба іммобілізації
премедулярна зона			
Контрольні	202±2,4	259±3,6 $p < 0,05$	106±2,38 $p < 0,005$ $p_1 < 0,005$
Пренатально стресовані	191±2,79	262±2,08 $p_2 < 0,05$	153±1,42 $p_2 < 0,005$ $p_3 < 0,005$ $p_4 < 0,005$
мозкова речовина			
Контрольні	67,2±1,22	104,2±3,04 $p < 0,025$	43,7±1,31 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$
Пренатально стресовані	71,3±2,88	108,3±3,30 $p_2 < 0,05$	32,7±0,31 $p_2 < 0,005$ $p_3 < 0,005$ $p_4 < 0,005$

Після першої іммобілізації контрольних тварин відбулося вірогідне підвищення рівня катехоламінів як в амінопродуцентах (премедулярна зона, в 1,3 рази) так і в амінопоглиначих (субкапсулярні клітини, в 2 рази). Звертає на себе увагу той факт, що в останній зоні це підвищення було значно суттєвішим. У сукупності з медіаторним збідненням кіркової речовини, яке відбулося внаслідок стресу, це свідчить, що іммобілізація спричиняє більш значну активацію амінопоглиначів у порівнянні з амінопродуцентами.

У мозковій зоні тимуса однократна іммобілізація також спричиняла зростання інтенсивності флуоресценції в 1,6 рази (табл. 3.3).

У тварин із синдромом пренатального стресу після першої іммобілізації свічення катехоламінів зростало в 1,4, 1,3, 1,5 рази в епітеліальній, премедулярній та мозковій зонах відповідно. Лише у внутрішній зоні кіркової речовини, так само, як у контролі, флуоресценція знижувалася (в 1,4 рази).

Таким чином, реакція катехоламінів премедулярної та внутрішньої зон кіркової речовини на гостру іммобілізацію була такою ж, як у контролі за якісною та кількісною характеристиками. У той же час, у субкапсулярній зоні даної групи щурів постстресорна інтенсивність флуоресценції моноамінів була значно нижчою (в 1,4 рази), ніж у контролі.

Оцінка наслідків впливу хронічного стресу на реакцію катехоламіновмісних структур тимуса показала, що вони принципово відрізнялися від наслідків гострого (табл 3.2 –3.3).

Після останньої іммобілізації у всіх структурних зонах тимуса контрольних та дослідних тварин інтенсивність флуоресценції катехоламінів значно знижувалася в порівнянні як з конститутивними показниками, так і з тими, які мали місце після першої іммобілізації.

Так, в епітеліальній зоні контрольних тварин свічення катехоламінів знизилось в 1,9 рази стосовно конститутивного показника та в 3,7 рази стосовно першої іммобілізації. У тварин з пренатальним стрес-синдромом це відношення становило 3,3 та 4,5 рази відповідно.

У премедулярній зоні зниження інтенсивності флуоресценції становило 1,9 та 2,4 рази в контролі й 1,2 та 1,7 рази в досліді відповідно щодо базального показника та гострої іммобілізації.

У внутрішній зоні кіркової речовини контрольних тварин, котра реагувала на гострий стрес зниженням рівня катехоламінів, хронічна іммобілізація поглибила цей ефект. У даній структурі співвідношення конститутивний показник – хронічна іммобілізація становило 2,4, а гострий стрес – хронічний – 1,5.

Виняток становили щурі з пренатальним стрес-синдромом, де різниці між показниками після першої та останньої іммобілізації не виявлено.

Незважаючи на однакове спрямування змін, що виникали внаслідок хронічного іммобілізаційного стресу в контрольних та дослідних тварин, у субкапсулярній зоні та мозковій речовині щурів із пренатальним стрес-синдромом зниження вмісту катехоламінів було значно суттєвішим, а в премедулярній – менш вираженим. Це свідчить, що пренатальний стрес викликає якісні та кількісні модифікації реакції біоаміновмісних структур тимуса на гострий та хронічний іммобілізаційний стрес, що безумовно, відіграє неабияку роль у виникненні імунопатологій, які мають місце за умов пренатального стрес-синдрому.

3.3. Вплив іммобілізаційного стресу на процеси ліпопероксидації та антиоксидантного захисту у вилочкової залозі щурів

Функціональні можливості імунокомпетентних клітин визначаються їх внутрішньоклітинними метаболічними процесами, серед яких ключову роль відіграють процеси вільнорадикального окиснення й утворення активних форм кисню [142, 329], що володіють дуже вираженою хімічною активністю, тому надмірна активація вільнорадикальних реакцій може призвести до порушення життєдіяльності клітин, їх дистрофії та загибелі. Протидіє цим змінам антиоксидантна система організму. Стрес активує вільнорадикальні процеси [69], однак прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз у тимусі тварин з пренатальним стрес-синдромом залишається недослідженим, хоча він може суттєво вплинути на функціональний стан залози.

Вивчення в тимусі контрольних тварин конститутивних показників прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу показало їх виражену структурну неоднорідність (табл.3.4-3.7). Найбільша інтенсивність ліпопероксидації за нашими даними мала місце в мозковій речовині залози, а активність антиоксидантних ферментів, незважаючи на найнижчий рівень

вільнорадикальних процесів, була найвищою в премедулярній зоні. На наш погляд, така мозаїчна картина досліджених параметрів у межах залози є відображенням функціональної неоднозначності її структурних підрозділів.

В епітеліальній зоні кіркової речовини тимуса контрольних щурів наслідки хронічного іммобілізаційного стресу проявилися вірогідним зниженням вмісту дієнових кон'югатів та каталази (в 1,6 та 1,5 раза відповідно) при одночасному зростанні в 1,3 раза рівня малонового альдегіду, про що свідчать дані, представлені в табл.3.4.

Таблиця 3.4

Показники пероксидного окиснення ліпідів та активності антиоксидантних ферментів у субкапсулярній зоні тимуса щурів після іммобілізації

($M \pm m$, $n=8$)

Група спостереження	Вміст		Активність ферментів		
	дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка)	малонового альдегіду (нмоль/мг білка)	супероксид-дисмутази (од/хв·мг білка)	каталази (мкмоль/хв·мг білка)	глутатіон-пероксидази (нмоль / хв·мг білка)
Контрольні	22,1±2,3	3,45±0,32	4,9±0,53	22,3±2,34	7,4±0,70
Іммобілізація контрольних	14,0±0,85 $p < 0,005$	4,51±0,28 $p < 0,025$	5,0±0,40	14,8±3,26 $p < 0,05$	7,4±0,50
Пренатально стресовані	20,4±2,00	4,2±0,40	4,8±0,60	23,4±3,90	7,6±0,51
Іммобілізація пренатально стресованих	13,3±1,22 $p_1 < 0,01$	4,3±0,25	3,6±0,22 $p_1 < 0,05$	10,2±1,17 $p_1 < 0,01$	3,6±0,20 $p_1 < 0,005$

Примітки: вірогідність змін у порівнянні з показниками - p – у контрольних тварин; p_1 – у пренатально стресованих тварин.

Пренатальний стрес не справляв суттєвого впливу на конститутивні показники ліпопероксидації та антиоксидантного захисту в цій зоні тимуса,

однак після хронічного стресорного навантаження відбувалося зниження всіх досліджених параметрів за винятком малонового альдегіду. Так, вміст дієнових кон'югатів зменшився в 1,5 раза, активність супероксиддисмутази, каталази й глутатаіпероксидази – в 1,3, 2,3, 2,1 раза відповідно.

Постстресорні зміни у внутрішній зоні кіркової речовини контрольних тварин полягали в деякому посиленні ліпопероксидації за рахунок одночасного зростання в 1,2 раза вмісту дієнових кон'югатів та зниження в 2,4 раза активності каталази (табл.3.5).

Таблиця 3.5

Показники пероксидного окиснення ліпідів та активності антиоксидантних ферментів у внутрішній зоні кіркової речовини тимуса щурів після іммобілізації ($M \pm m$, $n=8$)

Група спостереження	Вміст		Активність ферментів		
	дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка)	малонового альдегіду (нмоль/мг білка)	супероксиддисмутази (од/хв·мг білка)	каталази (мкмоль/хв·мг білка)	глутатіонпероксидази (нмоль / хв·мг білка)
Контрольні	23,0±1,27	5,0±0,34	4,5±0,48	15,1±1,39	5,1±0,50
Іммобілізація контрольних	27,2±2,06 $p < 0,05$	5,2±0,36	4,3±0,38	6,2±0,97 $p < 0,005$	6,3±0,90
Пренатально стресовані	22,3±0,84	5,6±0,27	4,5±0,38	23,6±3,58 $p < 0,05$	3,7±0,30 $p < 0,025$
Іммобілізація пренатально стресованих	16,5±1,15 $p_1 < 0,005$	5,3±0,26	3,2±0,26 $p_1 < 0,0125$	24,0±3,14	3,8±0,50

Пренатальний стрес спричинив у цій зоні деякі зміни в системі антиоксидантного захисту за рахунок зростання в 1,6 раза активності каталази та зниження в 1,3 раза активності глутатіонпероксидази. Реакція на іммобілізацію у тварин даної групи відрізнялася від контрольних і проявлялася зниженням рівня функціонування системи за рахунок

зменшення в 1,4 раза вмісту дієнових кон'югатів та активності супероксиддисмутази.

У премедулярній зоні контрольних тварин іммобілізаційний стрес в 1,2 раза знижував вміст малонового альдегіду та каталази (табл.3.6). До подібних наслідків, тільки більш виражених кількісно, призвів і пренатальний стрес – вміст цих речовин зменшувався в 1,4 раза. Іммобілізація пренатально стресованих тварин спричинила вірогідне тотальне зниження активності антиоксидантних ферментів (в 1,4, 1,2 1,6 раза для супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази відповідно) при незміненому рівні продуктів ліпопероксидації.

Таблиця 3.6

Показники пероксидного окиснення ліпідів та активності антиоксидантних ферментів у премедулярній зоні тимуса щурів після іммобілізації ($M \pm m$, $n=8$)

Група спостереження	Вміст		Активність ферментів		
	дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка)	малонового альдегіду (нмоль/мг білка)	супероксиддисмутази (од/хв·мг білка)	каталази (мкмоль/хв·мг білка)	глутатіонпероксидази (нмоль / хв·мг білка)
Контрольні	12,0±1,34	6,7±0,40	5,2±0,39	49,7±2,98	8,4±0,60
Іммобілізація контрольних	10,9±1,70	5,6±0,19 $p < 0,025$	6,6±0,68	40,4±1,72 $p < 0,025$	8,6±0,30
Пренатально стресовані	11,2±0,70	4,9±0,30 $p < 0,005$	4,9±0,35	34,4±2,81 $p < 0,005$	7,9±0,60
Іммобілізація пренатально стресованих	12,9±1,18	5,5±0,46	3,5±0,42 $p_1 < 0,025$	27,8±2,72 $p_1 < 0,05$	5,0±0,50 $p_1 < 0,005$

Внаслідок хронічної іммобілізації (табл.3.7) у мозковій речовині тимуса тварин контрольної групи відбулося зниження в 1,2 раза вмісту первинних і вторинних продуктів та активності каталази (в 1,5 раза), що в цілому свідчить про помірні зміни без зміщення рівноваги в системі.

Таблиця 3.7

Показники пероксидного окиснення ліпідів та активності антиоксидантних ферментів у мозковій зоні тимуса щурів після іммобілізації ($M \pm m$, $n=8$)

Група спостереження	Вміст		Активність ферментів		
	дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка)	малонового альдегіду (нмоль/мг білка)	супероксид-дисмутази (од/хв·мг білка)	каталази (мкмоль/хв·мг білка)	глутатіон-пероксидази (нмоль / хв·мг білка)
Контрольні	27,9±1,20	7,7±0,51	3,8±0,25	26,7±1,64	5,8±0,41
Іммобілізація контрольних	24,2±0,84 $p < 0,025$	6,3±0,25 $p < 0,025$	3,7±0,31	18,2±1,76 $p < 0,005$	5,2±0,30
Пренатально стресовані	21,5±0,88 $p < 0,005$	6,5±0,39 $p < 0,05$	5,0±0,49 $p < 0,05$	26,8±1,41	2,7±0,40 $p < 0,005$
Іммобілізація пренатально стресованих	18,3±1,30 $p_1 < 0,05$	5,2±0,38 $p_1 < 0,025$	2,7±0,31 $p_1 < 0,005$	20,6±1,63 $p_1 < 0,0125$	4,4±0,30 $p_1 < 0,005$

Пренатальний стрес знижував інтенсивність ліпопероксидації за рахунок обох досліджених продуктів (в 1,3 та 1,2 раза відповідно). Стан антиоксидантного захисту змінювався неоднозначно за рахунок зростання в 1,3 раза активності супероксиддисмутази при одночасному зниженні в 2,1 раза активності глутатіонпероксидази. Іммобілізація цієї категорії тварин спричиняла зниження вмісту дієнових кон'югатів та малонового альдегіду в 1,2 й 1,3 раза, активності супероксиддисмутази та каталази в 1,9 та 1,3 раза відповідно. У той же час активність глутатіонпероксидази в 1,6 раза зростала.

Проміжні висновки, які можна зробити за результатами даної серії досліджень:

1. Пренатальний стрес викликає довготривалі порушення вмісту циклічних нуклеотидів у різних зонах вилочкової залози самців щурів.

2. Найбільш чутливою до дії пренатальних стресорних впливів за дослідженими нами показниками є премедулярна зона тимуса.

3. Конститутивні показники інтенсивності флуоресценції моноамінів у всіх зонах тимуса контрольних та дослідних тварин не відрізняються.

4. Гострий іммобілізаційний стрес підвищує рівень моноамінів у мозковій, премедулярній і субкапсулярній зонах тимуса контрольних та пренатально стресованих тварин, однак у субкапсулярній зоні останніх реакція значно слабша, ніж у контрольних.

5. Хронічний іммобілізаційний стрес приводить до зниження інтенсивності флуоресценції моноамінів у всіх зонах тимуса контрольних та дослідних тварин, за винятком внутрішньої зони кіркової речовини в останніх.

6. У тварин обох експериментальних груп хронічний іммобілізаційний стрес має якісно й кількісно неоднорідний вплив на показники ліпопероксидації та антиоксидантного захисту в різних відділах вилочкової залози.

7. Пренатальний стрес спричиняє численні модифікації конститутивних показників інтенсивності ліпопероксидації та антиоксидантного захисту.

8. У різних відділах тимуса пренатально стресованих тварин більш виражений вплив хронічна іммобілізація має на показники антиоксидантного захисту в порівнянні з показниками ліпопероксидації.

За результатами даного розділу опубліковано наступні роботи:

[130] Ткачук О.В. Модифікація вмісту циклічних нуклеотидів у вилочковій залозі самців-щурів пренатальними стресорними впливами // Клін. та експерим. патол. - 2004. – Т.ІІІ, № 2, Ч.1. – С. 167-169.

[132] Ткачук О.В. Особливості процесів ліпопероксидації та антиоксидантного захисту у загруднинній залозі щурів із пренатальним стрес-синдромом //Науковий вісник Ужгородського університету. Серія медицина. – 2004. – Вип. 23. – С. 29-31.

[133] Ткачук О.В. Інтраімичні особливості реакції циклічних нуклеотидів на дію пренатального стресу // Матер. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 200-річчю з дня заснування Харківського державного мед. унів-ту "Від фундаментальних досліджень – до прогресу в медицині". – Харків. – 2005. – С.61.

[137] Ткачук О.В., Мислицький В.Ф. Вплив гострого та хронічного іммобілізаційного стресу на реакцію біоамінівмісних структур тимуса контрольних та пренатально стресованих самців щурів // Клін. та експерим. патол. - 2004. – Т.ІІІ, № 4 – С. 73-76. (Здобувачем самостійно проведено експериментальні втручання, статистичну обробку та підготовку матеріалів до друку).

РОЗДІЛ 4

ВПЛИВ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ НА МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНУ ОРГАНІЗАЦІЮ ЛІМФОЇДНОЇ ПОПУЛЯЦІЇ ТИМУСА У КОНТРОЛЬНИХ ТА ПРЕНАТАЛЬНО СТРЕСОВАНИХ ТВАРИН

4.1. Загальні зауваження

Тимус чутливо реагує на будь-які несприятливі впливи змінами морфофункціонального стану [16, 319]. Реакція тимуса є складовою загального адаптаційного синдрому та розвивається за участю гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи [16, 161], тому відомі порушення реактивності останньої в самців щурів із синдромом пренатального стресу [95, 104] дозволяють прогнозувати модифіковану відповідь залози на дію стресорів. Вірогідність подібних модифікацій основана на фактах порушення імунного статусу пренатальними впливами [87, 283]. Однак конкретна участь тимуса в імунології пренатального стресу залишається майже недослідженою.

Саме тому даний розділ ми присвятили вивченню впливу хронічного іммобілізаційного стресу на структуру лімфоїдної популяції тимуса, морфометричні та денситометричні характеристики тимоцитів у контрольних щурів та тварин з синдромом пренатального стресу.

4.2. Зміни структурно-функціональної організації лімфоїдної популяції тимуса в контрольних та пренатально стресованих тварин, індуковані хронічним іммобілізаційним стресом

Виходячи із сучасних поглядів на функціональну роль структурних зон тимуса субкапсулярна зона забезпечує мікрооточення, необхідне для проліферації та початкових етапів диференціювання пре-Т-лімфоцитів [16]. Оскільки чинники мікрооточення знаходяться під нейроендокринним

контролем, вони вразливі до впливів, що модифікують функціональний стан нейроендокринної системи, в тому числі до дії стресорів.

Порівняльний аналіз впливу іммобілізації та пренатального стресу на структуру лімфоїдної популяції тимуса представлені в табл. 4.1-4.4.

Таблиця 4.1

Вплив іммобілізації на сумарну щільність лімфоїдних клітин в субкапсулярній зоні тимуса контрольних та пренатально стресованих щурів (на 1 мм² залози) (M±m)

Група спостереження	Нормальні клітини	Клітини з ознаками деструкції
Контроль	18263±138	2911±59,0
Іммобілізація контрольних	19455±155 ^a	2931±55,1
Пренатальний стрес	17194±132 ^a	3174±60,0 ^a
Іммобілізація пренатально стресованих	18578±149 ^b	2866±55,7 ^b

Примітка: в таблицях 1-4: а – вірогідність відмінностей параметрів стосовно контрольних тварин; b - стосовно тварин з пренатальним стрес-синдромом

У субкапсулярній зоні тимуса пренатально стресованих тварин загальна щільність незмінених клітин лімфоїдної популяції була значно нижчою, ніж у контрольних, у той же час у них достовірно переважала щільність клітин із ознаками деструкції (табл.4.1). Іммобілізація спричинила суттєве зростання щільності нормальних клітин лімфоїдної популяції як у контрольних щурів, так і в тварин із пренатальним стрес-синдромом однак в останніх цей показник залишався значно нижчим. Крім того, в тимусі тварин цієї групи на відміну від контрольних відбулося також зниження щільності клітин, які мали ознаки деструкції. Таким чином, у субкапсулярній зоні за

показниками сумарної щільності клітин реактивність тимуса тварин дослідної групи була нижчою, ніж у контролі.

У глибокій корі залози контрольних тварин щільність як нормальних, так і деструктивних клітин вірогідно перевищувала аналогічні показники в субкапсулярній зоні. Така ж закономірність прослідковувалася і в пренатально стресованих тварин (табл.4.2).

Пренатальний стрес зменшував лише щільність нормальних клітин, а іммобілізація вірогідно збільшувала цей показник у тварин обох груп та змешувала його щодо деструктивних клітин у щурів контрольної групи.

Таблиця 4.2

Вплив іммобілізації на сумарну щільність лімфоїдних клітин у глибокій корі тимуса контрольних та пренатально стресованих щурів (на 1 мм^2 залози) ($M \pm m$)

Група спостереження	Нормальні клітини	Клітини з ознаками деструкції
Контроль	20797±151	3564±58,7
Іммобілізація контрольних	22350±132 ^a	3167±56,7 ^a
Пренатальний стрес	19586±134 ^a	3596±64,4
Іммобілізація пренатально стресованих	20536±140 ^b	3517±62,4

Слід зазначити, що відмінності досліджуваних параметрів між цими двома структурними зонами тимуса стосувалися не лише конститутивних показників, але й стрес-індукованих.

У внутрішньочасточкових периваскулярних просторах контрольних тварин (табл.4.3) сумарна щільність незмінених клітин була вищою, ніж у субкапсулярній зоні, але залишалась нижчою в порівнянні з глибокою корою. У той же час щільність клітин з ознаками деструкції була вірогідно нижчою в

порівнянні з обома попередніми відділами тимуса, що свідчить про абсолютний характер цих відмінностей.

Таблиця 4.3

Вплив іммобілізації на сумарну щільність лімфоїдних клітин у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах тимуса контрольних та пренатально стресованих щурів (на 1 мм² залози) (M±m)

Група спостереження	Нормальні клітини	Клітини з ознаками деструкції
Контроль	19536±149	2587±52,5
Іммобілізація контрольних	22144±184 ^a	2674±58,0
Пренатальний стрес	20832±142 ^a	2887±44,8 ^a
Іммобілізація пренатально стресованих	20148±184 ^b	2794±54,3

Якісно відрізнялися наслідки впливу пренатального стресу у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах – на відміну від перших двох зон тут мало місце зростання сумарної щільності як нормальних, так і деструктивних клітин (табл.4.3).

Після іммобілізації цей показник значно зростав у контрольних тварин та зменшувався в пренатально стресованих щодо нормальних лімфоцитів. Унаслідок цього щільність лімфоцитів у тимусі пренатально стресованих тварин після іммобілізації наблизилася до показника в контрольних.

У мозковій зоні контрольної групи щурів сумарна щільність тимоцитів (нормальних та деструктивних) була найнижчою (табл.4.4), що в цілому співпадає з даними літератури щодо розподілу клітин лімфоїдної популяції в межах структурно-функціональних зон тимуса.

Пренатальний стрес викликав зростання щільності обох типів клітин, а іммобілізація знижувала ці показники як у контрольних тварин, так і в щурів

із синдромом пренатального стресу.

Таблиця 4.4

Вплив іммобілізації на сумарну щільність лімфоїдних клітин у мозковій зоні тимуса контрольних та пренатально стресованих щурів (на 1 мм² залози) (M±m)

Група спостереження	Нормальні клітини	Клітини з ознаками деструкції
Контроль	17850±136	2495±48,0
Іммобілізація контрольних	17158±186 ^a	2281±52,7 ^a
Пренатальний стрес	19902±154 ^a	2589±50,0 ^a
Іммобілізація пренатально стресованих	16389±129 ^b	2321±48,4 ^b

Таким чином, справжнє зростання числа деструктивних клітин відбувалося лише в субкапсулярній зоні тварин з пренатальним стрес-синдромом, у решті випадків воно, ймовірно, зумовлено збільшенням загальної кількості клітин.

Важливим критерієм функціонального стану тимуса є структура лімфоїдної популяції в різних зонах залози, яка відображає процеси диференціації тимоцитів, їх міграції, в тому числі й інтратимічні переміщення.

Як показали проведені нами дослідження, в субкапсулярній зоні тимуса в структурі лімфоїдної популяції переважаючим типом клітин є малі лімфоцити. У контрольних тварин їх кількість в 1,9 раза перевищує кількість великих лімфоцитів та в 1,6 раза – кількість середніх, про що свідчать дані, представлені в табл.4.5.

У тварин із пренатальним стрес-синдромом співвідношення між малими та великими лімфоцитами становило 1,7, а між малими та середніми

– 1,4, тобто, переважання найбільш зрілих форм тимоцитів зменшилося.

Таблиця 4.5

Структура лімфоїдної популяції в субкапсулярній зоні тимуса контрольних та пренатально стресованих щурів ($M \pm m$)

Класи клітин лімфоїдної популяції	Нормальні клітини	Клітини з ознаками деструкції
Контроль		
Лімфобласти	891±67,3	401±49,0
Великі лімфоцити	4263±137	1064±64,5
Середні лімфоцити	4980±167	668±59,2
Малі лімфоцити	8129±182	778±63,4
Апоптотичні клітини	203±34,8	
Імобілізація контрольних		
Лімфобласти	678±49,4 [^]	416±41,3
Великі лімфоцити	3462±127 [^]	1028±67,3
Середні лімфоцити	4684±140	704±53,3
Малі лімфоцити	10631±303 ^{^^}	783±58,4
Апоптотичні клітини	261±35,7	
Пренатальний стрес		
Лімфобласти	907±68,7	380±40,7
Великі лімфоцити	4196±127	1221±79,0
Середні лімфоцити	5021±130	699±58,2
Малі лімфоцити	7070±201 [^]	874±62,3
Апоптотичні клітини	223±31,7	
Імобілізація пренатально стресованих		
Лімфобласти	849±58,9	441±41,9
Великі лімфоцити	3661±116*	960±74,9*
Середні лімфоцити	4643±141*	725±53,5
Малі лімфоцити	9425±280*	740±52,6
Апоптотичні клітини	275±31,4	

Примітка: в табл. 5-8: [^] - вірогідність змін стосовно показників у контрольних тварин; * - стосовно показників у тварин із синдромом пренатального стресу

Імобілізація контрольних тварин спричинила виражене зміщення кількості малих, великих та середніх лімфоцитів у бік перших, внаслідок чого співвідношення малі-великі лімфоцити зросло до 3,1, а малі-середні – до 2,3. Постімобілізаційні зміни розподілу лімфоцитів у тварин із синдромом пренатального стресу носили подібний характер, однак їх рівень був нижчим і становив 2,6 між малими-великими та 2,0 між малими-середніми.

У субкапсулярній зоні кори пренатальний стрес викликав також вірогідне зниження щільності незмінених малих лімфоцитів, а імобілізація зменшувала щільність незмінених лімфобластів та великих лімфоцитів у контрольних тварин, незмінених великих і середніх лімфоцитів та деструктивних великих лімфоцитів – у пренатально стресованих. В обох групах мало місце постстресорне зростання щільності нормальних малих лімфоцитів, однак у пренатально стресованих воно було менш вираженим, ніж у контрольних.

У контрольних щурів малі лімфоцити переважали також у глибокій корі тимуса (табл. 4.6), причому в більшій мірі, ніж у субкапсулярній зоні. Співвідношення малі-великі лімфоцити становило 2,7, а малі-середні – 2,0.

Пренатальний стрес у даному відділі тимуса викликав вірогідне зниження щільності незмінених малих лімфоцитів, однак за рахунок деякого, хоча й недостовірного, зниження великих лімфоїдних клітин, співвідношення між ними залишалось на рівні показника в контрольних тварин. Крім цього, пренатальний стрес приводив до зниження щільності апоптотичних клітин. Решта показників були такими ж, як в інтактних.

У глибокій корі тимуса контрольних тварин відбувалося стрес-індуковане зростання щільності нормальних лімфобластів і малих лімфоцитів та зменшення щільності великих і середніх. Зниження цього показника відбулося також стосовно малих деструктивних лімфоцитів.

Такі зміни стали причиною перерозподілу взаємовідносин між різними популяціями лімфоїдних клітин – переважання малих лімфоцитів над великими та середніми становило 4,0 та 3,3 відповідно.

Таблиця 4.6

Структура лімфоїдної популяції в глибокій корі тимуса контрольних та пренатально стресованих щурів ($M \pm m$)

Класи клітин лімфоїдної популяції	Нормальні клітини	Клітини з ознаками деструкції
Контроль		
Лімфобласти	764±55,8	392±39,1
Великі лімфоцити	3911±137	1271±81,5
Середні лімфоцити	5340±158	793±57,7
Малі лімфоцити	10782±253	1108±59,2
Апоптотичні клітини	392±39,6	
Імобілізація контрольних		
Лімфобласти	992±46,7 [^]	498±50,8
Великі лімфоцити	3408±120 [^]	1131±71,9
Середні лімфоцити	4196±1310 ^{^^}	809±57,2
Малі лімфоцити	13754±232 ^{^^}	729±47,1 ^{^^}
Апоптотичні клітини	335±39,5	
Пренатальний стрес		
Лімфобласти	700±52,3	466±41,9
Великі лімфоцити	3551±137	1282±83,6
Середні лімфоцити	5580±153	753±58,6
Малі лімфоцити	9755±196 [^]	1095±73,6
Апоптотичні клітини	254±32,3 [^]	
Імобілізація пренатально стресованих		
Лімфобласти	792±44,9	480±44,1
Великі лімфоцити	3342±115	1087±74,0
Середні лімфоцити	4954±143*	903±62,8
Малі лімфоцити	11448±256*	1047±68,9
Апоптотичні клітини	353±41,7	

У даному структурному підрозділі щурів з пренатальним стрес-синдромом іммобілізація спричиняла менш обширні зміни структури лімфоїдної популяції. Вони полягали в зниженні щільності середніх незмінених лімфоцитів та зростанні – малих. Внаслідок цього постстресорне співвідношення малі-великі та малі-середні лімфоцити також зросло, але в меншій мірі, ніж після іммобілізації контрольних щурів (воно становило 3,4 та 2,3 відповідно).

Таким чином, як і в субкапсулярній зоні, в глибокій корі за даними показниками реактивність тимуса у тварин з пренатальним стрес-синдромом була нижчою, ніж у контрольних.

Структура клітин лімфоїдної популяції внутрішньочасточкових периваскулярних просторів контрольних тварин суттєво не відрізнялася від описаних вище (табл.4.7). Так само, переважну частку всіх лімфоїдних клітин склали малі лімфоцити. Їх відношення до великих становило 2,7, а до середніх – 1,7.

У зазначеній зоні тимуса пренатальний стрес викликав зростання щільності нормальних та деструктивних малих лімфоцитів. Це стало причиною деякого зростання співвідношення між різними популяціями лімфоцитів на користь малих у порівнянні з контрольними тваринами.

Після іммобілізації у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах контрольних щурів щільність нормальних середніх лімфоцитів зменшувалася, а малих – зростала. Співвідношення малі-великі та малі-середні лімфоцити зросло й становило відповідно 3,5 та 2,6. Змін у структурі популяції клітин із ознаками деструкції не було.

Лімфоцити внутрішньочасточкових периваскулярних просторів пренатально стресованих тварин виявилися найменш чутливими до іммобілізації. У цих щурів постстресорні зміни полягали лише в зниженні щільності деструктивних малих лімфоцитів, яке, ймовірно, відбулося за рахунок зниження сумарної щільності клітин.

Табл.4.7

Структура лімфоїдної популяції у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах тимуса контрольних та пренатально стресованих щурів ($M \pm m$)

Класи клітин лімфоїдної популяції	Нормальні клітини	Клітини з ознаками деструкції
Контроль		
Лімфобласти	1013±62,5	376±37,5
Великі лімфоцити	3751±123	876±67,9
Середні лімфоцити	5517±149	757±55,6
Малі лімфоцити	9255±263	578±49,1
Апоптотичні клітини	273±37,1	
Імобілізація контрольних		
Лімфобласти	919±58,6	427±46,5
Великі лімфоцити	3648±133	982±73,3
Середні лімфоцити	4853±186 [^]	672±58,3
Малі лімфоцити	12724±360 [^]	593±54,1
Апоптотичні клітини	249±34,5	
Пренатальний стрес		
Лімфобласти	916±61,0	460±48,2
Великі лімфоцити	3859±144	958±62,4
Середні лімфоцити	5504±152	666±55,6
Малі лімфоцити	10553±211 [*]	803±58,6 [*]
Апоптотичні клітини	305±35,7	
Імобілізація пренатально стресованих		
Лімфобласти	840±60,0	416±45,4
Великі лімфоцити	3723±149	1019±70,3
Середні лімфоцити	5665±201	740±49,6
Малі лімфоцити	9920±325	619±51,9 [#]
Апоптотичні клітини	220±31,5	

Хоча переважання малих лімфоцитів у структурі лімфоїдної популяції в медулярній зоні тимуса зберігалось, однак воно було мінімальним у порівнянні з іншими відділами залози й становило 1,7 та 1,3 стосовно великих та малих клітин відповідно (табл. 4.8).

Табл.4.8

Структура лімфоїдної популяції в медулярній зоні тимуса контрольних та пренатально стресованих щурів (M±m)

Класи клітин лімфоїдної популяції	Нормальні клітини	Клітини з ознаками деструкції
Контроль		
Лімфобласти	961±54,9	373±38,9
Великі лімфоцити	4180±114	940±54,2
Середні лімфоцити	5476±142	500±51,3
Малі лімфоцити	7233±232	682±47,9
Апоптотичні клітини	149±28,0	
Імобілізація контрольних		
Лімфобласти	881±65,3	266±31,5 [^]
Великі лімфоцити	3435±147 ^{^^}	894±71,8
Середні лімфоцити	6446±198 ^{^^}	499±57,1
Малі лімфоцити	6396±334 [^]	622±50,6
Апоптотичні клітини	130±24,6	
Пренатальний стрес		
Лімфобласти	990±59,5	481±42,9
Великі лімфоцити	4023±132	980±56,3
Середні лімфоцити	6263±168*	588±53,2
Малі лімфоцити	8626±257*	540±47,6*
Апоптотичні клітини	139±27,4	
Імобілізація пренатально стресованих		
Лімфобласти	1028±60,7	415±40,4
Великі лімфоцити	4562±120#	957±63,3
Середні лімфоцити	5890±141	486±46,4
Малі лімфоцити	4909±195#	463±43,6
Апоптотичні клітини	97±20,9	

У тварин із синдромом пренатального стресу в даній зоні мало місце зростання нормальних середніх і малих лімфоцитів стосовно контролю та зниження щільності клітин з ознаками деструкції в популяції малих лімфоцитів. Дещо зросло співвідношення малі-великі лімфоцити (воно становило 2,1 проти 1,7 у контролі).

Неоднозначними щодо структури лімфоїдної популяції були наслідки іммобілізації контрольних тварин. У них відбулося зниження щільності незмінених великих та малих лімфоцитів при одночасному зростанні цього показника щодо середніх клітин. Унаслідок цього співвідношення малих і великих клітин зросло до 1,9, а щільність малих і середніх урівнялася.

Зменшилася також щільність лімфобластів із ознаками деструкції.

Пренатальний стрес модифікував реакцію на іммобілізацію за рахунок зростання щільності нормальних великих лімфоцитів та відсутності реакції з боку деструктивних клітин. Щільність малих лімфоцитів також знижувалася, причому більш виразно, ніж у контрольних тварин. Це призвело до того, що відношення малі – великі лімфоцити знизилося до 1,1, а малі-середні – до 0,8. Таким чином, реакція медулярної зони суттєво відрізнялася від реакції решти, що можна пояснити її функціональними особливостями.

Описані зміни підтверджуються при аналізі відсоткового співвідношення клітин лімфоїдної популяції.

Пренатальний стрес змінював відсоткове співвідношення клітин лімфоїдної популяції (табл. 4.9-4.12). Ці зміни торкалися як нормальних клітин, так і клітин з ознаками деструкції й були неоднозначними в різних структурно-функціональних відділах залози.

У субкапсулярній зоні тварин із пренатальним стрес-синдромом у порівнянні з контрольними мало місце вірогідне зниження відсотку незмінених малих лімфоцитів, та зростання цього показника для великих деструктивних клітин.

Таблиця 4.9

Відсоткове співвідношення клітин лімфоїдної популяції в субкапсулярній зоні тимуса ($M \pm m$)

Класи клітин лімфоїдної популяції	Нормальні клітини	Клітини з ознаками деструкції
Контроль		
Лімфобласти	4,19±0,31%	1,88±0,23%
Великі лімфоцити	20,1±0,63%	5,02±0,30%
Середні лімфоцити	23,5±0,77%	3,14±0,27%
Малі лімфоцити	38,3±0,81%	3,67±0,30%
Апоптотичні клітини	0,93±0,16%	
Імобілізація контрольних		
Лімфобласти	3,94±0,32%	1,82±0,31%
Великі лімфоцити	15,3±0,62% ^a	4,56±0,23%
Середні лімфоцити	20,0±0,72% ^a	3,12±0,30%
Малі лімфоцити	47,0±1,64% ^a	3,55±0,36%
Апоптотичні клітини	1,85±0,26% ^a	
Пренатальний стрес		
Лімфобласти	4,48±0,34%	1,83±0,21%
Великі лімфоцити	20,5±0,65%	5,94±0,37% ^a
Середні лімфоцити	24,6±0,69%	3,42±0,30%
Малі лімфоцити	34,6±0,93% ^a	4,30±0,30%
Апоптотичні клітини	1,07±0,16%	
Імобілізація пренатально стресованих		
Лімфобласти	3,98±0,25%	2,03±0,18%
Великі лімфоцити	16,9±0,47% ^b	4,44±0,31% ^b
Середні лімфоцити	21,5±0,60% ^b	3,33±0,22%
Малі лімфоцити	43,4±1,07% ^b	3,43±0,33% ^b
Апоптотичні клітини	1,28±0,13%	

Примітка: тут та в наступних таблицях: вірогідність змін щодо показників – а – в контрольних тварин; b – у тварин із синдромом пренатального стресу

У глибокій кірковій зоні залози підвищувався відсоток нормальних середніх клітин і знижувався – апоптотичних (табл.4.10).

Таблиця 4.10

Відсоткове співвідношення клітин лімфоїдної популяції в глибокій корі тимуса контрольних та пренатально стресованих щурів після іммобілізації(M±m)

Класи клітин лімфоїдної популяції	Нормальні клітини	Клітини з ознаками деструкції
Контроль		
Лімфобласти	3,09±0,24%	1,58±0,17%
Великі лімфоцити	15,9±0,63%	5,11±0,34%
Середні лімфоцити	21,7±0,52%	3,20±0,25%
Малі лімфоцити	43,3±0,87%	4,49±0,26%
Апоптотичні клітини	1,56±0,17%	
Іммобілізація контрольних		
Лімфобласти	3,84±0,17% ^a	1,93±0,19%
Великі лімфоцити	13,2±0,44% ^a	4,38±0,26% ^a
Середні лімфоцити	16,3±0,48% ^a	3,10±0,20%
Малі лімфоцити	53,1±0,81% ^a	2,81±0,17% ^a
Апоптотичні клітини	1,29±0,14%	
Пренатальний стрес		
Лімфобласти	2,97±0,20%	1,96±0,16%
Великі лімфоцити	15,1±0,55%	5,48±0,33%
Середні лімфоцити	23,8±0,50% ^a	3,24±0,23%
Малі лімфоцити	41,6±0,72%	4,66±0,28%
Апоптотичні клітини	1,07±0,12% ^a	
Іммобілізація пренатально стресованих		
Лімфобласти	3,26±0,19%	1,96±0,18%
Великі лімфоцити	13,6±0,48% ^b	4,45±0,30% ^b
Середні лімфоцити	20,3±0,51% ^b	3,69±0,26%
Малі лімфоцити	46,9±1,01% ^b	4,27±0,28%
Апоптотичні клітини	1,46±0,12% ^b	

Як видно з таблиці 4.11 пренатальний стрес викликав зниження відсотка нормальних лімфобластів, нормальних та деструктивних середніх лімфоцитів у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах.

Таблиця 4.11

Відсоткове співвідношення клітин лімфоїдної популяції у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах тимуса контрольних та пренатально стресованих щурів після іммобілізації ($M \pm m$)

Класи клітин лімфоїдної популяції	Нормальні клітини	Клітини з ознаками деструкції
Контроль		
Лімфобласти	4,51±0,21%	1,69±0,17%
Великі лімфоцити	16,8±0,57%	3,90±0,31%
Середні лімфоцити	24,7±0,69%	3,40±0,25%
Малі лімфоцити	41,2±1,10%	2,57±0,22%
Апоптотичні клітини	1,22±0,17%	
Іммобілізація контрольних		
Лімфобласти	3,72±0,22% ^a	1,68±0,16%
Великі лімфоцити	14,7±0,51% ^a	3,92±0,26%
Середні лімфоцити	19,6±0,76% ^a	2,68±0,21% ^a
Малі лімфоцити	50,6±1,19% ^a	2,33±0,19%
Апоптотичні клітини	0,99±0,12%	
Пренатальний стрес		
Лімфобласти	3,80±0,25% ^a	1,91±0,19%
Великі лімфоцити	15,96±0,57%	3,94±0,25%
Середні лімфоцити	22,9±0,62% ^a	2,75±0,23% ^a
Малі лімфоцити	43,9±0,83%	3,34±0,24% ^a
Апоптотичні клітини	1,28±0,15%	
Іммобілізація пренатально стресованих		
Лімфобласти	3,64±0,32%	1,74±0,22%
Великі лімфоцити	16,2±0,83%	4,41±0,27%
Середні лімфоцити	24,6±0,97%	3,20±0,21%
Малі лімфоцити	42,6±1,69%	2,64±0,26% ^b
Апоптотичні клітини	0,95±0,14%	

Лише відсоток деструктивних малих лімфоцитів у цій зоні зростає.

У мозковій зоні (табл. 4.12) знижувався відсоток нормальних великих і деструктивних малих лімфоцитів та зростає - незмінених малих.

Таблиця 4.12

Відсоткове співвідношення клітин лімфоїдної популяції в медулярній зоні тимуса контрольних та пренатально стресованих щурів після іммобілізації

($M \pm m$)

Класи клітин лімфоїдної популяції	Нормальні клітини	Клітини з ознаками деструкції
Контроль		
Лімфобласти	4,65±0,25%	1,82±0,18%
Великі лімфоцити	20,4±0,52%	4,58±0,25%
Середні лімфоцити	26,7±0,62%	2,43±0,23%
Малі лімфоцити	35,4±1,06%	3,32±0,22%
Апоптотичні клітини	0,71±0,12%	
Іммобілізація контрольних		
Лімфобласти	4,50±0,33%	1,34±0,15% ^a
Великі лімфоцити	17,5±0,71% ^a	4,56±0,35%
Середні лімфоцити	33,2±1,03% ^a	2,57±0,29%
Малі лімфоцити	32,4±1,58%	3,20±0,25%
Апоптотичні клітини	0,65±0,12%	
Пренатальний стрес		
Лімфобласти	4,38±0,24%	2,13±0,17%
Великі лімфоцити	17,7±0,50% ^a	4,39±0,23%
Середні лімфоцити	27,7±0,72%	2,56±0,20%
Малі лімфоцити	38,4±0,99% ^a	2,45±0,20% ^a
Апоптотичні клітини	0,61±0,11%	
Іммобілізація пренатально стресованих		
Лімфобласти	5,45±0,43% ^b	2,24±0,30%
Великі лімфоцити	24,3±0,92% ^b	5,18±0,24% ^b
Середні лімфоцити	31,2±0,81% ^b	2,55±0,31%
Малі лімфоцити	26,1±1,46% ^b	2,55±0,32%
Апоптотичні клітини	0,51±0,15%	

Пренатальні стресорні модифікації відсоткового розподілу лімфоцитів у залозі ставали особливо помітними після оцінки постімобілізаційних змін. У субкапсулярній зоні тимуса контрольних щурів вони полягали у вірогідному зниженні відсотка нормальних великих і середніх лімфоцитів та в збільшенні відсотка малих незмінених клітин і апоптотичних клітин. У щурів з пренатальним стрес-синдромом також мало місце зниження відсоткового вмісту нормальних великих і середніх та зростання – малих лімфоцитів, однак на відміну від контрольних знижувався відсоток деструктивних великих і малих лімфоцитів і не було змін з боку апоптотичних клітин. У глибокій корі тимуса контрольних тварин імобілізація спричиняла зменшення відсотка нормальних великих та середніх лімфоцитів, деструктивних великих та малих. Вміст нормальних лімфобластів та малих лімфоцитів зростав. У тварин із синдромом пренатального стресу зростав відсоток нормальних малих лімфоцитів й апоптотичних клітин та знижувався - нормальних великих, середніх і деструктивних великих.

Особливо виразно постстресорний розподіл клітин у контрольних та дослідних тварин відрізнявся у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах. У контрольних тварин після імобілізації знижувався відсоток всіх нормальних клітин, за винятком малих лімфоцитів (їх відсоток зростав). Зменшувався також цей показник стосовно деструктивних середніх лімфоцитів. У пренатально стресованих тварин постстресорні зміни полягали в зниженні відсотка малих деструктивних клітин.

Реакція на імобілізацію в контрольних тварин була найнижчою в медулярній зоні, де знижувався відсоток великих та зростав відсоток середніх незмінених лімфоцитів при зниженні відсотка деструктивних лімфобластів. У той же час саме в цій зоні пренатально стресованих тварин стрес-індуковані зміни були найбільш вираженими й полягали в значному зростанні відсотка всіх видів нормальних та великих деструктивних клітин. Лише відсоток малих незмінених лімфоцитів знижувався.

Аналіз морфометричних параметрів лімфоїдних клітин на прикладі субкапсулярної зони показав, що найбільшою величиною площі характеризуються лімфобласти (рис. 4.1- 4.2).

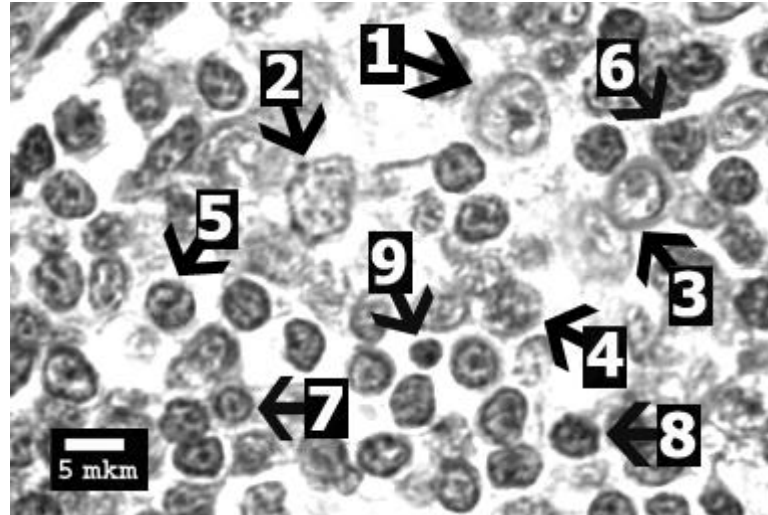


Рис. 4.1. Вилочкова залоза контрольного щура (гематоксилін-еозин, об'єктив 100^x. Цифрами на рис. позначено:

1) лімфобласт, площа (П) 37,8 мкм², коефіцієнт форми (КФ) 0,82, коефіцієнт елонгації (КЕ) 0,72, оптична щільність (ОЩ) 0,17 E_{оп};

2) дегенеруючий лімфобласт, П=38,1 мкм², КФ=0,60, КЕ=0,54, ОЩ=0,16 E_{оп};

3) великий лімфоцит, П=20,9 мкм², КФ=0,85, КЕ=0,74, ОЩ=0,19 E_{оп};

4) дегенеруючий великий лімфоцит, П=21,2 мкм², КФ=0,67, КЕ=0,53, ОЩ=0,17 E_{оп};

5) середній лімфоцит, П=13,1 мкм², КФ=0,87, КЕ=0,76, ОЩ=0,21 E_{оп};

6) дегенеруючий середній лімфоцит, П=13,5 мкм², КФ=0,70, КЕ=0,53, ОЩ=0,19 E_{оп};

7) малий лімфоцит, П=8,02 мкм², КФ=0,87, КЕ=0,76, ОЩ=0,21 E_{оп};

8) дегенеруючий малий лімфоцит, П=8,5 мкм², КФ=0,74, КЕ=0,53, ОЩ=0,20 E_{оп};

9) апоптотичний лімфоцит, П=4,9 мкм², КФ=0,927, КЕ=0,806, ОЩ=0,21 E_{оп};

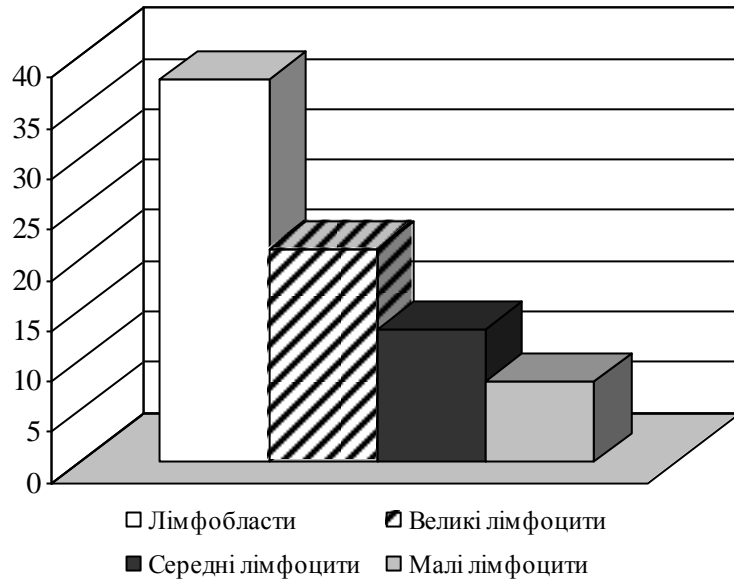


Рис. 4.1. Площа клітин лімфоїдної популяції субкапсулярної зони тимуса (мкм²)

Вона перевищувала площу великих, середніх та малих лімфоцитів в 1,8, 2,9, 4,7 рази відповідно.

Подібна закономірність простежувалася для такого показника, як периметр (рис.4.2).

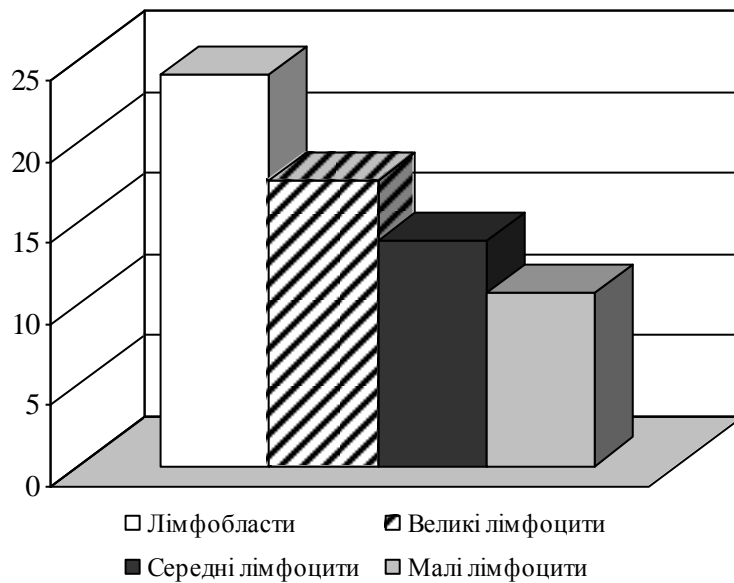


Рис. 4.2. Периметр клітин лімфоїдної популяції субкапсулярної зони тимуса (мкм)

У лімфобластів він був вищим в 1,4, 1,7, 2,3 раза ніж у великих, середніх та малих лімфоцитів відповідно.

Коефіцієнт форми, який може приймати значення від 1 для ідеально округлих клітин до 0 для клітин з максимально вираженою складчатістю клітинної мембрани, яка утворюється за рахунок глибоких інвагінацій, зростав у зворотному напрямку - від малих і середніх лімфоцитів до великих і лімфобластів. В останніх він був мінімальним (рис.4. 3).

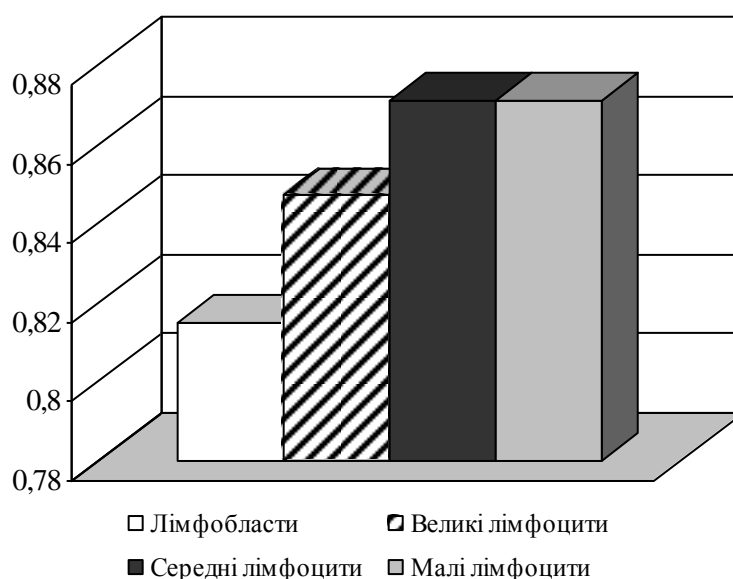


Рис. 4.3. Коефіцієнт форми клітин лімфоїдної популяції субкапсулярної зони тимуса

Коефіцієнт елонгації, який характеризує ступінь "видовженості" об'єкту й приймає значення від 1 для ідеально округлих клітин до 0 для максимально видовжених, був найменшим у лімфобластів, дещо вищим у великих лімфоцитів та максимальним і приблизно рівним у середніх і малих (рис. 4.4).

З представлених вище даних видно, що кожний диференційований клас лімфоцитів містить клітини, які мають ознаки деструкції. У контрольних тварин їх доля в загальній популяції лімфоїдних клітин склала близько 13%.

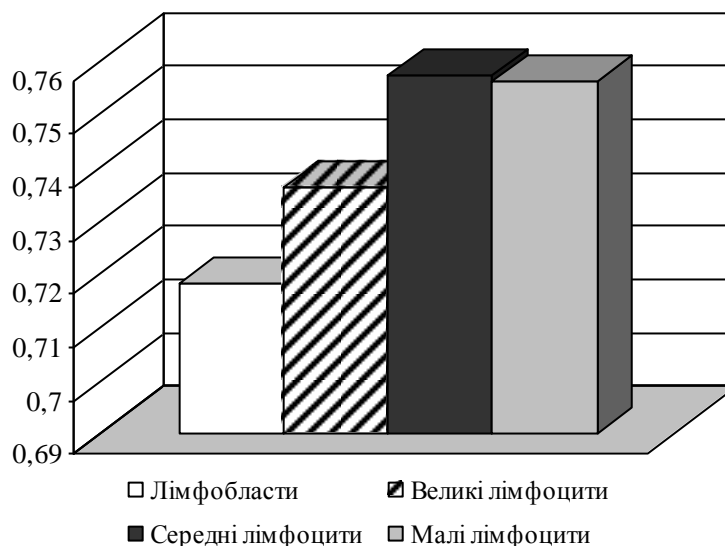


Рис. 4.4. Коефіцієнт елонгації клітин лімфоїдної популяції субкапсулярної зони тимуса

Характерним для цих клітин є стійке та виражене на (25-30%) зниження коефіцієнтів форми та елонгації як у контрольних, так і в дослідних тварин. У тварин контрольної групи деструктивні клітини, незалежно від класу, характеризувалися також сталим підвищенням площі та периметру.

Наслідком антигенної селекції Т-лімфоцитів з елімінацією автоагресивних клонів є апоптоз тимоцитів [257]. У наших дослідженнях у загальній структурі лімфоїдних клітин контрольних тварин апоптотичні клітини становлять трохи більше 1%. За морфометричними ознаками вони відрізняються від решти клітин значно меншою площею, яка приблизно вдвічі нижча, ніж у малих лімфоцитів, а також значно вищими показниками оптичної щільності.

Аналіз впливу пренатального стресу на морфометричні характеристики клітин лімфоїдної популяції в субкапсулярній зоні не виявив масових змін щодо ідентичних параметрів у тварин контрольної групи (табл.4.13-1.4.16).

Таблиця 4.13

Вплив іммобілізації на морфометричні параметри лімфобластів у субкапсулярній зоні тимуса щурів ($M \pm m$)

Група спостереження	Площа, мкм ²	Периметр, мкм	Коефіцієнт форми	Коефіцієнт елонгації
Контроль	$\frac{37,8 \pm 0,54}{38,1 \pm 0,80}$	$\frac{24,1 \pm 0,20}{28,6 \pm 0,49}$	$\frac{0,815 \pm 0,006}{0,603 \pm 0,014}$	$\frac{0,718 \pm 0,006}{0,543 \pm 0,010}$
Іммобілізація контрольних	$\frac{39,8 \pm 0,62^a}{37,8 \pm 0,61}$	$\frac{25,0 \pm 0,21^a}{27,6 \pm 0,37}$	$\frac{0,801 \pm 0,006}{0,637 \pm 0,011}$	$\frac{0,716 \pm 0,006}{0,520 \pm 0,009}$
Пренатальний стрес	$\frac{38,2 \pm 0,49}{39,7 \pm 0,88}$	$\frac{24,1 \pm 0,18}{28,9 \pm 0,49}$	$\frac{0,824 \pm 0,005}{0,613 \pm 0,013}$	$\frac{0,728 \pm 0,005}{0,538 \pm 0,009}$
Іммобілізація пренатально стресованих	$\frac{39,3 \pm 0,56}{40,7 \pm 0,79}$	$\frac{24,6 \pm 0,21}{28,7 \pm 0,43}$	$\frac{0,814 \pm 0,006}{0,635 \pm 0,010}$	$\frac{0,734 \pm 0,006}{0,524 \pm 0,008}$

Примітки: у табл. 4.13-4.16 - вірогідність змін щодо показників – а – в контрольних тварин; б – у тварин з синдромом пренатального стресу; в чисельнику – параметри нормальних клітин, у знаменнику – деструктивно змінених

Вони обмежувалися деяким зростанням периметру нормальних середніх лімфоцитів та змінами коефіцієнту елонгації нормальних і деструктивних малих лімфоцитів.

Іммобілізація контрольних тварин призвела до збільшення площі та периметру нормальних лімфобластів і коефіцієнтів форми й елонгації малих лімфоцитів у субкапсулярній зоні залози (табл.4.13-4.16).

Постстресорні зміни у тварин дослідної групи полягали в зменшенні коефіцієнта форми деструктивних великих лімфоцитів, периметру нормальних малих лімфоцитів і зростанні їх коефіцієнтів форми та елонгації. Останній показник знижувався в деструктивних клітин даного типу.

Таблиця 4.14

Вплив іммобілізації на морфометричні параметри великих лімфоцитів у субкапсулярній зоні тимуса щурів ($M \pm m$)

Група спостереження	Площа, мкм^2	Периметр, мкм	Коефіцієнт форми	Коефіцієнт елонгації
Контроль	<u>20,9±0,13</u>	<u>17,6±0,07</u>	<u>0,847±0,002</u>	<u>0,736±0,003</u>
	21,2±0,27	20,1±0,20	0,665±0,007	0,533±0,005
Іммобілізація контрольних	<u>20,8±0,13</u>	<u>17,6±0,06</u>	<u>0,846±0,003</u>	<u>0,741±0,003</u>
	21,9±0,26	20,4±0,18	0,669±0,007	0,538±0,004
Пренатальний стрес	<u>21,0±0,12</u>	<u>17,6±0,06</u>	<u>0,846±0,002</u>	<u>0,737±0,003</u>
	21,5±0,23	20,3±0,17	0,667±0,007	0,524±0,004
Іммобілізація пренатально стресованих	<u>20,9±0,12</u>	<u>17,6±0,06</u>	<u>0,851±0,002</u>	<u>0,743±0,003</u>
	22,0±0,26	20,1±0,15	0,686±0,006*	0,534±0,004

Таблиця 4.15

Вплив іммобілізації на морфометричні параметри середніх лімфоцитів у субкапсулярній зоні тимуса ($M \pm m$)

Група спостереження	Площа, мкм^2	Периметр, мкм	Коефіцієнт форми	Коефіцієнт елонгації
Контроль	<u>13,1±0,05</u>	<u>13,8±0,03</u>	<u>0,871±0,002</u>	<u>0,757±0,002</u>
	13,5±0,13	15,6±0,12	0,700±0,009	0,527±0,005
Іммобілізація контрольних	<u>13,1±0,04</u>	<u>13,8±0,03</u>	<u>0,868±0,002</u>	<u>0,756±0,002</u>
	13,3±0,11	15,4±0,11	0,705±0,07	0,530±0,004
Пренатальний стрес	<u>13,2±0,04</u>	<u>13,9±0,03[^]</u>	<u>0,867±0,002</u>	<u>0,755±0,002</u>
	13,4±0,11	15,5±0,10	0,709±0,007	0,530±0,004
Іммобілізація пренатально стресованих	<u>13,1±0,04</u>	<u>13,8±0,03</u>	<u>0,869±0,002</u>	<u>0,757±0,002</u>
	13,3±0,12	15,6±0,11	0,694±0,007	0,526±0,004

Таблиця 4.16

Вплив іммобілізації на морфометричні параметри малих лімфоцитів у субкапсулярній зоні тимуса ($M \pm m$)

Група спостереження	Площа, мкм ²	Периметр, мкм	Коефіцієнт форми	Коефіцієнт елонгації
Контроль	<u>8,04±0,04</u>	<u>10,7±0,03</u>	<u>0,871±0,001</u>	<u>0,756±0,002</u>
	8,51±0,13	12,0±0,12	0,744±0,006	0,534±0,004
Іммобілізація контрольних	<u>8,06±0,03</u>	<u>10,7±0,02</u>	<u>0,884±0,001^{^^}</u>	<u>0,764±0,001[^]</u>
	8,79±0,11	12,2±0,10	0,742±0,005	0,539±0,003
Пренатальний стрес	<u>8,02±0,04</u>	<u>10,7±0,03</u>	<u>0,867±0,001</u>	<u>0,743±0,002[^]</u>
	8,58±0,11	12,0±0,09	0,750±0,004	0,544±0,003 [^]
Іммобілізація пренатально стресованих	<u>7,95±0,03</u>	<u>10,6±0,02*</u>	<u>0,881±0,001*</u>	<u>0,761±0,001*</u>
	8,57±0,11	12,0±0,10	0,747±0,005	0,533±0,003*

У глибокій корі тимуса пренатально стресованих тварин не виявлено жодних модифікацій морфометричних параметрів лімфобластів, великих та середніх лімфоцитів (нормальних та деструктивних) (табл. 4.17- 4.19).

Таблиця 4.17

Вплив іммобілізації на морфометричні параметри лімфобластів у глибокій корі тимуса щурів ($M \pm m$)

Група спостереження	Площа, мкм ²	Периметр, мкм	Коефіцієнт форми	Коефіцієнт елонгації
Контроль	<u>37,8±0,52</u>	<u>24,5±0,21</u>	<u>0,791±0,006</u>	<u>0,724±0,006</u>
	38,5±0,70	28,2±0,40	0,618±0,011	0,547±0,009
Іммобілізація контрольних	<u>38,8±0,51</u>	<u>24,6±0,20</u>	<u>0,804±0,005</u>	<u>0,715±0,005</u>
	39,8±0,75	27,5±0,34	0,671±0,009 [^]	0,526±0,006
Пренатальний стрес	<u>37,3±0,52</u>	<u>24,3±0,20</u>	<u>0,797±0,006</u>	<u>0,721±0,006</u>
	38,1±0,67	28,2±0,42	0,618±0,012	0,535±0,009
Іммобілізація пренатально стресованих	<u>37,7±0,50</u>	<u>24,3±0,19</u>	<u>0,799±0,006</u>	<u>0,714±0,006</u>
	39,6±0,70	28,6±0,44	0,626±0,012	0,537±0,009

Таблиця 4.18
Вплив іммобілізації на морфометричні параметри великих лімфоцитів у
глибокій корі тимуса щурів ($M \pm m$)

Група спостереження	Площа, мкм ²	Периметр, мкм	Коефіцієнт форми	Коефіцієнт елонгації
Контроль	$\frac{20,6 \pm 0,12}{21,4 \pm 0,22}$	$\frac{17,6 \pm 0,06}{20,1 \pm 0,14}$	$\frac{0,842 \pm 0,002}{0,675 \pm 0,005}$	$\frac{0,734 \pm 0,003}{0,532 \pm 0,004}$
Іммобілізація контрольних	$\frac{21,0 \pm 0,14}{21,2 \pm 0,23}$	$\frac{17,7 \pm 0,06}{19,8 \pm 0,16}$	$\frac{0,841 \pm 0,002}{0,690 \pm 0,006}$	$\frac{0,732 \pm 0,003}{0,537 \pm 0,004}$
Пренатальний стрес	$\frac{20,8 \pm 0,13}{21,6 \pm 0,23}$	$\frac{17,6 \pm 0,06}{20,2 \pm 0,17}$	$\frac{0,840 \pm 0,003}{0,672 \pm 0,005}$	$\frac{0,734 \pm 0,003}{0,530 \pm 0,004}$
Іммобілізація пренатально стресованих	$\frac{20,9 \pm 0,13}{21,6 \pm 0,24}$	$\frac{17,7 \pm 0,06}{20,3 \pm 0,17}$	$\frac{0,839 \pm 0,002}{0,666 \pm 0,006}$	$\frac{0,734 \pm 0,003}{0,532 \pm 0,004}$

Таблиця 4. 19
Вплив іммобілізації на морфометричні параметри середніх лімфоцитів у
глибокій корі тимуса щурів ($M \pm m$)

Група спостереження	Площа, мкм ²	Периметр, мкм	Коефіцієнт форми	Коефіцієнт елонгації
Контроль	$\frac{13,1 \pm 0,04}{13,4 \pm 0,10}$	$\frac{13,8 \pm 0,03}{15,4 \pm 0,09}$	$\frac{0,868 \pm 0,002}{0,714 \pm 0,006}$	$\frac{0,756 \pm 0,002}{0,535 \pm 0,004}$
Іммобілізація контрольних	$\frac{13,2 \pm 0,04}{13,7 \pm 0,10^\wedge}$	$\frac{13,9 \pm 0,03^\wedge}{15,6 \pm 0,09}$	$\frac{0,865 \pm 0,002}{0,712 \pm 0,006}$	$\frac{0,744 \pm 0,003^\wedge}{0,529 \pm 0,004}$
Пренатальний стрес	$\frac{13,1 \pm 0,04}{13,4 \pm 0,11}$	$\frac{13,8 \pm 0,03}{15,6 \pm 0,10}$	$\frac{0,867 \pm 0,002}{0,697 \pm 0,006}$	$\frac{0,757 \pm 0,002}{0,523 \pm 0,004^\wedge}$
Іммобілізація пренатально стресованих	$\frac{13,1 \pm 0,04}{13,4 \pm 0,10}$	$\frac{13,8 \pm 0,03}{15,5 \pm 0,10}$	$\frac{0,864 \pm 0,002}{0,706 \pm 0,007}$	$\frac{0,751 \pm 0,002}{0,527 \pm 0,004}$

У той же час тотальних змін зазнавали морфометричні характеристики незмінених малих лімфоцитів – вірогідно зростала їх площа та периметр при

одночасному зменшенні коефіцієнтів форми та елонгації. Крім того, останній параметр знижувався у деструктивних середніх лімфоцитів (табл.4.20).

Таблиця 4.20

Вплив іммобілізації на морфометричні параметри малих лімфоцитів у
глибокій корі тимуса щурів ($M \pm m$)

Група спостереження	Площа, мкм ²	Периметр, мкм	Коефіцієнт форми	Коефіцієнт елонгації
Контроль	$\frac{7,88 \pm 0,03}{8,73 \pm 0,10}$	$\frac{10,5 \pm 0,02}{12,2 \pm 0,08}$	$\frac{0,880 \pm 0,001}{0,743 \pm 0,004}$	$\frac{0,759 \pm 0,001}{0,537 \pm 0,002}$
Іммобілізація контрольних	$\frac{7,74 \pm 0,03^{\wedge}}{8,73 \pm 0,11}$	$\frac{10,4 \pm 0,02^{\wedge}}{12,1 \pm 0,10}$	$\frac{0,888 \pm 0,001^{\wedge}}{0,747 \pm 0,005}$	$\frac{0,769 \pm 0,001^{\wedge}}{0,540 \pm 0,003}$
Пренатальний стрес	$\frac{8,04 \pm 0,03^{\wedge}}{8,54 \pm 0,10}$	$\frac{10,7 \pm 0,03^{\wedge}}{12,0 \pm 0,09}$	$\frac{0,872 \pm 0,001^{\wedge}}{0,749 \pm 0,004}$	$\frac{0,754 \pm 0,002^{\wedge}}{0,543 \pm 0,003}$
Іммобілізація пренатально стресованих	$\frac{7,90 \pm 0,03^*}{8,61 \pm 0,09}$	$\frac{10,6 \pm 0,02^*}{12,1 \pm 0,08}$	$\frac{0,879 \pm 0,001^*}{0,736 \pm 0,004^*}$	$\frac{0,757 \pm 0,001}{0,534 \pm 0,003^*}$

У глибокій корі контрольних щурів у відповідь на іммобілізацію спостерігалось деяке зростання площі деструктивних та периметру нормальних середніх лімфоцитів, зниження коефіцієнта елонгації останніх. Особливо значні постстресорні зміни торкнулися малих лімфоцитів – у них мало місце зниження площі та периметру при зростанні коефіцієнтів форми та елонгації. У тварин з пренатальним стрес-синдромом іммобілізація вплинула на морфометричні параметри лише малих лімфоцитів – нормальні клітини даної популяції зазнали зменшення площі та периметру й зростання коефіцієнта форми, а в деструктивних клітин зменшилися коефіцієнти форми та елонгації.

У внутрішньочасточкових периваскулярних просторах пренатальний стрес не впливав на морфометричні параметри лімфобластів та знижував коефіцієнт елонгації великих лімфоцитів (табл.4.21 – 4.22).

Таблиця 4.21

Вплив іммобілізації на морфометричні параметри лімфобластів у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах тимуса щурів ($M \pm m$)

Група спостереження	Площа, мкм ²	Периметр, мкм	Коефіцієнт форми	Коефіцієнт елонгації
Контроль	$\frac{38,8 \pm 0,47}{39,1 \pm 0,82}$	$\frac{24,4 \pm 0,17}{27,4 \pm 0,37}$	$\frac{0,821 \pm 0,005}{0,659 \pm 0,010}$	$\frac{0,727 \pm 0,005}{0,529 \pm 0,007}$
Іммобілізація контрольних	$\frac{38,7 \pm 0,50}{38,7 \pm 0,71}$	$\frac{24,4 \pm 0,18}{28,1 \pm 0,39}$	$\frac{0,816 \pm 0,005}{0,629 \pm 0,011^\wedge}$	$\frac{0,720 \pm 0,005}{0,522 \pm 0,008}$
Пренатальний стрес	$\frac{38,6 \pm 0,52}{38,0 \pm 0,60}$	$\frac{24,4 \pm 0,19}{27,4 \pm 0,37}$	$\frac{0,818 \pm 0,005}{0,653 \pm 0,011}$	$\frac{0,717 \pm 0,005}{0,542 \pm 0,007}$
Іммобілізація пренатально стресованих	$\frac{39,8 \pm 0,58}{38,9 \pm 0,75}$	$\frac{24,8 \pm 0,20}{28,5 \pm 0,46}$	$\frac{0,812 \pm 0,005}{0,619 \pm 0,012^*}$	$\frac{0,718 \pm 0,006}{0,532 \pm 0,008}$

Таблиця 4.22

Вплив іммобілізації на морфометричні параметри великих лімфоцитів у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах тимуса щурів ($M \pm m$)

Група спостереження	Площа, мкм ²	Периметр, мкм	Коефіцієнт форми	Коефіцієнт елонгації
Контроль	$\frac{20,7 \pm 0,12}{21,8 \pm 0,27}$	$\frac{17,3 \pm 0,06}{20,0 \pm 0,17}$	$\frac{0,865 \pm 0,002}{0,691 \pm 0,007}$	$\frac{0,747 \pm 0,003}{0,517 \pm 0,004}$
Іммобілізація контрольних	$\frac{20,9 \pm 0,13}{21,4 \pm 0,26}$	$\frac{17,6 \pm 0,06^\wedge}{20,1 \pm 0,17}$	$\frac{0,844 \pm 0,002^\wedge}{0,671 \pm 0,006^\wedge}$	$\frac{0,738 \pm 0,003^\wedge}{0,530 \pm 0,005^\wedge}$
Пренатальний стрес	$\frac{20,6 \pm 0,12}{21,3 \pm 0,24}$	$\frac{17,4 \pm 0,06}{19,9 \pm 0,17}$	$\frac{0,854 \pm 0,002}{0,685 \pm 0,006}$	$\frac{0,748 \pm 0,003}{0,531 \pm 0,004^\wedge}$
Іммобілізація пренатально стресованих	$\frac{20,6 \pm 0,12}{21,7 \pm 0,24}$	$\frac{17,4 \pm 0,06}{20,4 \pm 0,18^*}$	$\frac{0,854 \pm 0,002}{0,666 \pm 0,007}$	$\frac{0,748 \pm 0,003}{0,539 \pm 0,005}$

Однак у цій зоні пренатальний стрес викликав модифікації морфометричних показників середніх лімфоцитів, що проявлялося

зростанням периметру нормальних та деструктивних клітин і зниженням коефіцієнта форми (табл.4.23).

Таблиця 4.23

Вплив іммобілізації на морфометричні параметри середніх лімфоцитів у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах тимуса щурів ($M \pm m$)

Група спостереження	Площа, мкм^2	Периметр, мкм	Коефіцієнт форми	Коефіцієнт елонгації
Контроль	$\frac{13,1 \pm 0,04}{13,5 \pm 0,10}$	$\frac{13,7 \pm 0,02}{15,2 \pm 0,09}$	$\frac{0,886 \pm 0,001}{0,736 \pm 0,006}$	$\frac{0,765 \pm 0,002}{0,532 \pm 0,004}$
Іммобілізація контрольних	$\frac{13,1 \pm 0,04}{13,5 \pm 0,12}$	$\frac{13,7 \pm 0,03}{15,4 \pm 0,10}$	$\frac{0,876 \pm 0,002^\wedge}{0,715 \pm 0,006^\wedge}$	$\frac{0,761 \pm 0,002}{0,540 \pm 0,004}$
Пренатальний стрес	$\frac{13,2 \pm 0,04}{13,4 \pm 0,11}$	$\frac{13,8 \pm 0,03^\wedge}{15,6 \pm 0,10^\wedge}$	$\frac{0,876 \pm 0,002^\wedge}{0,701 \pm 0,006^\wedge}$	$\frac{0,763 \pm 0,002}{0,524 \pm 0,004}$
Іммобілізація пренатально стресованих	$\frac{12,9 \pm 0,04^*}{13,4 \pm 0,11}$	$\frac{13,6 \pm 0,02^*}{15,6 \pm 0,11}$	$\frac{0,882 \pm 0,001^*}{0,699 \pm 0,007}$	$\frac{0,775 \pm 0,002}{0,539 \pm 0,005}$

У внутрішньочасточкових периваскулярних просторах пренатально стресованих тварин також мало місце зростання периметру незмінених малих лімфоцитів та зниження їх коефіцієнта форми (табл. 4.24)

Іммобілізація контрольних тварин найбільш виражений вплив у даній зоні тимуса мала на морфометричні показники нормальних великих лімфоцитів. У них зріс периметр та зменшилися коефіцієнти форми й елонгації. Крім того, зменшився коефіцієнт форми та зріс коефіцієнт елонгації у деструктивних великих лімфоцитів. У популяції середніх нормальних та деструктивних лімфоцитів знизився коефіцієнт форми, а малих незмінених – зріс коефіцієнт елонгації. У пренатально стресованих тварин найбільш значні зміни іммобілізація справила в популяціях нормальних середніх (знизилась площа та периметр і зріс коефіцієнт форми) та малих лімфоцитів (зросли всі параметри нормальних клітин).

Таблиця 4.24

Вплив іммобілізації на морфометричні параметри малих лімфоцитів у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах тимуса щурів ($M \pm m$)

Група спостереження	Площа, $\mu\text{м}^2$	Периметр, $\mu\text{м}$	Коефіцієнт форми	Коефіцієнт елонгації
Контроль	$\frac{8,06 \pm 0,03}{8,71 \pm 0,14}$	$\frac{10,6 \pm 0,02}{12,0 \pm 0,13}$	$\frac{0,892 \pm 0,001}{0,758 \pm 0,006}$	$\frac{0,766 \pm 0,001}{0,540 \pm 0,004}$
Іммобілізація контрольних	$\frac{8,06 \pm 0,03}{8,61 \pm 0,13}$	$\frac{10,6 \pm 0,02}{12,0 \pm 0,12}$	$\frac{0,892 \pm 0,001}{0,747 \pm 0,005}$	$\frac{0,772 \pm 0,001^\wedge}{0,543 \pm 0,003}$
Пренатальний стрес	$\frac{8,07 \pm 0,03}{8,77 \pm 0,10}$	$\frac{10,7 \pm 0,02^\wedge}{12,1 \pm 0,09}$	$\frac{0,883 \pm 0,001^\wedge}{0,746 \pm 0,004}$	$\frac{0,763 \pm 0,002}{0,536 \pm 0,003}$
Іммобілізація пренатально стресованих	$\frac{8,33 \pm 0,03^*}{8,81 \pm 0,12}$	$\frac{10,8 \pm 0,02^*}{12,3 \pm 0,11}$	$\frac{0,887 \pm 0,001^*}{0,733 \pm 0,006}$	$\frac{0,772 \pm 0,001^*}{0,542 \pm 0,004}$

У медулярній зоні тимуса тварин з пренатальним стрес-синдромом зменшувалась площа лімфобластів (табл. 4.25), а параметри великих лімфоцитів залишалися незмінними (табл. 4.26).

Таблиця 4.25

Вплив іммобілізації на морфометричні параметри лімфобластів у медулярній зоні тимуса щурів ($M \pm m$)

Група спостереження	Площа, $\mu\text{м}^2$	Периметр, $\mu\text{м}$	Коефіцієнт форми	Коефіцієнт елонгації
Контроль	$\frac{39,8 \pm 0,54}{39,4 \pm 0,78}$	$\frac{24,7 \pm 0,18}{27,5 \pm 0,47}$	$\frac{0,818 \pm 0,004}{0,672 \pm 0,013}$	$\frac{0,709 \pm 0,005}{0,532 \pm 0,008}$
Іммобілізація контрольних	$\frac{38,7 \pm 0,51}{39,6 \pm 1,10}$	$\frac{24,2 \pm 0,18}{28,2 \pm 0,56}$	$\frac{0,827 \pm 0,005}{0,639 \pm 0,015}$	$\frac{0,733 \pm 0,005^\wedge}{0,534 \pm 0,010}$
Пренатальний стрес	$\frac{38,3 \pm 0,47^\wedge}{39,8 \pm 0,66}$	$\frac{24,3 \pm 0,19}{28,3 \pm 0,44}$	$\frac{0,818 \pm 0,005}{0,648 \pm 0,013}$	$\frac{0,722 \pm 0,005}{0,541 \pm 0,008}$
Іммобілізація пренатально стресованих	$\frac{38,4 \pm 0,47}{39,4 \pm 0,72}$	$\frac{24,1 \pm 0,18}{28,5 \pm 0,43}$	$\frac{0,826 \pm 0,005}{0,625 \pm 0,012}$	$\frac{0,726 \pm 0,005}{0,538 \pm 0,008}$

Таблиця 4.26
Вплив іммобілізації на морфометричні параметри великих лімфоцитів у
медулярній зоні тимуса щурів ($M \pm m$)

Група спостереження	Площа, мкм ²	Периметр, мкм	Коефіцієнт форми	Коефіцієнт елонгації
Контроль	$\frac{20,8 \pm 0,12}{22,0 \pm 0,26}$	$\frac{17,4 \pm 0,06}{20,4 \pm 0,18}$	$\frac{0,861 \pm 0,002}{0,671 \pm 0,007}$	$\frac{0,748 \pm 0,002}{0,527 \pm 0,004}$
Іммобілізація контрольних	$\frac{20,6 \pm 0,13}{21,3 \pm 0,26}$	$\frac{17,3 \pm 0,06}{20,0 \pm 0,19}$	$\frac{0,867 \pm 0,002}{0,678 \pm 0,007}$	$\frac{0,753 \pm 0,003}{0,531 \pm 0,004}$
Пренатальний стрес	$\frac{20,7 \pm 0,12}{22,0 \pm 0,26}$	$\frac{17,4 \pm 0,06}{20,5 \pm 0,19}$	$\frac{0,857 \pm 0,002}{0,671 \pm 0,007}$	$\frac{0,742 \pm 0,003}{0,528 \pm 0,004}$
Іммобілізація пренатально стресованих	$\frac{20,4 \pm 0,11}{21,3 \pm 0,25}$	$\frac{17,1 \pm 0,05^*}{20,4 \pm 0,19}$	$\frac{0,872 \pm 0,002^*}{0,655 \pm 0,008}$	$\frac{0,756 \pm 0,002^*}{0,534 \pm 0,005}$

Найбільш виражені зміни морфометричних параметрів тимоцитів даної зони стосувалися середніх лімфоцитів (табл.4.27).

Таблиця 4.27
Вплив іммобілізації на морфометричні параметри середніх лімфоцитів у
медулярній зоні тимуса щурів ($M \pm m$)

Група спостереження	Площа, мкм ²	Периметр, мкм	Коефіцієнт форми	Коефіцієнт елонгації
Контроль	$\frac{13,2 \pm 0,04}{13,6 \pm 0,13}$	$\frac{13,6 \pm 0,02}{15,7 \pm 0,12}$	$\frac{0,890 \pm 0,001}{0,702 \pm 0,009}$	$\frac{0,774 \pm 0,002}{0,521 \pm 0,005}$
Іммобілізація контрольних	$\frac{13,1 \pm 0,04}{13,3 \pm 0,12}$	$\frac{13,6 \pm 0,02}{15,5 \pm 0,13}$	$\frac{0,893 \pm 0,001}{0,703 \pm 0,009}$	$\frac{0,774 \pm 0,002}{0,541 \pm 0,007^{\wedge}}$
Пренатальний стрес	$\frac{13,0 \pm 0,03^{\wedge}}{13,2 \pm 0,12^{\wedge}}$	$\frac{13,5 \pm 0,02^{\wedge}}{15,6 \pm 0,12}$	$\frac{0,888 \pm 0,001}{0,692 \pm 0,008}$	$\frac{0,771 \pm 0,002}{0,520 \pm 0,005}$
Іммобілізація пренатально стресованих	$\frac{13,3 \pm 0,04^*}{13,8 \pm 0,13^*}$	$\frac{13,7 \pm 0,02^*}{16,0 \pm 0,13^*}$	$\frac{0,892 \pm 0,001}{0,686 \pm 0,009}$	$\frac{0,781 \pm 0,002^*}{0,523 \pm 0,007}$

Вони полягали в зменшенні площі і периметру незмінених клітин та площі деструктивних. Зростали також площа та периметр нормальних малих лімфоцитів (табл. 4.28).

Таблиця 4.28

Вплив іммобілізації на морфометричні параметри малих лімфоцитів у медулярній зоні тимуса щурів ($M \pm m$)

Група спостереження	Площа, мкм^2	Периметр, мкм	Коефіцієнт форми	Коефіцієнт елонгації
Контроль	$8,37 \pm 0,04$ $8,75 \pm 0,13$	$10,8 \pm 0,02$ $12,2 \pm 0,12$	$0,887 \pm 0,001$ $0,743 \pm 0,005$	$0,767 \pm 0,002$ $0,532 \pm 0,003$
Іммобілізація контрольних	$8,53 \pm 0,04^{\wedge}$ $8,56 \pm 0,13$	$11,0 \pm 0,03^{\wedge}$ $11,9 \pm 0,12$	$0,886 \pm 0,001$ $0,751 \pm 0,005$	$0,766 \pm 0,002$ $0,542 \pm 0,003^{\wedge}$
Пренатальний стрес	$8,50 \pm 0,03^{\wedge}$ $8,57 \pm 0,15$	$11,0 \pm 0,02^{\wedge}$ $12,0 \pm 0,13$	$0,886 \pm 0,001$ $0,748 \pm 0,006$	$0,767 \pm 0,001$ $0,539 \pm 0,004$
Іммобілізація пренатально стресованих	$8,54 \pm 0,05$ $8,55 \pm 0,14$	$11,03 \pm 0,03^*$ $12,1 \pm 0,12$	$0,877 \pm 0,002^*$ $0,739 \pm 0,007$	$0,763 \pm 0,002$ $0,528 \pm 0,005$

Вплив іммобілізації на лімфоцити медулярної зони у контрольних тварин полягав у зростанні коефіцієнта елонгації нормальних лімфобластів та деструктивних середніх і малих лімфоцитів. Крім того, зросли площа та периметр нормальних малих лімфоцитів.

У тварин із синдромом пренатального стресу постіммобілізаційні зміни морфометричних характеристик були більш обширними. У популяції великих незмінених лімфоцитів зменшувався периметр, зростали коефіцієнти площі та елонгації. Збільшувалися площа, периметр та коефіцієнт елонгації нормальних середніх лімфоцитів та площа й периметр деструктивних клітин даного типу. Зростала площа та знижувався коефіцієнт форми нормальних малих лімфоцитів.

Щодо денситометричних характеристик клітин лімфоїдної популяції тимуса, то у всіх серіях досліджень прослідковувалася загальна

закономірність – зростання оптичної щільності по мірі диференціації клітин (табл. 4.29 – 4.32).

Таблиця 4.29

Вплив іммобілізації на денситометричну зарактеристику клітин лімфоїдної популяції в субкапсулярній зоні тимуса щурів ($M \pm m$)

Група спостереження	Класи клітин лімфоїдної популяції	Нормальні клітини	Клітини з ознаками деструкції
Контроль	Лімфобласти	0,167±0,002	0,156±0,002
	Великі лімфоцити	0,191±0,001	0,173±0,003
	Середні лімфоцити	0,206±0,001	0,188±0,003
	Малі лімфоцити	0,211±0,0005	0,202±0,002
	Апоптотичні клітини	0,212±0,003	
Іммобілізація контрольних	Лімфобласти	0,141±0,002 [^]	0,134±0,003 [^]
	Великі лімфоцити	0,152±0,001 [^]	0,148±0,003 [^]
	Середні лімфоцити	0,176±0,001 [^]	0,161±0,003 [^]
	Малі лімфоцити	0,186±0,0005 [^]	0,178±0,002 [^]
	Апоптотичні клітини	0,185±0,00 [^]	
Пренатальний стрес	Лімфобласти	0,207±0,003 [^]	0,192±0,003 [^]
	Великі лімфоцити	0,230±0,001 [^]	0,224±0,002 [^]
	Середні лімфоцити	0,252±0,001 [^]	0,230±0,003 [^]
	Малі лімфоцити	0,254±0,001 [^]	0,243±0,002 [^]
	Апоптотичні клітини	0,262±0,003 [^]	
Іммобілізація пренатально стресованих	Лімфобласти	0,235±0,003*	0,224±0,003*
	Великі лімфоцити	0,270±0,002*	0,250±0,004*
	Середні лімфоцити	0,298±0,001*	0,267±0,004*
	Малі лімфоцити	0,303±0,001*	0,300±0,003*
	Апоптотичні клітини	0,310±0,005*	

Ця закономірність справджувалася по відношенню як до нормальних, так і до деструктивних клітин. Таким чином, найменшу оптичну щільність мають лімфобласти, а максимальних значень цей показник сягає в малих лімфоцитів. Ще одна денситометрична закономірність стосується деструктивно змінених лімфоцитів. Для них характерною ознакою є зниження оптичної щільності приблизно на 10-15% порівняно з нормальними клітинами. Особливо сталою та вираженою ця закономірність є стосовно середніх і малих лімфоцитів. Цікаво, що оптична щільність апоптотичних клітин знову зростає до рівня, притаманного нормальним малим лімфоцитам, незважаючи на те, що апоптоз являє собою виражену деструкцію.

Пренатальний стрес посилював оптичну щільність всіх типів нормальних та деструктивних лімфоїдних клітин у субкапсулярній зоні тимуса.

Імобілізаційний стрес у субкапсулярній зоні контрольних тварин знижував оптичну щільність нормальних і деструктивних лімфоцитів на всіх стадіях диференціації, а також апоптотичних клітин.

У пренатально стресованих тварин, навпаки, цей показник зростав у всіх популяціях лімфоцитів, включаючи апоптотичні клітини.

Під впливом пренатального стресу оптична щільність всіх типів нормальних та деструктивних клітин у глибокій корі тимуса зростала (табл. 4.30).

Реакція денситометричних показників на імобілізацію в глибокій корі контрольних щурів була протилежною по відношенню до субкапсулярної зони – оптична щільність зростала для всіх нормальних та деструктивних клітин, за винятком нормальних лімфобластів та апоптотичних клітин.

Імобілізація тварин з пренатальним стрес-синдромом викликала подібну реакцію у великих середніх, малих незмінених клітин та середніх, малих деструктивних лімфоцитів. Крім того, у цій зоні, на відміну від контрольних тварин, зростала оптична щільність апоптотичних клітин.

Таблиця 4.30

Вплив іммобілізації на денситометричну характеристику клітин лімфоїдної популяції в глибокій корі тимуса щурів ($M \pm m$)

Група спостереження	Класи клітин лімфоїдної популяції	Нормальні клітини	Клітини з ознаками деструкції
Контроль	Лімфобласти	0,210±0,004	0,193±0,005
	Великі лімфоцити	0,216±0,002	0,218±0,004
	Середні лімфоцити	0,242±0,002	0,243±0,006
	Малі лімфоцити	0,265±0,001	0,254±0,004
	Апоптотичні клітини	0,282±0,007	
Іммобілізація контрольних	Лімфобласти	0,204±0,002	0,205±0,003 [^]
	Великі лімфоцити	0,237±0,002 [^]	0,236±0,004 [^]
	Середні лімфоцити	0,279±0,002 [^]	0,269±0,004 [^]
	Малі лімфоцити	0,295±0,0005 [^]	0,273±0,003 [^]
	Апоптотичні клітини	0,293±0,002	
Пренатальний стрес	Лімфобласти	0,224±0,003 [^]	0,220±0,0043 [^]
	Великі лімфоцити	0,240±0,002 [^]	0,240±0,003 [^]
	Середні лімфоцити	0,259±0,001 [^]	0,254±0,004
	Малі лімфоцити	0,275±0,001 [^]	0,267±0,003 [^]
	Апоптотичні клітини	0,277±0,007	
Іммобілізація пренатально стресованих	Лімфобласти	0,224±0,003	0,225±0,004
	Великі лімфоцити	0,252±0,002*	0,243±0,003
	Середні лімфоцити	0,276±0,001*	0,277±0,004*
	Малі лімфоцити	0,289±0,0007*	0,287±0,002*
	Апоптотичні клітини	0,296±0,003*	

Пренатальний стрес знижував оптичну щільність всіх популяцій клітин внутрішньочасточкових периваскулярних просторів (табл.4.31).

Таблиця 4.31

Вплив іммобілізації на денситометричну характеристику клітин лімфоїдної популяції внутрішньочасточкових периваскулярних просторів тимуса щурів

($M \pm m$)

Група спостереження	Класи клітин лімфоїдної популяції	Нормальні клітини	Клітини з ознаками деструкції
Контроль	Лімфобласти	0,201±0,003	0,203±0,005
	Великі лімфоцити	0,241±0,002	0,225±0,005
	Середні лімфоцити	0,280±0,001	0,259±0,005
	Малі лімфоцити	0,290±0,001	0,277±0,005
	Апоптотичні клітини	0,305±0,006	
Іммобілізація контрольних	Лімфобласти	0,172±0,002 [^]	0,172±0,003 [^]
	Великі лімфоцити	0,197±0,002 [^]	0,192±0,004 [^]
	Середні лімфоцити	0,232±0,001 [^]	0,218±0,004 [^]
	Малі лімфоцити	0,253±0,0005 [^]	0,231±0,004 [^]
	Апоптотичні клітини	0,249±0,003 [^]	
Пренатальний стрес	Лімфобласти	0,188±0,003 [^]	0,190±0,004 [^]
	Великі лімфоцити	0,211±0,002 [^]	0,208±0,003 [^]
	Середні лімфоцити	0,245±0,001 [^]	0,222±0,004 [^]
	Малі лімфоцити	0,255±0,0007 [^]	0,245±0,003 [^]
	Апоптотичні клітини	0,255±0,003	
Іммобілізація пренатально стресованих	Лімфобласти	0,160±0,003 [*]	0,158±0,004 [*]
	Великі лімфоцити	0,193±0,002 [*]	0,168±0,003
	Середні лімфоцити	0,221±0,001 [*]	0,188±0,004 [*]
	Малі лімфоцити	0,234±0,0007 [*]	0,215±0,004 [*]
	Апоптотичні клітини	0,235±0,004 [*]	

Усі лімфоцити (нормальні, з ознаками деструкції та апоптотичні) внутрішньочасточкових периваскулярних просторів тимуса контрольних та

пренатально стресованих тварин реагували на іммобілізацію зниженням оптичної щільності.

Таблиця 4.32

Вплив іммобілізації на денситометричну характеристику клітин лімфоїдної популяції в медулярній зоні тимуса щурів (M±m)

Група спостереження	Класи клітин лімфоїдної популяції	Нормальні клітини	Клітини з ознаками деструкції
Контроль	Лімфобласти	0,156±0,003	0,154±0,005
	Великі лімфоцити	0,199±0,001	0,167±0,004
	Середні лімфоцити	0,230±0,001	0,189±0,006
	Малі лімфоцити	0,231±0,0009	0,208±0,004
	Апоптотичні клітини	0,238±0,005	
Іммобілізація контрольних	Лімфобласти	0,147±0,002 [^]	0,140±0,004 [^]
	Великі лімфоцити	0,184±0,002 [^]	0,165±0,004
	Середні лімфоцити	0,221±0,001 [^]	0,175±0,005
	Малі лімфоцити	0,226±0,001 [^]	0,204±0,003
	Апоптотичні клітини	0,220±0,004 [^]	
Пренатальний стрес	Лімфобласти	0,151±0,002	0,151±0,004
	Великі лімфоцити	0,192±0,002 [*]	0,166±0,004
	Середні лімфоцити	0,229±0,001	0,175±0,005 [*]
	Малі лімфоцити	0,233±0,0008 [*]	0,224±0,004 [*]
	Апоптотичні клітини	0,236±0,004	
Іммобілізація пренатально стресованих	Лімфобласти	0,151±0,002	0,143±0,003
	Великі лімфоцити	0,198±0,002 [#]	0,158±0,004
	Середні лімфоцити	0,223±0,001 [#]	0,162±0,005 [#]
	Малі лімфоцити	0,222±0,001 [#]	0,203±0,004 [#]
	Апоптотичні клітини	0,234±0,004	

Неоднозначний вплив пренатальний стрес справляв на денситометричну характеристику лімфоцитів медулярної зони – оптична

щільність нормальних великих та деструктивних середніх лімфоцитів тут знижувалась, а нормальних та деструктивних малих – зростала (табл.4.32).

У медулярній зоні залози контрольних тварин наслідки іммобілізації носили більш обмежений характер. Вірогідних змін (зниження) тут зазнавала оптична щільність усіх типів нормальних клітин та деструктивних лімфобластів й апоптотичних клітин. Що стосується пренатально стресованих тварин, то реакція лімфоцитів була не лише більш обмеженою, але й досить неоднозначною. Оптична щільність незмінених великих лімфоцитів зростала, а середніх і малих нормальних та з ознаками деструкції – знижувалася.

Отримані результати дозволяють сформулювати проміжні висновки:

1. Пренатальний стрес модифікує структуру лімфоїдної популяції тимуса, характер інтратимічних взаємовідносин і реактивність залози до дії іммобілізаційного стресу. Глибина та діапазон модифікацій має структурну залежність.

2. Пренатальний стрес модифікує морфометричні параметри малих лімфоцитів у глибокій корі та малих і середніх – у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах і медулярній зоні тимуса, а оптичну щільність - у всіх структурно-функціональних зонах залози.

3. Реакція морфометричних та денситометричних показників окремих популяцій лімфоїдних клітин на іммобілізацію зазнає змін у всіх структурно-функціональних зонах залози пренатально стресованих щурів.

За результатами експериментальних досліджень, викладених у даному розділі, опубліковано наступні роботи:

[125] Ткачук А.В. Особенности клеточного состава и нейропептидных механизмов вилочковой железы у самцов с пренатальным стресс-синдромом //Всероссийская конференция с международным участием "Нейроэндокринология - 2003". - Санкт-Петербург. – 2003. – С. 151-152.

[126] Ткачук О.В. Деякі показники нейроімуноендокринного статусу в самців щурів з синдромом пренатального стресу // Екологічні проблеми міст і промислових зон: шляхи їх вирішення / Тези доп. Міжнар. конф. студентів і молодих вчених. - Львів: Сполом, 2003. - С. 137-138.

[134] Ткачук О.В. Модифікація стрес-індукованих змін морфогенезу лімфоїдної популяції тимуса пренатальними стресорними впливами //Науковий вісник Ужгородського університету. Серія медицина. – 2005. – Вип. 23. – С. 29-31.

[136] Ткачук О.В. Пренатальна стресова модифікація реактивності тимуса в самців щурів // Клін. та експерим. патол. - 2005. – Т.ІУ, № 1 – С. 98-103.

[139] Ткачук О.В., Філіпова Л.О., Мислицький В.Ф. Деякі нейроімуноендокринні прояви синдрому пренатального стресу// Ендокринологія. - 2001. -Т.6, додаток. - С. 299 // Матеріали У1 з'їзду ендокринологів України. - Київ, 2001. (Здобувачем самостійно проведено експериментальні втручання, статистичну обробку та аналіз одержаних результатів).

[144] Філіпова Л.О., Ткачук О.В., Соломатіна М.О. Функціональний стан щитоподібної і вилючкової залози при дії несприятливих чинників довкілля // Матер. Міжнар. конф., присвяченої пам'яті проф. Шостаковської І.В. - Львів, 2002.- С. 84. (Дисертант самостійно здійснив експериментальну частину роботи, статистичну обробку та аналіз одержаних результатів).

РОЗДІЛ 5

ДЕЯКІ АСПЕКТИ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ ВЗАЄМОДІЇ ТИМУСА ТА НЕЙРОХІМІЧНИХ, НЕЙРОПЕПТИДНИХ СИСТЕМ МОЗКУ Й ПОКАЗНИКІВ ЕНДОКРИННОГО СТАТУСА В КОНТРОЛЬНИХ ТА ПРЕНАТАЛЬНО СТРЕСОВАНИХ ТВАРИН

5.1 Загальні зауваження

Нинішній розвиток нейроімуноендокринології переконливо доводить, що взаємовідносини між центральними компонентами стресорної відповіді й імунною системою є двосторонніми і взаємообумовлюючими. Одними з найважливіших посередників взаємодії нервової та імунної систем є ендогенні опіоїдні пептиди [41, 42]. Вони відіграють ключову роль у процесах адаптації організму, проліферації, диференціації імунокомпетентних клітин, синтезу цитокінів.

Зниження імунологічних реакцій за умов стресу є результатом зміни нейрохімічної картини мозку. У нейромедіаторному контролі імуносупресії домінуючою є СТ-ергічна система мозку [80].

З іншого боку, саме внутрішньоутробні модифікації рівнів серотоніну та β -ендорфіну відіграють важливу роль у патогенезі розвитку пренатального стрес-синдрому [17, 95, 293]. Ці факти дозволяють прогнозувати можливість порушення функціональних взаємовідносин тимуса та серотонін- і β -ендорфінергічних систем мозку у тварин із синдромом пренатального стресу.

Сучасна нейроімуноендокринологія володіє достатньою кількістю переконливих доказів того, що всі види інтратимічної взаємодії як *in vivo*, так й *in vitro* також є потенційними мішенями для контролюючих впливів тиреоїдних гормонів та пролактину [174]. У свою чергу, тимічні гормони мають здатність модулювати продукцію зазначених гормонів [303].

Саме тому ми поставили за мету дослідити реакцію β -ендорфіну й серотоніну лімбіко-гіпоталамічних структур мозку та характер реагування гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдної системи й секреції пролактину на введення комплексу тимічних пептидів Т-активіну.

5.2. Характер реагування β -ендорфінергічної системи мозку на тимічні пептиди

Аналіз отриманих результатів показав, що в контрольних тварин найвищі рівні β -ендорфіну визначаються в преоптичній ділянці та медіобазальному гіпоталамусі а найнижчий – в ядрах мигдалеподібного комплексу (рис. 5. 1).

Пренатальний стрес викликає зміни вмісту β -ендорфіну в усіх досліджених ділянках мозку, за винятком мигдалеподібного комплексу (рис.5.1). Ця модифікація носить різноспрямований характер (збільшення вмісту опіюду на 23% в перегородці мозку та на 34% в медіобазальному гіпоталамусі й зменшення на 29% в преоптичній ділянці), що може бути наслідком неодночасного функціонального дозрівання й включення в нейроендокринні процеси нейропептидних механізмів різних структур, а також різної чутливості структур мозку до дії стероїдних гормонів, порушення рівня яких вважають основною причиною виникнення пренатального стрес-синдрому.

Модифікація імунного статусу організму щурів контрольної та дослідної груп введенням тимічних пептидів по-різному впливає на стан β -ендорфінергічної системи структур мозку, які мають відношення до стрес-реактивності. У контрольних тварин у преоптичній ділянці та мигдалеподібному комплексі вміст опіюду міняється в бік зниження (на 55% та 67% відповідно), а в медіобазальному гіпоталамусі має місце його підвищення на 39%. Відсутність реакції β -ендорфінергічної системи преоптичної ділянки та медіобазального гіпоталамуса на введення Т-активіну

у тварин із синдромом пренатального стресу продемонструвала наявність якісної модифікації взаємовідносин тимуса та нейропептидного чинника, а зниження вмісту імуноферментного β -ендорфіну в мигдалику лише на 53% (при 67% у контрольних) свідчить про кількісні відмінності.

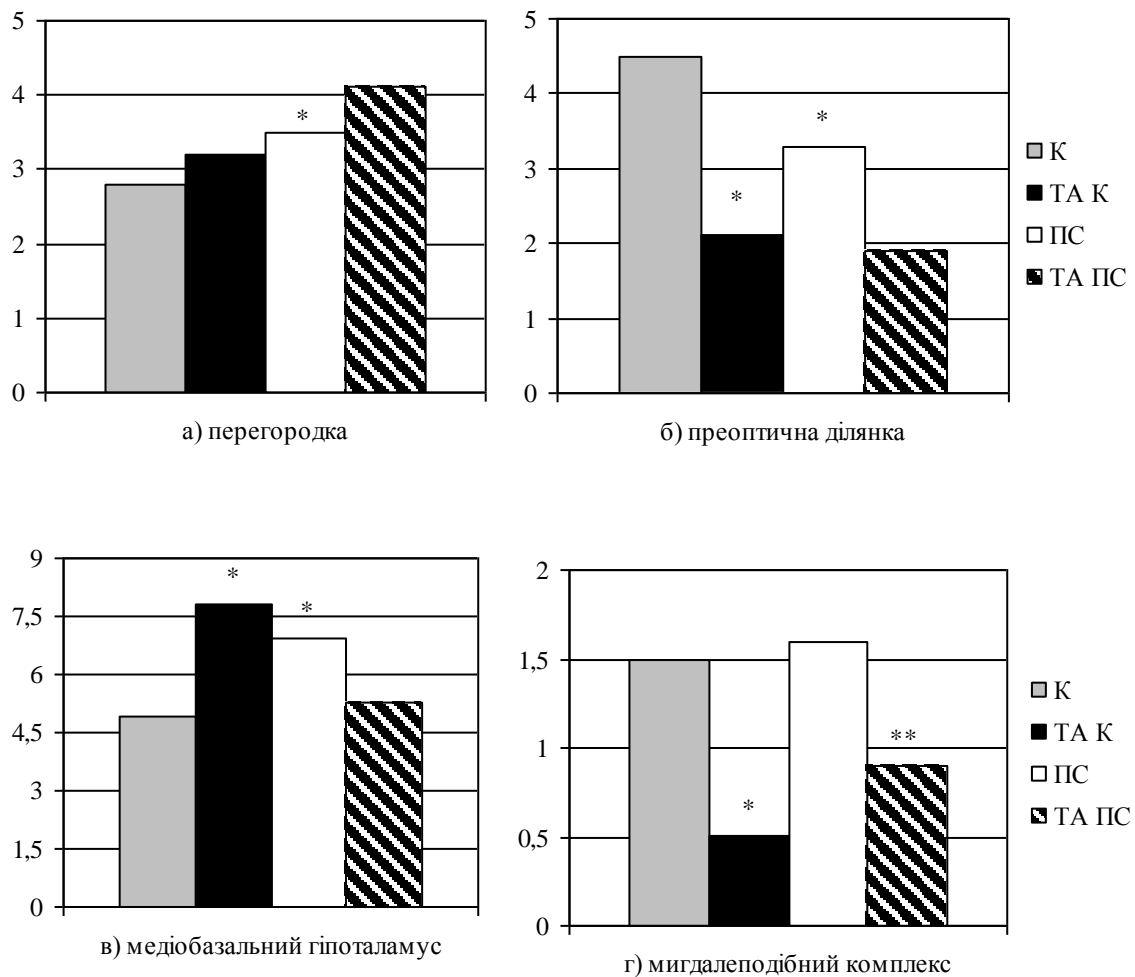


Рис.5.1. Вміст β -ендорфіну в лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку після введення Т-активіну (пмоль/г тканини)

Примітки: вірогідність змін стосовно показників: * – у контрольних тварин; ** – у тварин з синдромом пренатального стресу.

К – контрольні тварини; ТА К – введення Т-активіну контрольним тваринам; ПС – пренатально стресовані тварини; ТА ПС – введення Т-активіну пренатально стресованим тваринам.

Таким чином, введення екзогенних тимічних пептидів супроводжується змінами функціонального стану β -ендорфінергічних систем

структур мозку у тварин обох груп, однак з якісними та кількісними відмінностями.

5.2. Вміст серотоніну в лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку після введення Т-активіну

Аналіз структурного розподілу вмісту серотоніну в межах досліджених нами структур лімбіко-гіпоталамічного комплексу інтактних тварин показав наявність суттєвих відмінностей. Особливо високим вмістом моноаміну відрізнялися медіобазальний гіпоталамус та ядра мигдалика (табл. 5.1). Загалом цей розподіл можна представити таким чином: МБГ>МК>ПОД>ПМ.

Таблиця 5.1

Вплив Т-активіну на вміст серотоніну (нмоль/г тканини) в структурах мозку інтактних та пренатально стресованих щурів ($M \pm m$; $n=6$)

Група тварин	Вміст серотоніну (нмоль на г тканини)			
	перегородка мозку	преоптична ділянка	медіобазальний гіпоталамус	мигдалик
Інтактні	5,0±0,67	6,7±0,48	19,3±1,31	12,1±0,44
Введення Т-активіну інтактним	2,2±0,29 $p_1 < 0,025$	3,3±0,32 $p_1 < 0,005$	13,1±0,64 $p_1 < 0,005$	9,58±0,83 $p_1 < 0,05$
Пренатально стресовані	5,0±0,49	8,1±0,71	20,2±1,24	7,3±0,77 $p_1 < 0,005$
Введення Т-активіну пренатально стресованим	4,4±0,51	4,9±0,38 $p_2 < 0,025$	14,7±0,85 $p_2 < 0,05$	7,6±0,73

Примітки: p_1 , p_2 — зміни, вірогідні щодо показників у інтактних та пренатально стресованих тварин відповідно

Пренатальний стрес не впливав на рівні серотоніну в означених структурах, за винятком мигдалеподібного комплексу, де його вміст знижувався в 1,7 раза.

Після введення Т-активіну в контрольних тварин відбулося суттєве зниження вмісту серотоніну (в 2,3, 2,0, 1,5, 1,3 раза в перегородці, преоптичній ділянці, медіобазальному гіпоталамусі та мигдалику відповідно). Наслідки введення Т-активіну пренатально стресованим тваринам принципово відрізнялися від тих, які мали місце в контролі. Зниження вмісту серотоніну за даних умов відбулося лише в преоптичній ділянці та медіобазальному гіпоталамусі (в 1,7 та 1,4 раза відповідно). У перегородці та ядрах мигдалика вірогідних відмінностей не виявлено.

Дослідження ендокринних корелятив впливу Т-активіну було проведено за вмістом тиротропіну, тироксину, трийодтироніну та пролактину.

Конститутивний вміст ТТГ і T_4 в плазмі крові контрольних тварин та щурів з синдромом пренатального стресу не відрізнявся, а T_3 й пролактину – був вищим у тварин дослідної групи в 1,5 та 1,9 раза відповідно (рис. 1, а-г). У цілому, отримані нами дані узгоджуються з літературними щодо гормонального статусу в самців з пренатальним стрес-синдромом.

Після введення Т-активіну відбулося вірогідне зростання рівня всіх досліджених гормонів у контрольних тварин (в 2,5, 1,7, 2,6, 2,8 раза для ТТГ, T_3 , T_4 та ПРЛ відповідно) та тиротропіну, тироксину й пролактину (в 3,0, 3,2, 3 рази відповідно) – в щурів з пренатальним стрес-синдромом. У тварин останньої групи спотерігалось також значне зниження вмісту T_3 (в 3,2 раза). Враховуючи, що зниження вмісту T_3 відбулося на тлі підвищення вмісту ТТГ та T_4 можна думати, що причиною цього є порушення метаболізації тироксину в трийодтиронін, ймовірно, за рахунок сповільнення процесів дейодинації T_4 . Звертає на себе увагу також той факт, що приріст рівня пролактину у відповідь на введення Т-активіну в щурів дослідної групи набагато перевищував цей показник у контрольних.

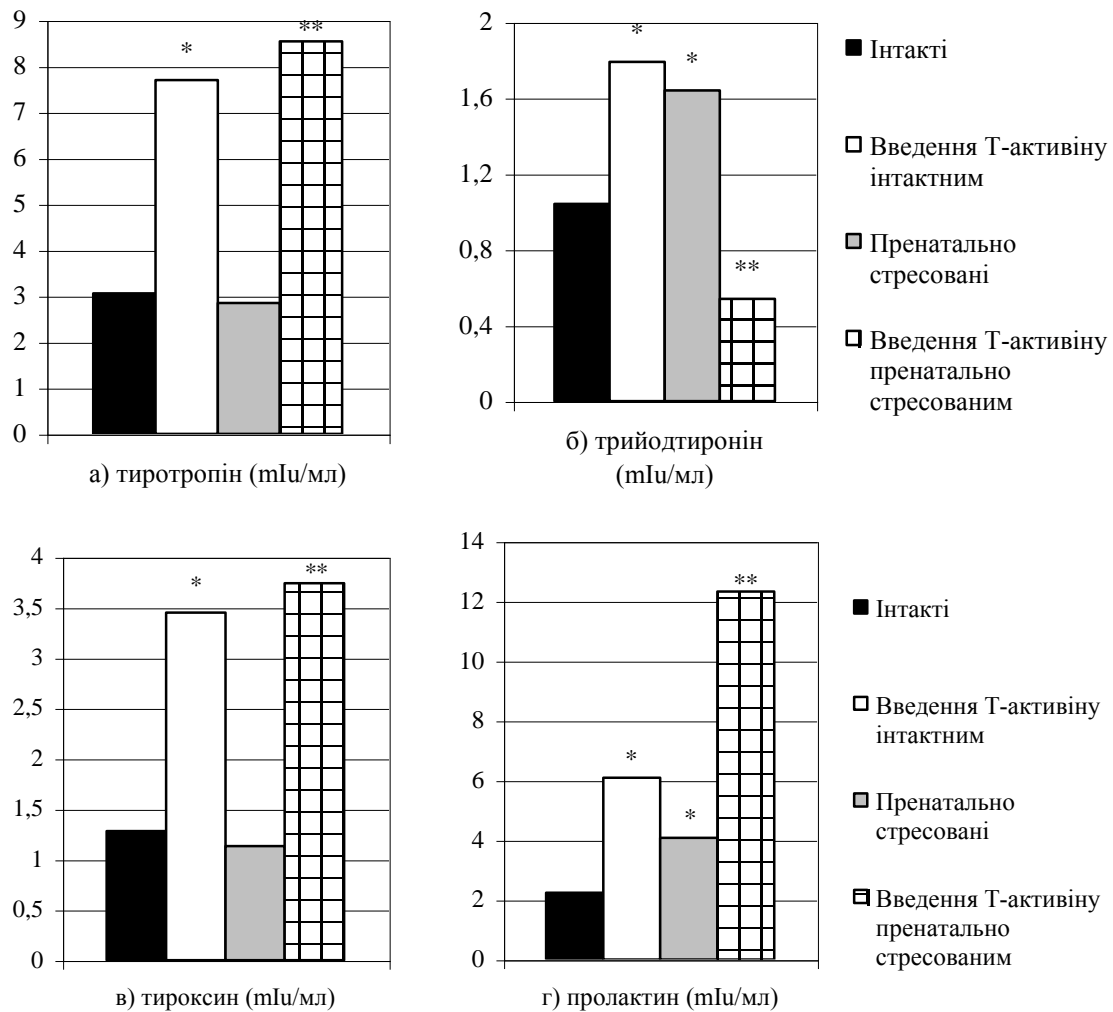


Рис. 5.2. Вплив Т-активіну на вміст тиротропіну (мОД/л), трийодтироніну (нмоль/л), тироксину(нмоль/л) та пролактину (мкг/л плазми) в плазмі крові інтактних та пренатально стресованих щурів

Примітки: зміни, вірогідні стосовно аналогічних показників у: * — інтактних тварин; ** — пренатально стресованих щурів

Проведені дослідження дозволяють зробити проміжні висновки:

1. Пренатальний стрес викликає збільшення вмісту β -ендорфіну в перегородці мозку та медіобазальному гіпоталамусі й зменшення - в преоптичній ділянці.

2. Введення Т-активіну контрольним тваринам знижує вміст β -ендорфіну в преоптичній ділянці й мигдалеподібному комплексі та підвищує - в медіобазальному гіпоталамусі, а у тварин із синдромом пренатального стресу вплив препарату обмежується зниженням цього показника в ядрах

мигдалика, що свідчить про модифікуючий вплив пренатального стресу на імунно-нейропептидні взаємовідносини.

3. У контрольних тварин Т-активін знижує вміст серотоніну в усіх досліджених структурах, а у тварин з пренатальним стрес-синдромом - лише в преоптичній ділянці та медіобазальному гіпоталамусі.

4. Пренатальний стрес модифікує конститутивний вміст трийодтироніну та пролактину, а також вплив Т-активіну на вміст цих гормонів.

За результатами досліджень опубліковано наступні роботи:

[91] Ткачук О.В., Мислицький В.Ф., Данилюк А.В., Злотар О.В. Особливості функціональної взаємодії гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдної системи й пролактину з виличковою залозою в самців щурів з синдромом пренатального стресу // Бук. мед.вісник. - 2004. -Т.8, №3-4. - С. 288-290. (Дисертант самостійно здійснив дослідження, статистичну обробку, підготовку матеріалів до друку).

[124] Ткачук О.В. Особливості реагування β -ендорфінергічної системи мозку на тимічні пептиди в самців з пренатальним стрес-синдромом// Бук. мед.вісник. -2003. -Т.7, №1-2. - С.147-149.

[127] Ткачук О.В. Особливості взаємодії нейропептидних механізмів лімбіко-гіпоталамічних структур мозку та тимічних пептидів у самців з синдромом пренатального стресу // Тези Міжнар. наук. конф. "Гомеостаз: фізіологія, патофізіологія, фармакологія і клініка".- Одеса, 2003.- С.61.

[129] Ткачук О.В. Особливості функціональних взаємовідносин між серотонінергічними системами лімбіко-гіпоталамічних структур мозку та виличковою залозою в щурів з пренатальним стрес-синдромом // Клін. та експерим. патол. - 2004. – Т.ІІІ, № 1. – С. 82-84.

[135] Ткачук О.В. Особливості впливу тимічних пептидів на деякі ендокринні показники у самців з синдромом пренатального стресу // Тези 59 наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених Національного мед. ун-ту ім. О.О.Богомольця "Актуальні проблеми сучасної медицини".- Київ, 2005.- С. 145.

РОЗДІЛ 6

ВПЛИВ ТИМІЧНИХ ПЕПТИДІВ НА СТАН ФІБРИНО- ТА
ПРОТЕОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ В СТРУКТУРАХ МОЗКУ

Реакція протеолітичних ферментів є сталим компонентом при змінах функціональної активності організму, розвитку патологічних станів та впливах деяких екстремальних чинників [74]. Від активності ферментів протеолізу, зокрема, залежать імунні реакції організму [21, 22]. Тому виникнення імунопатологій у людей та тварин із синдромом пренатального стресу, який розвивається внаслідок впливу на організм матері під час вагітності різноманітних несприятливих чинників, дозволяє думати про можливий зв'язок цих порушень зі станом фібрино- та протеолітичних систем. Вірогідність такого припущення ґрунтується на тому, що активність фібрино- та протеолітичних систем контролюється гормональним статусом організму [28], який при пренатальному стрес-синдромі зазнає численних модифікацій. Зважаючи на двосторонність зв'язків імунної та нервової систем, нам вдалося доцільним дослідити характер впливу тимічних пептидів на показники фібрино- та протеолітичної активності в тих структурах мозку, які найбільш уразливі до дії пренатальних стресорних чинників, оскільки подібні дослідження в літературі відсутні.

При аналізі структурного розподілу конститутивних показників тканинної фібринолітичної активності впадає у вічі його виражена неоднорідність (табл.6.1-6.4).

Індуковані введенням Т-активіну зміни цих показників теж відрізнялися.

У контрольних тварин введення препарату спричиняло вірогідні зміни фібринолітичної активності в усіх структурах. У перегородці мозку вони полягали в зростанні всіх показників (в 1,4 1,3 1,7 для сумарного, неферментативного та ферментативного фібринолізу відповідно).

Таблиця 6.1

Вплив Т-активіну на показники тканинного фібринолізу в перегородці мозку контрольних та пренатально стресованих щурів ($M \pm m$, $n=8$)

Група спостереження		Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)
Інтактні	Контроль	32,3±2,62	21,8±2,03	10,5±1,42
	Введення Т-активіну	46,7±1,84 $p_1 < 0,005$	29,2±2,25 $p_1 < 0,005$	17,5±1,68 $p_1 < 0,005$
Пренатально стресовані	Пренатальний стрес	37,3±3,72	19,2±1,85	15,8±1,47 $p_1 < 0,025$
	Введення Т-активіну	54,7±3,54 $p_2 < 0,005$	32,8±1,78 $p_2 < 0,005$	21,9±2,30 $p_2 < 0,01$

Примітка. У всіх таблицях даного розділу: вірогідність змін у порівнянні з показниками: p_1 - у контрольних тварин; p_2 – у пренатально стресованих тварин

Пренатальний стрес також мав неоднаковий вплив на досліджені показники. У перегородці мозку довготривалої пренатальної модифікації зазнала ферментативна фібринолітична активність, яка зросла в 1,5 раза. Решта показників залишалися в межах контрольних величин.

Реакція показників фібринолітичної активності на введення Т-активіну в перегородці тварин з пренатальним стрес-синдромом мала таке спрямування, як і в контролі, проте відрізнялася кількісно. Сумарний, неферментативний та ферментативний фібриноліз під впливом Т-активіну в цій структурі збільшився в 1,5, 1,7, 1,4 раза відповідно.

У преоптичній ділянці приріст сумарної, неферментативної та ферментативної фібринолітичної активності в контрольних щурів після введення Т-активіну склав 1,5, 1,6 1,4 раза (табл.6.2).

Таблиця 6.2

Вплив Т-активіну на показники тканинного фібринолізу в преоптичній ділянці мозку контрольних та пренатально стресованих щурів ($M \pm m$, $n=8$)

Група спостереження		Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)
Інтактні	Контроль	43,9±3,15	20,9±2,14	23,0±2,14
	Введення Т-активіну	65,3±5,79 $p_1 < 0,005$	33,2±2,51 $p_1 < 0,005$	32,1±3,15 $p_1 < 0,025$
Пренатально стресовані	Пренатальний стрес	41,7±3,03	20,9±1,53	20,4±1,81
	Введення Т-активіну	47,2±2,59	25,2±1,62 $p_2 < 0,05$	22,6±2,39

Пренатальний стрес не мав впливу на тканинний фібриноліз у даній структурі. Незважаючи на відсутність базальних модифікацій, у преоптичній ділянці самців з пренатальним стрес-синдромом реакція досліджуваних показників на тимічні пептиди за кількістю змінених параметрів була більш обмеженою в порівнянні з контрольними тваринами і проявлялася зростанням в 1,2 раза неферментативної фібринолітичної активності.

У медіобазальному гіпоталамусі контрольних тварин (табл.6.3) під впливом Т-активіну в 1,2 раза зростав показник неферментативного фібринолізу, а сумарна та ферментативна фібринолітична активність знижувалася в 1,1 та 1,7 раза відповідно.

Довготривалої пренатальної модифікації зазнала ферментативна й неферментативна фібринолітична активність у медіобазальному гіпоталамусі. Перша з них зросла в 1,2 раза, друга –знизилася в 1,3 раза.

Таблиця 6.3

Вплив Т-активіну на показники тканинного фібринолізу в медіобазальному гіпоталамусі контрольних та пренатально стресованих щурів ($M \pm m$, $n=8$)

Група спостереження		Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)
Інтактні	Контроль	53,4±2,83	24,3±1,11	29,1±1,72
	Введення Т-активіну	46,7±1,84 $p_1 < 0,05$	29,2±2,25 $p_1 < 0,05$	17,5±1,68 $p_1 < 0,005$
Пренатально стресовані	Пренатальний стрес	50,6±3,15	27,4±1,16 $p_1 < 0,05$	23,2±2,16 $p_1 < 0,05$
	Введення Т-активіну	43,5±2,09 $p_2 < 0,05$	25,4±2,02	19,0±1,19

Реакція пренатально стресованих тварин на Т-активін на відміну від контрольних була дуже обмеженою і проявлялася зниженням в 1,2 раза сумарного фібринолізу.

Після введення Т-активіну зниження в 1,2, 1,4 та 1,2 раза зазнавав також сумарний, неферментативний та ферментативний фібриноліз відповідно в ядрах мигдалеподібного комплексу контрольних щурів (табл. 6.4).

Пренатальний стрес спричиняв зниження в 1,2 раза ферментативної фібринолітичної активності в ядрах мигдалеподібного комплексу. Решта показників залишалися в межах величин, притаманних контрольним тваринам.

Таблиця 6.4

Вплив Т-активіну на показники тканинного фібринолізу в мигдалеподібному комплексі мозку контрольних та пренатально стресованих щурів ($M \pm m$, $n=8$)

Група спостереження		Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)
Інтактні	Контроль	71,3±3,39	37,1±1,15	36,9±1,69
	Введення Т-активіну	59,7±5,03 $p_1 < 0,05$	27,2±2,63 $p_1 < 0,005$	32,5±1,51 $p_1 < 0,05$
Пренатально стресовані	Пренатальний стрес	71,9±4,00	40,9±2,66	30,9±1,93 $p_1 < 0,005$
	Введення Т-активіну	71,7±5,20	33,3±2,19 $p_2 < 0,05$	38,3±3,35 $p_2 < 0,05$

Після хронічного введення Т-активіну в ядра мигдалика відбулося зниження в 1,2 раза неферментативної фібринолітичної активності та зростання – ферментативної.

Таким чином, пренатальний стрес викликає модифікації показників фібринолітичної активності, вираженість яких стає більш очевидною при навантаженні тимічними пептидами.

Зміни протеолітичної активності, які відбувалися у відповідь на введення Т-активіну були ще більш неоднозначними, ніж фібринолітичної (табл.6.5-6.8).

Дослідження показали, що після введення Т-активіну в перегородці мозку контрольних щурів лізис низькомолекулярних білків знижувався в 1,7 раза, високомолекулярних - залишався незмінним, а колагену – зростав в 1,3 раза (табл.6.5).

Таблиця 6.5

Вплив Т-активіну на показники тканинного протеолізу в перегородці мозку контрольних та пренатально стресованих щурів ($M \pm m$, $n=8$)

Група спостереження		Лізис низькомолекулярних білків (мкг азоальбуміну /г тканини за год)	Лізис високомолекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год)	Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за год)
Інтактні	Контроль	280±14,4	199,6±12,76	13,2±1,17
	Введення Т-активіну	166±4,8 $p_1 < 0,005$	191,8±9,3	17,45±1,40 $p_1 < 0,01$
Пренатально стресовані	Пренатальний стрес	261±12,4	206±13,9	13,5±0,91
	Введення Т-активіну	114±6,6 $p_2 < 0,005$	124±5,9 $p_2 < 0,005$	9,8±0,87 $p_2 < 0,005$

Що стосується протеолітичної активності в перегородці мозку щурів з синдромом пренатального стресу, її конститутивні показники залишалися без змін. Введення тимічних пептидів індукувало зниження лізису низькомолекулярних, високомолекулярних білків та колагену в 2,3 1,7, 1,4 раза. Особливістю цієї групи тварин була реакція азоказеїну, не притаманна контрольним тваринам.

У преоптичній ділянці інтактних тварин після введення Т-активіну змін зазнавали два показники – лізис азоказеїну зростав, азоколу – знижувався в 1,2 раза для обох показників (табл.6.6).

Пренатальний стрес спричинив у даній структурі зростання базальних величин лізису високомолекулярних білків в 1,3 раза та зниження лізису колагену в 1,2 раза. Введення Т-активіну підтвердило наявність модифікацій у цій структурі, що проявилось зниженням лізису азоальбуміну в 1,2 раза за відсутності такої реакції в контрольних тварин та пригніченням лізису азоказеїну в 1,6 замість його підвищення в контролі.

Таблиця 6.6

Вплив Т-активіну на показники тканинного протеолізу в преоптичній ділянці мозку контрольних та пренатально стресованих щурів ($M \pm m$, $n=8$)

Група спостереження		Лізис низько-молекулярних білків (мкг азо-альбуміну /г тканини за год)	Лізис високо-молекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год)	Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за год)
Інтактні	Контроль	333±28,5	173±7,76	22,6±1,26
	Введення Т-активіну	348±12,53	216±12,52 $p_1 < 0,01$	18,5±1,01 $p_1 < 0,025$
Пренатально стресовані	Пренатальний стрес	341±15,88	227±10,47 $p_1 < 0,005$	19,4±1,07 $p_1 < 0,05$
	Введення Т-активіну	298±16,8 $p_2 < 0,05$	144±11,90 $p_2 < 0,005$	19,8±1,97

Згідно наших досліджень, за конститутивними та індукційними показниками мінімальною чутливістю до введення тимічних пептидів характеризувалися показники протеолітичної активності в медіобазальному гіпоталамусі та мигдалику (табл. 6.7, 6.8).

У медіобазальному гіпоталамусі контрольних щурів показники тканинного протеолізу після введення Т-активіну (табл.6.7) залишалися зовсім без змін, а в мигдалеподібному комплексі мало місце лише зниження в 1,2 раза лізису низькомолекулярних білків (табл.6.8).

Пренатальний стрес також справляв мінімальний вплив на показники протеолітичної активності у медіобазальному гіпоталамусі. Тут мало місце лише деяке пригнічення конститутивного лізису колагену (в 1,3 раза), а реакції на Т-активін узагалі не виявлено.

Таблиця 6.7

Вплив Т-активіну на показники тканинного протеолізу в медіобазальному гіпоталамусі контрольних та пренатально стресованих щурів ($M \pm m$, $n=8$)

Група спостереження		Лізис низько-молекулярних білків (мкг азо-альбуміну /г тканини за год)	Лізис високо-молекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год)	Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за год)
Інтактні	Контроль	159±8,85	165±10,15	7,1±0,57
	Введення Т-активіну	170±7,37	178±8,85	6,8±0,64
Пренатально стресовані	Пренатальний стрес	155±7,11	158±7,20	5,4±0,58 $p_1 < 0,05$
	Введення Т-активіну	146±6,24	169±9,29	5,8±0,54

Таблиця 6.8

Вплив Т-активіну на показники тканинного протеолізу в мигдалеподібному комплексі мозку контрольних та пренатально стресованих щурів ($M \pm m$, $n=8$)

Група спостереження		Лізис низько-молекулярних білків (мкг азо-альбуміну /г тканини за год)	Лізис високо-молекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год)	Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за год)
Інтактні	Контроль	158±8,4	145±8,84	5,8±0,50
	Введення Т-активіну	137±7,29 $p_1 < 0,05$	139±12,42	5,3±0,59
Пренатально стресовані	Пренатальний стрес	142±5,89	155±7,11	5,0±0,47
	Введення Т-активіну	148±9,97	145±9,92	4,2±0,23 $p_2 < 0,005$

Ефекти пренатального стресу в мигдалику проявлялися лише після введення Т-активіну - в 1,2 раза знижувався лізис азоколу на відміну від контрольних тварин, де реакція на препарат була відсутньою.

Отримані дані підтверджують нашу точку зору щодо структурної залежності характеру нейроімунних взаємовідносин - пренатальний стрес має найменш виражений вплив на протеолітичну активність в тих структурах, які в контрольних тварин найменше реагують на введення Т-активіну, що свідчить про мінімальну їх залежність від функціонального стану тимуса.

Сукупний аналіз результатів, представлених у даному розділі, дозволяє сформулювати наступні проміжні висновки:

1. У перегородці мозку, медіобазальному гіпоталамусі, мигдалеподібному комплексі мозку має місце модифікуючий вплив пренатального стресу на деякі конститутивні показники фібринолітичної активності, а в преоптичній ділянці й медіобазальному гіпоталамусі – на параметри протеолітичної активності.

2. Реакція фібринолітичної активності на введення тимічних пептидів у тварин із пренатальним стрес-синдромом відрізняється від подібної в контрольних тварин у преоптичній ділянці, медіобазальному гіпоталамусі та мигдалику. Пренатальний стрес модифікує також реакцію протеолітичних систем на введення Т-активіну в перегородці, преоптичній ділянці та мигдалику.

Результати, представлені в даному розділі, опубліковано в наступних роботах:

[131] Ткачук О.В. Особливості впливу тимічних пептидів на стан фібрино- та протеолітичної активності в структурах мозку щурів з синдромом пренатального стресу // Клін. та експерим. патол. - 2004. - Т.ІІІ, №3.- С. 85-89.

[143] Філіпова Л.О., Олійник І.Ю., Ткачук О.В. Вплив солей свинцю на стан систем фібринолізу й протеолізу в загруднинній залозі // Бук. мед. вісник. -2004. -Т.8, №. 3-4.- С. 325-326.

РОЗДІЛ 7

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Розвиток та перебіг реакцій організму при стресорних впливах визначається взаємодією нервової, ендокринної та імунної систем, узгоджене функціонування яких визначає опір організму до несприятливих чинників. Взаємовідносини між центральними компонентами стресорної відповіді та імунною системою відіграють важливу роль у розвитку загального адаптаційного синдрому [110, 116, 138].

У реалізації взаємодії імунної системи з нейроендокринною провідна роль належить тимусу. Фізіологія тимуса знаходиться під нейроендокринним контролем. Переконливо доведено, що циркулюючі рівні багатьох гормонів та нейропептидів є необхідними для підтримання різних біологічних функцій як лімфоїдних клітин, так і клітин мікрооточення тимуса [36, 216]. Цей нейроендокринний контроль є комплексним, із можливою участю біологічних чинників, які продукуються *in situ*, а також із впливом нейротрансмітерів [86, 114, 313]. Незалежно від шляхів, якими він ініціюється, нейроендокринний контроль включає модуляцію експресії різних генів у різноманітних типах клітин. На культурах фетальних тимусів та в експериментах *in vivo* доведена роль кожного такого посередника в механізмах гетеротипічної взаємодії між тимоцитами та клітинами мікрооточення. Показано, що у фізіології тимуса значну роль відіграють гормон-медіаторні паракринні чинники.

Для вивчення нейроендокриноімунних взаємовідносин нами була використана експериментальна модель стресу, яка за даними ряду авторів [33] дозволяє оцінити вклад різних ланок нейроендокринної та імунної систем в реалізацію комплексної реакції організму. Є багато досліджень, які демонструють вплив гострого та хронічного стресу на нейроендокринні та імунологічні показники [128, 308, 312]. Наприклад, хронічний емоційно-

больовий стрес викликав активацію ГГНС та суттєве зниження маси тимуса, кількості в ньому клітин з ядрами та ендокринної функції [110, 116]. Пригнічення ендокринної функції тимуса, яке розвивається при підвищенні активності ГГНС, прийнято вважати складовою загального адаптаційного синдрому [145].

Трансдукція нейроендокринних сигналів у тимусі реалізується за участю циклічних нуклеотидів. Накопичено дані, які свідчать, що циклічні нуклеотиди беруть участь у рості, диференціації та функціонуванні лімфоїдних клітин [315]. N фрагмент (1-4) тимозину пригнічує *in vivo* вхід популяцій клітин в S-фазу. При вивченні взаємозв'язків між імунною та нейроендокринною системами встановлено, що цей тетрапептид реалізує свої впливи на імуноендокринну систему через механізм, пов'язаний із метаболізмом циклічних нуклеотидів. Експресія рецепторів нейропептидів у тимусі та їх функціональна активність можлива лише при посиленні продукції цАМФ тимічними епітеліальними клітинами [255]. Гормональна регуляція зв'язків між суміжними тимічними епітеліальними клітинами та інтратимічного переміщення лімфоцитів також здійснюється через підвищення внутрішньоклітинного рівня цАМФ. Обов'язкової участі цих посередників потребує й глюкокортикоїдний контроль апоптозу тимоцитів [188]. Що стосується ролі цГМФ у тимічних функціях, вона вивчена менше.

З урахуванням важливої ролі циклічних нуклеотидів, як універсальних посередників реакції клітин імунної системи на дію гормонів, нами проведено дослідження їх вмісту в різних структурно-функціональних зонах тимуса контрольних щурів та тварин із синдромом пренатального стресу.

Проведені дослідження показали нерівномірність конститутивного розподілу вмісту цАМФ та цГМФ у структурно-функціональних зонах загруднинної залози тварин контрольної та дослідної груп, а також наявність пренатальних стресорних модифікації цих показників. У контрольних щурів вміст цАМФ розподілявся наступним чином: премедулярна зона > епітеліальна > внутрішня кіркова > мозкова речовина, а цГМФ - епітеліальна

зона>премедулярна> внутрішня кіркова >мозкова. У тварин із синдромом пренатального стресу цей розподіл носив дещо інший характер і мав вигляд: внутрішня кіркова зона>премедулярна= мозкова>епітеліальна для цАМФ та премедулярна>епітеліальна>мозкова> внутрішня кіркова зона для цГМФ.

Цей перерозподіл відбувався за рахунок того, що пренатальний стрес знизив вміст цАМФ в епітеліальній і премедулярній зонах та привів до зростання цАМФ у внутрішній зоні кіркової речовини й цГМФ – у премедулярній зоні.

Таким чином, за даними показниками, основною мішенню для пренатального стресу виявилася премедулярна зона. У той же час, циклічні нуклеотиди мозкової речовини не відреагували на цей вплив.

Привертає увагу той факт, що пренатальний стрес значно зменшує структурні розбіжності вмісту цАМФ, притаманні контрольним тваринам.

Величина циклазного індексу в контрольних тварин свідчить, що у всіх досліджених структурно-функціональних зонах тимуса вміст цАМФ у декілька разів перевищував вміст цГМФ, що вказує на переважання цАМФ-залежного шляху передачі регуляторних сигналів у клітини залози. У тварин із пренатальним стрес-синдромом у всіх структурних відділах залози, за винятком внутрішньої зони кіркової речовини, циклазний індекс був нижчим, ніж у контролі, що свідчить про зниження ролі цАМФ як вторинного посередника. На наш погляд, це може бути відображенням відомого факту зниження стрес-реактивності за даної патології [95].

Пренатальна стресорна модифікація цАМФ- та цГМФ-залежної трансдукції сигналу в тимусі тварин обох груп має структурні особливості, які, ймовірно, пов'язані з функціональною неоднозначністю окремих зон залози [16, 97], а також зі специфікою нейрогормонального контролю їх діяльності. Наприклад, глюкокортикоїдзалежними є переважно тимоцити кіркової речовини, а біоамінвмісними – клітини премедулярної зони і т.п.

Взаємозв'язок рівнів циклічних нуклеотидів та концентрації тиреоїдних гормонів і глюкокортикоїдів при патології тимуса отримало

клінічне підтвердження. У дітей із синдромом збільшеної виличкової залози (СЗВЗ) з віком має місце тенденція до зниження рівня цАМФ та зростання -цГМФ у порівнянні з контрольною групою. У групі дітей від 1 до 3-х років з перинатальним гіпоксичним ураженням ЦНС та СЗВЗ вміст цАМФ був зниженим, а цГМФ – підвищеним. У них виявлена кореляційна залежність між рівнем обох циклічних нуклеотидів і кортизолу та цГМФ і T_3 , що свідчить про активну участь циклічних нуклеотидів у формуванні особливостей тиреоїдогенезу й глюкокортикоїдної функції в дітей із даною патологією [89].

Дія центральних адренергічних механізмів тісно пов'язана з цАМФ-залежним шляхом трансдукції сигналів [56, 95]. Не виключено, що в тимусі теж має місце подібний зв'язок, адже відомо, що у центральних та місцевих шляхах регуляції імунної системи важливу роль відіграють нейромедіатори. За даними ряду авторів гістамін- та серотонінергічні системи беруть участь в імуносупресії, а катехоламіни стимулюють продукцію лімфоцитів-хелперів [80, 114]. Проте є й протилежні дані. Наприклад, при дослідженні впливу адреналіну, β -адренергічного агоніста тербуталіну сульфату та інгібітора фосфодіестерази цАМФ теofilіну на проліферативну відповідь лімфоцитів периферійної крові здорових людей встановлено, що обидва адренергічні агоністи пригнічують бласттрансформацію лімфоцитів, однак ефект адреналіну більш виражений [153]. У хворих на рак шлунка адреналін знижує *in vitro* активність кілерних клітин [27].

Нейротрансмітери мають прямий вплив на функції Т-клітин, впливаючи на специфічні Т-клітинні рецептори, що доведено шляхом блокади їх взаємодії з рецепторними агоністами [254]. Нервові сигнали здатні запускати чи модулювати активність Т-клітин, специфічних стосовно нейротрансмітерів. Наявність рецепторів до нейромедіаторів (ацетилхоліну, СТ, КА, гістаміну) на лімфоїдних клітинах доводить підпорядкованість імунної системи нейрогуморальним впливам.

Адренергічна іннервація може контролювати не лише функціональний стан тимоцитів, але й внутрішньотимічне дозрівання Т-клітин [163]. Так, 16-денне введення щурам пропранололу приводило до зниження чисельності клітин у тимусі та зменшення його маси. При цьому рівень апоптозу в тимоцитах перевищував рівень їх проліферативної активності. Незалежно від тривалості обробки препарат підвищував рівень найменш зрілих тимоцитів, а число тимоцитів на різних стадіях переходу до більш зрілих форм знижувалося [281].

Однак клітини імунної локалізації не лише експресують гени, які контролюють адренергічні та холінергічні рецептори, але й самі лімфоцити теж продукують НА та ацетилхолін [235]. Авторами показано, що підвищення адренергічного тону має імуносупресивний ефект, переважно через α_2 -рецептор, а β -блокатори підсилюють цей ефект, діючи, можливо, через пригнічення синтезу мелатоніну епіфізом. Тривалий α -адренергічний вплив викликає сильну супресію імунної відповіді, що пов'язують з посиленням апоптозу клітин. Проте ці різноманітні впливи біогенних амінів на імунні органи та цілісний організм до кінця не вивчені. Що стосується стану біоамінівмісних структур тимуса та їх реакції на стресорні впливи у тварин із синдромом пренатального стресу, то ці питання взагалі залишаються недослідженими. Між тим, ще в період внутрішньоутробного розвитку плода виличкова залоза справляє вплив на формування гіпоталамуса, ендокринних та лімфоїдних органів [112]. Потім, протягом усього життя взаємодія тиміко-лімфатичної та нейроендокринної систем є основою гомеостазу, тому порушення цієї взаємодії лежить в основі багатьох патологічних станів [16]. У реалізації цієї взаємодії саме моноамінам тимуса належить неабияка роль.

Морфологічним субстратом, який створює біоамінне забезпечення мікрооточення тимоцитів, крім адренергічних нервових волокон, є гранулярні клітини кіркової речовини дольки тимуса, здатні до люмінесценції, та тучні клітини [51, 158]. Люмінесцентно-мікроскопічне

дослідження показало, що на території кіркової речовини ці клітини розташовані двома шарами: премедулярним, що складається з великих полігональних компактно розташованих клітин і субкапсулярним, який складається з дрібних клітин. Обидві групи клітин здатні до автолюмінесценції. В обох видах клітин знайдено СТ та КА. Премедулярні та субкапсулярні клітини по-різному реагують на введення вегетотропних та імуномодулювальних речовин, що доводить їх участь в реакції на зміну імунного статусу [112]. Досліди із введенням нейротропних речовин дозволили встановити, що премедулярні клітини є амінопродуцентами, а субкапсулярні дають реакцію, яка свідчить про амінопоглинальну функцію. Вони розглядаються як посередники між премедулярними клітинами та тимоцитами. Дослідження останніх років [51] показали, що здатні до люмінесценції гранулярні клітини тимусної дольки, які містять моноаміни, можуть здійснювати експресію Ia-антигену та білка S-100 (що свідчить про їх макрофагальну природу), дають позитивну реакцію з альдегід-фуксином (свідчить про продукцію пептидних гормонів), а також не здатні до фагоцитозу. Поєднання цих ознак дозволяє віднести ці клітини тимуса до популяції дендритних клітин та думати про наявність у них здатності до регуляції тканинного гомеостазу й дозрівання Т-клітин, опосередковане біогенними моноамінами.

Проведений нами аналіз стану катехоламінвмісних структур тимуса показав, що пренатальний стрес не вплинув на конститутивну інтенсивність флуоресценції катехоламінів. Структурні особливості кількісного розподілу катехоламінів, притаманні контрольним тваринам, зберігалися в пренатально стресованих щурів. Найвища інтенсивність флуоресценції в премедулярній зоні залози знаходиться у відповідності з даними літератури [51, 55, 112]

У контрольних тварин гостра іммобілізація спричиняє більш значну активацію амінопоглиначів у порівнянні з амінопродуцентами, про що свідчать два факти: більш значне зростання флуоресценції в субкапсулярних

клітинах у порівнянні з премедулярними та медіаторне виснаження кіркової речовини.

У тварин із синдромом пренатального стресу рівень катехоламінів в премедулярній та внутрішній зоні кіркової речовини після гострої іммобілізації кількісно не відрізнявся від аналогічного показника в контрольних тварин, а в субкапсулярній зоні даної групи щурів зміни інтенсивності флуоресценції моноамінів мали таке ж спрямування, але ця реакція була значно нижчою, ніж у контролі. На наш погляд, це свідчить про збереження продукції катехоламінів при зниженні їх ендцитозу амінопоглиначами. Ймовірно, пренатальний стрес якимось чином порушує взаємодію між біоамінівмісними структурами тимуса. Це можна пояснити неодноразовою появою в онтогенезі функціональної активності різних зон тимуса [62] та їх різною чутливістю до пренатальної дії стресорів. Цілком вірогідно, що дія несприятливих чинників у ранньому онтогенезі приводить до функціонального роз'єднання структурних зон тимуса.

Хронічна іммобілізація приводила до виснаження функціональних резервів катехоламінівмісних клітин тимуса у тварин контрольної та дослідної груп, про що свідчить зниження інтенсивності флуоресценції у всіх структурних зонах тимуса. Характерно, що по закінченню іммобілізації вміст катехоламінів був навіть нижчим за конститутивні показники.

Особливою була реакція моноамінів внутрішньої зони кіркової речовини щурів із пренатальним стрес-синдромом. Їх реакція (кількісна та якісна) на хронічний стрес не відрізнялася від тієї, що розвивалася на гострий.

Незважаючи на однакове спрямування змін, що виникали внаслідок хронічного іммобілізаційного стресу в контрольних та дослідних тварин, у субкапсулярній зоні та мозковій речовині щурів з пренатальним стрес-синдромом зниження вмісту катехоламінів було значно суттєвішим, а в премедулярній – менш вираженим. Це свідчить, що пренатальний стрес викликає якісні та кількісні модифікації реакції катехоламінівмісних структур

тимуса на гострий та хронічний іммобілізаційний стрес, що безумовно, відіграє значну роль у виникненні імунопатологій, які мають місце за умов пренатального стрес-синдрому.

В основі виникнення й розвитку стрес-реакції провідна роль належить окиснювальним реакціям, котрі приводять до зростання концентрації активних форм кисню й стимуляції процесів вільнорадикального окиснення макромолекул. Паралельно з цим дія будь-якого несприятливого чинника на організм активує дві надзвичайно важливі захисні системи організму – імунну та антиоксидантну [142]. Дані системи мають здатність до взаємодії через посередництво різних медіаторів. Подібний взаємозв'язок імунної та антиоксидантної систем визначає надійність їх поєднаної діяльності, але, з іншого боку, будь-які зміни в одній системі приводять до порушень в іншій. Наприклад, послаблення антиоксидантного захисту та зростання вільних радикалів, зокрема, пероксиду водню, змінює рівень вільного кальцію в тимоцитах [29]. Доведено, що всі індуктори окиснювального стресу, до яких відноситься і стрес-реакція, викликають блеббінг плазматичної мембрани з наступним апоптозом та некрозом тимоцитів. Ці зміни патогенетично пов'язані з активністю ємнісних каналів Ca^{2+} , які забезпечують надходження Ca^{2+} в клітину [12]. Відомо, що порушення кальцієвого гомеостазу клітини є одним з провідних чинників апоптозу тимоцитів [269]. Виснаження депо Ca^{2+} є потужним стимулом до розвитку апоптозу, незалежно від надходження Ca^{2+} в клітину. З іншого боку, перевантаження ендоплазматичного ретикулуму кальцієм приводить до розвитку ендоплазматичного стресу, який активує фактор транскрипції NF κ B, коstimулюючим ефектом до якого володіють реактивні форми O_2 [248].

Цитотоксичність індукторів окиснювального стресу складається з декількох механізмів, у тому числі, індукції мітохондріальної дисфункції, порушення внутрішньоклітинного гомеостазу, пошкодження біомембран, окиснювальної модифікації білків та нуклеїнових кислот [39, 69].

Тому вивчення стрес-індукованих показників вільнорадикальних процесів та антиоксидантного захисту у вилочкової залозі може бути інформативним не лише щодо механізмів порушення імунних процесів, які виникають під впливом стресу, але й щодо механізмів нейроімуноендокринної взаємодії. Відомо, наприклад, що відсутність тимусних гормонів приводить до значних зрушень кількості й спектра ліпідів головного мозку. Поряд з цим зростає швидкість пероксидного окиснення у тимектомованих тварин [113]. Ці зміни, ймовірно, можуть стати причиною порушення функціонування мозкових структур та їх участі в процесах нейроімунної взаємодії. Не виключено, що нейрохімічні зміни, якими супроводжується стрес-реакція, можуть у свою чергу вплинути на процеси ліпопероксидації та антиоксидантного захисту в тимусі.

Наші дослідження конститутивних показників інтенсивності ліпопероксидації та активності ферментів антиоксидантного захисту в різних структурних зонах тимуса підтвердили їх функціональну гетерогенність - практично кожна зона залози характеризувалася індивідуальним рівнем прооксидантно-антиоксидантних взаємовідносин. За сукупною оцінкою найвищою інтенсивністю ліпопероксидації характеризувалася мозкова зона, а найнижчою – премедулярна. Особливістю останньої було те, що низький рівень вільнорадикальних процесів супроводжувався значним антиоксидантним резервом.

Найвища антиоксидантна активність у премедулярній зоні залози корелює з найбільшим вмістом у цій зоні катехоламінів та циклічних нуклеотидів, які опосередковують адренергічні впливи та разом посилюють процеси пероксидного окиснення ліпідів. Ймовірно, висока антиоксидантна активність є механізмом, що стримує конститутивні вільнорадикальні процеси в цій зоні на достатньо низькому рівні.

Реакція морфологічних зон тимуса на хронічний іммобілізаційний стрес у контрольних тварин також мала індивідуальні прояви. У субкапсулярній зоні кіркової речовини тимуса контрольних щурів відбулося

зростання вторинних продуктів при зниженні первинних та активності каталази, що свідчить про помірні ефекти стресу.

У внутрішній зоні кіркової речовини відбулося деяке постстресорне зміщення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в бік посилення ліпопероксидації за рахунок зростання вмісту дієнових кон'югатів та зниження активності каталази.

У премедулярній зоні та мозковій речовині контрольних тварин іммобілізаційний стрес викликав паралельне зниження окремих продуктів ліпопероксидації та антиоксидантних ферментів, тобто, суттєвого зміщення рівноваги в системі не відбувалося.

Отримані дані свідчать, що в цілому щоденний одногодинний іммобілізаційний стрес викликає помірні зміни прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу у виличковій залозі.

Одним із патогенетичних механізмів розвитку пренатального стрес-синдрому є внутрішньоутробне посилення вільнорадикальних процесів, про що свідчать імпринтингові порушення антиоксидантного захисту в мозку тварин із даною патологією [95, 140]. Стрес, перенесений матір'ю під час різних термінів вагітності, має несприятливий вплив на внутрішньоутробний розвиток плода та наступне формування організму аж до дорослого стану [39]. Особливо несприятливим є вплив оксидативного стресу в пізньому пренатальному онтогенезі, коли відбувається інтеграція всіх ланок системи нейроендокринної регуляції, яка відповідає за формування адаптивних функцій у дорослих. Однак ця проблема досі вивчена недостатньо, а роботи по вивченню впливу пренатального стресу на вільнорадикальні процеси в тимусі пренатально стресованих тварин відсутні.

Пренатальний стрес не мав впливу на конститутивні показники ліпопероксидації та антиоксидантного захисту в епітеліальній зоні, проте модифікував антиоксидантну активність в глибокій корі тимуса, де активність каталази зросла, а глутатіонпероксидази - знизилась.

У премедулярній зоні пренатальний стрес переводив функціонування системи ліпопероксидація-антиоксидантний захист на більш низький рівень за рахунок одночасного зниження вмісту вторинних продуктів та активності каталази.

Найбільш масштабні зміни у тварин із синдромом пренатального стресу мали місце в мозковій речовині вилочкової залози. Тут відбулося зниження інтенсивності ліпопероксидації, про що свідчить зниження вмісту досліджених продуктів. Антиоксидантні ферменти зазнали неоднозначних модифікацій: зростала активність супероксиддисмутази та знижувалася – глутатіонпероксидази.

Більш виразно наслідки впливу пренатального стресу проявилися після хронічної іммобілізації. В епітеліальній зоні тварин дослідної групи відбулося зниження всіх показників, за винятком малонового альдегіду. Це свідчить про функціональне виснаження прооксидантно-антиоксидантної системи в цілому при вираженому переважанні змін антиоксидантного захисту. Порівнюючи постіммобілізаційні зміни в залозі тварин з пренатальним стрес-синдромом зі змінами в контрольних щурів можна констатувати їх більшу вираженість у тварин дослідної групи.

У зоні глибокої кори тимуса пренатально стресованих тварин постіммобілізаційні зміни полягали в зниженні вмісту дієнових кон'югатів та активності супероксиддисмутази, а в премедулярній зоні мало місце зниження активності всіх антиоксидантних ферментів при незміненому рівні продуктів ліпопероксидації.

Іммобілізація активувала глутатіонпероксидазу, знижувала вміст продуктів ліпопероксидації, активність супероксиддисмутази, каталази у мозковій речовині тимуса тварин з пренатальним стрес-синдромом

Порівняльний аналіз наслідків хронічного іммобілізаційного стресу для тимуса контрольних та пренатально стресованих тварин свідчить, що в останніх має місце ряд особливостей. По-перше, у більшості випадків має місце значно нижчий рівень функціонування прооксидантно-

антиоксидантної рівноваги в цілому. По-друге, більш виражені зміни після хронічного стресорного навантаження мають місце в системі антиоксидантного захисту в порівнянні з інтенсивністю ліпопероксидації, а зниження резервної потужності антиоксидантних ферментів прийнято вважати ознакою несприятливого перебігу патологічного процесу [23, 49, 50]. Ці зміни можуть стати складовою нейроімуноендокринних порушень, які мають місце при синдромі пренатального стресу, адже механізми впливу тимічних гормонів на регуляторні й обмінні процеси та селективна взаємодія клітинних систем тимуса зі стимулами різноманітної природи визначається кількісним та якісним станом плазматичних та внутрішньоклітинних мембран [69, 113].

Тимус відрізняється надзвичайно вираженою динамічністю різноманітних процесів, при яких відбір і диференціювання клітин Т-ряду корегуються їх загибеллю [36]. Фізіологічна загибель лімфоцитів може відбуватися через апоптоз [160, 164]. Проте високий ступінь загибелі клітин повинен компенсуватися інтенсивною проліферацією, яка визначає заповнення тимуса клітинами [200]. Таким чином, взаємовідносини між процесами проліферації та апоптозу тимоцитів визначає відбір їх клонів і є основою для контролю за диференціюванням Т-лімфоцитів, формуванням імунної системи та реалізацією імунологічного захисту організму [141, 318, 333].

Тимус є одним з органів, найбільш чутливих до стресогенних чинників. Існує багато переконливих доказів того, що динаміка змін його клітинного складу відображає розвиток загального адаптаційного синдрому [19, 36].

Тому реакція лімфоїдної популяції тимуса та морфофункціональних параметрів тимоцитів на стресогенні чинники є важливим критерієм оцінки впливу гормонів стресу на імуногенез.

У всіх досліджених зонах вилочкової залози контрольних щурів, за винятком медулярної, іммобілізація спричинила достовірне зростання сумарної щільності нормальних клітин лімфоїдної популяції. У медулярній

зоні цей показник після іммобілізації зазнавав зниження. Такі постіммобілізаційні зміни, на наш погляд, відображають функціональне призначення даних структурних відділів залози, чутливість лімфоїдних клітин до глюкокортикоїдів та процеси міграції лімфоцитів. Відомо, що ті зміни, які відбуваються в тимусі під час стресу, головним чином зумовлені впливом глюкокортикоїдних гормонів та деяких інших гормонів стресу. Найвищу чутливість до глюкокортикоїдів мають лімфоцити кіркової зони тимуса [120, 57]. Під впливом глюкокортикоїдів у таких лімфоцитах активуються певні ферментні системи, що приводить або до загибелі більшої їх частини шляхом апоптозу, або до швидкого диференціювання. Вважають, що той чи інший ефект глюкокортикоїдів залежить від їх концентрації – великі дози (сильний стрес) викликають загибель тимоцитів, а помірні стресорні впливи, тобто більш низькі концентрації гормонів, стимулюють проліферацію та диференціювання [31, 170]. Під впливом глюкокортикоїдів спочатку виникає апоптоз незрілих кортизончутливих Т-лімфоцитів з одночасною міграцією макрофагів, які фагоцитують продукти розпаду лімфоцитів. Одночасно підсилюється проліферація лімфобластів субкапсулярної зони, вихід зрілих Т-лімфоцитів у кров і продукція тимічних гормонів епітеліальними клітинами [31, 97]. Очевидно, підвищення сумарної щільності лімфоїдних клітин у зазначених вище зонах відображає прискорення процесів проліферації та диференціації, а збіднення мозкової речовини лімфоцитами можна розцінити як їх посилений вихід у кров та вторинні лімфоїдні органи [148, 61].

Ця теза знайшла підтвердження при аналізі змін структури лімфоїдної популяції, які відбулися в різних зонах залози під впливом іммобілізації. Послідовні морфофункціональні зміни в напрямку великий лімфоцит - середній - малий прийнято розцінювати як процес дозрівання [57, 58-60, 148]. У наших дослідженнях після іммобілізації в субкапсулярній, глибокій кірковій зонах та внутрішньочасточкових периваскулярних просторах значно зростає щільність малих лімфоцитів при одночасному зниженні цього

показника щодо великих, середніх тимоцитів, а в деяких випадках і лімфобластів. Лише в медулярній зоні домінують середні лімфоцити, а щільність малих знижується, що є підтвердженням їх посиленої міграції за межі залози. Ця закономірність справджується при аналізі постімобілізаційного відсоткового розподілу субпопуляцій лімфоцитів – відсоток малих лімфоцитів суттєво зростає у всіх зонах, за винятком медулярної. В останній, як і за щільністю, переважають середні лімфоцити.

Однією з основних ознак стресу є зниження маси тимуса за рахунок апоптозу та/або міграції лімфоцитів. При дії сильних стресорів вже через 6 год зростає відсоток апоптотичних клітин та апоптотичних тіл у тимусі [31, 61].

Отримані нами дані не зовсім вкладаються в класичні погляди на наслідки стресу для морфофункціонального стану тимуса. Вони співпадають з загальноприйнятими критеріями за ознакою посиленої міграції лімфоцитів за межі тимуса та зростанням відсотка апоптотичних клітин у субкапсулярній зоні, однак посилене диференціювання тимоцитів у кірковій зоні в цілому свідчить, що використана нами модель стресу викликає деяку активацію функції тимуса. Проте детальний аналіз даних літератури дозволив нам знайти пояснення цьому феномену. Існують експерименти, які показують, що підсилення функціональної активності тимуса є початковою фазою акцидентальної інволюції органа [160, 161]. Початком істинних інволюційних процесів у тимусі вважають II фазу акцидентальної інволюції, коли значно зростає кількість макрофагів у корі тимуса. Притік макрофагів у цей період зв'язаний з апоптозом Т-лімфоцитів та зменшенням маси тимуса [114]. Ймовірно, наша модель стресу за своєю інтенсивністю та тривалістю справляє помірний вплив, а отримані результати можна оцінити як I фазу акцидентальної інволюції тимуса. До речі, аналіз постстресорних змін ліпопероксидації та антиоксидантного захисту в тимусі також засвідчив помірну їх вираженість.

Імобілізаційний стрес впливав також на морфометричні характеристики лімфоцитів. Слід зазначити, що вплив імобілізації на ці

показники мав структурні особливості. Так, у субкапсулярній зоні найбільших змін зазнали морфометричні параметри лімфобластів та малих лімфоцитів, у глибокій корі - середніх та малих, у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах - великих та до деякої міри середніх і малих, а в медулярній зоні – лімфобластів.

Менш стабільними були зміни щільності деструктивних клітин: у субкапсулярній зоні та внутрішньочасточкових периваскулярних просторах цей показник залишався без змін, але знижувався в глибокій корі (за рахунок популяції малих лімфоцитів) та медулярній зоні (за рахунок лімфобластів). Вивчення відсоткового розподілу деструктивних клітин показало зростання відсотка апоптотичних клітин у субкапсулярній зоні, зниження відсотка деструктивних великих та малих лімфоцитів у глибокій корі та середніх і лімфобластів – у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах і медулярній зоні відповідно.

Необхідно зазначити, що наявність деструктивних клітин є обов'язковою не лише при дії на організм різноманітних факторів середовища, але й у стані функціонального спокою залози. Певна частина клітин у кожному функціональному класі лімфоцитів усіх структурно-функціональних зон тимуса має ознаки деструкції. У наших дослідженнях в тимусі контрольних тварин їх вміст складав від 13 до 17%, що в цілому є близьким до даних, отриманих іншими авторами [7, 59, 147]. Наявність цих клітин, ймовірно, є наслідком процесів антигенної селекції лімфоцитів, яка відбувається у вилочковій залозі [16, 107]. Підтвердженням цього є той факт, що в глибокій корі тимуса, де відбуваються основні процеси антигенної селекції лімфоцитів, внаслідок чого значна частина їх гине [16, 318], сумарна щільність деструктивних клітин вірогідно перевищує цей показник в інших зонах. Подібна структурна картина вмісту деструктивних клітин отримана А.В.Абрамовим зі співробітниками [7, 147], але відрізняється від більш ранніх досліджень інших авторів. Причина цього полягає у використанні методів, які не давали можливості ідентифікувати початкові ознаки апоптозу,

в силу чого враховуються лише апоптотичні тільця. Метод, запропонований А.В.Абрамовим, Ю.М.Колесніковим та ін. [7], оснований на застосуванні математичних класифікаційних критеріїв, дозволяє виділити початкові ознаки деструкції лімфоїдних клітин для покращання оцінки функціонального стану лімфоїдної популяції в кожному конкретному випадку.

Пренатальний стрес справляв стійкий довготривалий та неоднозначний вплив на сумарну щільність лімфоцитів у структурно-функціональних зонах тимуса. У всіх відділах залози пренатально стресованих тварин, за винятком глибокої кіркової, зростала сумарна щільність деструктивних лімфоцитів. Щодо незмінених лімфоцитів, у субкапсулярній та глибокій кірковій зонах тимуса їх сумарна щільність була зниженою, а у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах та медулярній зоні – вищою, ніж у контрольних тварин.

У відповідності до функціонального призначення кожного відділу залози, такий перерозподіл може свідчити про сповільнення процесів диференціації в перших двох зонах і модифікацію інтратимічного переміщення лімфоцитів та їх міграції за межі тимуса. Така думка дістає підтвердження при детальному аналізі структури лімфоїдної популяції – зниження загальної щільності тимоцитів у субкапсулярній та глибокій кірковій зонах, які забезпечують їх диференціювання та становлення автотолерантності [16, 160] відбулося за рахунок малих лімфоцитів. У той же час у внутрішньодолькових периваскулярних просторах та медулярній зоні, які забезпечують міграцію лімфоцитів за межі тимуса [61, 148], щільність малих лімфоцитів зростала. Крім того, в мозковій речовині зростала також щільність середніх лімфоцитів, що може свідчити про деяке сповільнення антигензалежного дозрівання Т-лімфоцитів.

Ймовірність такої точки зору є цілком вірогідною, якщо згадати, що всі ці процеси знаходяться під нейроендокринним контролем, який здійснюється не лише гормонами ГНС, але й нейропептидами [1, 64, 157],

нейромедіаторами [112], гормоном росту [55, 112], тиреоїдними гормонами [48], пролактином [202] та багатьма іншими чинниками біологічної регуляції системного характеру. Більшість із них у тварин з пренатальним стрес-синдромом зазнають довготривалих модифікацій [95, 99, 140], що неминуче повинно вплинути на контрольовані показники.

Крім того, вже згадувалося, що тимус – це цитоендокринний орган, який забезпечує дозрівання кістково-мозкових клітин-попередників і диференціювання антиген-специфічних Т-лімфоцитів, сприяючи їх міграції та заселенню периферійних лімфоїдних органів. Ці процеси регулюються гормонами та інтерлейкінами самого тимуса [145, 155], які також можуть зазнавати імпринтингових змін.

Пренатальний стрес впливав і на морфометричні характеристики лімфоцитів. Цей вплив був незначним у субкапсулярній зоні та досить вираженим щодо малих лімфоцитів глибокої кори тимуса, середніх і малих лімфоцитів внутрішньочасточкових периваскулярних просторів і медулярної зони.

Що стосується впливу пренатального стресу на денситометричні характеристики клітин лімфоїдної популяції тимуса, то він теж характеризувався вираженими структурними особливостями – в субкапсулярній та глибокій кірковій зоні оптична щільність зростала для всіх клітин, у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах – знижувалася, а в медулярній зоні змінювалася неоднозначно для різних субпопуляцій лімфоцитів.

Модифікації конститутивних показників структури клітин лімфоїдної популяції та їх морфометричних характеристик у тварин із синдромом пренатального стресу демонструють залежність пренатального онтогенезу тимуса від нейроендокринних порушень та підтверджують вірогідність внутрішньоутробної реакції тимуса на дію стресорів.

Можливість пренатальних імпринтингових порушень функціонування тимуса зумовлена тим, що як ендокринна так і лімфопоетична функції залози

формується під час пренатального онтогенезу, хоча й розпочинаються неодноразово – ендокринна з'являється першою, а вже потім – лімфопоетична [37, 62]. Тималін виробляється епітеліальними клітинами ще в закладці тимуса. Він надходить у кров та має здатність дистантно діяти на лімфоцити первинного кровотворного органу – печінки, забезпечуючи в ній диференціювання Т-лімфоцитів. У людини об'єднання гормональної та лімфопоетичної функцій тимуса відбувається на 7-8-му тижнях ембріогенезу [37, 62].

Процеси взаємного регулювання імунної та ендокринної систем також починають функціонувати ще в період пренатального онтогенезу. Материнський стрес асоціюється з передчасними пологамі, порушенням регуляції КРФ і продукції прозапальних цитокінів у нащадків [199].

Взаємозв'язок онтогенезу імунної та ендокринної систем демонструють результати досліджень Shanks et al. [307]. При тривалому неонатальному призначенні ендотоксину авторами встановлено порушення розвитку ГГАС у дорослих самців та самок щурів. Це проявлялося суттєвішим зростання рівнів АКТГ та кортикостерону у відповідь на іммобілізаційний стрес порівняно з інтактними тваринами. Дексаметазон у цих тварин також меншою мірою пригнічував секрецію АКТГ за умов іммобілізаційного стресу, що означає зниження чутливості негативного зворотного зв'язку в ГГАС. Подібне втручання підвищувало рівень КРФ та аргінін-вазопресину (АВ) у медіальній еміненції дорослих тварин та посилювало експресію мРНК КРФ у паравентрикулярному ядрі гіпоталамуса дорослих самців. Крім того, щільність рецепторів глюкокортикоїдів була знижена у всіх мозкових структурах дорослих тварин. Результати демонструють взаємозв'язок онтогенезу імунної та ендокринної систем і свідчать, що ендотоксин при дії впродовж критичних періодів розвитку знижує глюкокортикоїдний негативний зв'язок пригніченням синтезу й секреції АКТГ, підвищуючи респонсивність ГГАС на стрес. Це може стати причиною індивідуальної схильності до стрес-обумовленої патології [307].

Здатність ембріонального тимуса реагувати на несприятливі чинники різного генезу продемонстрована багатьма дослідниками. У плодів щурів, внутрішньоутробний розвиток яких відбувався на території з радіоактивним забрудненням, відмічалось відставання в розвитку виличкової залози, що полягало в зменшенні її об'єму, абсолютної та відносної маси, скороченні клітинного фонду за рахунок інтерфазної загибелі частини лімфоцитів, гальмуванні мітотичної активності тимоцитів. Вважають, що ці дегенеративно-дистрофічні процеси можуть у подальшому викликати порушення в системі клітинно-опосередкованого й гуморального імунітету [76]. Показано також, що проживання батьків у місцях, забруднених радіонуклідами, справляє патологічний вплив на ембріогенез тимуса людини. У крові новонароджених відразу після народження визначається зниження фактора Баха, який вважається тестом, що дозволяє оцінити сумарну активність гормонів тимуса [11].

Можливість імпринтингових порушень функціонування імунної системи була показана дослідженнями з пренатальним введенням антигенів. Вагітним мишам на 19-й день вагітності в/в вводили імуноглобулін-протеоліпідний пептид та його змінений варіант, які проникають через плаценту в організм плода. Вивчали презентацію пептидів Т-клітинам у тимусі плода та наслідки цих процесів у дорослому організмі. Нативний аутологічний та змінений пептиди презентувалися як у тимусі, так і в периферійних лімфоїдних органах плода, внаслідок чого послаблювалася відповідь на ці пептиди в дорослих мишей [195].

Одним з чинників, який має здатність викликати імуномодуляцію, є пренатальний стрес. Експерименти, проведені на самцях та самках віком 2 міс. свідчать, що пренатальний стрес пригнічує імунну функцію. У тварин з пренатальним стрес-синдромом мало місце зниження цитотоксичності натуральних кіллерів (НК) селезінки та крові. Таким чином, ефекти пренатального стресу не обмежуються окремими компартментами імунної системи. Крім того, знижувалася частота проліферації лімфоцитів селезінки

та їх відповідь на фітогемаглютинін. Супресія проліферації В-клітин була більшою в самок, а цитотоксичність НК – у самців. Пренатальний стрес не пошкоджував розподіл субтипів лімфоцитів ні в крові, ні в селезінці. Це означає, що редукція проліферативної та цитотоксичної активності є скоріше результатом функціональних модифікацій ефекторних механізмів у клітинах, ніж пошкодження їх міграції між імунними компартментами [283].

Пренатальний стрес впливав не лише на конститутивні параметри морфофункціонального стану тимуса, але й на стрес-індуковані. Імобілізація пренатально стресованих тварин спричинила суттєве зростання щільності нормальних клітин лімфоїдної популяції в субкапсулярній зоні та глибокій корі, однак воно було значно нижчим, ніж у контрольних. Крім того, в субкапсулярній зоні тварин дослідної групи на відміну від контрольних відбулося зниження щільності клітин, які мали ознаки деструкції. Таким чином, у цих відділах залози за показниками сумарної щільності клітин реактивність тимуса тварин дослідної групи була нижчою, ніж у контролі. Оцінка постімобілізаційних змін структури лімфоїдної популяції та відсоткового розподілу різних форм лімфоцитів підтвердила цю точку зору – при подібності реакції на стрес з боку ідентичних субпопуляцій тимоцитів вона була менш вираженою у тварин з пренатальним стрес-синдромом. Крім того, в глибокій корі тварин дослідної групи на імобілізацію реагували лише середні та малі лімфоцити, в той час як у контрольних тварин мав місце такий перерозподіл у субпопуляціях лімфобластів та великих лімфоцитів, який свідчив не лише про прискорену диференціацію клітин лімфоїдного ряду, але й про посилене надходження пре-Т-лімфоцитів до залози.

За показником сумарної щільності лімфоцитів у медулярній зоні пренатально стресованих тварин імобілізація мала вплив, який кількісно перевищував реакцію контрольних тварин. Як показав аналіз структури лімфоїдної популяції, ці зміни відбулися головним чином за рахунок зниження щільності субпопуляції малих лімфоцитів, у той час як у

контрольних тварин – за рахунок великих і малих. Таким чином, можна думати, що в щурів із синдромом пренатального стресу прискорювалася лише міграція лімфоцитів за межі органу, в той час як у контрольних цей процес відбувався на тлі прискореного диференціювання тимоцитів.

У внутрішньочасточкових периваскулярних просторах тварин з пренатальним стрес-синдромом зміни сумарної щільності були протилежними до тих, які мали місце в контролі. При оцінці реактивності окремих субпопуляцій лімфоцитів не виявлено достовірних відмінностей порівняно з конститутивними показниками, хоча в контрольних тварин мали місце зміни щільності середніх і малих лімфоцитів. Чітке підтвердження цьому отримано при дослідженні відсоткового розподілу субпопуляцій тимоцитів.

Постстресорні зміни морфометричних параметрів клітин лімфоїдного ряду у тварин із синдромом пренатального стресу також мали значні відмінності від тих, що спостерігалися в контрольних. Особливо вираженими ці відмінності були щодо малих лімфоцитів у всіх структурно-функціональних зонах залози, великих та середніх лімфоцитів внутрішньочасточкових периваскулярних просторів та медулярної зони. У субкапсулярній та медулярній зонах тимуса пренатальний стрес мав також модифікуючий вплив на постімобілізаційні денситометричні показники.

Отже, пренатальний стрес викликав численні кількісні й якісні модифікації показників реактивності тимуса щодо тих нейроендокринних збурень, котрими супроводжується дія іммобілізаційного стресу. Тим самим була продемонстрована залежність морфофункціонального стану тимуса від центральної нейроендокринної регуляції.

Проблема нейроімуноендокринних взаємовідносин не вичерпується знанням тих механізмів, через які контролюється стан тимуса. Являючись залозою внутрішньої секреції, тимус є важливою ланкою в ендокринній системі організму та має здатність впливати на гормональну активність інших залоз внутрішньої секреції [46]. При патології тимуса між ним та

іншими ендокринними органами змінюються спрямування, сила та характер кореляційних взаємозв'язків, що на думку багатьох авторів дає право розглядати ці стани не лише як імунні, але й гормонально-обумовлені хвороби [45]. Показано, що тимектомія та пептиди тимуса впливають на секрецію гормонів щитовидної залози [15], гіпофіза [309], пізнавальні функції (особливо на навчання та пам'ять) [252], продукцію гормонів гіпоталамусом [309], оваріальні ендокринні функції [18, 34].

Саме тому ми поставили за мету дослідити вплив тимічних пептидів на окремі нейрохімічні, нейропептидні та біохімічні показники стану лімбіко-гіпоталамічних структур мозку. Якщо вивчення ефектів стресу на показники морфофункціонального стану тимуса дозволило дослідити деякі механізми нейроендокринних впливів на імунну систему, то застосування тимічних пептидів може прояснити окремі аспекти зворотного впливу тимуса на нейрохімічні та ендокринні параметри.

На сьогоднішній день накопичена достатня кількість наукової інформації щодо участі ендогенних опіоїдних систем у процесах імуномодуляції. Опіоїди модулюють стан імунної системи шляхом регуляції функції імунокомпетентних клітин, синтезу тимічних гормонів [1]. Ендогенні опіоїдні пептиди є одними з найважливіших посередників взаємодії нервової та імунної систем і відіграють ключову роль у процесах адаптації організму. Вони виконують функцію контролю за процесами проліферації, диференціації імунокомпетентних клітин, регуляції балансу T_H1/T_H2 та цитокінового синтезу [41]. Встановлено, β -ендорфін та налоксон значно активують синтез ІЛ-4, стимулюють фагоцитарну активність перитонеальних мишачих макрофагів [273]. Існують переконливі докази участі у механізмах імуномодуляції різних опіоїдних рецепторів. При активації μ -опіоїдних рецепторів має місце стимуляція імуногенезу, у той час, як κ -агоністи викликають імуносупресію [150, 151]. β -ендорфін та синтетичні агоністи δ – та μ -опіатних рецепторів з різним ступенем інтенсивності стимулюють вираженість реакції бласттрансформації лімфоцитів у культурах із

фітогемаглютиніном, проліферативну відповідь лімфоцитів у присутності мітогена, зсуваючи баланс Т-хелперів в бік Тх2 [41]. Активація μ -опіоїдних рецепторів значно підвищує число бляшко- та розеткоутворювальних клітин у селезінці тварин під час піку імунної відповіді. Цей ефект опосередковується центральними механізмами за участю гіпоталамо-гіпофізарного комплексу та дофамінових рецепторів Д2-типу [152]. Показано, що центральні опіоїди задіяні в ініціації експресії клітинної активності НК. Дослідження еферентного шляху комунікацій між ЦНС та імунною системою шляхом введення β -ендорфіну та динорфіну у велику цистерну мозку продемонструвало наявність двосторонніх зв'язків між ЦНС та імунною системою й підтвердило, що саме β -ендорфін є одним із сигналів, який індукується мозком і викликає відповідь НК [210].

Таким чином, численні дослідження свідчать, що взаємовідносини між імунною та опіоїдною системами швидше всього є реципрокними. Однак якщо вплив центральних опіоїдів на показники діяльності імунної системи вивчено достатньо добре, то зворотні впливи майже недосліджено.

При вивченні конститутивного вмісту β -ендорфіну встановлено що у тварин із синдромом пренатального стресу він нижчий у преоптичній ділянці проте перевищує показники в контрольних тварин у перегородці мозку й медіобазальному гіпоталамусі.

Введення Т-активіну контрольним тваринам викликало суттєве зниження вмісту β -ендорфіну в преоптичній ділянці й мигдалеподібному комплексі та підвищення - в медіобазальному гіпоталамусі. У тварин із синдромом пренатального стресу реакція β -ендорфінергічної системи преоптичної ділянки та медіобазального гіпоталамуса на введення Т-активіну була відсутньою. Реакція β -ендорфіну на Т-активін в мигдалеподібному комплексі була подібною до тієї, яка мала місце в контрольних тварин, але менш вираженою. Таким чином, пренатальний стрес значно модифікує функціональні взаємозв'язки тимуса та β -ендорфінергічної системи деяких лімбіко-гіпоталамічних структур.

Отримані результати стають зрозумілими, якщо згадати, що в механізмах формування синдрому пренатального стресу важлива роль належить порушенням взаємодії між катехоламінами-опіоїдами та глюкокортикоїдами-опіоїдами [293]. При дії стресорів упродовж останнього триместру вагітності активуються стрес-реалізуючі та стрес-лімітуючі системи не тільки матері, але й плода, що згідно теорії гормон-медіаторного імпринтингу змінює генетичну програму реагування на стрес у подальшому житті. Ендогенні опіоїди є однією з важливіших ланок системи стрес-обмеження. Здатність опіоїдних пептидів обмежувати вплив симпатoadреналової системи при різних видах стресу через негативний зворотний зв'язок запобігає масивному викиду катехоламінів та глюкокортикоїдів у кров та їх гістотоксичній дії [70, 100]. Захисна роль ендогенної опіоїдної системи проявляється до певного рівня гіпоксії чи стресу. При значному поглибленні останніх захисна реакція сягає критичного рівня, а гіперреактивність опіоїдної системи плода, яка виникає після цього, приводить до пригнічення ряду функціональних систем організму плода, в т.ч. серцево-судинної та дихальної, що поглиблює несприятливу ситуацію (ендогенна опіоїдна депресія плода) [98]. Отже, як недостаня, так і надмірна реактивність центральних опіоїдних систем плода може стати причиною порушення її функціонування у подальшому, чим, ймовірно, пояснюються конститутивні модифікації вмісту β -ендорфіну в наших дослідженнях. Без сумніву, вони могли стати причиною порушеної реакції β -ендорфінергічної системи лімбіко-гіпоталамічних структур на введення Т-активіну.

Зниження імунологічних реакцій за умов стресу є результатом зміни нейрохімічної картини мозку [52, 80]. Показано, що СТ-, НА- та адренергічні впливи задіяні в імунонейроендокринній модуляції ГГНС у щурів. Зокрема, вони вірогідно опосередковуються активацією 5-СТ₂C рецепторів та α 1-адренорецепторами, тоді як 1A СТ рецептори чи β -адренорецептори не брали участі в цьому феномені [163].

Провідна роль у процесах імуномодуляції серед нейрохімічних чинників належить СТ-ергічній системі [24, 114]. При фармакологічному виснаженні СТ-ергічної системи чи активації ДА-ергічної й зміщенні балансу в бік переважання останньої, яка є імуностимулятором, спостерігається імуностимуляція. Це свідчить, що шляхом цілеспрямованого впливу на нейрохімічні системи мозку фармакологічним шляхом можна внести корекцію в імунологічний статус [52, 152].

Виходячи з визначальної ролі СТ-ергічної нейрохімічної системи в регуляції імунологічного статусу, а також опираючись на дані літератури про модифікуючий вплив пренатального стресу на цю систему [99], ми провели дослідження впливу тимічних пептидів на вміст серотоніну в лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку контрольних та пренатально стресованих тварин.

У наших дослідженнях пренатальний стрес справляв суттєвий вплив на конститутивний вміст серотоніну лише в ядрах мигдалика, де відбулося його зниження. Т-активін викликав достовірне зниження вмісту серотоніну в усіх досліджених структурах мозку контрольних тварин. Ми вважаємо, що реакція серотонінергічної системи мозку на тимічні пептиди свідчить про існування негативного зворотного зв'язку між цими чинниками.

У щурів із синдромом пренатального стресу зниження вмісту серотоніну відбулося лише в преоптичній ділянці й медіобазальному гіпоталамусі. На наш погляд, отримані результати свідчать про втрату зворотного зв'язку між функціональним станом тимуса та серотонінергічними системами перегородки й мигдалеподібних ядер мозку під впливом пренатального стресу.

Виявлені модифікації можуть частково пояснюватися патологією β -ендорфінергічної системи, описаною вище. Річ у тім, що між центральними опіоїдними та серотонінергічними системами виявлено тісні взаємозв'язки. Існують дані, що при патології ендогенної опіоїдної системи у вагітних самок, яку викликають введенням морфіну під час вагітності, порушується

баланс нейромедіаторів, зокрема серотоніну у їх нащадків [90]. Введення ендо- та екзогенних опіоїдів міняє синтез, метаболізм та виділення СТ в мозку. З іншого боку, багато ефектів опіатів опосередковуються підсиленням функції СТ-ергічної системи [150]. Таким чином, зміни функціонального стану однієї системи повинні відобразитись на діяльності іншої.

Цілком імовірно, що показані багатьма авторами порушення імунологічного статусу у тварин та людей з пренатальним стрес-синдромом можна до певної міри віднести на рахунок виявлених нами модифікацій, оскільки, як зазначалося вище, саме нейромедіатори запезпечують нейроімуномодуляцію та беруть безпосередню участь у різноманітних імунних реакціях [32].

Концепція двосторонніх зв'язків між нейроендокринною та імунною системами підтверджується на основі аналізу здатності тимічних гормонів модулювати продукцію гормонів.

Дані літератури свідчать, що введення щурам трийодтироніну приводить до інтратимічного перерозподілу білків екстрацелюлярного матриксу, особливо в кортикальній зоні тимічних дольок. Крім того, під впливом введення T_3 та пролактину відбувається модуляція гетеротипічних клітинних взаємозв'язків, зокрема, між тимоцитами та тимічними епітеліальними клітинами [303].

У свою чергу, тимічні гормони мають здатність модулювати продукцію гормонів інших залоз і нейропептидів [311], впливаючи на стан нейроендокринної системи в цілому. Тимічні пептиди стимулюють секрецію пролактину, гормону росту, лютропіну, фолітропіну, тиротропіну та інших гормонів [303]. Багато літературних даних свідчить про наявність негативних та позитивних зворотних зв'язків між секрецією тимічних пептидів та гормонів більшості ендокринних залоз. Це послужило мотивом для вивчення нами впливу тимічних пептидів на секрецію деяких гормонів.

Відомо, що пренатальний стрес призводить до тривалої модифікації конститутивного вмісту пролактину та стрес-індукованого вмісту тироксину,

пролактину та серотонінергічних механізмів регуляції їх рівнів у плазмі крові [95]. Тому логічно очікувати, що ті гормональні модифікації, які викликає пренатальний стрес, можуть вплинути на становлення ендокринної та лімфопоетичної функції виличкової залози, що в свою чергу може поглибити зрушення тиреоїдної функції. Отже, виходячи з взаємообумовленості розвитку й функціонування імунної та нейроендокринної систем порушення взаємовідносин між ними у тварин з пренатальним стрес-синдромом є прогнозованим явищем, яке, втім, потребує експериментальних підтверджень.

Ми провели дослідження ендокринних корелятивів впливу Т-активіну за вмістом тиротропіну, тироксину, трийодтироніну та пролактину.

Нами не знайдено достовірних відмінностей між конститутивним вмістом ТТГ і T_4 в плазмі крові контрольних тварин та щурів із синдромом пренатального стресу, проте рівень T_3 й пролактину був вищим у тварин останньої групи. Подібні гормональні модифікації спостерігали також інші автори [95, 99].

У контрольних тварин після введення Т-активіну відбулося вірогідне зростання рівня всіх досліджених гормонів. Це свідчить, що тимічні пептиди стимулюють ендокринну функцію гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдної системи та тих клітин передньої частки гіпофіза, котрі продукують ПРЛ.

Взаємозв'язок цих гормонів із діяльністю імунної системи доведено експериментально. Імунізація щурів еритроцитами вівці, що несуть залежний від Т-клітин антиген, індукувала накопичення в гіпоталамусі щурів мРНК тироліберину, а також збільшувала вміст мРНК рецепторів тироліберину в гіпофізі та рівень циркулюючого пролактину, що супроводжувалося супресією активності ГГНС. У той же час, внутрішньошлуночкове введення антисмислових олігодезоксинуклеотидів проти мРНК тироліберину пригнічувало утворення антитіл проти еритроцитів вівці та запобігала підвищенню циркулюючого рівня ПРЛ. Це свідчить, що залежна від Т-клітин

імунна відповідь у щурів обумовлена ранньою активацією тироліберину та ПРЛ [202].

Тісний функціональний зв'язок тимуса зі щитовидною залозою продемонстровано багатьма дослідниками [36, 46]. Зокрема, після видалення тимуса морфофункціональна активність щитовидної залози починає зменшуватись [15, 156], а пересадка тимуса старим тваринам приводить до зростання концентрації T_3 та T_4 . У свою чергу, тиреоїдектомія викликає зміну морфоструктури тимуса, зменшення його маси та кількості клітин [13], зниження ендокринної функції [36]. При експериментальному гіпотиреозі змінам функціонального стану гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдної системи також акомпанують ослаблення ендокринної функції тимуса [46]. Ці зміни насамперед зумовлені послабленням проліферативних процесів зі зниженням індексу проліферативної активності.

Дані літератури свідчать, що серед багатьох чинників гормональної природи, здатних до модуляції імунних реакцій, пролактину належить особливе місце.

За сучасними поглядами пролактин відносять до сімейства цитокінових біологічних регуляторів, які сприяють дозріванню і диференціюванню клітин імунної системи. Пролактин діє як цитокін, якщо він продукується органами імунної системи (активованими імуноцитами, найбільше Т-клітинами та тимоцитами) і регулює відповідь лімфоцитів паракринним та аутокринним механізмами [198]. Доведено, що ПРЛ діє як аутокринний чи паракринний фактор росту, який регулює проліферацію попередньо стимульованих імунокомпетентних клітин. Мембраннозв'язаний рецептор до пролактину, який відноситься до суперсімейства цитокінових рецепторів, представлений практично на всіх імунокомпетентних клітинах-мішенях і реалізує свої фізіологічні ефекти, взаємодіючи з іншими цитокінами, які входять до складу т.з. "цитокінової сітки" [198]. ПРЛ активує функції імунокомпетентних клітин та імунної системи у цілому: стимулює гуморальну та клітинно-опосередковану відповідь, посилює експресію рецептора ІЛ-2 на Т-

лімфоцитах і синтез ДНК, впливаючи на спрямування диференціювання Т-лімфоцитів, у якості комітогена посилює мітогеніндуковану проліферацію Т-лімфоцитів, підвищує фагоцитарну активність і хемотаксис макрофагів, стимулює прояви цитотоксичних властивостей Т-лімфоцитів-кіллерів. Після стимуляції Т-клітин ПРЛ індукує чисельні гени у т.ч. гени раннього реагування *c-fos*, *c-myc*, орнітиндекарбоксилази, інтерферон-регулювального фактора 1 та ін. [330].

Попереднє введення ПРЛ відмінняє розвиток стрес- та глюкокортикоїдіндукованої імуносупресії і апоптоз тимоцитів, що зв'язують з проявами його імунопротекторної дії. Згідно сучасної уяви, в основі цього феномена лежать різноманітні механізми. На клітинно-молекулярному рівні доведено, що одна з сигнальних молекул трансдукції ПРЛ Stat-5-кіназа перешкоджає зв'язуванню глюкокортикоїд-рецепторного комплексу зі специфічною ділянкою ДНК і проявам імуносупресивних ефектів глюкокортикоїдів. Пролактин пригнічує апоптоз лімфоцитів, викликаний дією глюкокортикоїдів. Цей вплив ПРЛ реалізує через посилення експресії генів, що кодують антиапоптотичні фактори Bcl-2 та X_L [178].

Імуномодульовальні ефекти ПРЛ, особливо під час стресу, здійснюються за рахунок скоординованої функціональної взаємодії гормону з іншими імуномодуляторами, перш за все глюкокортикоїдами та ІЛ-1, котрі розглядаються як взаємодіючі ланки нейроімунорегулювального ланцюга [44].

Показано, що при системному введенні активація системи мононуклеарних фагоцитів і продукція ними імуномодульовальних цитокінів у складі лімфоцитаривувальних факторів, найважливіших з яких є ІЛ-1, корелюють з вектором зміни величини гуморальної імунної відповіді, що може розглядатися як участь у реалізації імунопротективної дії ПРЛ при стресі [146]. ПРЛ, не впливаючи на інтенсивність проліферації в реакції бласттрансформації в інтактних тварин, в умовах стресорного впливу підвищує чутливість лімфоцитів до комітогенної дії ІЛ-1, тим самим

запобігаючи стресіндукованому пригніченню проліферативної активності лімфоцитів периферичної крові. Можна думати, що ПРЛ, попереджуючи дестабілізуючий вплив ГК на проліферацію лімфоцитів при стресі, має пермісивну дію, забезпечуючи прояви регуляторних впливів ІЛ-1. Вважають, що інтеграція ефектів пролактину, ГК та ІЛ-1 відбувається на рівні ліганд-рецепторної взаємодії та попереджає розвиток постстресорної дисфункції імунної системи [44, 111].

У свою чергу, як лімфоцитарний, так і гіпофізарний пролактини, знаходяться під контролем імунних факторів [202].

Таким чином, реактивність гормонів гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдної системи та пролактину на введення Т-активіну, отримана в наших дослідженнях, вкладається в рамки існуючих на сьогоднішній день поглядів щодо нейроімуноендокринних взаємовідносин.

Ембріональний тимус не лише має здатність реагувати на нейроендокринні флюктуації, але й у свою чергу впливає на становлення нейроендокринної системи [55].

У наших дослідженнях у тварин із синдромом пренатального стресу гормональна реакція на введення Т-активіну дещо відрізнялася від тієї, яка мала місце в контрольних щурів. У них відбулося вірогідне зростання рівня тиротропіну, тироксину й пролактину при одночасному суттєвому зниженні вмісту T_3 . Інвертований щодо контролю характер реакції трийодтироніну, ймовірно, зв'язаний з периферійними механізмами конверсії T_4 в T_3 . Про це свідчить збережена реакція на тимічні пептиди ТТГ та T_4 .

Іншим проявом модулювального впливу пренатального стресу на імуноендокринні взаємовідносини є значно вища реактивність пролактину на введення Т-активіну в щурів дослідної групи.

Модифікована реакція трийодтироніну та пролактину на тимічні пептиди у тварин з пренатальним стрес-синдромом на наш погляд свідчить, що пренатальний стрес порушує імуноендокринні взаємовідносини.

Ймовірність подібних порушень ґрунтується на тому, що взаєморегулювальна дія гормонів щитоподібної залози та тимуса встановлюється ще в пренатальному періоді онтогенезу. Про це свідчать ті факти, що вроджена відсутність тимуса супроводжується змінами в щитоподібній залозі, а пренатальні рівні T_3 та T_4 також впливають на фізіологію тимуса, в тому числі секрецію ним гормонів [309]. Високий ступінь кореляції тиреоїдної дисфункції та імунних порушень на ранніх етапах онтогенезу продемонстрована дослідженнями Е.Б. Родзаевської, С.А. Степанова [109]. Ними встановлено, що антенатальна дисфункція тиреоїдної системи викликає глибокі зміни у співвідношенні тканинних компонентів та клітинних субпопуляцій тимічної дольки, що свідчить про порушення імунної регуляції.

Тому не дивно, що втручання, здатні викликати порушення імпринтингових механізмів, у тому числі й пренатальний стрес, призводять до дизрегуляції в системі нейроімуноендокринних взаємовідносин. У свою чергу, це може бути однією з причин тих імунопатологій, які мають місце при синдромі пренатального стресу.

Існує безліч експериментальних та клінічних доказів того, що пренатальні стресорні впливи порушують нормальний перебіг вагітності, розвиток плодів, термін настання пологів [39, 159]. Значна кількість дослідників вважає, що пошкоджувальний вплив факторів зовнішнього середовища на ембріон та плід практично не залежить від специфічності фактора. При всіх розмаїттях їх пошкоджувальної дії, очевидно, одним з універсальних патогенетичних механізмів є гіпоксія, яка має виражений пригнічувальний вплив на імунну систему дорослого організму та новонароджених [98]. Показано, що вплив гіпоксії під час другого триместру вагітності спричиняє формування імунodefіциту в новонароджених мишей. Наслідком пренатальної гіпоксії є стрес-синдром [25, 172].

Співставлення показників функціонального стану тимуса та деяких ендокринних залоз при нормальній, а також ускладненій вагітності показало,

що при нормальному перебігу вагітності по мірі її прогресування має місце поступова активація ендокринної функції тимуса, яка ще більше зростає при загрозі переривання вагітності [45]. При ускладненій вагітності ступінь впливу хоріального гонадотропіну (ХГ) на тимус послаблюється в порівнянні з нормальною вагітністю. У I триместрі ХГ має максимальний негативний ефект на ендокринну активність тимічного епітелію. Поступово його вплив зменшується, а під кінець вагітності знову посилюється. При патології вагітності продукція ХГ на всіх етапах гестації знижена, що є причиною більш ранньої активації тимічного епітелію. Оскільки особливості імунітету матері впливають на формування нейроендокринної системи потомства в період внутрішньоутробного розвитку [20], не виключено, що ті нейроендокринні модифікації, що мають місце при синдромі пренатального стресу, принаймні частково, мають таке походження. У свою чергу, ці модифікації через систему двосторонніх зв'язків не можуть не вплинути на функціональний стан імунної системи, що в кінцевому результаті призводить до нейроімуноендокринної дизрегуляції.

Між гормональним, імунним статусом організму та фібринолітичною активністю існують тісні взаємозв'язки [21, 22, 40, 74].

Показано, наприклад, що в гіпофізектомованих курей різко знижувалася кількість лімфоцитів, зростала маса бурси, зменшувалась маса тимуса, мала місце гіперкоагуляція та пригніченням фібринолізу. Отримані дані свідчать про двосторонні зв'язки гормонів гіпофіза, імуногенезу, згортаючої активності крові та фібринолізу [26].

Про двосторонність зв'язків між цими чинниками свідчить той факт, що з одного боку, цитомедини тимуса (тималін) та сумки Фабриціуса значною мірою ліквідують дані порушення [93], з іншого - введення цитомединів передньої долі гіпофіза частково відновлює структуру тимуса [28].

Наші дослідження показали, що введення Т-активіну контрольним тваринам викликало зміни фібринолітичної активності в усіх досліджених

структурах. Слід зазначити, що ці зміни носили неоднозначний характер – у перегородці мозку та преоптичній ділянці всі показники фібринолітичної активності зростали, в ядрах мигдалеподібного комплексу – знижувалися, в медіобазальному гіпоталамусі неферментативна фібринолітична активність зростала, а ферментативна та сумарна – знижувалися. Таким чином, можна дійти висновку, що тимічні пептиди мають структурну вибірковість дії, яка, ймовірно, значною мірою відображає функціональну неоднорідність даних структур (вміст кортиколіберин- та β -ендорфінпродукуючих нейронів, щільність моноамінвмісних елементів, рецепторів різних гормонів та ін.).

Взаємозв'язки між гормональним, імунним статусом та фібринолітичною активністю характеризуються віковими особливостями. Наприклад, вплив гіпофізектомії більш виражений на ранніх етапах онтогенезу. Так, у неонатально гіпофізектомованих курчат зміни структури тимуса та сумки Фабриціуса, пригнічення стану клітинного та гуморального імунітету, гіперкоагуляція, гальмування фібринолізу було більш вираженим, ніж у старших за віком птахів після аналогічного втручання [28].

Вплив пренатального стресу на конститутивні показники фібринолітичної активності був найбільш стабільним по відношенню до її ферментативної складової, яка зазнала модифікацій в перегородці мозку, медіобазальному гіпоталамусі, мигдалеподібному комплексі.

Узагальнюючи дані щодо реакції показників фібринолітичної активності на введення Т-активіну у тварин з пренатальним стрес-синдромом, можна сказати, що вона була більш обмеженою, ніж у контрольних щурів.

Що стосується протеолітичної активності, то за конститутивними показниками, реакцією на введення Т-активіну та чутливістю до дії пренатального стресу мінімальною вразливістю характеризувалися медіобазальний гіпоталамус та мигдалик.

Пренатальний стрес модифікує також реакцію протеолітичних систем на введення Т-активіну в перегородці, преоптичній ділянці та, незважаючи на

нечутливість конститутивних показників до дії пренатального стресу, в мигдалику.

Отримані дані підтверджують нашу точку зору щодо структурної залежності характеру нейроімунних взаємовідносин - пренатальний стрес має найменш виражений вплив на протеолітичну активність саме в тих структурах мозку, які в контрольних тварин слабше реагують на введення Т-активіну, що свідчить про мінімальну їх залежність від функціонального стану тимуса.

Результати, наведені в даній роботі, демонструють лише поодинокі аспекти нейроімуноендокринної дизрегуляції, яка виникає внаслідок дії стресорів впродовж пренатального періоду онтогенезу. Однак ми вважаємо, що проведені нами дослідження дозволяють прогнозувати обширний спектр нейроімуноендокринних порушень, патогенетична корекція яких є можливою лише за умов комплексної оцінки всіх ланок нейроімуноендокринної системи.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення та експериментальні докази вирішення наукової задачі, яка стосується механізмів порушення двосторонніх нейроімуноендокринних взаємовідносин у самців-щурів із синдромом пренатального стресу.

1. Пренатальний стрес модифікує конститутивний вміст цАМФ в усіх структурних зонах виличкової залози, за винятком мозкової речовини, а цГМФ – лише в премедулярній зоні, що свідчить про переважання цАМФ-залежної трансдукції сигналу впродовж пренатального періоду онтогенезу тимуса.

2. Пренатальний стрес не впливає на конститутивні показники інтенсивності флуоресценції катехоламінів у всіх зонах тимуса, проте на 30% ($p < 0,01$) послаблює реакцію катехоламінів на гострий іммобілізаційний стрес у субкапсулярній зоні та усуває реакцію на хронічний іммобілізаційний стрес у внутрішній зоні кіркової речовини.

3. Модифікуючий вплив пренатального стресу на конститутивні показники інтенсивності ліпопероксидації та/або антиоксидантного захисту проявляється у всіх структурно-функціональних зонах тимуса за винятком субкапсулярної. За наслідками хронічної іммобілізації пренатальний стрес має більший вплив на ферменти антиоксидантного захисту, ніж на показники інтенсивності ліпопероксидації.

4. Пренатальний стрес знижує загальну щільність клітин лімфоїдної популяції в субкапсулярній, глибокій кірковій зонах та збільшує – у медулярній зоні, внутрішньочасточкових периваскулярних просторах тимуса, головним чином за рахунок відповідних змін у субпопуляції малих лімфоцитів.

5. У контрольних тварин хронічна іммобілізація збільшує загальну щільність лімфоцитів у субкапсулярній зоні, глибокій корі, внутрішньочасточкових периваскулярних просторах та знижує – у

медулярній зоні, а також призводить до перерозподілу в структурі лімфоїдної популяції. Пренатальний стрес модифікує показник загальної щільності та реакцію малих лімфоцитів у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах.

6. Пренатальний стрес модифікує морфометричні параметри малих лімфоцитів у глибокій корі, малих і середніх – у медулярній зоні й внутрішньочасточкових периваскулярних просторах, оптичну щільність - у всіх структурно-функціональних зонах тимуса. Стрес-індукована реакція морфометричних та денситометричних показників окремих популяцій лімфоїдних клітин зазнає змін у всіх відділах залози пренатально стресованих щурів.

7. У контрольних тварин Т-активін знижує вміст β -ендорфіну в преоптичній ділянці й мигдалеподібному комплексі (на 55% та 67% відповідно, $p < 0,005$) та підвищує - у медіобазальному гіпоталамусі (на 39%, $p < 0,005$), що свідчить про можливість його ефектів у мозку за принципом як up-, так і down-регуляції. Пренатальний стрес усуває вплив тимічних пептидів у преоптичній ділянці та медіобазальному гіпоталамусі.

8. Між тимічними пептидами та серотонінергічними системами мозку контрольних щурів існує негативний зворотний зв'язок, про що свідчить зниження рівня серотоніну після уведення Т-активіну на 56%, 51%, 32%, 21% ($p < 0,01$) у перегородці, преоптичній ділянці, медіобазальному гіпоталамусі та мигдалику відповідно. Пренатальний стрес порушує характер двосторонніх зв'язків між серотонінергічною системою лімбіко-гіпоталамічних структур та призводить до їх функціональної інактивації в системах вилочкова залоза – перегородка мозку та вилочкова залоза – мигдалеподібний комплекс.

9. Пренатальний стрес викликає довготривалу модифікацію функціонування зворотного зв'язку в системі вилочкова залоза – гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдна вісь та посилює вплив тимічних пептидів на секрецію пролактину.

10. Пренатальний стрес модифікує: окремі конститутивні показники фібринолітичної активності в усіх структурах за винятком преоптичної ділянки; протеолітичної активності – у преоптичній ділянці й медіобазальному гіпоталамусі; реакцію фібринолітичної активності на уведення тимічних пептидів у преоптичній ділянці, медіобазальному гіпоталамусі та мигдалику; реакцію протеолітичних систем на уведення Т-активіну в перегородці, преоптичній ділянці та мигдалику.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абрамов А.В., Колесник Ю.М. Иммуномодулирующие свойства гипоталамических нейропептидов // Патологія. - 2004. - Т.1, №1. - С.14-21.
2. Абрамов А.В., Колесник Ю.М., Тихоновская М.А. Состояние толерантности к глюкозе у самцов, перенесших хронический пренатальный стресс // Запорожский мед. журн. - 2004. - №6.- С. 38-41.
3. Абрамов А.В., Колесник Ю.М., Тихоновська М.А. Вплив хронічного пренатального стресу на функціональну активність панкреатичних островців у молодих і дорослих щурів // Матер. наук.-практ. конф. "Від фундаментальних досліджень - до прогресу в медицині".- Харків. - 2005.- С.3.
4. Абрамов А.В., Тихоновская М.А., Колесник Ю.М. Особенности влияния хронического пренатального стресса на структурно-функциональную организацию бета-эндокриноцитов // Клін. та експерим. патол.- 2004.- Т.3, №2.- С. 176-179.
5. Акмаев И.Г. Нейроиммуноэндокринология: факты и гипотезы //Пробл. эндокринол. - 2000.- Т.43, №1. - С. 3-9.
6. Акмаев И.Г., Гриневич В.В. От нейроэндокринологии к нейроиммуноэндокринологии //Бюл. эксперим. биол. и мед. - 2001. - Т. 131, №2. - С.22-33.
7. Алгоритм автоматичного аналізу лімфоїдної популяції тимуса А.В.Абрамов, Ю.М.Колесник, В.А.Любомирська, О.М.Камишний // Вісн. морфол. - 2002 - № 2.- С.361-362.
8. Анищенко Т.Г. Половые аспекты проблемы стресса и адаптации // Успехи соврем. биол.- 1991.- Т.111, вып. 3.- С. 460-475.
9. Анищенко Т.Г., Гудкова Е.В. Половые различия в чувствительности белых крыс к адреналину // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1992. - Т.113, №6. - С. 577- 579.
10. Арцимович Н.Г., Корнев А.В. Современный взгляд на этиологию и патогенез нейроиммунной патологии //Аллергол. иммунол. - 2004. - Т.5, №1.

- С. 191-193.

11. Биологические возможности тимуса плода человека в условиях нормального развития и при постоянном воздействии малых доз радиации после аварии на Чернобыльской АЭС / З.С.Хлыстова, И.И.Калинина, С.П.Шмелева, О.П. Рябчиков // Арх. патол. - 1998. - Т.60, №5. - С. 74-79.

12. Блеббинг плазматической мембраны тимоцитов и апоптоз связаны с нарушением емкостного входа Ca^{2+} в клетки/ С.В. Михуткина, А.Б. Салмина, А.В. Сычев и др. // Бюл. эксперим. биол. и мед.- 2004.- Т.137,№6.- С.628-632.

13. Бобро Л.И., Гриневич Ю.А., Бендюг Г.Д. Изменения органов иммуногенеза после тиреоидэктомии и гормональной коррекции в эксперименте // Арх. патол. - 2002. - №5. - С. 45-50.

14. Бобынцев И.И., Северьянова Л.А. Иммунотропные эффекты аналога гонадотропин-рилизинг гормона в условиях эмоционально-болевого стресса // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 2002. - Т. 133, № 2. - С. 504-506.

15. Болгова Е.С. Особенности гистоморфометрических показателей щитовидной железы белых крыс периода старческих изменений под влиянием тимэктомии // Укр. мед.альманах. - 2003. - Т.6, №2. - С. 164-167.

16. Болезни вилочковой железы / В.П. Харченко, Д.С. Саркисов, П.С. Ветшев и др.- М.: "Триада-Х", 1998. - 232 с.

17. Буткевич И.П., Михайленко В.А., Леонтьева М.Н. Последствия пренатальной деплеции серотонина и стресса на болевую чувствительность у крыс// Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.- 2004.- Т.90,№10.- С.1246-1254.

18. Буторина О.Г. Роль тимических пептидов в регуляции овариального морфогенеза //Морфология. - 1994. - Т.107, № 7. - С. 128-140.

19. Важнича О.М., Дев'яткіна Т.О., Коваленко Е.Г. Вплив мексидолу на клітини тимуса при хронічній гіпокінезії // Фізіол. журн.- 1997.- Т.43, №3-4.- С. 79-85.

20. Вахрушина С.В., Ананьева Е.П., Шинкарев А.С. Естественные аутоантитела к белкам MP65 и ACBP14/18 и онтогенетическое формирование нервной системы крыс // Журн. высш.нерв. деят.- 2002.- Т.52,№4.- С.502-507.

21. Веремеенко К.Б. Протеолитические ферменты и их ингибиторы. Новые области применения в клинике // *Врачебное дело.*- 1994.- №1.- С.8-13.
22. Веремеенко К.Б. Белковые ингибиторы плазмы крови - регуляторы активности протеолитических ферментов // *Системная энзимотерапия. Теоретические основы, опыт клинического применения.* - Киев:МОРИОН, 2000. - С. 21-53.
23. Вільнорадикальне окислення ліпідів та антирадикальний захист мозку щурів під час адаптації до інтенсивного фізичного навантаження / Е.Ф. Баринов, Н.М. Бондаренко, О.Д. Якубенко, М.Е. Баринова // *Укр. біохим. журн.* - 1999. - Т. 71, № 2. - С. 61-64.
24. Влияние агониста серотониновых рецепторов 1-А-типа 8-ОН-ДПАТ на иммунный ответ / Г.В. Идова, М.А. Чейдо, Е.Н. Жукова и др. // *Бюл. эксперим. биол. и мед.*- 2001.- Т.131, №10.- С. 432-434.
25. Влияние внутриутробной гипоксии на формирование иммунодефицитного состояния у новорожденных мышей / В.Ю.Матросова, И.А.Орловская, Д.В.Козлова, В.А. Козлов // *Бюл.эксперим.биол. и мед.* -2000. - Т.129, №6. - С. 453-456.
26. Влияние гипофизэктомии на показатели иммунитета, эритропоеза, свертывания крови и фибринолиза у цыплят и старых кур / Б.И. Кузник, А.В. Патеюк, Ю.Б Данилишин и др. // *Мед. иммунол.* - 2004. - Т.6, №3-5. - С. 235-236.
27. Влияние нейромедиаторов на цитотоксическую активность натуральных киллеров крови и гемопоэз *in vitro* у больных раком желудка / А.П.Лыков, А.А.Басс, В.В.Абрамов, В.А. Козлов // *Иммунол.*-2002.-Т.23, №2.- С.118-121.
28. Влияние неонатальной гипофизэктомии и пептидов гипофиза на морфологическую структуру вилочковой железы и сумки Фабрициуса у птиц /А.В.Патеюк, Б.И.Кузник, М.А.Джулай, Л.М. Баранчугова // *Мед. иммунол.* - 2004.- Т.6, №3-5.- С.244.
29. Влияние пероксида водорода на изменение свободного кальция в

тимоцитах крысы / Ю.В.Семенов, О.Ю.Артеменко, В.Л.Зима, О.П.Матишевская // *Physics Alive*. - 2003.- № 1.- С. 58-63.

30. Влияние пренатальной пестицидной интоксикации на тимус потомства и ее коррекция // Тез. докл. 5 конгр. Междунар. ассоциации морфологов / Е.И. Тереховская, В.В. Кравчук, А.П. Король и др. // *Морфологія*. - 2000. - № 3. - С. 120.

31. Влияние тритерпеноида милиацина на чувствительность лимфоцитов тимуса и селезенки к апоптозу, индуцированному дексаметазоном / Т.В. Панфилова, А.А. Штиль, Е.Р. Полосухина и др. // *Бюл. эксперим. биол. и мед.*- 2003.- Т.136, №10.- С. 382-385.

32. Влияние экстремальных факторов на локализацию биогенных аминов в аминокислотосодержащих структурах некоторых органов животных / Л.А. Любовцева, Е.А. Гурьянова, Н.Н. Голубцова и др. // *J. Immunorehabil.*- 2002. - Vol.4, №1. - P. 183.

33. Возрастные особенности взаимодействия тимуса и коры надпочечников / Л. Магдич, И.Ф. Лабунец, О.И. Терешина и др. // *Пробл. старения и долголетия*. - 2001. - Т.10, №4. - С.345-351.

34. Восстановление некоторых показателей функционального состояния репродуктивной системы у тимэктомизированных крыс под влиянием мембранного фактора тимуса / А.Г. Резников, Н.Д. Носенко, С.В. Варга и др. // *Патол. физиол.*- 1996.- №2.- С. 30-32.

35. Вплив іммобілізаційного стресу і мелатоніну на процеси окислювальної модифікації білків у структурах мозку самців щурів / С.С.Ткачук, І.Ф.Мещишен, В.П.Пішак, В.Ф.Мислицький // *Експерим. и клин. мед.*- 1999.- №4.- С. 16-18.

36. Вплив тироксину і тімаліну на проліферацію та апоптоз тимоцитів у щурів після тиреоїдектомії / Ю.Я. Гріневич, Г.Д. Бендюг, Н.М. Храновська та ін. // *Фізіол. журн.* - 2004.- Т.50, №3.- С.39-43.

37. Время появления эндокринной и лимфопоэтической функции тимуса человека в онтогенезе / Хлыстова З.С., Калинина И.И., Шмелева С.П.,

- Рябчиков О.П. // Бюл.эксперим.биол. и мед.- 2000.- Т.130, №10. - С. 453-456.
38. Вундер П.А., Андронов Е.В., Андропова Т.А. Стрессорные реакции и роль пола в их осуществлении // Успехи соврем. биол. - 1999.- Т.119, №4.- С. 335-344.
39. Вьюшина А.В., Герасимова И.Г., Флеров М.А. Перекисное окисление белков в сыворотке крови пренатально стрессированных крыс //Бюл. эксперим. биол. и мед. - 2004. - Т.138, №9. - С.41-44.
40. Гарська Н.О. Роль нейтрофілів у механізмах взаємодії імунних і гемостатичних реакцій при іммобілізаційному стресі // Одеськ. мед. журн. - 2000. - № 3. - С. 19-22.
41. Гейн С.В., Симоненко Т.А. Участие β -эндорфина и селективных лигандов δ -, μ -опиатных рецепторов в регуляции пролиферативной активности лимфоцитов *in vitro* // Мед. иммунол.- 2003.- Т.5, №3-4. - С.196-197.
42. Гейн С.В., Симоненко Т.А., Тендрякова С.П. Влияние ротационного стресса на показатели иммунитета // Пробл. эндокринологии. - 2003. - Т.49, №6. - С. 56-58.
43. Геруш І.В., Мецишен І.Ф. Стан глутатіонової системи крові за умов експериментального виразкового ураження гастродуоденальної зони та дії настойки ехінацеї пурпурової // Вісн. пробл. біол. мед.- 1998.- №7.- С. 10-15.
44. Глюкокортикоидные гормоны в реализации иммуномодулирующего действия дефенсинов / Е.Е.Фомичева, И.Ю. Пиванович, О.В.Шамова, Е.А. Немирович-Данченко // Росс. физиол. журн. им И.М.Сеченова. - 2002. - Т.88, №4. - С. 496-502.
45. Гриневич Ю.А., Югринова Л.Г. Корреляционные связи эндокринной функции тимуса и других желез внутренней секреции на этапах развития хорионкарциномы матки //Вопр. онкол. - 2001. - Т.47, №2. - С. 209-213.
46. Гриневич Ю.Я., Бендюг Г.Д., Остапенко О.М. Вплив тимостимуліну на ендокринну функцію тимуса щурів після тиреоїдектомії за умов супресивної гормонотерапії тироксином // Фізіол. журн.- 2003.- Т.49, №6.- С.43-46.
47. Действие синтетического β -эндорфиноподобного пептида

- иммунорфина на Т-лимфоциты человека / Е.В. Наволоцкая, Н.В. Малкова, Т.А. Заргарова и др. // Биохимия.- 2002.- Т.67, №3.- С. 430-438.
48. Ендокринна функція тимуса при експериментальному гіпотиреозі / Ю.Я.Гриневиц, Г.Д.Бендюг, Л.Г.Югірова, Т.М.Селезньова // Фізіол. журн. - 2002.- Т.48, №5.- С. 34-38.
49. Зинкович И.И. Состояние липопероксидации при экстремальных воздействиях // Вестник гигиены и эпидемиол.- 2001.- Т. 5, № 2.- С. 172-175.
50. Зінкович І.І. Фактори прогнозування стійкості організму до стресу //Фізіол.журн. - 1998. - Т.44, №3. - С. 293.
51. Идентификация люминесцирующих гранулярных клеток тимуса с дендритными макрофагами / Д.С. Гордон, В.Е. Сергеева, А.Т. Смородченко и др. //Бюл. эксперим. биол. и мед. - 2001. - Т.132, №7. - С. 118-120.
52. Изменение иммунной реакции у животных в условиях активации и блокады D₁ дофаминовых рецепторов / Л.В. Девойно, Е.Л. Альперина, М.А.Чейдо, М.М.Геворгян // Эксперим. и клин. фармакол.- 2004.- Т.67, №3.- С. 48-50.
53. Иммунный статус доношенных и недоношенных новорожденных от матерей с неблагоприятно протекавшей беременностью в онтогенезе / Н.В. Соболюк, Л.И. Веримеевич, С.А. Голочалова, Т.Н. Синюгина // Иммунология.- 1997.- №1.- С. 44-46.
54. Иммунофизиология / В.А. Черешнев, Б.Г. Юшков, В.Г. Климин, В.Е. Лебедева - Екатеринбург: УрО РАН, 2002. - 259 с.
55. Исследование механизмов иммуномодулирующего действия соматотропного гормона, опосредованного биоаминой клеточной системой тимуса / И.В. Спиринов, В.Е. Сергеева, С.А. Ястребова и др. // Иммунол.- 2004.- Т. 25, №1.- С. 20-22.
56. Исследование состояния нейрогуморальных систем и баланса вторичных посредников при травматической болезни / В.Н. Ельский, С.В. Зяблицев, С.В. Пищулина, М.С. Кишеня //Запорож. мед. журн. - 2002. - №3. - С. 35-38.

57. Калугин В.В. Параиммунизация как метод неспецифической иммунопрофилактики и иммунотерапии при инфекционных болезнях собак и кошек // Труды 9 Московского междунар. ветерин. конгр.- М.- 2001.-С. 45-46.
58. Камышный А.М. Влияние адаптации к гипоксической гипоксии на клеточный состав тимуса // Укр. мед. альманах. - 2002. - № 3.- С. 67-70.
59. Камышный А.М. Влияние гипоксических тренировок на клеточный состав и процессы дифференцировки лимфоцитов в вилочковой железе у крыс // Тезисы 4 Украинской конф. молодых ученых, посвященной памяти академика В.В.Фролькиса. - Киев. - 2003.- С. 103-104.
60. Камышный А.М. Особенности морфогенеза лимфоидной популяции вилочковой железы крыс при введении окситоцина // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики. - 2003. - Вип. 11.- С.70-75.
61. Карпова Г.В., Тимина Е.А., Карпова М.Р. Способ морфологической оценки апоптоза для клинического изучения новых лекарственных средств // Эксперим. и клин. фармакол. - 2000. - Т. 63, №6. - С. 62-63.
62. Карта заселения органов иммунной системы эмбриона и плода человека Т- и В-лимфоцитами и начало эндокринной функции тимуса / З.С. Хлыстова, С.П. Шмелева, И.И. Калинина и др. // Иммунол.- 2002.- Т. 23, №2.- С. 80-82.
63. Коплик Е.В., Салиева Р.М., Горбунова А.В. Тест открытого поля как прогностический критерий устойчивости к эмоциональному стрессу у крыс линии Вистар // Журн. высш. нервн. деят. - 1995.- Т.45, вып. 4.- С. 775-781.
64. Коррекция иммунно-эндокринных нарушений при экспериментальном сахарном диабете введением гипоталамических нейропептидов / Ю.М. Колесник, А.В. Абрамов, В.А. Жулинский и др. // Клин. эксперим. патол. - 2004. - Т.3, №2. - С. 120-122.
65. Костюк В.А., Потапович А.И., Лунец Е.Ф. Спектрофотометрическое определение диеновых конъюгатов// Вопр. мед. химии.- 1984.- №4.- С.125-127.
66. Кравцов А.Н., Умрюхин А.Е. Нейрональные и поведенческие эффекты медиаторов иммунной системы //Аллергол. иммунол.- 2004.- Т.5, №1.- С.194.

67. Куклина Е.М. Молекулярные механизмы дифференцировки тимоцитов //Онтогенез. - 2003. - Т. 34, №5. - С. 342-357.
68. Лабунец И.Ф. Возрастные особенности ритмических колебаний эндокринной функции тимуса у животных // Журн. АМН Украины.- 2000.- Т.6, № 4.- С.783-791.
69. Лебедев В.В. Супероксидная теория патогенеза и терапии иммунных расстройств // Вест. Рос. АМН.- 2004 - №2. - С.34-40.
70. Лишманов Ю.Б., Кондратьев Б.Ю. Взаимодействие опиоидной и симпатoadреналовой систем при ишемическом повреждении сердца // Физиол.журн. им. И.М.Сеченова.- 1995.- Т.81, №5.- С. 77-85.
71. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лабор. дело. - 1988. - №1. - С. 16-18.
72. Микроспектрофлуориметр с выводом информации на перфоратор / А.Ю. Буданцев, С.И. Жариков, Ш.И. Барилко и др. // Цитология. - 1978. - №4. - С.476-479.
73. Модифікуючий вплив пренатального стресу на участь простаноїдів мозку в стрес-реакції / О.В.Ткачук, Л.О.Філіпова, В.Ф.Мислицький, М.О.Соломатіна // Запорозж. мед. журн. - 2002.- Т.13, № 3. - С.51.
74. Монастирський В.А. Коагулопатичні аспекти патогенезу загальнопатологічних процесів // Журн. АМН України.- 2002.- Т.8, №2.- С. 238-258.
75. Морозова Е.В. Строение лимфоидных органов крыс после пренатального воздействия индометацина при антигенной стимуляции //Морфология. - 1998. - Т.113, №2. - С. 76-80.
76. Морфологическая характеристика тимуса эмбрионов крыс, содержащихся в загрязненной радионуклидами зоне /А.П. Амвросьев, Ю.И.Рогов, В.С. Павленко, Н.Э Козловская // Весці АН Беларусі. Сер. біял.н. - 1998. - №4. - С. 158-159.
77. Морфологічні та функціональні зміни нейроендокринної системи у пренатально стресованих щурів / О.Г. Резніков, Н.Д. Носенко, Л.В. Тарасенко та ін. // Бук. мед. вісник. - 1998. - Т.2, №2. - С.47-51.

78. Мыслицкий В.Ф. Роль моноаминергической системы в передаче влияний андрогенов на нейроны отдельных лимбических структур головного мозга крыс // Архив анат., гистол. и эмбриол. - 1989. - Т. 46, №5. - С.23-25.
79. Нейропептидні та нейроендокринні механізми участі мелатоніну в стрес-реактивності в самців з синдромом пренатального стресу / В.П.Пішак, С.С.Ткачук, В.Ф.Мислицький, Л.О. Філіпова // Бук. мед. вісник. - 2002.- Т.6, № 3-4. - С. 193-195.
80. Нейрохимическая установка мозга - экстраиммунный механизм психонейроиммуномодуляции / Л.В.Девойно, Г.В.Идова, Е.Л.Альперина, М.А. Чейдо // Вест. РАМН. -1998. - № 9. - С.19-24.
81. Носенко Н. Д. Половой диморфизм моноаминергической системы мозга: эффекты пренатального стресса и неонатальной андрогенизации // Физиол. журн. им. И. М. Сеченова. - 1996. - Т.82, №4. - С. 46-53.
82. Носенко Н. Д. Роль глюкокортикоїдів материнського походження у розвитку синдрому пренатального стресу // Ендокринологія. - 2001. - №6. - С. 214.
83. Носенко Н.Д., Мішуніна Т. М. Статеві особливості ГАМК-ергічної регуляції стресової реакції кори надниркових залоз у дорослих щурів після пренатальної дії глюкокортикоїдів // Запорозж. мед. журн.- 2002. - № 3.- С. 53.
84. Носенко Н.Д., Мішуніна Т. М., Резніков О. Г. Роль глюкокортикоїдів у пренатальній модифікації стрес-реалізуючої та стрес-лімітуючої систем головного мозку у щурів // Фізіол. журн. - 2002. - Т.48, №2 - С. 111-112.
85. Носенко Н.Д., Резников А.Г. Половая дифференциация мозга как проявление его пластичности // Нейрофизиол.- 2001.- Т.33, № 2. - С. 141-150.
86. О чувствительности лимфоцитов к гормонам тимуса у детей с патологией ЦНС различного генеза / А.И. Аутеншлюс, О.В. Иванова, В.Г. Дегтярева, А.А. Косачева // Иммунол.- 2002.- Т.23, №3.- С.181-185.
87. Огурцов В.П., Авалиани Т.В., Белобокова Н.К. Прогноз развития иммунных и психоэмоциональных расстройств у потомства матерей с психогенной травмой // Мед. иммунол. -2004.- Т.6, №3.- С. 243-244.

88. Онтогенетические аспекты формирования иммунодефицитного состояния под влиянием внутриутробной гипоксии у мышей / Д.В. Демина, И.А. Орловская, В.Ю. Матросова и др. // Эксперим. иммунопатол.- 2004.- Т.25, №3.- С. 165-168.
89. Особенности метаболизма у детей с синдромом увеличенной вилочковой железы / П.Д. Ваганов, М.И. Мартынова, И.Г. Михеева и др. // Педиатрия. - 2000. - №16.- С. 15-20.
90. Особенности формирования толерантности к действию морфина у потомства морфинтолерантных животных: нейрохимические и нейроиммунные корреляты / С.В. Литвинова, В.В. Аристова, В.В. Шульговский и др. // Бюл. эксперим. биол. и мед.- 2001.- Т. 131, № 1.- С. 55-58.
91. Особливості функціональної взаємодії гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдної системи й пролактину з вилочковою залозою в самців щурів з синдромом пренатального стресу / О.В. Ткачук, В.Ф. Мислицький, А.В.Данилюк, О.В.Злотар // Бук. мед. вісник.- 2004. - Т.8, №.3-4. - С. 288-290.
92. Пархоменко Е.П., Глушихина М.С. Влияние структурных аналогов пептидов тимуса и гипоталамуса на экспрессию гена ИЛ-2 в лимфоцитах селезенки мышей // Труды межгородской конф. молодых ученых "Актуальные проблемы патофизиологии". - СПб, 2000.- С. 105-107.
93. Патеюк А.В., Кузник Б.И. Сравнительное действие тималина и бурсилина на иммунитет и гемостаз у неонатально гипофизэктомированных цыплят // Иммунол. -2003.- Т.24, №4-5.- С.216-218.
94. Петренко В.М., Петренко Е.В. Компенсаторные реакции в лимфатических узлах после пренатального воздействия индометацина // Морфология. - 2001. - № 1. - С. 37-40.
95. Пішак В.П., Ткачук С.С., Мислицький В.Ф. Концепція патогенезу порушень стрес-реактивності у самців з синдромом пренатального стресу // Архив клин. и эксперим. мед. - 2002. - Т.11, №1. - С. 100 - 107.
96. Половые различия в степени активации перекисного окисления липидов и устойчивости к сердечно-сосудистым повреждениям у крыс при

- стрессе / Т.Г.Анищенко, Г.Е. Бриль, Т.П.Романова, Л.М. Шорина // Бюл.эксперим.биол. и мед. - 1995. - Т.119, №4. - С. 354-357.
97. Последствия взаимодействия лимфоидных и эпителиальных клеток тимуса *in vitro* /А.А.Ярилин, Н.И.Шарова, А.Х.Дзудцев, В.В Колмогорова // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. - 2000.- Т.86, №3.- С.285-291.
98. Пренатальный гипоксический стресс: физиологические и биохимические последствия, коррекция регуляторными пептидами /Н.А.Соколова, М.В.Маслова, А.С.Маклакова, И.П.Ашмарин // Успехи физиол. наук. - 2002. - Т.33, №2. - С.56-67.
99. Пренатальный стресс и нейроэндокринная патология / А.Г. Резников, В.П. Пишак, Н.Д. Носенко и др. - Черновцы: Медакадемія, 2004.- 351 с.
100. Пшенникова М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии // Патол.физиол. и эксперим. терапия.- 2000.- №2.- С. 24-31.
101. Ранние и отдаленные нейроэндокринные эффекты пренатального стресса у самцов и самок крыс / А.Г. Резников, Н.Д. Носенко, Л.В. Тарасенко и др. // Пробл. эндокринологии. - 2000. - № 1. - С. 30-34.
102. Реакция биоаминсодержащих структур тимуса на введение растворимого антигена в конце индуктивной и в продуктивную фазы иммунного ответа / Г.Ю. Стручко, Л.М. Меркулова, В.Е. Сергеева и др.// Иммунология. - 2001. - Т. 22, №1. - С. 15-19.
103. Резников А.Г., Тарасенко Л.В. Образование эстрогенов в нейроэндокринных структурах мозга: физиологические и патофизиологические аспекты // Запорож. мед. журн. - 2002. - № 3. - С. 5-6.
104. Резніков О.Г., Носенко Н.Д. Перинатальна стрессова модифікація реактивності гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи (ГГНС) // Фізіол. журн. - 2000. - Т.46, №2.- С.146-158.
105. Резніков О.Г., Сініцин П.В., Тарасенко Л.В. Реакція гіпоталамо-гіпофізарно-адренокортикальної системи на норадренергічну та гормональну стимуляцію у пренатально стресованих щурів // Нейрофізіологія. - 1999. - Т.31, №2. - С.134-137.

106. Резніков О.Г., Сініцин П.В., Тарасенко Л.В. Вікові та статеві особливості норадренергічної реактивності гіпоталамо-гіпофізарно-адренкортикальної системи у пренатально стресованих щурів // Доп. НАН України. - 2001. - №1. - С. 177-180.
107. Результаты взаимодействия лимфоидных и эпителиальных клеток тимуса человека *in vitro*, активация и апоптоз / Н.И. Шарова, А.Х. Дзущев, М.М. Литвина и др. // Иммунол.- 2000.- Т.21, №3.- С. 7-11.
108. Робинсон М.В., Труфакин В.А. Апоптоз и цитокины //Успехи соврем. биол. - 1999. -Т.119, № 4. - С 359-367.
109. Родзаевская Е.Б., Степанов С.А. Возрастная инволюция тимуса в условиях экспериментальной иодной недостаточности // Архив патол.- 2002.- Т.64, №2.- С. 13-15.
110. Рожковський Я.В. Ферментативна активність мембранних маркерів лімфоцитів тимуса і селезінки за умов стресу і післястресового періоду //Одеськ. мед. журн. - 1998. - № 6. - С. 21-23.
111. Роль глюкокортикоидных гормонов в трансдукции сигнала интерлейкина-1 по сфингомиелиновому пути / И.Ю. Пиванович, Е.Г.Рыбакина, Е.Е.Фомичева, Е.А.Корнева //Росс. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. - 2004. - Т.90, №6. - С. 781-789.
112. Роль гормональных иммуномодуляторов в регуляции биоаминной клеточной структуры тимуса и лимфатических узлов / В.Е.Сергеева, И.В.Спирин, С.А.Ястребова, А.Т.Смородченко // Матер. ХУІІІ съезда физиол. об-ва им. И.П.Павлова. – Казань.- 2001. - С. 423-424.
113. Серебров В.Ю., Тимин О.А. Изменение состава и скорости перекисного окисления липидов ткани головного мозга в условиях дефицита тимусных гормонов // Патол. физиол. и эксперим. терапия. - 1995. - №4. - С. 10-12.
114. Серотонинергическая система в нейроиммуномодуляции: психо-эмоциональный вклад / Г.В. Идова, М.А.Чейдо, С.М.Давыдова, Л.В. Девойно // Аллергол. иммунол. - 2004. - Т.5, №1. - С.212.

115. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии.- М.: Медицина, 1977.- С. 66-68.
116. Стресс-устойчивость и неспецифическая резистентность организма / И.Г. Брындина, Л.С. Исакова, С.Б. Егоркина, Е.В. Минаева // Аллергол. иммунол.- 2004.- Т.5, №1.- С. 213.
117. Структурно-функциональная организация нейронов коры большого мозга крыс с различной устойчивостью к эмоциональному стрессу при воздействии пептида, вызывающего дельта сон / Н.Н. Боголепов, Э.Н. Попова, Е.В. Коплик и др. //Морфология. - 2003.- Т.123, вып.2. - С.15-20.
118. Судаков К.В. Новые акценты классической концепции стресса // Бюл. эксперим. биол. и мед.- 1997.- Т.123, №2.- С.124-130.
119. Сучасні методи експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії /В.М. Магальяс, А.О. Міхеев, Ю.Є. Роговий та ін.- Чернівці, 2001.- 42 с.
120. Тактивин в регуляції спонтанного і індукційованого апоптозу лимфоцитів крыс / В.Я. Арион, Л.А. Захарова, И.Ю. Ермилова и др. // Аллергол. иммунол.- 2004.- Т.5, №2.- С. 313-316.
121. Тарасенко Л.В. Метаболізм тестостерону в мозку шурів, що зазнали впливу дексаметазону в пренатальному періоді // Ендокринологія. - 2001. - №6, додаток. - С. 293.
122. Тихоновская М.А. Структурно-функциональная организация панкреатических островков у крыс различного возраста // Запорожский мед. журн. - 2004. - №4.- С.71-73.
123. Ткачук О.В. Роль ГАМК в обмеженні проявів синдрому пренатального стресу //Матер. Міжнар. конф., присвяченої пам'яті проф. Шостаковської І.В. – Львів.- 2002. - С. 81.
124. Ткачук О.В. Особливості реагування β -ендорфінергічної системи мозку на тимічні пептиди в самців з пренатальним стрес-синдромом // Бук. мед. вісник. -2003. -Т.7, №1-2. - С.147-149.

125. Ткачук А.В. Особенности клеточного состава и нейропептидных механизмов вилочковой железы у самцов с пренатальным стресс-синдромом // Матер. Всерос. конф. с междунар. участием "Нейроэндокринология - 2003". - Санкт-Петербург. - 2003. - С. 151-152.
126. Ткачук О.В. Деякі показники нейроімуноендокринного статусу в самців щурів з синдромом пренатального стресу // Екологічні проблеми міст і промислових зон: шляхи їх вирішення / Тези доп. Міжнар. конф. студентів і молодих вчених. - Львів: Сполом, 2003. - С. 137-138.
127. Ткачук О.В. Особливості взаємодії нейропептидних механізмів лімбіко-гіпоталамічних структур мозку та тимічних пептидів у самців з синдромом пренатального стресу // Тези Міжнар. наук. конф. "Гомеостаз: фізіологія, патофізіологія, фармакологія і клініка". - Одеса, 2003. - С.61.
128. Ткачук О.В. Профілактика порушень гормонального статусу та статевої поведінки в самців з синдромом пренатального стресу // Тези 58 наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених Національного мед. ун-ту ім. О.О.Богомольця з міжнар. участю "Актуальні проблеми сучасної медицини". - Київ, 2003. - С. 101.
129. Ткачук О.В. Особливості функціональних взаємовідносин між серотонінергічними системами лімбіко-гіпоталамічних структур мозку та вилочковою залозою в щурів з пренатальним стрес-синдромом // Клін. та експерим. патол. - 2004. - Т.ІІІ, № 1. - С. 82-84.
130. Ткачук О.В. Модифікація вмісту циклічних нуклеотидів у вилочковій залозі самців-щурів пренатальними стресорними впливами // Клін. та експерим. патол. - 2004. - Т.ІІІ, № 2, Ч.1. - С. 167-169.
131. Ткачук О.В. Особливості впливу тимічних пептидів на стан фібрино- та протеолітичної активності в структурах мозку щурів з синдромом пренатального стресу // Клін. та експерим. патол.- 2004.- Т.ІІІ, № 3. - С. 85-89.
132. Ткачук О.В. Особливості процесів ліпопероксидації та антиоксидантного захисту у загруднинній залозі щурів із пренатальним стрес-синдромом // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Серія "Медицина".- 2004.-

Вип. 23. - С. 29-31.

133. Ткачук О.В. Інтраімунні особливості реакції циклічних нуклеотидів на дію пренатального стресу // Матер. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 200-річчю з дня заснування Харківського державного мед. ун-ту "Від фундаментальних досліджень - до прогресу в медицині". - Харків, 2005.- С.61.

134. Ткачук О.В. Модифікація стрес-індукованих змін морфогенезу лімфоїдної популяції за груднинної залози пренатальними стресорними впливами // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Серія "Медицина". - 2005. - Вип. 24. - С. 31-38.

135. Ткачук О.В. Особливості впливу тимічних пептидів на деякі ендокринні показники у самців з синдромом пренатального стресу // Тези 59 наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених Національного мед. ун-ту ім. О.О. Богомольця "Актуальні проблеми сучасної медицини". - Київ, 2005.- С. 145.

136. Ткачук О.В. Пренатальна стресова модифікація реактивності тимуса в самців щурів // Клін. та експерим. патол.- 2005.- Т.IV, № 1- С. 98-103.

137. Ткачук О.В., Мислицький В.Ф. Вплив гострого та хронічного іммобілізаційного стресу на реакцію біоаміновмісних структур тимуса контрольних та пренатально стресованих самців щурів // Клін. та експерим. патологія.- 2004.- Т.III, № 4.- С. 73-76.

138. Ткачук О.В., Ткачук В.В. Особливості стрес-протекторних взаємовідносин β -ендорфінергічної системи вилочкової залози та мелатоніну у щурів з синдромом пренатального стресу // Українські медичні вісті. - 2001. - Т.4, Число 1(62) // УІ з'їзд Всеукраїнського лікарського товариства. - Чернівці, 2001. - С. 109.

139. Ткачук О.В., Філіпова Л.О., Мислицький В.Ф. Деякі нейроімуноендокринні прояви синдрому пренатального стресу// Ендокринологія. -2001. -Т.6, додаток. - С. 299 // Матеріали УІ з'їзду ендокринологів України. - Київ, 2001.

140. Ткачук С.С., Пішак В.П., Мислицький В.Ф. Структурно-функціональна

дезінтеграція стресреалізуючої та стреслімітуючої систем мозку як прояв модифікації гормон-медіаторного імпринтингу у самців щурів із синдромом пренатального стресу // Журн. АМН України. - 2003. - Т.9, № 1. - С. 130-140.

141. Трипептид неоген усиливает апоптоз Т-лимфоцитов человека при их ответе на митоген / М. Ф. Никонова, Т. Ю. Григорьева, М. М. Литвина и др.// Иммунология. - 2000. - Т.21, №4. - С.35-37.

142. Тутельян А.В. Разработка системы оценки иммуотропных препаратов природного и синтетического происхождения на основе анализа взаимосвязи иммунной и антиоксидантной защиты // Аллергол. иммунол. - 2004. - №5.- С. 289-299.

143. Філіпова Л.О., Олійник І.Ю., Ткачук О.В. Вплив солей свинцю на стан систем фібринолізу й протеолізу в загруднинній залозі // Бук. мед. вісник.- 2004.- Т.8, №. 3-4.- С. 325-326.

144. Філіпова Л.О., Ткачук О.В., Соломатіна М.О. Функціональний стан щитоподібної і вилочкової залози при дії несприятливих чинників довкілля // Матер. Міжнар. конф., присвяченої пам'яті проф. Шостаковської І.В. - Львів, 2002.- С. 84.

145. Фільчаков Ф.В., Селезньова Т.М. Механізми інгібування ендокринної функції тимуса за умов росту пухлин // Фізіол. журн. - 2003. - Т.49, №6. - С.56-63.

146. Фомичева Е.Е., Немирович-Данченко Е.А., Корнева Е.А. Иммунопротективные эффекты пролактина при стресс-обусловленных дисфункциях иммунной системы //Бюл. эксперим. патол. и мед. - 2004. - Т.137, №6. -С.621-624.

147. Характеристика процессов дифференцировки лимфоцитов в вилочковой железе у крыс (светооптическое и иммуноцитохимическое исследование) / А.В.Абрамов, Ю.М.Колесник, В.А.Любомирская, А.М. Камышный // Запорожский мед. журн. - 2002. - №4.- С. 10-13.

148. Цитоархітектоніка лімфоцитів загруднинної залози білих щурів у постнатальному періоді онтогенезу / А.С. Головацький, Е.С. Добрянська,

В.О. Палапа та ін. // Клін. анат. та оперативна хірургія. - 2002.- Т.1, №2.- С.14-17.

149. Чевари С., Чаба И., Секей И. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах //Лаб. дело.- 1985.- №11.- С. 678-681.

150. Чейдо М.А., Идова Г.В. Влияние опиоидных пептидов на процессы иммуномодуляции // Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. - 1998. - Т.84, №4. - С. 385-390.

151. Чейдо М.А., Идова Г.В. Иммуномодуляция опиоидными пептидами при формировании оппозитных форм поведения у мышей линии С57BL/6J //Аллергол. иммунол. - 2004. - Т.5, №1. - С. 212.

152. Чейдо М.А., Идова Г.В., Альперина Е.Л. Дофаминэргические механизмы в иммуностимуляции при активации мю-опиоидных рецепторов // Бюл. СО РАМН. - 2002. - №1. - С. 84-86.

153. Черешнев В.А., Шилов С.Ю., Шилов Ю.И. Адренэргические механизмы в реализации эффектов глюкокортикоидов на иммунный ответ // Аллергол. иммунол.- 2004.- Т.5, №1.- С. 461.

154. Чернышева М.П. Гормоны животных. Введение в физиологическую эндокринологию. - СПб.: Глаголь, 1995. - 296 с.

155. Чувствительности лимфоцитов к гормонам тимуса у детей с патологией ЦНС различного генеза / А.И. Аутеншлюс, О.В. Иванова, В.Г. Дегтярева, А.А. Косачева // Иммунол. - 2002. - Т.23, №3. - С. 181-185.

156. Шкуматов Л.М, Прядько К.А., Крылова И.И. Динамика концентрации тиреоидных гормонов в крови после полной или частичной тиреоидэктомии у крыс // Пробл. эндокринол.- 1997. - №6.- С. 54-56.

157. Эффекты многократного введения нейропептида Y на структуру лимфоидной популяции тимуса в норме и при экспериментальном сахарном диабете / А.В.Абрамов, А.М. Камышный, В.А.Любомирская, Ю.М.Колесник // Запорож. мед. журн. - 2003. - №5.- С.4-6.

158. Юрина Н.А., Тамахина А.Я. Действие кортикостероидов на

аргирофильные премедуллярные клетки тимуса // Бюл. эксперим. биол. и мед.- 1996.- Т.122, №10.- С. 461464.

159. Янюта С.М., Дашкевич В.Є., Тараховський М.Л. Роль хронічного психоемоційного стресу у виникненні затримки розвитку плода // Педіатрія, акушерство і гінекол.- 1997.- №5.- С. 65-68.

160. Ярилин А.А. Апоптоз. Природа феномена и его роль в целостном организме // Патол.физиол. и эксперим. терапия. - 1998. - №2.- С. 38-48.

161. Ярилин А.А. Коррекция эндогенной выработки гормонов тимуса. Обоснование нового подхода к иммунореабилитации, иммунорегуляции // Int. J. Immunorehabilitation / Междунар.журн. иммунореабилитации. - 1998.- №10. - P.8-17.

162. A new mutation of the gene encoding the transcription factor Pit-1 is responsible for combined pituitary-hormone deficiency / I. Pellegrinibouiller, P. Belicar, A. Barlier et al. // J.Clin.Endocrinol. and Metabol. -1996. - Vol.81, № 8. - P. 2790-2796.

163. Adrenergic and serotonergic receptors mediate the immunological activation of corticosterone secretion in male rats / A.L. Guo, F. Petraglia, M. Criscuolo et al.// Gynecol. Endocrinol. - 1996. - Vol.10, №3. - P.149-154.

164. Aguilar L.K., Aguilar-Cordova E., Cartwright Jr. Thymic nurse cells are sites of thymocyte apoptosis // J. Immunol. - 1994. - Vol.152, №7. - P. 2645-2651.

165. Anderson G., Moore N., Owen J. Cellular interactions in thymocyte development // Annu. Rev. Immunol. - 1996.- Vol.14.- P. 73-99.

166. Androgens accelerate thymocyte apoptosis / N.Olsen, S.Viselli, J.Fan, W.Kovacs // Endocrinology. - 1998.- Vol.139, №2.- P. 748-752.

167. Azenabor A., Hoffnan-Goetz L. 17β -estradiol increases Ca^{2+} influx and down regulates interleukin-2 receptor in mouse thymocytes // Biochem. Biophys. Res. Commun. - 2001.- Vol.281, № 2.- P. 277-281.

168. Bakker J.M., Schmidt E.D., Kroes H. Effects of short-term dexamethasone treatment during pregnancy on the development of the immune-system and the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in the rat // J.Neuroimmunol. - 1995 - Vol.63,

№2. - P. 183-191.

169. Baram T.Z., Schultz L. Fetal and maternal rat corticosterone and ACTH after pharmacological adrenalectomy // *Neuroendocrinol.*- 1990.- Vol.52, №1.- P.45.

170. Ben R.L., Juma K., Sakly M. Involution of rat thymus: characterization of cytoplasmic glucocorticoid receptors, evidence of glucocorticoid resistant dexamethasone receptor-positive cells// *Arch. Int. Physiol. Biochim. Biophys.* - 1994. - Vol. 102, №3. - P.97-102.

171. Benfield M., Parker K., Waldo F. Growth hormone in the treatment of growth failure in children after renal transplantation // *Kidney.* -1993.- Vol.44, Suppl.-P. 62-64.

172. Berger R., Garnier Y. Perinatal brain injury // *Perinat. Med.* - 2000. - Vol.28, №4. - P. 261-285.

173. Besedovsky H., Del Rey A. Immune-neuro-endocrine interactions: facts and hypotheses // *Endocr. Rev.* - 1996.- Vol.17, №1.- P. 64-102.

174. Blalock E.D. The syntax of immune-neuroendocrine communication // *Immunol. Today* - 1994. - Vol.15, №2. - P.504-551.

175. Bodey B., Siegel S., Kaiser H. Review of thymic hormones in cancer diagnosis and treatment // *Int. J. Immunopharmacol.*- 2000.- Vol.22.- P. 261-273.

176. Bonomo A., Kehn P., Shevach E. Post-thymectomy autoimmunity: abnormal T-cell homeostasis // *Immunol. Today.*- 1995.- Vol.16, №1.- P. 61-67.

177. Brown O., Sosa Y., Dardenne M. Growth hormone-releasing activity of thymulin on pituitary somatotropes is age dependent // *Neuroendocrinology.*- 1999.-Vol. 69, №1.-P.20-27.

178. Buckley A., Buckley D. Prolactin regulation of apoptosis gene expression in T cells // *Neuroimmunomodulation: Perspectives at the New Millenium:* - Proc. of the 4 Intern. Cong. of the International Soc. for Neuroimmunomodulation (ISN1M) - Lugano. - N.Y., 2000.- P. 522-533.

179. CD80 and CD86 differently regulate apoptosis and proliferation of rat thymocytes induced by thymic dendritic cells / S.Vasilijic, D.Vucevic, P.Popovic, M. Colic // *Scand. J. Immunol.* 2001.- Vol.54, Suppl. 1.- P. 33-35.

180. Changes in the hormonal concentrations of pregnant rats and their fetuses following multiple exposures to a stressor during the third trimester / M.T. Williams, H.N. Davis, A.E. McCrea et al. // *Neurotoxicol. Teratol.*-1999.- Vol.21, №4.- P. 403-414.
181. Characterization of the insulin-like growth factor axis in the human thymus / O. Kecha, H. Martens, N. Franchimont et al. // *J. Neuroendocrinol.*- 1999.- Vol.11, №5. - P. 435-440.
182. Chen H., Schuler L., Schultz R. Growth hormone receptor and regulation of gene expression in fetal lymphoid organs // *Mol. Cell Endocrinol.*- 1998.- Vol.137.- P. 21 -29.
183. Clark R. The somatogenic hormones and insulin-like growth factor-1: stimulators of lymphopoiesis and immune function // *Endocr. Rev.*- 1997.- Vol.18.- P. 157-179.
184. Clarke A., Kendall M. The thymus in pregnancy: the interplay of neural, endocrine and immune influences // *Immunol. Today.*- 1994.- Vol.15, №3.- P. 545-551.
185. Complete amino acid sequence analysis of a peptide isolated from the thymus that enhances release of growth hormone and prolactin / M. Badamchian, B. Spangelo, T. Damavandy et al. // *Endocrinol.*- 1991.- Vol.128, №6.- P. 1580-1588.
186. Corticotropin-releasing hormone-induced vasodilatation in the human fetal-placental circulation - involvement of the nitric oxide cyclic guanosine 3',5'-monophosphate-mediated pathway / V.L. Clifton, M.A. Read, I.M. Leitch et al. // *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* - 1995. - Vol.80, №10. - P. 2888-2893.
187. Csaba G., Inczeffi-Gonda A. Effect of neonatal allylestrenol treatment and adult benzpyrene treatment on rat thymus glucocorticoid receptors // *Gen. Pharmacol.* - 1996. - №8. - P. 1387-1389.
188. Cyclic AMP potentiates glucocorticoid-induced endogenous endonuclease activation in thymocytes / D.J. McConkey, S. Orrenius, S. Okret, M. Jondal // *FASEB J.* - 1993. - Vol.7, № 6. - P. 580-585.

189. Daneva T., Spinedi E., Hadid R. Impaired hypothalamo-pituitary-adrenal axis function in Swiss nude athymic mice // *Neuroendocrinol.* - 1995.- Vol.62, №1.- P. 79-86.
190. Das Immun- und das Nervensystem. Vorprogrammierte Systeme zur Reaktion auf das Unerwartete / N. Hilschmann, H.U. Barnikol, S. Barnikol-Watanabe et al. // *Nachr. Akad. Wiss. Gottingen.*- 2000. - Ser. 2, №1.- S. 1-67.
191. de Mello-Coelho V., Gagnerault M., Souberbielle J. Growth hormone and its receptor are expressed in human thymic cells // *Endocrinology.* - 1998.- Vol.139, №8. - P. 3837-3842.
192. de Mello-Coelho V., Villa Verde D.M.S., Dardenne M. Pituitary hormones modulate cell-cell interactions between thymocyte and thymic epithelial cells // *J. Neuroimmunol.* - 1997. - Vol.76, №1. - P. 39-49.
193. Delgado M., De la Fuente M., Martinez C. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptides (PACAP27 and PACAP38) inhibit the mobility of murine thymocytes and splenic lymphocytes: comparison with VIP and implication of cAMP // *J. Neuroimmunol.* - 1995.- Vol.62, №3. - P. 137-146.
194. Dialynas E., Brown-Borg H., Bartke A. Immune function in transgenic mice overexpressing growth hormone (GH) releasing hormone, GH or GH antagonist // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*- 1999.- Vol.221.- P. 178-183.
195. Differential presentation of an altered peptide within fetal central and peripheral organs supports an avidity model for thymic T cell development and implies a peripheral readjustment for activation / K. Legge, B. Min, C. Pack et al. // *J. Immunol.*- 1999.- Vol. 162, № 10.- P. 5738-5746.
196. Differential regulation of the expression of corticotropin-releasing factor receptor type 2 (CRF2) in hypothalamus and amygdala of the immature rat by sensory input and food intake / A.M. Eghbal, E.S. Avishai, C.G. Hatalski et al.// *J. Neurosci.*- 1999.- Vol.19, №10.- P. 3982-3991.
197. Down-regulation of cytokine expression in murine lymphocytes by PACAP and VIP / H.Tang, L.Sun, Z.Xin, D.Ganea // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* - 1996.- Vol.805.- P. 768-778.

198. Draca S. Prolactin as an immunoreactive agent // *Immunol. Cell. Biol.* - 1995. - Vol. 73, №6. - P 481-483.
199. Dudley D.J. Immunoendocrinology of preterm labor: the link between corticotropin-releasing hormone and inflammation // *Am. J. Obstet. Gynecol.* - 1999. - Vol.180, №1, Pt.3. - P. 251-256.
200. Durkin H.G., Waksman B.H. Thymus and tolerance. Is regulation the major function of the thymus? // *Immunol. Rev.* - 2001.- Vol.182.- P. 33-57.
201. E2 deficiency leads to early thymocyte developmental defects and peripheral accumulation of T-cells / M. Concalves, I. Bergqist, I. Wikstrom et al. // *Scand. J. Immunol.* - 2001. - Vol. 54, Suppl. 1. - P. 1006- 1009.
202. Early activation of thyrotropin-releasing-hormone and prolactin plays a critical role during a T cell-dependent immune response / C.P. Castro, L. Penalva, M.P. Pereda et al. // *Endocrinology.* - 1999. - Vol.140, №2. - P. 690-697.
203. Effect of thymectomy on serum gonadotropins and testosterone concentration / T. Pramanik, R. Chanda, A.K.Ganguly et al. // *Kobe J. Med. Sci.* - 1999. - Vol. 45, № 6. - P. 251-257.
204. Effect of thymic epiphysial synthetic peptides on the processes immuno- and histogenesis / V. Khavinson, V. Morozov, V. Malinin, O. Genkina // *J. Immunorehabil.*- 2000.- Vol.2, №3. - P. 103.
205. Effects of thymulin on spontaneous puberty and gonadotrophin-induced ovulation in prepubertal normal and hypothyroid mice / L.Hinojosa, R.Chavira, R.Dominguez, P.Rosas // *J. Endocrinol.* - 1999.- Vol.163, №2.- P. 255-260.
206. E2 deficiency leads to early thymocyte developmental defects and peripheral accumulation of T cells / M. Goncalves, I. Bergqyist, I. Wikstrom et al. // *Scand. J. Immunol.*- 2001 - Vol.54, Suppl. 1.- P. Th6.
207. Enhancement of DNA synthetic activity of thymic lymphocytes by the culture supernatant of thymus epithelial cells stimulated by growth hormone / B. Lin, Y. Kinoshita, F. Hato, Y. Tsuji // *Cell. Mol. Biol.* - 1997. - Vol.43, №2 - P. 351-359.
208. Enhancement of thymic lymphocyte proliferation by the culture supernatant

- of thymus epithelial cells stimulated by prolactin / B. Lin, Y. Kinoshita, F. Hato, Y. Tsuji // *Cell. Mol. Biol.* - 1997.- Vol. 43, №2. - P. 361-367.
209. Expression and subcellular distribution of the beta-isoform of the human glucocorticoid receptor / R.H. Oakley, J.C. Webster, M. Sar et al. // *Endocrinology.* - 1997. - Vol.138, №12. - P.5028-5038.
210. Expression of the condition NK cell-activity is β -endorphin dependent / C.M. Hsueh, S.F. Chen, V.K. Dhahta, R.N. Hiramoto // *Brain Res.* - 1995 - Vol.678, №1-2. - P. 76-82.
211. Falck B., Owman C. A detailed description of the fluorescence method for the cellular localization of biogenic monoamine // *Acta Univ. Lundensis.*- 1965.- S.II.- P. 7-49.
212. Feng J., Loh T., Sheng H. Lactation increases prolactin receptor expression in spleen and thymus of rats // *Life Sci.*- 1998.- Vol.63, №1.- P. 111-119.
213. Fetal and maternal endocrine responses to experimental intrauterine infection in rhesus monkeys / M.G. Gravett, G.J. Haluska, M.J. Cook et al. // *Am. J. Obstet. Gynecol.*- 1996.- Vol.174, №6.- P. 1725-1731.
214. Fingerle-Rowson G., Bucala R. Neuroendocrine properties of macrophage migration inhibitory factor (MIF) // *Immunol. Cell. Biol.*- 2001.- Vol.79, №4.- P. 368-375.
215. Freitas C.S., Dalmau S.R., Savino W. Epidermal growth factor (EGF) modulates fetal thymocyte growth and differentiation: partial reversal by insulin, mimicking by specific inhibitors of EOF receptor tyrosine kinase activity, and differential expression of CD45 phosphatase isotypes // *J. Immunol.*- 1998.- Vol.161, №6. - P. 3384-3392.
216. Functional cross-talk between cytokines, T-cell-receptors, and glucocorticoid receptor transcriptional activity and action / E. Artz, D. Kovalovsky, L. Igar et al. // *Neuroimmunomodulation: Perspectives at the New Millenium:* - Proc. of the 4 Intern. Cong. of the International Soc. for Neuroimmunomodulation (ISN1M) - Lugano. - N.Y., 2000.- P. 672-677.
217. Gaillard R.C., Spinedi E. Sex- and stress-steroid interactions and the

immune system: evidence for a neuroendocrine-immunological sexual dimorphism // *Domest. Anim. Endocrinol.* - 1998. -Vol.15, №5. - P. 345-352.

218. Ganea D. Regulatory effects of vasoactive intestinal peptide on cytokine production in central and peripheral lymphoid organs // *Adv. Neuroimmunol.* - 1996.- Vol.6.- P. 61-74.

219. Gapjunction modulation by extracellular signaling molecules: the thymus model / L. Alves, O. Nihei, P. Fonseca et al. // *Braz. J. Med. Biol. Res.* -2000. - Vol.33, № 2. - P. 457-465.

220. Glucocorticoid hormone and anti-CDS induced thymocyte apoptosis: Genomic or membrane effect? / T. Berki, F. Boldasar, L. Palinkas, P. Nemeth // *Scand. J. Immunol.*- 2001. - Vol.54, Suppl. 1.- P. Th17.

221. Glucocorticoid receptor expression in murine thymocytes / G. Wieggers, M. Knoflach, G. Bock at al. // *Scand. J. Immunol.*- 2001.- Vol.54, Suppl. 1.- P. Th111.

222. Grimaldi C., Cleary J., Diamond B. Estrogen (E2) alters peripheral B cell development and expression of key immunoregulatory molecules in B cells // *Scand. J. Immunol.*- 2001.- Vol.54, Suppl. 1.- P. Th65.

223. Growth hormone induces interferon-7 production and may play a role in the presentation of alloantigens in vitro / M. Benfield, A. Vail, R. Bucy, D. Weigent // *Neuroimmunomodulation.*-1997.- Vol.4, №1. - P. 19-27.

224. Growth hormone stimulates the proliferation of activated mouse T lymphocytes/ M. Postel-Vinay, V. Mello-Coelho, M. Gagnerault, M. Dardenne // *Endocrinology.* - 1997.- Vol.13, №5.- P. 1816-1820.

225. Guerin S., Mari B., Fernandez E. CD10 is expressed on human thymic epithelial cells lines and modulates thymopentin induced cell proliferation // *FASEB J.* - 1997.- Vol.11, №8 - P. 1003-1011.

226. Hadden J. Thymic endocrinology // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* - 1998.- Vol. 840.- P.352-358.

227. Hadley A., Rantle C., Buckinham J. Thymulin stimulates corticotropin release and cyclic nucleotide formation in the rat anterior pituitary gland //

Neuroimmunomodulation. - 1997.- Vol.4, №1. - P.62-69.

228. Head G., Mentlein R., Kranz A. Modulation of dye-coupling and proliferation in cultured rat thymic epithelium by factors involved in thymulin secretion // J. Anat. -1997.- Vol.191, №2. - P.355-365.

229. Hormonal influence on T cell migration / M.M.Ribeiro-Carvalho, S. Smaniotto, W. Savino, V. de Mello-Coelho // Neuroimmunomodulation. -1999.- Vol.6, №2. - P. 465-466.

230. Horseman N., Zhao W., Montecino-Rodriguez E. Defective mammopoiesis, but normal hematopoiesis in mice with a targeted disruption of the prolactin gene // EMBO J.- 1997.- Vol.16. - P. 6926 - 6935.

231. IGF-1 alters lymphocyte survival and regeneration in thymus and spleen after dexamethasone treatment / P. Hinton, C. Peterson, E. Dahly, D. Ney // Am. J. Physiol. - 1998.- Vol.274, №3. - P. 912- 920.

232. IL-1, ICAM-1, LFA-3 and hydrocortisone differentially regulate cytokine secretion by human fetal thymic epithelial cells / S. Shu, P. Naylor, J. Touraine, J. Hadden // Thymus. - 1996.- Vol.24.- P. 89 -99.

233. Immune system development and function in prolactin receptor-deficient mice / B.Bouchard, C.Ormandy, J.Di Santo, P.Kelly // J. Immunol. - 1999.- Vol.163, №2 - P. 576-582.

234. Immunopotentiating and immunotherapeutic effects of thymic hormones and factors with special emphasis on thymic humoral factor THF-2 / S. Ben-Efraim, Y. Keisari, R. Ophir et al. // Crit. Rev. Immunol. -1999.- Vol.19.- P. 261-284.

235. In vivo immunomodulation by peripheral adrenergic and cholinergic agonists/antagonists in rat and mouse models / K. Schauenstein, P. Felsner, L. Rimer et al. // Neuroimmunomodulation: Perspectives at the New Millenium: Proc. of the 4 Intern. Cong. of the International Soc. for Neuroimmunomodulation (ISN1M). - Lugano. - N.Y., 2000.- P. 618-627.

236. Induction and habituation of immediate early gene expression in rat brain by acute and repeated restraint stress / K.R. Melia, A.E. Ryabinin, R. Schroeder et al. // J. Neurosci.- 1994.- Vol.14, №10.- P. 5929-5938.

237. Induction of thymocyte proliferation by supernatants from a mouse thymic epithelial cell line / D.M.S. Villa-Verde, M. Defresne, R. Greimers et al. // *Cell. Immunol.* -1991. - Vol.136, №1. - P. 113-121.
238. Inhibition of intrathymic T cell development by expression of a transgenic antagonist peptide / C.N. Levelt, E. Mizoduchi, X. Huang et al. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* - 1998. - Vol. 95. - P.14349-14354.
239. Inhibition of lymphocyte activation by catecholamines: evidence for a non-classical mechanism of catecholamine action / J.M. Cook-Mills, R.L. Cohen, R.L. Perlman, D.A. Chambers // *Immunology.* - 1998.- Vol. 85, №4.- P. 544-549.
240. Interleukin-1 β - mediated regulation of mu-opioid receptor messenger-RNA in primary astrocyte-enriched cultures / B.B. Ruzicka, R.C. Thompson, S.J. Watson, H. Akil // *J.Neurochem.* - 1996. - Vol.66, №1. - P. 425-428.
241. Intracerebral regulation of immune responses / F. Aloisi, E. Ambrosini, S. Columba-Cabezas et al. // *Ann.Med.* - 2001.- Vol.33, №8.- P.510-515.
242. IRI, a synthetic peptide analog of thymopentin, reduced the behavioral-response to social stress in rats / F. Menzaghi, S. Heinrichs, M. Vargascortes et al. // *Physiol. Behav.* - 1996. - Vol. 60, №2. - P. 397-401.
243. Jones H.E., Ruscio M.A., Keyser L. Prenatal stress alters the size of the rostral anterior commissure in rats // *Brain Res. Bull.*- 1997.- Vol. 42.- P. 341-346.
244. Katafuchi T. Brain and biodefence mechanisms: Neural and endocrine modulation of cellular immunity // *Матер. Междунар. науч.-практ. школы-конф. "Цитокины. Воспаление. Иммуитет"*. Санкт-Петербург // *Цитокины и воспаление.*- 2002.-Т.1, № 2. С. 53.
245. Kitraki E., Kittas C., Stylianopoulou F. Glucocorticoid receptor gene expression during rat embryogenesis. An in situ hybridization study// *Differentiation.* - 1997. - Vol.62, №1. - P. 21-31.
246. Kohen F., Abel L., Sharp A. Estrogen-receptor expression and function in thymocytes in relation to gender and age // *Dev. Immunol.* - 1998.- Vol.5, №2. - P.277-285.
247. König J.F., Klippel P.A. The rat brain. A stereotaxis atlas of forebrain and

- lower part of the brain stem.- Baltimora: The Williams and Wilkins Company, 1963.- 162 p.
248. Kovalchuk L.V., Cheredeev A.N. Apoptogenesis of immunodeficiency diseases// Russ. J. Immunol. - 1999. - №4. - P. 1-8.
249. Kumar N., Shan L., Hardy M. Mechanism of androgen-induced thymolysis in rats // Endocrinology. - 1995.- Vol.136, №10. - P. 4887-4893.
250. Lagrota C. J., Villa Verde D.M.S., Vanderlei Jr.F. Extracellular matrix components of the mouse thymic microenvironment. V. Interferon-modulates thymic epithelial cell/thymocyte interactions via extracellular matrix ligands and receptors // Cell. Immunol. - 1996.- Vol.170, №2. - P.235-244.
251. Lannes Vieira J., van der Meide P., Savino W. Extracellular matrix components of the mouse thymus microenvironment. II. In vitro modulation of basement membrane proteins by interferon-7: relationship with thymic epithelial cell proliferation // Cell. Immunol.- 1991.- Vol.137, №2.- P. 329-340.
252. Larson S. Behavioral and motivational effects of immune-system activation // J. Gen. Psychol.- 2002.- Vol.129, № 4.- P. 401-414.
253. Lechner O., Wieggers G., Oliveira-Dos-Santos A. Glucocorticoid production in the murine thymus // Eur. J. Immunol. - 2000.- Vol.30. - 337-346.
254. Levite M. Nerve-driven immunity. The direct effects of neurotransmitters on T-cell function // Neuroimmunomodulation: Perspectives at the New Millenium: - Proc. of the 4 Intern. Cong. of the International Soc. for Neuroimmunomodulation (ISN1M). - Lugano, N.Y. - 2000.- P. 512-518.
255. Localization of receptors for vasoactive intestinal peptide, somatostatin, and substance P in distinct compartments of human lymphoid organs / J.C. Reubi, U. Horisberger, A. Kappeler, J.A. Laissue // Blood.- 1998.- Vol. 92.- P.191-197.
256. Madden K., Felten B. Experimental basis for neural-immune interactions // Physiol. Rev. -1995.- Vol.75, №3. - P.77-106.
257. Mann C., Huges F., Cidlowski J. Delineation of the signaling pathways involved in glucocorticoid-induced and spontaneous apoptosis of rat thymocytes // Endocrinol. - 2000. - Vol. 141, №2. - P. 528-538.

258. Martens H., Malgrange B., Robert F. Cytokine production by human thymic epithelial cells: control by the immune recognition of the neurohypophysial self-antigen // *Regul. Pept.* - 1996. - Vol. 67, №1.-P. 39-45.
259. Martin A., Alonso L., Gomez del Moral M. Ultrastructural changes in the adult rat thymus after estradiol benzoate treatment // *Tissue Cell.* - 1994. - Vol.26.- P.169-179.
260. Martin A., Vicente A., Torroba M. Increased numbers of CD5+B cells in the thymus of estradiol benzoate-treated rats // *Thymus.*- 1996.- Vol.24.- P.111-127.
261. Matera L. Endocrine, paracrine and autocrine actions of prolactin on immune cells // *Life Sci.* - 1996. - Vol.59, №8. - P. 599-614.
262. Milenkovic L., McCann S. Effects of thymosin α -1 on pituitary hormone release // *Neuroendocrinol.* - 1992.- Vol.55, №1.- P.14-19.
263. Montague J., Ladram A., Nicolas P. Cloning of thyrotropin-releasing hormone precursor and receptor in rat thymus, adrenal gland and testis // *Endocrinology.* - 1999.- Vol.140, №3.- P. 1054-1059.
264. Montgomery D., Krumenacker J., Buckley A. Prolactin stimulates phosphorylation of the human T cell antigen receptor complex and ZAP-70 tyrosine kinase: a potential mechanism for its immunomodulation // *Endocrinology.*- 1998.- Vol.139, №2. - P.811-814.
265. Morale MC., Batticane N., Gallo F. Disruption of hypothalamic-pituitary-adrenocortical system in transgenic mice expressing type II glucocorticoid receptor antisense ribonucleic acid permanently impairs T cell function: effects on T cell trafficking and T cell responsiveness during postnatal development // *Endocrinology.* - 1995.- Vol.136, №8. - P. 3949-3960.
266. Morley B. J., Murphy R. Effects of neonatal thymectomy on the densities of nicotinic cholinergic receptors in skeletal muscle and brain // *Exp. Neurol.* - 1993. - Vol.120, № 1. - P. 277-282.
267. Neuroendocrine control of the thymus / W. Savino, D.M.S. Villa-Verde, L.A. Alves, M. Dardenne // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* - 1998. - Vol.840. - P.470-479.
268. Neuropeptides exert direct effects on rat thymic epithelial cells in culture /

- G. Head, R. Mentlein, B. Von Patay et al. // *Dev. Immunol.* - 1998.- Vol.6, №1. - P. 95-104.
269. Noginova O.A., Riabenko V.V., Kaidashev I.P. Influence of peptide complexes from kidneys and thymus on dexametason- and ionophore-induced apoptosis in thymocytes and peripheral blood lymphocytes // *Experim. Oncology.* - 2002. - №24. - P.69-71.
270. Notch 1 confers a resistance to glucocorticoid-induced apoptosis on developing thymocytes by down regulating SRG3 expression / Y. Choi, S. Jeon, J. Jang et al. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*- 2001.- Vol. 98, № 18.- P. 10267-10272.
271. Olariu A., Hefko V. Effect of the anterior hypothalamic isolation on the primary immune response // *Ann. Sti. Univ. Iasi. Sec.1.*- 1998-1999.- № 44-45.- P. 241-245.
272. Oliveira C.L. de, Guimaraes F.S., Del Bel E.A. C-jun mRNA expression in the hippocampal formation induced by restraint stress // *Brain Res.*- 1997.- Vol.753, №1.- P. 202-208.
273. Ortega E., Forner M., Barriga C. Effect of β -endorphin on adherence hemotaxis and phagocytosis by peritoneal macrophages // *Compar. Immunol.* - 1996. - Vol.19, №4. - P. 267-274.
274. Ottaviani E., Franchini A., Franceschi C. Presence of immunoreactive corticotropin-releasing hormone and cortisol molecules in invertebrate haemocytes and lower and higher vertebrate thymus // *Histochem. J.*- 1998.- Vol.30.- P. 61-67.
275. Palkovits M. Isolated removal of hypothalamic or other brain nuclei of the rat // *Brain. Res.*- 1973.- Vol.59, №1. - P. 449-450.
276. Pankhaniya R., Jabrane-Ferrat N., Gaufo G. Vasoactive intestinal peptide enhancement of antigen-induced differentiation of a cultured line of mouse thymocytes // *FASEB J.* - 1998.- Vol.12, №1. - P.119-127.
277. Partial blockade of T-cell differentiation during ontogeny and marked alterations on the thymic microenvironments in transgenic mice with impaired glucocorticoid receptor function / R. Sacedon, A. Vicente, A. Varas et al. //

- J. Neuroimmunol. - 1999. - Vol.98, №3 - P. 157-167.
278. Pazirandeh A., Xue Y., Rafter I. Paracrine glucocorticoid activity produced by mouse thymic epithelial cells // FASEB J. - 1999.-Vol.13, №7.-P. 893-901.
279. Pierpaoli W., Regelson W. Pineal control of aging: effect of melatonin and pineal grafting on aging mice // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.-1994.- Vol.91.- P.787-791.
280. Pleiotropic influence of triiodothyronine on thymus physiology / D.M.S. Villa-Verde, V. de Mello-Coelho, D.Farias-de-Oliveira et al. // Endocrinol.- 1993.- Vol.133, №8. - P.867-875.
281. Prenatal stress - the immunological and neurobehavioral development of infant rhesus monkeys / G.R. Lubach, M.L. Schneider, J.W. Karaszewski et al. // Amer.J. Phys. Antropol. - 1995.- Suppl. №20.- P.137.
282. Prenatal stress alters the reproduction system of male offspring / W. Rohde, G. Dörner, T. Ohkawa et al. // Human reproduction. Current status, Future prospect.-Amsterdam: Elsevier, 1988.- P. 575-578.
283. Prenatal stress depresses immune function in rats // G.Kay, N.Tarcic, T.Poltirev, M.Weinstock // Physiol. Behav. - 1998. - Vol.63, №3. - P. 397-402.
284. Prepin J., Le Vigouroux P. Inhibition by TGF-B 1 of the in vitro thymulin-stimulated proliferation of gonocytes from fetal rat testes // Reprod. Nutr. Dev.- 1997.- Vol. 37.- P. 203-206.
285. Prolactin gene expression in human lymphoid cells / K. O'Neal, D. Montgomery, T. Truong, L. Yu-Lee // Mol. Cell. Endocrinol. - 1998. -Vol.87, Suppl. - P. 19-23.
286. Protein measurement with Folin phenol reagent / O.H. Lowry, N.I. Rosenbrough, A.L. Parr, R.I. Randwall // J. Biol. Chem.- 1951. - Vol.193, №1. - P. 265-275.
287. Rat thymic epithelial cells in vitro and in situ: characterization by immunocytochemistry and morphology / B. Kurz, B. Van Gaudecker, B. Krisch, R. Mentlein // Cell. Tissue Res. - 1996.- Vol. 283.- P. 221-229.
288. Regulation of T cell apoptosis / M. Holtzman, J.Green, S. Jayaraman,

- R. Arch // Apoptosis.- 2000.- Vol 5, № 5.- P. 459-471.
289. Reznikov A.G. Hormone-transmitter imprinting in the neuroendocrine control of reproduction // *Physiol. General Biol. Rev.*- 1994.- Vol.7, part 4.-50 p.
290. Reznikov A.G., Nosenko N.D. Catecholamines in steroid-dependent brain development // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* - 1995. - Vol.53, № 2.- P. 349-353.
291. Reznikov A.G., Nosenko N.D., Tarasenko L.V. Prenatal stress effects on catecholamine content and androgen metabolism in discrete brain regions of newborn rats // *Доп. НАН України.*- 1997.- №4.- С. 172-175.
292. Reznikov A.G., Nosenko N.D., Tarasenko L.V. Prenatal stress and glucocorticoid effects on the developing gender-related brain // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* - 1999. - Vol. 69.- P.109-115.
293. Reznikov A., Nosenko N., Tarasenko L. Opioids a responsible for neurochemical feminization of the brain in prenatally stressed male rats // *Neuroendocrinol. Lett.* - 2005. - Vol. 26, №1. - P. 35-38.
294. Rijhsinghani A., Thompson K., Bhatia S. Estrogen blocks early T cell development in the thymus // *Am. J. Reprod. Immunol.*- 1996.-Vol.36, №1. - P.269-277.
295. Ritter M., Palmer D. The human thymic microenvironment: new approaches to functional analysis // *Semin. Immunol.* -1999.- Vol.11.- P. 13-21.
296. Ruzicka B.B., Akil H. Differential cellular regulation of proopiomelanocortin by interleukin-1- beta and corticotropin-releasing hormone // *Neuroendocrinol.* -1995. - Vol.61, №2. - P.136-151.
297. Sacedon R., Vicente A., Jimenez E. Accelerated maturation of the thymic stroma in the progeny of adrenalectomized pregnant rats // *Neuroimmunomodulation.*- 1999.- Vol.6, №1. - P.23-30.
298. Sacedon R., Vicente A., Varas A. Early maturation of T-cell progenitors in the absence of glucocorticoids // *Blood.*- 1999. - Vol.94. - P. 2819-2826.
299. Sacedon R., Vicente A., Varas A. Glucocorticoid-mediated regulation of thymic dendritic function // *Int. Immunol.* - 1999.- Vol.11.- P. 1217- 1224.
300. Safieh-Garabedian B., Jalakhian R., Saade N. Thymulin reduces

hyperalgesia induced by peripheral endotoxin injection in rats and mice // *Brain Res.* - 1996.- Vol. 717, №1-2.- P. 179-183.

301. Sainz R., Mayo J., Reiter R. Melatonin regulates glucocorticoid receptor: an answer to its antiapoptotic action in thymus // *FASEB J.* - 1999.- Vol.13, № 9. - P. 1547-1556.

302. Savino W., Arzt E., Dardenne M. Immunoendocrine connectivity: the paradigm of the thymus - hypothalamus - pituitary axis // *Neuroimmunomodulation.* - 1999. - Vol. 6, №1-2.- P. 126-136.

303. Savino W., Dardenne M. Neuroendocrine control of thymus physiology // *Neuroendocrinol. Rev.* - 2000. -Vol.21, №4. - P. 412-443.

304. Savino W., de Mello-Coelho V., Dardenne M. Control of the thymic microenvironment by growth hormone/insulin-like growth factor-I-mediated circuits // *Neuroimmunomodulation.*- 1995.- Vol. 2, №2. - P. 313-318.

305. Schluns K., Grutkoski P., Cook J. Human thymic epithelial cells produce TGF- β 13 and express TGF- β receptors // *Int. Immunol.* -1995.- Vol.7.-P.1681-1690.

306. Senba E., Umemoto S., Kawai Y. Differential expression of fos family and jun family mRNA in the rat hypothalamo-pituitary-adrenal axis after immobilisation stress // *Mol. Brain Res.*- 1994.- Vol.24, №1-4.- P. 283-294.

307. Shanks N., Larocque S., Meaney M. Neonatal endotoxin exposure alters the development of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis - early illness and later responsiveness to stress// *J.Neurosci.* - 1995. - Vol.15, №1. - P. 376-384.

308. Shirinsky I. V., Shirinsky V. S. Social stress disorders and immunity // *Russ. J. Immunol.*- 2001.- T.6, №2.- C. 207-214.

309. Spangelo B.L. The thymic-endocrine connection // *Endocrinology.* - 1995. - Vol.147, №1. - P. 5-10.

310. Stefano G.B., Smith E.M. Adrenocorticotropin - a central trigger in immune responsiveness - tonal inhibitor of immune activation // *Med. Hypotheses.* - 1996. - Vol.46, №5. - P. 471-478.

311. Sternberg E.M. Neuroendocrine factors in susceptibility to inflammatory

- disease - focus on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis // *Hormone Res.* - 1995. - Vol.43, № 4. - P. 159-161.
312. Stress-induced changes in blood leukocyte distribution - role of adrenal-steroid hormones / F.S. Dhabhar, A.H. Miller, B.S. McEwen, R.L. Spencer // *J. Immunol.* - 1996. - Vol. 157, №4. - P. 1638-1644.
313. Takao T., Hashimoto K., Desousa E. Modulation of the interleukin -1 receptors in the brain endocrine immune axis by stress and infection // *Brain Behav. Immune.* - 1995. - Vol.20, №4. - P. 276-291.
314. The distribution of radiolabeled corticotropin-releasing factor in pregnant rats: an investigation of placental transfer to the fetuses / M.T. Williams, H.N. Davis, A.E McCrea. et al. // *Int. J. Dev. Neurosci.* - 1998.- Vol.16, №3-4.- P. 229-234.
315. The interaction of (1-4)-fragment of thymosin beta with calmodulin-sensitive cAMP-phosphodiesterase from hypothalamus / W. Voelter, A. Kapuzniotu, M. Minelitch et al. // *Neurochem. Res.*- 1995. - Vol.20, №1. - P. 55-59.
316. The pineal hyperfunction retards the aging disturbances of immune and endocrine systems circadian rhythms / I. Labunets, L. Magdich, T. Maksyuk, G. Butenko // *Успехи геронтол.*- 2000.- №5.- С. 63-64.
317. Throsby M., Homo-Delarche F., Chevenc D. Pancreatic hormone expression in the murine thymus: localization in dendritic cells and macrophages // *Endocrinology.*- 1998.- Vol.139, №4.- P. 2399-2406.
318. Thymic epithelial cells can take part in negative selection in thymus / A. Dzutsev, N. Sharova, T. Kharcenko, A. Yarilin // *Scand. J. Immunol.*- 2001.- Vol.54, Suppl. 1.- P. 12.
319. Tian T. Thymocytes // *Scand. J. Immunol.*- 2001.- Vol. 54, Suppl. - P. 5-7.
320. Timsit J., Savino W., Safieh B. Growth hormone and insulin-like growth factor-I stimulate hormonal function and proliferation of thymic epithelial cells // *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* - 1992. - Vol.75.1. - P. 83-188.
321. Tseng Y., Kessler M., Schuler L. Regulation of interleukin (IL- 1, IL-16 and

- IL-6 expression by growth hormone and prolactin in bovine thymic stromal cells // Mol. Cell. Endocrinol. -1997.- Vol.128, № 3.- P.117-127.
322. Turnbull A.V., River C.L. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: action and mechanism of action // Physiol. Rev. - 1999. -Vol.70, №1. - P. 1-47.
323. Vacchio M., Lee J., Ashwell J. Thymus-derived glucocorticoids set the thresholds for thymocyte selection by inhibiting TCR-mediated thymocyte activation // J. Immunol. - 1999.- Vol.163, №6.- P. 1327-1333.
324. Vafiadis P., Bennett S., Todd J. Insulin expression in human thymus is modulated by INS VNTR alleles at the IDDM2 locus // Nat. Genet. - 1997.- Vol.15.- P. 289-292.
325. Variability of interactions between neuroendocrine and immunological functions in physiological aging and dementia of the Alzheimer's type / E. Ferrari, M. Fioravanti, F. Magri, S. Solerte // Neuroimmunomodulation: Perspectives at the New Millenium: Proc. of the 4 Intern. Cong. of the International Soc. for Neuroimmunomodulation (ISN1M). - Lugano. - N.Y.- 2000.- P.582-596.
326. Vasoactive intestinal peptide and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptides (PACAP 27 and PACAP 38) protect CD4⁺CD8⁺ thymocytes from glucocorticoid-induced apoptosis / M. Delgado, E. Garrido, C. Martinez et al. // Blood.- 1996.- Vol.12.- P. 5152-5161.
327. Vasoactive intestinal peptide in the thymus: synthesis, receptors and biological actions / M.Delgado, C.Martinez, J.Leceta, R.Gomariz // Neuroimmunomodulation. - 1999.- Vol.6, № 4. - P. 97-107.
328. Viselli S., Olsen N., Shults K. Immunochemical and flow cytometric analysis of androgen receptor expression in thymocytes // Mol. Cell. Endocrinol. - 1995. - Vol.109. - P.19-26.
329. Waterfall A. H., Singh G., Fry J.R. The measurement of lipide peroxidation in vivo // Brain Res. Protoc. - 1997. - Vol.2, №1. - P. 17-22.
330. Wilson T.M., Yullee L.Y., Kelley M. Coordinate gene-expression of luteinizing-hormone-releasing hormone (LHRH) and the LHRH-receptor after

prolactin stimulation in the rat NB2 T-cell line - implication for a role in immunomodulation and cell-cycle gene-expression // *Mol. Endocrinol.* - 1995. - Vol.9, №1. - P. 44-53.

331. Winoto A., Litman D. Nuclear hormone receptors in T lymphocytes // *Cell.* - 2002.- Vol.109, Suppl.- P. 57-66.

332. Wise T., Ford J. Effects of the thymic peptide thymulin on in vitro and in vivo testicular steroid concentrations in white composite and Meishan boars // *J. Anim. Sci.* - 1999.- Vol. 77, № 12. - P. 2240-2251.

333. Yarilin A.A. What the thymus is needed for? Intrathymic events and their uniqueness // *Rus. J. Immunol.* - 1998. - Vol.3, № 1. - P.5-20.

334. Zamocky M., Regelsberger G., Jakopitsch C. The molecular peculiarities of catalase-peroxidases // *FEBS Lett.*- 2001.- Vol.492, №3.- P. 177-182.

335. Zhao Y., Dai Z.-P., Goo X. Phenotypic and functional analysis of human T lymphocytes in early second- and third-trimester fetuses // *Medic. and Exp. Immunol.*- 2002.- Vol.129, № 2.- P. 302-308.