

**ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД “ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ
МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ”**

ТКАЧУК ОЛЕКСІЙ ВОЛОДИМИРОВИЧ

УДК 616.831-005.4:616.379-008.64]-019

**ПАТОГЕНЕЗ ІМУННИХ ПОРУШЕНЬ У ЩУРІВ ЗІ СТРЕПТОЗОТОЦИН-ІНДУКОВАНИМ
ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ, УСКЛАДНЕНИМ ІШЕМІЧНО-РЕПЕРФУЗІЙНИМ
ПОШКОДЖЕННЯМ ГОЛОВНОГО МОЗКУ**

14.03.04 – патологічна фізіологія

АВТОРЕФЕРАТ

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

Тернопіль – 2012

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Буковинському державному медичному університеті МОЗ України.

Науковий консультант: член-кореспондент НАПН України, доктор медичних наук, професор

Пішак Василь Павлович, Буковинський державний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри медичної біології, генетики та фармацевтичної ботаніки.

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, академік НАМН України, член-кореспондент НАН України, професор, заслужений діяч науки і техніки України, **Резніков Олександр Григорович**, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», завідувач відділу ендокринології репродукції та адаптації;

доктор медичних наук, професор **Лаповець Любов Євгенівна**, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, завідувач кафедри клінічної лабораторної діагностики;

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

Захист відбудеться 30 березня 2012 р. об 11 год. на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 58.601.01 у Державному вищому навчальному закладі “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров’я України” (46001, м. Тернопіль, майдан Волі, 1).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Державного вищого навчального закладу “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров’я України” (46001, м. Тернопіль, вул. Січових Стрільців, 8).

Автореферат розісланий 28 лютого 2012 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради

доктор біологічних наук, професор

І.М. Кліщ

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Серед ендокринної патології цукровий діабет є найпоширенішою (Б.С. Виленский, Н.Н. Яхно, 2006; G.A. Donnan et al., 2008). За прогнозами фахівців в усіх країнах, особливо розвинених, кількість хворих на цю недугу в XXI столітті буде подвоюватись, а за деякими даними – зростати вчетверо кожних десять років (Б.Н. Маньковский, 2008; V. Hashinski, 2008). Загалом, за даними ВООЗ, у світі налічується понад 240 млн. хворих на цукровий діабет (Е.И. Гусев и др., 2007; В.И. Паньків, 2007). На даний час в Україні кількість лише офіційно зареєстрованих осіб із цією патологією перевищує 1 мільйон (Т.С. Мищенко, Т.Г. Перцева, 2008).

Незважаючи на багатолітні зусилля світової медичної науки радикальні засоби боротьби з цією недугою відсутні і єдиним ефективним методом лікування залишається замісна терапія інсуліном. Етіологічна та патогенетична багатофакторність даного страждання, з одного боку, ускладнює його дослідження, з іншого – відкриває простір для пошуку нових засобів профілактики та терапії.

Одним із основних механізмів розвитку цукрового діабету 1 типу є порушення стану автотолерантності (С. Piccirillo et al., 2005; Ю.М. Колесник и др., 2006; S. You et al., 2008; А.М. Камышный и др., 2009). Цукровий діабет 1 типу на сучасному етапі визначають як багатофакторне автоімунне захворювання, що призводить до численних системних уражень нервової та ендокринної систем, внутрішніх органів, метаболічних та імунорегуляторних порушень (К. Matz et al., 2006; А.М. Зайчик, 2008; Е.А. Селиванов и др., 2008; А.В. Абрамов и др., 2011).

Існує точка зору, згідно якій автоімунний цитоліз острівцевих клітин, незалежно від природи екзогенних факторів, реалізується лише через генетично обумовлені особливості імунної відповіді (Н.А. Кравчун, И.В. Чернявская, 2008; Р.М. Хаитов и др., 2008). Проте більшість дослідників, не заперечуючи ролі генетичної схильності, визначальним вважають поєднання первинних дефектів імунної системи з неспецифічними впливами довкілля (А.Г. Резников и др., 2004; M.R. Kraine, R.M. Tisch, 2009; W.E. Winter, 2010; Ю.М. Колесник и др., 2011).

Серед найбільш тяжких та частих ускладнень цукрового діабету одне з провідних місць належить ішемії головного мозку (L.L. Naheim et al., 2006; M.M. Glymour, M. Avendano, 2009).

У хворих на цукровий діабет ризик розвитку ішемічних уражень головного мозку у 2-6 разів вищий порівняно з подібними показниками в осіб того ж віку без порушень вуглеводного обміну, при цьому перебіг даних захворювань у них характеризується гіршими наслідками, а показники інвалідності та смертності – більш високі (М.Н. Долженко, 2008; Ю.М. Колесник и др., 2011а).

Важливим фактором розвитку неповної глобальної ішемії мозку при цукровому діабеті є також гіпоглікемічні, кетоацидотичні та гіперглікемічні коми, що часто ускладнюють перебіг діабету (M.S. Eledrisi et al., 2006; А.Е. Kitabchi et al., 2006; N. Yuen et al., 2008).

Вагома роль у патогенезі ішемічно-реперфузійних пошкоджень головного мозку також

належить автоімунним процесам, які ініціюються посиленням виходом у системний кровотік нейроспецифічних білків із подальшою появою в крові високого рівня нейроантитіл (Н. Константинова и др., 2005; В.И. Цимбалюк, М.С. Бровченко, 2005).

Активация автоімунних механізмів у подальшому відіграє важливу роль у формуванні хронічного деструктивного процесу в мозку і розвитку нейродегенеративних змін (Т.М. Черенко, С.М. Віничук, 2008; В.И. Скворцова, М.А. Евзельман, 2006).

Добре відомо, що майже в половини хворих при ішемічно-реперфузійних пошкодженнях головного мозку виникає гіперглікемія, яка асоціюється з високим ризиком смертності пацієнтів, тяжчим перебігом основного захворювання через посилення оксидативного стресу, розвиток набряку мозку, активацію матриксних металопротеїназ із наступним порушенням проникності гематоенцефалічного бар'єра (К. Matz et al., 2006; Т.В. Волченкова и др., 2010).

Думка фахівців із даної проблеми щодо природи гіперглікемії за цих умов є неоднозначною: дехто вважає, що таким чином маніфестує латентний діабет, інші ж стверджують про відсутність зв'язку цього явища з уже існуючими порушеннями метаболізму (М. Yong, M. Kaste, 2008; К.М. Dungan et al., 2009; Т.Т. Quinn, К.Р. Lees, 2009; Р.С. Grant, К. Ali, 2010).

Таким чином, і цукровий діабет, й ішемічно-реперфузійні пошкодження головного мозку в основі своїй мають автоімунну природу та характеризуються порушеннями вуглеводного обміну.

Проте, незважаючи на низку спільних механізмів розвитку та взаємообтяжуючий вплив цукрового діабету й ішемії-реперфузії головного мозку, імунологічна дизрегуляція, ініційована поєднанням даних патологічних станів, досліджена вкрай недостатньо. Разом із тим, вивчення її патогенезу дозволить створити єдину концепцію розвитку патологічного процесу та обґрунтувати доповнення до класичної терапії цукрового діабету, ускладненого ішемічно-реперфузійними ураженнями головного мозку, з метою зменшення ризику життєво небезпечних ускладнень, що зумовлює своєчасність та актуальність виконаних досліджень.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота є фрагментом планових міжкафедральних наукових робіт Буковинського державного медичного університету “Дослідження порушень водно-електролітного обміну, закономірностей центральних стресіндукованих та ішемічних дисфункцій, паренхіматозно-стромального дисбалансу при ушкодженні внутрішніх органів за умов впливу екологічно несприятливих чинників з розробкою шляхів корекції виявлених патологічних змін” (№ державної реєстрації 0104U009029) і “Порушення функціонування центральних та периферичних ланок нейроендокринної системи за умов гіпоксії та інших несприятливих чинників і розробка шляхів корекції патологічних змін” (№ державної реєстрації 0109U003914). У рамках даних тем автором досліджено поєднаний вплив ішемії-реперфузії мозку та цукрового діабету на показники імунної дизрегуляції. Тема дисертації затверджена Проблемною комісією "Патологічна фізіологія" МОЗ та АМН України (протокол

№ 73 від 11.06.2009 року).

Мета дослідження. З'ясувати патогенез дисфункції тимуса та окремих системних імунних порушень, індукованих неповною глобальною ішемією-реперфузією головного мозку в контрольних щурів та щурів зі стрептозотоцин-індукованим цукровим діабетом.

Завдання дослідження:

1. Вивчити морфо-функціональний стан острівцевого апарату підшлункової залози у відстроченому періоді ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку щурів контрольної групи та тварин із цукровим діабетом.

2. Дослідити тимічну експресію інсуліну в щурів із відстроченими наслідками ішемії-реперфузії головного мозку та при поєднанні останньої з цукровим діабетом.

3. Оцінити морфофункціональний стан тимоцитів у щурів зазначених експериментальних груп.

4. Вивчити синтетичні та проліферативні процеси в тимоцитах щурів вищезазначених експериментальних груп за вмістом клітинної РНК та експресією ядерного антигена клітинної проліферації PCNA.

5. З'ясувати вплив двобічної каротидної ішемії-реперфузії та її поєднання з експериментальним цукровим діабетом на експресію білків p53 та Bcl-2 в тимоцитах.

6. Вивчити морфофункціональний стан антигенпрезентувальних клітин тимуса щурів із відстроченими наслідками ішемії-реперфузії головного мозку та при поєднанні останньої з цукровим діабетом.

7. Дослідити особливості диференціації CD4⁺- та CD8⁺-лімфоцитів тимуса щурів після неповної глобальної ішемії-реперфузії головного мозку та при її моделюванні на тлі цукрового діабету.

8. Вивчити вміст циркулюючих імунних комплексів, фагоцитарну активність та фагоцитарне число за умов моделювання ішемії-реперфузії головного мозку в щурів без та на тлі цукрового діабету.

9. Оцінити стан мікробіоти тонкої кишки в щурів із поєднаним впливом цукрового діабету та ішемії-реперфузії головного мозку.

Об'єкт дослідження: стрептозотоцин-індукований цукровий діабет, ускладнений неповною глобальною ішемією-реперфузією головного мозку.

Предмет дослідження: геномні й структурні еквіваленти порушення стану підшлункової залози, тимуса та мікробіоценоз тонкої кишки за умов ішемічно-реперфузійного ураження головного мозку в контрольних щурів і тварин зі стрептозотоцин-індукованим цукровим діабетом.

Методи дослідження: імунофлуоресцентний (ідентифікація клітин, в яких відбувається експресія досліджуваних білків); морфологічний (вивчення структури головного мозку, тимуса та

підшлункової залози з відповідними методами забарвлення та контрастування); морфометричний (кількісне вивчення параметрів островців підшлункової залози, різних класів тимоцитів); комп'ютерний математичний класифікаційний аналіз зображень (ідентифікація β -клітин, островців підшлункової залози та різних класів тимоцитів); біохімічні (верифікація патобіохімічних порушень у структурах мозку); мікробіологічний (оцінка стану мікробіоти тонкої кишки); імунологічний (вивчення рівня циркулюючих імунних комплексів, фагоцитарної активності та фагоцитарного числа); математичний (статистичний аналіз отриманих результатів).

Наукова новизна одержаних результатів. На підставі проведених досліджень уперше встановлено, що в контрольних щурів на 12-ту добу постішемичного періоду підвищується вміст циркулюючих імунних комплексів на тлі зростання функціональної активності нейтрофілів, а цукровий діабет, неускладнений та ускладнений ішемією-реперфузією головного мозку, підвищує рівень циркулюючих імунних комплексів, не впливаючи на чинники швидкості їх елімінації.

Доведено, що в контрольних щурів ішемія-реперфузія головного мозку справляє суттєвий вплив на морфофункціональний стан островців підшлункової залози за рахунок зниження щільності ендокринних островців, β -клітин та їх інсулінпродукувальної функції. У тварин із цукровим діабетом ішемія-реперфузія головного мозку не впливає на зумовлені діабетом порушення вмісту інсуліну в панкреатичних островцях, однак достовірно зменшує кількість інсулінпродукуючих елементів порівняно з такими за діабету.

Уперше встановлено, що в тимусі контрольних щурів ішемія-реперфузія головного мозку зменшує щільність інсулін-позитивних клітин та модифікує характер експресії в них інсуліну. У тварин із цукровим діабетом зниження щільності окремих класів інсулінпозитивних клітин тимуса компенсується підвищенням у них концентрації інсуліну, а ускладнення діабету ішемією-реперфузією характеризується зниженням умісту даного гормону.

Показано, що ішемія-реперфузія головного мозку, за співвідношенням у тимусі контрольних тварин та тварин із цукровим діабетом щільності CD4⁺ і CD8⁺ тимоцитів і характером експресії відповідних рецепторів, спричиняє дефіцит супресорної функції.

Уперше встановлено, що цукровий діабет та ішемія-реперфузія головного мозку в тимусі тварин контрольної групи зменшують щільність розташування усіх досліджених класів MHC-II⁺-клітин на тлі підвищення щільності їх рецепторів, а в щурів із поєднанням цукрового діабету та ішемії-реперфузії мозку збільшується як сумарна щільність MHC-II⁺-клітин, так і щільність їх рецепторів.

Уперше виявлено, що за експресією ядерного антигена клітинної проліферації PCNA в контрольних щурів мітотична активність тимоцитів після ішемії-реперфузії головного мозку зростає, а в щурів із цукровим діабетом – зменшується у міру дозрівання тимоцитів. Встановлено, що в тимоцитах кіркової зони зміни синтезу клітинної РНК носять неспецифічний характер, про

що свідчить його зростання у тварин усіх експериментальних груп. У тимоцитах мозкової зони цукровий діабет пригнічує даний процес, а ішемія-реперфузія мозку активує його в контрольних щурів та тварин із діабетом.

Аналіз співвідношення експресії білків p53 та Bcl-2 в тимоцитах різних класів показав, що за всіх експериментальних моделей в тимусі виникає абсолютний або відносний дефіцит апоптозу.

Уперше показано, що всі застосовані експериментальні втручання призводять до формування дисбактеріозу тонкої кишки, особливо суттєвого в щурів із поєднанням цукрового діабету та ішемії-реперфузії головного мозку, в яких зростання популяційного рівня умовно патогенних мікроорганізмів та контамінація тонкої кишки умовно патогенними мікроорганізмами досягає особливої вираженості.

Практичне значення одержаних результатів. Дисертаційна робота належить до фундаментальних досліджень. Отримані результати розкривають невідомі досі механізми виникнення гіперглікемії за умов неповної глобальної ішемії-реперфузії головного мозку, зумовлені морфологічними змінами острівців підшлункової залози, а також нові ланки патогенезу дисфункції тимуса за даних експериментальних умов. Виявлені особливості презентації інсуліну в тимусі, порушення про- та антиапоптотичного потенціалу тимоцитів, їх диференціації при ішемії-реперфузії головного мозку в контрольних щурів, а також при ускладненні останньою цукрового діабету, створюють підґрунтя для цілеспрямованого пошуку імунокорегуючих засобів, здатних зменшити ініціацію автоімунних порушень, які виникають за цих патологічних станів. Основні положення дисертаційної роботи можуть бути використані в навчальному процесі при викладанні патологічної фізіології, нервових хвороб, ендокринології та імунології студентам медичних навчальних закладів, а також у роботі науково-дослідних лабораторій, що займаються даною проблематикою, при написанні підручників та монографій із відповідних галузей теоретичної медицини.

Результати проведених досліджень впроваджено в навчальний процес кафедр патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету, ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського", Донецького національного медичного університету ім. М. Горького, Львівського національного університету імені Данила Галицького, Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, Буковинського державного медичного університету, кафедри неврології та медичної генетики Донецького національного медичного університету ім. М. Горького.

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно проведено пошук і аналіз літературних джерел за темою дисертації, сформульовано мету та завдання дослідження, розроблено методичні шляхи вирішення поставлених завдань, обрано та виконано експериментальні моделі, проведено математичну обробку отриманих числових даних, інтерпретацію отриманих наукових фактів, їх

аналіз, написано усі розділи дисертаційної роботи та публікації.

Імунофлуоресцентні, мікробіологічні, імунологічні та морфологічні дослідження виконано за безпосередньої участі дисертанта.

У наукових працях, опублікованих у співавторстві, автору належить виконання експериментальних досліджень, статистична обробка 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 на II з'їзді фізіологів СНД “Физиология и здоровье человека” (Кишинів, 2008), науково-практичній конференції “Морфологічний стан тканин і органів систем організму в нормі та патології” (Тернопіль, 2009), II (63) Міжнародному конгресі студентів і молодих вчених “Актуальні проблеми сучасної медицини” (Київ, 2009), Всеукраїнській науково-практичній конференції “Довкілля і здоров'я” (Тернопіль, 2010, 2011), 18-му з'їзді Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю (Одеса, 2010), науково-практичній конференції “Здобутки клінічної та експериментальної медицини” (Тернопіль, 2010), VII Всеросійській конференції “Нейроендокринология – 2010” (Санкт-Петербург, 2010), IV Науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, 2010), V-й Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні тенденції розвитку медицини, ветеринарії та фармакології» (Одеса, Лондон, 2011), II Всеукраїнській науково-практичній конференції «Інноваційні технології у експериментальній медицині та біології» (Полтава, 2011), III з'їзді фізіологів СНД «Физиология и здоровье человека» (Ялта, 2011), Всеукраїнській науково-практичній конференції «Медична наука – 2011» (Полтава, 2011), Міжнародній науково-практичній конференції «Карпатська конференція з проблем охорони довкілля» (Мукачево-Ужгород, 2011), Науково-практичній конференції «Актуальні питання медичної мікології» (Чернівці, 2011).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 35 наукових праць, із них 22 статті (20 – у фахових виданнях), один патент на корисну модель, 12 тез – у матеріалах з'їздів, конгресів та наукових конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається з вступу, 11 розділів, висновків, переліку використаних джерел, додатків. Роботу викладено на 376 сторінках комп'ютерного тексту, проілюстровано 22 рисунками, 109 таблицями. Список використаних джерел налічує 565 найменувань. Бібліографічний опис джерел літератури та додатки викладено на 91 сторінці.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріал і методи дослідження. Дослідження проведені на 244 білих нелінійних щурах-самцях, поділених на експериментальні групи: 1. контрольні щури; 2. щури, яким моделювали 20-

хвилину двобічну каротидну ішемію з наступною реперфузією; 3. щури з експериментальним цукровим діабетом (ЦД); 4. щури з ЦД, яким моделювали неповну глобальну ішемію-реперфузію головного мозку.

Для відтворення ЦД використана стрептозотоцинова модель, яку на даний час вважають однією з найбільш поширених та адекватних діабету 1 типу. Стрептозотозин (Sigma, США, 60 мг/кг маси тіла) вводили однократно внутрішньочеревно самцям щурів двомісячного віку (D.A. Rees, J.C. Alcolado, 2005; M. Herrath, G.T. Nepom, 2009). У частини щурів шестимісячного віку з ЦД та контрольних тварин аналогічного віку моделювали неповну глобальну ішемію мозку двобічним кліпсуванням загальних сонних артерій протягом 20 хв. з подальшим відновленням кровотоку для досягнення реперфузії (Г.Г. Скибо, 2004). Тварин виводили з експерименту на 12 добу постішемичного періоду, що є достатнім для ініціації автоімунних процесів та імунологічної дизрегуляції (А. Аракелян и др., 2003; А.Н. Макаренко и др., 2008). Експериментальні дослідження виконували відповідно до основних положень GLP (1981 р.), Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях, від 18.03.1986 р., Директиви ЄЕС № 609 від 24.11.1986 р. і наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. Усі процедури, які супроводилися больовими подразниками (моделювання ішемії-реперфузії, евтаназія), здійснювали під каліпсоловим наркозом (75 мг/кг). Комісією з питань біоетики Буковинського державного медичного університету (протокол № 3 від 17 листопада 2011 р.) порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

Об'єктом досліджень в експериментальних тварин були мозок, підшлункова залоза, тимус, мікробіота тонкої кишки, периферична кров.

Мозок швидко виймали на холоді й одразу занурювали в рідкий азот для біохімічних досліджень, у 10 % розчин нейтрального формаліну – для світлооптичних досліджень та у 2,5 % нейтральний розчин глутарового альдегіду – для електроннооптичної мікроскопії. У гомогенатах кори потиличної частки (КПЧ), перегородки мозку (ПМ), мигдалеподібного комплексу ядер (МКЯ), преоптичної ділянки (ПОД) та медіобазального гіпоталамуса (МБГ) визначали вміст дієнових кон'югатів (ДК), малонового альдегіду (МА), активність супероксиддисмутази (СОД), каталази (КТ), глутатіонпероксидази (ГПО), протеолітичну активність за лізисом азоальбуміну, азоказеїну та азоколу (В.М. Магальяс та ін., 2001).

Наявність системних автоімунних реакцій верифікували за вмістом циркулюючих імунних комплексів (ЦК), а їх елімінацію – за змінами фагоцитарного числа (ФЧ) та фагоцитарного індексу (ФІ) (Л.Є. Лаповець та ін., 2008).

Для підтвердження ЦД визначали рівень глікемії на 10-ту та 80-ту доби після уведення стрептозотозину, а в щурів із поєднанням ЦД та ішемії-реперфузії головного мозку – третій раз перед виведенням з експерименту. Кров забирали з хвостової вени щура користуючись

глюкометром One Touch Ultra Easy (Life Scan, Deutschland). Експериментальні групи з діабетом формували з тварин, у яких рівень глікемії перевищував 10 Мм / л.

Для світлооптичного дослідження підшлункову залозу фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну, робили серійні зрізи, зафарбовували гематоксиліном і еозином. Уміст інсуліну в підшлунковій залозі визначали методом непрямой імунофлуоресценції в зрізах залози, фіксованої в розчині Буена, з використанням антитіл фірми Peninsula Laboratories Inc., США. Підготовлені гістологічні зрізи вивчали у флуоресцентному мікроскопі AXIOSKOP (ZEISS, Німеччина) за допомогою відеокамери COHU-4722 (COHU Inc., США). В отриманих зображеннях у комп'ютерній системі цифрового аналізу VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина) вивчали щільність розташування інсулін-позитивних клітин, малих, середніх, великих та гігантських острівців, їх морфометричні параметри (площу та еквівалентний діаметр), площу в них імунореактивного матеріалу (IPM), коефіцієнт заповненості даним матеріалом острівців і β -клітин, кількість клітин в острівці, концентрацію інсуліну в клітині та в острівці.

Швидко видалений тимус поміщали на 20 год. у фіксатор Буена, після стандартної процедури зневоднення заливали в парафін, готували серійні зрізи різних ділянок залози. Морфометричні та денситометричні характеристики тимоцитів вивчали в серійних гістологічних зрізах тимуса, забарвлених гематоксилін-еозином, на комп'ютерній системі цифрового аналізу зображення VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина). Зображення з мікроскопа Axioskop за допомогою високочутливої відеокамери COHU-4722 (COHU Inc., США) вводили в комп'ютерну систему цифрового аналізу VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина) і оцифровували за денситометричною шкалою, скануючи всі поля зору (А.В.Абрамов и др., 2002). Ідентифікацію клітин в отриманому зображенні проводили в автоматичному режимі за допомогою пакета прикладних програм VIDAS-2.5 (Kontron Elektronik, Німеччина). Морфометричні параметри тимоцитів оцінювали за їх площею, периметром, максимальним та мінімальним еліптичними діаметрами, коефіцієнтами форми, елонгації та еквівалентним діаметром (А.В.Абрамов и др., 2003), денситометричні – за абсолютною та питомою оптичною щільністю. Вивчали, також, абсолютну (кількість клітин на 100 μm^2 площі тимуса) та відносну (%) щільність розподілу окремих класів лімфоцитів у кірковій та мозковій зонах тимуса.

Ідентифікацію CD4 і CD8 поверхневих антигенів тимоцитів здійснювали імунофлуоресцентним методом за допомогою моноклональних мишачих антитіл до CD4 і CD8 антигенів щура, кон'югованих із флуоресцеїн ізотіоціанатом (FITC). У дослідженні використовували антитіла виробництва Beckman Coulter (США). Експресію молекул головного комплексу гістосумісності II класу (МНС-II) в антигенпрезентувальних клітинах тимуса (В-лімфоцитах, макрофагах та дендритних клітинах) виявляли методом прямої імуноцитофлуоресценції з мишачими моноклональними антитілами до МНС-II-антигена щура (Beckman Coulter, США). Дослідження

тимічної експресії антиапоптотичного білка Bcl-2 та ідентифікацію Bcl-2-імунопозитивних тимоцитів здійснювали методом непрямой імунофлуоресценції за допомогою первинних (мишачі моноклональні антитіла до Bcl-2 щура, Sigma Chemical, США) та вторинних антитіл (козячі антитіла до повної молекули IgG миші, кон'юговані з FITC, Sigma Chemical, США). Визначення тимічної експресії проапоптотичного білка p53 та ідентифікацію p53-імунопозитивних тимоцитів здійснювали методом подвійної імунофлуоресценції. Після інкубації з первинними моноклональними антитілами кроля до p53 (Santa Cruz Biotechnology, США), зрізи інкубували з вторинними антитілами, кон'югованими з FITS (Beckman Coulter, США). Проліферативну активність тимоцитів визначали за ядерним антигеном клітинної проліферації PCNA методом непрямой імуноцитофлуоресценції. Зрізи тимуса інкубували з первинними антитілами – мишачим IgG2a до PCNA щура (Sigma Chemical, США) та вторинними антитілами – кролячі антитіла до повної молекули IgG миші, кон'юговані з FITC (Sigma Chemical, США).

Імуноцитофлуоресцентні визначення перелічених показників проводили в тимоцитах кіркової та мозкової зон тимуса. Після обробки гістологічні зрізи досліджували на комп'ютерній системі цифрового аналізу зображення VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина) (А.В.Абрамов и др., 2003).

Інсулін-позитивні (Ins^+) клітини тимуса ідентифікували методом непрямой імунофлуоресценції з використанням моноклональних антитіл до інсуліну (Peninsula Laboratories Inc., США) та вторинних антитіл, кон'югованих з FITC (Sigma Chemical, США).

Для вивчення мікробної екології загального препарату (порожнинної та мукозної мікрофлори) тонкої кишки її ділянки швидко видаляли і поміщали в стерильні чашки Петрі. Показники мікрофлори (якісні та кількісні) визначали шляхом бактеріологічного та мікологічного дослідження з розрахунком індексу постійності, частоти зустрічання, коефіцієнта кількісного домінування та значущості кожного виду (родини) мікроорганізму в мікробіоценозі загального препарату тонкої кишки (А.А. Воробьев и др., 2004; Г.А. Осипов и др., 2004).

Цифрові результати експериментальних досліджень опрацьовані на персональному комп'ютері пакетом прикладних і статистичних програм VIDAS-2.5 (Kontron Elektronik, Німеччина), EXCEL з пакету MS Office 2007 (Microsoft Corp., США), пакету STATISTICA 6.0 (Stat-Soft, 2001). Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m). Для виявлення достовірності відмінностей результатів досліджень у дослідних і контрольних групах тварин визначали коефіцієнт Стьюдента (t), після чого визначали достовірність відмінності вибірок (p) і довірчий інтервал середньої. Критичний рівень значимості при перевірці статистичних гіпотез приймали рівним 0,05. Для виявлення взаємозв'язку між параметрами в межах групи використовували кореляційний аналіз Спірмена.

Результати досліджень та їх обговорення. Для підтвердження достатнього пошкодження

церебральних структур за обраної моделі ішемії-реперфузії головного мозку ми дослідили окремі патобіохімічні та морфологічні зміни в новій корі та лімбіко-гіпоталамічних структурах головного мозку тварин різних експериментальних груп. Встановлено, що 20-хвилинна ішемія з наступною реперфузією достовірно ($p < 0,05$) підвищує вміст МА на тлі зниження активності СОД ($p < 0,05$) в усіх досліджених структурах мозку та зростання активності КТ, ГПО ($p < 0,05$) або одного з цих ферментів. ЦД знижує вміст первинних і вторинних продуктів ліпопероксидації та активність СОД ($p < 0,05$ для всіх показників). Досить однотипною у тварин із ЦД є реакція системи ліпопероксидація-антиоксидантний захист на каротидну ішемію-реперфузію – вона характеризується пригніченням активності всіх антиоксидантних ферментів у КПЧ (в 1,5, 2,5, 1,4, рази, $p < 0,05$), ПОД (в 1,4, 2,1, 1,2 рази $p < 0,05$) та МБГ (в 1,5, 2,0, 1,4 рази, $p < 0,05$) для СОД, КТ, ГПО відповідно. У МКЯ знизилася в 1,6 та 1,4 рази ($p < 0,05$) активність КТ і ГПО, а в ПМ – в 1,3 та 1,6 рази ($p < 0,05$) активність СОД і КТ. Таким чином, незважаючи на вагоме зниження антиоксидантної активності в щурів із ЦД, ішемія мозку у тварин цієї групи спричиняє ще більше її пригнічення. У цілому, можна дійти висновку, що ЦД знижує церебральний рівень функціональної активності системи ліпопероксидація-антиоксидантний захист, а ішемія-реперфузія головного мозку у тварин із даною патологією сприяє виснаженню ферментативної ланки антиоксидантного захисту.

Аналіз результатів вивчення іншого ключового механізму пошкодження тканини мозку при ішемії-реперфузії – тканинної протеолітичної активності – виявив декілька закономірностей. У переважній більшості структур мозку контрольних щурів після даного втручання достовірно зріс лізис високомолекулярних білків і колагену на тлі зниження або незмінного стану лізису низькомолекулярних білків. У всіх п'яти досліджених структурах мозку тварин із ЦД виявлено достовірне зниження лізису низькомолекулярних білків, у трьох (КПЧ, ПМ та МКЯ) – підвищення лізису колагену. Характерно, що в жодному випадку діабет не впливає на лізис високомолекулярних білків. Своєрідним є реагування протеолітичних систем на ішемію-реперфузію головного мозку в щурів із ЦД: стабільним у всіх досліджених структурах мозку цих тварин є достовірне зниження лізису колагену, незалежно від наявності змін цього показника чи їх спрямування в контрольних щурів.

Вивчення гістологічних та ультраструктурних змін у корі лобової та потиличної часток під впливом двобічної каротидної ішемії-реперфузії, ЦД і при поєднанні цих станів показало зменшення щільності розташування нейро- і гліоцитів, появу гіпохромних, гіперхромних і різко гіперхромних нейроцитів, зміну форми і вмісту нервових клітин, зменшення кількості і порушення структури їх органел, набряк ендотеліоцитів та перикапілярних просторів, із найбільшою вираженістю за умов поєднаної патології.

Отже, за ключовими патобіохімічними та патоморфологічними критеріями пошкодження

нервової тканини кожна з експериментальних моделей характеризується достатньо вираженими порушеннями морфофункціонального стану кіркових та підкіркових структур мозку.

Для верифікації автоімунного процесу нами проведено визначення вмісту ЦК та таких показників неспецифічної резистентності, як ФЧ та ФІ.

Встановлено, що на 12 добу постішемичного періоду в контрольних щурів на 35 % зростає вміст ЦК та на 21 і 23 % відповідно – ФЧ й ФІ ($p < 0,05$ для всіх показників), що свідчить про активну елімінацію даних комплексів і можливість сприятливого завершення патологічного процесу. У тварин із ЦД достовірно зростання (на 78 %) рівня ЦК відбувається на тлі незмінних показників фагоцитарної активності. Високий рівень ЦК за умов довготривалого ЦД, найімовірніше, пов'язаний зі сповільненою їх елімінацією, про що свідчать відсутність адекватної реакції фагоцитів крові. Цікаво, що після ускладнення ЦД ішемією-реперфузією вміст ЦК стає навіть дещо нижчим, ніж у щурів із діабетом, хоча показники фагоцитарної активності залишаються такими ж, як у контрольних щурів. У той же час, рівень ЦК залишається підвищеним стосовно контролю на 44 % ($p < 0,05$). Можна думати, що за умов поєднаної патології рівень ЦК стосовно ЦД знижується внаслідок більш активного відкладання в стінках судин, нирках та інших органах. Отже, отримані результати підтверджують адекватність обраної нами моделі ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку поставленій меті – дослідити патогенез імунної дисфункції при поєднанні ішемії мозку з ЦД.

Вивчення морфофункціонального стану панкреатичних острівців (ПО) за ішемії-реперфузії мозку в контрольних щурів може бути інформативним щодо причин виникнення гіперглікемії, а у тварин із ЦД – стосовно тяжчого перебігу ішемії мозку.

На рис.1-4 показана гістологічна будова ПО у тварин різних експериментальних груп. Зміни при ЦД проявлялися атрофією ПО, зниженням кількості ендокриноцитів, дегенерацією і загибеллю β -інсулоцитів, склеротичними явищами навколо судин, вивідних проток органа (рис. 2).

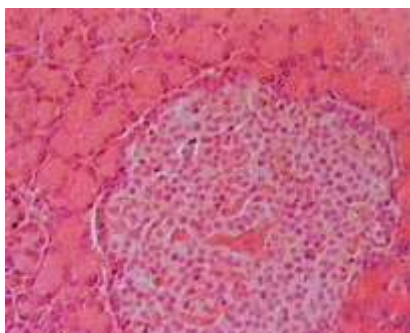


Рис. 1. Мікроскопічна будова панкреатичного острівця інтактного щура. Забарвлення гематоксилином і еозином. $\times 200$.

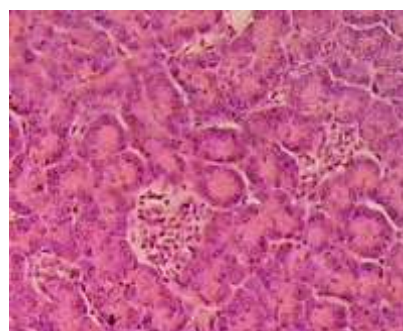


Рис. 2. Гістологічні зміни панкреатичного острівця щура при експериментальному цукровому діабеті. Забарвлення гематоксилином і еозином. $\times 200$.

Після ішемії-реперфузії головного мозку ПО були зменшеними, проте не настільки, як при ЦД, виявлено склеротичні зміни в стромі острівця, розширені просвіти гемокапілярів, заповнених форменими елементами крові. Стінки артерій міжчасточкових ділянок строми потовщені, вени і венули – з широкими просвітами, значно кровонаповнені (рис. 3). Найбільш суттєві гістологічні зміни ПО спостерігалися при поєднанні ЦД та ішемії-реперфузії головного мозку (рис. 4).

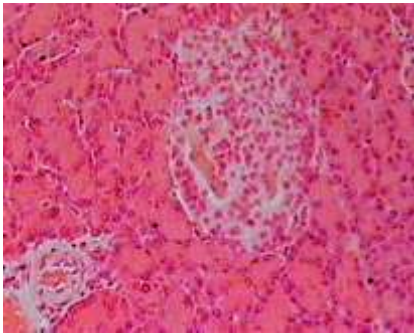


Рис. 3. Гістологічний стан панкреатичного острівця щура після ішемії-реперфузії мозку. Забарвлення гематоксилином і еозином. $\times 200$.

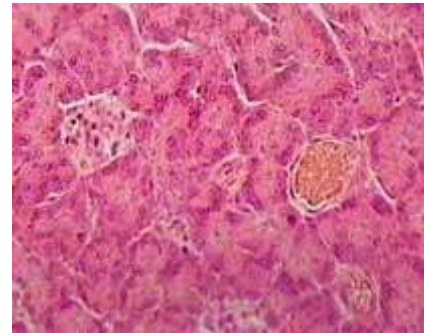


Рис. 4. Гістологічні зміни панкреатичного острівця щура при цукровому діабеті та ішемії-реперфузії мозку. Забарвлення гематоксилином і еозином. $\times 200$.

Кількісна оцінка змін за щільністю острівців різного типу (на 1 cm^2 площі зрізу) показала, що ішемія-реперфузія головного мозку спричинила появу поодиноких β -клітин, яких не було в контрольних щурів. У підшлунковій залозі щурів із ЦД кількість поодиноких β -клітин була втричі більшою порівняно з ішемією-реперфузією в контрольній групі. Поєднаний вплив ЦД та ішемії-реперфузії головного мозку в 3,2 рази ($p < 0,05$) зменшив кількість поодиноких клітин порівняно з ЦД. Порівняно з контролем ішемія-реперфузія не вплинула на щільність малих острівців, а діабет достовірно збільшив цей показник в 1,4 рази ($p < 0,05$). Ішемія-реперфузія у тварин із ЦД достовірно зменшила щільність малих острівців порівняно з аналогічним показником за умов діабету. Щільність середніх острівців не змінилася в жодній експериментальній групі. Ні ішемія-реперфузія головного мозку в контрольних щурів, ні ЦД також не спричинили суттєвих змін щільності великих острівців, однак при поєднанні цих патологічних станів даний показник достовірно зменшився в півтора рази порівняно з ЦД і у 2,4 рази – порівняно з контролем. Найбільш суттєво змінилася щільність гігантських острівців – ішемія-реперфузія у контрольних тварин достовірно зменшила її у два рази, а у тварин із ЦД та при поєднанні останнього з ішемією-реперфузією гігантські острівці не визначалися взагалі.

Виявлено також прогресуюче зниження щільності розташування β -клітин на одиницю площі зрізу залози порівняно з контролем: після ішемії-реперфузії головного мозку в контрольних щурів щільність β -клітин достовірно зменшилася в 1,5 рази, у тварин із ЦД – у 4,1 рази, за умов поєднання діабету та ішемії-реперфузії мозку – у 6 разів (стосовно щурів із діабетом в останній

серії зниження становило півтора раза). Отже, не лише ЦД, а й ішемія-реперфузія головного мозку суттєво порушує морфофункціональний стан ПО.

У малих острівцях залози контрольних щурів ішемія-реперфузія головного мозку достовірно зменшила площу ІРМ та коефіцієнт заповненості острівця даним матеріалом на 34 та 27 % відповідно. У тварин із ЦД площа ІРМ, площа острівця, коефіцієнт заповненості острівця ІРМ, еквівалентний діаметр острівця знизилися відповідно на 79, 37, 14 і 37 % ($p < 0,05$). У тварин із поєднанням ЦД та ішемії-реперфузії головного мозку всі показники стосовно контролю були достовірно нижчими, однак щодо параметрів за умов ЦД вони не змінилися.

Середні острівці ПЗ контрольних щурів відреагували на ішемію-реперфузію головного мозку та ЦД зниженням площі ІРМ і коефіцієнта заповненості даним матеріалом острівця на 27 і 31 % та 31 і 28 % відповідно ($p < 0,05$). При ускладненні ЦД ішемією-реперфузією головного мозку всі досліджені показники залишалися достовірно нижчими порівняно з аналогічними в контрольних щурів та були незмінними стосовно відповідних параметрів у тварин із ЦД.

Після ішемії-реперфузії головного мозку в контрольних щурів зниження площі ІРМ та коефіцієнта заповненості даним матеріалом великих острівців становило 70 і 47 % ($p < 0,05$), а у тварин із ЦД – 149 та 133 % ($p < 0,05$). При поєднаному впливі ЦД й ішемії-реперфузії мозку стосовно ЦД зріс еквівалентний діаметр острівців ($p < 0,05$), решта ж показників не відрізнялися від таких у щурів із діабетом.

У контрольних тварин ішемія-реперфузія головного мозку не вплинула на жодний із досліджених параметрів гігантських острівців, а у тварин із ЦД та поєднанням ЦД й ішемії-реперфузії мозку останні взагалі зникають. Поява у тварин даних експериментальних груп поодиноких β -клітин, які відсутні в контрольних щурів, дозволяє думати, що вони є наслідком розформування гігантських острівців.

Дослідження функціонального стану ПО показало, що загальний уміст та концентрація інсуліну в поодиноких β -клітинах у всіх експериментальних групах була приблизно однаковою. У малих острівцях контрольних щурів після ішемії-реперфузії головного мозку кількість β -клітин знизилася на 32 % ($p < 0,05$), концентрація інсуліну в клітині – на 31 %, уміст інсуліну в острівцях та концентрація в них гормону – на 82 та 64 % відповідно ($p < 0,05$). ЦД достовірно знизив кількість клітин в острівці більш суттєво – на 78 %, концентрацію інсуліну в β -клітинах – на 17 %, а вміст інсуліну та його концентрацію в острівці – на 116 та 33 %. У середніх острівцях ПЗ контрольних щурів ішемія-реперфузія мозку достовірно знизила: кількість β -клітин – на 27 % , концентрацію інсуліну в клітинах – на 45 %, уміст та концентрацію інсуліну в острівці – на 84 та 91 % відповідно. Вплив ЦД на кількість β -клітин у середніх острівцях був таким же, як і в попередній експериментальній групі, а на решту зазначених параметрів – навіть дещо нижчим: концентрація інсуліну в клітинах достовірно знизилася на 26 %, уміст та концентрація інсуліну в острівці – на

63 та 65 % відповідно. У великих острівцях контрольних щурів після ішемії-реперфузії головного мозку кількість клітин знизилася на 71 %, концентрація інсуліну в клітині – на 28 %, уміст інсуліну в острівці та концентрація в ньому гормону – на 119 та 91 % відповідно. ЦД знизив кількість β -клітин на 151 %, концентрацію інсуліну в β -клітинах – на 20 %, а уміст інсуліну та його концентрацію в острівці – на 189 та 175 %. Характерно, що у тварин із ЦД ішемія-реперфузія головного мозку ні в одному з острівців не вплинула на жоден із досліджених показників їх функціонального стану порівняно з такими за умов діабету, хоча стосовно показників у контрольних щурів всі параметри були достовірно нижчими.

Сукупний аналіз отриманих результатів показав, що ішемія-реперфузія головного мозку має істотний вплив на морфофункціональний стан ПО як у контрольних тварин, так і в щурів із ЦД, а гіперглікемія, притаманна ішемії-реперфузії головного мозку, може мати морфологічні витоки.

Тимічний інсулін є одним із провідних чинників формування центральної толерантності до β -клітин панкреатичних острівців (А.М. Камышный и др., 2006; Ю.М. Колесник и др., 2007). Тому вивчення експресії інсуліну в тимусі за умов ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку у тварин без ЦД та з наявністю даної патології може внести певну ясність стосовно природи імунологічних порушень за цих станів.

Згідно отриманим даним, на 12 добу після ішемії-реперфузії головного мозку в контрольних щурів достовірно знизилася щільність розташування тимічних Ins^+ -макрофагів та неідентифікованих клітин в 1,5 та 1,4 раза відповідно (табл. 1), а також відбувся суттєвий перерозподіл різних класів Ins^+ -клітин – на 20 % знизилася частка Ins^+ -макрофагів, на 17 % і 12 % відповідно зросла частка Ins^+ -дендритних та неідентифікованих клітин.

Таблиця 1

Щільність (на 1мм^2 площі зрізу) Ins^+ -клітин у тимусі контрольних щурів та тварин із цукровим діабетом після ішемії-реперфузії головного мозку ($M \pm m$)

Серії дослідження	Ins^+ -макрофаги	Ins^+ -дендритні клітини	Ins^+ -неідентифіковані клітини
Контроль	<u>10,57\pm1,24</u>	<u>11,60\pm1,29</u>	<u>7,87\pm0,76</u>
	35,78 \pm 1,02	38,90 \pm 1,01	25,68 \pm 0,96
Ішемія-реперфузія	<u>7,05\pm0,90*</u>	<u>10,80\pm1,22</u>	<u>5,60\pm0,85*</u>
	29,68 \pm 0,87*	45,45 \pm 1,26***	28,83 \pm 0,78**
Діабет	<u>9,57\pm0,87</u>	<u>11,42\pm1,05</u>	<u>5,96\pm0,65*</u>
	35,51 \pm 0,92	42,37 \pm 1,13**	22,11 \pm 0,62**
Діабет та ішемія-реперфузія	<u>7,38\pm0,58^</u>	<u>9,96\pm0,80</u>	<u>9,09\pm0,88^</u>
	27,90 \pm 1,11^^	37,69 \pm 1,06^^	34,36 \pm 1,18^^

Примітки: у чисельнику достовірність змін щільності клітин, у знаменнику – їх частки; достовірність змін щодо показників – * – у контрольних тварин; ^ – у тварин із цукровим діабетом (*^ - $p < 0,05$; **^^ - $p < 0,005$; ***^^^ - $p < 0,001$).

Цікаво, що ЦД мав навіть дещо менший вплив на тимічні Ins^+ -клітини – у тварин даної групи нами виявлено зниження щільності розташування лише неідентифікованих клітин на 32 %. Частка Ins^+ -дендритних клітин зросла на 9 %, а неідентифікованих – знизилася на 16 %. Після ішемії-реперфузії у тварин із ЦД на 30 % знизилася щільність розташування Ins^+ -макрофагів та на 52 % зросла щільність Ins^+ -неідентифікованих клітин. Частка Ins^+ -макрофагів та дендритних клітин знизилася на 27 і 12 % відповідно, за рахунок чого частка Ins^+ -неідентифікованих клітин зросла на 55 %.

Для сукупної оцінки ступеня отриманих порушень за модельованих патологічних станів важливе значення має визначення концентрації інсуліну в інсулін-імунопозитивних клітинах тимуса (табл. 2).

Таблиця 2

Концентрація інсуліну ($E_{I\Phi}$) в інсулінпозитивних клітинах тимуса щурів контрольної групи та тварин із цукровим діабетом після ішемії-реперфузії головного мозку ($M \pm m$)

Серії дослідження	Ins^+ -макрофаги	Ins^+ -дендритні клітини	Ins^+ -неідентифіковані клітини
Контроль	0,621±0,012	0,560±0,010	0,480±0,011
Ішемія-реперфузія	0,687±0,021 $p < 0,01$	0,547±0,016	0,432±0,018 $p < 0,01$
Діабет	0,707±0,011 $p < 0,001$	0,621±0,008 $p < 0,001$	0,556±0,011 $p < 0,001$
Діабет та ішемія-реперфузія	0,669±0,014 $p_1 < 0,025$	0,537±0,011 $p_1 < 0,001$	0,450±0,008 $p_1 < 0,001$

Примітки: достовірність змін щодо показників: p – у контрольних тварин; p_1 – у тварин із цукровим діабетом.

Ішемія-реперфузія головного мозку в контрольних щурів на 11 % збільшила вміст інсуліну в Ins^+ -макрофагах і в такій же мірі знизила його в неідентифікованих клітинах. У тварин із ЦД виявлено зростання концентрації інсуліну в Ins^+ -макрофагах, дендритних та неідентифікованих клітинах тимуса на 14, 11 та 16 % відповідно. Після ішемії-реперфузії головного мозку в щурів із ЦД концентрація інсуліну в Ins^+ -макрофагах, дендритних та неідентифікованих клітинах зменшилася на 6, 16 та 24 % відповідно щодо показників при ЦД. Отже, сукупний аналіз

результатів досліджень свідчить про наявність специфічної діабет-обумовленої реакції Ins^+ -клітин тимуса на ішемічно-реперфузійне пошкодження головного мозку.

Аналіз змін цитоархітекtonіки тимуса щурів різних експериментальних груп показав, що ЦД достовірно знижує сумарну щільність тимоцитів за рахунок усіх класів, за винятком малих клітин. Ішемія-реперфузія головного мозку в кірковій зоні залози контрольних тварин достовірно знижує щільність менш зрілих клітин (лімфобластів та великих тимоцитів), підвищує щільність більш зрілих середніх ($p < 0,05$) і не впливає на щільність найбільш зрілих малих. У щурів із ЦД після даного втручання зростає щільність незрілих форм та знижується – більш зрілих середніх і малих тимоцитів. У мозковій зоні тимуса контрольних щурів ішемія-реперфузія головного мозку знижує сумарну щільність тимоцитів за рахунок усіх класів, окрім малих, а в щурів із діабетом – підвищує щільність незрілих великих тимоцитів та знижує – щільність малих (у всіх випадках – $p < 0,05$).

Порушення автотолерантності до білків острівцевої тканини підшлункової залози супроводжується модифікаціями Т-клітинної ланки імунітету та численними імунорегуляторними розладами (С. Pinoker et al., 2005; М. Kronenberg, А. Rudensky, 2005). Особливо важлива роль у делеції автоагресивних клонів тимоцитів належить лімфоцитам із супресорною функцією – при їх дефіциті ризик автоімунних захворювань зростає (S.M. Lieberman et al., 2003; С.Р. Wong et al., 2006). Ці дані визначають доцільність вивчення диференціації CD4^+ - і CD8^+ лімфоцитів та експресії відповідних рецепторів у контрольних щурів і тварин із ЦД після ішемії-реперфузії головного мозку.

Ішемія-реперфузія головного мозку в контрольних щурів збільшила щільність CD4 -рецепторів у великих та середніх CD4^+ -лімфоцитах кіркової зони тимуса (табл. 3). У тварин із ЦД виявлено зростання щільності рецепторів даного маркера в усіх класах тимоцитів даної зони, а при поєднанні ішемії-реперфузії з ЦД – зниження у CD4^+ -середніх та CD4^+ -малих лімфоцитах. У мозковій зоні тимуса зростання щільності CD4 -рецепторів після ішемії-реперфузії мозку у тварин без ЦД виявлено в усіх класах CD4^+ тимоцитів. Такою ж була реакція даного показника і у тварин із ЦД, проте ішемія-реперфузія в щурів даної групи знизила щільність CD4 -рецепторів у CD4^+ -лімфобластах та CD4^+ - малих лімфоцитах стосовно показників у тварин із ЦД.

Інформативність змін інтенсивності експресії CD4 -рецепторів набуває більшої ваги при сукупній оцінці зі щільністю клітин із фенотипом CD4^+ .

Нами встановлено, що ЦД, ішемія-реперфузія мозку в контрольних тварин та щурів із ЦД спричиняють зниження сумарної щільності лімфоцитів із фенотипом CD4^+ та окремих їх класів у кірковій зоні тимуса (табл. 4).

Таблиця 3

Щільність CD4 -рецепторів ($E_{i\phi}$) CD4^+ -лімфоцитів тимуса щурів зі стрептозотоцин-

**індукованим діабетом, ускладненим ішемічно-реперфузійним пошкодженням
головного мозку (M ± m)**

Група спостереження	CD4 ⁺ лімфобласти	CD4 ⁺ великі лімфоцити	CD4 ⁺ середні лімфоцити	CD4 ⁺ малі лімфоцити
Кіркова зона				
Контроль	1,029±0,029	0,976±0,013	0,890±0,006	0,771±0,004
Ішемія-реперфузія	1,024±0,050	1,114±0,029*	1,076±0,012*	0,788±0,007
Діабет	1,140±0,024*	1,095±0,018*	1,008±0,009*	0,801±0,005*
Діабет та ішемія-реперфузія	1,035±0,053	1,028±0,030	0,969±0,012 [^]	0,719±0,005 [^]
Медулярна зона				
Контроль	1,106±0,031	1,112±0,016	0,952±0,007	0,871±0,005
Ішемія-реперфузія	1,284±0,048*	1,287±0,022*	1,189±0,012*	0,947±0,007*
Діабет	1,316±0,016*	1,232±0,014*	1,158±0,008*	0,977±0,005*
Діабет та ішемія-реперфузія	1,181±0,046 [^]	1,257±0,025	1,164±0,013	0,890±0,007 [^]

Примітки: у таблицях 3-6: * – достовірність змін щодо показників у контрольних тварин; [^] – достовірність змін щодо показників у тварин із цукровим діабетом.

Таблиця 4

**Щільність популяції CD4⁺- лімфоцитів (на 1 мм² площі зрізу) в тимусі щурів зі
стрептозотонін-індукованим діабетом, ускладненим ішемічно-реперфузійним
пошкодженням головного мозку (M ± m)**

Група спостереження	Щільність розташування різних класів CD4 ⁺ тимоцитів				
	сумарна	лімфобластів	великих	середніх	малих
Кіркова зона					
Контроль	181±7,5	5,06±0,49	13,5±0,8	61,8±2,8	99,3±4,19
Ішемія-реперфузія	63,7±3,1*	1,69±0,23*	3,90±0,35*	18,5±0,9*	39,3±2,2*
Діабет	149±6,4*	7,32±0,77*	11,4±0,9	41,0±2,29*	89,0±3,4*
Діабет та ішемія-реперфузія	123±5,4 [^]	2,86±0,39 [^]	5,25±0,54 [^]	25,8±1,4 [^]	88,6±4,3
Медулярна зона					
Контроль	130±6,5	3,89±0,44	10,1±0,7	44,0±2,6	70,9±3,9
Ішемія-реперфузія	43,9±2,32*	1,31±0,19*	3,68±0,33*	13,4±0,8*	25,4±1,5*
Діабет	97,3±4,9*	6,61±0,59*	7,36±0,62*	27,4±1,6*	55,7±3,2*

Діабет та ішемія-реперфузія	72,8±4,0 [^]	1,91±0,28 [^]	4,26±0,46 [^]	17,6±1,1 [^]	48,5±2,9 [^]
-----------------------------	-----------------------	------------------------	------------------------	-----------------------	-----------------------

Тому зростання щільності CD4-рецепторів у тимоцитах після ішемії-реперфузії мозку в контрольних тварин та при ЦД може бути компенсаторною реакцією на зниження загальної кількості CD4⁺-лімфоцитів, а зниження щільності даних рецепторів на тлі зменшення кількості CD4⁺-лімфоцитів при поєднанні ЦД та ішемії-реперфузії мозку характеризує пригнічення хелперної функції.

Проте ця оцінка без урахування кількості та функціонального стану CD8⁺-лімфоцитів, яким притаманна супресорна функція, є досить однобокою. Вивчення щільності їх рецепторів у тимусі за зазначених вище патологічних станів (табл. 5) показало, що в кірковій зоні контрольних тварин після ішемії-реперфузії мозку та в щурів із ЦД відбулося зростання щільності CD8-рецепторів у всіх класах CD8⁺-лімфоцитів. Однак ішемія-реперфузія мозку в щурів із діабетом призвела до тотального зниження даного показника стосовно контролю та ЦД.

Таблиця 5

Щільність CD8-рецепторів (E_{if}) CD8⁺-лімфоцитів тимуса щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом, ускладненим ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку (M ± m)

Група спостереження	CD8 ⁺ лімфобласти	CD8 ⁺ великі лімфоцити	CD8 ⁺ середні лімфоцити	CD8 ⁺ малі лімфоцити
Кіркова зон				
Контроль	0,940±0,011	0,967±0,007	0,896±0,005	0,770±0,004
Ішемія-реперфузія	1,110±0,024*	1,110±0,012*	1,037±0,006*	0,813±0,003*
Діабет	1,131±0,017*	1,170±0,017*	1,081±0,010*	0,885±0,007*
Діабет та ішемія-реперфузія	0,676±0,024 [^]	0,825±0,030 [^]	0,780±0,014 [^]	0,649±0,006 [^]
Медулярна зона				
Контроль	1,041±0,012	1,063±0,007	0,941±0,005	0,832±0,005
Ішемія-реперфузія	0,975±0,016*	0,988±0,014*	0,943±0,008	0,773±0,004*
Діабет	0,888±0,014*	0,952±0,013*	0,926±0,009	0,806±0,005*
Діабет та ішемія-реперфузія	0,823±0,015 [^]	0,863±0,016 [^]	0,830±0,009 [^]	0,691±0,005 [^]

Слід зазначити, що збільшення щільності CD8-рецепторів у кірковій зоні тимуса контрольних тварин після ішемії-реперфузії мозку та щурів із ЦД і зниження її при поєднанні діабету з ішемією-реперфузією мозку відбулося на тлі зменшення сумарної щільності та щільності всіх субпопуляцій CD8⁺-лімфоцитів (табл. 6).

Щільність популяції CD8⁺- лімфоцитів (на 1 мм² зрізу) та їх відсоткове співвідношення в тимусі щурів зі стрептозотин-індукованим діабетом, ускладненим ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку (M ± m)

Група спостереження	Сумарна щільність CD8 ⁺ тимоцитів	CD8 ⁺ лімфобласти	CD8 ⁺ великі тимоцити	CD8 ⁺ середні тимоцити	CD8 ⁺ малі тимоцити
Кіркова зона					
Контроль	310±6,57	26,7±1,31	48,3±1,89	111±3,47	124±4,05
Ішемія-реперфузія	146±3,93*	4,47±0,35*	11,8±0,59*	37,1±1,21*	91,5±2,86*
Діабет	91,0±4,04*	8,23±0,63*	10,7±0,68*	28,7±1,55*	42,8±2,24*
Діабет/ ішемія-реперфузія	51,2±2,83 [^]	2,72±0,30 [^]	3,37±0,35 [^]	11,9±0,77 [^]	33,0±2,04 [^]
Медулярна зона					
Контроль	164±6,75	14,6±1,01	30,9±1,63	62,2±3,21	55,4±3,14
Ішемія-реперфузія	114±3,43*	8,30±0,51*	10,6±0,88*	29,1±1,15*	65,6±2,35*
Діабет	130±5,15*	8,91±0,65*	15,9±0,82*	35,8±1,70*	69,1±3,43*
Діабет / ішемія-реперфузія	141±5,88	10,5±0,89	13,5±0,87	33,8±1,88	83,5±4,19 [^]

У цілому, це говорить на користь зниження супресорної функції лімфоцитів даної зони тимуса, особливо у тварин із ЦД та поєднанням діабету й ішемії-реперфузії, де нами було встановлено зростання імунорегуляторного індексу.

Сукупний аналіз стану даної функції в мозковій зоні тимуса також показав, що у тварин із діабетом та після ішемії-реперфузії в контролі відбувається паралельне зниження щільності CD8-рецепторів та CD8⁺-лімфоцитів, проте при поєднанні діабету та ішемії-реперфузії результати не настільки однозначні. У щурів даної експериментальної групи сумарна щільність CD8⁺-лімфоцитів не змінилася, а CD8⁺-малих – навіть зросла, хоча щільність рецепторів клітин даного фенотипу достовірно знизилася. Імунорегуляторний індекс при цьому стані зменшився, що нібито мало б характеризувати посилення супресорної функції, однак якщо співставити щільність CD4- та CD8-рецепторів, то в контрольних тварин їх співвідношення становить 1,06, а при поєднанні діабету та ішемії-реперфузії – 1,34, що свідчить про переважання експресії рецепторів CD-хелперів.

Отже, за умов ЦД та ішемії-реперфузії головного мозку в контрольних щурів і тварин із ЦД виникає дефіцит супресорної функції, хоча механізми його формування в різних

експериментальних групах відрізняються.

Порушення морфофункціонального стану антигенпрезентуючих клітин (АПК) за умов експериментального ЦД (Ю.М. Колесник и др., 2006; А.М. Камышный, 2009) дозволяє думати, що надмірний вихід нейроспецифічних білків при поєднанні останнього з ішемією-реперфузією головного мозку може поглибити модифікацію селекції тимоцитів,

За нашими даними, сумарна щільність МНС-ІІ⁺-клітин після ішемії-реперфузії мозку у тварин контрольної групи знизилася майже вдвічі (табл. 7).

Таблиця 7

Щільність МНС-ІІ⁺ антигенпрезентувальних клітин та їх рецепторів у тимусі щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом, ускладненим ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку (M ± m)

Група спостереження	Сумарна щільність МНС-ІІ ⁺ клітин	МНС-ІІ ⁺ макрофаги	МНС-ІІ ⁺ В-лімфоцити	МНС-ІІ ⁺ дендритні клітини
Контроль	60,6±3,32	<u>10,2±0,78</u> 0,871±0,008	<u>42,6±2,58</u> 0,713±0,004	<u>7,86±0,64</u> 0,776±0,009
Ішемія-реперфузія	31±1,89***	<u>4,22±0,37**</u> 0,938±0,017*	<u>21,3±1,41***</u> 0,764±0,007***	<u>5,40±0,46*</u> 0,840±0,015**
Діабет	37,2±2,83***	<u>6,40±0,63***</u> 0,887±0,010	<u>25,3±1,14***</u> 0,731±0,005*	<u>5,45±0,55**</u> 0,828±0,010
Діабет та ішемія-реперфузія	43,8±2,61^^^	<u>6,95±0,55</u> 1,06±0,010^^^	<u>30,2±1,99^^^</u> 0,814±0,007^^^	<u>6,66±0,59</u> 0,888±0,016^

Примітки: у чисельнику – щільність МНС-ІІ⁺ антигенпрезентувальних клітин, у знаменнику – щільність їх рецепторів; достовірність змін щодо показників: * – у контрольних тварин; ^ - у тварин із цукровим діабетом; (*^ - p<0,01; **^^ - p<0,005; ***^^^ - p<0,001).

ЦД спричинив менший ефект – зниження даного показника становило 1,6 раза. Ішемія-реперфузія в щурів із діабетом, навпаки, збільшила сумарну щільність МНС-ІІ⁺ АПК на 17 % стосовно показників у щурів із діабетом без порушення мозкового кровообігу. Проте порівняно з контролем сумарна щільність МНС-ІІ⁺ клітин залишалася достовірно зниженою.

Ішемія-реперфузія в контрольних щурів та діабет знизили щільність МНС-ІІ⁺ макрофагів у 2,4 та 1,6 раза, МНС-ІІ⁺ В-лімфоцитів – у два рази та 1,7 раза відповідно, МНС-ІІ⁺ дендритних клітин – в 1,4 раза в обох групах. У тварин з ішемією мозку зросла щільність МНС-ІІ-рецепторів на 10 % для всіх видів АПК, що відображає їх рівномірну участь у розвитку імунологічних реакцій на дане втручання. У щурів із ЦД ішемія-реперфузія головного мозку, підвищила на 20 %

щільність МНС-II⁺ В-лімфоцитів та МНС-II-рецепторів макрофагів, В-лімфоцитів і дендритних клітин на 20, 10, 10 % відповідно порівняно з групою діабету. Отже, кожна з експериментальних моделей характеризується якісно або кількісно індивідуальною реакцією антигенпрезентувальних клітин тимуса, що свідчить про специфічність відповіді імунної системи на дані втручання.

Однією з причин дизрегуляції Т-клітинної ланки імунної системи з розвитком аутоімунних ендокринопатій є порушення апоптозу лімфоцитів (М. Kronenberg, А. Rudensky, 2005; С.Р. Wong et al., 2006; О.М.Камишний, 2009), тому для з'ясування механізмів імунної дисфункції за наших експериментальних умов досліджено співвідношення активності про- та антиапоптотичних процесів у тимусі (таблиці 8-11).

Таблиця 8

Щільність V α 1-2⁺-тимоцитів (на 1 мм² зрізу) у щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом, ускладненим ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку

(M ± m)

Група спостереження	Щільність різних класів V α 1-2 ⁺ - лімфоцитів				
	сумарна	лімфобластів	великих	середніх	малих
Кіркова зона					
Контроль	59,2±3,8	4,00±0,44	6,55±0,59	16,0±1,2	32,3±2,3
Ішемія-реперфузія	41,5±2,4*	2,01±0,23*	4,16±0,36*	10,9±0,8*	24,4±1,5*
Діабет	170±8,0*	8,24±0,79*	14,3±1,14*	35,3±2,1*	112±5,9*
Діабет/ішемія-реперфузія	54,9±3,8 [#]	3,02±0,26 [#]	4,88±0,53 [#]	11,7±0,9 [#]	35,1±2,6 [#]
Мозкова зона					
Контроль	36,1±3,3	1,45±0,37	3,70±0,68	10,0±0,9	21,0±1,7
Ішемія-реперфузія	30,1±2,9	0,99±0,21	3,73±0,49	7,10±0,8*	18,3±1,9
Діабет	34,6±4,1	0,48±0,17*	2,71±0,46	9,20±1,1	22,2±2,2
Діабет/ішемія-реперфузія	49,0±4,8 [#]	2,73±0,46 [#]	4,24±0,59 [#]	9,28±1,1	32,7±3,4 [#]

Примітки: достовірність змін щодо показників: * – у контрольних тварин; # – у тварин із цукровим діабетом.

Ішемія-реперфузія головного мозку в контрольних тварин знизила в кірковій речовині тимуса сумарну щільність як V α 1-2-, так і p53-позитивних лімфоцитів, однак слід зазначити, що це зниження було нерівномірним і становило 1,4 раза для V α 1-2⁺- та 4 рази – для p53⁺-лімфоцитів. Таким чином, співвідношення p53⁺/V α 1-2⁺-лімфоцити знизилося з 1,69 у контролі до 0,60 при ішемії-реперфузії.

Щільність p53⁺ тимоцитів (на 1 мм² зрізу) у щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом, ускладненим ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку

(M ± m)

Група спостереження	Сумарна щільність p53 ⁺ клітин	p53 ⁺ лімфо-бласти	p53 ⁺ великі лімфоцити	p53 ⁺ середні лімфоцити	p53 ⁺ малі лімфоцити
Кіркова зона					
Контроль	100±5,88	4,37±0,45	8,20±0,63	35,4±2,50	51,3±3,21
Ішемія-реперфузія	25±1,80*	1,08±0,16*	2,12±0,26*	5,88±0,53*	16±1,25*
Діабет	80±5,45*	4,35±0,54	8,16±0,83	17,1±1,41*	50,0±3,81
Діабет/ішемія-реперфузія	34±2,44 [#]	3,16±0,34 [#]	3,25±0,36 [#]	7,81±0,66 [#]	19,8±1,42 [#]
Мозкова зона					
Контроль	35,6±3,50	0,82±0,24	3,51±0,62	7,92±1,17	23±2,19
Ішемія-реперфузія	54±3,69*	2,78±0,36*	4,13±0,47	13±1,09*	34±2,55*
Діабет	11,7±1,14*	0,26±0,11*	0,24±0,10*	2,67±0,57*	8,51±1,66*
Діабет/ішемія-реперфузія	23±1,76 [#]	1,37±0,28 [#]	1,89±0,36 [#]	5,31±0,75 [#]	14,4±1,85 [#]

Примітки: достовірність змін щодо показників: * – у контрольних тварин; # – у тварин із цукровим діабетом.

Уміст білка Vcl-2 у тимоцитах щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом, ускладненим ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку (M ± m)

Група спостереження	Лімфо-бласти	Великі лімфоцити	Середні лімфоцити	Малі лімфоцити
Кіркова зона				
Контроль	<u>2,706±0,015</u> 0,693±0,011	<u>2,447±0,009</u> 0,639±0,008	<u>2,095±0,008</u> 0,591±0,005	<u>1,394±0,009</u> 0,499±0,003
Ішемія-реперфузія	<u>2,736±0,020</u> 0,723±0,017	<u>2,503±0,012*</u> 0,697±0,010*	<u>2,149±0,009*</u> 0,638±0,006*	<u>1,391±0,008</u> 0,520±0,003*
Діабет	<u>2,710±0,013</u> 0,699±0,009	<u>2,476±0,008*</u> 0,674±0,007*	<u>2,102±0,008</u> 0,597±0,004	<u>1,389±0,007</u> 0,503±0,002

Діабет та ішемія-реперфузія	<u>2,728±0,014</u>	<u>2,449±0,011</u>	<u>2,107±0,011</u>	<u>1,364±0,009[^]</u>
	0,708±0,015	0,644±0,009 [^]	0,591±0,007	0,493±0,002 [^]
Мозкова зона				
Контроль	<u>2,631±0,040</u>	<u>2,407±0,019</u>	<u>2,071±0,016</u>	<u>1,390±0,017</u>
	0,649±0,030	0,611±0,016	0,576±0,010	0,503±0,005
Ішемія-реперфузія	<u>2,778±0,030*</u>	<u>2,461±0,018*</u>	<u>2,148±0,014*</u>	<u>1,390±0,013</u>
	0,713±0,026	0,660±0,017*	0,637±0,010*	0,526±0,004*
Діабет	<u>2,737±0,049</u>	<u>2,422±0,018</u>	<u>2,090±0,013</u>	<u>1,358±0,014</u>
	0,713±0,033	0,640±0,014	0,581±0,007	0,493±0,004
Діабет та ішемія-реперфузія	<u>2,659±0,022</u>	<u>2,427±0,014</u>	<u>2,105±0,014</u>	<u>1,341±0,011</u>
	0,660±0,015	0,618±0,013	0,599±0,009	0,479±0,003 [^]

Примітки: у чисельнику – сумарний уміст білка Bcl-2; у знаменнику – питомих уміст білка Bcl-2 (на 1 мм²); достовірність змін щодо показників: * – у контрольних тварин; ^ – у тварин із цукровим діабетом.

Таблиця 11

Уміст білка p53 у тимоцитах щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом, ускладненим ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку (M ± m)

Група спостереження	лімфобласти	великі лімфоцити	середні лімфоцити	малі лімфоцити
Кіркова зона				
Контроль	<u>2,688±0,014</u>	<u>2,504±0,011</u>	<u>2,201±0,006</u>	<u>1,471±0,007</u>
	0,670±0,013	0,713±0,010	0,688±0,005	0,567±0,003
Ішемія-реперфузія	<u>2,623±0,025*</u>	<u>2,446±0,015*</u>	<u>2,052±0,011*</u>	<u>1,331±0,010*</u>
	0,582±0,021*	0,642±0,013*	0,568±0,007*	0,472±0,003*
Діабет	<u>2,715±0,016</u>	<u>2,496±0,012</u>	<u>2,143±0,010*</u>	<u>1,385±0,009*</u>
	0,698±0,012	0,698±0,011	0,617±0,006*	0,518±0,003*
Діабет та ішемія-реперфузія	<u>2,710±0,017</u>	<u>2,440±0,015[^]</u>	<u>2,077±0,013[^]</u>	<u>1,360±0,010[^]</u>
	0,636±0,013 [^]	0,634±0,014 [^]	0,574±0,006 [^]	0,479±0,003 [^]
Мозкова зона				
Контроль	<u>2,651±0,053</u>	<u>2,461±0,018</u>	<u>2,077±0,019</u>	<u>1,330±0,015</u>
	0,667±0,047	0,665±0,018	0,567±0,012	0,474±0,005
Ішемія-реперфузія	<u>2,736±0,018</u>	<u>2,487±0,015</u>	<u>2,150±0,010*</u>	<u>1,380±0,010*</u>
	0,735±0,016	0,698±0,013	0,643±0,007*	0,518±0,003*
Діабет	<u>2,627±0,080</u>	<u>2,397±0,064</u>	<u>2,061±0,019</u>	<u>1,375±0,022</u>

	0,600±0,084	0,572±0,044	0,564±0,011	0,481±0,006
Діабет та ішемія-реперфузія	<u>2,644±0,027</u>	<u>2,443±0,024</u>	<u>2,063±0,018</u>	<u>1,349±0,017</u>
	0,629±0,019	0,644±0,022	0,570±0,012	0,474±0,004

Примітки: у чисельнику – сумарний уміст білка p53; у знаменнику – питомий уміст білка p53 (на 1 мм²); достовірність змін щодо показників – * – у контрольних тварин; ^ – у тварин із цукровим діабетом.

Такі зміни обох чинників відбулися за рахунок усіх класів тимоцитів: щільність лімфобластів, великих, середніх, малих Vcl-2⁺- та p53⁺-лімфоцитів зменшилась у 2,0, 1,6, 1,5, 1,3, та в 4,0, 3,9, 6,0, 3,2 раза відповідно. Отже, в цілому депресія проапоптотичного чинника значно переважала над такою протиапоптотичного, що підтверджується результатами визначення вмісту відповідних білків (див. табл. 10, 11), які демонструють посилення експресії білка Vcl-2 у великих, середніх та малих тимоцитах при зниженні експресії білка p53 у всіх класах тимоцитів.

У кірковій зоні залози щурів із чотиримісячним ЦД сумарна щільність Vcl-2⁺-клітин зросла у 2,9 раза (щільність лімфобластів, великих, середніх та малих лімфоцитів зросла у 2,1, 2,2, 2,2, 3,5 раза відповідно), а p53-лімфоцитів – знизилася в 1,3 раза, винятково за рахунок середніх лімфоцитів. Унаслідок цього співвідношення p53⁺/Vcl-2⁺-лімфоцити склало 0,47.

За даних експериментальних умов уміст білка Vcl-2 зріс тільки у великих тимоцитах, а зниження вмісту білка p53 виявлено в середніх і малих. Отже, зазначені зміни про/антиапоптотичного потенціалу у тварин даної групи реалізуються, переважно, за рахунок змін кількості Vcl-2- та p53-позитивних тимоцитів і меншою мірою – за рахунок ступеня експресії відповідних білків.

У щурів із ЦД після ішемії-реперфузії головного мозку сумарна щільність Vcl-2⁺-лімфоцитів знизилася в 3,1 раза, а p53⁺-лімфоцитів – у 2,3 раза (лімфобластів, великих, середніх та малих тимоцитів – у 2,7, 2,9, 3,0, 3,2 раза відповідно для Vcl-2⁺ та в 1,4, 2,5, 2,2, 2,5 раза – для p53⁺). Отже, на відміну від контрольних тварин, в яких ішемія-реперфузія мозку суттєвіше знизилася сумарну щільність p53⁺-лімфоцитів, у щурів із ЦД за аналогічних умов кількісно переважало зниження сумарної щільності Vcl-2⁺-тимоцитів. Однак за рахунок тих змін, які виникли під впливом діабету, співвідношення p53⁺/Vcl-2⁺-лімфоцити становило 0,62, тобто, не відрізнялося від даного показника в контрольних тварин. Проте аналіз експресії відповідних білків дозволяє дійти висновку, що вагомніше пригнічуються апоптотичні процеси, оскільки зменшення вмісту білка p53 відбувається в усіх класах тимоцитів, а Vcl-2 – лише у великих та малих.

У мозковій зоні тимуса контрольних тварин співвідношення p53⁺/Vcl-2⁺-лімфоцити становило 0,97. У відповідь на ішемію-реперфузію мозку тут зросла сумарна щільність p53⁺-позитивних тимоцитів (в 1,5 раза) за рахунок збільшення щільності лімфобластів, середніх та

малих клітин у 3,4, 1,6, 1,5 раза при незмінній щільності Bcl-2⁺ тимоцитів, серед яких на дане втручання відреагували зниженням в 1,4 раза лише середні лімфоцити, що не вплинуло на сумарний показник. Співвідношення p53⁺/Bcl-2⁺-лімфоцити у тварин даної експериментальної групи становило 1,79, що мало б свідчити на користь посилення апоптозу. Однак аналіз вмісту білка Bcl-2 показав його зростання в усіх класах тимоцитів, а білка p53 – тільки в середніх і малих, що до деякої міри нівелює наслідки зростання щільності p53⁺-тимоцитів.

У даній зоні залози тварин із ЦД відбулося зниження в 3 рази сумарної щільності p53⁺-позитивних тимоцитів за рахунок лімфобластів, великих, середніх та малих клітин, щільність яких зменшилася в 3,2 раза, 15 разів, 3,0 та 2,7 раза відповідно. Щільність Bcl-2⁺-позитивних тимоцитів, як сумарна, так і в межах окремих класів, не відрізнялася від такої у тварин контрольної групи, за винятком зниження у 2,5 раза кількості лімфобластів. Отже, як і в кірковій зоні, у мозковій відбулося зниження потужності проапоптотичного чинника, про що свідчить також величина співвідношення p53⁺/Bcl-2⁺-лімфоцити, яка становила 0,34. Достовірних змін умісту білків Bcl-2 та p53 не виявлено в жодному класі тимоцитів. Таким чином, у тварин цієї експериментальної групи коливання про/антиапоптотичного потенціалу тимоцитів мозкової зони відбулися внаслідок змін сумарної кількості клітин, здатних до експресії того чи іншого маркера.

Така ж ситуація мала місце і в мозковій зоні тимуса щурів, яким на тлі діабету моделювали ішемію-реперфузію головного мозку – ступінь експресії білків у тимоцитах практично не змінився (за винятком експресії Bcl-2 в малих тимоцитах), однак щільність усіх класів Bcl-2⁺- та p53⁺-тимоцитів зросла порівняно з групою діабетичних тварин. При цьому сумарна щільність Bcl-2⁺-тимоцитів навіть перевищувала таку в контрольних тварин. У групі тварин із діабетом зростання сумарної щільності p53-лімфоцитів становило 2 рази, а лімфобластів, великих, середніх та малих клітин – 5,3, 8,2, 2,0, 1,7 раза відповідно. Приріст сумарної щільності Bcl-2⁺-тимоцитів склав 1,4 раза, зокрема, лімфобластів, великих та малих клітин – 5,7, 1,6, 1,5 раза відповідно.

Отже, реакція гена p53 в тимоцитах мозкової зони щурів із ЦД на ішемію-реперфузію головного мозку була схожою на таку в контрольних щурів. У той же час, незважаючи на відсутність змін щільності Bcl-2⁺-тимоцитів у відповідь на ішемію-реперфузію головного мозку в контрольних тварин, у щурів із діабетом відбулося зростання цього показника, за рахунок чого співвідношення p53⁺/Bcl-2⁺-лімфоцити (0,47), хоча й стало дещо вищим, ніж у тварин із діабетом, залишалось значно нижчим порівняно з показником у контрольних щурів. Таким чином, як і в кірковій зоні, зниження активності чинника, що забезпечує апоптоз, може бути ознакою погіршеної селекції тимоцитів і прояву автоімунного процесу.

У підтриманні нормального морфофункціонального стану будь-якого органу значна роль належить збалансованим взаємовідносинам процесів загибелі клітин та їх проліферації. Описані нами факти порушення про- та антиапоптотичного потенціалу тимоцитів за умов неповної

глобальної ішемії-реперфузії головного мозку, чотиримісячного ЦД їх поєднання обґрунтовує доцільність вивчення за цих умов активності мітотичних та синтетичних процесів у тимоцитах тварин зазначених експериментальних груп.

У контрольних щурів (табл. 12, 13) після ішемії-реперфузії головного мозку зріс як сумарний уміст білка PCNA, так і його концентрація у великих, середніх та малих тимоцитах кіркової зони.

Таблиця 12

Уміст білка PCNA в тимоцитах щурів із цукровим діабетом, ускладненим ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку (M ± m)

Група спостереження	Сумарний уміст PCNA		Уміст PCNA на 1 мкм ²	
	Кіркова зона	Мозкова зона	Кіркова зона	Мозкова зона
Лімфобласти				
Контроль	2,625±0,027	2,599±0,043	0,606±0,022	0,613±0,019
Ішемія-реперфузія	2,686±0,022	2,707±0,018*	0,679±0,012*	0,690±0,013*
Діабет	2,907±0,061*	2,731±0,028*	0,847±0,057*	0,707±0,028*
Діабет / ішемія-реперфузія	2,679±0,016^	2,614±0,029^	0,652±0,011^	0,623±0,027^
Великі лімфоцити				
Контроль	2,362±0,009	2,412±0,014	0,572±0,008	0,610±0,011
Ішемія-реперфузія	2,423±0,010*	2,470±0,009*	0,633±0,008*	0,679±0,008*
Діабет	2,465±0,028*	2,532±0,025*	0,679±0,026*	0,734±0,024*
Діабет / ішемія-реперфузія	2,410±0,008^	2,436±0,013^	0,616±0,007^	0,646±0,012^
Середні лімфоцити				
Контроль	2,034±0,004	2,039±0,007	0,566±0,002	0,575±0,004
Ішемія-реперфузія	2,069±0,004*	2,138±0,004*	0,611±0,003*	0,652±0,003*
Діабет	2,047±0,007	2,124±0,010*	0,597±0,004*	0,651±0,007*
Діабет / ішемія-реперфузія	2,057±0,004	2,089±0,007^	0,586±0,002	0,586±0,002^
Малі лімфоцити				
Контроль	1,457±0,004	1,452±0,007	0,544±0,002	0,536±0,002
Ішемія-реперфузія	1,496±0,004*	1,528±0,005*	0,580±0,002*	0,619±0,002*
Діабет	1,455±0,004	1,466±0,007	0,532±0,001*	0,570±0,002*
Діабет / ішемія-реперфузія	1,477±0,005^	1,463±0,009	0,531±0,001	0,536±0,003^

Примітки: * – достовірність змін щодо показників у контрольних тварин; ^ – у тварин із цукровим діабетом.

Таблиця 13

**Щільність PCNA⁺- клітин у тимусі щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом,
ускладненим ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку (M ± m)**

Група спостереження	Сумарна щільність PCNA ⁺ -клітин	PCNA ⁺ -лімфобласти	PCNA ⁺ -великі тимоцити	PCNA ⁺ -середні тимоцити	PCNA ⁺ -малих тимоцити
Кіркова зона					
Контроль	1078±19	9,56±1,56	27,30±1,73	226,5±9,6	812,5±23,5
Ішемія-реперфузія	1167±15*	11,1±1,33	32,1±2,05	278±7,50*	842±14,0
Діабет	1150±18*	3,16±0,54*	13,20±1,87*	161,8±6,49*	996,0±20,3*
Діабет та ішемія-реперфузія	1079±13 [^]	12,70±1,73 [^]	42,48±3,10 [^]	326,4±8,96 [^]	696,1±12,8 [^]
Медулярна зона					
Контроль	874,4±25,4	4,48±1,61	19,93±3,24	207,8±10,4	637,2±23,4
Ішемія-реперфузія	1018±16*	18,90±1,89*	44,76±2,94*	338,9±8,28*	609,6±14,6
Діабет	797,0±22,4*	12,6±2,47*	28,93±3,34*	191,3±9,78	563,3±24,2*
Діабет та ішемія-реперфузія	804,8±22,2	15,36±2,66 [^]	53,30±3,86	269,4±10,4 [^]	462,9±18,4 [^]

Примітки: * – достовірність змін щодо показників у контрольних тварин; [^] – у тварин із цукровим діабетом

Це можна розцінити як посилення мітотичних процесів у даних клітинах тимуса, що підтверджується і зростанням у залозі тварин даної експериментальної групи сумарної щільності розташування PCNA⁺-тимоцитів, яке відбулося, переважно, за рахунок середніх лімфоцитів.

Чотиримісячний ЦД, судячи зі зростання вмісту білка PCNA, посилив проліферативні процеси в лімфобластах, великих та середніх тимоцитах кіркової зони, проте в малих тимоцитах, найбільш зрілих та функціонально активних, концентрація PCNA знизилася. Однак, незважаючи на те, що сумарна щільність PCNA⁺-тимоцитів у щурів із ЦД зросла, щільність PCNA⁺-лімфобластів, великих та середніх тимоцитів достовірно знизилася. Зростання сумарної кількості відбулося суто за рахунок малих тимоцитів, однак якщо брати до уваги, що вміст білка PCNA у клітинах цього класу знизився, у цілому, активність проліферативних процесів також зменшується. Підвищення ж сумарної щільності PCNA⁺-тимоцитів можна розглядати як компенсаторну реакцію залози на пригнічення мітотичних процесів.

У тварин із ЦД після ішемії-реперфузії головного мозку в лімфобластах і великих тимоцитах знизився сумарний вміст та концентрація білка PCNA, що в цілому говорить про

пригнічення проліферативних процесів. Сумарна щільність PCNA⁺-timoцитів та щільність PCNA⁺-малих клітин у тварин даної групи знижується, однак щільність PCNA⁺-лімфобластів, великих та середніх тимоцитів зростає. Можна думати, що пригнічення експресії білка PCNA у всіх класах тимоцитів компенсується зростанням їх щільності, однак на етапі досягнення зрілості кількість проліферуючих тимоцитів різко зменшується.

У мозковій зоні тимуса контрольних тварин після ішемії-реперфузії головного мозку в усіх класах тимоцитів сумарний уміст та концентрація білка PCNA зросли, що узгоджується зі зростанням як сумарної щільності PCNA⁺ тимоцитів, так і всіх класів клітин, за винятком малих, і свідчить про посилення їх проліферативної активності. Практично такі ж зміни вмісту білка PCNA виявлено в даній зоні щурів із ЦД. Аналіз структури класів тимоцитів у тварин даної групи показав зниження кількості малих PCNA⁺-timoцитів при одночасному зростанні числа малих та середніх клітин, яке, однак, не запобігало зниженню сумарної кількості PCNA⁺-лімфоцитів. Отже, ситуація в цій зоні залози за умов ЦД дещо протилежна тій, яка у тварин даної експериментальної групи мала місце в кірковій зоні – тут зниження загальної кількості проліферуючих тимоцитів певним чином нівелюється посиленням експресії білка PCNA в усіх класах клітин.

Ішемія-реперфузія мозку на тлі ЦД сумарну кількість PCNA⁺-timoцитів не змінює, однак суттєво знижує кількість малих PCNA⁺-timoцитів. Хоча при цьому зростає кількість усіх інших PCNA⁺-класів клітин, проте експресія білка PCNA в усіх класах тимоцитів знижується. Отже, сумарна оцінка даних при поєднанні ЦД та ішемії-реперфузії мозку дозволяє говорити про пригнічення проліферативної активності тимоцитів, особливо зрілих, функціонально активних.

Вивчення впливу ішемії-реперфузії головного мозку на вміст клітинної РНК у тимоцитах показав, що в контрольних щурів дане втручання підвищує її концентрацію в лімфобластах, великих, середніх та малих лімфоцитах кіркової зони тимуса (табл. 14).

Таблиця 14

Уміст РНК у тимоцитах щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом, ускладненим ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку (M ± m)

Група спостереження	Кіркова зона	Мозкова зона
Лімфобласти		
Контроль	0,262±0,003	0,241±0,004
Ішемія-реперфузія	0,345±0,010***	0,277±0,009**
Діабет	0,297±0,010**	0,231±0,004
Діабет та ішемія-реперфузія	0,378±0,013^^^	0,263±0,009^
Великі лімфоцити		
Контроль	0,291±0,001	0,295±0,002

Ішемія-реперфузія	0,425±0,002***	0,387±0,003***
Діабет	0,335±0,003***	0,282±0,002**
Діабет та ішемія-реперфузія	0,433±0,003^^^	0,399±0,003^^^
Середні лімфоцити		
Контроль	0,310±0,001	0,320±0,001
Ішемія-реперфузія	0,464±0,002***	0,435±0,002***
Діабет	0,346±0,001***	0,319±0,001
Діабет та ішемія-реперфузія	0,451±0,002^^^	0,432±0,002^^^
Малі лімфоцити		
Контроль	0,305±0,002	0,318±0,003
Ішемія-реперфузія	0,442±0,004***	0,389±0,004***
Діабет	0,346±0,002***	0,301±0,002**
Діабет та ішемія-реперфузія	0,457±0,003^^^	0,379±0,005^^^

Примітки: достовірність змін щодо показників у контрольних тварин –* p<0,01, ** p<0,005, ***p<0,001; достовірність змін щодо показників у тварин із діабетом –^ p<0,01, ^^ p<0,005, ^^ p<0,001.

Подібний вплив у даному відділі тимуса справляв і ЦД, однак в усіх досліджених класах клітин приріст вмісту РНК був суттєво нижчим порівняно з тим, що мав місце після ішемії-реперфузії головного мозку в контролі. Такі однозначно спрямовані зміни вмісту РНК у тимоцитах, за умов дії якісно різних чинників, наводять на думку про неспецифічність даної реакції.

Двобічна каротидна ішемії-реперфузія в щурів із ЦД підвищила концентрацію клітинної РНК практично до тих же рівнів, що й у контрольних щурів за даного втручання. Проте, беручи до уваги, що це зростання мало місце на тлі вищого, ніж у контрольних тварин, вмісту РНК у клітинах, можна думати про нижчу реактивність клітин тимуса до ішемії-реперфузії за умов ЦД. Якщо зміни вмісту РНК в усіх класах тимоцитів мозкової зони на ішемію-реперфузію головного мозку в контрольних щурів нагадували такі в кірковій зоні, то ЦД знизив концентрацію клітинної РНК у великих і малих тимоцитах, не вплинувши на цей показник в інших класах. Незважаючи на нижчі вихідні показники у тварин із діабетом, ішемія-реперфузія головного мозку спричинила зростання вмісту РНК в усіх класах клітин практично до показників, що мали місце за подібного втручання в контрольних щурів.

Отже, сукупний аналіз результатів впливу ЦД та каротидної ішемії-реперфузії на вміст РНК у тимоцитах свідчить, що його зміни в кірковій зоні не залежать від характеру втручання, а отже, носять неспецифічний характер. У той же час, у мозковій зоні тимуса ефекти ЦД та ішемії-

реперфузії на вміст РНК різноспрямовані.

Зважаючи на роль порожнинної та мукозної мікрофлори тонкої кишки у формуванні системних імунних реакцій (А.И. Хавкин, 2003; Q.H. Liang et al., 2004) можна очікувати на її участь у виникненні імунної дизрегуляції за умов ЦД, ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку та їх поєднання, у зв'язку з чим нами було визначено вплив цих експериментальних моделей на якісний та кількісний склад мікробіоти загального препарату тонкої кишки.

Встановлено, що поєднання ЦД з ішемією-реперфузією головного мозку значно поглиблює зміни видового складу мікробіоти загального препарату тонкої кишки, наявні у тварин із діабетом, за рахунок елімінації з тонкої кишки біфідобактерій, лактобактерій, еубактерій, пептострептококів, ентерококів, аеробних стрептобацил та контамінації тонкої кишки умовно патогенними ентеробактеріями, пептококом, бактеріями роду *Clostridium*, стафілококом та дріжджоподібними грибами роду *Candida*, які стають константними представниками в мікробіоті тонкої кишки.

Оцінка ступеня дисбіотичних порушень за даних умов показала, що за популяційним рівнем, коефіцієнтом кількісного домінування та коефіцієнтом значущості домінуючими бактеріями в екологічній системі мікробіоти тонкої кишки в щурів із ЦД, поєднаним з ішемією головного мозку, є автохтонні факультативні умовно патогенні бактероїди, клостридії, пептокок, кишкова паличка, умовно патогенні ентеробактерії (протеї та клебсієли), стафілокок. Незначну роль у мікробіоценозі тонкої кишки відіграють аеробні грампозитивні стрептобацили (транзиторні бактерії), дріжджоподібні гриби роду *Candida*, а також автохтонні облигатні найбільш фізіологічно корисні біфідобактерії та лактобактерії.

Таким чином, ішемія-реперфузія головного мозку, виконана на тлі ЦД, порушує мікроекологію тонкої кишки, що проявляється глибоким дисбалансом як якісного, так і кількісного складу автохтонних облигатних факультативних умовно патогенних бактерій, а також алохтонних представників мікробіоти тонкої кишки, які транслюкуються з інших джерел умовно патогенних ентеробактерій, пептокока, клостридій та дріжджоподібних грибів роду *Candida*. Сформований дисбаланс якісного і кількісного складу обумовлює розвиток кишкового дисбактеріозу, для якого характерним є елімінація або виражений дефіцит автохтонних облигатних найбільш фізіологічно корисних біфідобактерій, лактобактерій, ентерококів та пептострептококів.

Сукупний аналіз отриманих результатів свідчить, що прояви дизрегуляції імунних показників за умов ішемії-реперфузії головного мозку в контрольних щурів, чотиримісячного цукрового діабету та поєднання цих патологічних станів за деякими показниками характеризуються індивідуальними рисами, проте за іншими – мають лише кількісні відмінності. Спільні прояви імунної дисфункції у контрольних тварин після ішемії-реперфузії головного мозку

та щурів із цукровим діабетом ми можемо пояснити тим, що, як свідчать наведені вище дані, ішемічно-реперфузійне пошкодження головного мозку в експерименті призводить до морфофункціональних змін острівців підшлункової залози, хоча й менш суттєвих, ніж за умов експериментального цукрового діабету, однак якісно дуже подібних. У цілому, можна зазначити, що виявлені порушення є наслідком модифікації як внутрішньотимічних взаємовідносин досліджуваних показників (між кірковою і мозковою зонами, а також між різними класами тимоцитів, ідентичних за антигенними детермінантами у межах кожної зони), що призводить до структурно-функціональної тимічної дезінтеграції, так і системних параметрів функціонального стану імунної системи.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення та експериментальне вирішення наукової проблеми – з'ясування патогенезу імунологічної дизрегуляції за умов ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку на тлі цукрового діабету, що дозволяє поглибити розуміння перебігу судинних ускладнень останнього з метою подальшої розробки ефективної стратегії їх запобігання та патогенетичного лікування.

1. На 12 добу після ішемії-реперфузії головного мозку в сироватці крові контрольних щурів підвищується вміст циркулюючих імунних комплексів, фагоцитарний індекс і фагоцитарне число на 35, 21 та 23 % відповідно ($p < 0,05$). Чотиримісячний цукровий діабет збільшує рівень циркулюючих імунних комплексів на 78 % ($p < 0,005$) на тлі незмінних показників функціональної активності нейтрофілів, а ішемія-реперфузія мозку у тварин із діабетом знижує рівень циркулюючих імунних комплексів порівняно з показником при діабеті на 19 % ($p < 0,05$).

2. Ішемія-реперфузія головного мозку в контрольних щурів достовірно зменшує в підшлунковій залозі щільність розташування β -клітин, гігантських острівців, спричиняє появу поодиноких β -клітин при збільшенні щільності малих острівців, а також знижує вміст інсуліну в усіх типах острівців. Цукровий діабет призводить до чотирикратного зниження в підшлунковій залозі щільності β -клітин, зникнення гігантських острівців, збільшення щільності малих острівців та появи поодиноких β -клітин, зменшує всі показники інсулінпродукувальної функції острівців. Ішемія-реперфузія головного мозку у тварин із діабетом поглиблює зміни щільності острівців, проте не впливає на вміст у них інсуліну, що свідчить про виснаження резервів залози основним захворюванням.

3. У контрольних щурів ішемія-реперфузія головного мозку достовірно знижує щільність у тимусі інсулін-імунопозитивних макрофагів та неідентифікованих клітин (в 1,5 та 1,4 раза відповідно), концентрацію в останніх інсуліну (на 10 %) та підвищує вміст гормону в тимічних макрофагах (на 11 %). Цукровий діабет достовірно зменшує кількість неідентифікованих інсулін-

імунопозитивних клітин (на 32 %) та підвищує концентрацію інсуліну в усіх досліджених типах клітин, а ішемія-реперфузія у тварин даної групи знижує концентрацію інсуліну в усіх типах інсулін-імунопозитивних клітин, що демонструє можливість специфічних для кожної патології порушень презентації інсуліну в тимусі.

4. Чотиримісячний цукровий діабет та ішемія-реперфузія головного мозку у тварин контрольної групи достовірно зменшують сумарну щільність МНС- II^+ -клітин за рахунок МНС- II^+ -макрофагів, МНС- II^+ -В-лімфоцитів та МНС- II^+ -дендритних клітин. На 12 добу після ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку у тварин із цукровим діабетом зростає щільність МНС- II^+ -В-лімфоцитів. Ішемія-реперфузія головного мозку в контрольних щурів і тварин із діабетом достовірно підвищує щільність у тимусі МНС- II рецепторів макрофагів, В-лімфоцитів та дендритних клітин, а цукровий діабет – МНС- II рецепторів В-лімфоцитів та дендритних клітин.

5. Сукупна оцінка сумарної щільності CD4^+ і CD8^+ тимоцитів, щільності їх субпопуляцій та рецепторів свідчить про пригнічення супресорної функції за умов цукрового діабету та ішемії-реперфузії головного мозку в контрольних щурів і тварин із цукровим діабетом. У кірковій зоні тимуса щурів із цукровим діабетом ішемія-реперфузія мозку поглиблює дефіцит супресорної функції, спричинений діабетом, переважно за рахунок змін щільності клітин, а в мозковій зоні – за рахунок порушення щільності їх рецепторів.

6. За співвідношенням змін щільності p53^+ і Bcl-2^+ -тимоцитів та вмістом у них відповідних білків у щурів із цукровим діабетом, а також у контрольних тварин та щурів із діабетом після ішемії-реперфузії головного мозку антиапоптотична активність значно переважає над проапоптотичною, особливо в кірковій зоні залози, що створює дефіцит апоптозу тимоцитів.

7. У контрольних щурів ішемія-реперфузія головного мозку посилює проліферативну активність усіх досліджених класів тимоцитів кіркової та мозкової зон залози за рахунок зростання як щільності PCNA^+ -тимоцитів, так і вмісту білка PCNA . Ішемія-реперфузія головного мозку у тварин із цукровим діабетом зменшує вміст білка PCNA в усіх класах клітин лімфоїдної популяції мозкової зони тимуса та в лімфобластах і великих лімфоцитах – кіркової, що на тлі зниження сумарної кількості PCNA^+ -клітин у кірковій зоні та малих PCNA^+ -тимоцитів – у кірковій і мозковій свідчить про пригнічення проліферації найбільш зрілих функціонально активних класів клітин.

8. У кірковій зоні тимуса цукровий діабет та ішемічно-реперфузійне пошкодження головного мозку в контрольних щурів і тварин із цукровим діабетом посилюють синтез РНК в лімфобластах, великих, середніх та малих тимоцитах. Цукровий діабет знижує вміст клітинної РНК у тимоцитах мозкової зони. Ішемія-реперфузія головного мозку підвищує вміст РНК у всіх класах тимоцитів даної зони контрольних щурів та тварин із цукровим діабетом.

9. У щурів із поєднанням цукрового діабету та ішемії-реперфузії головного мозку

формується дисбактеріоз тонкої кишки з елімінацією або вираженим дефіцитом автохтонних облигатних найбільш фізіологічно корисних біфідобактерій, лактобактерій, ентерококів та пептострептококів, зростанням популяційного рівня умовно патогенних ентеробактерій (кишкові палички), стафілококів, бактероїдів та контамінацією тонкої кишки умовно патогенними ентеробактеріями (клебсієлами, протейями), бактеріями роду *Clostridium*, пептококом та дріжджоподібними грибами роду *Candida*.

10. Сукупний аналіз отриманих результатів свідчить про наявність за використаних експериментальних моделей як неспецифічних проявів імунної дисфункції, так і специфічних, притаманних ішемії-реперфузії головного мозку, цукровому діабету та їх поєднанню, оснований на відмінностях презентації периферичних антигенів у тимусі, особливостях дезінтеграції внутрішньотимічних взаємовідносин досліджених чинників і системних імунних механізмів.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Ткачук О. В. Ранні зміни обмеженої тканинної протеолітичної активності в структурах мозку щурів при поєднаній дії стрептозотоцин-індукованого діабету та неповної глобальної ішемії головного мозку / О. В. Ткачук // Клінічна та експериментальна патологія. – 2009. – Т. VIII, № 2 (28). – С. 72–75.

2. Ткачук О. В. Церебральна реакція системи ліпопероксидація-антиоксидантний захист на двобічну каротидну ішемію-реперфузію в щурів зі стрептозотоцин-індукованим цукровим діабетом / О. В. Ткачук // Клінічна та експериментальна патологія. – 2009. – Т. VIII, № 3 (29). – С. 105–108.

3. Ткачук О. В. Диференціація лімфоцитів у тимусі щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом, ускладненим ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку / О. В. Ткачук // Клінічна та експериментальна патологія. – 2010. – Т. IX, № 1 (31). – С. 77–81.

4. Ткачук О. В. Участь антигенпрезентуючих клітин в реакції тимуса на ішемію-реперфузію головного мозку в щурів зі стрептозотоциніндукованим цукровим діабетом / О. В. Ткачук // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2010. – № 2 (13). – С. 87–90.

5. Ткачук О. В. Структура популяції $V\alpha 1-2^+$ -лімфоцитів у тимусі щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом, ускладненим ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку / О. В. Ткачук // Клінічна та експериментальна патологія. – 2010. – Т. IX, № 2 (32). – С. 107–110.

6. Ткачук О. В. Мікробна екологія загального препарату (порожнинної та мукозної мікрофлори) тонкої кишки в щурів зі стрептозотоциніндукованим цукровим діабетом / О. В. Ткачук, І. Й. Сидорчук // Клінічна та експериментальна патологія. – 2010. – Т. IX, № 4 (34). – С. 106–109. (Здобувач самостійно провів експериментальне втручання, забір матеріалу, статистичну обробку, підготовку матеріалів до друку).

7. Морфологічний стан острівців підшлункової залози у віддаленому періоді ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку контрольних щурів та щурів зі стрептозотоцин-індукованим цукровим діабетом / О. В. Ткачук, В. П. Пішак, О. М. Леньков, І. Р. Тимофійчук, В. Ф. Мислицький // Клінічна та експериментальна патологія. – 2011. – Т. X, № 1 (35). – С. 152–155. (Здобувач самостійно провів експериментальне втручання, гістологічну проводку, статистичну обробку, підготовку матеріалів до друку).

8. Ткачук О. В. Мікробна екологія загального препарату (порожнинної та мукозної мікробіоти) тонкої кишки в щурів із відстроченими наслідками ішемії-реперфузії головного мозку / О. В. Ткачук, І. Й. Сидорчук // Перспективи медицини та біології. – 2011. – Т. III, № 1. – С. 105–109. (Здобувач самостійно здійснив дослідження, статистичну обробку, підготовку матеріалів до друку).

9. Ткачук О. В. Експресія CD-рецепторів у субпопуляціях CD4⁺ та CD8⁺-лімфоцитів тимуса щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом, ускладненим ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку / О. В. Ткачук // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2011. – № 1 (14). – С. 88–91.

10. Ткачук О. В. Якісний і кількісний склад мікрофлори загального препарату тонкої кишки у тварин із поєднаним впливом стрептозотоцин-індукованого діабету та ішемії-реперфузії головного мозку / О. В. Ткачук // Актуальні проблеми сучасної медицини. Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2011. – Т. 11, вип. 2 (34). – С. 87–90.

11. Ткачук О. В. Реакція інсулін-експресуючих клітин тимуса на неповну глобальну ішемію-реперфузію головного мозку в контрольних щурів та тварин із експериментальним цукровим діабетом / О. В. Ткачук // Клінічна та експериментальна патологія. – 2011. – Т. X, № 2 (36, ч.1). – С. 102–105.

12. Ткачук О. В. Вплив ішемії-реперфузії головного мозку на проліферативну активність тимоцитів у щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом / О. В. Ткачук // Патологія. – 2011. – Т. 8, № 2. – С. 26–29.

13. Ткачук О. В. Морфофункціональний стан острівців підшлункової залози щурів із поєднаним впливом цукрового діабету та ішемії-реперфузії головного мозку / О. В. Ткачук // Буковинський медичний вісник. – 2011. – Т. 15, № 3 (59). – С. 102–104.

14. Ткачук О. В. Структура лімфоїдної популяції тимуса щурів зі стрептозотоцин-індукованим цукровим діабетом, ускладненим ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку / О. В. Ткачук // Клінічна та експериментальна патологія. – 2011. – Т. X, № 3 (37). – С. 133–138.

15. Ткачук О. В. Морфометрична характеристика тимоцитів у щурів із цукровим діабетом, ускладненим ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку / О. В. Ткачук // Клінічна

анатомія та оперативна хірургія. – 2011. – Т. 10, № 3 (37). – С. 34–37.

16. Ткачук О. В. Уміст РНК у тимоцитах щурів зі стрептозотоцин-індукованим цукровим діабетом, ускладненим ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку / О. В. Ткачук // Актуальні проблеми сучасної медицини. Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2011. – Т. 11, вип. 4 (36), ч. 2. – С. 165–168.

17. Ткачук О. В. Циркуючі імунні комплекси та окремі показники неспецифічної резистентності в щурів зі стрептозотоцин-індукованим цукровим діабетом, ускладненим ішемією-реперфузією головного / О. В. Ткачук // Перспективи медицини та біології. – 2011. – Т. III, № 2. – С. 77–81.

18. Ткачук О. В. Вплив неповної глобальної ішемії-реперфузії головного мозку на інсулінпродукуючу функцію підшлункової залози в контрольних щурів та щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом / О. В. Ткачук // Клінічна та експериментальна патологія. – 2011. – Т. X, № 4 (38). – С. 93–97.

19. Ткачук О. В. Структура популяції PCNA⁺-лімфоцитів у тимусі щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом, ускладненим ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку / О. В. Ткачук // Буковинський медичний вісник. – 2011. – Т. 15, № 4 (60). – С. 98–101.

20. Ткачук О. В. Вплив стрептозотоциніндукованого діабету та неповної глобальної ішемії мозку на апоптоз у тимусі щурів / О. В. Ткачук // Фізіологічний журнал. – 2011. – Т. 57, № 6. – С. 58-64.

21. Ткачук О. В. Вплив поєднаної дії стрептозотоцин-індукованого діабету та ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку на структуру популяції p53⁺-лімфоцитів у тимусі щурів / О. В. Ткачук // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2009. – Т. 4, № 3. – С. 67–71.

22. Пат. 58384 України, МПК G 01 N 33/48, G 09 B 23/28. Спосіб діагностики ішемічно-реперфузійного ураження головного мозку в щурів при цукровому діабеті / С. С. Ткачук, О. М. Леньков, О. В. Ткачук, В. П. Гавалешко, А. А. Галагідина ; власник Буковинський державний медичний університет. – № u2010 11448 ; заявл. 27.09.2010 ; опубл. 11.04.2011, Бюл. № 7. (Ідея належить здобувачу, особисто проведені експерименти).

23. Ткачук О. В. Вплив неповної глобальної ішемії мозку на морфофункціональний стан острівців підшлункової залози / О. В. Ткачук, О. М. Леньков // Сучасні тенденції розвитку медицини, ветеринарії та фармакології : V Міжнародна науково-практична конференція, Одеса, Лондон, 26 травня – 2 червня 2011 р. : зб. матеріалів конф. – Odessa : InPress, 2011. – С. 13–14. (Здобувач самостійно здійснив дослідження, статистичну обробку, підготовку статті до друку).

24. Ткачук О. В. Структура популяції Vcl-2⁺-лімфоцитів у тимусі щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом при неповній глобальній ішемії мозку / О. В. Ткачук // Здобутки клінічної та експериментальної медицини : наук.-практ. конф., 4 червня 2009 р. : матеріали конф. – Тернопіль :

ТДМУ «Укрмедкнига», 2009. – С. 152.

25. Леньков О. М. Морфологічна реакція кори головного мозку на поєднану дію стрептозотоцинового цукрового діабету та двобічної каротидної ішемії в самців-щурів / О. М. Леньков, О. В. Ткачук // Морфологічний стан тканин і органів систем організму в нормі та патології : науково-практична конференція, 10-11 червня 2009 р. : зб. матеріалів конф. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2009. – С. 107–108. (Здобувач самостійно провів експериментальне втручання, гістологічну проводку, підготовку матеріалів до друку).

26. Ткачук О. В. Ультраструктурні зміни в лобовій та потиличній частках кори, індуковані неповною глобальною ішемією головного мозку в самців-щурів зі стрептозотоциновим цукровим діабетом / О. В.Ткачук, О. М. Леньков // Морфологічний стан тканин і органів систем організму в нормі та патології : науково-практична конференція, 10-11 червня 2009 р. : зб. матеріалів конф. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2009. – С. 177–178. (Здобувач самостійно провів експериментальне втручання, гістологічну проводку, підготовку матеріалів до друку).

27. Леньков О. М. Вплив двобічної каротидної ішемії-реперфузії на прооксидантно-антиоксидантний стан у корі головного мозку і гіпокампі за умов цукрового діабету в самців-щурів / О. М. Леньков, О. В. Ткачук, А. А. Галагідина // Актуальні проблеми сучасної медицини : П (63) Міжнародний конгрес студентів і молодих вчених : матеріали конгресу. – Київ, 2009. – С. 380–381. (Здобувачем самостійно здійснено експериментальне втручання, статистичну обробку, підготовку матеріалів до друку).

28. Ткачук О. В. Диференціація CD4+ та CD8+ тимоцитів у щурів із поєднаним впливом цукрового діабету та ішемії-реперфузії головного мозку / О.В.Ткачук // Довкілля і здоров'я : Всеукраїнська науково-практична конференція, 20-21 квітня 2010 р. : матеріали конф. – Тернопіль : ТДМУ «Укрмедкнига», 2010. – С. 122.

29. Пішак В. П. Реакція антиген-презентуючих клітин тимуса на неповну глобальну ішемію головного мозку в щурів зі стрептозотоциновим цукровим діабетом / В. П. Пішак, О. В. Ткачук // Фізіологічний журнал / 18 з'їзд Українського фізіологічного товариства, Одеса, 20-22 травня 2010 р. : матеріали з'їзду. – 2010. – Т. 56, № 2. – С. 46–47. (Здобувач самостійно провів експериментальне втручання, статистичну обробку, підготовку матеріалів до друку).

30. Модифицирующее влияние сахарного диабета на нейроиммунные взаимоотношений у крыс с ишемически-реперфузионным повреждением головного мозга / А. В. Ткачук, В. П. Пишак, В. Ф. Мыслицкий, Е. В. Ясинская // Нейроэндокринология – 2010 : VII Всероссийская конференция : материалы конф. – Санкт-Петербург, 2010. – С. 33. (Здобувач самостійно провів експериментальне втручання, підготовку матеріалів до друку).

31. Ткачук О. В. Співідношення про- та антиапоптотичних механізмів у тимусі щурів із поєднаним впливом цукрового діабету та неповної глобальної ішемії мозку / О. В. Ткачук //

Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм : 3-я науково-практична конференція присвячена 100-річчю з дня народження проф. Е. Н. Бергера, 4-5 листопада 2010 р. : матеріали конф. – Тернопіль : ТДМУ «Укрмедкнига», 2010. – С. 147.

32. Ткачук О. В. Вплив стрептозотоциніндукованого цукрового діабету на стан мікробіоти порожнинної та мукозної мікрофлори тонкої кишки щурів / О. В. Ткачук // Довкілля і здоров'я : Всеукраїнська науково-практична конференція, 22 квітня 2011 р. : матеріали конф. – Тернопіль : ТДМУ «Укрмедкнига», 2011. – С. 128.

33. Ткачук О. В. Мікробна екологія порожнинної та мукозної мікробіоти тонкої кишки в щурів зі стрептозотоцин-індукованим цукровим діабетом / О. В. Ткачук, В. Ф. Мислицький, О. М. Леньков // Карпатська конференція з проблем охорони довкілля : Міжнародна науково-практична конференція, 15-18 травня 2011 р. : тези доп. – Мукачево-Ужгород, 2011. – С. 398. (Здобувач самостійно провів експериментальне втручання, підготовку матеріалів до друку).

34. Ткачук О. В. Влияние ишемически-реперфузионного повреждения головного мозга на морфофункциональное состояние островков поджелудочной железы контрольных крыс и крыс со стрептозотоцин-индуцированным диабетом / О. В. Ткачук, О. М. Леньков, С. С. Ткачук, В. Ф. Мыслицкий // Научные труды III съезда физиологов СНГ, 1-6 октября 2011 г. – Москва-Ялта : Медицина-Здоровье, 2011. – С. 164. (Здобувач самостійно провів експериментальне втручання, підготовку матеріалів до друку).

35. Ткачук О. В. Модифікуючий вплив стрептозотоцин-індукованого діабету, ускладненого ішемією-реперфузією головного мозку, на фенотип мікробіоценозу загального препарату тонкої кишки / О. В. Ткачук // Клінічна та експериментальна патологія / Актуальні питання медичної мікології : матеріали науково-практичної конференції, 11 листопада 2011 року – Чернівці, 2011. – Т. X, №4(38). – С. 198.

АНОТАЦІЯ

Ткачук О.В. Патогенез імунних порушень у щурів зі стрептозотоцин-індукованим цукровим діабетом, ускладненим ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. – Державний вищий навчальний заклад “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України”, Тернопіль, 2012.

У дисертації представлено результати дослідження патогенезу імунної дисфункції, яка виникає в самців-щурів з експериментальним цукровим діабетом, ускладненим ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку. Проведені дослідження показали наявність

спільних і відмінних механізмів розвитку імунних порушень, спричинених ішемією-реперфузією головного мозку, цукровим діабетом та поєднанням ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку й діабету. Встановлено, що дефіцит супресорної функції, визначений за змінами щільності CD4+ і CD8+ тимоцитів та їх рецепторів у тварин зазначених експериментальних груп, виникає за рахунок різних механізмів. Уперше показано що чотиримісячний цукровий діабет, а також ішемія-реперфузії головного мозку в контрольних тварин та щурів із діабетом характеризуються зміщенням про-/антиапоптотичних взаємовідносин у бік переважання антиапоптотичної складової, однак за ступенем експресії ядерного антигена клітинної проліферації PCNA дефіцит апоптозу тимоцитів при ішемії-реперфузії головного мозку в контрольних щурів виникає на тлі посилення їх проліферативної активності, а у тварин із цукровим діабетом – на тлі пригнічення проліферації найбільш зрілих функціонально активних класів клітин. У тварин усіх експериментальних груп формується дисбактеріоз тонкої кишки з найбільшою вираженістю при поєднанні діабету та ішемії-реперфузії головного мозку. Наявність спільних проявів імунної дисфункції за різних експериментальних втручань можна пояснити тим, що ішемія-реперфузія головного мозку в щурів без діабету спричиняє деструктивні зміни панкреатичних острівців, подібні, хоча й менш суттєві, ніж у щурів із цукровим діабетом. Наявність специфічних імунологічних порушень за умов цукрового діабету, ішемії-реперфузії головного мозку в контрольних щурів та тварин із цукровим діабетом підтверджується модифікацією щільності та функціональної активності різних класів антигенпрезентувальних клітин тимуса.

Ключові слова: цукровий діабет, ішемія-реперфузія головного мозку, імунна дисфункція.

АННОТАЦІЯ

Ткачук А.В. Патогенез імунних порушень у крыс со стрептозотоцин-індуцированным сахарным диабетом, осложненным ишемически-реперфузионным повреждением головного мозга. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.04 – патологическая физиология. – Государственное высшее учебное заведение «Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского Министерства здравоохранения Украины», Тернополь, 2012.

В диссертации представлены результаты исследования патогенеза иммунной дисфункции у самцов крыс с экспериментальным сахарным диабетом, осложненным ишемически-реперфузионным повреждением головного мозга.

Сахарный диабет моделировали путем однократного внутрибрюшного введения стрептозотоцина (60 мг на 1 кг массы тела) двухмесячным самцам крыс. По достижении

шестимесячного возраста у части крыс с диабетом и контрольных крыс того же возраста моделировали неполную глобальную ишемию-реперфузию головного мозга 20-минутной двусторонней окклюзией сонных артерий с дальнейшей реперфузией. Крыс выводили из эксперимента на 12-е сутки постишемического периода. Для верификации повреждения структур мозга исследовали патобиохимические и патоморфологические изменения нервной ткани. Анализировали также влияние диабета, ишемии-реперфузии головного мозга и их сочетания на морфофункциональное состояние поджелудочной железы, тимуса, уровни циркулирующих иммунных комплексов, показатели их элиминации и микробиоценоз тонкой кишки.

Установлено, что неполная глобальная ишемия-реперфузия головного мозга с последующей реперфузией у контрольных крыс приводит к изменениям морфофункционального состояния панкреатических островков, подобным тем, которые имеют место у крыс с сахарным диабетом, однако, менее существенным, что свидетельствует о возможных морфологических истоках гипергликемии, возникающей при ишемических повреждениях мозга. У крыс с диабетом ишемия-реперфузия головного мозга усиливает последствия последнего за счет уменьшения общего количества инсулинпродуцирующих элементов железы, не влияя, однако, на содержание в них инсулина. Показано, что у контрольных крыс повышение уровня циркулирующих иммунных комплексов после ишемии-реперфузии головного мозга сопровождается усилением их элиминации за счет возрастания функциональной активности нейтрофилов, а у животных с сахарным диабетом, неосложненным и осложненным ишемией-реперфузией мозга, элиминация циркулирующих иммунных комплексов замедлена. Впервые продемонстрировано, что сахарный диабет, а также ишемия-реперфузия головного мозга у контрольных крыс и крыс с сахарным диабетом нарушают процессы презентации антигенов в тимусе, однако за счет модификации числа и функциональной активности разных типов антигенпрезентирующих клеток. Путем определения плотности расположения $CD4^+$ и $CD8^+$ тимоцитов и их рецепторов обнаружен дефицит супрессорной функции у животных с сахарным диабетом, неосложненным и осложненным ишемией-реперфузией головного мозга. Впервые показано, что четырехмесячный сахарный диабет, а также ишемия-реперфузия головного мозга у контрольных животных и крыс с диабетом характеризуется преобладанием антиапоптотической активности, однако, судя по степени экспрессии ядерного антигена клеточной пролиферации PCNA, дефицит апоптоза тимоцитов при ишемии-реперфузии головного мозга у контрольных крыс возникает на фоне усиления их пролиферативной активности, а у крыс с сахарным диабетом – при угнетении пролиферации наиболее зрелых функционально активных тимоцитов. Доказано, что у животных всех экспериментальных групп формируется дисбактериоз тонкой кишки, который приобретает наибольшую выраженность при сочетании диабета и ишемии-реперфузии головного мозга.

Полученные результаты демонстрируют наличие как неспецифических, так и

специфических проявлений иммунной дисфункции при ишемии-реперфузии головного мозга, сахарном диабете и их сочетании, основанной на дезинтеграции внутритимических взаимоотношений исследованных факторов и системных иммунных механизмов.

Ключевые слова: сахарный диабет, ишемия-реперфузия головного мозга, иммунная дисфункция.

ANNOTATION

Tkachuk O.V. Pathogenesis of immune disturbances in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus complicated by ischemic-reperfusing damage of the brain. – Manuscript.

The thesis for obtaining the academic degree of a Doctor of Medical Sciences in speciality 14.03.04 – Pathologic Physiology. – State Higher Educational Establishment "I.Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University of Ukraine's MHP", Ternopil, 2012.

The dissertation presents the results of an investigation of the pathogenesis of immune dysfunction which arises in male rats with experimental diabetes mellitus complicated by ischemic-reperfusing damage of the brain. The studies carried out by the author have demonstrated the presence of common and distinct mechanisms of the development of immune disturbances caused by ischemia-reperfusion of the brain, diabetes mellitus and combined ischemic-reperfusing damage of the brain and diabetes. It has been established that a deficit of the suppressor function determined on the basis of changes of the density of CD4+ and CD8+ thymocytes and the degree of expression of their antigen determinants in the animals of all experimental groups arises at the expense of various mechanisms. It has been shown for the first time that diabetes of four-month duration as well as ischemia-reperfusion of the brain in the control animals and those with diabetes are characterized by a shift of the pro-/antiapoptotic interrelations towards a prevalence of the antiapoptotic component, however, based on the degree of the expression of the nuclear antigen of cellular proliferation PCNA the deficit of thymocyte apoptosis in case of ischemia-reperfusion of the brain in control rats arises against a background of an enhancement of their proliferative activity, whereas in animals with diabetes mellitus – against a background of suppressed proliferation of the maturest functionally active classes of cells. Dysbacteriosis of the small intestine is formed in all the animals of all the experimental groups with the highest marked character in case of combined diabetes and ischemia-reperfusion of the brain. The presence of common manifestations of the immune dysfunction with different experimental interferences may be explained by the fact that ischemia-reperfusion of the brain in the rats without diabetes causes destructive changes of the pancreatic islets, identical, although less essential, than in the rats with diabetes mellitus. The presence of specific immunological disturbances under the condition of diabetes mellitus, ischemia-reperfusion of the brain in the control animals and the animals with diabetes mellitus is corroborated by modification of the density and functional activity of various types of antigen-presenting insulin-expressing cells.

Key words: diabetes mellitus, brain ischemia-reperfusion, immune dysfunction.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АПК	антигенпрезентуючі клітини
ГПО	глутатіонпероксидаза
ДК	дієнові кон'югати
ПЗ	підшлункова залоза
ПО	панкреатичні острівці
КПЧ	кора потиличної частки
КТ	каталаза
МА	малоновий альдегід
МБГ	медіобазальний гіпоталамус
МКЯ	мигдалеподібний комплекс ядер
ПМ	перегородка мозку
ПОД	преоптична ділянка
СОД	супероксиддисмутаза
ФІ	фагоцитарний індекс
ФЧ	фагоцитарне число
ЦД	цукровий діабет
ЦК	циркулюючі імунні комплекси