

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

**САЩУК МИКОЛА МИКОЛАЙОВИЧ**

УДК 616.8315 – 005.1/ – 053

**ВІКОВІ АСПЕКТИ ІМУНОЛОГІЧНОЇ ДИЗРЕГУЛЯЦІЇ ПРИ НЕПОВНІЙ ГЛОБАЛЬНІЙ  
ІШЕМІЇ МОЗКУ В САМЦІВ-ЩУРІВ**

14.03.04 – патологічна фізіологія

**АВТОРЕФЕРАТ**

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

Тернопіль - 2008

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Буковинському державному медичному університеті МОЗ України.

**Науковий керівник:** доктор медичних наук, професор, **Ткачук Світлана Сергіївна**, Буковинський державний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри фізіології.

**Офіційні опоненти:**

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

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

Захист відбудеться 27 червня 2008 р. о 14 год на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 58.601.01 у Державному вищому навчальному закладі “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського” МОЗ 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” МОЗ України (46001, м. Тернопіль, вул. Січових стрільців, 8).

Автореферат розісланий 16 травня 2008 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради

доктор медичних наук, професор

Я.Я. Боднар

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Експериментальні дослідження та клінічні спостереження останніх років дозволили переглянути традиційні погляди на імунну ізолюваність мозку і розширити розуміння механізмів взаємовідносин центральної нервової та імунної систем (Абрамов А.В., Колесник Ю.М., 2004; Reinke E., Fabry Z., 2006; Харченко Е.П., Клименко М.Н., 2007). Встановлено, що тісні зв'язки імунної та нервової систем здійснюються не лише через цитокіни, нейротрансмітери, нейропептиди та їх рецептори (Blalock J.E., 2005; Czura C.J., Tracey K.J., 2005; Watkins L.R., Maier S.F., 2005), але й шляхом безпосереднього надходження в мозок клітин імунної системи, які забезпечують виникнення в ЦНС імунних реакцій (Engelhardt B., Ransohoff R.M., 2005).

Накопичені знання про характер нейроімунних стосунків знайшли логічне завершення у виникненні нових науково-практичних дисциплін – нейроімунології та нейроімунопатології (Акмаев И.Г., 2000; Лисяный Н.И., 2004), діяльність яких спрямувала вивчення патогенезу багатьох неврологічних захворювань, у тому числі ішемічного пошкодження мозку, у нове русло і дозволила розглядати їх як імунонейропатологічні процеси (Boulanger I., Shatz C., 2001; Shandra A.A. et al., 2002; Turin N.P., Rivest S., 2004; Koistinaho M., Koistinaho J., 2005). Об'єднаними зусиллями неврологів та нейроімунологів досягнуто значного прогресу у вивченні імунопатологічних механізмів багатьох нервово-психічних захворювань (Ponomarev E.D. et al., 2004; Герасимов М.М., Никитина О.А., 2006; Кутько И.И. и др., 2006; Чехонин В.П. и др., 2006).

**Актуальність теми.** Порушення церебрального кровообігу та інсульти віднесено до імунозалежних захворювань нервової системи на підставі появи в крові високого рівня нейроантитіл (Гусев Е.И., Скворцова В.И., 2001; Лисяный Н.И., 2004; Рулева Н.Ю. и др., 2004). Активація аутоімунних механізмів у подальшому відіграє важливу роль у формуванні хронічного деструктивного процесу в мозку і вогнищового інфаркту (Константинова Н.И. и др., 2005; Петров С.В. и др., 2005; Sharkey J. et al., 2005).

Нейроімунопатологічний підхід до природи ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку та багатьох інших неврологічних захворювань вимагає оцінки не лише неврологічного дефіциту, але й імунного статусу з метою проведення імунокорекції (Hilshmann N. et al., 2000; Евсеев В.А. и др., 2004; Лисяный Н.И., 2004). Серед широкого спектра імунних досліджень при цих захворюваннях пріоритетними є оцінка інтенсивності нейросенсибілізації клітинного й гуморального типів, рівня імунних комплексів, неспецифічної імунної відповіді, про- та протизапальних цитокінів, а також функціонального стану окремих субпопуляцій лімфоцитів (Евсеев В.А. и др., 2004; Гусев Е.И. и др., 2000; Жданов Г.Н., 2006; Kadhim H., Sebire G., 2002). Накопичені нейроімунологами наукові факти свідчать, що вибір раціональної тактики лікування повинен передбачати ступінь імунозалежності нервового захворювання і патогенез порушення імунного статусу

конкретного хворого (Byrnes A.A. et al., 2002; Streilein J.W., 2003; Hohlfeld R., Wekerle H., 2004).

Незважаючи на констатацію того факту, що ішемічно-реперфузійні пошкодження головного мозку стають причиною суттєвих порушень імунного статусу організму, природа та конкретні прояви їх до сьогоднішнього дня залишаються багато в чому недослідженими. Тимус, як центральний орган імунної системи, у першу чергу реагує на несприятливі впливи змінами морфофункціонального стану (Mann C.L. et al., 2000; Камышный А.М., 2002; Абрамов А.В. и др., 2003; Перцов С.С., 2006) і не може залишитися осторонь імунологічної дизрегуляції, спричиненої ішемією мозку. Незважаючи на це, ми не виявили в літературі ґрунтовних досліджень цієї проблеми та її вікових аспектів, хоча дизрегуляторна концепція нейроімунопатології відкриває нові перспективи імунотерапії, що зумовлює актуальність подібних досліджень.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційне дослідження є фрагментом планової міжкафедральної наукової роботи “Дослідження порушень водно-електролітного обміну, закономірностей центральних стресіндукованих та ішемічних дисфункцій, паренхіматозно-стромального дисбалансу при ушкодженні внутрішніх органів за умов впливу екологічно несприятливих чинників з розробкою шляхів корекції виявлених патологічних змін” (№ державної реєстрації 01049U009029) Буковинського державного медичного університету. Автором досліджено вікові особливості механізмів імунологічної дизрегуляції, спричиненої неповною глобальною ішемією мозку в самців-щурів різного віку. Тема дисертації затверджена Проблемною комісією "Патологічна фізіологія та імунологія" 26 січня 2005 року (протокол № 41).

**Мета дослідження.** З'ясувати вікові особливості деяких ланок патогенезу імунологічної дизрегуляції за умов неповної глобальної ішемії мозку.

**Задачі дослідження:**

1. Вивчити реакцію структури лімфоїдної популяції тимуса одно- та тримісячних щурів на неповну глобальну ішемію мозку.
2. Проаналізувати вікові особливості впливу неповної глобальної ішемії мозку на морфометричні та денситометричні параметри лімфоцитів структурно-функціональних зон тимуса.
3. Вивчити вплив неповної глобальної ішемії мозку на інтенсивність флуоресценції катехоламінів у структурно-функціональних зонах тимуса щурів одно- та тримісячного віку.
4. Дослідити індуковані неповною глобальною ішемією мозку показники пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в структурно-функціональних зонах тимуса одно- та тримісячних щурів.
5. З'ясувати можливість впливу емоксипіну на спричинені неповною глобальною ішемією мозку порушення морфофункціонального стану тимуса.

**Об'єкт дослідження:** механізми нейроімуноної дизрегуляції за умов неповної глобальної ішемії мозку.

*Предмет дослідження:* структура лімфоїдної популяції тимуса, морфо- та денситометричні параметри тимоцитів, стан катехоламінергічних систем та прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в структурно-функціональних зонах тимуса щурів різного віку після неповної глобальної ішемії мозку та ефективність емоксипіну для корекції виявлених порушень.

*Методи дослідження:*

- морфологічні та морфометричні (вивчення структури лімфоїдної популяції структурно-функціональних зон тимуса, морфометричних і денситометричних характеристик тимоцитів);
- гістохімічний (визначення інтенсивності флуоресценції катехоламінів);
- біохімічні (визначення вмісту дієнових кон'югатів, малонового альдегіду, активності супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази);
- математичні (статистичний, методи математичного класифікаційного аналізу).

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше виявлено вікові особливості конститутивної сумарної щільності тимоцитів, структури лімфоїдної популяції тимуса, відсоткового розподілу тимоцитів у межах структурно-функціональних зон тимуса, морфометричних та денситометричних параметрів тимоцитів, інтенсивності флуоресценції катехоламінів, активності антиоксидантних ферментів та показників інтенсивності ліпопероксидації в тимусі одно- та тримісячних тварин. Встановлено, що сумарна щільність незмінених тимоцитів під впливом неповної глобальної ішемії головного мозку зростає в усіх структурно-функціональних зонах вилочкової залози одно- та тримісячних щурів, за винятком мозкової зони одномісячних. Доведено посилювальний вплив ішемії мозку на деструкцію тимоцитів у субкапсулярній та глибокій кірковій зонах тимуса одномісячних щурів і гальмівний - у субкапсулярній, глибокій кірковій зонах та внутрішньочасточкових периваскулярних просторах залози тримісячних тварин. Отримано дані щодо здатності неповної глобальної ішемії мозку перерозподіляти щільність та відсоток різних класів тимоцитів за рахунок зменшення частки менш зрілих форм та зростання частки малих лімфоцитів у всіх структурно-функціональних зонах тимуса тварин обох вікових груп, за винятком медулярної, де, навпаки, щільність та відсоток малих тимоцитів зменшується. Доведено, що модифікувальний вплив неповної глобальної ішемії мозку на морфометричні параметри різних форм тимоцитів найбільш суттєвий у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах тимуса тварин обох вікових груп та медулярній зоні тримісячних щурів. Показано вікові відмінності впливу неповної глобальної ішемії мозку на оптичну щільність тимоцитів - її зростання в тимусі одномісячних щурів відбулося в субкапсулярній зоні, а тримісячних – у глибокій кірковій зоні. Виявлено якісні вікові відмінності реагування катехоламінівмісних структур тимуса на неповну глобальну ішемію мозку, які полягають у відсутності постішемичних змін інтенсивності флуоресценції катехоламінів у медулярній зоні одномісячних щурів при зниженні цього показника в тримісячних. Встановлено,

що неповна глобальна ішемія мозку в цілому знижує рівень функціонування прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в різних зонах тимуса одно- та тримісячних тварин за рахунок паралельного зменшення як вмісту продуктів ліпопероксидації, так і активності антиоксидантних ферментів. Показано, що в субкапсулярній, глибокій кірковій зонах, внутрішньочасточкових периваскулярних просторах тимуса тварин обох вікових груп емоксипін має переважно антиішемічні ефекти щодо більшості досліджених параметрів морфофункціонального стану тимуса, а в мозковій зоні залози – проішемічні.

**Практичне значення одержаних результатів.** Результати дисертаційної роботи суттєво доповнюють існуючі уявлення про механізми розвитку дизрегуляторної патології, її вікові аспекти, конкретизують участь тимуса в патогенезі порушень адаптаційного імунітету та тих нейроімунних розладів, які є наслідком неповної глобальної ішемії мозку.

Отримані гістохімічні, морфологічні, морфометричні та біохімічні підтвердження впливу емоксипіну на перебіг нейроімунних розладів, супутніх ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку, свідчать про доцільність за даної патології не лише нейропротекторної терапії, але й імунокорегувальної, а вікові особливості ефектів препарату – про необхідність урахування віку при виборі імунокорегувальних засобів.

Нові наукові факти, отримані при виконанні дисертаційної роботи, можуть знайти використання при викладанні нормальної і патологічної фізіології, нервових хвороб, імунології, педіатрії, у роботі лабораторій науково-дослідних інститутів із відповідними науковими напрямками, при написанні підручників та монографій із зазначених галузей медицини.

Результати роботи впроваджено в навчальний процес кафедр фізіології та патофізіології Запорізького державного медичного університету, Донецького національного медичного університету ім. М. Горького, Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького, Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського, Буковинського державного медичного університету, м.Чернівці.

**Особистий внесок здобувача.** Автор самостійно здійснив підбір та аналіз літератури з проблеми дослідження, виконав усі експериментальні втручання на тваринах, провів статистичну обробку отриманих результатів, написав усі розділи дисертаційної роботи та публікації. Основні положення та висновки дисертації сформульовано спільно з науковим керівником.

Біохімічні, гістохімічні та морфологічні дослідження виконано за участі дисертанта.

В опублікованих зі співавторами наукових працях здобувачу належить експериментальний матеріал, статистична обробка, узагальнення результатів, підготовка до друку. У тій частині актів впровадження, що стосуються науково-практичної новизни, викладено фактичний матеріал автора.

**Апробація результатів дисертації.** Матеріали дисертації оприлюднено та обговорено на:

IV Національному Конгресі патофізіологів України з міжнародною участю (Чернівці, 2004), науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 200-річчю з дня заснування Харківського державного медичного університету "Від фундаментальних досліджень – до прогресу в медицині" (Харків, 2005), Навчально-методичній нараді завідувачів кафедр і курсів клінічної імунології та алергології і регіональній науково-практичній конференції України (Чернівці, 2006), XI Конгресі СФУЛТ (Полтава, 2006), XLIX підсумковій науково-практичній конференції (Тернопіль, 2006), ХУІІ з'їзді Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю (Чернівці, 2006), Всеукраїнській науковій конференції "Актуальні питання вікової анатомії та ембріотопографії" (Чернівці, 2006).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 12 наукових праць, із них 6 статей у фахових наукових журналах, 6 – у матеріалах конгресів і конференцій.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація викладена на 211 сторінках, ілюстрована 74 таблицями, одним рисунком. Структура дисертації складається зі вступу, шести розділів, висновків і списку використаних джерел, який налічує 324 найменування вітчизняної та зарубіжної літератури. Бібліографічний опис джерел літератури та додатки викладені на 55 сторінках.

## **ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Матеріал і методи дослідження.** Робота виконана на одно- та тримісячних самцях білих лабораторних щурів. Неповну глобальну ішемію мозку моделювали двобічним 20-хвилинним кліпсуванням загальних сонних артерій. Контрольним тваринам проводили розтин шкіри, сепарацію м'язів і виділення судин без порушення в них кровообігу. Усі оперативні втручання здійснювали під каліпсоловим наркозом (75 мг/кг маси тіла). Частині щурів у перші три хвилини по закінченні ішемічного періоду, потім щоденно, протягом 5 днів внутрішньочеревинно вводили емоксипін у дозі 5 мг/кг (Тимофійчук І.Р., 2003).

Усі втручання та забій тварин проводилися з дотриманням основних положень GCP (1996 р.), Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину від 04.04.1997 р. та Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964-2000 р.) і Наказу МОЗ України №66 від 13.02.2006 р. Комісією з питань біоетики Буковинського державного медичного університету (протокол №23 від 13.12.2007 р.) порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

На кріостатних зрізах різних частин тимуса, забарвлених гематоксилін-еозином, за допомогою комп'ютерної системи цифрового аналізу зображення VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина) вивчали структуру лімфоїдної популяції тимуса, абсолютну кількість клітин (на 1 мм<sup>2</sup>

площі залози) та відносну (%) щільність розподілу кожного класу клітин у межах окремих зон залози, морфометричні та денситометричні характеристики тимоцитів. Ідентифікація клітин в отриманому зображенні проводилася в автоматичному режимі за допомогою пакета прикладних програм VIDAS-2.5 (Kontron Elektronik, Німеччина). Визначали морфометричні характеристики лімфоїдних клітин (площу, периметр, коефіцієнти форми, елонгації) та денситометричні параметри (абсолютну та питому оптичну щільність). Математичний класифікаційний аналіз проводили з використанням мікроскопа Axioskop (Zeiss, Німеччина) та системи цифрового аналізу зображення VIDAS 2.5 (Kontron Elektronik, Німеччина). Виділено 9 класів клітин лімфоїдної популяції вилочкової залози: лімфобласти; лімфобласти з ознаками деструкції; великі лімфоцити; великі лімфоцити з ознаками деструкції; середні лімфоцити; середні лімфоцити з ознаками деструкції; малі лімфоцити; малі лімфоцити з ознаками деструкції; лімфоцити в стані апоптозу.

Інтенсивність флуоресценції катехоламінів у тимусі визначали за методом Фалька-Овмена в модифікації А.Ю.Буданцева (1978). У гомогенатах структурно-функціональних зон тимуса визначали вміст дієнових кон'югатів, малонового альдегіду (Магальяс В.М. та ін., 2001), активність супероксиддисмутази (Fried R. , 1975; Nashikimi N. et al., 1972), каталази (Королюк М.А. и др., 1988), глутатіонпероксидази (Мещишен І.Ф., 1991).

Результати досліджень оброблено на IBM-сумісному персональному комп'ютері з використанням пакета прикладних і статистичних програм VIDAS 2.5 (Kontron Elektronik, Німеччина) та EXCEL із пакета MS Office 2000 (Microsoft Corp., США) і проаналізовано з використанням критерію Стюдента. Статистично вірогідними вважали зміни при  $P \leq 0,05$ .

**Результати досліджень та їх обговорення.** Для розуміння патогенезу імунологічних порушень за умов ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку важливим є вивчення змін, що виникають при цьому в імунній системі, зокрема, у центральному її органі - вилочковій залозі.

Згідно з нашими дослідженнями, у субкапсулярній та глибокій кірковій зонах тимуса одномісячних тварин неповна глобальна ішемія головного мозку підвищила сумарну щільність незмінених і деструктивних тимоцитів. У даних зонах залози тримісячних тварин за аналогічних умов сумарна щільність нормальних лімфоцитів зросла, а деструктивних – знизилася. Емоксипін у субкапсулярній зоні одномісячних щурів зменшував постішемічний приріст щільності нормальних та, особливо, деструктивних тимоцитів. Незважаючи на протилежне спрямування порушень щільності нормальних та деструктивних тимоцитів у цій зоні залози тримісячних щурів, емоксипін також частково нормалізував ці показники. У глибокій кірковій зоні тимуса одномісячних щурів препарат посилив вплив ішемії мозку на щільність нормальних тимоцитів, проте повністю нормалізував щільність деструктивних клітин, а в тримісячних – мав антиішемічний ефект, однак із деякими ознаками надлишковості дії.



Неповна глобальна ішемія головного мозку підвищила сумарну щільність незмінених тимоцитів у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах тимуса щурів обох вікових груп та знизилася щільність деструктивних тимоцитів у тримісячних. Емоксипін в одномісячних щурів запобігав підвищенню сумарної щільності нормальних тимоцитів та знижував щільність деструктивних, незважаючи на відсутність постішемичних змін останнього показника, що, ймовірно, можна пов'язати з недостовірним його підвищенням під впливом ішемії. У даній зоні тимуса тримісячних щурів емоксипін частково нормалізував щільність нормальних тимоцитів та повністю – клітин з ознаками деструкції.

У мозковій зоні тимуса одномісячних щурів ішемія мозку знизилася щільність незмінених та деструктивних клітин, а в тримісячних - підвищила щільність незмінених тимоцитів. Емоксипін не вплинув на ефекти ішемії мозку в одномісячних щурів, а в тримісячних - посилив ішемічний вплив на щільність нормальних тимоцитів та спричинив зростання щільності деструктивних клітин, незважаючи на відсутність постішемичних змін цього показника.

Враховуючи гетерогенність лімфоїдних клітин тимуса, ми дослідили вікові особливості впливу неповної глобальної ішемії головного мозку на розподіл різних класів тимоцитів у структурно-функціональних зонах залози, а також ефекти емоксипіну на виявлені постішемичні зміни (табл.1-2).

Таблиця 1

**Структура лімфоїдної популяції в окремих зонах тимуса одномісячних щурів у контролі та після ішемії головного мозку (M±m)**

Клас клітин лімфоїдної популяції	Субкапсулярна зона	Глибока кіркова зона	Внутрішньочасточкові периваскулярні простори	Медулярна зона
Контроль				
Лімфобласти	<u>907±68,7</u> 380±40,7	<u>700±52,3</u> 466±41,9	<u>916±61,0</u> 460±48,2	<u>990±59,5</u> 481±42,9
Великі лімфоцити	<u>4196±127</u> 1221±79,0	<u>3551±137</u> 1282±83,6	<u>3859±144</u> 958±62,4	<u>4023±132</u> 980±56,3
Середні лімфоцити	<u>5021±130</u> 699±58,2	<u>5580±153</u> 753±68,6	<u>5504±152</u> 666±55,6	<u>6263±168</u> 588±53,2
Малі лімфоцити	<u>7070±201</u> 874±62,3	<u>9755±196</u> 1095±73,6	<u>10553±211</u> 803±58,6	<u>8626±257</u> 540±47,6
Апоптотичні клітини	223±31,7	254±32,3	305±35,7	139±27,4

Ішемія				
Лімфобласти	<u>642±49,7*</u>	<u>792±57,4</u>	<u>886±58,8</u>	<u>1016±60,7</u>
	391±40,7	421±42,3	374±37,1	386±39,5
Великі лімфоцити	<u>3230±100*</u>	<u>3204±118</u>	<u>3336±130*</u>	<u>4108±139</u>
	1063±68,5	1118±66,1	1082±71,2	960±67,5
Середні лімфоцити	<u>3807±101*</u>	<u>3834±124*</u>	<u>5666±207</u>	<u>6735±169*</u>
	1138±63,6*	1072±62,0*	609±54,8	589±54,2
Малі лімфоцити	<u>12811±234*</u>	<u>12451±289*</u>	<u>12102±381*</u>	<u>7615±295*</u>
	1248±69,3*	1475±80,2*	830±56,9	394±41,2*
Апоптотичні клітини	820±56,2*	774±55,6*	366±41,2	164±26,1
Ішемія та емоксипін				
Лімфобласти	<u>985±62,3^</u>	<u>768±54,4</u>	<u>926±63,8</u>	<u>877±58,7</u>
	350±34,6	374±33,1	398±41,4	466±43,2
Великі лімфоцити	<u>3685±121*^</u>	<u>3494±128</u>	<u>3815±122^</u>	<u>4315±121</u>
	912±61,2*	1175±71,5	929±67,2	1069±69,1
Середні лімфоцити	<u>5286±155^</u>	<u>5815±154^</u>	<u>6353±195*^</u>	<u>6898±190*</u>
	620±57,2^	904±56,8^	522±50,1	513±46,4
Малі лімфоцити	<u>10071±208*^</u>	<u>10514±221*^</u>	<u>8429±330*^</u>	<u>7013±316*</u>
	631±53,8*^	1047±60,1^	521±49,9*^	280±34,2*^
Апоптотичні клітини	369±39,0*^	365±36,4*^	138±26,1*^	144±25,6

Примітки: вірогідність змін щодо показників: \* – у контрольних тварин; ^ – у тварин із неповною глобальною ішемією мозку; у чисельнику – питома щільність нормальних клітин, у знаменнику – клітин з ознаками деструкції (на 1 мм<sup>2</sup> залози)

Аналізуючи сукупність змін структури лімфоїдної популяції тимуса після неповної глобальної ішемії мозку, можна зазначити, що в субкапсулярній, глибокій кірковій зоні тимуса тварин обох вікових груп та у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах одномісячних щурів має місце стабільне зростання щільності малих тимоцитів при одночасному зниженні тих чи інших класів менш зрілих клітин. У внутрішньочасточкових периваскулярних просторах тимуса тримісячних щурів зростання щільності малих та середніх тимоцитів не супроводжувалося зниженням щільності інших форм, тобто, відбувся не перерозподіл, а абсолютне зростання зазначених класів тимоцитів.

Таблиця 2

**Структура лімфоїдної популяції в окремих зонах тимуса тримісячних щурів у контролі та після ішемії головного мозку (M±m)**

Клас клітин лімфоїдної популяції	Субкапсулярна зона	Глибока кіркова зона	Внутрішньо-часточкові периваскулярні простори	Медулярна зона
Контроль				
Лімфобласти	<u>891±67,3</u> 401±49,0	<u>764±55,8</u> 392±39,1	<u>1013±62,5</u> 376±37,5	<u>961±54,9</u> 373±38,9
Великі лімфоцити	<u>4263±137</u> 1064±64,5	<u>3911±137</u> 1271±81,5	<u>3751±123</u> 876±67,9	<u>4180±114</u> 940±54,2
Середні лімфоцити	<u>4980±167</u> 668±59,2	<u>5340±158</u> 793±57,7	<u>5517±149</u> 757±55,6	<u>5476±142<sup>#</sup></u> 500±51,3
Малі лімфоцити	<u>8129±182<sup>#</sup></u> 778±63,4	<u>10782±253<sup>#</sup></u> 1108±59,2	<u>9255±263<sup>#</sup></u> 578±49,1 <sup>#</sup>	<u>7233±232<sup>#</sup></u> 682±47,9 <sup>#</sup>
Апоптотичні клітини	203±34,8	392±39,6 <sup>#</sup>	273±37,1	149±28,0
Ішемія				
Лімфобласти	<u>940±54,2<sup>#</sup></u> 374±42,0	<u>954±55,5*<sup>#</sup></u> 522±49,4*	<u>956±59,6</u> 379±37,6	<u>1013±49,4</u> 400±39,9
Великі лімфоцити	<u>3562±134*<sup>#</sup></u> 960±67,3	<u>3304±122*</u> 1149±72,1	<u>3776±140<sup>#</sup></u> 895±65,9	<u>4113±135</u> 919±56,4
Середні лімфоцити	<u>4554±153<sup>#</sup></u> 703±59,8 <sup>#</sup>	<u>4078±138*</u> 984±68,7*	<u>7171±243*<sup>#</sup></u> 578±49,2	<u>8400±177*<sup>#</sup></u> 564±43,6
Малі лімфоцити	<u>11737±349*<sup>#</sup></u> 620±60,4 <sup>#</sup>	<u>16385±281*<sup>#</sup></u> 597±59,5* <sup>#</sup>	<u>10342±431*<sup>#</sup></u> 577±58,5 <sup>#</sup>	<u>5037±153*<sup>#</sup></u> 498±51,8*
Апоптотичні клітини	174±27,2 <sup>#</sup>	400±46,0 <sup>#</sup>	168±26,0* <sup>#</sup>	119±21,3
Ішемія та емоксипін				
Лімфобласти	<u>792±51,5<sup>^</sup></u> 457±41,4	<u>744±52,4<sup>^</sup></u> 461±43,5	<u>823±52,1*</u> 368±41,2	<u>816±51,6<sup>^</sup></u> 392±38,7
Великі лімфоцити	<u>3288±140*</u> 989±63,2	<u>2899±116*<sup>^</sup></u> 1283±78,3	<u>3172±121*<sup>^</sup></u> 939±61,3	<u>3699±140*<sup>^</sup></u> 960±69,2
Середні лімфоцити	<u>4728±156</u> 921±67,9* <sup>^</sup>	<u>5046±152<sup>^</sup></u> 921±63,1	<u>5685±196<sup>^</sup></u> 704±63,6	<u>6670±190*<sup>^</sup></u> 660±56,5*
Малі лімфоцити	<u>10187±267*<sup>^</sup></u> 996±64,8* <sup>^</sup>	<u>11463±206*<sup>^</sup></u> 1149±73,9 <sup>^</sup>	<u>10667±285*</u> 701±52,8	<u>8230±234*<sup>^</sup></u> 565±56,2
Апоптотичні клітини	263±32,4 <sup>^</sup>	311±30,8	208±28,1	107±23,1

Примітки: вірогідність змін щодо показників: \* – у контрольних тварин; ^ – у тварин із

неповною глобальною ішемією мозку; # - вікові відмінності у відповідних групах спостереження; у чисельнику – питома щільність нормальних клітин, у знаменнику – клітин з ознаками деструкції (на 1 мм<sup>2</sup> залози)

Реакція на ішемію мозку була особливою в мозковій зоні тимуса тварин обох вікових груп – тут знизилася щільність малих тимоцитів при одночасному зростанні щільності середніх.

Привертає увагу вагоме зростання під впливом ішемії мозку щільності деструктивних середніх і малих та апоптотичних тимоцитів у субкапсулярній і глибокій кірковій зонах тимуса одномісячних щурів. Ішемія мозку суттєво знижує щільність деструктивних малих тимоцитів у мозковій зоні тимуса тварин обох вікових груп та апоптотичних клітин - у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах залози тримісячних щурів.

Що стосується впливів емоксипіну на зміни структури лімфоїдної популяції, препарат частково чи повністю протистояв наслідкам ішемії мозку в субкапсулярній, глибокій кірковій зонах та внутрішньочасточкових периваскулярних просторах тимуса тварин обох вікових груп і мозковій зоні залози тримісячних щурів. Разом із тим, у глибокій кірковій зоні тимуса тримісячних щурів та в мозковій зоні залози одномісячних препарат мав поодинокі проішемічні ефекти.

Характеризуючи вплив неповної глобальної ішемії головного мозку на відсотковий розподіл різних класів тимоцитів, можна виділити деякі закономірності. По-перше, у субкапсулярній, глибокій кірковій зонах тимуса тварин обох вікових груп та внутрішньочасточкових периваскулярних просторах одномісячних щурів, за цих експериментальних умов, зменшився відсоток менш зрілих класів незмінених тимоцитів та зріс відсоток малих. Лише у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах тимуса тримісячних щурів та мозковій зоні залози тварин обох вікових груп цей перерозподіл відбувся на користь середніх тимоцитів, а відсоток малих - не змінювався або знижувався. Можна думати, що зниження відсотка найбільш зрілих класів – малих тимоцитів - свідчить про посилення їх міграції за межі залози, адже саме через внутрішньочасточкові периваскулярні простори та мозкову зону після відбору, елімінації автоагресивних тимоцитів або повного їх антигензалежного дозрівання вони мігрують за межі залози (Харченко В.П. и др., 2000).

По-друге, у субкапсулярній і глибокій кірковій зонах тимуса одномісячних щурів неповна глобальна ішемія головного мозку частку деструктивних та апоптотичних тимоцитів підвищує, а в тримісячних – знижує.

Емоксипін у більшості випадків зменшував або усував вплив ішемії на відсотковий розподіл тимоцитів у субкапсулярній, глибокій кірковій зонах тимуса тварин обох вікових груп та мозковій зоні залози тримісячних щурів. Особливо вагомий корегувальний ефект препарат мав у глибокій кірковій зоні тварин обох вікових груп. У внутрішньочасточкових периваскулярних просторах тимуса тварин обох вікових груп поруч із корегувальними мали місце нечисельні

проішемічні ефекти препарату, а в медулярній зоні одномісячних щурів емоксипін не запобігав змінам, які спричиняє ішемія мозку.

Важливими показниками морфофункціонального стану будь-якої клітини є її морфометричні параметри. За результатами наших досліджень, неповна глобальна ішемія мозку в субкапсулярній зоні тимуса одномісячних щурів спричинила поодинокі зміни морфометричних показників лімфобластів, великих і середніх лімфоцитів, але найбільш суттєві зміни стосувалися малих нормальних та деструктивних тимоцитів. Емоксипін повністю або частково нормалізував більшість змінених ішемією параметрів, і, незважаючи на поодинокі випадки проішемічного впливу на показники стану лімфобластів, великих і середніх тимоцитів, корегувальні ефекти препарату значно домінували. У тримісячних щурів після неповної глобальної ішемії мозку мали місце зміни одного-двох із чотирьох досліджених морфометричних параметрів у популяції незмінених лімфобластів, великих, середніх і малих тимоцитів, деструктивних лімфобластів, великих і середніх лімфоцитів. Емоксипін також справляв хороший корегувальний ефект у класах великих, середніх та малих лімфоцитів як незмінених, так і деструктивних.

У глибокій кірковій зоні тимуса одномісячних щурів найвагоміших змін після неповної глобальної ішемії мозку зазнали морфометричні параметри незмінених та деструктивних середніх і малих тимоцитів, які емоксипін значною мірою нівелював або запобігав їх виникненню. У даній зоні залози тримісячних щурів на неповну глобальну ішемію мозку найбільшою кількістю змінених характеристик відреагували малі незмінені тимоцити, а емоксипін мав хороші корегувальні ефекти.

У внутрішньочасточкових периваскулярних просторах тварин обох вікових груп суттєвих змін зазнали морфометричні параметри незмінених великих, середніх та малих лімфоцитів. Постішемічні порушення параметрів великих незмінених лімфоцитів в одномісячних щурів емоксипін нормалізував, а в тримісячних – збільшив їх кількість. Препарат також поглибив вплив ішемії на стан середніх і малих тимоцитів в одномісячних щурів, а в тримісячних щурів постішемічні зміни середніх та малих тимоцитів усував або частково нормалізував. Отже, у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах тимуса щурів досліджених вікових груп препарат мав протилежно спрямований вплив, що свідчить про яскраво виражені вікові особливості його дії.

Найбільш принципові вікові відмінності реагування морфометричних параметрів тимоцитів на ішемію мозку виявлено в мозковій зоні тимуса. Вони стосувалися всіх досліджених класів лімфоцитів, але найвагомішими були для малих - жодних морфометричних порушень у тримісячних щурів не виявлено, зате в одномісячних щурів змін зазнали всі досліджені параметри цих клітин. Суттєві відмінності виявлено в цій зоні і щодо ефектів емоксипіну.

Сукупний аналіз денситометричних характеристик тимоцитів дозволив встановити, що

неповна глобальна ішемія мозку в більшості структурно-функціональних зон тимуса тварин обох вікових груп знижує оптичну щільність майже всіх форм лімфоцитів. Виняток становили субкапсулярна зона тимуса тримісячних і глибока кіркова зона одномісячних щурів, де виявлено зростання цього показника. Уведення емоксипіну запобігало впливам ішемії на денситометричні параметри тимоцитів або значно зменшувало їх у всіх досліджених зонах тимуса незалежно від вікової групи тварин. Лише в субкапсулярній зоні тримісячних щурів емоксипін мав проішемічний вплив.

Швидкість диференціювання та викиду лімфоцитів у периферичну кров за різних патологічних станів регулюється за участю біогенних амінів залози через модифікацію їх синтезу, секреції та інактивації (Стручко Г.Ю. и др., 2001). Тому цілком імовірно, що зміни структури лімфоїдної популяції тимуса та морфометричних показників тимоцитів після ішемічно-реперфузійного ушкодження головного мозку можна пов'язати з порушенням стану катехоламінвмісних утворень залози.

Як видно з таблиці 3, конститутивна інтенсивність флуоресценції катехоламінів переважала в тимусі тримісячних щурів. На шостий день постішемічного періоду інтенсивність флуоресценції катехоламінів знизилася в субкапсулярній, глибокій кірковій, премедулярній зонах тимуса одномісячних та в субкапсулярній, глибокій кірковій, премедулярній та медулярній зонах залози тримісячних щурів. Після ішемії мозку інтенсивність флуоресценції катехоламінів залишилася вищою в усіх досліджених зонах тимуса тримісячних щурів. Емоксипін позитивно вплинув на постішемічні порушення функції катехоламінвмісних структур тимуса тварин обох вікових груп (табл. 3).

Таблиця 3

**Інтенсивність флуоресценції катехоламінів у структурно-функціональних зонах тимуса щурів різного віку після неповної глобальної ішемії мозку на тлі введення емоксипіну (M±m, n=10)**

Група спостереження	Субкапсулярна зона	Глибока кіркова зона	Премедулярна зона	Медулярна зона
Одномісячні				
Контроль	116±5,54	86,5±4,29	118±5,29	32,1±3,41
Ішемія	102±4,12*	25,6±1,49*	82,6±4,02*	29,4±2,14
Ішемія та емоксипін	121±7,42^	91,1±6,98^	109±4,45^	30,8±3,18
Тримісячні				
Контроль	154±6,03	115±3,10	216±5,81	43,6±2,11

Ішемія	132±4,80*	82,0±2,98*	93,6±3,48*	35,2±2,45*
Ішемія та емоксипін	162±4,89^	102±4,48*^	188±6,20*^	28,3±2,20*^

Примітки: вірогідність змін стосовно показників у структурно-функціональних зонах тимуса: \* - контрольних тварин відповідної вікової групи; ^ - тварин відповідної вікової групи після ішемії

Повна нормалізація змінених показників відбулася в субкапсулярній, глибокій кірковій, премедулярній зонах тимуса одномісячних щурів та в субкапсулярній зоні тримісячних. У тимусі щурів останньої вікової групи зменшилося також збіднення катехоламінами премедулярної та глибокої кіркової зон. У мозковій зоні тримісячних щурів препарат дещо поглибив постішемичне зниження інтенсивності флуоресценції катехоламінів.

Аналіз індукованих ішемією мозку змін інтенсивності флуоресценції катехоламінів дозволяє дійти висновку, що у тварин обох вікових груп більшою мірою страждають структурні зони залози, відповідальні за продукцію катехоламінів, ніж за їх поглинання. Вагоміше реагування в тримісячних щурів премедулярної зони, а в одномісячних – глибокої кортикальної - означає, що впродовж постнатального онтогенезу відбувається зміна пріоритетності даних зон у реагуванні на несприятливі чинники.

Активация вільнорадикальних процесів за багатьох патологічних станів є універсальним патогенетичним механізмом пошкодження клітин, у тому числі й імунокомпетентних (Семенов Ю.В. и др., 2003; Тутельян А.В., 2004), тому ми вважали доцільним вивчити вплив неповної глобальної ішемії мозку на показники прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в структурно-функціональних зонах тимуса щурів різних вікових груп (табл.4).

Неповна глобальна ішемія головного мозку в субкапсулярній зоні одномісячних щурів підвищує вміст дієнових кон'югатів, знижує активність супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази, а також знижує вміст дієнових кон'югатів, малонового альдегіду, активність супероксиддисмутази і каталази у внутрішній зоні кіркової речовини, вміст дієнових кон'югатів, активність супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази в премедулярній зоні, активність каталази в мозковій зоні. Емоксипін у субкапсулярній зоні тимуса не впливав на постішемичні зміни ліпопероксидації, проте суттєво покращував показники антиоксидантного захисту за рахунок часткового відновлення активності супероксиддисмутази та нормалізації активності каталази і глутатіонпероксидази. У внутрішній зоні кіркової речовини препарат запобігав постішемичному зниженню вмісту дієнових кон'югатів, активності супероксиддисмутази, каталази та зменшував порушення активності глутатіонпероксидази. Часткової корекції зазнали постішемичні зміни вмісту дієнових кон'югатів, активності

супероксиддисмутази і повної – активності глутатіонпероксидази в премедулярній зоні залози. Препарат виявився неефективним щодо змін, спричинених мозковою ішемією, у медулярній зоні тимуса одномісячних щурів.

У тримісячних тварин неповна глобальна ішемія мозку в субкапсулярній зоні спричинила зниження вмісту дієнових кон'югатів, малонового альдегіду, активності супероксиддисмутази і каталази, у глибокій кірковій, премедулярній зонах - тотальне зниження досліджених параметрів, у мозковій зоні - накопичення дієнових кон'югатів та малонового альдегіду й підвищення активності глутатіонпероксидази (табл.4). У субкапсулярній зоні тимуса тримісячних щурів емоксипін усував постішемичні зміни вмісту малонового альдегіду, активності супероксиддисмутази і каталази, у глибокій кірковій зоні препарат запобігав лише змінам вмісту дієнових кон'югатів та зменшував порушення активності супероксиддисмутази. У премедулярній зоні препарат усував постішемичні порушення вмісту дієнових кон'югатів, малонового альдегіду, активності каталази і глутатіонпероксидази та суттєво наближав до норми активність супероксиддисмутази, у мозковій - нормалізував вміст дієнових кон'югатів, активність глутатіонпероксидази, а активність каталази значно зростала, незважаючи на відсутність на неї ішемічного впливу.

Таблиця 4

**Вплив ішемії та емоксипіну на вміст продуктів ліпопероксидації та активність антиоксидантних ферментів у структурно-функціональних зонах тимуса щурів (M±m, n=10)**

Група спостереження	Дієнові кон'югати (нмоль/мг білка)	Малоновий альдегід (нмоль/мг білка)	Супероксиддисмутаза (од/хв·мг білка)	Каталаза (мкмоль/хв·мг білка)	Глутатіонпероксидаза (нмоль / хв·мг білка)
Субкапсулярна зона 1 місяць					
Контроль	9,87±0,53	4,18±0,73	7,21±0,52	29,7±1,21	7,82±0,43
Ішемія	12,±0,61*	3,05±0,54	4,36±0,37*	23,9±1,13*	4,11±0,62*
Ішемія та емоксипін	11,4±0,96	3,78±0,62	5,70±0,43*^	27,1±0,90^	6,58±0,56^
Глибока кіркова зона 1 місяць					
Контроль	18,4±0,36	5,24±0,47	6,31±0,69	2,25±0,12	5,27±0,46
Ішемія	14,6±0,60*	2,50±0,52*	3,02±0,43*	1,33±0,57	1,61±0,33*
Ішемія та емоксипін	19,2±0,74^	3,18±0,54*	5,83±0,49^	2,81±0,31^	3,42±0,38*^
Премедулярна зона 1 місяць					
Контроль	16,5±1,30	8,10±0,92	9,82±0,80	3,55±0,32	7,81±0,32



Ішемія	6,22±0,51*	7,43±0,52	6,11±0,59*	3,14±0,28	3,52±0,21*
Ішемія та емоксипін	11,2±1,04*^	7,82±0,69	7,73±0,58*^	2,98±1,32	6,78±0,51^
Мозкова зона 1 місяць					
Контроль	7,80±0,37	4,34±0,22	7,42±0,41	3,21±0,32	5,66±0,61
Ішемія	8,22±0,65	4,50±0,27	6,74±0,74	1,62±0,45*	5,40±0,46
Ішемія та емоксипін	10,4±0,86*	3,96±0,34	8,01±0,69	2,27±0,37	4,92±0,50
Субкапсулярна зона 3 місяці					
Контроль	12,7±0,98	7,73±0,62	9,35±1,12	5,00±0,72	6,72±1,53
Ішемія	9,52±0,86*	5,64±0,46*	6,33±1,05*	2,44±0,37*	4,56±0,69
Ішемія та емоксипін	10,6±0,63	8,41±0,38^	8,87±0,83^	3,62±0,41^	5,14±0,76
Глибока кіркова зона 3 місяці					
Контроль	13,4±1,35	5,54±0,98	15,4±1,11	3,73±0,39	7,60±0,64
Ішемія	9,46±1,18*	2,72±0,59*	4,43±1,42*	1,72±0,34*	2,82±0,54*
Ішемія та емоксипін	12,7±0,98^	3,24±0,42*	9,21±0,78*^	2,25±0,29*	3,46±0,37*
Премедулярна зона 3 місяці					
Контроль	19,5±1,42	9,40±0,86	14,5±1,26	4,15±0,50	8,12±0,85
Ішемія	11,3±0,42*	5,91±0,69*	2,54±0,67*	2,28±0,23*	3,33±0,37*
Ішемія та емоксипін	17,8±0,93^	10,1±1,08^	8,78±0,63*^	4,42±0,48^	6,35±0,58^
Мозкова зона 3 місяці					
Контроль	10,4±1,03	5,41±0,49	6,20±0,53	1,14±0,16	5,91±0,59
Ішемія	17,5±1,68*	7,16±0,73*	5,72±0,67	0,91±0,30	7,83±0,64*
Ішемія та емоксипін	11,4±0,78^	8,67±0,79*	4,98±0,46	1,90±0,33*^	6,28±0,42^

Примітки: вірогідність змін порівняно: \* - з контролем; ^ - з постішемічними параметрами

Отримані результати свідчать, що, за умов ішемії головного мозку, поряд із нейропротекторною терапією патогенетично обґрунтованою є й імунорегувальна, яка потребує урахування вікових особливостей імунологічної дизрегуляції та ефективності обраних препаратів.

## ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення та експериментальні дані стосовно вікових особливостей структурно-функціональної реакції тимуса на неповну глобальну ішемію мозку та патогенетично обґрунтовано вплив емоксипіну на постішемичні порушення морфофункціонального стану залози, що сприяє вирішенню наукової задачі, яка стосується механізмів нейроімунної дизрегуляції та засобів її корекції.

1. Неповна глобальна ішемія головного мозку спричиняє: підвищення сумарної щільності незмінених тимоцитів у субкапсулярній, глибокій кірковій зонах, внутрішньочасточкових периваскулярних просторах тимуса одномісячних щурів та у всіх зонах залози тримісячних тварин; зниження даного показника в медулярній зоні одномісячних щурів; зростання сумарної щільності деструктивних тимоцитів у субкапсулярній та глибокій кірковій зонах тимуса одномісячних щурів і зниження її - у всіх структурно-функціональних зонах залози тримісячних тварин (за винятком медулярної) і в медулярній зоні одномісячних.

2. У тварин обох вікових груп неповна глобальна ішемія мозку призводить до перерозподілу структури лімфоїдної популяції тимуса на користь малих тимоцитів у всіх структурно-функціональних зонах залози, за винятком медулярної, де зростає щільність середніх нормальних тимоцитів і знижується щільність малих.

3. Неповна глобальна ішемія мозку спричиняє зниження відсотка менш зрілих форм тимоцитів та зростання відсотка малих у субкапсулярній і глибокій кірковій зонах тимуса тварин обох вікових груп, у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах залози одномісячних щурів, зниження відсотка нормальних лімфобластів, великих лімфоцитів і зростання відсотка нормальних середніх тимоцитів у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах залози тримісячних тварин. У медулярній зоні тимуса тварин обох вікових груп зростає відсоток середніх нормальних тимоцитів і знижується відсоток малих.

4. Після неповної глобальної ішемії мозку в субкапсулярній і глибокій кірковій зонах тимуса тварин обох вікових груп кількість змінених морфометричних параметрів тимоцитів зростає в міру наближення до більш зрілих форм (малих тимоцитів), у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах мають місце зміни майже всіх досліджених параметрів усіх класів тимоцитів, за винятком лімфобластів, у медулярній зоні одномісячних щурів – середніх і малих тимоцитів, тримісячних – всіх, крім малих.

5. Неповна глобальна ішемія мозку знижує оптичну щільність лімфоцитів у всіх структурно-функціональних зонах тимуса тварин обох вікових груп, за винятком субкапсулярної зони тримісячних і глибокої кіркової зони одномісячних щурів, де цей показник зростає.

6. Неповна глобальна ішемія мозку знижує вміст катехоламінів в 1,1, 3,4, 1,4 рази в

субкапсулярній, глибокій кірковій, премедулярній зонах тимуса одномісячних та в 1,2, 1,4, 2,3, 1,2 рази в субкапсулярній, глибокій кірковій, премедулярній та медулярній зонах залози тримісячних щурів відповідно. У тримісячних щурів найсуттєвіші постішемичні зміни мають місце в премедулярній зоні, в одномісячних – у глибокій кірковій.

7. Неповна глобальна ішемія мозку знижує вміст продуктів ліпопероксидації в глибокій кірковій та премедулярній зонах тимуса одномісячних щурів, субкапсулярній, глибокій кірковій, премедулярній зонах залози тримісячних щурів і активність всіх або окремих антиоксидантних ферментів у всіх структурно-функціональних зонах тимуса тварин обох вікових груп (за винятком медулярної зони тримісячних щурів). У субкапсулярній зоні тимуса одномісячних щурів та медулярній зоні тримісячних ішемичне пошкодження головного мозку призводить до накопичення продуктів ліпопероксидації.

8. Уведення в ранньому реперфузійному періоді емоксипіну нормалізує або наближає до норми більшість змін сумарної щільності, структури лімфоїдної популяції, відсоткового співвідношення різних форм тимоцитів, їх морфометричних та денситометричних параметрів, інтенсивності флуоресценції катехоламінів та активності антиоксидантних ферментів у субкапсулярній, глибокій кірковій зонах, внутрішньочасточкових периваскулярних просторах тимуса тварин обох вікових груп, за винятком оптичної щільності тимоцитів у тримісячних щурів, яка під впливом препарату зазнає проішемичних змін. За сумою корегувальних ефектів дія препарату переважає в одномісячних щурів.

9. У медулярній зоні тимуса одномісячних щурів емоксипін не має впливу на переважну більшість змінених ішемією мозку параметрів тимоцитів, на деякі справляє проішемичний вплив, і лише окремі морфометричні та всі денситометричні параметри частково нормалізує. У цій зоні залози тримісячних щурів препарат поглиблює ішемичні впливи на сумарну щільність тимоцитів, інтенсивність флуоресценції катехоламінів, незначно обмежує ефекти ішемії на окремі компоненти структури лімфоїдної популяції тимуса, відсоткового співвідношення тимоцитів, морфометричні, денситометричні показники і суттєвіше - показники прооксидантно-антиоксидантного статусу.

## **СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Сащук М. М. Інтраімичні особливості відстрочених показників стану вільнорадикальних процесів та антиоксидантного захисту в щурів з неповною глобальною ішемією мозку / М. М. Сащук, С. С. Ткачук // Клінічна та експериментальна патологія. – 2004. – Т. III, № 2, Ч. 2. – С. 340-342. (Здобувач самостійно здійснив дослідження, статистичну обробку, підготовку матеріалів до друку).

2. Сашук М. М. Вікові особливості впливу неповної глобальної ішемії мозку на морфометричні параметри тимоцитів у самців щурів / М. М. Сашук // Клінічна та експериментальна патологія. – 2006. – Т. V, № 1. – С. 81-87.

3. Сашук М. М. Відсоткове співвідношення тимоцитів у структурно-функціональних зонах загруднинної залози та їх денситометрична характеристика в щурів різного віку з відстроченими наслідками неповної глобальної ішемії мозку / М. М. Сашук // Клінічна та експериментальна патологія. – 2006. – Т. V, № 2. – С. 79-89.

4. Сашук М. М. Реорганізація структури лімфоїдної популяції виличкової залози неповною глобальною ішемією мозку та її корекція емоксипіном в експерименті / М. М. Сашук, С. С. Ткачук // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2006. – Т. 5, № 3. – С. 45-51. (Здобувачем проведено експериментальні втручання, статистичну обробку та підготовку матеріалів до друку).

5. Сашук М. М. Експериментальне обґрунтування ефектів неповної глобальної ішемії мозку на функціональний стан катехоламінвмісних структур тимуса та їх корекції емоксипіном у щурів різного віку / М. М. Сашук, С. С. Ткачук, В. Ф. Мислицький // Буковинський медичний вісник. – 2006. – Т. 10, № 4. – С. 233-235. (Здобувачем проведено експериментальні втручання, статистичну обробку та підготовку матеріалів до друку).

6. Сашук М. М. Ефективність емоксипіну при корекції морфометричних та патобіохімічних порушень стану тимуса за неповної глобальної ішемії мозку в щурів різного віку мозку / М. М. Сашук // Клінічна та експериментальна патологія. – 2006. – Т. V, № 3. – С. 67-78.

7. Сашук М. М. Структурні особливості процесів ліпопероксидації та антиоксидантного захисту в загруднинній залозі щурів різних вікових груп з каротидною ішемією / М. М. Сашук, С. С. Ткачук // Від фундаментальних досліджень – до прогресу в медицині : матеріали наук.-практ. конф. з міжнародною участю, присвяченої 200-річчю з дня заснування Харківського державного медичного університету, 17-18 січня 2005 р. : матеріали конф. – X., 2005. – С. 52. (Здобувач здійснив дослідження, статистичну обробку, підготовку матеріалів до друку).

8. Сашук М. М. Вплив емоксипіну на показники морфофункціонального стану тимуса при неповній глобальній ішемії мозку в щурів різних вікових груп / М. М. Сашук, С. С. Ткачук // Клінічна анатомія та оперативна хірургія : (Актуальні питання вікової анатомії та ембріотопографії) : матеріали Всеукраїнської наук. конф. – 2006. – Т. 5, № 2. – С. 55. (Здобувачем проведено експериментальні втручання, статистичну обробку та підготовку матеріалів до друку).

9. Сашук М. М. Вікові особливості морфофункціональної реакції тимуса на неповну глобальну ішемію мозку / М. М. Сашук // Актуальні питання імунології, алергології та ендокринології : навчально-методична нарада завідувачів кафедр і курсів клінічної імунології та алергології і регіональна наук.-практ. конф. України, 10-11 трав. 2006 р. : матеріали конф. – Чернівці, 2006. – С. 70-71.

10. Сащук М. М. Вплив неповної глобальної ішемії мозку на морфофункціональний стан тимуса в щурів різних вікових груп / М. М. Сащук, С. С. Ткачук // XI Конгрес Світової Федерації Українських Лікарських Товариств, 28-30 серп. 2006 р. : тези доп. – Полтава, 2006. – С. 642. (Здобувачем проведено експериментальні втручання, статистичну обробку та підготовку матеріалів до друку).

11. Сащук М. М. Вікова характеристика функціонального стану біоамінівмісних структур тимуса при неповній глобальній ішемії мозку / М. М. Сащук, С. С. Ткачук, В. Ф. Мислицький // Здобутки клінічної і експериментальної медицини : XLIX підсумкова наук.-практ. конф., 2 черв. 2006 р. : матеріали конф. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2006. – С. 170-171. (Здобувачем проведено експериментальні втручання, статистичну обробку та підготовку матеріалів до друку).

12. Сащук М. М. Вплив неповної глобальної ішемії мозку на морфофункціональний стан вилочкової залози самців щурів різного віку / М. М. Сащук // Фізіологічний журнал : (XVII з'їзд Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю, 18-20 трав. 2006 р.) : матеріали з'їзду. – Чернівці, 2006. –Т. 52, № 2. – С. 127.

## АНОТАЦІЯ

**Сащук М.М. Вікові аспекти імунологічної дизрегуляції при неповній глобальній ішемії мозку в самців-щурів. – Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. – Державний вищий навчальний заклад “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського” МОЗ України, Тернопіль, 2008 р.

У дисертації представлено результати дослідження вікових особливостей імунологічної дизрегуляції, яка виникає в самців-щурів під впливом неповної глобальної ішемії головного мозку та можливостей застосування для корекції її проявів емоксипіну.

Показано, що неповна глобальна ішемія головного мозку у всіх структурно-функціональних зонах тимуса тварин обох вікових груп спричиняє зміни сумарної щільності тимоцитів, їх морфометричних та денситометричних параметрів, перерозподіл у структурі лімфоїдної популяції. За показниками структури лімфоїдної популяції, найбільш чутливими до неповної глобальної ішемії головного мозку є субкапсулярна та глибока кіркова зони тимуса тварин обох вікових груп, а вплив ішемії мозку на морфометричні параметри різних форм тимоцитів найбільш суттєвий у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах тимуса тварин обох вікових груп та медулярній зоні залози тримісячних щурів.

Встановлено, що впродовж постнатального онтогенезу відбувається зміна пріоритетності різних зон тимуса, що містять катехоламіни, у реагуванні на ішемію мозку, яка порушує інтраімунічні взаємовідносини катехоламінмісних структур залози.

Незалежно від віку тварин, на шостий день після неповної глобальної ішемії головного мозку в різних структурно-функціональних зонах тимуса виявлено ознаки виснаження прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу.

Емоксипін має антиішемічні ефекти щодо більшості досліджених параметрів у всіх структурно-функціональних зонах тимуса тварин обох вікових груп, за винятком мозкової, де переважають проішемічні впливи препарату.

Отримані результати обґрунтовують доцільність застосування за умов ішемічного пошкодження головного мозку не лише нейропротекторної, а й залежної від віку імюнокорегувальної терапії.

**Ключові слова:** неповна глобальна ішемія мозку, тимус, нейроімунна дизрегуляція, вікові особливості.

## АННОТАЦІЯ

**Сащук Н.Н. Возрастные аспекты иммунологической дизрегуляции при неполной глобальной ишемии мозга у самцов крыс. – Рукопись.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.04 – патологическая физиология. – Государственное высшее учебное заведение «Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского» МОЗ Украины, Тернополь, 2008 г.

В диссертации представлены результаты исследования возрастных особенностей иммунологической дизрегуляции, возникающей у самцов крыс под влиянием неполной глобальной ишемии головного мозга и возможностей использования для коррекции ее проявлений препарата эмоксипина.

Работа выполнена на одно- и трехмесячных самцах белых лабораторных крыс. Неполную глобальную ишемию головного мозга моделировали путем двустороннего 20-минутного клипсования общих сонных артерий. Части крыс в первые три минуты по окончании ишемического периода, а затем ежедневно, в течение пяти дней внутрибрюшинно вводили эмоксипин в дозе 5 мг/кг. Влияние неполной глобальной ишемии головного мозга на морфофункциональное состояние тимуса оценивали по изменениям общей плотности тимоцитов в структурно-функциональных зонах железы, структуры лимфоидной популяции тимуса, морфометрических и денситометрических параметров тимоцитов, содержания катехоламинов, продуктов перекисного окисления липидов и активности антиоксидантных ферментов.

Проведенные исследования позволили установить, что неполная глобальная ишемия головного мозга в одномесячных крыс повышает суммарную плотность неизмененных и деструктивных тимоцитов во всех структурно-функциональных зонах вилочковой железы, за

исключением медуллярной, в которой этот показатель снижался. У трехмесячных крыс после данного вмешательства во всех структурно-функциональных зонах железы суммарная плотность неизменных тимоцитов возрастает, а деструктивных (за исключением медуллярной зоны) – снижается. Ишемическое повреждение головного мозга приводит к утрате возрастных различий плотности нормальных лимфоцитов в субкапсулярной зоне и внутридольковых периваскулярных пространствах и углубляет их в глубокой корковой зоне.

Наиболее существенные возрастные отличия конститутивных параметров структуры лимфоидной популяции касаются малых тимоцитов, плотность которых в субкапсулярной, глубокой корковой зонах тимуса преобладает в одномесячных крыс, а во внутридольковых периваскулярных пространствах и медуллярной зоне – у трехмесячных.

Показано, что после неполной глобальной ишемии головного мозга происходит перераспределение в структуре лимфоидной популяции тимуса животных обеих возрастных групп, вследствие чего превалирование малых тимоцитов, характерное для контрольных животных, становится еще более существенным во всех структурно-функциональных зонах тимуса, за исключением медуллярной зоны железы трехмесячных крыс. Неполная глобальная ишемия головного мозга расширяет диапазон возрастных отличий, характерных для контрольных животных.

По показателям структуры лимфоидной популяции тимуса наиболее чувствительными к неполной глобальной ишемии головного мозга являются субкапсулярная и глубокая корковая зоны животных обеих возрастных групп, а влияние ишемии мозга на морфометрические параметры разных классов тимоцитов наиболее существенно во внутридольковых периваскулярных пространствах тимуса животных обеих возрастных групп и медуллярной зоне трехмесячных крыс.

Обнаружены качественные возрастные отличия реагирования катехоламинсодержащих структур тимуса на неполную глобальную ишемию головного мозга, заключающиеся в отсутствии постишемических изменений интенсивности флюоресценции катехоламинов в медуллярной зоне железы одномесячных крыс при снижении этого показателя у трехмесячных. Показано, что после неполной глобальной ишемии головного мозга в большинстве структурно-функциональных зон тимуса одно- и трехмесячных животных снижается содержание продуктов липопероксидации и активность антиоксидантных ферментов.

Установлено, что во всех структурно-функциональных зонах тимуса животных обеих возрастных групп, за исключением медуллярной, эмоксипин проявляет преимущественно антиишемические эффекты по отношению к большинству исследованных параметров морфофункционального состояния железы. В медуллярной зоне железы препарат либо не влияет на последствия ишемии головного мозга, либо оказывает проишемическое действие.

Полученные результаты обосновывают целесообразность применения при ишемическом повреждении головного мозга не только нейропротекторной, но и зависимой от возраста иммунокорректирующей терапии.

**Ключевые слова:** неполная глобальная ишемия мозга, тимус, нейроиммунная дизрегуляция, возрастные особенности.

## ANNOTATION

**Saschuk M.M. Age-related aspects of immunologic dysregulation in case of incomplete global cerebral ischemia in male rats. – Manuscript.**

The thesis for obtaining the academic degree of a Candidate of Medical Sciences in speciality 14.03.04 – Pathologic Physiology. – State Higher Educational Establishment "I. Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University" of Ukraine's THP, Ternopil, 2008.

The dissertation deals with the results of investigating the age-related peculiarities of immunological dysregulation which arises in male rats under the influence of incomplete global cerebral ischemia and a possibility of using Emoxipin to correct its manifestations.

Incomplete global cerebral ischemia in all the structural-functional zones of the thymus of the animals of both groups has been shown to cause a change of the total density of thymocytes, a redistribution in the lymphoid population structure, change of the morphometric and densitometric parameters of thymocytes.

Based on the indices of the structure of the thymic lymphoid population the most sensitive to incomplete global cerebral ischemia is the subcapsular and deep cortical zones of the thymus of the animals of both age groups, whereas the influence of cerebral ischemia on the morphometric parameters of diverse forms of thymocytes is the most essential in the intralobular perivascular spaces of the thymus of the animals of both age groups and the medullary zone of three month old rats.

It has been ascertained that throughout postnatal ontogenesis there occurs a change of the priority of different zones of the thymus that contain catecholamines in responding to cerebral ischemia which disturbs the intrathymic interrelations of catecholamine-containing structures.

Irrespective of the animals' age the signs of exhaustion of prooxidant-antioxidant homeostasis are revealed on the sixth day after incomplete global cerebral ischemia in various structural-functional zones of the thymus, except the cerebral one where the proischemic effects of the medication predominate.

The obtained findings substantiate the expediency of using not only neuroprotective therapy, but immunocorrective one as well under conditions of an ischemic injury of the brain.

**Key words:** incomplete global cerebral ischemia, thymus, neuroimmune dysregulation, age-related peculiarities.