

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

ТКАЧУК ОЛЕКСІЙ ВОЛОДИМИРОВИЧ

616.45 – 001.1/3 – 092.001.6

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

14.03.04 — патологічна фізіологія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Тернопіль - 2005

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Буковинському державному медичному університеті МОЗ України.

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор
Мислицький Валентин Францович,
Буковинський державний медичний
університет МОЗ України,
професор кафедри фізіології

Офіційні опоненти:

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

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

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

Захист відбудеться 28 жовтня 2005 р. о 14 год на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 58.601.01 у Тернопільському державному медичному університеті імені І.Я Горбачевського МОЗ України (46001, м.Тернопіль, Майдан Волі, 1)

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Тернопільського державного медичного університету імені І.Я.Горбачевського МОЗ України (46001, м.Тернопіль, вул. Руська, 12)

Автореферат розісланий 23 вересня 2005 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
доктор медичних наук, професор

Я.Я.Боднар

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Останнє десятиліття ознаменувалося зростанням інтересу до вивчення ролі імунних процесів у центральних механізмах регуляції фізіологічних функцій у нормі та при різноманітних патологічних станах. Пояснюється це тим, що імунологічна недостатність є постійним супутником багатьох негативних впливів на організм, тобто, неспецифічного адаптаційного синдрому (Н.Г. Арцимович, А.В. Корнев, 2004). В основі адекватної реакції нейроімуноендокринної системи на різноманітні впливи лежать двосторонні зв'язки між окремими її ланками (И.Г. Акмаев, 2000; И.Г. Акмаев, В.В. Гриневич, 2001; N. Hilschmann et al., 2003). Вони здійснюються шляхом впливу системних гормонів на клітини імунної системи, тоді як цитокіни, які секретуються імунокомпетентними клітинами, беруть участь у регуляції різноманітних нейроендокринних функцій (M. Levite, 2000; G. Fingerle-Rowson, R. Bucala, 2001; И.Ю. Пиванович и др., 2004). Різноманітні інтерлейкіни та рецептори до них виявлено в гіпоталамусі, гіпокампі, перегородці, стріатумі, корі мозку, таламусі, мозочку та ін. (В.В. Абрамов и др., 2001; F. Aloisi et al., 2001). Надзвичайної уваги заслуговують ефекти інтерлейкінів на нейромедіаторні та нейропептидні системи мозку, які є провідними в нейроімунній інтеграції (T. Katafuchi, 2002).

Накопичено факти, котрі свідчать про безпосередню участь імунних медіаторів у розвитку центральних механізмів стрес-реакції (E. Ferrari et al., 2000). Є цілий ряд робіт, які демонструють односпрямований вплив інтерлейкінів і стресу на нейрогормональні та поведінкові реакції (М.В. Робинсон, В.А. Труфакин, 1999; В.А. Черешнев и др., 2002; А.Н.Кравцов, А.Е. Умрюхин, 2004).

Актуальність теми. Особлива роль у реалізації нейроімуноендокринних взаємодій належить тимусу, котрий будучи центральним органом імунної системи, водночас є й ендокринним органом, який синтезує низку біологічно активних речовин пептидної природи. Тимічні фактори мають суттєвий вплив на нейроендокринні функції (H.G. Durkin, B.H. Waksman, 2001). Про це свідчать ті факти, що відсутність тимуса чи неонатальна тимектомія стають причиною дегенеративних змін у гіпофізі, наднирниках, щитоподібній та статевих залозах, а також зниження рівня АКТГ, кортикостероїдів, β -ендорфіну в плазмі крові тварин (W. Savino et al., 1998, W. Savino, M. Dardenne, 2000). Участь нейроендокринних чинників у регуляції функцій системи імунітету, зокрема тимуса, не менш значна (B.B. Ruzicka, H. Akil, 1995; A.V. Turnbull, C.L. River, 1999). Особливо виражений вплив на функціональний стан імунокомпетентних клітин мають гормони гіпоталамо-гіпофізарно-адреналової системи (W. Savino et al., 1999). АКТГ у низьких дозах стимулює імунні реакції, модулюючи функції Т- та В-лімфоцитів і макрофагів, а у високих – пригнічує антитілоутворення, продукцію цитокінів Т-клітинами (H. Besedovsky, A. Del Rey, 1999).

Якщо постстресорні нейроімуноендокринні зміни в дорослому організмі є оборотними, то наслідки дії стресу впродовж ранніх періодів індивідуального розвитку, як правило, довготривалі, а деякі з них носять необоротний характер (А.Г. Резников и др., 2002, 2004; В.П. Пішак та ін., 2002). Саме тому серед стрес-зумовлених патологій синдром пренатального стресу, який розвивається в нащадків при дії стресорів на організм вагітної самки, займає особливе місце.

Дані літератури про порушення імунного статусу в людей і тварин із синдромом пренатального стресу в даний час практично не виходить за межі констатації різних їх проявів (Н.В. Соболюк и др., 1997; G. Kay et al., 1998; В.П. Огурцов и др., 2004). Разом з тим, численні нейрохімічні та ендокринні модифікації, які лежать в основі виникнення даного синдрому, неминуче повинні спричиняти дизрегуляцію імунних процесів. Важливими аргументами на користь можливості імпринтингових порушень функціонування тимуса є його пренатальна реактивність до дії різноманітних чинників середовища, екзогенних глюкокортикоїдів і деяких інших гормонів (D.J. Dudley, 1999), а також здатність до експресії їх рецепторів (E. Kittraki et al., 1997; C.N. Levelt et al., 1998; Y. Choi et al., 2001; Y. Zhao et al., 2002).

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

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана в Буковинському державному медичному університеті та є фрагментом планової міжкафедральної фундаментальної наукової роботи "Дослідження порушень водно-електролітного обміну, закономірностей центральних стресіндукованих та ішемічних дисфункцій, паренхіматозно-стромального дисбалансу при ушкодженні внутрішніх органів за умов впливу екологічно несприятливих чинників з розробкою шляхів корекції виявлених патологічних змін" (№ державної реєстрації 0104U009029). У рамках даної тематики автором досліджено механізми імунологічної дизрегуляції в самців-щурів із синдромом пренатального стресу. Тема дисертації затверджена на засіданні вченої ради Буковинського державного медичного університету 26 грудня 2002 р. (протокол №5), а також Проблемною комісією "Патологічна фізіологія та імунологія" 20 лютого 2003 року (протокол № 25).

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

Задачі дослідження:

1. Вивчити вплив пренатального стресу на вміст циклічних нуклеотидів у структурно-функціональних зонах вилочкової залози.

2. З'ясувати реакцію катехоламінвмісних структур тимуса на гострий та хронічний іммобілізаційний стрес у контрольних та пренатально стресованих щурів.

3. Дослідити вплив пренатального стресу на показники пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у структурно-функціональних зонах тимуса та їх реактивність до дії хронічного іммобілізаційного стресу.

4. Вивчити вплив пренатального стресу на структуру лімфоїдної популяції тимуса, морфометричні та денситометричні характеристики тимоцитів та чутливість цих показників до дії хронічного іммобілізаційного стресу.

5. Дослідити вміст β -ендорфіну та серотоніну в лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку й рівні тиреотропного гормону, тироксину, трийодтироніну та пролактину в плазмі крові контрольних та пренатально стресованих щурів після хронічного уведення Т-активіну.

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

Об'єкт дослідження: механізми нейроімуноендокринної взаємодії.

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

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

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше отримано дані щодо здатності пренатального стресу впливати на онтогенез цАМФ та цГМФ у тимусі щурів і показано диференціальну структурну чутливість різних зон залози до дії пренатального стресу за даними показниками. Встановлено, що гострий іммобілізаційний стрес стимулює реактивність катехоламінвмісних структур тимуса контрольних та пренатально стресованих тварин із більш

слабкою реакцією амінопоглиначів у останніх, а хронічна іммобілізація виснажує катехоламіновий резерв залози, особливо в глибокій кортикальній зоні дослідних тварин. Доведено, що пренатальний стрес модифікує конститутивні та стрес-індуковані показники прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в тимусі, переводячи його на інший, здебільшого нижчий рівень функціонування. Показано, що пренатальний стрес призводить до перерозподілу загальної щільності клітин лімфоїдної популяції, а також окремих субпопуляцій тимоцитів у межах структурно-функціональних зон тимуса, та модифікує реактивність деяких показників морфо-функціонального стану залози до дії хронічного іммобілізаційного стресу. Виявлено, що екзогенні тимічні пептиди впливають на вміст β -ендорфіну в окремих лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку контрольних тварин за принципом негативного або позитивного зворотного зв'язку (залежно від структури), а пренатальний стрес обмежує ці впливи мигдалеподібним комплексом. Продемонстровано пригнічувальний вплив тимічних пептидів на вміст серотоніну у всіх досліджених структурах та порушення цих зв'язків під впливом пренатального стресу. Показано здатність пренатального стресу модифікувати вплив Т-активіну на функціонування гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдної системи та секрецію пролактину. Встановлено модифікуючий вплив пренатального стресу на окремі конститутивні та стрес-індуковані показники фібрино- й протеолітичної активності в досліджених структурах мозку.

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

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

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

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

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно підібрана та проаналізована література з проблеми дослідження, виконано всі експериментальні втручання на тваринах, проведена статистична обробка отриманих результатів, написання розділів дисертаційної роботи та публікацій, сумісно з керівником сформульовано основні положення та висновки.

За безпосередньою участю дисертанта виконано біохімічні та імуноферментні дослідження.

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

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

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертації оприлюднено та обговорено на: Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій пам'яті проф. Шостаковської І.В. (Львів, 2002), УІ з'їзді Всеукраїнського лікарського товариства (Чернівці, 2001), Міжнародній науково-практичній конференції "Екологічні проблеми міст і промислових зон: шляхи їх вирішення" (Львів, 2003), науково-практичній конференції з міжнародною участю "Фізіологія регуляторних систем", присвяченій 90-й річниці з дня народження проф. Я.Д.Кіршенבלата (Чернівці, 2003), Всеросійських конференціях з міжнародною участю "Нейроендокринологія - 2003" та "Нейроендокринологія - 2004" (Санкт-Петербург, 2003, 2004), IV Національному Конгресі патофізіологів України з міжнародною участю (Чернівці, 2004), 58-й та 59-й науково-практичних конференціях студентів та молодих вчених Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця з міжнародною участю (Київ, 2003, 2005), 84-й, 85-й підсумкових конференціях професорсько-викладацького складу БДМУ.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 21 наукову роботу (8 статей у фахових наукових журналах, 13 – у матеріалах і тезах конференцій).

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається зі вступу, 7 розділів, висновків, переліку використаних джерел, додатків. Роботу викладено на 206 сторінках комп'ютерного тексту, проілюстровано 7 рисунками, 48 таблицями. Список використаних джерел налічує 336 найменувань, із них 161 надруковано кирилицею й 175 – латиницею. Бібліографічний опис джерел літератури та додатки викладені на 53 сторінках.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріал і методи дослідження. Робота виконана на тримісячних самцях білих лабораторних щурів із фіксованою датою народження. Експериментальний пренатальний стрес-синдром моделювали шляхом щоденної одноденної жорсткої іммобілізації самок на спині з 15-го по 21-й день вагітності. Початком вагітності вважали наступний день після еструсу за умов виявлення сперматозоїдів у вагінальних мазках (А.Г. Резников, 1998). Із самців, народжених самками, які зазнавали іммобілізації, формували дослідні групи. Потомки самок, які не перебували під впливом стресорів, склали контрольні групи. Усього використано 224 тварини.

По досягненню трьох місяців частину тварин дослідної та контрольної груп піддавали дії гострого або хронічного іммобілізаційного стресу, після чого вивчали показники морфофункціонального стану тимуса.

Для вивчення взаємозв'язків тимуса та нейроендокринних чинників застосовували препарат Т-активін (природний комплекс тимічних пептидів, виділених із тимуса великої рогатої худоби), який має суттєвий вплив на імуноендокринні взаємовідносини (О.Г. Буторина, 1996; В.В. Калугин, 2001).

Т-активін вводили впродовж п'яти днів (внутрішньоочеревинно, у дозі 5 мкг/кг маси тіла, щоденно). Контрольним щурам вводили адекватний об'єм розчинника.

Усі втручання та забори тварин проводилися паралельно в дослідних та контрольних групах зранку, натще, з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985), ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2000). Комісією з питань біоетики Буковинського державного медичного університету (протокол №1 від 13.06. 2005 р) порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не вивлено.

Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації. Мозок та тимус швидко виймали на холоді й одразу занурювали в рідкий азот. Робили кріостатні зрізи мозку, виділяли перегородку мозку (ПМ), преоптичну ділянку (ПОД), медіобазальний гіпоталамус (МБГ) та мигдалеподібний комплекс (МК), ідентифікуючи їх за атласом стереотаксичних координат (J.F. König, P.A. Klippel, 1963).

Вивчення структури лімфоїдної популяції тимуса, абсолютної кількості клітин (на 1 мм² площі залози) та відносної щільності розподілу кожного класу клітин у межах окремих зон залози (%), морфометричних та денситометричних характеристик тимоцитів виконували на випадково відібраних зрізах різних частин органа, пофарбованих гематоксилін-еозином, за допомогою комп'ютерної системи цифрового аналізу зображення VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина). Ідентифікація клітин в отриманому зображенні проводилася в автоматичному режимі за допомогою пакета прикладних програм VIDAS-2.5 (Kontron Elektronik, Німеччина). Основними

морфометричними характеристиками лімфоїдних клітин були їх площа, периметр, максимальний і мінімальний діаметри, а додатковими - коефіцієнти форми, елонгації та еквівалентний діаметр. Як денситометричні характеристики клітин було обрано їх абсолютну та питому оптичну щільність, що також визначалися в автоматичному режимі. Для проведення математичного класифікаційного аналізу використовували мікроскоп Axioskop (Zeiss, Німеччина) та систему цифрового аналізу зображення VIDAS 2.5 (Kontron Elektronik, Німеччина), у результаті чого було виділено 9 класів клітин лімфоїдної популяції вилочкової залози: 1-й клас - лімфобласти; 2-й клас - лімфобласти з ознаками деструкції; 3-й клас – великі лімфоцити; 4-й клас – великі лімфоцити з ознаками деструкції; 5-й клас - середні лімфоцити; 6-й клас - середні лімфоцити з ознаками деструкції; 7-й клас - малі лімфоцити; 8-й клас - малі лімфоцити з ознаками деструкції; 9-й клас - лімфоцити в стані апоптозу.

Конститутивний та індукований Т-активіном вміст β -ендорфіну й серотоніну в ПМ, ПОД, МБГ та МК визначали відповідно наборами "Inc Star" (США) та "Serotonine" ("Immunotech", Франція) згідно з надами інструкціями. У гомогенатах епітеліальної та внутрішньої зон кіркової речовини, премедулярної зони та мозкової речовини тимуса вивчали вміст цАМФ та цГМФ наборами фірми "Amersham", (Англія), а рівень ТТГ, T_3 , T_4 та ПРЛ у плазмі крові – наборами фірми "Хьюмен" (Німеччина). Визначення катехоламінів у тимусі проводили за методом Фалька-Овмена у модифікації А.Ю.Буданцева (1978). У гомогенатах структурно-функціональних зон тимуса визначали вміст дієнових кон'югатів (ДК), малонового альдегіду (МА) (И.Ф. Мещишен, 1991; В.М. Магальяс та ін., 2001), активність супероксиддисмутази (СОД) (R. Fried, 1975; N. Nashikimi et al., 1972), каталази (КТ) (М.А. Королук и соавт., 1988), глутатіонпероксидази (ГПО) (И.Ф. Мещишен, 1991).

Протеолітичну активність у гомогенатах структур мозку визначали за лізисом азоальбуміну, азоказеїну та азоколу (К.Н. Веремеєнко и др., 1988), інтенсивність фібринолізу – за лізисом азофібрину (О.Л. Кухарчук, 1996). В усіх дослідженнях використано реактиви Simko Ltd, Україна.

Отримані експериментальні дані 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 Стьюдента. Статистично вірогідними вважали зміни при $P \leq 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Найвищим конститутивним вмістом цАМФ та цГМФ у контрольних тварин характеризувалися премедулярна та епітеліальна зони кіркової речовини тимуса (табл.1).

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

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

Примітка: * - вірогідність змін стосовно показників у інтактних тварин

Пренатальний стрес спричинив зниження вмісту цАМФ та циклазного індексу в епітеліальній зоні у 2,4 та 2 рази відповідно. У внутрішній зоні кіркової речовини відбулося зростання вмісту цАМФ в 1,3 раза та циклазного індексу у 2,5 раза, а в премедулярній зоні вміст цАМФ знизився вдвічі, цГМФ – зріс в 1,5 раза, внаслідок чого знизився циклазний індекс. Нечутливою до дії пренатальних стресорних впливів за вивченими показниками виявилася мозкова речовина тимуса. Отримані дані свідчать, що пренатальний стрес має довготривалі наслідки на вміст циклічних нуклеотидів у тимусі.

Пренатальний стрес не вплинув на конститутивну інтенсивність флуоресценції катехоламінів (табл.2).

Вплив гострого та хронічного іммобілізаційного стресу на інтенсивність флуоресценції катехоламінів у тимусі щурів ($M \pm m$, $n=8$)

Група	Інтенсивність флуоресценції катехоламінів, умовні одиниці
-------	---

спостереження	конститутивний показник	перша доба іммобілізації	сьома доба іммобілізації
епітеліальна зона кіркової речовини			
Контрольні	140±1,85	282±2,30 p<0,005	75,4±0,74 p<0,005 p ₁ <0,005
Пренатально стресовані	143±1,22	197±3,08 p ₁ <0,01 p ₂ <0,005	43,6±1,70 p ₂ <0,005 p ₃ <0,005
внутрішня зона кіркової речовини			
Контрольні	105±2,70	67,2±0,60 p<0,05	44,6±1,58 p<0,05 p ₁ <0,05
Пренатально стресовані	101±1,95	72,3±1,84 p ₁ <0,005 p ₂ <0,005	73,2±1,72 p ₂ <0,005 p ₃ <0,005
премедулярна зона			
Контрольні	202±2,4	259±3,6 p<0,05	106±2,38 p<0,005 p ₁ <0,005
Пренатально стресовані	191±2,79	262±2,08 p ₂ <0,05	153±1,42 p ₂ <0,005 p ₃ <0,005
мозкова речовина			
Контрольні	67,2±1,22	104,2±3,04 p<0,025	43,7±1,31 p<0,05 p ₁ <0,05
Пренатально стресовані	71,3±2,88	108,3±3,30 p ₂ <0,05	32,7±0,31 p ₂ <0,005 p ₃ <0,005

Примітки: вірогідність змін у порівнянні з показниками в: - p – контрольних тварин; p₁ - контрольних тварин після гострої іммобілізації; p₂ – пренатально стресованих тварин; p₃ – пренатально стресованих тварин після гострої іммобілізації

Після гострої іммобілізації контрольних тварин відбулося вірогідне підвищення рівня катехоламінів як в амінопродуцентах (премедулярна зона, в 1,3 раза) так і в амінопоглиначач (субкапсулярні клітини, у 2 рази). Суттєвіше підвищення в останній зоні в сукупності з медіаторним збідненням кіркової речовини свідчить про більш значну активацію амінопоглиначів у порівнянні з амінопродуцентами. У мозковій зоні тимуса однократна іммобілізація також спричиняла зростання інтенсивності флуоресценції в 1,6 раза.

У тварин із синдромом пренатального стресу реакція катехоламінів на гостру іммобілізацію відрізнялася від контрольних показників лише кількісно.

Після хронічної іммобілізації у всіх структурних зонах тимуса контрольних та дослідних тварин інтенсивність флуоресценції катехоламінів значно знижувалася в порівнянні як із конститутивними показниками, так і з тими, які мали місце після гострої іммобілізації. Виняток становила внутрішня зона кіркової речовини щурів із пренатальним стрес-синдромом, де різниці між показниками після першої та останньої іммобілізації не виявлено. Незважаючи на однакове спрямування змін, що виникали внаслідок хронічного іммобілізаційного стресу в контрольних та дослідних тварин, у субкапсулярній зоні та мозковій речовині щурів із пренатальним стрес-синдромом зниження вмісту катехоламінів було значно суттєвішим, а в премедулярній – менш вираженим. Отже, пренатальний стрес викликає якісні та кількісні модифікації реакції біоамінвмісних структур тимуса на іммобілізаційний стрес.

За показниками інтенсивності ліпопероксидації та антиоксидантного захисту реакція морфологічних зон тимуса на хронічний іммобілізаційний стрес у контрольних тварин мала індивідуальні прояви, які, у цілому, свідчать про помірні зміни прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу.

Пренатальний стрес модифікував антиоксидантну активність у глибокій корі тимуса (активність КТ зросла, а ГПО – знизилася), премедулярній зоні (паралельне зниження вмісту МА та активності КТ), мозковій речовині (зростала активність СОД та знижувалася – ГПО).

Порівняльний аналіз наслідків хронічного іммобілізаційного стресу для тимуса контрольних та пренатально стресованих тварин свідчить, що в останніх є ряд особливостей. По-перше, у більшості випадків має місце значно нижчий рівень функціонування прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в цілому. По-друге, більш виражені зміни після хронічного стресорного навантаження мають місце в системі антиоксидантного захисту в порівнянні з інтенсивністю ліпопероксидації, що прийнято вважати ознакою зниження ємності системи обмеження стрес-реакції.

Реакція лімфоїдної популяції тимуса та морфофункціональних параметрів тимоцитів на стресогенні чинники є важливим критерієм оцінки впливу гормонів стресу на імуногенез (Ю.Я. Гріневич та ін., 2004).

У пренатально стресованих тварин сумарна щільність незмінених лімфоцитів у субкапсулярній та глибокій кірковій зонах тимуса була нижчою, а у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах та медулярній зоні – вищою, ніж у контрольних тварин. У всіх відділах залози, за винятком глибокої кіркової, зростала також сумарна щільність деструктивних лімфоцитів.

Імобілізація підвищила сумарну щільність нормальних тимоцитів у всіх зонах вилочкової залози контрольних щурів, за винятком медулярної, у котрій цей показник знижувався. Щільність деструктивних клітин зменшувалася в глибокій корі та медулярній зоні.

У пренатально стресованих тварин імобілізація спричинила суттєве зростання щільності нормальних клітин лімфоїдної популяції в субкапсулярній зоні та глибокій корі, однак воно було значно нижчим, ніж у контрольних. Крім того, у субкапсулярній зоні тварин дослідної групи на відміну від контрольних відбулося зниження щільності клітин, які мали ознаки деструкції. Таким чином, у цих відділах залози, за показниками сумарної щільності клітин, реактивність тимуса тварин дослідної групи була нижчою, ніж у контролі.

Що стосується структури лімфоїдної популяції (табл.3), у субкапсулярній та глибокій кірковій зонах, які забезпечують диференціювання та становлення автотолерантності тимоцитів, під впливом пренатального стресу відбулося зниження щільності малих лімфоцитів. У медулярній зоні та внутрішньочасточкових периваскулярних просторах, які забезпечують міграцію лімфоцитів за межі тимуса, щільність малих лімфоцитів зростала. Крім того, у мозковій речовині зростала також щільність середніх лімфоцитів, що може свідчити про деяке сповільнення антигензалежного дозрівання тимоцитів.

Після імобілізації контрольних тварин у всіх зонах, за винятком медулярної, значно зростає щільність малих лімфоцитів при зниженні щільності великих, середніх тимоцитів, а в деяких випадках і лімфобластів. У медулярній зоні домінують середні лімфоцити, а щільність малих знижується, що є підтвердженням їх посиленої міграції за межі залози. Ця закономірність справджується при аналізі постімобілізаційного відсоткового розподілу субпопуляцій лімфоцитів – відсоток малих лімфоцитів суттєво зростає у всіх зонах, за винятком медулярної, в якій переважають середні лімфоцити.

Постімобілізаційні зміни структури лімфоїдної популяції та відсоткового розподілу різних форм лімфоцитів у пренатально стресованих тварин при подібності реакції з боку ідентичних субпопуляцій тимоцитів до контрольної були менш вираженими. Крім того, у глибокій корі тварин дослідної групи на імобілізацію реагували лише середні та малі лімфоцити, а в медулярній - головним чином малі лімфоцити. На відміну від контрольних тварин не виявлено вірогідних постстресорних змін у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах.

Постстресорні зміни морфометричних параметрів тимоцитів у тварин із синдромом пренатального стресу також мали значні відмінності від тих, що спостерігалися в контрольних. Особливо вираженими ці відмінності були щодо малих лімфоцитів всіх зон залози, великих та середніх лімфоцитів внутрішньочасточкових периваскулярних просторів та медулярної зони.

Отже, пренатальний стрес викликав численні кількісні і якісні модифікації показників реактивності тимуса щодо тих нейроендокринних збурень, котрими супроводжується дія іммобілізаційного стресу.

Тимус є важливою ланкою в ендокринній системі організму та впливає на гормональну активність інших залоз внутрішньої секреції. Саме тому було досліджено вплив тимічних пептидів на окремі нейрохімічні, нейропептидні та біохімічні показники стану лімбіко-гіпоталамічних структур мозку.

Таблиця 3

Структура лімфоїдної популяції в окремих зонах загруднинної залози контрольних та пренатально стресованих щурів після іммобілізації ($M \pm m$)

Класи клітин лімфоїдної популяції	Субкапсулярна зона	Глибока кора	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</u> 500±51,3
Малі лімфоцити	<u>8129±182</u> 778±63,4	<u>10782±253</u> 1108±59,2	<u>9255±263</u> 578±49,1	<u>7233±232</u> 682±47,9
Апоптотичні клітини	203±34,8	392±39,6	273±37,1	149±28,0
Іммобілізація контрольних				
Лімфобласти	<u>678±49,4^a</u> 416±41,3	<u>992±46,7^a</u> 498±50,8	<u>919±58,6</u> 427±46,5	<u>881±65,3</u> 266±31,5 ^a
Великі лімфоцити	<u>3462±127^a</u> 1028±67,3	<u>3408±120^a</u> 1131±71,9	<u>3648±133</u> 982±73,3	<u>3435±147^a</u> 894±71,8

Середні лімфоцити	<u>4684±140</u> 704±53,3	<u>4196±1310^a</u> 809±57,2	<u>4853±186^a</u> 672±58,3	<u>6446±198^a</u> 499±57,1
Малі лімфоцити	<u>10631±303^a</u> 783±58,4	<u>13754±232^a</u> 729±47,1 ^a	<u>12724±360^a</u> 593±54,1	<u>6396±334^a</u> 622±50,6
Апоптотичні клітини	261±35,7	335±39,5	249±34,5	130±24,6
Пренатальний стрес				
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±58,6	<u>5504±152</u> 666±55,6	<u>6263±168^a</u> 588±53,2
Малі лімфоцити	<u>7070±201^a</u> 874±623	<u>9755±196^a</u> 1095±73,6	<u>10553±211^a</u> 803±58,6 ^a	<u>8626±257^a</u> 540±47,6 ^a
Апоптотичні клітини	223±31,7	254±32,3 ^a	305±35,7	139±27,4
Імобілізація пренатально стресованих				
Лімфобласти	<u>849±58,9</u> 441±41,9	<u>792±44,9</u> 480±44,1	<u>840±60,0</u> 416±45,4	<u>1028±60,7</u> 415±40,4
Великі лімфоцити	<u>3661±116^b</u> 960±74,9 ^b	<u>3342±115</u> 1087±74,0	<u>3723±149</u> 1019±70,3	<u>4562±120^b</u> 957±63,3
Середні лімфоцити	<u>4643±141^b</u> 725±53,5	<u>4954±143^b</u> 903±62,8	<u>5665±201</u> 740±49,6	<u>5890±141</u> 486±46,4
Малі лімфоцити	<u>9425±280^b</u> 740±52,6	<u>11448±256^b</u> 1047±68,9	<u>9920±325</u> 619±51,9 ^b	<u>4909±195^b</u> 463±43,6
Апоптотичні клітини	275±31,4	353±41,7	220±31,5	97±20,9

Примітки: вірогідність змін щодо показників – а – у контрольних тварин; b – у тварин із синдромом пренатального стресу; у чисельнику – питома щільність нормальних клітин, у знаменнику – клітин з ознаками деструкції (на 1 мм² залози)

Уведення Т-активіну контрольним тваринам викликало суттєве зниження вмісту β-ендорфіну в ПОД і МК (на 55% і 67% відповідно, p<0,005) та підвищення - в МБГ (на 39%, p<0,005). У тварин із синдромом пренатального стресу реакція нейропептиду в ПОД та МБГ на введення Т-активіну була відсутньою, а його зниження в МК - менш значим (53%, p<0,01). Отже, пренатальний стрес модифікує функціональні взаємозв'язки між пептидами тимуса та β-ендорфінергічною системою лімбіко-гіпоталамічних структур.

T-активін викликав зниження вмісту СТ на 56%, 51%, 32%, 21% ($p < 0,05$) у перегородці, преоптичній ділянці, медіобазальному гіпоталамусі та мигдалику контрольних тварин. Ми вважаємо, що реакція СТ-ергічної системи мозку на тимічні пептиди свідчить про існування негативного зворотного зв'язку між цими чинниками. У щурів із синдромом пренатального стресу зниження вмісту СТ відбулося лише в ПОД і МБГ (на 40% та 29% відповідно, $p < 0,05$), що свідчить про втрату зворотного зв'язку між тимічними пептидами та СТ-ергічними системами ПМ й МК мозку під впливом пренатального стресу.

Концепція двосторонніх зв'язків між нейроендокринною та імунною системами базується на основі здатності тимічних факторів модулювати продукцію гормонів. Дослідження ендокринних корелятив впливу T-активіну ми провели за вмістом ТТГ, T_4 , T_3 та ПРЛ.

У контрольних тварин після уведення T-активіну відбулося вірогідне зростання рівня ТТГ, T_3 , T_4 та ПРЛ (в 2,5, 1,7, 2,6, 2,8 раза відповідно). Це свідчить, що тимічні пептиди стимулюють функцію гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдної системи та секрецію ПРЛ.

Пренатальний стрес модифікував ефект T-активіну за рахунок суттєвого (в 3,2 раза, $p < 0,005$) зниження вмісту T_3 . Інвертована щодо контролю реакція на препарат, імовірно, зв'язана з периферійними механізмами конверсії T_4 в T_3 . Про це свідчить збережена реакція на тимічні пептиди ТТГ та T_4 .

Іншим проявом модулювального впливу пренатального стресу на імуоендокринні взаємовідносини є вдвічі ($p < 0,01$) вища реактивність пролактину на уведення T-активіну в щурів дослідної групи.

Модифікована реакція трийодтироніну та пролактину на тимічні пептиди у тварин із пренатальним стрес-синдромом свідчить, що пренатальний стрес порушує імуоендокринні взаємовідносини.

Між імунним статусом організму та фібринолітичною активністю існують тісні взаємозв'язки (Н.О. Гарська, 2000; Б.И. Кузник и др., 2004).

У наших дослідженнях уведення T-активіну контрольним тваринам викликало неоднозначні зміни – у ПМ та ПОД всі показники фібринолітичної активності зростали, в ядрах МК – знижувалися, у МБГ неферментативна фібринолітична активність зростала, а ферментативна та сумарна – знижувалися. Таким чином, можна дійти висновку, що тимічні пептиди мають структурну вибірковість дії на тканинний фібриноліз.

Вплив пренатального стресу на конститутивні показники фібринолітичної активності був найбільш стабільним по відношенню до її ферментативної складової, яка зазнала модифікацій у ПМ, МБГ, МК. Узагальнюючи дані щодо реакції показників фібринолітичної активності на уведення T-активіну у тварин із пренатальним стрес-синдромом, можна сказати, що вона була більш обмеженою, ніж у контрольних щурів.

У контрольних тварин на введення Т-активіну реагували показники протеолітичної активності в ПМ, ПОД та, в меншій мірі, МК. Найбільшою чутливістю до дії пренатального стресу за даними параметрами характеризувалася ПОД, а ПМ та МК були зовсім нечутливими. Пренатальний стрес також якісно модифікує реакцію протеолітичних систем ПМ, ПОД та МК на введення Т-активіну, що свідчить про залежність цих структур від функціонального стану тимуса.

Сукупність отриманих даних дозволяє конкретизувати окремі ланки патогенезу нейроімуноендокринної дизрегуляції та її структурні основи при синдромі пренатального стресу в самців щурів.

ВИСНОВКИ

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

1. Пренатальний стрес модифікує конститутивний вміст цАМФ в усіх структурних зонах вилочкової залози, за винятком мозкової речовини, а цГМФ – лише в премедулярній зоні, що свідчить про переважання цАМФ-залежної трансдукції сигналу впродовж пренатального періоду онтогенезу тимуса.
2. Пренатальний стрес не впливає на конститутивні показники інтенсивності флуоресценції катехоламінів у всіх зонах тимуса, проте на 30% ($p < 0,01$) послаблює реакцію катехоламінів на гострий іммобілізаційний стрес у субкапсулярній зоні та усуває реакцію на хронічний іммобілізаційний стрес у внутрішній зоні кіркової речовини.
3. Модифікуючий вплив пренатального стресу на конститутивні показники інтенсивності ліпопероксидації та/або антиоксидантного захисту проявляється у всіх структурно-функціональних зонах тимуса за винятком субкапсулярної. За наслідками хронічної іммобілізації пренатальний стрес має більший вплив на ферменти антиоксидантного захисту, ніж на показники інтенсивності ліпопероксидації.
4. Пренатальний стрес знижує загальну щільність клітин лімфоїдної популяції в субкапсулярній, глибокій кірковій зонах та збільшує – у медулярній зоні, внутрішньочасточкових периваскулярних просторах тимуса, головним чином за рахунок відповідних змін у субпопуляції малих лімфоцитів.
5. У контрольних тварин хронічна іммобілізація збільшує загальну щільність лімфоцитів у субкапсулярній зоні, глибокій корі, внутрішньочасточкових периваскулярних просторах та знижує – у медулярній зоні, а також призводить до перерозподілу в структурі лімфоїдної популяції. Пренатальний стрес модифікує показник загальної щільності та реакцію малих лімфоцитів у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах.

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

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

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

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

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

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ РОБІТ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

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

2. Ткачук О.В. Особливості функціональних взаємовідносин між серотонінергічними системами лімбіко-гіпоталамічних структур мозку та вилочковою залозою в щурів з пренатальним стрес-синдромом // Клінічна та експериментальна патологія - 2004. – Т.ІІІ, № 1. – С. 82-84.

3. Ткачук О.В. Модифікація вмісту циклічних нуклеотидів у виличковій залозі самців-щурів пренатальними стресорними впливами // Клінічна та експериментальна патологія. - 2004. – Т.ІІІ, № 2, Ч.1. – С. 167-169.
4. Ткачук О.В. Особливості впливу тимічних пептидів на стан фібрино- та протеолітичної активності в структурах мозку щурів з синдромом пренатального стресу // Клінічна та експериментальна патологія. - 2004. – Т.ІІІ, № 3, – С. 85-89.
5. Ткачук О.В. Особливості процесів ліпопероксидації та антиоксидантного захисту у загруднинній залозі щурів із пренатальним стрес-синдромом //Науковий вісник Ужгородського університету. Серія "Медицина".– 2004.– Вип. 23. – С. 29-31.
6. Ткачук О.В., Мислицький В.Ф., Данилюк А.В., Злотар О.В. Особливості функціональної взаємодії гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдної системи й пролактину з виличковою залозою в самців щурів з синдромом пренатального стресу // Буковинський медичний вісник. -2004. -Т.8, №3-4. - С. 288-290. (Дисертант самостійно здійснив дослідження, статистичну обробку, підготовку матеріалів до друку).
7. Ткачук О.В., Мислицький В.Ф. Вплив гострого та хронічного іммобілізаційного стресу на реакцію біоамінівмісних структур тимуса контрольних та пренатально стресованих самців щурів // Клінічна та експериментальна патологія.- 2004.– Т.ІІІ, № 4.– С. 73-76. (Здобувачем самостійно проведено експериментальні втручання, статистичну обробку та підготовку матеріалів до друку).
8. Ткачук О.В. Модифікація стрес-індукованих змін морфогенезу лімфоїдної популяції загруднинної залози пренатальними стресорними впливами // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія "Медицина". – 2005. – Вип. 23. – С. 29-31.
9. Ткачук О.В. Пренатальна стресова модифікація реактивності тимуса в самців щурів // Клінічна та експериментальна патологія.- 2005.– Т.ІV, № 1– С. 98-103.
10. Ткачук О.В., Ткачук В.В. Особливості стрес-протекторних взаємовідносин β -ендорфінергічної системи виличкової залози та мелатоніну у щурів з синдромом пренатального стресу // Українські медичні вісті. - 2001. – Т.4, Число 1(62) // УІ з'їзд Всеукраїнського лікарського товариства. - Чернівці, 2001. - С. 109. (Дисертант самостійно здійснив дослідження, статистичну обробку та аналіз одержаних результатів).
11. Ткачук О.В., Філіпова Л.О., Мислицький В.Ф. Деякі нейроімуноендо-кринні прояви синдрому пренатального стресу// Ендокринологія. – 2001. – Т.6, додаток. – С. 299 // Матеріали УІ з'їзду ендокринологів України. – Київ, 2001. (Здобувачем самостійно проведено експериментальні втручання, статистичну обробку та аналіз одержаних результатів).
12. Ткачук О.В., Філіпова Л.О., Мислицький В.Ф., Соломатіна М.О. Модифікуючий вплив пренатального стресу на участь простаноїдів мозку в стрес-реакції //Запорожский медицинский

журнал. – 2002.- Т.13, № 3. – С.51. (Автор самостійно здійснив дослідження, статистичну обробку та аналіз одержаних результатів, підготовку матеріалів до друку).

13. Ткачук О.В. Роль ГАМК в обмеженні проявів синдрому пренатального стресу //Матеріали міжнародної конференції, присвяченої пам'яті проф. Шостаковської І.В. – Львів, 2002. – С. 81.

14. Філіпова Л.О., Ткачук О.В., Соломатіна М.О. Функціональний стан щитоподібної і вилочкової залози при дії несприятливих чинників довкілля // Матеріали міжнародної конференції, присвяченої пам'яті проф. Шостаковської І.В. – Львів, 2002.– С. 84. (Дисертант самостійно здійснив експериментальну частину роботи, статистичну обробку та аналіз одержаних результатів).

15. Ткачук О.В. Деякі показники нейроімуноендокринного статусу в самців щурів з синдромом пренатального стресу // Екологічні проблеми міст і промислових зон: шляхи їх вирішення / Тези доповідей Міжнародної конференції студентів і молодих вчених. – Львів: Сполом, 2003. – С. 137-138.

16. Ткачук О.В. Особливості взаємодії нейропептидних механізмів лімбіко-гіпоталамічних структур мозку та тимічних пептидів у самців з синдромом пренатального стресу // Тези міжнародної наукової конференції "Гомеостаз: фізіологія, патофізіологія, фармакологія і клініка".- Одеса, 2003.– С.61.

17. Ткачук О.В. Профілактика порушень гормонального статусу та статевої поведінки в самців з синдромом пренатального стресу //Тези 58 науково-практичної конференції студентів та молодих вчених Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця з міжнародною участю "Актуальні проблеми сучасної медицини". – Киев, 2003. – С. 101.

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

19. Філіпова Л.О., Олійник І.Ю., Ткачук О.В. Вплив солей свинцю на стан систем фібринолізу й протеолізу в загруднинній залозі // Буковинський медичний вісник.- 2004.- Т.8, №. 3-4.- С. 325-326. (Автором здійснено експериментальні втручання, статистичну обробку).

20. Ткачук О.В. Особливості впливу тимічних пептидів на деякі ендокринні показники у самців з синдромом пренатального стресу // Тези 59-ї науково-практичної конференції студентів та молодих вчених Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця "Актуальні проблеми сучасної медицини". – Киев, 2005. – С. 145.

21. Ткачук О.В. Інтраімунні особливості реакції циклічних нуклеотидів на дію пренатального стресу // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 200-річчю з дня заснування Харківського державного медичного університету "Від фундаментальних досліджень – до прогресу в медицині".– Харків, 2005.– С.61.

АНОТАЦІЯ

Ткачук Олексій Володимирович. Патогенетичні основи нейрохімічної та імунологічної дизрегуляції в самців щурів із синдромом пренатального стресу. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. – Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, 2005 р.

Дисертація присвячена вивченню патогенетичних ланок нейроімуноендокринної дизрегуляції у самців-щурів із синдромом пренатального стресу.

На основі вивчення впливів пренатального стресу на систему циклічних нуклеотидів (цАМФ та цГМФ) у тимусі, реакцію структурно-функціональних зон тимуса контрольних та пренатально стресованих самців-щурів на іммобілізаційний стрес за показниками інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів, активності ферментів антиоксидантного захисту, інтенсивності флуоресценції катехоламінів, змін структури лімфоїдної популяції, морфометричних і денситометричних характеристик тимоцитів дійшли висновку, що стресорні впливи впродовж пренатального онтогенезу суттєво модифікують реактивність тимуса до дії несприятливих чинників у постнатальному періоді.

Дослідження зворотних зв'язків між тимусом та нейроендокринною системою, проведене шляхом п'ятиденного уведення комплексу тимічних пептидів Т-активіну показало, що пренатальний стрес порушує характер двосторонніх зв'язків між серотонінергічною, β -ендорфінергічною системами лімбіко-гіпоталамічних структур і тимічними пептидами, викликає довготривалу модифікацію функціонування зворотного зв'язку в системі тимічні пептиди – гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдна вісь та посилює вплив тимічних пептидів на секрецію пролактину.

Отримані дані мають значення для розуміння природи нейроімуноендокринних модифікацій при дії несприятливих чинників в період раннього онтогенезу та на дорослий організм і можуть лягти в основу розробок практичних рекомендацій для вагітних щодо запобігання стресорним пошкодженням нейроімуноендокринної системи плода.

Ключові слова: пренатальний стрес, іммобілізаційний стрес, тимус, нейроімуноендокринна система.

АННОТАЦИЯ

Ткачук Алексей Владимирович. Патогенетические основы нейрохимической и иммунологической дизрегуляции у самцов крыс с синдромом пренатального стресса. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.04 – патологическая физиология. – Тернопольский государственный медицинский университет им. И.Я. Горбачевского МОЗ Украины, Тернополь, 2005 г.

Диссертация посвящена изучению патогенетических звеньев нейроиммуноэндокринной дизрегуляции у самцов крыс с синдромом пренатального стресса.

Исследования проводились на трехмесячных самцах белых лабораторных крыс с фиксированной датой рождения. Моделирование пренатального стресс-синдрома осуществляли путем ежедневной одночасовой иммобилизации самок в течение последней недели беременности.

На основании изучения влияний пренатального стресса на систему циклических нуклеотидов (цАМФ и цГМФ) в тимусе установлено, что пренатальный стресс влияет преимущественно на онтогенез цАМФ. Путем использования у контрольных и пренатально стрессированных крыс иммобилизационного стресса, как активатора многих нейроэндокринных механизмов, показано, что пренатальный стресс ослабляет реакцию катехоламинсодержащих клеток субкапсулярной зоны тимуса на острую иммобилизацию и устраняет реакцию на хроническую иммобилизацию во внутренней зоне коркового вещества. Использование хронического иммобилизационного стресса показало, что во всех структурно-функциональных зонах тимуса за исключением субкапсулярной, пренатальный стресс модифицирует показатели прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза, в большей степени за счет активности антиоксидантных ферментов. Пренатальный стресс вызывает также разнонаправленные изменения конститутивных показателей общей плотности клеток лимфоидной популяции во всех зонах тимуса, преимущественно за счет субпопуляции малых лимфоцитов, морфометрических параметров тимоцитов, их оптической плотности, а также модифицирует реакцию малых лимфоцитов на хроническую иммобилизацию во внутридольковых периваскулярных пространствах, морфометрические и денситометрические показатели отдельных субпопуляций лимфоидных клеток во всех зонах железы.

Исследование обратных связей между тимусом и нейроэндокринной системой путем пятидневного введения Т-активина - комплекса тимических пептидов, имеющего, по данным литературы, значительное влияние на нейроэндокринные показатели, позволило установить, что у контрольных животных препарат снижает содержание β -эндорфина в преоптической области и миндалевидном комплексе и повышает его в медиобазальном гипоталамусе, осуществляя свои эффекты в мозге по принципу как up- так и down-регуляции. У животных с синдромом пренатального стресса влияние Т-активина сохраняется только в перегородке мозга и миндалевидном комплексе.

У контрольных животных Т-активин имеет однонаправленное (отрицательное) влияние на содержание серотонина во всех исследованных структурах, что свидетельствует о наличии

обратной связи между этими факторами, а у крыс с пренатальным стресс-синдромом влияние препарата в перегородке мозга и миндалевидном комплексе утрачивается. Таким образом, пренатальный стресс нарушает характер двусторонних связей между серотонинэргической, β -эндорфинэргической системами лимбико-гипоталамических структур и тимическими пептидами.

Состояние иммуноэндокринных взаимоотношений характеризовали по влиянию Т-активина на содержание в плазме крови тиротропина, тетраiodтиронина, трийодтиронина и пролактина. У контрольных животных последствия введения Т-активина заключались в повышении уровня всех исследованных гормонов. Пренатальный стресс вызывает инверсию реакции трийодтиронина на введение препарата и усиливает его влияние на секрецию пролактина.

Влияние Т-активина на тканевую фибрино- и протеолитическую активность в мозге характеризуется структурной избирательностью, которая нарушается под воздействием стресса материнского организма во время беременности.

Полученные данные способствуют пониманию природы нейроиммуноэндокринных модификаций при неблагоприятных воздействиях в период раннего онтогенеза и на взрослый организм и могут лечь в основу формирования практических рекомендаций для беременных по предупреждению стрессорных повреждений нейроиммуноэндокринной системы плода.

Ключевые слова: пренатальный стресс, иммобилизационный стресс, тимус, нейроиммуноэндокринная система.

ANNOTATION

Tkachuk Olexii Volodymyrovych. Pathogenetic Principles of Neurochemical and Immunologic Dysregulation in Male Rats with the Syndrome of Prenatal Stress. – Manuscript.

Dissertation for the scientific degree of the Candidat of Medicine by speciality 14.03.04 – Pathologic Physiology.– I.Ya.Horbachevsky State Medical University of Ukraine, Ternopol, 2005.

The dissertation deals with a study of pathogenetic components of neuroimmunoendocrine dysregulation in male rats with the syndrome of prenatal stress.

A conclusion has been arrived at to the effect that stressor impacts during the prenatal period of ontogenesis essentially modify the reactivity of the thymus in response to the action of unfavorable factors. It has been made on the basis of studying the effects of prenatal stress on the system of cyclic nucleotides (cAMP and cGMP) in the thymus, the reaction of the structural-functional zones of the thymus of control and prenatally stressed male rats to immobilization stress according to the parameters of the intensity of lipid peroxidation, the activity of the enzymes of antioxidant defense, the intensity of monoamin fluorescence, changes of the lymphoid population structure, morphometric and densitometric characteristics of thymocytes.

An investigation of the feedbacks between the thymus and neuroendocrine system carried out by means of a five day introduction of a complex of thymic peptides of T-activin has demonstrated that prenatal stress impairs the character of bilateral bonds between the serotonergic, β -endorphinergic systems of the limbic-hypothalamic structures and thymic peptides, causes a prolonged modification of the feedback functioning in the system of the thymic peptides – hypothalamo-hypophysial-thyroid axis and intensifies the effect of thymic peptides on the prolactin secretion.

The obtained findings are of significance for the purpose of understanding the nature of neuroimmunoendocrine modifications under the action of unfavorable factors during the period of early ontogenesis and on the adult organism and may be assumed as a basis of worked out practical recommendations for pregnant women for the purpose of avoiding stress injuries of the fetal neuroendocrinal system.

Key words: prenatal stress, immobilization stress, thymus, neuroimmunoendocrine system.