

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ТЕРНОПІЛЬСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ
ім. І.Я.ГОРБАЧЕВСЬКОГО**

ШИМКІВ ОКСАНА ДМИТРІВНА

УДК 616.831-005.4-092

**ОНТОГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ ОКРЕМИХ ЛАНОК
ПАТОГЕНЕЗУ ІШЕМІЧНИХ УШКОДЖЕНЬ
ГІПОКАМПА ЩУРІВ**

14.03.04 — патологічна фізіологія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Тернопіль - 2004

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Буковинській державній медичній академії МОЗ України.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор
Ткачук Світлана Сергіївна,
Буковинська державна медична академія МОЗ України,
професор кафедри нормальної фізіології

Офіційні опоненти:

- доктор медичних наук, професор **Файфура Василь Васильович,**
Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України, завідувач
кафедри патологічної фізіології
- доктор медичних наук, старший науковий співробітник
Маньковська Ірина Микитівна, Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця
НАН України, завідувач відділу з вивчення гіпоксичних станів

Провідна установа: Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН
України, лабораторія нейрогормональної регуляції кровообігу, м. Київ

Захист дисертації відбудеться 21 травня 2004 р. о 14 год на засіданні спеціалізованої вченої ради
К 58.601.01 у Тернопільській державній медичній академії ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України
(46001, м. Тернопіль, Майдан Волі, 1)

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Тернопільської державної медичної академії ім.
І.Я. Горбачевського МОЗ України (46001, м. Тернопіль, вул. Руська, 12)

Автореферат розісланий 17 квітня 2004 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
доктор медичних наук, професор

Я.Я. Боднар

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Неухильне зростання дії шкідливих антропогенних чинників психосоціальної та техногенної природи перетворює життя сучасної людини на своєрідний стресорний континуум, який нерідко стає причиною ендогенних або стресорних захворювань, що складають одну з головних проблем сучасної медицини (В.Г. Шаляпина, 1996; М.Г. Пшенникова, 2000). Серед цієї так званої ендогенної патології провідне місце займає судинна.

Ріст розповсюдженості судинних захворювань, зафіксований протягом останніх років, зумовив збільшення частоти гострих порушень мозкового кровообігу (В.М. Пашковський, 1997; Т.С. Мищенко, 2001). Ішемія головного мозку, за даними ряду дослідників, складає більше 2/3 у структурі цереброваскулярних захворювань (Р.С. Мирзоян, 1995; Л.А. Дзяк, В.А. Голик, 1996; В.Д. Трошин и соавт., 2000). У більшості країн пострадянського простору, у тому числі й в Україні, інсульт посідає друге-третє місце в структурі загальної смертності населення та стає основною причиною інвалідизації і соціальної дезадаптації. Особливої уваги заслуговує те, що зростання даної патології має місце в осіб працездатного віку (И.Е. Гусев, 1999; А.С. Деев, И.В. Захарушкина, 1999, 2000).

Таким чином, процес ішемії мозку багато в чому є визначальним щодо рівня здоров'я і тривалості життя.

У перебігу ішемічного пошкодження розрізняють послідовні стадії власне ішемії, рециркуляції і відстрочених постішемічних змін мозку (Л.Д. Лукьянова, 2000; І.С. Магура, 2003). Незважаючи на величезну кількість досліджень механізмів ішемічно-реперфузійних пошкоджень мозку, досить мало робіт присвячено відстроченим наслідкам ішемії. У більшості випадків хронічна нейрональна відповідь на ішемію оцінюється за допомогою морфологічних методів визначення виживання нейронів у віддалені строки (В.В. Семченко и соавт., 2000; Г.Г. Скибо и соавт., 2002; В.А. Туманский, 2002), однак до цього часу практично відсутні роботи, в яких аналогічна оцінка здійснювалася б за допомогою функціональних тестів. Це створює певні труднощі для оцінки ефективності різних засобів корекції патологічного процесу. Саме тому останнім часом почалося активне вивчення причин цієї так званої відстроченої загибелі нейронів. Крім того, більшість сучасних досліджень, спрямованих на вивчення захворюваності на інсульт, проводиться без урахування вікових особливостей перебігу даної патології, хоча існуючі нечисельні дані свідчать про їх наявність (А.С. Деев, И.В. Захарушкина, 1999, 2000).

Сукупність цих мотивів зумовлює своєчасність та актуальність представленої роботи.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана в Буковинській державній медичній академії і є фрагментом фундаментальної пріоритетної наукової роботи центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії "Вивчити вікові особливості взаємозв'язку центральних і периферійних механізмів регуляції

імунологічної реактивності та гемокоагуляційного потенціалу в нормі і при ендо- та екзогенних інтоксикаціях" (№ державної реєстрації 0199U004598). Тема дисертаційної роботи затверджена вченою радою Буковинської державної медичної академії (протокол №11 від 27 червня 2002 року) та Проблемною комісією "Патологічна фізіологія та імунологія" (протокол №19 від 25 липня 2002 року). Здобувач є співвиконавцем даної наукової теми.

Мета дослідження. З'ясувати окремі механізми вікових особливостей селективної чутливості до ішемії полів гіпокампа та патогенетичних аспектів нейропротекторної дії емоксипіну.

Задачі дослідження. Для досягнення поставленої мети сформульовано наступні основні задачі:

1. Дослідити вираженість оксидативного стресу (окиснювальної модифікації білків, пероксидного окиснення ліпідів) та стан антиоксидантного захисту в окремих зонах гіпокампа тварин різних вікових груп у пізньому постішемичному періоді.

2. Продемонструвати вікові особливості відстроченого впливу каротидної ішемії на показники тканинного фібринолізу та протеолізу.

3. Вивчити особливості стану маркерних ферментів мембран – Na^+K^+ -АТФази та 5'-нуклеотидази – у гіпокампі щурів різного віку за умов ішемічно-реперфузійного пошкодження.

4. З'ясувати наявність відстроченої вікової реакції циклічних нуклеотидів на гостру ішемію.

5. Дослідити вікові та структурні особливості впливу емоксипіну на окремі біохімічні кореляти ішемічно-реперфузійних пошкоджень гіпокампа.

Об'єкт дослідження: неповна глобальна ішемія мозку.

Предмет дослідження: вікові особливості стану вільнорадикальних процесів, антиоксидантного захисту, фібринолізу, протеолізу, маркерних ферментів мембран, циклічних нуклеотидів у гіпокампі щурів за умов ішемічно-реперфузійного ураження.

Методи дослідження:

- стан вільнорадикального окиснення та антиоксидантного захисту досліджували шляхом визначення вмісту дієнових кон'югатів, малонового альдегіду, продуктів окиснювальної модифікації білків, активності супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази;

- зміни фібринолітичної активності визначали за інтенсивністю сумарного, неферментативного й ферментативного тканинного лізису азофібрину;

- стан протеолітичних систем оцінювали за інтенсивністю протеолітичної деградації низько-, високомолекулярних білків та колагену;

- функціональний стан мембран нейронів визначали за активністю Na^+ , K^+ -АТФази та 5'-нуклеотидази;

- стан системи внутрішньоклітинних посередників оцінювали за вмістом циклічних нуклеотидів – цАМФ та цГМФ;

- патогенетичне обґрунтування застосування емоксипіну як вторинного нейропротектора при ішемічно-реперфузійних пошкодженнях проводили на підставі дослідження його впливу на показники ліпопероксидації, окиснювальної модифікації білків, активності антиоксидантних ферментів, стану тканинного фібринолізу та протеолізу.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше проведене комплексне експериментальне дослідження вікових та структурних особливостей дезінтеграції біохімічних показників ліпопероксидації, антиоксидантного захисту, окиснювальної модифікації білків, стану маркерних ферментів мембран Na^+ , K^+ -АТФази та 5'-нуклеотидази, реакції циклічних нуклеотидів у гіпокампі щурів у пізньому постішемічному періоді дало змогу встановити наявність індивідуальних вікових рівнів стану проокисно-антиоксидантного гомеостазу для кожної зони гіпокампа. Продемонстровано наявність вікових особливостей відстрочених постішемічних біохімічних змін у різних полях гіпокампа. Доведено залежність індуцибельної інтенсивності ліпопероксидації та антиоксидантного захисту від вихідного стану даних показників та відсутність такої залежності для окиснювальної модифікації білків. Показано, що в одномісячних тварин у пізньому постішемічному періоді проокисно-антиоксидантна рівновага зберігається, переходячи на більш низький рівень функціонування, а в усіх структурах гіпокампа дорослих тварин вільнорадикальні процеси переважають над потужністю антиоксидантного захисту. Встановлено, що однією з причин селективної чутливості полів гіпокампа до ішемічно-реперфузійних пошкоджень є різний ступінь чутливості білків до дії вільних радикалів, про що свідчить неоднорідне накопичення продуктів окиснювальної модифікації білків. Виявлено виражені міжрегіонарні відмінності вихідної активності Na^+ , K^+ -АТФази та 5'-нуклеотидази в полях гіпокампа, а також міжрегіонарну та міжвікову різницю їх реагування на ішемічно-реперфузійне пошкодження. Вперше показано відсутність в одномісячних тварин відстроченої реакції циклічних нуклеотидів гіпокампа на ішемію-реперфузію при чітких її проявах у тварин тримісячного віку. Вперше виявлено, що у тварин тримісячного віку емоксипін посилює інтенсивність ліпопероксидації в окремих структурах гіпокампа. Встановлено структурну та вікову вибірковість дії емоксипіну на відстрочені наслідки ішемічно-реперфузійних пошкоджень із найбільш вираженою ефективністю в одномісячних тварин щодо зрушень процесів ліпопероксидації, активності антиоксидантних ферментів, окиснювальної модифікації білків, тканинного фібринолізу й протеолізу. Отримано нові дані щодо формування селективної чутливості зон гіпокампа до ішемічного впливу в онтогенезі.

Практичне значення одержаних результатів. Робота відноситься до фундаментальних досліджень. Отримані результати розширюють та поглиблюють існуючу уяву про механізми та

відстрочені наслідки ішемічно-реперфузійних пошкоджень, їх вікові та структурні особливості. Конкретизуються вікові аспекти біохімічних змін, які лежать в основі селективної чутливості зон гіпокампа до несприятливих чинників та біохімічні кореляти протекторної дії емоксипіну у тварин різних вікових груп. Продемонстровано негативні наслідки впливу емоксипіну у тварин старшої вікової групи щодо інтенсивності ліпопероксидації та активності антиоксидантних ферментів. Отримані дані мають значення для розуміння вікових та структурних особливостей перебігу ішемічно-реперфузійних пошкоджень головного мозку й демонструють необхідність урахування вікових аспектів дії корегуючих і превентивних антиішемічних засобів. Результати роботи можуть бути використані в навчальному процесі при викладанні нормальної та патологічної фізіології, нервових та дитячих хвороб, медичної хімії, фармакології, у роботі лабораторій науково-дослідних інститутів з відповідними науковими напрямками, при написанні підручників та монографій із зазначених галузей теоретичної медицини.

Результати досліджень впроваджено в навчальний процес у Львівському національному медичному університеті ім. Данила Галицького, Харківському державному медичному університеті, Тернопільській державній медичній академії ім. І.Я. Горбачевського, Івано-Франківській державній медичній академії, Кримському державному медичному університеті ім. С.І. Георгієвського, в роботу державного підприємства НДІ медико-екологічних проблем МОЗ України. За матеріалами досліджень отримано деклараційний патент на винахід "Спосіб моделювання глобальної ішемії мозку".

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно підібрана та проаналізована література з проблеми дослідження. Особисто виконано всі операційні втручання на тваринах, біохімічні дослідження, проведена статистична обробка отриманих результатів, написання розділів дисертаційної роботи та публікацій, сформульовано основні положення та висновки. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертантом виконано експериментальні дослідження, статистична обробка даних, підготовка матеріалів до друку.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертації оприлюднено на Міжнародній конференції, присвяченій пам'яті проф. І.В. Шостаковської (Львів, 2002), Міжнародній конференції студентів і молодих вчених "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), науково-практичній конференції молодих вчених з міжнародною участю "Кардіальний, церебральний та периферійний атеросклероз. Актуальні питання діагностики та лікування" (Івано-Франківськ, 2003), 58-й науково-практичній конференції студентів та молодих вчених Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця з міжнародною участю

"Актуальні проблеми сучасної медицини" (Київ, 2003), 83-й та 84-й підсумкових конференціях професорсько-викладацького складу БДМА.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 13 наукових робіт, з них 7 статей – у фахових наукових журналах, 5 – у матеріалах і тезах конференцій, 1 деклараційний патент на винахід.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 198 сторінках комп'ютерного тексту, складається з вступу, огляду літератури, характеристики матеріалів і методів досліджень, 5 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, рекомендацій щодо наукового й практичного використання здобутих результатів, списку використаних джерел, який включає 309 бібліографічних описів, та додатків. Робота ілюстрована 36 таблицями, шістьма рисунками. Обсяг ілюстрацій, таблиць, бібліографічного опису літературних джерел та додатків становить 45 сторінок.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріал і методи дослідження. Дослідження виконано на 286 безпородних білих самцях щурів віком один та три місяці. Вікові групи створено з урахуванням особливостей формування розмірів нейронів, мієлінізації відростків, формування та дозрівання медіаторних систем (С.Н. Оленев, 1978; В.Ф. Мыслицкий, 1990; Г.Б. Вайнштейн и др., 1996), вікової перебудови мозкового кровоносного русла та змін у ньому гемодинаміки (А. Nehlig, 1989; К.А. Шошенко и соавт., 1998) ендокринної регуляції, обміну речовин, хімічного складу тканин, від яких залежить вразливість даної тканини та її чутливість до ішемії (J. Koudelova et al., 1992, 1994).

За тиждень до початку досліджень визначали стійкість щурів до дії несприятливих чинників (Е.В. Коплик и соавт., 1995; К.В. Судаков, 1997). В експерименті використовували середньостійких тварин.

Моделювання неповної глобальної ішемії мозку проводили шляхом 20-хвилинного кліпсування загальних сонних артерій. У контрольних щурів виділяли судини без їх перетиснення. Евтаназію тварин виконували на шосту добу шляхом декапітації під легким ефірним наркозом. Обрані терміни спостереження базуються на даних літератури щодо відстрочених проявів ішемічно-реперфузійних пошкоджень мозку (В.В. Дрозд и соавт., 2000; Е.И. Гусев, В.И. Скворцова, 2001; А.И. Панасенко и соавт., 2002). Мозок швидко виймали на холоді й одразу занурювали в рідкий азот. Робили кріостатні зрізи, виділяли поля гіпокампа СА1, СА2, СА3 за методом М. Palkovits (1973), звіряючись з атласом стереотаксичних координат (N.M. Sherwood, P.S. Timiras, 1970). Критерієм вибору структур були дані літератури стосовно селективної чутливості різних відділів гіпокампа до ішемії (В.А. Барабой, Д.А. Сутковой, 1997; И.И. Абрамец, И.В. Комиссаров, 2001).

Екстракцію циклічних нуклеотидів проводили на мініколонках "Amprer SAX" ("Amersham", Великобританія), елюацію здійснювали розчином трихлороцтової кислоти. Визначення цАМФ та цГМФ виконували наборами "сАМР" і "сГМР" ("Amersham", Великобританія).

У гомогенатах полів гіпокампа визначали первинні (дієнові кон'югати) і вторинні (малоновий альдегід) продукти ліпопероксидації (И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили, 1977; В.А. Костюк и соавт., 1984; И.Ф. Мецишен, 1991), активність супероксиддисмутази (R. Fried, 1975; N. Nashikimi et al., 1972), каталази (М.А. Королюк и соавт., 1988), глутатіонпероксидази (И.Ф. Мецишен, 1991). Визначення продуктів окиснювальної модифікації білків проводили за кількістю 2,4-динітрофенілгідрозонів, отриманих при взаємодії 2,4-динітрофенілгідрозину з альдегідними й кетонними групами, утвореними в процесі окиснення білків у радикалах залишків аліфатичних амінокислот (И.Ф. Мецишен, 1998). Оптичну густину утворених динітрофенілгідрозонів нейтрального та основного характеру реєстрували при 370 і 430 нм відповідно. Вміст білка визначали за методом O. Lowry et al. (1951). Протеолітичну активність у гомогенатах гіпокампа визначали за лізисом азоальбуміну, азоказеїну та азоколу (К.Н. Веремеенко и др., 1988), інтенсивність фібринолізу – за лізисом азофібрину (О.Л. Кухарчук, 1996). В усіх дослідженнях використано реактиви Simko Ltd, Україна.

Активність Na^+ , K^+ -АТФази визначали за методом J. Robinson (1970), який оснований на зростанні кількості неорганічного фосфору (P_i) в ході реакції. Розрахунок активності 5'-нуклеотидази проводили за збільшенням у ході реакції неорганічного фосфору (S. Fiske, J. Subbarow, 1925; B. Israelsson, I. Tengrup, 1980).

Оскільки метою наших досліджень було вивчення віддалених наслідків ішемії, для їх корекції ми обрали препарат емоксипін, що відноситься до засобів вторинної нейропротекції, дія яких спрямована на переривання відстрочених механізмів пошкодження клітин (М.Д. Гаевый и др 1997; В.В. Юшкова, 1998; Е.И. Гусев, В.И. Скворцова, 2002). Емоксипін вводили внутрішньоочеревинно в дозі 5 мг/кг щоденно протягом 5 днів (М.Д. Гаевый и др., 1997; Е.И. Гусев, В.И. Скворцова, 2002). Евтаназію тварин проводили через 6 год після останньої ін'єкції препарату. Контрольним тваринам вводили розчинник у тому ж об'ємі та тим же способом.

Всі експериментальні дослідження та евтаназію тварин проводили з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985).

При математичній обробці результатів досліджень використано основні статистичні величини (середнє арифметичне, стандартна похибка середнього арифметичного, критерій Стьюдента, показник вірогідності P).

Результати досліджень та їх обговорення. У механізмах ішемічного пошкодження нейронів важливе місце відводять внутрішньоклітинному окиснювальному стресу (А.А. Fagoocui, 1998; И.И. Абрамец, И.В. Комиссаров, 2001; Е.И. Гусев, В.И. Скворцова, 2001). Тому ми розпочали дослідження з вивчення показників проокисно-антиоксидантного гомеостазу (табл. 1).

Отримані результати переконливо свідчать про наявність структурних особливостей показників конститутивного стану проокисно-антиоксидантної рівноваги в межах досліджених нами відділів мозку у тварин обох вікових груп.

Проведені дослідження показали також наявність міжвікової різниці конститутивних показників проокисно-антиоксидантного гомеостазу та її виражену регіонарну специфічність, ще більш яскраву, ніж у межах окремих вікових груп.

Відстрочені наслідки ішемії носили виражений регіонарний характер. Постішемичні зміни в полі СА1 одномісячних щурів полягали в суттєвому зниженні активності каталази та супероксиддисмутази при незмінних показниках ліпопероксидації (табл.1). У полі СА2 мало місце зниження вмісту дієнових кон'югатів та активності супероксиддисмутази. Реакція на ішемію в полі гіпокампа СА3 проявлялася практично рівномірним зниженням вмісту дієнових кон'югатів, малонового альдегіду, каталази та глутатіонпероксидази.

Таблиця 1

Вплив ішемії на вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у гіпокампі щурів (M±m, n=8)

Група спостереження	Вміст		Активність ферментів		
	дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка)	малонового альдегіду (нмоль/мг білка)	супероксиддисмутази (од/хв·мг білка)	каталази (мкмоль/хв·мг білка)	глутатіонпероксидази (нмоль G-SH/хв·мг білка)
одномісячні тварини					
поле СА1					
Контроль	10,83 ± 1,43	5,59 ± 0,23	6,31 ± 0,12	39,71 ± 1,91	8,57 ± 0,43
Ішемія	11,52 ± 0,61	4,95 ± 0,34	4,96 ± 0,44 p<0,01	33,84 ± 2,21 p<0,05	8,12 ± 0,62
поле СА2					
Контроль	19,89 ± 1,23	5,83 ± 0,37	5,49 ± 0,56	25,12 ± 2,00	5,00 ± 0,28
Ішемія	16,11 ± 1,17 p<0,05	5,5 ± 0,50	2,67 ± 0,23 p<0,005	21,61 ± 2,19	4,76 ± 0,40
поле СА3					

Контроль	31,38 ± 2,25	8,66 ± 0,78	4,20 ± 0,33	30,22 ± 2,34	7,22 ± 0,31
Ішемія	24,72 ± 1,81 p<0,05	6,49 ± 0,52 p<0,05	3,82 ± 0,35	20,12 ± 1,31 p<0,005	5,35 ± 0,44 p<0,005
тримісячні тварини					
поле СА1					
Контроль	15,64 ± 0,92 p _к #<0,01	4,57 ± 0,43 p _к #<0,01	5,88 ± 0,49	29,23 ± 1,98 p _к #<0,01	9,42 ± 0,82
Ішемія	13,12 ± 1,35	4,48 ± 0,31	4,95 ± 0,41	14,74 ± 1,28 p<0,005 p _і #<0,01	7,31 ± 0,47 p<0,05
поле СА2					
Контроль	11,69 ± 1,20 p _к #<0,01	6,53 ± 0,52	5,08 ± 0,45	42,04 ± 3,17 p _к #<0,01	8,83 ± 0,72 p _к #<0,01
Ішемія	15,96 ± 0,95 p<0,0125	5,24 ± 0,50	3,12 ± 0,32 p<0,005	21,56 ± 1,22 p<0,005	4,33 ± 0,32 p<0,005
поле СА3					
Контроль	23,25 ± 2,41 p _к #<0,05	5,38 ± 0,41 p _к #<0,01	4,31 ± 0,40	13,55 ± 1,09 p _к #<0,005	5,10 ± 0,46 p _к #<0,01
Ішемія	22,39 ± 1,09	5,59 ± 0,34	4,74 ± 0,35	13,95 ± 1,12 p _і #<0,01	4,11 ± 0,34 p _і #<0,01
Примітки: вірогідність постішемічних змін – p; вірогідність міжвікових змін конститутивного - p _к # та постішемічного - p _і # вмісту продуктів ліпопероксидації та активності антиоксидантних ферментів. Решта змін невірогідні.					

У тримісячних щурів відстрочені наслідки ішемії-реперфузії в полі СА1 полягали в зниженні активності глутатіонпероксидази та каталази на тлі незмінного вмісту продуктів ліпопероксидації (табл.1). Особливо вираженою відстроченою реакцією на ішемію у цій віковій групі тварин відрізнялося поле гіпокампа СА2, в якому зріс вміст дієнових кон'югатів при одночасному суттєвому зниженні активності антиоксидантних ферментів, що свідчить про глибокий дисонанс у взаємовідносинах між потужністю вільнорадикального окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту на користь першого. У полі СА3 довготривалих наслідків ішемічного порушення проокисно-антиоксидантної рівноваги в щурів даного віку не спостерігалось.

Ішемічне втручання нівелює міжвікову різницю інтенсивності ліпопероксидації в межах відповідних полів, притаманну контрольним тваринам. У той же час, за сукупними показниками, активність антиоксидантних ферментів після ішемії-реперфузії в полях СА1 та СА3 була вищою в

одномісячних тварин, а в полі СА2 вікова різниця не виявлена. Це свідчить, що постішемичні зміни інтенсивності ліпопероксидації не залежать від віку, а активність та потужність ферментативного антиоксидантного захисту вища в одномісячних тварин.

Пошкоджувальний вплив вільних радикалів на нервову тканину здійснюється за рахунок полідромних механізмів. Одним із них є окиснення білкових молекул. Проте, аналізуючи літературу з даної проблеми, ми не знайшли вікових характеристик стану вільнорадикального окиснення білків у мозковій тканині в пізньому постішемичному періоді.

За нашими даними, у полі СА1 одномісячних тварин мало місце постішемичне зниження продуктів основного характеру, а в тримісячних - зростання похідних як нейтрального, так й основного характеру (табл.2).

У полі СА2 постішемичні зміни окиснювальної модифікації білків у тварин обох вікових груп були односпрямованими та більш вираженими й полягали в значному зниженні вмісту альдегідо- та кетонпохідних як нейтрального, так й основного характеру в інфантильних щурів та нейтрального характеру - у старших. У полі СА3 ішемія не впливала на вміст модифікованих білків в одномісячних щурів та значно підвищувала їх рівень у тримісячних. Така неоднозначність вільнорадикального пошкодження білків у різних відділах гіпокампа знаходиться в повній відповідності з концепцією селективної чутливості структур мозку до ішемичного впливу.

У тварин обох вікових груп розподіл конститутивного вмісту всіх альдегідо- та кетонпохідних мав такий вигляд: СА1>СА2>СА3. Порівнюючи цей розподіл із постішемичними рівнями, можна стверджувати, що на відміну від ліпопероксидації, закономірної залежності між конститутивним та індукційним вмістом цих продуктів не було.

Вихідний рівень окисдованих форм протеїнів в усіх полях гіпокампа був значно вищим у молодших тварин, причому різниця у вмісті продуктів основного характеру була більш значною, ніж нейтрального. Це свідчить, що чутливість різних білків до дії вільних радикалів та/або активність внутрішньоклітинних протеаз суттєво змінюється з віком.

Таблиця 2

Вплив ішемії на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у гіпокампі тварин різних вікових груп (M±m, n=8)

Вік тварин	Група спостереження	Вміст альдегідо- та кетонпохідних	
		нейтрального характеру (о.о.г./г білка, 370 нм)	основного характеру (о.о.г./г білка, 420 нм)
СА1			
1 місяць	Контроль	40,32 ± 2,32	5,63 ± 0,38

	Ішемія	38,60 ± 1,96	4,05 ± 0,22 p<0,05
3 місяці	Контроль	31,01 ± 0,94 p _k #<0,05	3,01 ± 0,15 p _k #<0,05
	Ішемія	38,88 ± 1,61 p<0,05	4,15 ± 0,32 p<0,01
CA2			
1 місяць	Контроль	34,79 ± 0,95	3,73 ± 0,33
	Ішемія	27,38 ± 1,81 p<0,05	1,91 ± 0,37 p<0,05
3 місяці	Контроль	19,22 ± 0,39 p _k #<0,005	1,71 ± 0,22 p _k #<0,05
	Ішемія	22,91 ± 0,49 p<0,05 p _i #<0,05	1,96 ± 0,22
CA3			
1 місяць	Контроль	22,90 ± 1,39	2,17 ± 0,22
	Ішемія	19,59 ± 1,96	1,97 ± 0,07
3 місяці	Контроль	15,81 ± 0,54 p _k #<0,05	0,89 ± 0,10 p _k #<0,05
	Ішемія	23,12 ± 1,70 p<0,05	1,72 ± 0,29 p<0,05
Примітки: о.о.г. – одиниці оптичної густини; p - вірогідність постішемічних змін; p _k #, p _i # - вірогідність міжвікових змін конститутивного та постішемічного вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків відповідно. У решти випадків зміни невірогідні.			

Структурні відмінності постішемічного вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків у старших тварин значно зменшуються. Проте в інфантильних тварин міжрегіонарна різниця вмісту динітрофенілгідрозонів не лише зберігається, але в окремих випадках зростає, що підтверджує вікові особливості механізмів регуляції даних процесів.

Надмірна активація або пригнічення протеолізу та фібринолізу може лежати в основі розвитку багатьох патологічних процесів у центральній нервовій системі (Y. Kimura et al., 2000;

M.S. Lee et al., 2000). Тому аналіз постішемичних показників протео- та фібринолітичної активності в полях гіпокампа є суттєвим щодо з'ясування механізмів явища селективності.

Дослідження відстрочених ішемічно-реперфузійних ушкоджень показало, що в одномісячних тварин у всіх зонах гіпокампа фібринолітична активність зменшувалась. Показники протеолітичної активності носили більш індивідуальний характер для кожної структури, проте в полі CA1 та CA2 переважало їх зростання, у полі CA3 лізис низькомолекулярних білків знижувався, високомолекулярних – не змінювався, а колагену – зростав.

У тримісячних щурів фібринолітична активність вірогідних змін (зниження) зазнавала лише в полі CA1. Досить мозаїчною в щурів даної групи була картина протеолітичної активності – у полі CA1 переважало її зниження, у полі CA2 спостерігалось лише зниження колагенолізу, а в полі CA3 відбулося зростання лізису низькомолекулярних білків.

Отже, найбільш виражених змін у тварин обох вікових груп зазнали показники тканинного фібринолізу та протеолізу в полі гіпокампа CA1, проте вищою чутливістю до ішемії характеризувалися одномісячні тварини.

До найбільш небезпечних наслідків посилення вільнорадикальних процесів відносять порушення функціонування мембранних ферментів, у першу чергу, Na^+ , K^+ -АТФази та 5'-нуклеотидази (А.А. Капля, 1997; И.Н. Маньковская и соавт., 1997).

Конститутивні показники активності обох ферментів значно відрізнялися в межах досліджених зон гіпокампа (табл.3).

У тварин обох вікових груп активність Na^+ , K^+ -АТФази та 5'-нуклеотидази прогресивно зменшувалась в напрямку від поля CA1 до поля CA3. Така регіонарна різниця може бути однією з причин явища селективності.

Міжвіковий аналіз активності ферментів не виявив суттєвих відмінностей конститутивної активності Na^+ , K^+ -АТФази, а активність 5'-нуклеотидази була вірогідно нижчою в полі CA1 та CA3 одномісячних тварин.

Відстрочені наслідки впливу ішемії на активність Na^+ , K^+ -АТФази полягали в її зниженні в усіх досліджених полях гіпокампа тварин обох вікових груп, за винятком поля CA2 тримісячних тварин.

Незалежно від віку тварин у постішемичному періоді активність 5'-нуклеотидази в полях CA1 та CA3 зростала, а в полі CA2 - знижувалась.

Ішемія спричиняє появу міжвікових відмінностей активності Na^+ , K^+ -АТФази в полях CA1 та CA2, не притаманних контрольним тваринам. Генералізованого характеру та більшої виразності набуває також міжвікова різниця активності 5'-нуклеотидази - у полі CA1 більш виражене підвищення активності мало місце в тримісячних тварин, а в полі CA3 – в одномісячних.

Постішемичне зниження активності даного ферменту в полі СА2 було більш значущим в одномісячних тварин.

Таблиця 3

Вплив ішемії на активність Na^+K^+ -АТФази та 5'-нуклеотидази в гіпокампі щурів різних вікових груп ($M \pm m, n=8$)

Вік тварин	Поле	Характер впливу	Активність ферментів		
			АТФази (мкмоль P_i за хв / мг білка)	5'-нуклеотидази (мкмоль P_i за хв / мг білка)	
1 місяць	СА1	Контроль	0,39 ± 0,019	0,61 ± 0,015	
		Ішемія	0,30 ± 0,014 $p < 0,01$	0,88 ± 0,014 $p < 0,005$	
3 місяці		Контроль	0,39 ± 0,018	0,78 ± 0,016 $p_{\kappa\#} < 0,005$	
		Ішемія	0,22 ± 0,014 $p < 0,01$ $p_{i\#} < 0,005$	1,04 ± 0,01 $p < 0,005$ $p_{i\#} < 0,005$	
1 місяць		СА2	Контроль	0,28 ± 0,014	0,67 ± 0,013
			Ішемія	0,20 ± 0,015 $p < 0,005$	0,57 ± 0,012 $p < 0,005$
3 місяці	Контроль		0,29 ± 0,013	0,65 ± 0,012	
	Ішемія		0,26 ± 0,015	0,61 ± 0,011 $p < 0,05$	
1 місяць	СА3	Контроль	0,25 ± 0,012	0,53 ± 0,011	
		Ішемія	0,22 ± 0,011 $p < 0,05$ $p_{i\#} < 0,005$	0,84 ± 0,011 $p < 0,005$ $p_{i\#} < 0,005$	
3 місяці		Контроль	0,26 ± 0,013	0,57 ± 0,008 $p_{z\#} < 0,0125$	
		Ішемія	0,21 ± 0,014 $p < 0,05$	0,68 ± 0,010 $p < 0,005$ $p_{i\#} < 0,005$	

Примітки: p - вірогідність постішемичних змін; $p_{\kappa\#}$, $p_{i\#}$ - вірогідність міжвікових змін конститутивної та постішемичної активності ферментів відповідно.

Результати досліджень свідчать про існування виражених міжрегіонарних відмінностей вихідної активності Na^+ , K^+ -АТФази та 5'-нуклеотидази, а також міжрегіонарної та міжвікової різниці їх відстроченої реакції на ішемічно-реперфузійне пошкодження.

Ішемія запускає каскад внутрішньоклітинних регуляторних систем, спрямованих на зменшення пошкодження нейронів (М.О.Самойлов и соавт., 1992, 1994). З цієї причини безсумнівний інтерес представляє дослідження постішемічного діапазону та характеру зрушень їх активності.

Відмінності конститутивних рівнів циклічних нуклеотидів у досліджених полях гіпокампа мали місце у тварин обох вікових груп. В одномісячних тварин найвищий вміст цАМФ визначався в полі СА1, найнижчий – у полі СА2. Вірогідні відмінності конститутивного вмісту цАМФ мали місце між полями СА1 – СА2 та СА1 – СА3.

Розподіл конститутивного вмісту цГМФ у контрольних одномісячних тварин, а також цАМФ у тримісячних тварин можна представити таким чином: СА1>СА2>СА3.

Міжвікові відмінності конститутивного вмісту циклічних нуклеотидів були незначними й стосувалися поля гіпокампа СА1 і плазми крові для цАМФ та поля СА3 для цГМФ (рис.1). Тому не зовсім зрозумілими є яскраво виражені вікові відмінності в реакції на ішемію. В одномісячних тварин церебральні постішемічні зміни були відсутніми, за винятком зниження циклазного індексу в полі СА3. Системна реакція виражалася зростанням у плазмі крові цАМФ та цГМФ.

У тварин тримісячного віку мала місце постішемічна активація системи синтезу обох циклічних нуклеотидів. Регіонарні відмінності для цАМФ носили кількісний характер. Більш суттєві зміни торкалися вмісту цГМФ. Вони полягали в структурній реверсії максимальних значень нуклеотиду, розподіл якого набув такого вигляду: СА3>СА1>СА2. Циклазний індекс у полях СА1 та СА2 зменшився, а в полі СА3 - зріс.

Внаслідок того, що в одномісячних тварин ішемія не впливала на вміст циклічних нуклеотидів, а в тримісячних – стимулювала їх реакцію, постішемічний характер міжвікових взаємовідносин суттєво відрізнявся від контрольного. Вміст цАМФ у старших тварин став вищим в 2,9, 1,6 та 1,3 раза в полях СА1, СА2 й СА3 відповідно.

У порівнянні з контрольними тваринами постішемічна міжвікова різниця вмісту цГМФ у полі СА3 зменшилась, проте з'явилась у полях СА1 та СА2 (в обох випадках показник був вищим у старших тварин).

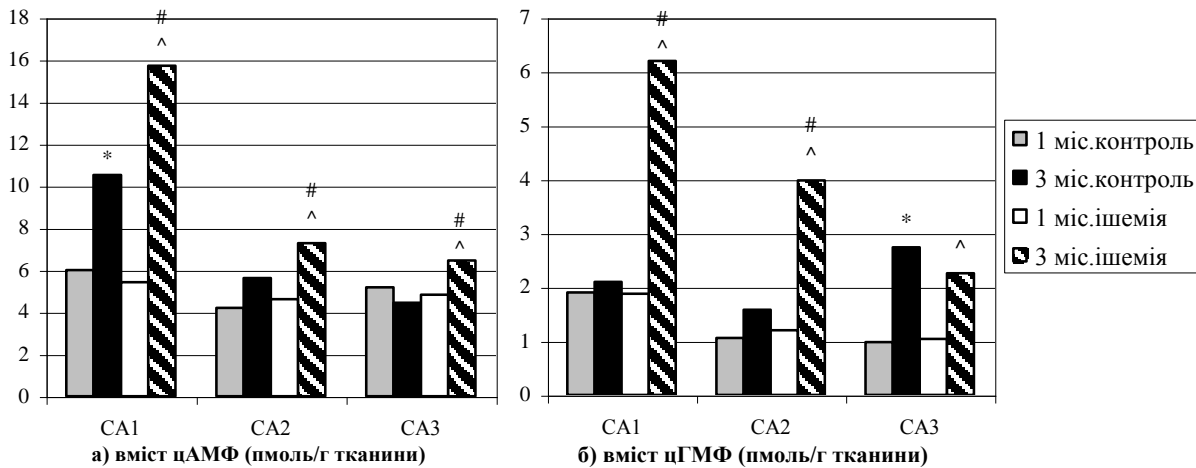


Рис.1. Вікові особливості впливу каротидної ішемії на вміст циклічних нуклеотидів у полях гіпокампа.

Примітки: вірогідні відмінності між: *контрольними тваринами одно- та тримісячного віку; ^ дослідними тваринами одно- та тримісячного віку; # постішемичними показниками у тварин різного віку.

У плазмі крові ішемія також спричинила появу міжвікової різниці вмісту цГМФ, яка була відсутньою в контрольних тварин.

Таким чином, незважаючи на близькі конститутивні показники циклічних нуклеотидів у тварин обох вікових груп, постішемична картина відрізнялася кардинально, що свідчить про вікову відмінність індукцибельних регуляторних механізмів участі цих посередників у перебігу ішемічно-реперфузійних пошкоджень.

Емоксипін, обраний нами для корекції ішемічних ушкоджень, належить до вторинних нейропротекторів, дія яких спрямована на переривання відстрочених механізмів смерті клітин, тобто віддалених наслідків ішемії.

На показники пероксидного окиснення ліпідів препарат мав неоднозначний ефект, з виразною залежністю від структури та віку тварин.

В одномісячних щурів у полі CA1 та CA2 препарат знижував вміст продуктів ліпопероксидації та активність антиоксидантних ферментів, причому зниження інтенсивності ліпопероксидації відбулося незважаючи на те, що в полі CA1 ішемія не впливала на вміст первинних та вторинних її продуктів, а в полі CA2 навіть знижувала їх. У полі CA3 корегуючих ефектів препарат не справляв, ймовірно тому, що постішемичні зміни тут полягали в зниженні рівня функціонування проокисно-антиоксидантного потенціалу зі збереженням його рівноваги.

У тримісячних тварин дія емоксипіну носила зовсім інший характер. У полі CA1 препарат спричиняв посилення ліпопероксидації з одночасним підвищенням активності антиоксидантних

ферментів. На перший погляд ефект препарату полягає у відновленні проокисно-антиоксидантної рівноваги на іншому кількісному рівні. Однак зважаючи на те, що активність антиоксидантних ферментів лише наближалася до контрольних величин, не досягаючи їх, а вміст дієнових кон'югатів вірогідно їх перевищував, можна все-таки констатувати посилення вільнорадикальних процесів. Імовірно, глибина ішемічних порушень у цьому полі перевищувала нейропротекторний потенціал препарату. Дуже низький ефект емоксипін справляв у полі СА2 тварин старшої вікової групи. Незважаючи на суттєвий приріст дієнових кон'югатів та тотальне зниження антиоксидантної активності, препарат лише підвищував постішемічний рівень каталази, який залишався в півтора раза нижчим контрольного рівня.

Незважаючи на повну відсутність постішемічних змін у полі СА3 тримісячних щурів, препарат суттєво підвищував вміст дієнових кон'югатів та знижував активність каталази, щоправда, за незначного зростання активності глутатіонпероксидази.

Таким чином, при позитивних ефектах препарату в інфантильних тварин, у дорослих за багатьма показниками він потенціює вплив ішемії.

Якщо вплив емоксипіну на показники ліпопероксидації та антиоксидантного захисту важко привести до спільного знаменника, то ефект препарату на процеси окиснювальної модифікації білків був однозначно протекторним у тварин обох вікових груп. Цікаво, що ця дія препарату проявляється незалежно від напрямку змін, спричинених ішемією.

Вплив препарату на показники тканинної фібрино- та протеолітичної активності в полі СА1 одномісячних щурів полягав у поверненні до контрольних величин змінених ішемією всіх показників фібринолітичної активності та лізису низькомолекулярних білків. Викликає безумовний інтерес той факт, що в полях СА2 та СА3 інфантильних тварин емоксипін не мав жодного впливу на постішемічні зміни фібринолітичної активності, незважаючи на те, що їх вираженість та спрямування були такими ж, як у полі СА1. Вплив на протеолітичну активність був неоднозначним і не залежав від характеру постішемічних змін. На наш погляд, це свідчить, що препарат має певну структурну селективність, зумовлену не поодинокими біохімічними зрушеннями, а їх ансамблем.

У полі СА1 тримісячних щурів емоксипін зменшував постішемічні зміни сумарної та ферментативної фібринолітичної активності, не повертаючи їх до рівня контрольних величин. Нормалізації зазнав лише лізис низькомолекулярних білків. У полі СА2 дорослих щурів препарат значно наближав до норми колагенолітичну активність, яка внаслідок ішемії суттєво знизилась. Імовірно, препарат має вибіркочуватість саме до порушених констант, що дістає підтвердження при аналізі дії препарату в полі СА3, де за відсутності постішемічних порушень фібринолізу не було й ефектів препарату, а порушений лізис низькомолекулярних білків емоксипін, знову ж таки, повертав до норми.

Отже, вплив емоксипіну на показники тканинної фібрино- та протеолітичної активності характеризується вираженою структурною та віковою селективністю. В одномісячних тварин препарат має однозначно позитивні ефекти, найбільш виражені в полі гіпокампа СА1.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне та експериментальне узагальнення окремих біохімічних механізмів вікової та структурної селективної чутливості різних полів гіпокампа до ішемічно-реперфузійних пошкоджень, що може лягти в основу диференційованої корекції цієї патології.

1. У тварин обох вікових груп кожному полю гіпокампа притаманний індивідуальний вихідний стан проокисно-антиоксидантного гомеостазу. Індукована ішемією інтенсивність ліпопероксидації та активність антиоксидантних ферментів прямо зв'язана з їх конститутивними рівнями і залежить від них.

2. Постішемічні порушення проокисно-антиоксидантного гомеостазу для різних полів гіпокампа у тварин обох вікових груп є неоднозначними як за кількістю змінених параметрів, так і за вираженістю та глибиною змін. Відстрочені наслідки ішемії-реперфузії більшою мірою стосуються стану антиоксидантної системи, ніж показників ліпопероксидації. Відстрочені постішемічні зміни інтенсивності ліпопероксидації не залежать від віку, а активність та потужність ферментативного антиоксидантного захисту вища в одномісячних тварин.

3. Конститутивний розподіл продуктів окиснювальної модифікації білків у різних відділах гіпокампа характеризується регіонарними та віковими особливостями. У всіх полях гіпокампа конститутивний вміст окисдованих форм протеїнів був значно вищим у тварин молодшої вікової групи. Характер постішемічних змін вмісту альдегідо- та кетоніохідних нейтрального й основного характеру залежить від віку тварин та досліджуваної структури й мало зв'язаний з конститутивним рівнем окиснювальних процесів.

4. Постішемічні зміни фібрино- та протеолітичної активності свідчать як про структурну, так і вікову селективність до дії ішемічно-реперфузійних пошкоджень. Найбільш значні постішемічні зміни фібрино- та протеолітичної активності мали місце в полі гіпокампа СА1 тварин обох вікових груп, проте в цілому кількість та значимість змін домінувала в одномісячних тварин.

5. Активність Na^+ , K^+ -АТФази та 5'-нуклеотидази характеризується конститутивними міжрегіонарними відмінностями, а також міжрегіонарною та міжвіковою різницею їх реагування на ішемічно-реперфузійне пошкодження. Найбільш значне постішемічне зниження активності Na^+ , K^+ -АТФази мало місце в полі гіпокампа СА1 тварин обох вікових груп з переважанням у тримісячних тварин.

6. Конститутивним та індукцибельним рівням циклічних нуклеотидів притаманна структурна індивідуальність у тварин обох вікових груп. У тримісячних тварин відстрочені постішемичні зміни рівня циклічних нуклеотидів носять як церебральний, так і системний характер, у одномісячних – лише системний. Індуковані ішемією відстрочені зміни вмісту циклічних нуклеотидів та їх балансу в тримісячних тварин найбільш виражені в полі СА1.

7. Вплив емоксипіну на показники пероксидного окиснення ліпідів залежить від структури та віку тварин. В одномісячних тварин у полях гіпокампа СА1 та СА2 препарат знижує інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів незалежно від характеру постішемичних змін. У тварин тримісячного віку емоксипін викликає зміщення проокисно-антиоксидантної рівноваги в бік посилення вільнорадикальних процесів за рахунок зростання ліпопероксидації та, в окремих випадках, зниження активності антиоксидантних ферментів.

8. Емоксипін справляє виражений корегуючий вплив на порушені ішемією процеси окиснювальної модифікації білків, незалежно від віку тварин, поля та напрямку змін, спричинених ішемією.

9. Протекторний ефект емоксипіну щодо показників тканинного фібринолізу та протеолізу характеризується вираженою структурною та віковою селективністю. В одномісячних тварин препарат має однозначно позитивні ефекти, з найвиразнішою корегуючою дією в полі гіпокампа СА1.

10. За сукупністю показників інтенсивності ліпопероксидації, окиснювальної модифікації білків, антиоксидантної та протеолітичної активності, стану маркерних ферментів мембран та системи циклічних нуклеотидів селективна чутливість полів гіпокампа до ішемічно-реперфузійних пошкоджень, притаманна дорослим тваринам, не завершена в щурів віком один місяць і продовжує формуватися впродовж подальшого онтогенезу.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Шимків О.Д. Вікові особливості глобальної ішемії головного мозку щурів // Буковинський медичний вісник. – 2001. – Т. 5, № 3-4. – С. 204-207.
2. Шимків О.Д. Морфометричні зміни клітин поля СА1 гіпокампа у щурів різних вікових груп внаслідок каротидної ішемії // Буковинський медичний вісник. – 2001. – Т. 6, № 3. – С. 200-202.
3. Шимків О. Д. Системна та церебральна реакція циклічних нуклеотидів на каротидну ішемію // Буковинський медичний вісник. – 2003. – Т. 7, № 1-2. – С.169-171.
4. Шимків О.Д., Ткачук С.С. Структурні та вікові особливості вільнорадикального окиснення й антиоксидантного захисту в щурів з відстроченими наслідками неповної глобальної

ішемії мозку // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія: Медицина. – 2003. – Вип. 21. – С. 48-52. Здобувач самостійно провела моделювання каротидної ішемії, аналіз отриманих результатів, статистичну обробку даних.

5. Шимків О.Д., Ткачук С.С. Вікові особливості гуморальної та церебральної реакції циклічних нуклеотидів на каротидну ішемію // Експериментальна та клінічна медицина. – 2003. – № 2. – С. 79-81. Здобувач самостійно провела моделювання каротидної ішемії, статистичну обробку даних, аналіз отриманих результатів, підготовку статті до друку.

6. Шимків О.Д. Деякі біохімічні кореляти впливу емоксипіну на відстрочені наслідки неповної глобальної ішемії мозку // Клінічна та експериментальна патологія. – 2003. – Т.2, № 2. – С. 35-40.

7. Шимків О.Д., Ткачук С.С. Вікові особливості впливу неповної глобальної ішемії мозку на активність маркерних ферментів клітинних мембран // Експериментальна та клінічна медицина. – 2004. – Т.1, № 2. – С. 25-28. Здобувач самостійно провела моделювання каротидної ішемії, статистичну обробку даних, підготовку статті до друку.

8. Деклараційний пат. 46651А України МПК G 09B23/28. Спосіб моделювання глобальної ішемії мозку / Шимків О.Д. - № 2001117850; Заявл. 16.11. 2001; Опубл. 15.05.2002, Бюл. № 5.

9. Шимків О.Д. Вплив ішемічно-реперфузійного пошкодження на головний мозок щурів різних вікових груп // Український вісник психоневрології. – 2002. – Т. 10, вип. 1(30), додаток. – С.148-149.

10. Шимків О.Д. Морфо-функціональний стан гіпокампу при каротидній ішемії в залежності від тривалості постішемічного періоду // Матер. міжнар. конф., присвяченої пам'яті проф. І.В. Шостаковської. – Львів, 2002. – С. 90.

11. Шимків О.Д. Онтогенетичні особливості морфологічних змін у структурах мозку щурів після каротидної ішемії// Матер. наук.-практ. конф. Молодих вчених із міжнародною участю “Кардіальний, церебральний та периферійний атеросклероз. Актуальні питання діагностики та лікування”. – Івано-Франківськ, 2003. – С. 67-70.

12. Шимків О.Д. Вплив гострої каротидної ішемії на показники тканинного протеолізу та фібринолізу в гіпокампі щурів // Тези доп. Міжнар. конф. студентів і молодих вчених “Екологічні проблеми міст і промислових зон: шляхи їх вирішення”. – Львів: Сполом, 2003. – С. 151-152.

13. Шимків О.Д. Відстрочені наслідки ішемічно-реперфузійного пошкодження гіпокампа за показниками активності маркерних ферментів клітинних мембран //Тези 58 наук.-практичн. конф. студентів та молодих вчених Національного медичного університету ім. О.О.Богомольця з міжнародною участю "Актуальні проблеми сучасної медицини". – Київ, 2003. – С. 102.

АНОТАЦІЯ

Шимків О.Д. Онтогенетичні аспекти окремих ланок патогенезу ішемічних ушкоджень гіпокампа щурів. — Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 — патологічна фізіологія. — Тернопільська державна медична академія імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, 2004 р.

Дисертація присвячена вивченню механізмів селективної чутливості до ішемії полів гіпокампа CA1, CA2, CA3 у тварин віком один і три місяці та патогенетичних аспектів нейропротекторної дії емоксипіну за умов ішемічно-реперфузійних пошкоджень мозку.

На основі вивчення відстрочених наслідків ішемії-реперфузії за показниками інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів та окиснювальної модифікації білків, активності ферментів антиоксидантного захисту, показників фібрино- та протеолітичної активності, стану маркерних ферментів мембран Na^+ , K^+ -АТФази та 5'-нуклеотидази, реакції циклічних нуклеотидів (цАМФ та цГМФ) у полях гіпокампа CA1, CA2, CA3 тварин різних вікових груп зроблено висновок, що селективна чутливість полів гіпокампа до ішемічно-реперфузійних пошкоджень притаманна дорослим тваринам, не завершена в щурів віком один місяць і продовжує формуватися впродовж подальшого онтогенезу.

Доведено, що емоксипін справляє корегуючий вплив на відстрочені постішемічні показники вільнорадикальної модифікації білків у тварин обох вікових груп, показники ліпопероксидації, фібрино- та протеолітичної активності в одномісячних тварин. У той же час препарат посилює окремі постішемічні зміни в тримісячних щурів.

Отримані дані мають значення для розуміння вікових та структурних особливостей перебігу ішемічно-реперфузійних пошкоджень головного мозку й демонструють необхідність урахування вікових аспектів дії корегуючих і превентивних антиішемічних засобів.

Ключові слова: каротидна ішемія, ішемічно-реперфузійні пошкодження, гіпокамп, селективність, онтогенез, емоксипін.

АННОТАЦИЯ

Шимкив О.Д. Онтогенетические аспекты отдельных звеньев патогенеза ишемических повреждений гиппокампа крыс. — Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.04 — патологическая физиология. — Тернопольская государственная медицинская академия им. И.Я. Горбачевского МЗ Украины, Тернополь, 2004 г.

Диссертация посвящена изучению механизмов возрастных особенностей селективной чувствительности к ишемии полей гиппокампа и патогенетических аспектов нейропротекторного

действия эмоксипина при ишемически-реперфузионных повреждениях мозга.

На основании изучения отсроченных последствий ишемии-реперфузии по показателям интенсивности липопероксидации и окислительной модификации белков, активности ферментов антиоксидантной защиты, показателей фибрино- и протеолитической активности, состояния маркерных ферментов мембран Na^+ , K^+ -АТФазы и 5'-нуклеотидазы, реакции циклических нуклеотидов (цАМФ и цГМФ) в полях гиппокампа СА1, СА2, СА3 животных различных возрастных групп (один и три месяца) сделан вывод о наличии возрастных и структурных особенностей реакции мозга на данное вмешательство.

Доказано, что каждому исследованному полю гиппокампа присущи индивидуальные конститутивные прооксидантно-антиоксидантные взаимоотношения, от которых зависит выраженность постишемических изменений интенсивности липопероксидации и активности антиоксидантных ферментов. Показано, что отсроченные последствия ишемии-реперфузии в большей степени касаются активности антиоксидантных ферментов, чем интенсивности перекисного окисления липидов. Отсроченные постишемические изменения липопероксидации не зависят от возраста, а антиоксидантная ферментативная система более уязвима у трехмесячных животных.

Установлено, что конститутивное содержание продуктов окислительной модификации белков значительно выше во всех полях гиппокампа одномесячных животных, а характер их постишемических изменений не связан с конститутивным уровнем, но зависит от возраста и исследованной структуры.

Ишемически-реперфузионные повреждения фибрино- и протеолитической активности оказались наиболее существенными в полях гиппокампа СА1 животных обеих возрастных групп, однако значительно доминировали в мозге одномесячных крыс.

Исходная активность Na^+ , K^+ -АТФазы и 5'-нуклеотидазы имеет выраженные регионарные отличия и характеризуется регионарными и возрастными особенностями реагирования на ишемически-реперфузионные повреждения. Наиболее значительные постишемические изменения активности Na^+ , K^+ -АТФазы обнаружены в поле СА1 всех животных с преобладанием у трехмесячных.

Реакция циклических нуклеотидов на ишемически-реперфузионные повреждения у животных старшей возрастной группы имеет как церебральный характер с проявлениями структурной селективности, так и системный, а у инфантильных животных – только системный.

Обнаружены возрастные особенности влияния эмоксипина на интенсивность перекисного окисления липидов с выраженным коррегирующим эффектом у животных младшей возрастной группы и усилением постишемических изменений некоторых показателей у трехмесячных крыс. По отношению к измененным ишемией показателям окислительной модификации белков

эмоксипин обладает коррегирующим эффектом независимо от возраста животных и характера изменений.

Влияние эмоксипина на показатели тканевой фибрино- и протеолитической активности в значительной мере зависит от возраста животных и исследованной структуры. У инфантильных животных препарат оказывает однозначно положительные эффекты, наиболее выраженные в поле гиппокампа CA1.

По совокупности изученных показателей сделан вывод, что селективная чувствительность полей гиппокампа к ишемически-реперфузионным повреждениям, характерная для взрослых животных, не завершена у крыс одномесячного возраста и продолжает формироваться в течение дальнейшего онтогенеза.

Полученные результаты имеют значение для понимания механизмов возрастных и структурных особенностей ишемически-реперфузионных повреждений головного мозга и свидетельствуют о необходимости учитывать возрастные аспекты действия коррегирующих и превентивных антиишемических средств.

Ключевые слова: каротидная ишемия, ишемически-реперфузионные повреждения, гиппокамп, селективность, онтогенез, эмоксипин.

ANNOTATION

Shymkiv O.D. Ontogenetic Aspects of Separate Components of Pathogenesis of Ischemic Injuries in Rat's Hippocamp.— Manuscript.

Dissertation for the scientific degree of the Candidat of Medicine by speciality 14.03.04 — Pathologic Physiology.— I.Ya.Horbachevsky State Medical Academy of Ukraine, Ternopol, 2004.

The dissertation deals with a study of the mechanisms of selective sensitivity to ischemia of hippocampal areas CA1, CA2, CA3 in animals aged from one to three month and pathogenetic aspects of the neuroprotective action of emoxipin under conditions of ischemic-reperfusing cerebral lesions.

On the basis of studying the delayed sequelae of ischemia-reperfusion according to the intensity parameters of lipid peroxidation and oxidative modification of proteins, the activity of the enzymes of the antioxidant protection, the parameters of the fibrino- and proteolytic activity, the state of the marker enzymes of the membranes of Na⁺, K⁺-ATPase and 5'-nucleotidase, the reaction of the cyclic nucleotides (cAMP and cGMP) in hippocampal areas CA1, CA2, CA3 of animals of different age groups, a conclusion has been arrived at to the effect that the selective sensitivity of the hippocampal areas to ischemic-reperfusing lesions, inherent to adult rats, is not complete in rats aged one month and continues its forming throughout further ontogenesis.

It has been corroborated that emoxipin exerts a adjustable effect on delayed postischemic parameters of free radical modification of proteins in animals of both age groups, the indices of lipid

peroxidation, the fibrino- and proteolytic activity in the month old animals. At the same time, the medication enhances separate postischemic changes in three month old rats.

The obtained findings are of importance for the purpose of understanding the age-specific and structural specific characteristics of the course of ischemic-reperfusing cerebral lesions and demonstrate the necessity of taking into account age-related aspects of the action of adjustable and preventive antiischemic modalities.

Key words: carotid ischemia, ischemic-reperfusing lesions, hippocamp, ontogenesis, emoxipin.