

Міністерство охорони здоров'я України
Буковинський державний медичний університет

На правах рукопису

Дорошко Володимир Антонович

УДК 616.831 – 005.4 : 612.616.31] – 092.001.6

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ РОЛІ СТАТЕВИХ
ГОРМОНІВ У ПЕРЕБІГУ ШЕМІЧНО-РЕПЕРФУЗІЙНИХ
ПОШКОДЖЕНЬ МОЗКУ В ЩУРІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП**

14.03.04 – патологічна фізіологія

Дисертація

на здобуття наукового ступеня

кандидата медичних наук

Науковий керівник

Ткачук Світлана Сергіївна

доктор медичних наук, професор

Чернівці - 2005

ЗМІСТ

ВСТУП.....	5
Розділ 1. ПАТОГЕНЕЗ ІШЕМІЧНО-РЕПЕРФУЗІЙНОГО ПОШКОДЖЕННЯ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ТА РОЛЬ СТАТЕВИХ ГОРМОНІВ У ЙОГО ПЕРЕБІГУ (огляд літератури).....	11
1.1. Характеристика основних патогенетичних ланок розвитку ішемії головного мозку та ендогенних механізмів нейропротекції...	11
1.2. Особливості метаболізму статевих гормонів у мозку та їх роль у розвитку і перебігу пошкоджувальних процесів.....	21
Розділ 2. МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	30
2.1. Загальна характеристика експериментальних тварин та принципів формування експериментальних груп.....	30
2.2. Критерії вибору моделі ішемічно-реперфузійного пошкод- ження мозку та методика створення дефіциту статевих гормонів.....	31
2.3. Критерії вибору структур для дослідження.....	33
2.4. Обґрунтування термінів спостереження.....	34
2.5. Евтаназія тварин, спосіб забору та зберігання досліджуваного матеріалу.....	35
2.6 Критерії чутливості структур мозку до ішемії	36
2.7. Імуноферментні дослідження.....	36
2.8. Гістохімічне визначення катехоламінів.....	36
2.9. Біохімічні дослідження.....	37
2.10. Математична обробка результатів досліджень.....	38
Розділ 3. ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ НЕПОВНОЇ ГЛОБАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ МОЗКУ НА ВМІСТ ТЕСТОСТЕРОНУ ТА ПРОГЕСТЕРОНУ В ПЛАЗМІ КРОВІ САМЦІВ ЩУРІВ.....	40
Розділ 4. РОЛЬ СТАТЕВИХ ГОРМОНІВ У ПОСТІШЕМІЧНІЙ РЕОРГА- НІЗАЦІЇ КАТЕХОЛАМІНЕРГІЧНИХ СИСТЕМ ОКРЕМИХ СТРУКТУР МОЗКУ ЩУРІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП.....	42
Розділ 5. ВПЛИВ КАСТРАЦІЇ НА ВІДСТРОЧЕНІ ЦЕРЕБРАЛЬНІ	42

ПОКАЗНИКИ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ЩУРІВ ІЗ НЕПОВНОЮ ГЛОБАЛЬНОЮ ІШЕМІЄЮ МОЗКУ	
5.1. Вплив кастрації на показники пероксидного окиснення ліпідів та активність ферментів антиоксидантного захисту мозку за умов двобічної каротидної ішемії.....	
5.2. Вплив кастрації на вікові особливості окиснювальної модифікації білків у мозку щурів за умов двобічної каротидної ішемії.....	
Розділ 6. ВПЛИВ КАСТРАЦІЇ НА ВІДСТРОЧЕНІ НАСЛІДКИ НЕПОВНОЇ ГЛОБАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ МОЗКУ ЗА АКТИВНІСТЮ ТКАНИННОГО ПРОТЕОЛІЗУ ТА ФІБРИНОЛІЗУ В МОЗКУ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ	
Розділ 7. АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	
ВИСНОВКИ.....	
РЕКОМЕНДАЦІЇ ЩОДО НАУКОВОГО І ПРАКТИЧНОГО ВИКОРИСТАННЯ ЗДОБУТИХ РЕЗУЛЬТАТІВ.....	
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	
ДОДАТКИ.....	15

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АФК	активні форми кисню
БТШ	білки теплового шоку
ГАМК	гама-аміномасляна кислота
ГГНС	гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникова система
ДГЕА	дегідроепіандростерон
КРФ	кортиколіберин
ПОЛ	пероксидне окиснення ліпідів
CA1	cornu ammonii 1 - поле гіпокампа 1
CA2	cornu ammonii 2 - поле гіпокампа 2
CA3	cornu ammonii 3 - поле гіпокампа 3
NO	оксид азоту
iNOS	індуцибельна синтаза оксиду азоту
eNOS	ендотеліальна синтаза оксиду азоту
nNOS	нейрональна синтаза оксиду азоту

ВСТУП

Актуальність теми. Найбільш грізним ускладненням церебральної ішемії є розвиток ішемічних інсультів, які складають 80-85% від загальної кількості інсультів [1,2]. Значна розповсюдженість - з одного боку, та той факт, що саме гострі порушення мозкового кровообігу за ішемічним типом найкраще піддаються терапії за умов своєчасно розпочатого лікування - з іншого [3,4], робить поглиблене дослідження патогенетичних ланок ішемічно-реперфузійних пошкоджень мозку актуальним і перспективним щодо розробки та удосконалення патогенетичних засобів їх корекції.

Ішемічні інсульти прийнято розглядати як інтегрований комплекс надзвичайно складних метаболічних, гемодинамічних, автоімунних, патобіохімічних та клітинних змін, які розпочинаються в мозку на певній стадії недостатності його кровопостачання [5,6,7,8].

Крім численних морфологічних, біохімічних та електрофізіологічних змін у тканині самого мозку, церебральна ішемія викликає загальну нейрогормональну відповідь, яка є компонентом реакції єдиної нейроімуноендокринної системи. Саме ця реакція забезпечує метаболічну основу компенсаторно-приспосувальних змін, від яких багато в чому залежить перебіг ішемічно-реперфузійних пошкоджень нервової тканини [9]. Вираженість нейрогормональних перебудов, будучи показником важкості ішемії, в той же час впливає на перебіг патологічного процесу та разом із іншими чинниками визначає його наслідки [10].

Однак зусилля більшості дослідників проблеми ішемії зосереджені на вивченні місцевих, церебральних її проявів, і лише поодинокі роботи присвячені ендокринним чинникам. Зокрема, незважаючи на досить давно встановлений факт впливу статевих гормонів на перебіг та наслідки ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку, конкретні патогенетичні ланки, на рівні яких ці ефекти реалізуються, не вивчені, а існуючі дані сповнені протиріч.

Згідно з даними декотрих дослідників, статеві гормони та їх

метаболіти мають багато нейропротекторних ефектів [11,12,13]. З іншого боку, є й повідомлення, які свідчать, що ці гормони підвищують чутливість до ішемії шляхом модуляції збудливих ефектів глутамату або модифікації ефектів ГАМК [14,15]. Тому питання про їх роль при церебральній ішемії залишається відкритим, що свідчить про актуальність нашого дослідження.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Робота виконана в Буковинському державному медичному університеті і є фрагментом планової міжкафедральної наукової роботи “Дослідження порушень водно-електролітного обміну, закономірностей центральних стресіндукованих та ішемічних дисфункцій, паренхіматозно-стромального дисбалансу при ушкодженні внутрішніх органів за умов впливу екологічно несприятливих чинників з розробкою шляхів корекції виявлених патологічних змін” (№ державної реєстрації 0104U009029). У рамках даної теми автором досліджено роль статевих гормонів сім'яників у перебігу ішемічно-репер-фузійного пошкодження мозку. Тема дисертації затверджена Проблемною комісією "Фізіологія людини" 12 березня 2003 року (протокол № 39).

Мета дослідження. З'ясувати механізми участі статевих гормонів сім'яників у перебігу ішемічно-реперфузійних пошкоджень мозку у тварин різних вікових груп на основі порівняльного аналізу окремих патогенетичних ланок пошкоджувальної дії ішемії в контрольних та кастрованих тварин.

Задачі дослідження:

1. З'ясувати вплив неповної глобальної ішемії мозку на рівень прогестерону та тестостерону в плазмі крові щурів різних вікових груп.
2. Дослідити вплив кастрації на вираженість оксидативного стресу (окиснювальної модифікації білків, пероксидного окиснення ліпідів) та

стан антиоксидантного захисту в лобній, потиличній частках кори та полях гіпокампа тварин різних вікових груп за умов двобічної каротидної ішемії.

3. Вивчити показники активності тканинного фібринолізу та протеолізу у вказаних структурах мозку за умов каротидної ішемії та дефіциту статевих гормонів сім'яників.

4. Вивчити вплив кастрації та неповної глобальної ішемії мозку на інтенсивність флуоресценції катехоламінів у лобній, потиличній частках кори та полях гіпокампа тварин різних вікових груп .

Об'єкт дослідження: ішемічно-реперфузійне ураження кори мозку та гіпокампа.

Предмет дослідження: відстрочені наслідки ішемічно-реперфузійного ураження кори мозку та гіпокампа в щурів різних вікових груп за умов дефіциту статевих гормонів.

Методи дослідження:

- імуноферментний (визначення вмісту прогестерону та тестостерону в плазмі крові);

- біохімічний (визначення показників вільнорадикального окиснення та антиоксидантного захисту, інтенсивності неферментативного й ферментативного тканинного фібринолізу, ступеня протеолітичної деградації низько- і високомолекулярних білків та колагену);

- гістохімічний (вивчення інтенсивності флуоресценції катехоламінів).

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше виявлено наявність вікових особливостей впливу неповної глобальної ішемії мозку на вміст прогестерону та тестостерону в плазмі крові щурів.

Встановлено значні вікові та структурні відмінності конститутивного вмісту катехоламінів у лобній та потиличній частках кори головного мозку і полях гіпокампа CA1, CA2, CA3.

Показано, що ішемічно-реперфузійне пошкодження у всіх

досліджених структурах мозку тварин обох вікових груп викликає однакову за спрямуванням, але різну за ступенем вираженості реакцію катехоламінів.

Виявлено протилежні ефекти дефіциту статевих гормонів сім'яників на постішемичну інтенсивність флуоресценції катехоламінів у зазначених структурах мозку щурів різних вікових груп.

Встановлено, що в більшості випадків кастрація суттєво зменшує інтенсивність ліпопероксидації незалежно від спрямування та вираженості постішемичних змін і віку тварин.

Констатовано, що в структурах неокортексу вікові відмінності інтенсивності ліпопероксидації більш виражені щодо постішемичних змін, у полях гіпокампа – стосовно конститутивних показників, а відмінність активності антиоксидантних ферментів була індивідуальною для кожної структури.

Продемонстровано вікові особливості постішемичних змін окиснювальної модифікації білків у структурах мозку тварин досліджених вікових груп.

Показано різноспрямований характер наслідків кастрації щодо інтенсивності окиснювальної модифікації білків у структурах нової кори та гіпокампа тварин обох вікових груп та відсутність вираженої вікової різниці в реагуванні цих показників на кастрацію.

Встановлено індивідуальну структурну реакцію показників активності тканинного фібринолізу та протеолізу на дефіцит статевих гормонів, виявлено відсутність вікової різниці в реагуванні на кастрацію активності тканинного фібринолізу та протеолізу в корі потиличної частки та полі гіпокампа CA2 і чіткі її ознаки в корі лобової частки, полях гіпокампа CA1 та CA3.

Практичне значення одержаних результатів. Дисертаційна робота носить фундаментальний характер. Отримані результати розширюють та

поглиблюють існуюче уявлення про патогенез відстрочених наслідків ішемічно-реперфузійних пошкоджень, їх вікові та структурні особливості, а також висвітлюють роль статевих гормонів сім'яників у перебігу неповної глобальної ішемії мозку. Встановлені біохімічні та нейрохімічні кореляції дефіциту статевих гормонів конкретизують ті ланки патогенезу ішемічного пошкодження мозку, на які дані гормони мають найбільш виражений вплив.

Результати роботи можуть бути використані в навчальному процесі при викладанні нормальної та патологічної фізіології, нервових та дитячих хвороб, медичної хімії, ендокринології, у роботі науково-дослідних лабораторій з відповідним науковим спрямуванням, при написанні підручників та монографій із зазначених галузей теоретичної медицини.

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

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно проведено літературний пошук за темою дисертації, експериментальні втручання, статистичну обробку отриманих результатів, написання розділів дисертаційної роботи та публікацій. Формулювання мети, задач дослідження та інтерпретацію отриманих результатів здійснено сумісно з науковим керівником.

Біохімічні, гістохімічні та імуноферментні дослідження виконано за безпосередньою участю дисертанта.

У наукових працях, опублікованих у співавторстві, автору належить виконання експериментальних досліджень, статистична обробка даних, підготовка матеріалу до друку.

У тій частині актів впровадження, що стосуються науково-практичної новизни, викладено фактичний матеріал автора.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертації оприлюднено на Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій пам'яті проф. Шостаковської І.В. (Львів, 2002), науково-практичній конференції з міжнародною участю "Фізіологія регуляторних систем", присвяченій 90-й річниці з дня народження проф. Я.Д. Кіршенבלата (Чернівці, 2003), 58-й та 59-й науково-практичних конференціях студентів та молодих вчених Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця з міжнародною участю "Актуальні проблеми сучасної медицини" (Київ, 2003, 2004), VII Міжнародній науково-практичній конференції "Наука і освіта 2004" (Дніпропетровськ, 2004), науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 200-річчю з дня заснування Харківського державного медичного університету "Від фундаментальних досліджень – до прогресу в медицині" (Харків, 2005), 83-й, 84-й, 85-й підсумкових конференціях професорсько-викладацького складу БДМУ.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 11 наукових праць, із них 6 – у фахових наукових журналах, 5 – у матеріалах і тезах конференцій.

РОЗДІЛ 1

ПАТОГЕНЕЗ ІШЕМІЧНО-РЕПЕРФУЗІЙНОГО ПОШКОДЖЕННЯ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ТА РОЛЬ СТАТЕВИХ ГОРМОНІВ У ЙОГО ПЕРЕБІГУ (огляд літератури)

1.1. Характеристика основних патогенетичних ланок розвитку ішемії головного мозку та ендогенних механізмів нейропротекції

Наслідки ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку залежать від багатьох чинників: тривалості ішемічного періоду, локалізації вогнища ішемії, віку тварин, енергетичного забезпечення мозку на момент ішемії та ін. [16, 17]. Не остання роль у цих процесах належить також співвідношенню потужності системних та місцевих пошкоджувальних і захисних механізмів мозку [18, 19]. Саме тому ми вважаємо за доцільне розглянути основні ланки патогенезу ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку, а також механізми протидії цим патогенним впливам.

Відомо, що припинення кровотоку або його зниження викликають порушення оксигенації мозку з подальшим формуванням енергодефіциту та розвитком лактат-ацидозу [16, 20, 21, 22]. Прийнято вважати, що саме ці події запускають каскад патобіохімічних змін у всіх клітинних елементах мозку. У залежності від глибини ішемії ступінь енергетичних та метаболічних порушень може бути різним [23]. При нетривалій повній ішемії або при незначному зниженні кровотоку мають місце оборотні зміни, які до того ж значною мірою можуть компенсуватися. Вони виникають за рахунок зростання інтенсивності NADH-залежного шляху окислення з подальшим посиленням потоку електронів від NAD-залежних субстратів та збільшенням ступеня відновленості цитохромоксидази. Для цієї стадії характерним є активація компенсаторних метаболічних потоків, які запобігають зниженню енергосинтезувальної функції цитохромної

ділянки та зберігають здатність до окиснювального фосфорилування, головним чином сукцинатоксидазного шляху окиснення [24, 25, 26]. За рахунок цих механізмів внутрішньоклітинний вміст АТФ та функціональна активність клітин не тільки не порушується, але й до певної міри може зростати [18, 24].

Зростання тривалості або глибини ішемії призводить до неспроможності окиснення клітиною наявних енергетичних субстратів [18]. Причиною цього є зниження інтенсивності окиснення NAD-залежних субстратів та тісно з ним пов'язаного окиснювального фосфорилування [27, 28]. Цей процес супроводжується відновленням піридиннуклеотидів та флавінів (дихальних переносників мітохондріального ферментного комплексу-1) [25]. Незважаючи на таке порушення транспорту відновлених еквівалентів, на цій стадії зміни цитохромної ділянки все ще залишаються оборотними, тобто, фактори, які шунтують перенесення кисню на ділянці NADH-кофермент Q (CoQ) зберігають здатність відновлювати дихання та редокс-стан дихальних переносників [29, 30].

При подальшому зниженні оксигенації мозку його енергетичні компенсаторні можливості вичерпуються й виникають необоротні зміни. До наявних біохімічних симптомів приєднується суттєве пригнічення активності цитохромоксидази з наступним припиненням надходження електронів від субстратної ділянки дихального ланцюга як NAD-залежного, так і сукцинатоксидазного [31, 32; 27, 28]. У свою чергу, це стає причиною пригнічення електроннотранспортної функції дихального ланцюга в ділянці цитохромів b – c зі зниженням вмісту АТФ та виникненням його лінійної залежності від парціального тиску кисню.

Наростання ішемії призводить до повної інактивації цитохромоксидази, припинення дихання й окиснювального фосфорилування [6].

Таким чином, енергодефіцит і лактат-ацидоз у кінцевому результаті спричиняють загибель клітин в ішемічному вогнищі шляхом некрозу та

апоптозу [10, 16]

Описані метаболічні зміни запускають інший патогенетичний механізм пошкодження тканини мозку - окисний стрес [24, 33].

Із цілого ряду причин мозок має підвищену чутливість до окиснювального стресу [32]. По-перше, він займає провідне місце серед інших тканин за кількістю споживаного кисню на одиницю маси; цей рівень настільки значний, що перетворення лише 0,1% кисню, який метаболізується нейронами, в реакційноздатні форми може стати токсичним для цієї тканини. У той же час мембрани нейронів мають винятково високий рівень арахідонової, докозогексаєнової та ін. поліненасичених жирних кислот, які окиснюються під впливом активних форм кисню (АФК) [33]. Порушення кисневого метаболізму спричиняє ацидоз, який у свою чергу сприяє звільненню зв'язаних із білком іонів заліза, які ініціюють утворення супероксид-аніону. Крім того, в кислому середовищі АФК та продукти їх взаємодії з клітинними структурами (наприклад, малоновий альдегід) мають більш виражений ушкоджувальний ефект. Він посилюється низьким рівнем активності каталази та глутатіонзалежних ферментів, а також вітаміну Е [28, 31]. Таким чином, антиоксидантний резерв мозку малопотужний у порівнянні з іншими тканинами.

Розвиток окиснювального стресу в мозку супроводжується накопиченням цілого ряду вільних радикалів – супероксид-аніону та NO – приблизно в 10 разів, гідроксирадикалу, пероксинітриту, котрі за нормальних умов виявляються лише в слідових кількостях, також у декілька разів. Таке значне підвищення рівня АФК є сигналом можливої клітинної смерті [32].

Однією з основних причин ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку є розвиток екситотоксичності - порушення балансу між нейротрансмітерними амінокислотами збудливого (глутамат), та гальмівного (гліцин) характеру на користь перших [33,34].

Екситотоксичність, поруч із енергетичним дефіцитом, вважається причиною активації пероксидного окиснення ліпідів та збільшення внутрішньоклітинної концентрації вільного Ca^{2+} [35]. Збудження глутаматних рецепторів у нервовій тканині запускає цей процес за рахунок двох механізмів: при активації іонотропних рецепторів відбувається надходження позаклітинного Ca^{2+} до клітини, а метаботропних- стимуляція вивільнення внутрішньоклітинного Ca^{2+} з депо [36, 37]. Підвищення внутрішньоклітинного вмісту Ca^{2+} призводить до зростання утворення АФК й активації ліпопероксидації [38].

Одним із шляхів Ca^{2+} -залежного посилення вільнорадикальних процесів є вивільнення арахідонової кислоти з фосфоліпідів під дією фосфоліпази A_2 , окиснення ксантину за участю ксантиноксидази, синтез оксиду азоту при активації *NO*-синтаз [39, 40, 41].

Утворення ксантиноксидази з ксантиндегідрогенази відбувається під дією Ca^{2+} -залежного кальпаїну-1 [42,43]. Внаслідок посиленого катаболізму АТФ у значних кількостях утворюється ксантин та інші продукти пуринового обміну, які є об'єктом дії ксантиноксидази. Особливо значне окиснення ксантину та накопичення супероксидного аніон-радикалу відбувається у фазі реперфузії при надходженні кисню до ішемізованої тканини [41]. Крім цього, розвиток оксидативного стресу посилюється утворенням АФК і вторинних вільнорадикальних метаболітів внаслідок накопичення арахідонової кислоти, синтезу простагландинів і лейкотрієнів [44, 45]. Ці процеси є наслідком руйнування клітинних структур і органів продуктами ПОЛ із наступним вивільненням значної кількості вільних поліненасичених жирних кислот, основною з яких є арахідонова кислота - неодмінний компонент фосфоліпідів клітинних мембран, які є важливим субстратом ліпопероксидації [46, 47]. Арахідонова кислота підлягає ферментативному окисненню за участю циклооксигеназ та ліпоксигеназ з утворенням простагландинів та лейкотрієнів [45], що вносить свій вклад у вільнорадикальні процеси.

Значна роль у синтезі арахідонатів належить астроцитам [48].

Менш вивченою у розвитку екситотоксичності в порівнянні з кальцієм, але доведеною, вважається роль іонів Zn^{2+} [49, 50]. Їх розглядають як аналог глутамату, який накопичуючись у значних кількостях у позаклітинному просторі стає патогенетичним чинником ішемічного ушкодження нейронів і, в залежності від тривалості дії, може спричиняти некроз або апоптоз.

При збудженні NMDA-рецепторів глутамату під впливом активації Ca^{2+} -залежним кальмодуліном при участі NO-синтази [RA 1.14.13.39] з L-аргініну утворюється ще одна вільнорадикальна сполука - оксиду азоту – NO [51, 40]. Доведено, що його утворення зростає з перших хвилин ішемії [41, 52, 53].

Маючи один непарний електрон, сам оксид азоту володіє відносно невисоким окислювальним потенціалом, а його пошкоджувальні ефекти реалізуються за рахунок перетворення у вторинні оксиданти. Найбільш реакційноздатним цитотоксичним метаболітом оксиду азоту є продукт взаємодії NO з супероксидним аніон-радикалом - пероксинітрид [54, 55]. Він окислює сульфгідрильні групи цитоплазматичних білків, протеоліпідів, ДНК, спричиняючи грубі порушення функції нейронів [41, 56]. Крім того, при взаємодії пероксинітриду з супероксиддисмутазою утворюється іон нітрозонію, реактивний та високотоксичний агент, який з фенольними групами утворює нітрофеноли [41].

Одним із важливих наслідків екситотоксичності глутамату є пригнічення синтезу відновленого глутатіону, що посилює оксидативний стрес і може стати причиною апоптозу нейронів [57].

Інтенсифікація вільнорадикальних процесів при ішемії-реперфузії мозку запускає ще цілий ряд патогенетичних механізмів. Серед них можна назвати звільнення цитокінів пресинаптичними нервовими закінченнями [5, 58], зниження вмісту альфа-токоферолу [39, 58], набряк та набухання мозку [59, 60], тривалий спазм перифокальних судин, який викликається

супероксид-аніоном [61], гідроксильним радикалом [62, 63], активацією протеїнкінази С [64, 65].

Характерно, що активація ПОЛ, у свою чергу, посилює енергетичні порушення. Так, посилення ліпопероксидації спричиняє глибоке або й необоротне зниження дихальної функції мітохондрій [66, 67, 68, 69]. Найбільш небезпечним у цьому відношенні в силу високої реакційної здатності є гідроксильний радикал, який спричиняє значні внутрішньоклітинні зміни, пошкоджуючи не лише плазматичні мембрани, але й мітохондріальні, мікосомальні, апарата Гольджі [77].

Дезорганізація енергетичного метаболізму й виснаження клітинного запасу АТФ у процесі реалізації програми апоптозу може призвести до термінової зміни цієї програми й заміни апоптозу некрозом. У цьому випадку розширення зони некрозу в ділянці ішемічного пошкодження й інфільтрація фагоцитів призводить до виділення цитокінів й активації мієлопероксидази, що спричиняє формування зони запалення, в котрій пошкоджені клітини зруйновані, а їх компоненти – видалені. Таким чином, внутрішньоклітинне зростання АФК може як стимулювати метаболізм для посилення виживання клітин, так і індукувати клітинну смерть у залежності від ефективності системи антиоксидантного захисту та її red/ox стану [69, 77].

Зменшення негативних наслідків ішемії реалізується й через інші механізми, які починають функціонувати вже на ранніх етапах розвитку ішемії [5, 71]. Практично кожна патогенетична ланка ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку має свої механізми протидії або компенсації.

Дефіцит антиоксидантних систем у поєднанні зі швидким розвитком екситотоксичних механізмів був би набагато небезпечнішим у відсутності механізмів протидії. Стримують розвиток токсичної компоненти в функціонуванні екситотоксичних медіаторів (зокрема, глутамату) метаботропні рецептори. У той час, як іонотропні рецептори забезпечують

електричну активність нейрона, метаботропні рецептори модифікують властивості іонотропних, регулюючи тривалість та інтенсивність іонних потоків через мембрану. Таким чином забезпечується довготривала потенціація або довготривала депресія сигналів. При одночасній активації іоно- та метаботропних рецепторів, останні змінюють тривалість NMDA-викликаних струмів, що свідчить про пряму регуляцію ними інформаційних процесів [32].

Активація АСДР-залежних метаботропних рецепторів мембрани нейронів спричиняє модифікацію активності ряду ферментів, у тому числі й протеїнкінази А, внаслідок чого суттєво зростає співвідношення цАМФ/цГМФ [72, 73], що також прийнято розглядати як захисний механізм.

Активація 3-HPG-залежних метаботропних рецепторів викликає посилення обміну 3-фосфоінозитидів і вивільнення іонів кальцію із внутрішньоклітинних депо [74, 75]. Подальші події зумовлюються активацією протеїнкінази С, мішенню якої можуть бути як NMDA-, так і не-NMDA-рецептори [76] з їх фосфорилуванням. Фосфорилування NMDA-рецепторів знижує їх гіперреактивність [72, 77], тому цей механізм можна розглядати як спосіб захисту клітин від нейротоксичної дії глутамату.

Механізмам екситотоксичності протидіє також активація пресинаптичних гетеро- та авторецепторів глутамату й аденозину, яка зменшує пресинаптичне вивільнення збудливих амінокислот [78, 79, 80].

Добре розвинені в нейронах механізми протидії глутаматопосередкованому ішемічному наростанню внутрішньоклітинної концентрації вільного Ca^{2+} [81]. Вони спрямовані як на зменшення виходу іонів кальцію з внутрішньоклітинних депо, так і на зв'язування надмірної його кількості.

Зменшує вивільнення депонованого внутрішньоклітинного кальцію активація протеїнкіназ С [71, 82].

Механізми видалення починають спрацьовувати, коли внутрішньоклітинна концентрація Ca^{2+} перевищує 100 нмоль/л. Частина зайвого кальцію відразу зв'язується Ca^{2+} -зв'язуючим білком кальбіндином. Якщо цього механізму недостатньо, підключаються кальцієві механізми цистерн ендоплазматичного ретикулуму, мітохондрій [83]. Останнє зв'язано зі значною кількістю гетерогенних кальційрегулювальних комплексів ендоплазматичного ретикулуму нейронів. До них належать рецептори інозитол-1,4,5-трифосфату [5, 84].

Надзвичайно важлива роль у підтриманні кальцієвого гомеостазу при ішемії належить також Ca^{2+} -АТФазі цитоплазматичної мембрани нейронів, яка активно поглинає та депонує досить значну кількість іонів Ca^{2+} [5, 38].

Існують механізми, роль яких полягає у гальмуванні надходження позаклітинного кальцію [85]. Частина з них реалізується через фосфопротеїнази 1 та 2А, під впливом яких за рахунок дефосфорилування потенціалзалежних кальцієвих каналів надходження Ca^{2+} ззовні значно зменшується [86]. З фосфопротеїнфосфатазами пов'язаний ще один протиішемічний механізм - дефосфорилування та значне підвищення активності Na^+ , K^+ -АТФази, яке зменшує гострий набряк мозку за рахунок зниження внутрішньонейрональної концентрації Na^+ [5, 38].

Важливу нейропротекторну роль за умов ішемії-реперфузії може виконувати оксид азоту II, особливо в реперфузійному періоді [87]. Вважають, що під час цього періоду активується ендотеліальна *NO*-синтаза, внаслідок чого відбувається розширення судин і значне покращання кровотоку, причому не лише в постішемічній зоні, але й у цілому мозку. Про це свідчить той факт, що через 15 хв після відновлення кровотоку виникає виражена гіперемія мозку, яка може сягати 400% від контрольної величини [88]. Хоча деякі автори припускають можливість посилення ПОЛ внаслідок відновлення кровотоку та реоксигенації, однак у той же час ці процеси в постішемічному періоді є неодмінною умовою

регенерації частини ушкоджених нейронів. Тому більшість дослідників дотримується точки зору про позитивну роль судиннорозширювального ефекту оксиду азоту [51, 90]. Вагомий внесок оксиду азоту II також у механізми гіпоксичного прекодиціонування - встановлено, що він підвищує стійкість нейронів до повторної летальної ішемії [41].

За умов ішемії активуюються неспецифічні нейропротекторні механізми, які мають загальнобіологічне значення. Так, з перших хвилин ішемії в нейронах відбувається індукція продуктів генів раннього реагування *c-fos*, *c-jun*, *jun-B*, *jun D* [91, 92].

Загальнобіологічний механізм обмеження впливу пошкоджувальних чинників - синтез білків теплового шоку (БТШ), зокрема БТШ 72, також відіграє протиішемичну роль [93]. Встановлено, що експресія цих білків починає зростати відразу після початку ішемізації мозку. У тварин із підвищеною експресією цих білків загибель нейронів при фокальній та двобічній каротидній ішемії була значно меншою, ніж у звичайних щурів [94]. Здатність до експресії білків теплового шоку мають не лише нейрони, але й астроцити [91].

Астроцити, які за умов ішемії індукують ряд пошкоджувальних впливів, також беруть участь в ініціації захисних реакцій. Прикладом може бути експресія ними металотіонеїнів [95], а також здатність протидіяти екситотоксичним ефектам глутамату [96].

У зв'язку з інтенсивним вивченням механізмів загибелі клітин шляхом апоптозу, який характерний для відстрочених наслідків ішемії, було встановлено, що гени сімейства *bcl* (*bcl-2*, *bax*, *bak* та *p53*), а також їх продукти - транскрипційні фактори - беруть участь у пошкодженні або резистентності нейронів при гіпоксії шляхом регуляції апоптозу. Деякі з них (*bax*, *bak* та *p53*) індукують апоптоз, а *bcl-2* – пригнічує цей процес [97, 98]. Виявлені також деякі посередники їх дії. Встановлено, що посилення апоптозу білками *bax* і *bak* опосередковується каспазами [99]. Індукція посилюючих апоптоз та протиапоптотичних генів знаходиться в

тісному взаємозв'язку. Наприклад, ген p53, який сприяє розвитку апоптозу, має здатність активувати експресію гена bcl-2 [98]. Прийнято вважати, що саме від їх співвідношення залежить - виживе клітина або загине [100]. Це доведено тим, що в нейронах, які зазнали ішемічного пошкодження, майже не виявлено експресії антиапоптозного гена bcl-2, проте проапоптозні гени bax та p53 експресуюються в підвищених кількостях, а в тих клітинах, що пережили ішемію – навпаки [101]. В експерименті посилення експресії білка bcl-2 запобігає гіпоксичному пошкодженню нейронів мозку [98].

Протягом останнього десятиліття увагу дослідників привертають ендогенні нейропептиди, як можливі фактори нейропротекції [103, 104]. На сьогоднішній день визнаними антиішемічними факторами вважають опіюїдні пептиди та кортиколіберин [102, 105], пептиди сімейства нейтрофінів (NGF, IGF-1, FGF, BDNF) [106].

І насамкінець, з'явилися переконливі докази існування в головному мозку двох окремих систем нейронів, які шляхом різних механізмів першими реагують на зниження оксигенації та запускають захисні протиішемічні механізми [107, 108]. У ростральному вентролатеральному ретикулярному ядрі довгастого мозку знаходиться група чутливих до кисню симпатичних збудливих нейронів, які при зниженні церебрального кровотоку чи напруги кисню активують судинні компоненти й підвищують регіонарний мозковий кровотік, нормалізуючи рівень кисню. Ця реакція розвивається протягом декілька секунд. Дослідження морфологічних еквівалентів цієї реакції показало зв'язки цих нейронів з популяцією кіркових, які безпосередньо здійснюють трансдукцію нейрональних сигналів у вазодилатацію [107, 108]. Цей механізм швидкий, але нетривалий.

Більш тривалу нейропротекцію (протягом декількох тижнів) забезпечує інша центральна система, яка бере початок від мозочку, а точніше – від ядра шатра [109]. В експерименті з моделюванням фокальної ішемії електричне подразнення цього ядра вдвічі зменшувало розміри

ішемічного інфаркту. Механізми ефектів цієї системи більш складні й полідромні. Їх пов'язують зі зменшенням збудливості кіркових нейронів та зниженням імунореактивності дрібних судин мозку, а також із блокуванням надмірної експресії *NO*-синтази в зоні пенумбри. Ефективність цих механізмів настільки висока, що вони можуть навіть запобігати екситотоксичній загибелі нейронів при неповній глобальній ішемії [109, 110].

Із наведеного огляду видно, що практично кожній патогенетичній ланці ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку відповідають свої механізми нейропротекції і баланс цих чинників значною мірою визначає наслідки ішемії.

Проте не всі ланки патогенезу та захисту від ішемії точно визначені й описані. Є цілий ряд чинників, які на основі існуючих сьогодні знань важко однозначно віднести до системи пошкодження чи захисту. Класичні представники цієї дискусійної групи речовин – статеві гормони. Не викликає сумніву їх необхідність для розвитку та нормального функціонування мозку, але разом із тим оцінка їх ролі в перебігу ішемічно-реперфузійних пошкоджень мозку коливається від визнання за ними нейропротекторної дії до констатації посилення ішемічних впливів, що свідчить про необхідність подальших досліджень.

1.2. Особливості метаболізму статевих гормонів у мозку та їх роль у розвитку й перебігу пошкоджувальних процесів

Стероїдні гормони гонад мають організуючу й активуючу дію на ЦНС. Ще недавно вважалося, що організуюча дія можлива лише впродовж критичних періодів розвитку мозку, який обмежується пренатальним та раннім постнатальним термінами життя, а в більш пізні строки проявляється лише активуюча дія. Проте дані останніх досліджень не залишають сумнівів стосовно того, що морфогенетичні ефекти статевих

гормонів притаманні й дорослим організмам.

Методом тримірної комп'ютерної реконструкції показано, що підшкірна імплантація фізіологічних кількостей тестостерону кастрованим самцям щурів призводила до значного зменшення довжини, об'єму та числа термінальних гілок дендритів в аркуатних нейроендокринних нейронах у порівнянні з контрольними кастрованими тваринами [111]. При цьому щільність дендритних відростків зростала. Таким чином, тестостерон впливає на архітектуру дендритів аркуатних нейроендокринних нейронів дорослих самців щурів.

При проведенні аналізу впливу статевих гормонів, у першу чергу, андрогенів, на функцію мотонейронів спинного й довгастого мозку було показано, що андрогени приводять до посилення в мотонейронах експресії генів актину, тубуліну, генів білків щілинних контактів і, в першу чергу, гена GAP-43. Крім цього, андрогени підвищують рівень синаптичної іннервації мотонейронів та посилюють формування щілинних контактів між ними [112]. Іншими дослідженнями [113] показано, що підшкірна імплантація тестостерону пропіонату інтактним самцям збільшує кількість мотонейронів у мозку.

Статтеві стероїди мають вплив на процеси мієлінізації нервових волокон. З використанням кріодеструкції сідничного нерва продемонстрована позитивна роль прогестерону в процесах регенерації та мієлінізації нервових волокон [114]. Стимуляція синтезу мієліну відбувається вибірково в клітинах Шванна за посередництвом двох генів, які кодують синтез периферійного мієлінового білка-22 та нульового білка P₀. Ці ефекти прогестерону не прямі, а зумовлені активними відновленими метаболітами.

Імуногістохімічними методами показано, що після кастрації імунореактивність фібрилярного кислого білка астроцитарної глії гіпокампа щурів зростала, а в гіпоталамусі - знижувалася [115]. Імплантація під шкіру тварин у день кастрації 17- β -естрадіолу,

дигідротестостерону чи тестостерону запобігала накопиченню даного білка. У інтактних щурів вміст у гіпокампі мРНК фібрилярного білка виявилася на 25% нижчою, ніж після кастрації. Дигідротестостерон і тестостерон не нормалізували вміст мРНК.

Нейротрофічна дія тестостерону є доведеною, а нейропротекторна – прогнозується. Вікове виснаження пулу тестостерону може підвищувати сприйнятливість головного мозку до нейродегенеративних процесів. Показано, що попередня обробка культури нейронів гіпокампа тестостероном підвищувала їх життєздатність при дії нейротоксичного пептиду β -амілоїду [116], тобто, тестостерон послаблює токсичність β -амілоїду по відношенню до культури нейронів гіпокампа. Ця дія гормону специфічна, бо інші стероїдні гормони, зокрема кортикостерон, а також попередник стероїдних гормонів холестерин не мали такої дії. Такий же ефект мав дигідротестостерон, який не вступає в реакцію ароматизації з утворенням естрогенів, що свідчить про естрогеннезалежний механізм цієї дії тестостерону.

Тестостерон послаблює також чутливість мозку до епілептогенних чинників. Уведення тестостерону мишам дикої лінії збільшувало тривалість латентного періоду судом, викликаних пентилентетразолом та скорочувало частоту їх виникнення [117]. У той же час, введення гормону мишам ліній з дефіцитом 5α -редуктази такого ефекту не мало.

Роль статевих гормонів у перебігу ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку за даними різних дослідників неоднозначна. З одного боку, естрогени демонструють значний потенціал у якості терапевтичного агента при фокальній ішемії мозку. На прикладі екзогенного β -естрадіолу показана їх позитивна роль при різноманітних моделях ішемії. З іншого боку, існують дані щодо незначного ефекту естрогенів при фокальній ішемії. Було вивчено естрогенний нейропротекторний потенціал щодо селективної загибелі нейронів гіпокампа після 4-судинної оклюзії у щурів [118]. Овариєктомовані та овариєктомовані із замісною терапією

естрадіолом самки щурів зазнавали 5- чи 10-хвилинної ішемії. У тварин з 10-хвилинною ішемією не було помічено жодної різниці досліджуваних показників. У групі тварин з 5-хвилинною ішемією було виявлено слабе пошкодження у овариєктомованих тварин – у них загинуло тільки 32% пірамідних клітин поля CA1. Для порівняння – 54% та 49% клітин загинуло у інтактних тварин та овариєктомованих із замісною терапією відповідно. Лінійний регресійний аналіз показав високодостовірний взаємозв'язок між загибеллю нейронів та плазмовим рівнем естрадіолу.

Дія статевих гормонів може реалізуватися на рівні судин головного мозку. Це підтверджується рядом дослідників. Показано, наприклад, що кастрація сприяє підвищенню артеріального тиску в спонтанно гіпертензивних щурів, зниженню чутливості до ацетилхоліну та підвищенню реактивності до норадреналіну. Статеві гормони знижують артеріальний тиск, нормалізують чутливість судин до медіаторів. Подібний ефект має супероксиддисмутаза, що дозволяє розглядати одним із можливих ефектів гормонів зниження інтенсивності ПОЛ [119]. Статеві гормони мають здатність модулювати дію вазопресину на судинну систему [118].

Встановлено, що при інкубації з ізольованими ендотеліальними клітинами тестостерон у високих концентраціях значно зменшував виділення оксиду азоту II. Інгібуюча дія тестостерону на індуковану 17β -естрадіолом продукцію оксиду азоту залежала від дози, а загальний ефект обох гормонів залежав від співвідношення їх концентрацій [120]. Для покращання функції ендотелію артерій у здорових мужчин естрадіолом необхідний тестостерон.

Естрогени регулюють проліферацію гладком'язових клітин судин через посередництво мітогенних факторів тромбоцитів [121]. Доведено також вплив андрогенів на ангіогенез [122].

Дія статевих гормонів опосередковується не лише на рівні артерій, але й на рівні венозних судин. У венах вивлено статеві відмінності

рецепторів прогестерону, естрогенів, мінералокортикоїдів. Автори вважають, що венозні судини можуть бути мішенями прямої дії статевих гормонів [123].

Статеві стероїди можуть модулювати функціональний стан системи вторинних посередників у мозку. Додавання при культивуванні нейронів середнього мозку новонароджених мишей езогенного 17β -естрадіолу викликає швидке дозозалежне фосфорилування Akt-кінази, яка бере участь у передачі сигналу фосфатидилінозитол-3-кінази [124].

При вивченні ролі статевих гормонів у функціонуванні мозку не можна обійти увагою нейростероїди, роль яких інтенсивно вивчається впродовж останніх років [125, 126].

На початку 80-х років з'явилося повідомлення про синтез дегідроепіандростерону (ДГЕА), прегненолону та їх сульфатів у ЦНС. Ці стероїди зберігалися в мозку після гонад- та адреналектомії. У мозку знайдено всі ферменти й кофактори, необхідні для стероїдогенезу [127]. Вони здатні здійснювати повний цикл біосинтезу, починаючи з холестерину. Сьогодні нейростероїдами прийнято називати біологічно активні стероїди, котрі утворюються в ЦНС як у результаті біосинтезу, так і в результаті метаболізму стероїдних попередників [125].

Ферменти стероїдогенезу знайдені практично в усіх основних ділянках мозку, однак при цьому існують суттєві вікові, статеві та топографічні особливості [128, 129]. На основі дослідження генної експресії ферментів у клітинних препаратах кори мозку було показано, що найвищу стероїдогенну активність мають астроцити [127]. Вони синтезують прегненолон, прогестерон, ДГЕА, тестостерон, андростендіон, естрадіол, естрон. В олігодендроцитах утворюються прегненолон, прогестерон та андростендіон [125]. Нейрони не здатні самостійно синтезувати тестостерон, проте синтез естрогенів, андростендіону, прегненолону та ДГЕА в них досить активний. Таким чином, усі три типи нейроцитів беруть участь у синтезі нейростероїдів.

Деякі продукти метаболізму нейростероїдів також мають властивості активних гормональних речовин. Це стосується в першу чергу 5 α -дигідротестостерону, утворення якого каталізується 5 α -редуктазою [125, 128, 130].

Найбільш вивченим аспектом дії статевих гормонів у мозку є їх участь у нейрогенезі, синаптогенезі та статевій диференціації мозку, особливо впродовж ембріонального та раннього постнатального періодів онтогенезу. У цей час активність ароматази в окремих ділянках мозку значно вища, ніж у дорослих, а місцева конверсія тестикулярних андрогенів у естрогенні метаболіти має критичне значення для нормального процесу андрогензалежного розвитку мозку, зокрема, його маскулінізації. Вважають, що в цей час нормальна статева диференціація мозку вимагає участі не тільки локальних естрогенів, але й 5 α -дигідротестостерону, про що свідчить досить висока активність 5 α -редуктази [128, 130].

Метаболізація андрогенів в естрогени є вкрай необхідною й на завершальних етапах морфогенезу мозку. Ці продукти стимулюють нейрогенез, міграцію нейронів, гальмують апоптоз, сприяють росту дендритів і аксонів, встановленню аксосоматичних, аксодендритних, аксо-аксональних зв'язків та інших типів міжнейронних контактів [125].

Особливо важливим механізмом для функціонування ЦНС є утворення в нервовій тканині малоактивних кортикостероїдів. Упродовж онтогенезу роль цього механізму дещо коливається. У період активації нейрогенезу в мозку підвищується експресія 11 β -гідроксистероїд-дегідрогенази II типу, яка сприяє перетворенню кортизолу в кортизон, а кортикостерону – в 11-дезоксикортикостерон, тобто, більш активних форм гормонів у менш активні. За рахунок цього відбувається зниження пригнічувального впливу активних глюкокортикоїдів на розмноження, міграцію та диференціацію нейроцитів. У дорослих тварин такий механізм набуває особливої ваги при дії несприятливих чинників, тобто при

активації гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи (ГГНС) [125].

Прогестерон бере участь у диференціюванні олігодендроцитів, ДГЕА та його сульфат модулюють цитоархітектоніку мозку під час його розвитку [126].

Незважаючи на те, що ароматазна активність у мозку дорослих є відносно низькою, вона в той же час здатна підвищуватися андрогенами (тестостероном, 5α -дигідротестостероном) в синергізмі з естрогенами, тобто, це індукційний фермент [130]. Активність ароматази модулюється також нейротрансміттерами, у першу чергу, катехоламінами.

Фізіологічна роль утворених у мозку продуктів ароматазного перетворення андрогенів у естрогени в регуляції функцій ЦНС підтверджується тим, що тканинний розподіл ароматази співпадає з локусами високої концентрації рецепторів естрогенів.

Вважають, що 5α -редуктаза I типу відіграє протекторну роль у відношенні несприятливої дії надлишку стероїдних гормонів на нейрони. Ця точка зору ґрунтується на тому, що експресія цього фермента в нейронах виявляється тільки за умов підвищеної внутрішньоклітинної концентрації кортикостероїдів, прогестерону та тестостерону [125].

Вплив нейростероїдів на поведінку та інші функції мозку в одних випадках пов'язані з геномними ефектами, в інших – з модуляцією дії нейромедіаторів. Наприклад, зростання рівня прогестерону викликає зниження больової чутливості та інші прояви стрес-реакції. Ці ефекти реалізуються двома шляхами: на рівні геному при зв'язуванні гормону з ядерними рецепторами та через ГАМК_A-рецептори. ДГЕА та його сульфат проявляють свою дію без участі ядерних рецепторів стероїдних гормонів через ГАМК_A- та NMDA-рецептори [127].

Деякі з нейростероїдів (аллопрегненолон, дигідропрогестерон та його сульфат) є алостеричними модуляторами (агоністами) ГАМК_A-рецепторів. Зміна активності нейрофізіологічних процесів, яка

здійснюється за участю цих рецепторів, запускається після зв'язування з ними нейростероїдів, причому в локусах, відмінних від тих, через які діють бензодіазепіни чи барбітурати [131]. Зокрема, шляхом алостеричної модуляції ГАМК_A-рецепторів проявляється снодійний, седативний, анксиолітичний, протисудомний, нейропротекторний ефекти статевих гормонів у цілому та нейростероїдів зокрема.

Цікаво, що стосовно NMDA-рецепторів мозку, які, як згадувалося вище, задіяні в пошкоджувальних ефектах ішемії, деякі нейростероїди (аллопрегненолона сульфат) діють як негативний аллостеричний модулятор, а інші (ДГЕА, прегненолон, їх сульфати) – як позитивні чинники [125, 126]. Ймовірно, їх співвідношенням визначається переважання пошкоджувальних чи протекторних ефектів за умов ішемії.

Важлива роль статевих гормонів у перебігу ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку, зокрема, естрогенів, продемонстрована на моделі фокальної ішемії мозку. Через 24 год після оклюзії середньої мозкової артерії в корі великих півкуль щурів зростає експресія α -рецепторів естрогенів – рівень відповідної мРНК при цьому підвищується на 650% відсотків у порівнянні з псевдооперованими щурами, а вміст β -рецепторів естрогенів знижується вдвічі [132]. Нейростероїдні метаболіти прогестерону на моделі епілепсії мають нейропротекторний ефект [11].

Електростимуляція ділянки перфорантного шляху в мозку щурів викликає зростання епілептиформної активності й загибель нейронів CA1 та CA3 гіпокампа. Попереднє введення нейростероїду 3- α ,5- α -ТНР знижувало епілептиформну судомну активність та некротичні зміни нейронів вказаних ділянок. На цій моделі продемонстровано нейропротекторний ефект нейростероїдного метаболіту прогестерону [117].

Наведені дані не залишають сумніву щодо важливої ролі статевих стероїдів у функціонуванні мозку за умов норми та патології. Разом з тим,

знайомство із сучасним станом цієї проблеми свідчить про наявність у ній багатьох неясних та протирічних моментів. Зокрема, залишається невизначеною роль (антиішемічна чи посилююча ішемічні впливи) андрогенів. Важко також віддиференціювати ефекти сім'яникових андрогенів та нейростероїдів, тим більше, що останні можуть бути метаболітами перших у мозку. Це аргументує актуальність нашої спроби дослідити роль тестикулярних гормонів у перебігу ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Загальна характеристика експериментальних тварин та принципів формування експериментальних груп

Експериментальні дослідження проведено на безпородних білих самцях щурів віком один місяць та три місяці протягом осінньо-весняного періоду (всього використано 236 тварин). Щурів утримували при температурі 20-24° С, на стандартному харчовому раціоні віварію, з вільним доступом до води.

Вибір віку тварин оснований на даних літератури щодо термінів формування та дозрівання основних нейроендокринних регуляторних систем.

Іншим аргументом щодо формування вікових груп є термін дозрівання ЦНС, від якого залежить її функціонування та реактивність щодо дії несприятливих чинників [133-135]. У ссавців дозрівання різних структурно-функціональних зон головного мозку продовжується досить тривалий час після народження. Що стосується щурів, то в них найбільш інтенсивні перебудови в ЦНС відбуваються протягом першого місяця постнатального розвитку. За цей час практично завершуються процеси мієлінізації [136], формування та дозрівання медіаторних систем, нейрони набувають розмірів, притаманних дорослим тваринам [133, 134, 137, 138]. У цей період відбувається інтенсивна перебудова мозкового кровообігу та гемодинамічних показників [139, 140].

Для адекватного реагування на різноманітні чинники велике значення мають не лише внутрішньомозкові процеси, але й системні механізми, які з віком зазнають значних змін (ендокринна регуляція, характер метаболізму, хімічний склад тканин, антиоксидантна активність та інші параметри) [141, 142, 143].

За даними літератури, ці та інші параметри, що визначають

реактивність ЦНС, мають значні відмінності в одномісячних та тримісячних тварин [144, 145], що відповідає меті нашої роботи – охарактеризувати вікову залежність перебігу ішемічно-реперфузійного пошкодження від рівня статевих гормонів в організмі.

Оскільки стійкість тварин до дії гіпоксичних впливів є індивідуальним показником [146, 147], для формування експериментальних груп ми відбирали середньостійких тварин. Визначення індивідуальної стійкості щурів до несприятливих чинників проводили за тиждень до початку досліджень за поведінкою тварин у відкритому полі [148]. Стійкі тварини характеризуються коротким латентним періодом першого руху та виходу в центр, а також високою руховою активністю по периферії й особливо в центрі [149, 50].

2.2. Критерії вибору моделі ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку та методика створення дефіциту статевих гормонів

Аналіз літератури з експериментального вивчення наслідків ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку продемонстрував наявність значної кількості способів моделювання ішемії, що відрізняються між собою за технікою виконання, адекватністю клінічним ситуаціям, обширністю ішемізації мозку, ступенем зниження мозкового кровотоку та іншими параметрами [136, 151].

Нашій меті (вивченню механізмів розвитку відстрочених постішемічних змін) відповідає модель, здатна викликати достатні порушення енергетики нейронів, окиснювальний стрес у тканині мозку, нейрохімічні зміни з одного боку, та сумісність цих змін зі збереженням достатнього рівня функціональної активності основних систем життєзабезпечення організму. Цим вимогам цілком відповідає модель неповної глобальної ішемії мозку, що викликається двобічним припиненням кровотоку по системі загальних сонних артерій [151, 152]. Оскільки в щурів

кровопостачання мозку крім сонних артерій здійснюється ще й за рахунок вертебральних [153], ця модель дозволяє отримати таке зниження кровотоку у великих півкулях мозку, за якого напруга кисню в судинах мозку падає до 4-8 мм рт.ст. При такому ступені гіпоксії ініціюються основні патогенетичні ланки ішемічно-реперфузійного пошкодження, що знаходить підтвердження в цілому ряді досліджень [154, 155].

Встановлено, що подібна модель викликає в мозку суттєві зменшення енергетичних ресурсів нервової тканини - зниження рівня АДФ та АТФ при збільшенні рівня АМФ, активацію анаеробного гліколізу (підвищення рівня лактату, зниження рівня пірувату й уповільнення циклу Кребса) з подальшою активацією вільнорадикальних процесів [156, 157].

Особливо виражені зміни за такої моделі виникають у селективно чутливих зонах мозку, в котрих зростання генерації оксиду азоту II, збільшення вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації спостерігалось через короткий проміжок часу від початку ішемії [152].

Значне зниження мозкового кровотоку (на 70% і вище) при двобічній перев'язці сонних артерій підтвердилося при використанні прямої реєстрації мозкового кровотоку методом водневого кліренсу з електрохімічною генерацією водню [158]. Це й же метод продемонстрував ефективність даної моделі щодо порушення кальцієвого гомеостазу [159].

Підтверджується також адекватність цієї моделі клінічним ситуаціям. При вроджених аномаліях будови судинної стінки магістральних артерій голови, атеросклеротичній дегенерації їх каркасу, оклюзійних ураженнях екстракраніальних магістральних судин мають місце значні порушення церебральної гемодинаміки [160, 161].

Виходячи з цих міркувань ми обрали для свої досліджень модель двобічної каротидної ішемії [162]. Під каліпсоловим наркозом (75 мг/кг маси тіла) через передній серединний шийний розтин шкіри й підшкірної клітковини виділяли обидві загальні сонні артерії, на які на 20 хв накладали кліпси, після чого рану зашивали безперервним швом. Тривалість

реперфузійного періоду становила 5 діб.

Контрольним тваринам проводили несправжню операцію (розтин шкіри, сепарацію м'язів і виділення судин без порушення в них кровообігу).

Кастрацію проводили під каліпсоловим наркозом через серединний розтин мошонки [163]. Тварин брали в дослід через 12 днів після операції.

2.3. Критерії вибору структур для дослідження

Церебральні механізми стійкості до патологічних впливів прийнято розглядати з точки зору генетико-функціональної організації мозку тварин. Тому для отримання виражених високодостовірних ішемічно-реперфузійних пошкоджень дослідження прийнято проводити на структурах мозку, які мають особливо високу чутливість до гіпоксії (так звану селективну чутливість). До таких структур головного мозку в першу чергу відносять гіпокамп та нова кора [151, 163, 164].

Незважаючи на те, що всі ці структури мають низьку толерантність до ішемічно-реперфузійних впливів, серед них також розрізняють більш та менш вразливі відділи. Доведено, що це залежить як від генетично обумовлених причин, так і від ступеня функціональної активності структури, яка обумовлюється її морфологічними особливостями, нейрохімічною картиною, щільністю різних типів рецепторів, зв'язками з іншими структурами й іншими факторами [166- 169]. У межах неокортекса особливо вразливою вважається кора потиличної частки, а серед полів гіпокампа – поле CA1 [170, 171]. Нейрони поля CA1 мають виражені морфологічні відмінності в порівнянні з іншими полями гіпокампа, вищу чутливість до енергетичних порушень [151, 165, 172]. Для наших досліджень особливо важливим є те, що нейрони обраних нами структур по-різному реагують на зміни ендокринного статусу щурів при кастрації [173].

Ми вважаємо, що обрані нами структури мозку в силу філогенетичних особливостей розвитку, морфологічних та функціональних відмінностей,

термінів дозрівання відповідають меті та задачам дослідження.

2.4. Обґрунтування термінів спостереження

За термінами розвитку ішемічно-реперфузійних пошкоджень мозку виділяють ранні та відстрочені. Ранні пошкодження виливаються в некротичну загибель, вони розвиваються (в залежності від глибини патологічного процесу) вже через 5-30 хв після початку ішемії [174]. Основні причини їх розвитку вбачають у початковій (нетривалій) активації постсинаптичних NMDA-рецепторів та потенціалзалежних каналів Ca^{2+} , що спричиняє підвищення його внутрішньоклітинної концентрації та гострий набряк нейронів [175, 176]. Найбільш чутливим до ранніх пошкоджувальних впливів є інтернейрони. Інші ж типи нейронів на цьому етапі ішемії мають вищу толерантність, що пояснюють наявністю захисних механізмів, які частково обмежують ці впливи.

Відстрочені наслідки ішемії-реперфузії полягають у загибелі нейронів шляхом апоптозу [161, 170, 171]. Їх основними причинами є пошкодження, опосередковані арахідоновою кислотою та NO, утворення яких індукується NMDA-залежним механізмом. Ці посередники викликають довготривале посилення вивільнення збудливих амінокислот з наступним підвищенням їх позаклітинної концентрації [177]. Активуючи модифіковані постсинаптичні NMDA- та AMPA/каїнатні рецептори, збудливі амінокислоти підвищують внутрішньонейрональну концентрацію Ca^{2+} та викликають відстрочену загибель нейронів [178, 179].

Патогенез відстрочених ішемічно-реперфузійних пошкоджень структур мозку є більш складним, вивчення їх потребує більших затрат часу, пов'язане зі смертністю тварин, в силу чого більшість існуючих досліджень присвячено саме гострим проявам ішемії. Однак адекватна корекція ішемічно-реперфузійних пошкоджень вимагає розуміння патогенезу як ранніх, так і відстрочених наслідків ішемії.

У наших дослідженнях тварини виводилися з експерименту на шосту добу ішемічно-реперфузійного періоду. Цей термін обрано з урахуванням даних літератури щодо морфологічних змін [150, 161], неврологічного статусу тварин [147] та біохімічних змін у тканині мозку [180].

За даними авторів, при нетривалій ішемії (20-30 хв.) у проміжку з п'ятої по шосту добу ішемічно-реперфузійного процесу виявлено апоптотичні зміни у значній кількості нейронів кори та гіпокампа, реєструються виражені порушення енергетичного метаболізму та лактат-ацидоз, пошкодження мітохондрій, зміни структури РНК та ДНК ядра й цитоплазми, редукція ендоплазматичної сітки, порушення поведінкових реакцій, рухової активності, неврологічний дефіцит.

Ці факти свідчать про достатність обраного нами терміну спостереження.

2.5. Евтаназія тварин, спосіб забору та зберігання досліджуваного матеріалу

На шосту добу спостереження тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під легким ефірним наркозом. Мозок швидко виймали на холоді й одразу занурювали в рідкий азот. Робили кріостатні зрізи товщиною 300 мкм, виділяли лобну та потиличну частки кори й поля гіпокампа СА1, СА2, СА3 [181], згідно з атласом стереотаксичних координат [182]. Для визначення гормонів у момент декапітації кров збирали в центрифужні пробірки, оброблені ЕДТА, центрифугували 20 хв при 600 g, плазму тубували в пластикові мікропробірки по 0,25 мл і заморожували при -20°C .

2.6. Критерії чутливості структур мозку до ішемії

Вивчення ролі статевих гормонів сім'яників у розвитку відстрочених наслідків ішемії-реперфузії в різних полях гіпокампа та кори мозку щурів

проводили шляхом визначення базальної та індукованої ішемією інтенсивності флуоресценції катехоламінів, показників ліпопероксидації та окиснювальної модифікації білків, активності ферментів антиоксидантного захисту, показників активності тканинного фібринолізу та протеолізу без кастрації та через 12 діб після видалення яєчок. Для характеристики системної реакції організму на ішемію проводили визначення в плазмі крові вмісту тестостерону та прогестерону.

2.7. Імуноферментні дослідження

Вміст тестостерону та прогестерону в плазмі крові визначали імуноферментним методом з використанням стандартних комерційних наборів реактивів фірми “Хьюмен” (Німеччина).

2.8. Гістохімічне визначення моноамінів

Визначення моноамінів проводили за методом Фалька-Овмена [184] в модифікації А.Ю. Буданцева [183]. Після фіксації мозку в рідкому азоті робили криостатні зрізи, проводили їх ліофільне висушування під вакуумом $0,66 \times 10^{-5} - 10^{-6}$ кПа. Висушені зрізи обробляли парами параформу, після чого проводили вимірювання інтенсивності флуоресценції катехоламінів, користуючись люмінесцентним мікроскопом МЛ-4 з мікрофотометричною насадкою ФМЭЛ – 1А. У кожному препараті проводили 50 замірювань у досліджуваних структурах та таку ж кількість замірювань фону. Інтенсивність флуоресценції моноамінів виражали в умовних одиницях.

2.9. Біохімічні дослідження

Інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів оцінювали за накопиченням у тканині структур мозку тварин дієнових кон'югатів та

малонового альдегіду. Первинні продукти пероксидного окиснення ліпідів - дієнові кон'югати й вторинні - малоновий альдегід визначали за методами [185, 186]. Вміст зазначених продуктів визначали на спектрофотометрі СФ-46 ("ЛОМО", Росія). Кількість малонового альдегіду та дієнових кон'югатів розраховували в нмоль/мг білка.

Продукти окиснювальної модифікації білків визначали за вмістом альдегідо- та кетонпохідних нейтрального й основного характеру, отриманих при взаємодії 2,4-динітрофенілгідразину з альдегідними і кетонними групами, утвореними в процесі окиснювальної модифікації білків в радикалах залишків аліфатичних амінокислот [187, 188].

Оптичну густина утворених динітрофенілгідразонів реєстрували на фотоелектроколориметрі КФК-3 при 370 нм (альдегідо- й кетонпохідні нейтрального характеру) і 430 нм (альдегідо- й кетонпохідні основного характеру) проти контролю. Вміст продуктів окиснювальної модифікації білків виражали в одиницях оптичної густини на 1 г білка. Паралельно проводили визначення в пробах вмісту білка [189].

Стан антиоксидантного захисту в структурах мозку оцінювали за активністю супероксиддисмутази [КФ 1.15.1.1], каталази [КФ 1.11.1.6] та глутатіонпероксидази [КФ 1.11.1.9].

Активність супероксиддисмутази визначали за методом [190, 191]. Суть методу полягає в здатності ферменту конкурувати з нітросинім тетразолієм за супероксиданіони, утворені при аеробній взаємодії НАДН та феназинметасульфату. Характеристикою активності ферменту були ступінь пригнічення процесу відновлення нітросинього тетразолію в присутності НАДН. Активність супероксиддисмутази виражали в од/хв·мг білка. За одиницю активності приймали 50% гальмування процесу відновлення нітросинього тетразолію за 1 хв інкубації.

Принцип визначення глутатіонпероксидази полягає у кількісному спектрофотометричному визначенні окисненого глутатіону, що утворюється в ході ферментативної реакції [192].

Активність ферменту виражали в нмоль окисненого глутатіону за хв на мг білка.

Визначення активності каталази проводили на основі спектрометрії утвореного стійкого забарвленого комплексу залишкових кількостей пероксиду водню після взаємодії з каталазою досліджуваної проби та молібдату амонію [193] й виражали в мкмоль за хв·на мг білка.

Метод визначення фібринолітичної активності оснований на утворенні плазміну при інкубації азофібрину зі стандартною кількістю плазміногену в присутності активаторів фібринолізу, які містяться в гомогенаті. За ступенем забарвлення розчину в лужному середовищі в присутності ϵ -амінокапронової кислоти визначають активність неферментативного фібринолізу, а без неї – сумарну фібринолітичну активність. Різниця між цими показниками становить інтенсивність ферментативного фібринолізу [194].

Протеолітичну активність в гомогенатах гіпокампа та кори визначали на основі інтенсивності забарвлення після реакції з азоальбуміном, азоказеїном та азоколом [195].

В усіх дослідженнях використано реактиви Simko Ltd, Україна.

2.10. Математична обробка результатів досліджень

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою пакета прикладних програм ("StatSoft" США та "Stat Graf"), який включає тестовий та табличний процесор, графічний редактор. Проводили розрахунок наступних статистичних показників: середню арифметичну, середньоквадратичне відхилення, стандартну похибку. Для оцінки відмінностей середніх величин при нормальному характері розподілу вибірових сукупностей використовували параметричний t-критерій Стьюдента.

Кількісні результати досліджень представлені в таблицях у вигляді значень середніх арифметичних величин та їх стандартних похибок. Статистично вірогідними вважали зміни при $P \leq 0,05$.

РОЗДІЛ 3

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ НЕПОВНОЇ ГЛОБАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ
МОЗКУ НА ВМІСТ ТЕСТОСТЕРОНУ ТА ПРОГЕСТЕРОНУ В ПЛАЗМІ
КРОВІ САМЦІВ ЩУРІВ

Питанням ролі статевих гормонів у перебігу ішемічно-реперфузійних пошкоджень присвячена значна кількість наукових досліджень, однак до цих пір не існує єдності в оцінці механізмів їх дії. З одного боку, існують експериментальні докази здатності статевих гормонів та їх синтетичних аналогів зменшувати пошкоджувальні впливи ішемії за рахунок зниження вазоконстрикторного ефекту багатьох біологічно активних сполук – простагландину $F_{2\alpha}$, тромбоксану, катехоламінів, вазопресину та деяких інших [196, 197, 198], які секретуються при ішемії в підвищених кількостях. Вплив статевих стероїдів на стан судин може опосередковуватися через активність ренін-ангіотензин-альдостеронової системи та шляхом зміни реактивності α -адренорецепторів судин [199]. Проте згідно інших даних статеві стероїди можуть підвищувати ризик розвитку судинної патології, впливаючи на синтез та секрецію ендогенних біологічно активних сполук, здатних посилювати ішемічні впливи [117]. Однак як захисні, так і пошкоджувальні механізми впливу статевих стероїдів потребують детального подальшого вивчення.

Свої дослідження механізмів участі статевих стероїдів у патогенезі ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку ми вирішили розпочати з вивчення реакції гормонів на неповну глобальну ішемію мозку.

Отримані результати представлено на рис. 3.1, 3.2.

Порівняння конститутивного вмісту прогестерону та тестостерону у тварин обраних вікових груп свідчить про відсутність суттєвих відмінностей щодо останнього. Що стосується рівня прогестерону, то в щурів молодшої вікової групи його конститутивний вміст був нижчим в 1,3 раза.

Ішемічно-реперфузійний вплив спричинив суттєве зниження рівнів досліджених гормонів у тварин обох вікових груп, тобто реакція на дане втручання носила односпрямований характер. Однак кількісний аналіз отриманих змін показав, що реакція прогестерону має виражені вікові відмінності. При фактично однаковому конститутивному вмісті гормону, індуковане ішемією зниження у одномісячних тварин становило 1,2 раза, а в тримісячних – 2,2 раза.

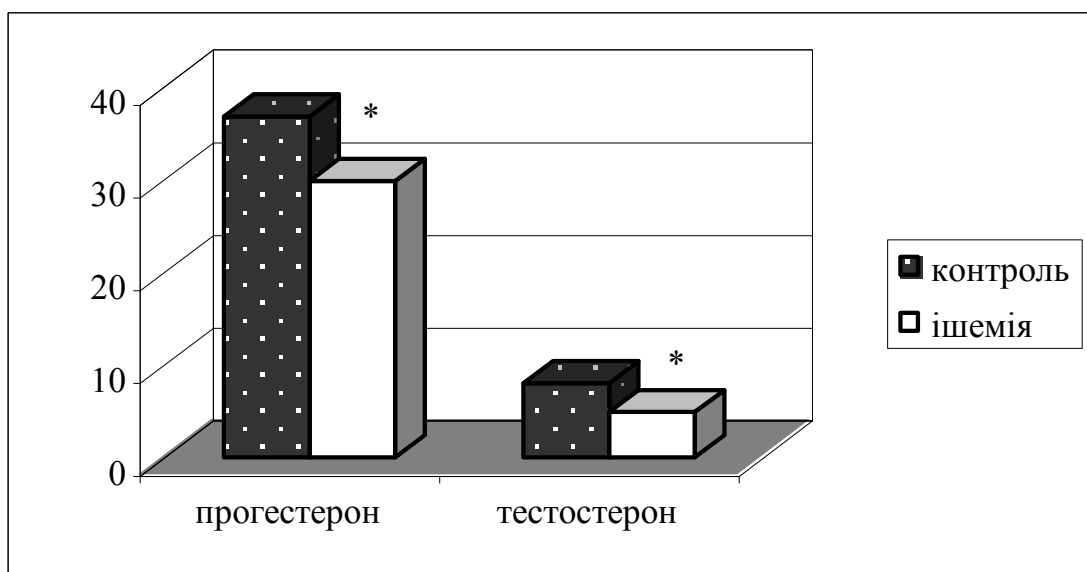


Рис.3.1. Вплив неповної глобальної ішемії мозку на рівень прогестерону (нмоль/л) та тестостерону (нмоль/л) в плазмі крові одномісячних щурів

Примітка – * – вірогідність змін у порівнянні з контролем ($p < 0,05$)

Постішемічне зниження рівня тестостерону в щурів молодшої вікової групи теж було менш вираженим і склало 1,4 раза, а в тримісячних – 1,7 раза, що свідчить про дещо вищу реактивність статевих гормонів на дію несприятливих чинників у дорослих тварин.

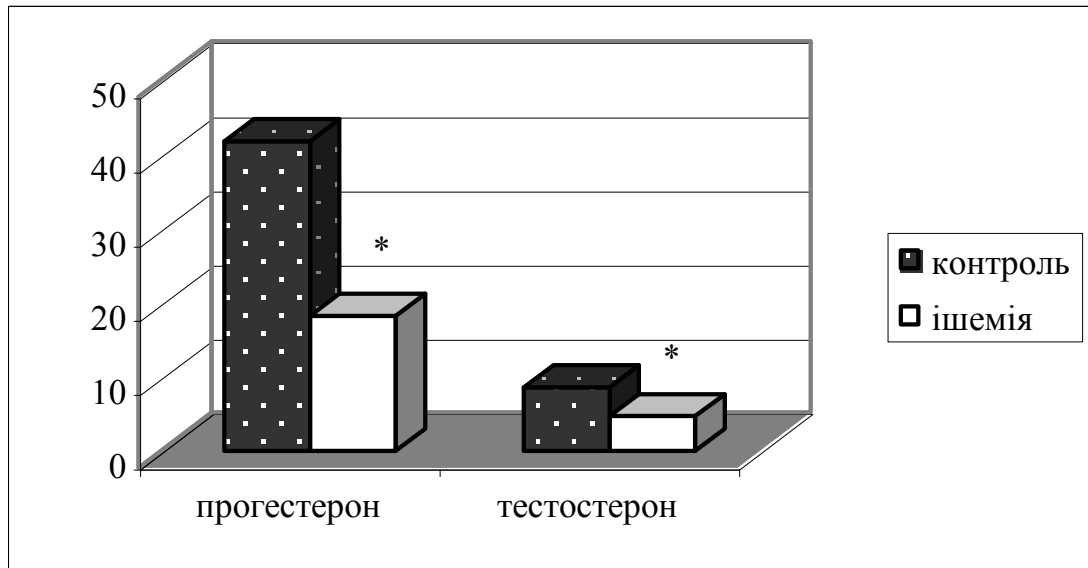


Рис. 3.2. Вплив неповної глобальної ішемії мозку на рівень прогестерону (нмоль/л) та тестостерону (нмоль/л) в плазмі крові тримісячних щурів

Примітка – * – вірогідність змін у порівнянні з контролем ($p < 0,05$)

Отримані дані дозволяють зробити наступні проміжні висновки про:

- наявність конститутивних відмінностей щодо вмісту прогестерону та індукованих ішемією щодо вмісту прогестерону й тестостерону в плазмі крові тварин досліджених вікових груп;
- наявність вікових відмінностей у механізмах індуцибельної конверсії прогестерону в тестостерон.

Результати, представлені в даному розділі, опубліковано в статті [200] Дорошко В.А., Ткачук С.С., Злотар О.М. Вікові особливості впливу неповної глобальної ішемії мозку на вміст тестостерону та прогестерону в плазмі крові самців щурів // Клін. та експерим. патол. – 2004. –Т.ІІІ, №4. – С. 24-26.

РОЗДІЛ 4

РОЛЬ СТАТЕВИХ ГОРМОНІВ У ПОСТІШЕМІЧНІЙ РЕОРГАНІЗАЦІЇ
КАТЕХОЛАМІНЕРГІЧНИХ СИСТЕМ ОКРЕМИХ СТРУКТУР МОЗКУ
ЩУРІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП

Чутливість головного мозку до ішемії значною мірою визначається його нейрохімічною картиною [201, 202]. Хоча провідними в патогенезі ішемічного пошкодження вважаються амінокислотні збудливі медіатори (глутамат, аспартат) [175-177], катехоламінінергічна система мозку може бути визначальною для активування нейронів, які вижили під час ішемії, та для розвитку колатерального кровообігу [203]. Незважаючи на багатолітні дослідження, узагальнюючі дані про стан катехоламінінергічної системи мозку при ішемії відсутні, а існуючі результати сповнені протиріч. Однією з їх причин може бути неврахування гормонального статусу організму, зокрема, рівня статевих гормонів, які мають суттєвий вплив на оборот катехоламінів та зміну нейронної активності [134, 198]. Ми також не зустріли в літературі дослідження впливу вікового фактора на взаємодію катехоламінів та андрогенів при ішемії, хоча він визначає роль статевих гормонів в організмі. Саме тому ми поставили за мету дослідити вікові особливості впливу статевих гормонів на постішемічну реакцію катехоламінінергічних систем лобової й потиличної часток кори та гіпокампа у тварин різних вікових груп.

У наших дослідженнях неповна глобальна ішемія мозку викликала стабільне та суттєве зниження інтенсивності флуоресценції катехоламінів у всіх досліджених структурах мозку одномісячних тварин. Однак ці зміни мали виражені структурні особливості (табл. 4.1), які носили кількісний характер. У лобовій частці кори вміст катехоламінів знизився в 5,1 раза, у потиличній – у 8,2 раза, полях гіпокампа СА1, СА2, СА3 – в 1,5, 2,1, 1,5 раза відповідно. Таким чином, найбільш виражене падіння цього показника мало місце в потиличній частці кори, а найменш виражене – в полях гіпокампа

CA1 та CA3.

Таблиця 4.1

Вплив кастрації на постішемичні зміни інтенсивності флуоресценції катехоламінів (ум. од.) у мозку тварин різного віку ($M \pm m$)

Вік тварин	Структура	Контроль	Ішемія	Ішемія після кастрації
1 місяць	Лобова частка кори	42,9±0,74	8,49±0,18 p<0,001	33,6±0,73 p<0,001 p ₁ <0,001
	Потилична частка кори	32,1±0,54	3,90±0,1 p<0,001	24,6±0,56 p<0,001 p ₁ <0,001
	CA1	4,6±0,11	2,96±0,08 p<0,001	2,76±0,07
	CA2	13,6±0,15	6,48±0,07 p<0,001	7,51±0,11 p<0,001 p ₁ <0,001
	CA3	28,4±0,26	19,3±0,13 p<0,001	17,0±0,09 p<0,001 p ₁ <0,001
3 місяці	Лобова частка кори	103±0,7	16,3±0,29 p<0,001	11,4±0,26 p<0,001 p ₁ <0,001
	Потилична частка кори	76,2±1,06	11,5±0,21 p<0,001	5,17±0,09 p<0,001 p ₁ <0,001
	CA1	27,1±0,41	5,26±0,09 p<0,001	2,11±0,03 p<0,001 p ₁ <0,001
	CA2	36,7±0,92	9,21±0,14 p<0,001	5,23±0,009 p<0,001 p ₁ <0,001
	CA3	67,3±0,71	20,6±0,31 p<0,001	15,9±0,12 p<0,001 p ₁ <0,001

Примітки: вірогідність змін у порівнянні з показниками в: p - контрольних тварин; p₁ - тварин після ішемії без кастрації (p<0,05)

Кастрація мала суттєвий вплив на постішемичну реакцію катехоламінієргічних систем мозку. У порівнянні з контролем зниження

інтенсивності флуоресценції катехоламінів становила 1,3, 1,3, 1,8, 1,7 рази для лобової, потиличної часток кори, полів гіпокампа СА2, СА3 відповідно. Лише в полі гіпокампа СА1 відсутність сім'яникових гормонів не вплинула на постішемичні зміни вмісту катехоламінів.

При порівнянні змін, які відбулися внаслідок ішемічного впливу після кастрації з тими, що мали місце при ішемії без кастрації, встановлено, що зниження інтенсивності флуоресценції катехоламінів становило 3,4, 6,3, 1,2, 1,1 для лобової, потиличної часток кори, полів гіпокампа СА2, СА3 відповідно.

Із наведених даних видно, що у тварин віком один місяць кастрація зменшує постішемичну реакцію катехоламінів мозку практично у всіх структурах, за винятком поля гіпокампа СА1.

У тримісячних контрольних тварин конститутивна інтенсивність флуоресценції катехоламінів перевищувала відповідні показники в одномісячних у 2,4, 2,4, 5,9, 2,7, 2,4 рази в лобовій, потиличній частках кори, полях гіпокампа СА1, СА2, СА3 (рисунки 4.1 – 4.5).

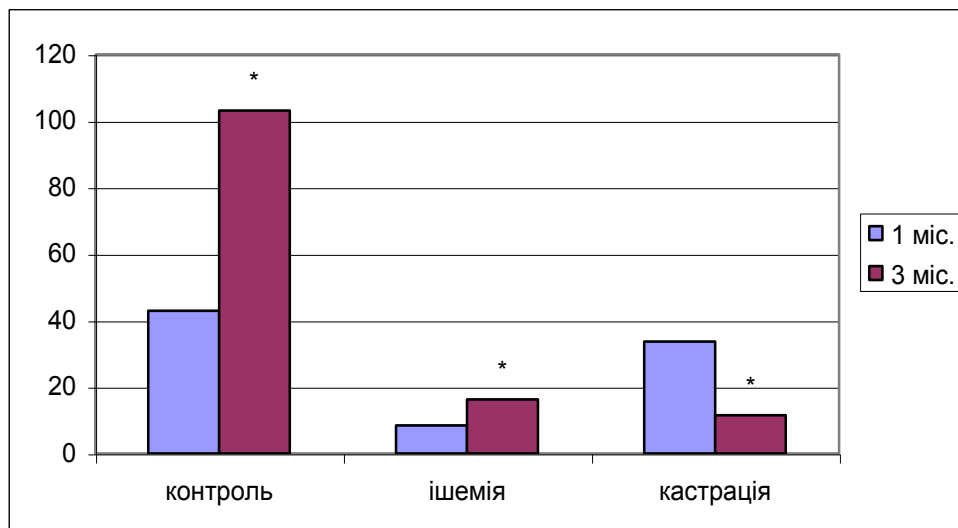


Рис. 4.1. Вікові відмінності інтенсивності флуоресценції катехоламінів у корі лобової частки щурів

Примітка - * - вірогідність міжвікових відмінностей ($p < 0,05$)

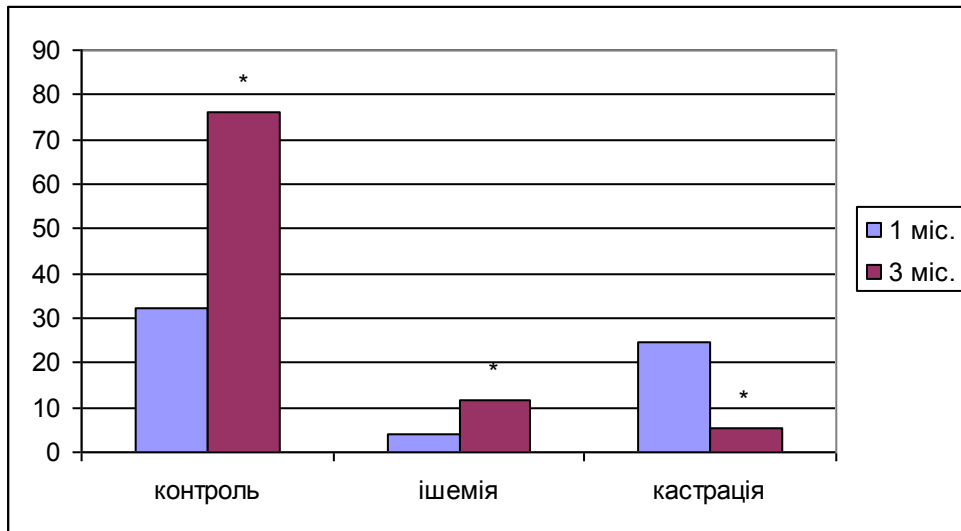


Рис. 4.2. Вікові відмінності інтенсивності флуоресценції катехоламінів у корі потиличної частки щурів

Примітка - * - вірогідність міжвікових відмінностей ($p < 0,05$)

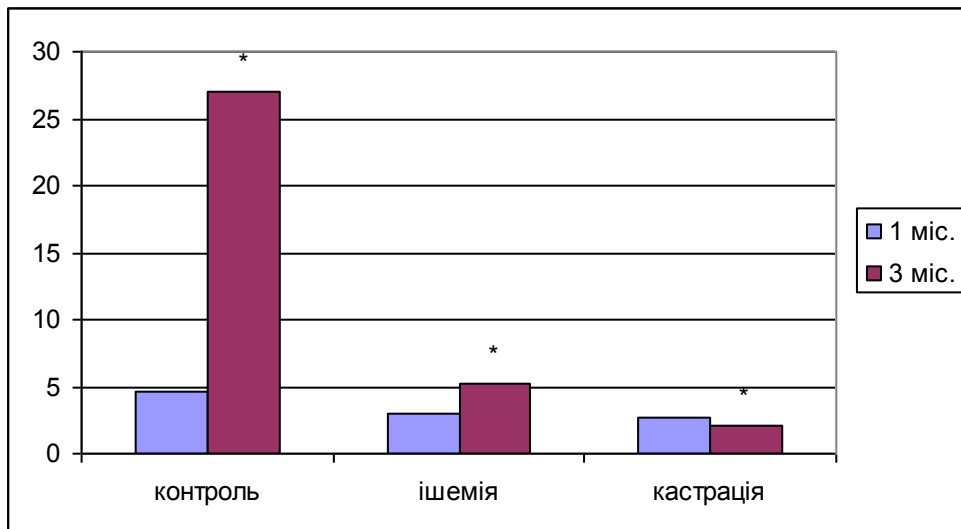


Рис. 4.3. Вікові відмінності інтенсивності флуоресценції катехоламінів у полі гіпокампа CA1 щурів

Примітка - * - вірогідність міжвікових відмінностей ($p < 0,05$)

У всіх структурах тварин даної вікової групи ішемія також спричинила зниження вмісту катехоламінів у 6,3, 6,6, 5,1, 4,0, 3,3 раза відповідно у лобовій, потиличній частках кори, полях гіпокампа CA1, CA2, CA3 (табл. 4.1).

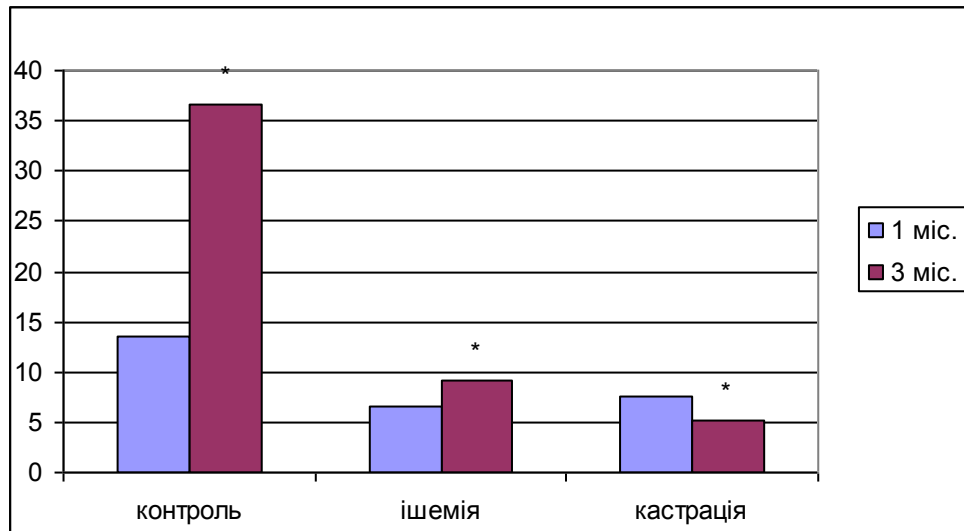


Рис. 4.4. Вікові відмінності інтенсивності флуоресценції катехоламінів у полі гіпокампа СА2 щурів

Примітка - * - вірогідність міжвікових відмінностей ($p < 0,05$)

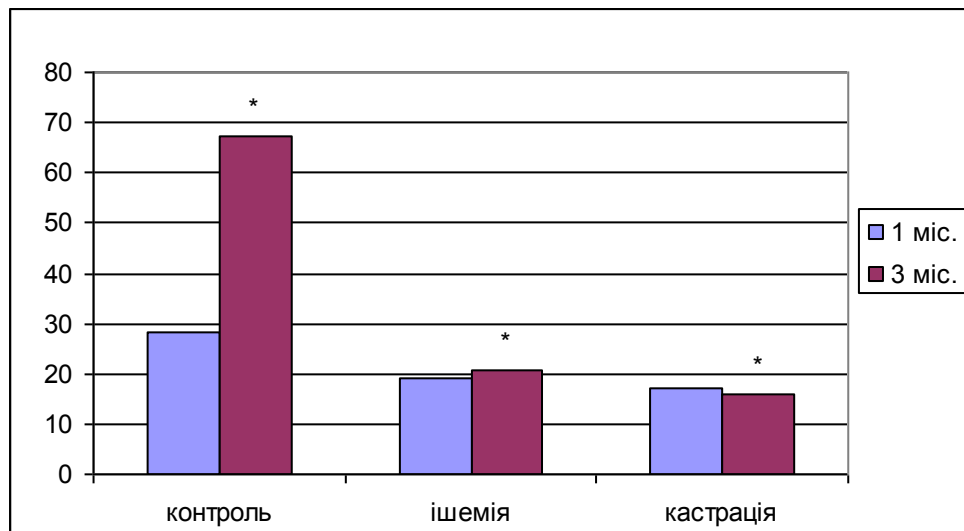


Рис. 4.5. Вікові відмінності інтенсивності флуоресценції катехоламінів у полі гіпокампа СА3 щурів

Примітка - * - вірогідність міжвікових відмінностей ($p < 0,05$)

При порівнянні цих змін з постішемичними показниками в одномісячних тварин видно, що у відповідності з більш високим конститутивним рівнем катехоламінів, постішемичні показники у тварин старшої вікової групи також були достовірно вищими в 1,9, 2,9, 1,8, 1,4, 1,1

раза відповідно в лобовій, потиличній частках кори, полях гіпокампа СА1, СА2, СА3 (рисунки 4.1-4.5). Таким чином, вікові відмінності реакції катехоламінів на ішемію носили суто кількісний характер.

Незважаючи на відсутність якісних вікових відмінностей в реакції на ішемію, кастрація докорінно змінила характер реагування катехоламінів указаних структур на ішемічно-реперфузійний вплив (табл.4.1). Це полягало в тому, що у тварин старшої вікової групи відсутність статевих гормонів сім'яників мала посилюючий вплив на наслідки ішемії. У щурів даної групи інтенсивність флуоресценції катехоламінів знизилась у 8,9, 14,6, 12,9, 7,0, 4,2 раза в порівнянні з показниками в контрольних щурів та в 1,4, 2,2, 2,5, 1,8, 1,3 раза в порівнянні з групою тварин після ішемії без кастрації в лобовій, потиличній частках кори, полях гіпокампа СА1, СА2, СА3 відповідно.

Такі протилежно спрямовані посткастраційні постішемічні зміни у щурів різного віку призвели до того, що у старших тварин даної групи в порівнянні з одномісячними інтенсивність флуоресценції катехоламінів виявилася нижчою у 2,9, 4,8, 1,3, 1,4, 1,1 раза відповідно в лобовій, потиличній частках кори, полях гіпокампа СА1, СА2, СА3.

Отримані дані свідчать, що гормони сім'яників мають суттєвий вплив на постішемічну реорганізацію катехоламінергічних систем мозку, який характеризується вираженими віковими та структурними особливостями.

Результати даного розділу дозволяють зробити наступні проміжні висновки:

1. Ішемічно-реперфузійне пошкодження мозку характеризується зниженням інтенсивності флуоресценції катехоламінів у лобовій та потиличній частках кори головного мозку і полях гіпокампа СА1,СА2, СА3 тварин обох вікових груп.

2. Кастрація значно послаблює вплив ішемії на інтенсивність флуоресценції катехоламінів у зазначених структурах мозку одномісячних тварин та посилює наслідки ішемії щодо вмісту катехоламінів у тримісячних тварин.

3. У відсутності статевих гормонів сім'яників структурні відмінності реакції катехоламінів мозку на ішемію в одномісячних тварин майже зникають, а в тримісячних - значно посилюються.

Отримані дані опубліковано в наступних роботах:

[204] Дорошко В.А. Вплив статевих гормонів на інтенсивність флуоресценції катехоламінів в окремих структурах мозку щурів //Клін. та експерим. патол. – 2004. –Т.ІІІ, №2, Ч.1. – С.163-164.

[205] Дорошко В.А., Мислицький В.Ф., Ткачук С.С. Роль статевих гормонів у постішемичній реакції катехоламінергічних систем окремих структур мозку щурів різних вікових груп //Клін. та експерим. патол. – 2005. –Т.ІV, №3. – С.129-131.

[206] Дорошко В.А. Вікові особливості впливу статевих гормонів на стан моноамінергічних систем мозку // Тези 59 міжнар. наук.-практичної конф. студентів та молодих вчених Національного медичного університету ім. О.О.Богомольця "Актуальні проблеми сучасної медицини". – Київ. 2005. – С. 121-122.

РОЗДІЛ 5

ВПЛИВ КАСТРАЦІЇ НА ВІДСТРОЧЕНІ ЦЕРЕБРАЛЬНІ ПОКАЗНИКИ
ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО
ЗАХИСТУ В ЩУРІВ ІЗ НЕПОВНОЮ ГЛОБАЛЬНОЮ ІШЕМІЄЮ МОЗКУ

Згідно сучасних уявлень, активні форми кисню можна віднести до вторинних месенджерів, які поруч з іншими (циклічними нуклеотидами, іонами кальцію й т.п.) забезпечують адекватну реакцію клітини на зміну умов середовища [207]. У відповідь на метаболічний дискомфорт при ішемії клітина підвищує стаціонарний рівень АФК, що є сигналом для мобілізації її метаболічних можливостей. На початкових стадіях розвитку екситотоксичного ефекту глутамату нейрони зазнають некомпенсованого впливу АФК, які прямо або через H_2O_2 разом із іншими цитокінами (ФНП, різними інтерлейкінами, ліпополісахаридами, окисленими ліпопротеїнами плазми крові) запускають пошкоджувальні та захисні механізми [158]. При неможливості нейтралізувати надлишок АФК відбувається активація каскаду реакцій, які викликають хаотичну (по типу некрозу) або програмовану (апоптоз) клітинну смерть. Таким чином, стійкість клітини сильно залежить від її red/ox стану, який через зміни рівня відновленості низькомолекулярних антиоксидантів (тиоредоксин, глутатіон, аскорбат) [208, 209] буде визначати ступінь пошкодження при ішемії.

Незважаючи на довготривалі дослідження вільнорадикальних впливів при патологічних процесах у ЦНС, до цієї пори залишається маса недосліджених або недостатньо вивчених їх аспектів. Цьому сприяє еволюція й переоцінка поглядів на роль вільних радикалів у життєдіяльності нейронів, а також залежність їх ефектів від багатьох чинників. Зокрема, вплив гормонів сім'яників на стан вільнорадикальних процесів у мозку за умов ішемії досі не має однозначної оцінки.

5.1. Вплив кастрації на показники пероксидного окиснення ліпідів та

активність ферментів антиоксидантного захисту мозку за умов двобічної каротидної ішемії

Аналіз відстрочених наслідків ішемічно-реперфузійного впливу на стан ліпопероксидації в досліджених нами відділах мозку продемонстрував варіабельність змін у залежності від структури та віку (таблиці 5.1 - 5.10).

Таблиця 5.1

Вплив кастрації на постішемічний вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у корі лобової частки великих півкуль мозку одномісячних щурів ($M \pm m$, $n=8$)

Група спостереження	Вміст		Активність ферментів		
	дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка)	малонового альдегіду (нмоль/мг білка)	супер-оксид-дисмутази (од/хв·мг білка)	каталази (мкмоль/хв·мг білка)	глутатіон-пероксидази (нмоль/хв·мг білка)
Контроль	7,27±0,93	3,05±0,37	6,70±0,69	18,2±2,35	4,79±0,50
Ішемія	6,02±0,51	3,07±0,30	6,41±0,49	11,8±1,84 $p_k < 0,05$	4,16±0,32
Ішемія після кастрації	8,42±0,23 $p_i < 0,005$	4,68±0,20 $p_k < 0,01$ $p_i < 0,005$	3,02±0,17 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$	7,17±1,41 $p_k < 0,01$ $p_i < 0,05$	5,09±0,17 $p_i < 0,05$

Примітки: тут та в наступних таблицях розділу - вірогідність постішемічних змін: p_k – щодо контролю; p_i – стосовно ішемії без кастрації. У решті випадків зміни невірогідні

У корі лобової частки тварин молодшої вікової групи відстрочені наслідки ішемії полягали в зниженні активності каталази (в 1,5 раза, $p < 0,05$),

що свідчить про деяке зниження антиоксидантного потенціалу. Постішемичні зміни в кастрованих тварин були більш вираженими й проявлялися зростанням вмісту малонового альдегіду (в 1,4 раза, $p < 0,005$) та суттєвим зниженням активності каталази (в 2,5 раза, $p < 0,005$) й супероксиддисмутази (в 2,2 раза, $p < 0,05$) по відношенню до контрольних тварин. Різниці щодо вмісту первинних продуктів ліпопероксидації не спостерігалось.

Значні відмінності у кастрованих тварин мали місце також у порівнянні зі змінами після ішемії без кастрації. Так, вміст дієнових кон'югатів зріс в 1,4 раза ($p < 0,005$), малонового альдегіду – в 1,5 раза ($p < 0,005$), активність каталази й супероксиддисмутази зменшилася в 1,7 та 2,1 раза відповідно ($p < 0,005$). У той же час, кастрація вірогідно підвищила постішемичну активність глутатіонпероксидази (в 1,2 раза, $p < 0,05$), що в цілому не компенсує порушення антиоксидантного потенціалу.

У потиличній корі одномісячних щурів ішемія спричиняла вірогідне зниження вмісту первинних та вторинних продуктів ліпопероксидації й активності глутатіонпероксидази в 1,6, 1,4, 1,3 раза відповідно (табл. 5.2).

Після кастрації реакція на ішемію продуктів ПОЛ стосовно контрольних тварин не відрізнялася, а реакція антиоксидантних ферментів носила принципово інший характер - змін щодо активності глутатіонпероксидази не спостерігалось, проте активність каталази та супероксиддисмутази суттєво знизилася (в 1,8 та 2,4 раза відповідно, $p < 0,005$).

У порівнянні з постішемичними змінами без кастрації в кастрованих тварин в 1,8 та 1,3 раза зріс вміст первинних та вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів ($p < 0,005$) та значно (в 1,8 й 1,6 раза) була зниженою активність супероксиддисмутази та каталази. Натомість, як і в корі лобової частки, виявлено збільшення активності глутатіонпероксидази (в 1,2 раза, $p < 0,05$).

Таблиця 5.2

Вплив кастрації на постішемичний вміст продуктів пероксидного окиснення

ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у корі потиличної частки великих півкуль мозку одномісячних щурів ($M \pm m$, $n=8$)

Група спостереження	Вміст		Активність ферментів		
	дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка)	малонового альдегіду (нмоль/мг білка)	супер-оксид-дисмутази (од/хв·мг білка)	каталази (мкмоль/хв·мг білка)	глутатіон-пероксидази (нмоль/хв·мг білка)
Контроль	7,18±1,26	4,75±0,31	9,70±0,43	15,7±1,28	5,95±0,26
Ішемія	4,44±0,78 $p_k < 0,005$	3,30±0,33 $p_k < 0,05$	7,06±1,16	15,4±1,24	4,69±0,37 $p_k < 0,05$
Ішемія після кастрації	8,03±0,24 $p_i < 0,005$	4,42±0,20 $p_i < 0,0125$	4,01±0,53 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$	9,40±1,05 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$	5,48±0,13 $p_i < 0,05$

У досліджених полях гіпокампа, як і в корі, постішемичні зміни у тварин без та після кастрації мали свої структурні особливості.

У полі гіпокампа СА1 постішемичні зміни без кастрації торкнулися лише антиоксидантних ферментів, активність яких знизилася (табл. 5.3).

Для каталази це зниження становило 1,2 раза ($p < 0,05$), а для супероксиддисмутази – 1,3 раза ($p < 0,01$).

Постішемичні зміни після кастрації у порівнянні з контрольними тваринами були набагато суттєвішими. У тварин даної групи знизився вміст первинних та вторинних продуктів ПОЛ (в 1,4 раза для обох показників, $p < 0,05$), активності супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази (в 1,3, 4,7, 17 раза відповідно).

Таблиця 5.3

Вплив кастрації на постішемичний вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у полі гіпокампа CA1 одномісячних щурів ($M \pm m$, $n=8$)

Група спостереження	Вміст		Активність ферментів		
	дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка)	малонового альдегіду (нмоль/мг білка)	супер-оксид-дисмутази (од/хв·мг білка)	каталази (мкмоль/хв·мг білка)	глутатіон-пероксидази (нмоль/хв·мг білка)
Контроль	10,8±1,43	5,59±0,23	6,31±0,12	39,7±1,91	8,57±0,43
Ішемія	11,5±0,61	4,95±0,34	4,96±0,44 $p_k < 0,01$	33,8±2,21 $p_k < 0,05$	8,12±0,62
Ішемія після кастрації	7,95±0,74 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,05$	3,90±0,41 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,05$	4,94±0,37 $p_k < 0,01$	8,51±0,73 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$	5,12±0,27 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$

При порівнянні з наслідками ішемії без кастрації отримано наступні дані: вміст дієнових кон'югатів та малонового альдегіду знизився в 1,5 та 1,3 раза відповідно, активність супероксиддисмутази не змінилася, а каталази та глутатіонпероксидази – знизилася в 4,0 та 1,6 раза відповідно ($p < 0,005$).

Реакція досліджуваних показників на ішемію в полі CA2 полягала в паралельному зниженні окремих показників ліпопероксидації та антиоксидантного захисту: зниження вмісту дієнових кон'югатів в 1,2 раза ($p < 0,05$) відбулося на тлі зниження в 2,1 раза ($p < 0,005$) активності супероксиддисмутази (табл. 5.4).

У порівнянні з показниками в контрольних тварин у цьому відділі гіпокампа щурів із поєднаним впливом кастрації та ішемії відбулося зниження вмісту первинних та вторинних продуктів ліпопероксидації в 2

рази та 1,3 раза відповідно, активності супероксиддисмутази й каталази – в 1,3 та 3,2 раза відповідно.

Таблиця 5.4

Вплив кастрації на постішемичний вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у полі гіпокампа СА2 одномісячних щурів ($M \pm m$, $n=8$)

Група спостереження	Вміст		Активність ферментів		
	дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка)	малонового альдегіду (нмоль/мг білка)	супероксиддисмутази (од/хв·мг білка)	каталази (мкмоль/хв·мг білка)	глутатіонпероксидази (нмоль/хв·мг білка)
Контроль	19,9±1,23	5,83±0,37	5,49±0,56	25,1±2,00	5,00±0,28
Ішемія	16,1±1,17 $p_k < 0,05$	5,5±0,40	2,67±0,23 $p_k < 0,005$	21,6±2,19	4,76±0,40
Ішемія після кастрації	9,86±0,84 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$	4,40±0,44 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,05$	4,13±0,32 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,05$	7,94±1,03 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$	5,17±0,49

При порівнянні наслідків ішемії у тварин без кастрації та після видалення яєчок теж виявлено відмінності, хоча дещо менші, ніж у порівнянні з контролем. Так, вміст первинних та вторинних продуктів ПОЛ у кастрованих тварин був нижчим в 1,6 та 1,3 раза, активність каталази – в 2,7 раза, а активність супероксиддисмутази зросла в 1,6 раза.

У зоні гіпокампа СА3 після ішемії незмінною залишалася лише активність супероксиддисмутази. Решта показників зазнала зниження в 1,3, 1,3, 1,5, 1,4 раза відповідно для дієнових кон'югатів, малонового альдегіду, каталази та глутатіонпероксидази (табл. 5.5).

Кастрація внесла суттєві зміни в реакцію прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу поля СА3 на ішемію. У порівнянні з контролем

всі постішемичні показники (за винятком глутатіонпероксидази) зазнали ще більшого зниження (в 3,4, 1,8, 3,5 рази відповідно для дієнових кон'югатів, малонового альдегіду та каталази відповідно). Лише зміни активності глутатіонпероксидази були дещо меншими (в 1,2 рази, $p < 0,01$), ніж після ішемії без кастрації.

Таблиця 5.5

Вплив кастрації на постішемичний вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у полі гіпокампа СА3 одномісячних щурів ($M \pm m$, $n=8$)

Група спостереження	Вміст		Активність ферментів		
	дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка)	малонового альдегіду (нмоль/мг білка)	супер-оксид-дисмутази (од/хв·мг білка)	каталази (мкмоль/хв·мг білка)	глутатіон-пероксидази (нмоль/хв·мг білка)
Контроль	31,4±2,25	8,66±0,78	4,20±0,33	30,2±2,34	7,22±0,31
Ішемія	24,7±1,81 $p_k < 0,05$	6,49±0,52 $p_k < 0,05$	3,82±0,35	20,1±1,31 $p_k < 0,005$	5,35±0,44 $p_k < 0,005$
Ішемія після кастрації	9,12±1,43 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$	4,95±0,49 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,05$	3,63±0,27	8,72±1,016 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$	5,92±0,21 $p_k < 0,01$

Практично всі показники, за винятком глутатіонпероксидази, в кастрованих тварин відрізнялися від тих, які були змінені ішемією без кастрації. Так, зниження вмісту первинних, вторинних продуктів ПОЛ та активності каталази становило 2,7, 1,3, 2,3 рази відповідно.

У тварин старшої вікової групи простішемичні зміни в корі лобової частки були досить вираженими й полягали в паралельному зростанні вмісту як продуктів ліпопероксидації, так й активності ферментів антиоксидантного

захисту (табл. 5.6).

Таблиця 5.6

Вплив кастрації на постішемичний вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у корі лобової частки кори великих півкуль мозку тримісячних щурів ($M \pm m$, $n=8$)

Група спостереження	Вміст		Активність ферментів		
	дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка)	малонового альдегіду (нмоль/мг білка)	супер оксид-дисмутази (од/хв·мг білка)	каталази (мкмоль/хв·мг білка)	глутатіон-пероксидази (нмоль/хв·мг білка)
Контроль	5,52±0,59	2,50±0,33	6,035±0,77	13,3±1,00	3,25±0,22
Ішемія	15,4±0,23 $p_k < 0,005$	11,2±0,17 $p_k < 0,005$	6,44±6,57	21,7±4,31 $p_k < 0,05$	4,03±0,21 $p_k < 0,05$
Ішемія після кастрації	7,85±0,33 $p_k < 0,01$ $p_i < 0,005$	4,35±0,22 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$	2,95±0,51 $p_k < 0,01$ $p_i < 0,005$	7,79±0,75 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,005$	5,36±0,19 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$

Це зростання склало 2,8, 4,5, 1,6, 1,2 раза для дієнових кон'югатів, малонового альдегіду, каталази та глутатіонпероксидази відповідно. Лише активність супероксиддисмутази залишилася незмінною.

Постішемичне підвищення первинних та вторинних продуктів ПОЛ у порівнянні із контролем мало місце також і в кастрованих щурів, однак воно значно меншим (в 1,4 та 1,7 раза відповідно). Натомість суттєво знижувалася активність супероксиддисмутази та каталази (в 2,1 та 1,7 раза відповідно). Активність глутатіонпероксидази як і в некастрованих тварин зростала, навіть дещо в більшій мірі (в 1,7 раза).

У порівнянні з ішемією без кастрації у кастрованих тварин мало місце постішемичне зниження вмісту дієнових кон'югатів, малонового альдегіду,

супероксиддисмутази, каталази в 2 рази, 2,6, 2,2 2,8 рази відповідно. Активність глутатіонпероксидази зростала в 1,3 рази.

У корі потиличної частки тримісячних щурів ішемія спричинила зростання вмісту дієнових кон'югатів, малонового альдегіду та активності супероксиддисмутази в 7,4, 7,9, 1,7 рази відповідно (табл. 5.7).

Таблиця 5.7

Вплив кастрації на постішемичний вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у корі потиличної частки великих півкуль мозку тримісячних щурів ($M \pm m$, $n=8$)

Група спостереження	Вміст		Активність ферментів		
	дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка)	малонового альдегіду (нмоль/мг білка)	супер-оксид-дисмутази (од/хв·мг білка)	каталази (мкмоль/хв·мг білка)	глутатіон-пероксидази (нмоль/хв·мг білка)
Контроль	5,40±0,82	3,68±0,36	5,62±1,59	20,7±5,01	4,81±0,29
Ішемія	40,1±3,54 $p_k < 0,005$	29,2±2,11 $p_k < 0,005$	9,66±1,18 $p_k < 0,05$	19,9±4,33	4,42±0,39
Ішемія після кастрації	7,80±0,54 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,005$	4,69±0,17 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,005$	3,82±0,28 $p_i < 0,005$	7,89±0,97 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,05$	5,56±0,24 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,05$

Кастрація дуже вплинула на наслідки ішемії. При порівнянні показників із подібними в контрольних тварин встановлено, що підвищення інтенсивності ліпопероксидації зберігається, як і в некастрованих, однак воно набагато слабше (в 1,4 та 1,3 рази для дієнових кон'югатів, малонового альдегіду відповідно). На відміну від контрольної ішемії у кастрованих тварин не реагує супероксиддисмутаза, знижується (в 2,6 рази) активність каталази та в 1,2 рази зростає активність глутатіонпероксидази.

Якщо порівняти наслідки поєданого впливу кастрації та ішемії з суто постішемичними, можна констатувати різке зниження вмісту первинних та

вторинних продуктів ПОЛ (в 5,1 та 6,2 раза відповідно), активності супероксиддисмутази та каталази (в 2,5 раза для обох ферментів) на тлі деякого зростання активності глутатіонпероксидази (в 1,3 раза).

У полі гіпокампа СА1 тримісячних щурів відстрочені наслідки ішемії-реперфузії полягали у вірогідному зниженні активності глутатіонпероксидази та каталази в 1,3 раза та 2 рази відповідно (табл.5.8). Вміст продуктів ліпопероксидації залишався незмінним.

Таблиця 5.8

Вплив кастрації на постішемичний вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у полі гіпокампа СА1 тримісячних щурів ($M \pm m$, $n=8$)

Група спостереження	Вміст		Активність ферментів		
	дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка)	малонового альдегіду (нмоль/мг білка)	супер-оксид-дисмутази (од/хв·мг білка)	каталази (мкмоль/хв·мг білка)	глутатіон-пероксидази (нмоль/хв·мг білка)
Контроль	15,6±0,92	4,57±0,43	5,88±0,49	29,2±1,98	9,42±0,82
Ішемія	13,1±1,35	4,48±0,31	4,95±0,41	14,7±1,28 $p_k < 0,005$	7,31±0,47 $P_k < 0,05$
Ішемія після кастрації	7,47±1,05 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,01$	4,10±0,27	4,10±0,26 $p_k < 0,01$	10,0±1,23 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,05$	5,24±0,47 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,01$

Ішемія, модельована після кастрації, значно знижувала більшість досліджених параметрів у порівнянні як з показниками в контрольних тварин, так і при ішемії без кастрації. Це зниження становило 2,1, 1,4, 1,8, 2,9 раза для дієнових кон'югатів, супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, каталази по відношенню до контрольних тварин та 1,8, 1,5, 1,4 раза для дієнових кон'югатів, каталази, глутатіонпероксидази стосовно тих тварин, у

яких ішемія виконувалася без кастрації.

Відстрочені наслідки ішемії-реперфузії в полі гіпокампа CA2 були більш значними, ніж у полі CA1 (табл.5.9).

Таблиця 5.9

Вплив кастрації на постішемичний вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у полі гіпокампа CA2 тримісячних щурів ($M \pm m$, $n=8$)

Група спостереження	Вміст		Активність ферментів		
	дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка)	малонового альдегіду (нмоль/мг білка)	супер-оксид-дисмутази (од/хв·мг білка)	каталази (мкмоль/хв·мг білка)	глутатіон-пероксидази (нмоль/хв·мг білка)
Контроль	11,7±1,20	6,53±0,52	5,08±0,45	42,0±3,17	8,83±0,72
Ішемія	15,96±0,95 $p_k < 0,0125$	5,24±0,50	3,12±0,32 $P_k < 0,005$	21,6±1,22 $p_k < 0,005$	4,33±0,32 $p_k < 0,005$
Ішемія після кастрації	8,32±0,75 $p_k < 0,025$ $p_i < 0,005$	3,34±0,24 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,01$	5,32±0,17 $p_i < 0,005$	6,39±0,84 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$	4,65±0,21 $p_k < 0,005$

У цій структурі вірогідних змін зазнали всі досліджені показники, за винятком малонового альдегіду. Вміст дієнових кон'югатів зріс в 1,4 раза, а активність антиоксидантних ферментів знизилася: супероксиддисмутази - в 1,6 раза, каталази та глутатіонпероксидази – у 2 рази.

Ішемія, поєднана з кастрацією, значно знижувала вміст дієнових кон'югатів, малонового альдегіду, активність каталази (в 1,4 раза, 2 рази та 6,6 раза відповідно в порівнянні з контролем і в 1,9, 1,6, 3,4 раза відповідно в порівнянні з контрольною ішемією). Активність глутатіонпероксидази знижувалася в 1,9 раза лише стосовно контролю, а активність супероксиддисмутази зростала в 1,7 раза стосовно ішемії без кастрації.

Не було вивлено жодних наслідків ішемії-реперфузії щодо досліджуваних показників у полі гіпокампа СА3 (табл.5.10).

Таблиця 5.10

Вплив кастрації на постішемичний вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у полі гіпокампа СА3 тримісячних щурів ($M \pm m$, $n=8$)

Група спостереження	Вміст		Активність ферментів		
	дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка)	малонового альдегіду (нмоль/мг білка)	супер-оксид-дисмутази (од/хв·мг білка)	каталази (мкмоль/хв·мг білка)	глутатіон-пероксидази (нмоль/хв·мг білка)
Контроль	23,2±2,41	5,38±0,41	4,3±0,40	13,6±1,09	5,10±0,46
Ішемія	22,39±1,09	5,59±0,34	4,74±0,35	13,9±1,12	4,11±0,34
Ішемія після кастрації	7,69±0,78 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$	3,86±0,35 $p_k < 0,0125$ $p_i < 0,0125$	3,38±0,66 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,05$	6,29±1,28 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$	4,87±0,26 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$

Незважаючи на це, кастрація суттєво змінила реакцію на ішемію майже всіх показників. Так, поєднання кастрації та ішемії знизило вміст дієнових кон'югатів, малонового альдегіду, супероксиддисмутази й каталази в 3 рази, 1,4, 1,3, 2,2 рази відповідно в порівнянні з показниками в контрольних тварин та у 2,9, 1,5, 1,4, 2,2 рази щодо показників у тварин із впливом ішемії без кастрації.

Оскільки однією із головних задач нашого дослідження було вивчення вікових особливостей впливу статевих гормонів сім'яників на перебіг ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку, ми вважаємо доцільним проведення міжвікового порівняльного аналізу наслідків кастрації щодо

показників прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу. Резистентність до ішемічно-реперфузійних пошкоджень мозку залежить від їх вихідного стану, тому ми враховували й конститутивні показники.

Результати порівняння вікових особливостей перебігу ішемії-реперфузії та впливу дефіциту статевих гормонів представлено на рисунках 5.1 – 5.5.

У корі лобової та потиличної часток не було виявлено вікових відмінностей конститутивного вмісту первинних та вторинних продуктів ліпопероксидації та активності супероксиддисмутази, проте активність каталази та глутатіонпероксидази була суттєво вищою у тварин молодшої вікової групи.

За вмістом дієнових кон'югатів, малонового альдегіду та активності каталази реакція на ішемію була суттєвішою в тримісячних щурів, а постішемічна активність супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази не залежала від віку.

Кастрація усувала вікові особливості реактивності продуктів ліпопероксидації та каталази на ішемію.

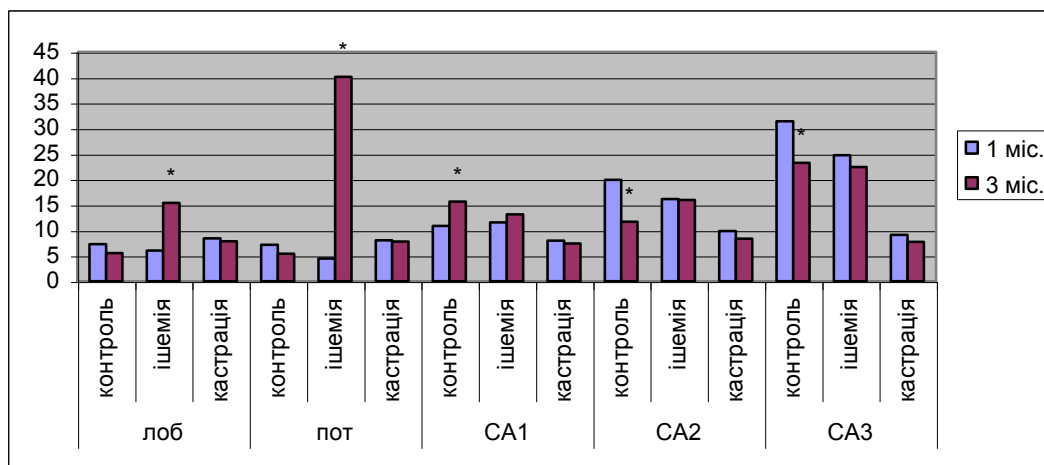


Рис. 5.1 Вікові особливості вмісту дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка) в корі лобової, потиличної часток та полях гіпокампа

Примітка: *- вірогідність міжвікової різниці показників ($p < 0,05$)

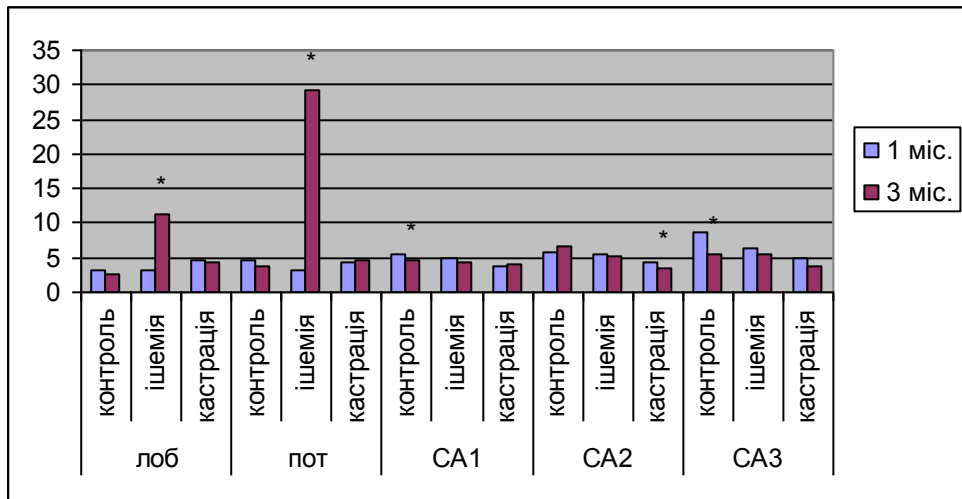


Рис. 5.2. Вікові особливості вмісту малонового альдегіду (нмоль/мг білка) в корі лобової, потиличної часток та полях гіпокампа

Примітка: *- вірогідність міжвікової різниці показників

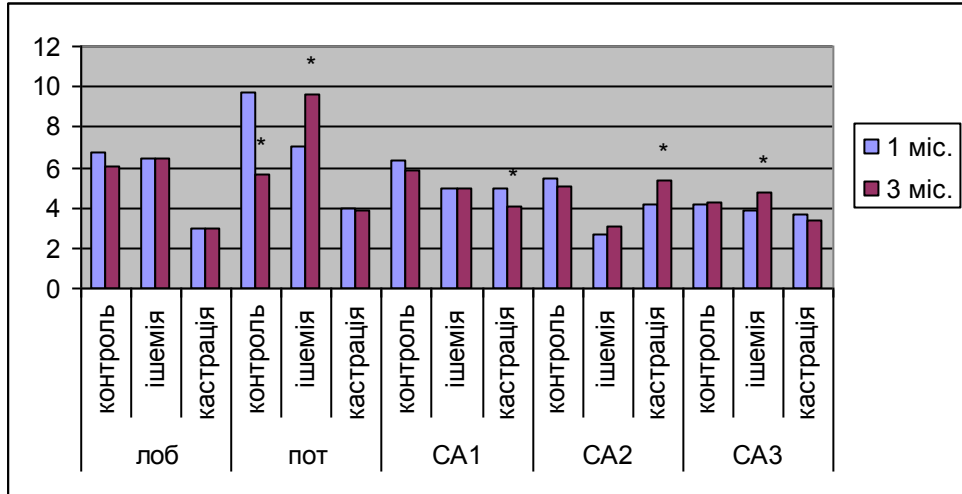


Рис. 5.3 Вікові особливості активності супероксиддисмутази (од/хв·мг білка) в корі лобової, потиличної часток та полях гіпокампа

Примітка: *- вірогідність міжвікової різниці показників ($p < 0,05$)

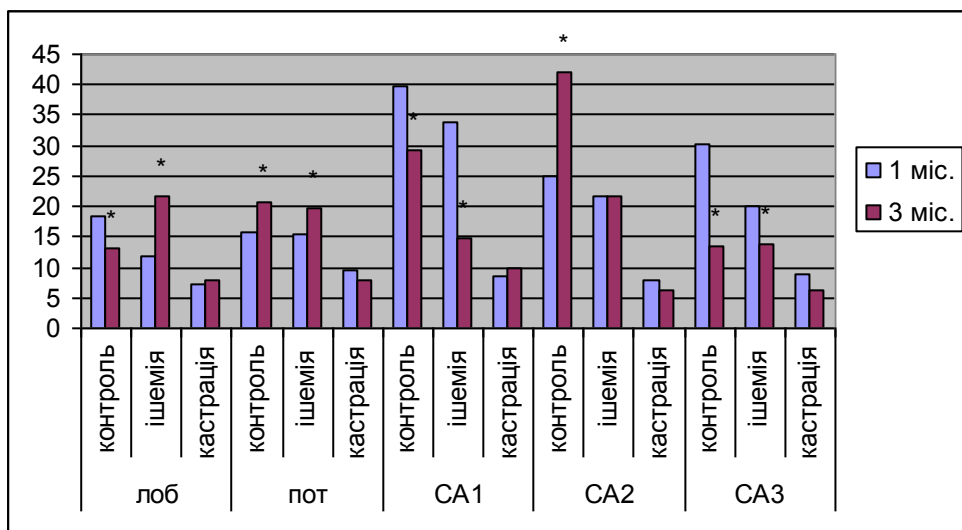


Рис. 5.4 Вікові особливості активності каталази (мкмоль/хв·мг білка) у корі лобової, потиличної часток та полях гіпокампа

Примітка: *- вірогідність міжвікової різниці показників ($p < 0,05$)

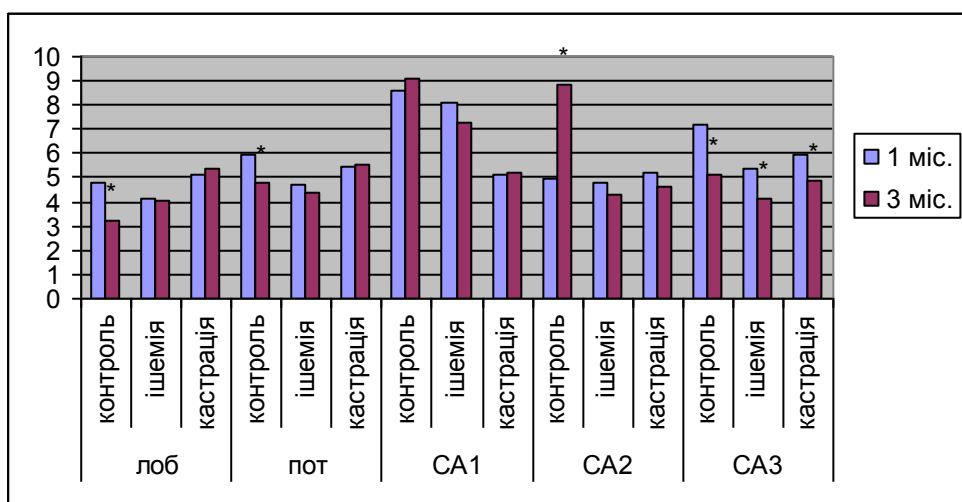


Рис. 5.5 Вікові особливості активності глутатіонпероксидази (нмоль/хв·мг білка) в корі лобової, потиличної часток та полях гіпокампа

Примітка: *- вірогідність міжвікової різниці показників ($p < 0,05$)

У тварин молодшої вікової групи в полі гіпокампа CA1 конститутивний вміст малонового альдегіду в 1,3 раза ($p < 0,05$), а каталази в 1,4 раза ($p < 0,01$) перевищував відповідний показник у тримісячних щурів. У той же час рівень дієнових кон'югатів в 1,44 раза ($p < 0,01$) був нижчим у

тварин молодшої вікової групи.

Вікові відмінності досліджених показників у полі гіпокампа СА2 полягали в більш низькому (в 1,7 раза) вмісті дієнових кон'югатів та більш високій активності каталази і глутатіонпероксидази (в 1,7 та 1,8 раза відповідно) у тримісячних щурів.

У полі гіпокампа СА3 молодших тварин конститутивний вміст продуктів ліпопероксидації та активність ферментів антиоксидантного захисту перевищували в 1,4, 1,6, 2,2, 1,4 раза для дієнових кон'югатів, малонового альдегіду, каталази та глутатіонпероксидази відповідно показники, що мали місце в тримісячних тварин (рисунки 5.1-5.5).

Характерною особливістю в реакції на ішемію для гіпокампа було те, що незалежно від різниці конститутивних показників, постішемичний вміст продуктів ліпопероксидації в межах однієї й тієї ж зони у тварин різних вікових груп не відрізнявся. У той же час активність каталази в полі СА1 та каталази й глутатіонпероксидази в полі СА3 тримісячних тварин після ішемії-реперфузії була значно нижчою, ніж у відповідних полях тварин молодшої вікової групи ($p < 0,05$), а в полі СА2 вікової різниці не спостерігалось. Після кастрації більшість виявлених вікових особливостей зникала.

5.2. Вплив кастрації на вікові особливості окиснювальної модифікації білків у мозку щурів за умов двобічної каротидної ішемії

Розподіл конститутивного вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків дещо відрізнявся в різних структурах мозку тварин у межах кожної вікової групи та в ідентичних відділах мозку щурів різного віку (табл.5.11 – 5.15).

У корі лобової частки мозку тварин молодшої вікової групи наслідки ішемічно-реперфузійного впливу полягали в достовірному зростанні вмісту альдегідо- та кетоніопохідних нейтрального та кислого характеру (табл. 5.11).

Ішемія, виконана після кастрації, спричинила зниження вмісту

динітрофенілгідразонів нейтрального та основного характеру в 1,2 раза у порівнянні з контрольними тваринами та в 1,3 раза у порівнянні з показниками при контрольній ішемії.

Таблиця 5.11

Вплив кастрації на постішемичні зміни вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків у корі лобової частки мозку тварин різного віку
($M \pm m$, $n=8$)

Вік тварин	Група спостереження	Вміст альдегідо- та кетоніпохідних	
		нейтрального характеру (о.о.г./г білка, 370 нм)	основного характеру (о.о.г./г білка, 430 нм)
1 місяць	Контроль	43,5±0,89	17,1±0,88
	Ішемія	46,1±0,75 $p_k < 0,05$	19,0±0,45 $p_k < 0,05$
	Ішемія після кастрації	35,3±1,18 $p_k < 0,001$ $p_i < 0,001$	14,5±0,46 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,001$
3 місяці	Контроль	39,2±0,92 $p_b < 0,01$	15,8±0,68
	Ішемія	43,7±4,35	18,0±2,00
	Ішемія після кастрації	34,3±1,62 $p_k < 0,01$ $p_i < 0,05$	13,9±0,78 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,05$

Примітки: тут та в наступних таблицях – вірогідність змін у порівнянні з: p_k – контролем; p_i – ішемією; p_b – вікові відмінності аналогічних показників

На відміну від тварин молодшої вікової групи, у корі лобової частки тримісячних щурів не було виявлено жодної реакції на ішемічно-реперфузійне втручання. У той же час, після кастрації ішемія достовірно знижувала вміст продуктів окиснювальної модифікації білків нейтрального та основного характеру (в 1,1 раза в порівнянні з контролем та в 1,3 раза стосовно

показників після ішемії без кастрації).

При аналізі вікових особливостей вмісту досліджуваних продуктів вірогідні відмінності виявлено лише щодо конститутивного вмісту динітрофенілгідразонів нейтрального характеру.

Результати дослідження впливу кастрації на постішемичні зміни вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків у корі потиличної частки представлені в таблиці 5.12.

Таблиця 5.12

Вплив кастрації на постішемичні зміни вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків у корі потиличної частки мозку тварин різного віку
($M \pm m$, $n=8$)

Вік тварин	Група спостереження	Вміст альдегідо- та кетоніпохідних	
		нейтрального характеру (о.о.г./г білка, 370 нм)	основного характеру (о.о.г./г білка, 430 нм)
1 місяць	Контроль	39,6±1,27	16,3 ± 0,97
	Ішемія	43,3±0,75 $p_k < 0,05$	17,3 ± 0,34
	Ішемія після кастрації	33,7 ± 1,25 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,001$	13,5 ± 0,44 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,001$
3 місяці	Контроль	37,7 ± 1,14	15,0 ± 0,79
	Ішемія	41,2 ± 1,09 $p_k < 0,05$	16,1 ± 0,66
	Ішемія після кастрації	38,8±0,67 $p_i < 0,05$ $p_v < 0,005$	16,0±0,62 $p_v < 0,05$

У цьому відділі мозку одномісячних щурів ішемія спричиняла вірогідне зростання вмісту динітрофенілгідразонів нейтрального характеру.

Більш значні та обширні зміни вивлено після поєднаної дії кастрації та ішемії. Це втручання зумовило зниження вмісту альдегідо- та кетоніпохідних нейтрального й основного характеру в 1,2 раза при порівнянні з контролем та в 1,3 раза стосовно показників при ішемії без кастрації.

У тримісячних тварин реакція на ішемію була такою ж, як і в молодших, – зростав уміст продуктів окиснювальної модифікації білків лише нейтрального характеру. Характерно, що кастрація попереджувала розвиток постішемичних змін – вміст даних продуктів не відрізнявся від контрольних показників та був нижчим у порівнянні із відповідним показником після ішемії без кастрації.

Що стосується міжвікової різниці вмісту досліджених продуктів у даній структурі мозку, вона була незначною й торкалася лише постішемичного вмісту обох продуктів вільнорадикальної модифікації білків, який у кастрованих щурів був вищим у старшій віковій групі.

У полі CA1 одномісячних щурів ішемія-реперфузія не мала суттєвого впливу на вміст альдегідо- та кетоніпохідних нейтрального характеру, проте спричинила зниження в 1,4 раза продуктів основного характеру (табл.5.13).

Надзвичайно виражений вплив кастрація мала на постішемичний вміст динітрофенілгідразонів основного характеру – їх кількість зросла в 2, 7 та 3,7 раза стосовно аналогічного показника в контрольних щурів та у тварин після ішемії без кастрації відповідно.

Реакція на ішемію-реперфузію у тримісячних тварин була протилежною до тієї, що мала місце в молодших – рівень альдегідо- та кетоніпохідних нейтрального характеру зріс в 1,3 раза ($p < 0,05$), а основного – в 1,4 раза ($p < 0,01$).

Кастрація в цій віковій групі не мала впливу на постішемичну реакцію динітрофенілгідразонів нейтрального характеру (їх вміст залишався в 1,2 раза нижчим, ніж у контролі), проте як і в молодших тварин, значно посилила окиснювальну модифікацію продуктів основного характеру, вміст

яких став в 5,4 раза вищим, ніж у контрольних та в 4 рази – у порівнянні з ішемією без кастрації.

Таблиця 5.13

Вплив кастрації на постішемичні зміни вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків у полі гіпокампа СА1 тварин різного віку ($M \pm m$, $n=8$)

Вік тварин	Група спостереження	Вміст альдегідо- та кетоніпохідних	
		нейтрального характеру (о.о.г./г білка, 370 нм)	основного характеру (о.о.г./г білка, 430 нм)
1 місяць	Контроль	40,3 ± 2,32	5,63 ± 0,38
	Ішемія	38,6 ± 1,96	4,05 ± 0,22 $p_k < 0,05$
	Ішемія після кастрації	35,4 ± 1,47	15,1 ± 0,76 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$
3 місяці	Контроль	31,0 ± 0,94 $p_b < 0,05$	3,0 ± 0,15 $p_b < 0,005$
	Ішемія	38,9 ± 1,61 $p_k < 0,005$	4,2 ± 0,32 $p_k < 0,01$
	Ішемія після кастрації	38,2 ± 0,67 $p_k < 0,005$	16,6 ± 0,67 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$

Наслідки ішемії-реперфузії щодо окиснювальної модифікації білків у полі гіпокампа СА2 були більш вираженими, ніж у полі СА1 (табл.5.14).

У тварин одномісячного віку в постішемичному періоді значно знижувався вміст альдегідо- та кетоніпохідних як нейтрального, так і основного характеру (в 1,3 та 1,9 раза відповідно). У тримісячних щурів мало місце достовірне зростання продуктів нейтрального та основного характеру.

Таблиця 5.14

Вплив кастрації на постішемичні зміни вмісту продуктів окиснювальної

модифікації білків у полі гіпокампа CA2 тварин різного віку ($M \pm m$, $n=8$)

Вік тварин	Група спостереження	Вміст альдегідо- та кетоніпохідних	
		нейтрального характеру (о.о.г./г білка, 370 нм)	основного характеру (о.о.г./г білка, 430 нм)
1 місяць	Контроль	$34,8 \pm 0,95$	$3,7 \pm 0,33$
	Ішемія	$27,4 \pm 1,81$ $p_k < 0,005$	$1,9 \pm 0,37$ $p_k < 0,05$
	Ішемія після кастрації	$35,1 \pm 1,23$ $p_i < 0,005$	$14,5 \pm 0,69$ $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$
3 місяці	Контроль	$19,2 \pm 0,39$ $p_b < 0,005$	$1,7 \pm 0,22$ $p_b < 0,005$
	Ішемія	$22,9 \pm 0,49$ $p_k < 0,05$ $p_b < 0,05$	$2,9 \pm 0,22$ $p_k < 0,01$ $p_b < 0,05$
	Ішемія після кастрації	$37,6 \pm 1,26$ $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$	$15,9 \pm 0,56$ $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$

Кастрація у щурів молодшої вікової групи мала значний протекторний ефект щодо ішемічного впливу стосовно альдегідо- та кетоніпохідних нейтрального характеру, про що свідчить відсутність змін у кастрованих тварин порівняно з контролем. Однак, як і в попередньому полі гіпокампа, кастрація викликала значну модифікацію ішемічного впливу на вміст продуктів основного характеру, який виявився в 3,9 та 7,6 рази вищим, ніж у контрольних тварин та щурів із ішемією без кастрації відповідно.

У тримісячних щурів кастрація значно поглиблювала наслідки ішемії за рахунок зростання вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків нейтрального і основного характеру в 1,9 та 9,3 рази порівняно з показниками в контрольних тварин та в 1,6 і 5,5 рази – з показниками у тварин після ішемії

без кастрації.

У полі гіпокампа СА3 щурів молодшої вікової групи ішемія-реперфузія не викликала суттєвих змін вмісту досліджуваних продуктів (табл.5.15).

Таблиця 5.15

Вплив кастрації на постішемичні зміни вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків у полі гіпокампа СА3 тварин різного віку ($M \pm m$, $n=8$)

Вік тварин	Група спостереження	Вміст альдегідо- та кетонпохідних	
		нейтрального характеру (о.о.г./г білка, 370 нм)	основного характеру (о.о.г./г білка, 430 нм)
1 місяць	Контроль	22,9 ± 1,39	2,2 ± 0,22
	Ішемія	19,6 ± 1,96	1,9 ± 0,07
	Ішемія після кастрації	36,4 ± 0,96 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$	15,1 ± 0,68 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$
3 місяці	Контроль	15,8 ± 0,54 $p_b < 0,005$	0,89 ± 0,10 $p_b < 0,01$
	Ішемія	23,1 ± 1,70 $p_k < 0,005$	1,7 ± 0,29 $p_k < 0,05$
	Ішемія після кастрації	33,9 ± 1,60 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$	14,4 ± 0,63 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$

У той же час, ішемія, модельована на тлі кастрації, призводила до значного зростання вмісту альдегідо- та кетонпохідних нейтрального та основного характеру. Воно становило 1,6 та 1,9, 6,9 та 7,9 раза стосовно показників у контрольних щурів та тих, які зазнали ішемії без кастрації для нейтральних та основних продуктів відповідно.

На відміну від молодших тварин, у тримісячних ішемічно-реперфузійний вплив виявлено як для нейтральних, так і основних продуктів

вільнорадикальної модифікації білків. Він проявлявся їх зростанням в 1,5 та 1,9 раза відповідно.

Ще більшої вираженості ішемічно-реперфузійний вплив набув після кастрації – накопичення нейтральних динітрофенілгідразонів зросло в 2,1 та 1,5 раза, а основних – в 16,2 та 8, 4 раза відповідно в порівнянні з контролем та ішемією без кастрації.

На відміну від кіркових зон, міжвікове порівняння конститутивних показників у полях гіпокампа показало наявність більшої кількості вірогідних відмінностей. У тварин молодшої вікової групи вміст динітрофенілгідразонів нейтрального характеру був вищим в 1,3, 1,8, 1,4 раза, а основного характеру - в 1,9, 2,2 та 2,4 раза в зонах СА1, СА2, СА3 відповідно ($p < 0,05$ в усіх випадках).

Ішемія також справляє значний вплив на міжвікові взаємовідносини. За рахунок постішемічного накопичення продуктів окиснювальної модифікації білків у тварин старшої вікової групи, міжвікова різниця в полі СА1 зникає, в полі СА2 – зменшується для продуктів нейтрального характеру й зникає – для продуктів основного, в полі СА3 – зникає для продуктів основного й нейтрального характеру. Цікаво, що як і для продуктів ліпопероксидації та антиоксидантних ферментів, незалежно від спрямування та вираженості постішемічних змін, кастрація нівелює міжвікові та структурні відмінності вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків у гіпокампі.

Основні проміжні висновки даного розділу можна сформулювати наступним чином:

1. Конститутивні показники інтенсивності ліпопероксидації та активність каталази значно вищі в полях гіпокампа, ніж у новій корі у тварин обох вікових груп.

2. Найбільш виражені постішемічні зміни прооксидантно-антиоксидантних показників виявлено в корі потиличної частки та полі гіпокампа СА3 щурів молодшої вікової групи, та у корі лобової частки й полі гіпокампа СА2 – тримісячних.

3. Основні вікові відмінності ліпопероксидації у кіркових відділах стосувалися постішемичних змін, а в гіпокампі – конститутивних показників. Вікові особливості активності антиоксидантних ферментів були індивідуальними для кожної структури.

4. Кастрація значною мірою нівелює постішемичні зміни прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу незалежно від конститутивних показників, спрямування та вираженості постішемичних змін та віку тварин.

5. Вікові відмінності конститутивного вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків мають місце в корі лобової частки, полях гіпокампа CA1, CA2, CA3, постішемичного вмісту – в полі CA2.

6. Постішемичний вміст продуктів окиснювальної модифікації білків за умов дефіциту статевих гормонів має вікові відмінності лише в корі потиличної частки. У решті структур кастрація їх усуває.

Результати досліджень, представлених у даному розділі, опубліковано в наступних роботах:

[210] Дорошко В.А., Ткачук С.С. Роль статевих гормонів у постішемичній дизрегуляції прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в структурах мозку щурів різного віку // Таврический медико-биологический вестник. – 2004. – Т.7, №4. – С. 52-56.

[211] Дорошко В.А. Модифікація постішемичного рівня окиснювальної модифікації білків у структурах мозку щурів дефіцитом статевих гормонів та її вікові особливості // Бук. мед. вісник. – 2004. – Т.8, № 3-4. – С. 273-276.

[212] Дорошко В.А. Онтогенетичні особливості перебігу постішемичного періоду при гострій каротидній ішемії // Матеріали Міжнародної конференції, присвяченої пам'яті проф. Шостаковської І.В. – Львів, 2002. – С. 58.

[213] Дорошко В.А. Реорганізація проокисно-антиоксидантного гомеостазу як прояв відстрочених наслідків неповної глобальної ішемії головного мозку// Тези 58 науково-практичної конференції студентів та молодих вчених Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця

з міжнародною участю "Актуальні проблеми сучасної медицини". – Київ, 2003. – С. 89.

[214] Дорошко В.А. Чутливість деяких структур мозку до ішемічно-реперфузійного пошкодження в залежності від рівня статевих гормонів в організмі// 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.

РОЗДІЛ 6

ВПЛИВ КАСТРАЦІЇ НА ВІДСТРОЧЕНІ НАСЛІДКИ
НЕПОВНОЇ ГЛОБАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ МОЗКУ ЗА АКТИВНІСТЮ
ТКАНИННОГО ПРОТЕОЛІЗУ ТА ФІБРИНОЛІЗУ У МОЗКУ
ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ

Дані літератури свідчать про існування прямої залежності між тяжкістю перебігу ішемічно-реперфузійних ушкоджень і функціональним станом фібрино- та протеолітичних систем [215]. Активність ферментів обмеженого тканинного фібринолізу та протеолізу відіграє значну роль у механізмах селективної чутливості мозку до ішемії [216]. У свою чергу, статеві гормони також впливають на перебіг ішемії мозку [196, 197], тому за цих умов логічно очікувати наявність взаємозв'язку між рівнем статевих гормонів в організмі та станом тканинного фібринолізу й протеолізу. За даними літератури, активність фібрино- та протеолітичних систем контролюється гормональним статусом організму [217, 218], тому подібні взаємозв'язки є цілком прогнозованими. Однак літературний пошук у даному напрямку не виявив подібних досліджень, що стало мотивом до їх проведення.

Результати даних досліджень представлено в таблицях 6.1- 6. 10.

У корі лобової частки щурів молодшої вікової групи відстрочені наслідки ішемії-реперфузії мозку полягали в зниженні сумарної, неферментативної та ферментативної фібринолітичної активності в 1,4, 1,5, 1,4 рази відповідно. Кастрація запобігала постішемичним змінам фібринолітичної активності, про що свідчить відсутність змін досліджуваних показників у даної групи тварин порівняно з контролем.

Що стосується протеолітичної активності, то її постішемичні зміни торкнулися лише лізису колагену, який знизився вдвічі ($p < 0,005$). Ішемія, виконана після кастрації, також не вплинула на лізис високомолекулярних та

низькомолекулярних білків, проте посилила вплив ішемії на лізис колагену, внаслідок чого цей показник знизився в 3,1 раза стосовно контролю та в 1,5 раза по відношенню до постішемичного показника без кастрації.

Таблиця 6.1

Вплив кастрації на відстрочені постішемичні показники стану тканинного фібринолізу та протеолізу в корі лобової частки одномісячних щурів
($M \pm m$, $n=8$)

Досліджувані показники	Група спостереження		
	Контроль	Ішемія	Кастрація
Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	39,1±2,49	27,5±3,11 $p_k < 0,005$	39,4±4,7 $p_i < 0,025$
Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	19,3±2,18	13,1±1,30 $p_k < 0,005$	20,3±2,64 $p_k < 0,05$
Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	19,8±1,38	14,4±1,69 $p_k < 0,05$	19,1±2,13 $p_i < 0,05$
Лізис низькомолекулярних білків (мкг азоальбуміну/г тканини за год)	170±22,21	179±8,69	148±27,8
Лізис високомолекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год)	136±19,25	154±6,99	131±22,31
Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за год)	22,7±2,47	11,1±1,11 $p_k < 0,001$	7,4±1,61 $p_k < 0,001$ $p_i < 0,05$

Примітки: тут та в наступних таблицях розділу – достовірність постішемичних змін: p_k – щодо контролю; p_i – стосовно ішемії без кастрації. У решті випадків зміни невірні.

У потиличній частці кори з усіх досліджених показників вірогідних постішемичних змін зазнав лише лізис колагену, який знизився порівняно з контролем у 2,1 раза (табл. 6.2).

Таблиця 6.2

Вплив кастрації на відстрочені постішемичні показники стану тканинного фібринолізу та протеолізу в корі потиличної частки одномісячних щурів
($M \pm m$, $n=8$)

Досліджувані показники	Група спостереження		
	Контроль	Ішемія	Кастрація
Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	22,8±2,51	25,2±2,71	45,4±4,10 $p_k < 0,01$ $p_i < 0,01$
Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	10,5±1,21	11,9±1,38	22,6±3,02 $p_k < 0,01$ $p_i < 0,01$
Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	12,3±1,29	13,3±1,34	22,8±3,62 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,05$
Лізис низькомолекулярних білків (мкг азоальбуміну/г тканини за год)	181±16,96	186±15,4	147±19,3
Лізис високомолекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год)	149±13,4	162±12,1	134±13,6
Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за год)	27,5±1,08	12,9±1,88 $p_k < 0,05$	5,4±0,94 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,001$

Після кастрації постішемичні зміни набули більшої значущості. У порівнянні з показниками в контрольних тварин сумарна фібринолітична активність зросла у 2 рази, неферментативна – у 2,2 рази, ферментативна – в 1,9 рази, а лізис азоколу знизився в 5,1 рази. Ці показники відрізнялися також

від тих, які мали місце у тварин після ішемії без кастрації – приріст сумарної, неферментативної та ферментативної активності в цьому випадку становив 1,8, 1,9, 1,7 рази відповідно, а зниження лізису колагену – 2,4 рази.

Характеристика відстрочених постішемичних фібринолітичних та протеолітичних змін у полі гіпокампа CA1 одномісячних щурів представлена в табл. 6.3.

Таблиця 6.3

Вплив кастрації на відстрочені постішемичні показники стану тканинного фібринолізу та протеолізу в полі гіпокампа CA1 одномісячних щурів
($M \pm m$, $n=8$)

Досліджувані показники	Група спостереження		
	Контроль	Ішемія	Кастрація
Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	45,7±3,81	34,6±1,61 $p_k < 0,05$	61,5±7,37 $p_i < 0,05$ $p_2 < 0,005$
Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	24,7±1,85	21,0±1,13 $p_k < 0,01$	29,8±3,66 $p_i < 0,025$
Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	20,9±1,96	13,6±1,07 $p_k < 0,01$	31,7±3,89 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,05$
Лізис низькомолекулярних білків (мкг азоальбуміну/г тканини за год)	283±16,2	341±17,88 $p_k < 0,05$	232±27,1 $p_i < 0,005$
Лізис високомолекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год)	258±6,93	227±10,5 $p_k < 0,0125$	203±24,3 $p_k < 0,05$
Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за год)	15,1±1,15	19,4±1,57 $p_k < 0,05$	9,6±2,42 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,005$

У полі гіпокампа СА1 щурів молодшої вікової групи ішемія викликала вірогідну реакцію всіх досліджених показників. В 1,3 раза ($p < 0,05$) зменшилася сумарна фібринолітична активність. Це зниження відбулося за рахунок як неферментативної (в 1,2 раза), так і ферментативної (в 1,5 раза) складової. Показники протеолітичної активності зазнавали змін за рахунок зростання лізису низькомолекулярних білків та зниження – високомолекулярних в 1,2 раза ($p < 0,05$ в обох випадках). Вірогідного зріс (в 1,3 раза, $p < 0,05$) також лізис колагену.

Постішемичне зниження фібринолітичної активності в полі гіпокампа СА1 тварин обох вікових груп після кастрації змінювалося зростанням. Стосовно показників у контрольних тварин воно становило 1,4, та 1,5 раза для сумарного і ферментативного фібринолізу відповідно, а неферментативна складова мала лише тенденцію до зростання. Посткастраційні постішемичні зміни відрізнялися також і від суто постішемичних, причому ці відмінності були більш значними, ніж з контрольними показниками. Зростання фібринолітичної активності склало 1,8, 1,4, 2,3 раза для сумарного, неферментативного та ферментативного фібринолізу відповідно.

Після кастрації лізис низькомолекулярних білків знизився в 1,5 раза порівняно з постішемичним показником, високомолекулярних білків – в 1, 2 раза щодо контролю, лізис колагену стосовно ішемії – у два рази, у порівнянні з контролем – в 1,6 раза.

Тканинна фібринолітична активність у полі СА2 щурів молодшої вікової групи після ішемії знижувалася в 1,3, 1,5, 1,3 раза для сумарного, неферментативного та ферментативного фібринолізу відповідно (табл. 6.4).

Ішемія, модельована після кастрації, мала протилежний вплив, тобто підвищувала всі складові фібринолітичної активності у порівнянні з показниками як у контрольних тварин (в 1,8, 1,7, 1,9 раза), так і в щурів після ішемії без кастрації (у 2,2, 2,1, 2,3 раза для сумарного, неферментативного та ферментативного фібринолізу відповідно).

Таблиця 6.4

Вплив кастрації на відстрочені постішемічні показники стану тканинного фібринолізу та протеолізу в полі гіпокампа СА2 одномісячних щурів
($M \pm m$, $n=8$)

Досліджувані показники	Група спостереження		
	Контроль	Ішемія	Кастрація
Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	64,93±3,91	50,6±4,09 $p_k < 0,0125$	112±6,57 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$
Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	34,1±2,95	26,6±2,12 $p_k < 0,05$	56,9±3,49 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$
Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	30,8±2,53	23,9±1,45 $p_k < 0,05$	55,9±3,08 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$
Лізис низькомолекулярних білків (мкг азоальбуміну/г тканини за год)	142±6,2	160±7,00 $p_k < 0,05$	323±30,8 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$
Лізис високомолекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год)	171±12,9	181±7,52	294±28,27 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$
Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за год)	10,0±1,10	10,1±1,02	13,4±1,29 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,05$

Постішемічні зміни протеолітичної активності у тварин даної вікової групи були менш вираженими і полягали в зростанні лізису низькомолекулярних білків. Посткастраційні постішемічні зміни були набагато суттєвішими. У порівнянні з показниками в контрольних тварин лізис низько-, високомолекулярних білків та колагену зріс в 2,3, 1,7, 1,3 раза

відповідно. Зростання щодо цих же параметрів у тварин після ішемії без кастрації становило 2 рази, 1,6, 1,3 рази.

Наслідки впливу ішемії та кастрації на досліджувані показники в полі САЗ представлені в табл. 6.5.

Таблиця 6.5

Вплив кастрації на відстрочені постішемичні показники стану тканинного фібринолізу та протеолізу в полі гіпокампа САЗ одномісячних щурів
($M \pm m$, $n=8$)

Досліджувані показники	Група спостереження		
	Контроль	Ішемія	Кастрація
Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	82,2±3,79	61,1±4,57 $p_k < 0,005$	99,4±9,96 $p_i < 0,005$
Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	47,6±2,71	33,2±2,96 $p_k < 0,05$	50,5±5,12 $p_i < 0,01$
Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	34,6±1,77	27,9±1,98 $p_k < 0,05$	49,1±5,0 $p_k < 0,0125$ $p_i < 0,005$
Лізис низькомолекулярних білків (мкг азоальбуміну/г тканини за год)	172±6,96	153±8,26 $p_k < 0,05$	349±32,46 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$
Лізис високомолекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год)	158±11,31	163±8,69	305±28,93 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$
Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за год)	7,2±0,37	9,9±0,75 $p_k < 0,01$	15,3±2,08 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,025$

Ішемія-реперфузія знижувала сумарну, неферментативну та ферментативну активність в 1,4, 1,4, 1,3 раза відповідно. Після кастрації ішемія мала протилежний ефект – активність сумарного, неферментативного та ферментативного фібринолізу зростала в 1,6, 1,5, 1,7 раза в порівнянні з показниками при ішемії без кастрації, та в 1,4 раза збільшувався ферментативний фібриноліз у порівнянні з контролем.

Постішемичні зміни протеолітичної активності в полі гіпокампа СА3 молодших тварин вивлено для лізису азоколу, який зростав в 1,4 раза.

Ішемія, виконана після кастрації, викликала значне зростання всіх показників протеолітичної активності. Для лізису низькомолекулярних, високомолекулярних білків та колагену це зростання склало 2 рази, 1,9, 2,1 раза в порівнянні з показниками в контрольних тварин і 2,3, 1,9, 1,6 раза стосовно показників у тварин з контрольною ішемією.

Реакція показників фібрино- та протеолітичної активності на ішемічно-реперфузійний вплив у тварин старшої вікової групи здебільшого мала якісні та кількісні відмінності від аналогічних параметрів у молодших щурів (таблиці 6.6- 6.10).

У корі лобової частки, на відміну від молодших тварин, ішемія не мала впливу на жоден із показників фібринолітичної активності (табл. 6.6). У той же час після кастрації всі показники зростали. У порівнянні з відповідними параметрами в контрольних щурів сумарна фібринолітична активність зросла в 1,5 раза, неферментативна - в 1,6 раза, ферментативна – в 1,3 раза. При оцінці відмінностей з групою тварин з ішемією без кастрації ці зміни були навіть більш вираженими - сумарна фібринолітична активність зросла в 1,6 раза, неферментативна - в 1,8 раза, ферментативна – в 1,5 раза.

Незначною у даній структурі мозку була також реакція на ішемію протеолітичної активності. Тут знизився лише лізис колагену (в 1,4 раза).

Після кастрації ішемія призвела до ще суттєвішого зниження цього показника (в 2,8 раза в порівнянні з контролем та в 2 рази – стосовно ішемії).

Таблиця 6.6

Вплив кастрації на відстрочені постішемічні показники стану тканинного фібринолізу та протеолізу в корі лобової частки тримісячних щурів
($M \pm m$, $n=8$)

Досліджувані показники	Група спостереження		
	Контроль	Ішемія	Кастрація
Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	35,0±4,14	32,3±2,69	51,2±5,15 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,05$
Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	16,5±2,45	14,9±1,25	26,1±3,61 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,05$
Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	18,5±2,06	17,3±1,43	25,0±2,54 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,025$
Лізис низькомолекулярних білків (мкг азоальбуміну/г тканини за год)	167±14,57	176±14,40	185±21,98
Лізис високомолекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год)	138±11,26	154±12,59	155±14,01
Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за год)	16,4±1,2	11,7±1,64 $p_i < 0,050$	5,9±0,75 $p_k < 0,001$ $p_i < 0,01$

У корі потиличної частки тримісячних тварин ішемія не мала впливу на показники фібрино- та протеолітичної активності (табл. 6.7). Однак після кастрації відстрочені наслідки ішемічно-реперфузійного впливу носили надзвичайно виражений тотальний характер.

Таблиця 6.7

Вплив кастрації на відстрочені постішемічні показники стану тканинного фібринолізу та протеолізу в корі потиличної частки мозку тримісячних щурів ($M \pm m$, $n=8$)

Досліджувані показники	Група спостереження		
	Контроль	Ішемія	Кастрація
Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	21,5±2,16	21,6±2,42	57,1±5,61 $p_k < 0,001$ $p_i < 0,001$
Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	9,7±1,23	10,2±0,98	29,3±4,27 $p_2 < 0,001$ $p_i < 0,001$
Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	11,8±1,04	11,3±1,50	27,7±4,46 $p_k < 0,010$ $p_i < 0,010$
Лізис низькомолекулярних білків (мкг азоальбуміну/г тканини за год)	158±11,21	159±13,7	205±19,78 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,05$
Лізис високомолекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год)	117±19,8	131±12,3	188±17,79 $p_k < 0,050$ $p_i < 0,050$
Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за год)	10,8±0,84	12,5±1,09	6,4±0,79 $p_k < 0,001$ $p_i < 0,001$

Сумарна, неферментативна, ферментативна фібринолітична активність зросла в 2,7, 3,0, 2,4 раза стосовно показників у контрольних тварин, та в 2,6, 2,9, 2,5 раза щодо показників після ішемії без кастрації.

Приріст лізису низькомолекулярних і високомолекулярних білків становив 1,3, 1,6 та 1,3, 1,4, раза в порівнянні з контрольними та постішемічними показниками відповідно. У той же час лізис азоколу

зменшувався в 1,7 раза та 2 рази порівняно з тими ж групами спостереження.

Реакція на ішемію в полі гіпокампа CA1 тримісячних щурів представлена в табл.6.8.

Таблиця 6.8

Вплив кастрації на відстрочені постішемичні показники стану тканинного фібринолізу та протеолізу в полі гіпокампа CA1 тримісячних щурів
($M \pm m$, $n=8$)

Досліджувані показники	Група спостереження		
	Контроль	Ішемія	Кастрація
Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	51,6±4,72	37,0±2,63 $p_k < 0,01$	76,43±6,71 $p_k < 0,01$ $p_i < 0,005$
Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	25,5±2,01	21,2±1,88	38,2±3,47 $p_k < 0,01$ $p_i < 0,005$
Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	26,1±2,13	15,8±0,95 $p_k < 0,005$	38,2±3,28 $p_k < 0,01$ $p_i < 0,005$
Лізис низькомолекулярних білків (мкг азоальбуміну/г тканини за год)	315±14,1	269±10,47 $p_k < 0,05$	272±27,5
Лізис високомолекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год)	213±14,3	195±15,0	247±19,50
Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за год)	25,8±2,16	13,8±1,08 $p_k < 0,005$	10,3±1,59 $p_k < 0,005$

У цій структурі після ішемії сумарна й ферментативна фібринолітична активність достовірно знизилася в 1,4 та 1,7 раза, а неферментативна зазнала недостовірного зменшення. Кастрація принципово змінила характер реагування цих показників на ішемію: всі види фібринолітичної активності зросли в 1,5 раза в порівнянні з контролем та в 2,1, 1,8, 2,4 раза – стосовно

показників після ішемії без кастрації.

Після ішемії знизився лізис низькомолекулярних білків та колагену (в 1,2 та 1,9 раза відповідно) й не змінився лізис азоказеїну. Кастрація нівелювала вплив ішемії на лізис азоальбуміну, внаслідок чого зникли відмінності з контрольною групою, та суттєво посилила ішемічний вплив на лізис азоколу, який став нижчим від контрольного в 2,5 раза.

Результати впливу ішемії та кастрації на досліджувані показники в полі гіпокампа СА2 представлені в табл. 6.9.

Таблиця 6.9

Вплив кастрації на відстрочені постішемічні показники стану тканинного фібринолізу та протеолізу в полі гіпокампа СА2 тримісячних щурів
($M \pm m$, $n=8$)

Досліджувані показники	Група спостереження		
	Контроль	Ішемія	Кастрація
Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	75,3±5,21	75,2±5,67	96,0±8,78 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,05$
Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	43,7±2,19	42,4±2,91	48,2±3,79
Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	31,5±3,24	32,7±3,51	47,7±5,99 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,05$
Лізис низькомолекулярних білків (мкг азоальбуміну/г тканини за год)	175±16,25	156±11,09	303±29,04 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$
Лізис високомолекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год)	177±11,52	179±12,34	275±24,72 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$
Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за год)	18,19±0,59	10,17±1,05 $p_k < 0,05$	12,1±1,92

Постішемичні зміни фібрино- та протеолітичної активності в цьому відділі мозку були незначними й обмежувалися зниженням в 1,8 раза колагеназної протеолітичної активності. У той же час, кастрація мала надзвичайно виражений вплив на перебіг ішемії в полі гіпокампа СА2 тримісячних щурів. Вона викликала активацію сумарного та ферментативного фібринолізу в 1,3 та 1,5 раза стосовно показників як у контрольних щурів, так і тих, котрі зазнали впливу ішемії без кастрації.

Що стосується протеолітичної активності, то в даній ділянці мозку тримісячних тварин кастрація мала наслідком зростання постішемичного лізису низькомолекулярних та високомолекулярних білків в 1,7 та 1,6 раза стосовно контролю й в 1,9 та 1,6 раза – щодо параметрів після ішемії без кастрації.

Характеристика відстрочених постішемичних змін обмеженого тканинного протеолізу та фібринолізу в полі СА3 тварин старшої вікової групи представлена в табл. 6.10.

Вони були вкрай незначними і полягали в зростанні (в 1,2 раза) лізису низькомолекулярних білків ($p < 0,05$). Решта показників протеолітичної активності та всі показники фібринолітичної достовірно не виходили за межі значень, які мали місце в контрольних тварин.

Разом із тим не менший вплив, ніж в інших досліджених нами структурах, на перебіг ішемічно-реперфузійного пошкодження в полі гіпокампа СА3 справив дефіцит статевих гормонів. Після кастрації тут відбулася активація протеолізу низько- й високомолекулярних білків та колагену.

У порівнянні з аналогічними показниками у тварин контрольної групи лізис низькомолекулярних білків зріс в 2,1 раза, низькомолекулярних – в 1,7 раза, а колагену – в 2,2 раза.

Що стосується тих показників, які мали місце в щурів після ішемії без кастрації, то дефіцит статевих гормонів збільшив їх в 1,8, 1,5 та 1,8 раза для лізису азофібрину, азоальбуміну та азоколу відповідно.

Таблиця 6.10

Вплив кастрації на відстрочені постішемічні показники стану тканинного фібринолізу та протеолізу в полі гіпокампа СА3 тримісячних щурів
($M \pm m$, $n=8$)

Досліджувані показники	Група спостереження		
	Контроль	Ішемія	Кастрація
Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	72,1±5,47	78,81±6,23	74,3±6,80
Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	41,0±3,70	43,8±4,17	36,3±4,27
Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	31,1±2,62	35,0±2,69	38,0±2,53
Лізис низькомолекулярних білків (мкг азоальбуміну/г тканини за год)	139±6,72	164±6,26 $p_k < 0,05$	296±20,17 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$
Лізис високомолекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год)	152±8,58	165±10,15	253±20,09 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$
Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за год)	5,74±0,38	6,8±0,50	12,5±1,32 $p_k < 0,005$ $p_i < 0,005$

Представлені в цьому розділі результати демонструють значно більшу кількість вірогідних змін у тварин молодшої вікової групи. Враховуючи цей факт ми порахували за доцільне провести міжвіковий порівняльний аналіз конститутивних, постішемічних та посткастраційних показників

фібринолітичної та протеолітичної активності. Результати даного аналізу представлені на рисунках 6.1-6.6.

У корі лобової частки великих півкуль не виявлено вікових відмінностей конститутивної та постішемичної активності показників фібринолітичної активності. У той же час у контролі більш високий лізис азоколу мав місце в щурів молодшої вікової групи. Кастрація модулювала вплив ішемії на сумарну фібринолітичну активність у тримісячних тварин, що призвело до появи вікової різниці цього показника з вищими значеннями (в 1,3 раза) в даній віковій групі.

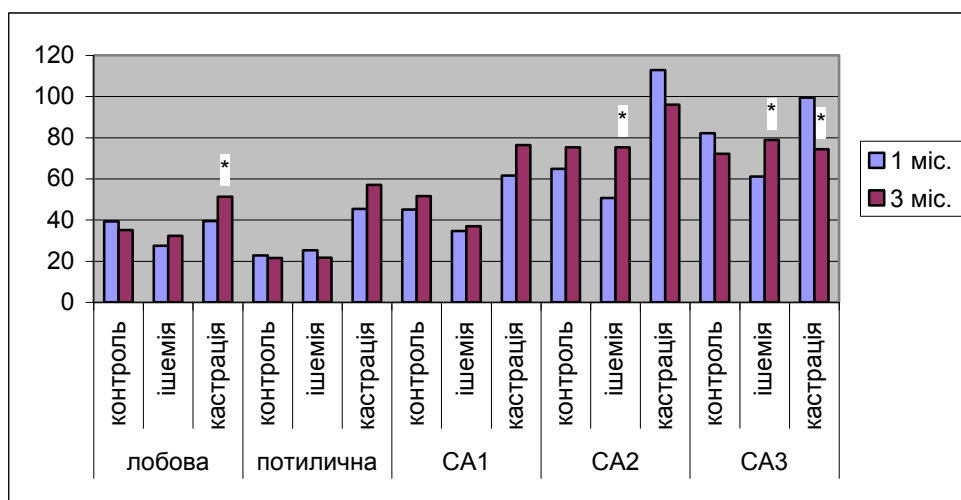


Рис.6.1. Вікові особливості сумарної фібринолітичної активності (мкг азофібрину/г тканини за год) у структурах мозку щурів

Примітка: *- вірогідність міжвікової різниці показників

У корі потиличної частки серед конститутивних показників вікові відмінності виявлено щодо лізису колагену, який у тримісячних щурів був значно нижчим (у 2,5 раза), а постішемичних відмінностей не зафіксовано. Після кастрації та ішемії у тварин старшої вікової групи стає вищим лізис низькомолекулярних та високомолекулярних білків (в 1,4 раза для обох показників).

Не виявлено суттєвої міжвікової різниці в полі гіпокампа CA1 між базальними показниками фібринолітичної активності, проте знайдено

відмінності конститутивного лізису високомолекулярних білків, який був вищим (в 1,2 раза) в одномісячних тварин, та азоколагену (в 1,7 раза вищий у тварин старшої вікової групи, $p < 0,01$ в обох випадках).

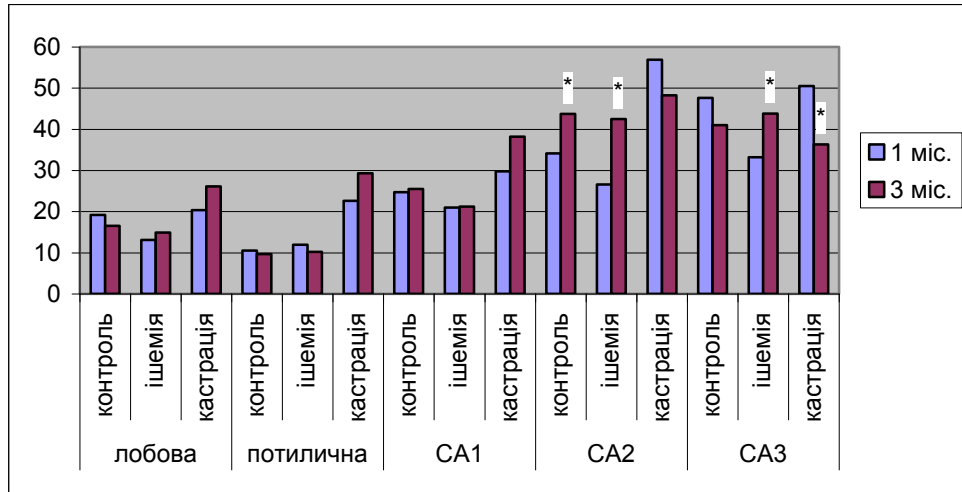


Рис.6.2. Вікові особливості неферментативної фібринолітичної активності (мкг азофібрину/г тканини за год) у структурах мозку щурів

Примітка: *- вірогідність міжвікової різниці показників

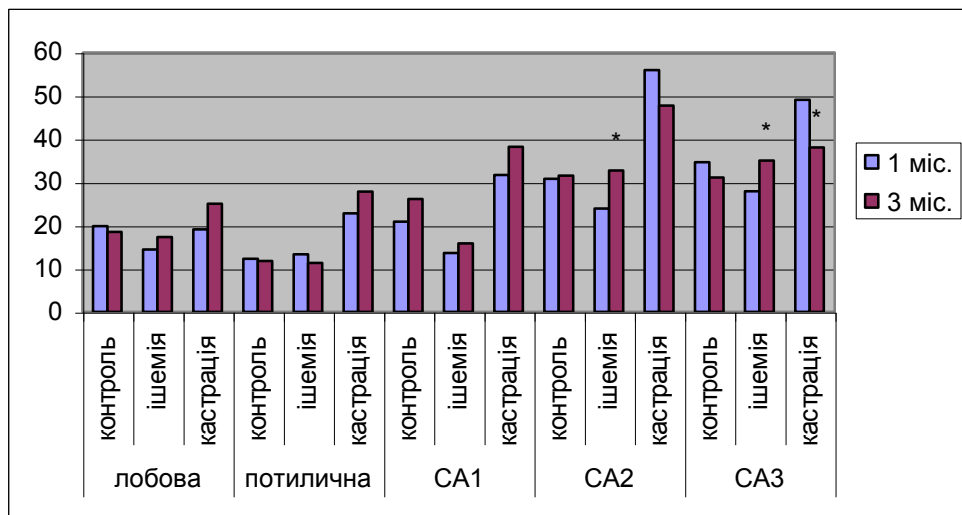


Рис.6.3. Вікові особливості ферментативної фібринолітичної активності (мкг азофібрину/г тканини за год) у структурах мозку щурів

Примітка: *- вірогідність міжвікової різниці показників

Подібний аналіз щодо постішемічних змін показав відсутність

міжвікової різниці в полі гіпокампа CA1 між постішемичними показниками фібринолітичної активності. Постішемичні зміни протеолітичної активності відбулися за рахунок лізису низькомолекулярних білків та азоколагену – ці показники були меншими в тримісячних тварин (в 1,3 та 1,4 раза відповідно, $p < 0,05$). Ці відмінності повністю нівелювалися кастрацією.

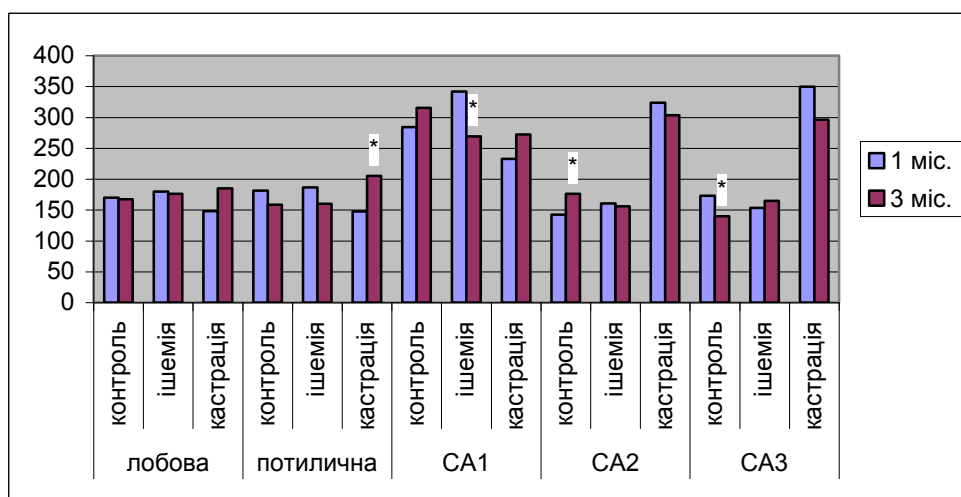


Рис.6.4. Вікові особливості лізису низькомолекулярних білків (мкг азоальбуміну/г тканини за год) у структурах мозку щурів

Примітка: *- вірогідність міжвікової різниці показників

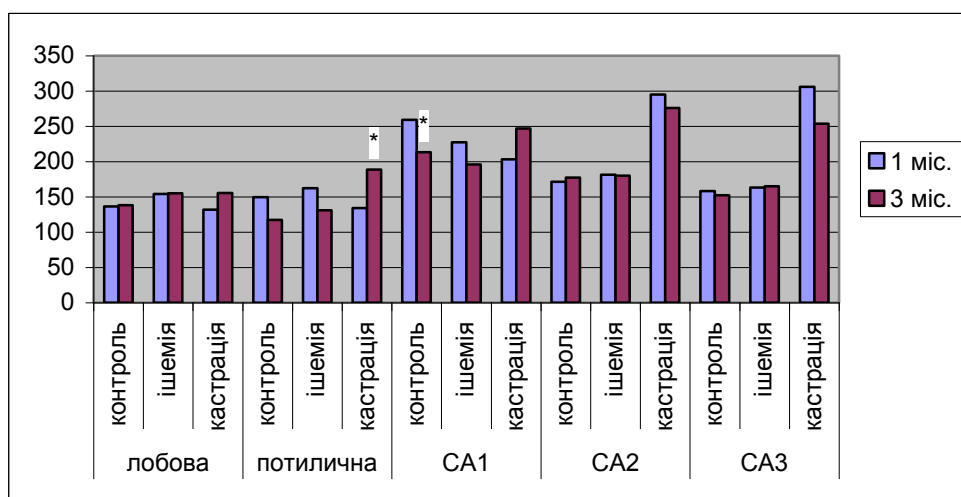


Рис.6.5. Вікові особливості лізису високомолекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год) у структурах мозку щурів

Примітка: *- вірогідність міжвікової різниці показників

У полі гіпокампа СА2 контрольних тварин відмінності стосувалися неферментативної фібринолітичної активності, колагенолітичної та лізису низькомолекулярних білків – ці показники були нижчими в одномісячних тварин в 1,3 ($p<0,05$), 1,8 рази ($p<0,005$) та 1,2 рази ($p<0,005$) відповідно.

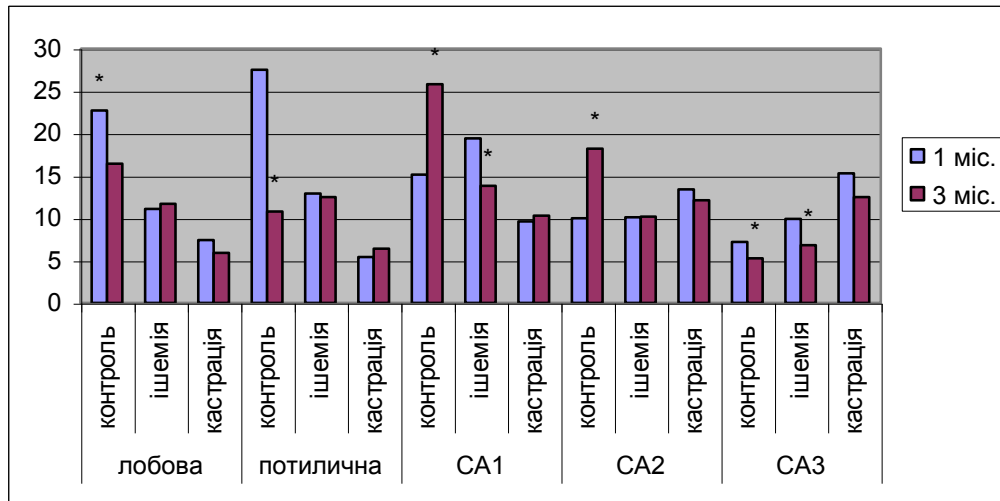


Рис.6.6. Вікові особливості лізису колагену (мкг азоколу/г тканини за год) у структурах мозку щурів

Примітка: *- вірогідність міжвікової різниці показників

Постішемичні відмінності показників фібринолітичної активності в полі гіпокампа СА2 носили більш обширний характер, ніж у контрольних – у тримісячних тварин постішемичні показники були вищими в 1,5, 1,6, 1,4, рази для сумарної, неферментативної та ферментативної фібринолітичної активності відповідно ($p<0,05$ у всіх випадках). Слід, проте, зазначити, що постішемична протеолітична активність у тварин обох вікових груп була однаковою за всіма дослідженими показниками.

Як і в полі СА1, кастрація повністю запобігала виникненню постішемичних змін, що стосувалися фібринолітичної активності.

Конститутивні показники фібринолітичної активності в полі СА3 не відрізнялись у тварин представлених вікових груп. Базальна інтенсивність лізису азоальбуміну та азоколагену була вищою в одномісячних тварин (в 1,3

раза для обох показників, $p < 0,05$), а азоказеїну – не відрізнялася.

Незважаючи на відсутність конститутивних міжвікових відмінностей фібринолітичної активності в зоні СА3, після ішемії у тримісячних тварин показники сумарної фібринолітичної активності, неферментативної та ферментативної були в 1,3 раза вищими, ніж у тварин молодшої вікової групи. Після поєднаної дії кастрації та ішемії в тримісячних щурів усі ці показники, навпаки, стали нижчими.

Постішемичні відмінності протеолітичної активності стосувалися лише лізису колагену, який був значно вищим (в 1,5 раза, $p < 0,01$) у тварин молодшої вікової групи. Міжвікових відмінностей активності протеолізу у кастрованих тварин не виявлено.

Отримані результати дають можливість сформулювати наступні проміжні висновки:

1. Найбільш виражених постішемичних змін зазнали показники тканинного фібринолізу та протеолізу в корі лобової частки, полях гіпокампа СА1 та СА3.

2. За показниками фібрино- та протеолітичної активності більшою чутливістю до ішемії-реперфузії характеризуються структури мозку щурів молодшої вікової групи.

3. Рівень статевих гормонів сім'яників значною мірою впливає на зміни фібрино- та протеолітичної активності, зумовлені неповною глобальною ішемією мозку.

4. Кастрація послаблює наслідки ішемії в корі лобової частки та полі СА3 тварин молодшої вікової групи, посилює вплив ішемії в корі потиличної частки тварин обох вікових груп та лобової – тримісячних, і спричиняє появу якісно нової реакції в полях гіпокампа СА1 і СА2 тварин обох вікових груп.

За результатами даного розділу опубліковано наступні роботи:

[212] Дорошко В.А. Онтогенетичні особливості перебігу постішемичного періоду при гострій каротидній ішемії // Матеріали

міжнародної конференції, присвяченої пам'яті проф. Шостаковської І.В. – Львів, 2002. – С. 58.

[214] Дорошко В.А. Чутливість деяких структур мозку до ішемічно-реперфузійного пошкодження в залежності від рівня статевих гормонів в організмі // 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.

[219] Дорошко В.А. Експериментальне обґрунтування ролі статевих гормонів у постішемічній реорганізації показників фібринолізу та протеолізу у структурах мозку щурів різного віку // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія медицина. – 2004. – Вип. 23. – С.14-18.

[220] Дорошко В.А. Роль статевих гормонів у реалізації ішемічно-реперфузійних пошкоджень деяких структур мозку за показниками тканинного протеолізу та фібринолізу // Матеріали VII Міжнародної науково-практичної конференції, "Наука і освіта "2004". – Т.54. – "Фізіологія людини та тварин". – Дніпропетровськ: Наука і освіта. - 2004. – С.24-25.

РОЗДІЛ 7

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Роль статевих стероїдів у регуляції морфофункціонального стану ЦНС у нормі та за умов виникнення її патологічних станів є предметом тривалих досліджень, результати яких поки що не дозволяють поставити крапку на цій проблемі. Більше того, напрацювання останнього десятиліття свідчать про значну роль цих гормонів не лише у мозку, який розвивається, але й у дорослому, сформованому.

Вважається, що свій вплив на морфологічний стан структур ЦНС статеві гормони здійснюють за рахунок анаболічних властивостей [221, 222]. У першу чергу, це стосується гормонів кори надниркових залоз (дегідроепіандростерону) та статевих залоз (андрогенів й естрогенів). Точний механізм їх впливу на біосинтез ДНК та білка невідомий досі. У клітинах-мішенях редуплікації ДНК передусє посилення біосинтезу білка [222]. Показано, що стероїдні гормони з анаболічною дією реалізують свій ефект у комплексі з апоА-І. У цій формі вони підвищують швидкість біосинтезу не лише білка, але й ДНК, тобто, сприяють як гіпертрофії, так і гіперплазії клітин. Для реалізації анаболічної дії стероїдні гормони повинні зазнавати хімічної модифікації, зв'язаної з дією α - і β -редуктаз [223].

На нейронні комунікації стероїдні гормони діють через різні механізми – від трансинаптичної модуляції синтезу та секреції нейротрансмітерів до розвитку та ремоделювання синаптичної циркуляції [224]. Завдяки обширному представництву мішеней стероїдних гормонів у мозку гострі чи хронічні зміни їх циркулюючого рівня можуть одночасно впливати на різноманітні нейрональні елементи. У деяких системах стероїди гонад модулюють трансмісію, діючи одночасно на пре- та постсинаптичному рівнях [225].

Відомо, що пошкоджувальні ефекти несприятливих чинників

(наприклад, інтенсивність вільнорадикальних реакцій) значною мірою залежать від ступеня активації ГГНС, а чутливість до них структур мозку – від кількості глюкокортикоїдних рецепторів. У цьому контексті продемонстровано взаємозв'язки між функціонуванням гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової та гіпоталамо-гіпофізарно-гонадної систем. Показано, що тестостерон може пригнічувати функцію ГГНС, а естрогени стимулюють її [226].

Одним із механізмів впливу андрогенів та естрогенів при дії несприятливих чинників є їх здатність до зв'язування зі спорідненими рецепторами глюкокортикоїдів. Вплив тестостерону та інших андрогенів у паравентрикулярному ядрі опосередковуються трансинаптично. Дія естрогенів на ГГНС може бути зумовлена змінами в механізмах негативного зворотного зв'язку через рецептори глюкокортикоїдів [225]. Вважають, що гонадні стероїди, особливо тестостерон, модулюють активність ГГНС як спробу попередити її пошкоджувальний ефект на активність репродуктивної функції.

Різноспрямовані порушення секреції глюкокортикоїдів та андрогенів мають місце й при інших патологіях ЦНС [227].

Подібні ефекти продемонстровано також за умов стимуляції активності ГГНС шляхом використання іммобілізаційного стресу. У дорослих самців щурів після кастрації реактивна секреція АКТГ та кортикостерону при іммобілізації знаходилася в оберненій залежності від дози тестостерону, який вводився. При підвищенні його рівня вміст рецепторів глюкокортикоїдів вибірково зростав у певних зонах мозку. В інтактних тварин імплантація тестостерону послаблювала секрецію АКТГ та глюкокортикоїдів у відповідь на іммобілізацію [228].

Взаємодія гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової та гіпоталамо-гіпофізарно-гонадної систем при відповіді на стрес підтверджуються дослідженнями J.T.Whitewelkley [229].

Подібні взаємодії цих стероїдних гормонів здійснюються на рівні їх

рецепторної ланки [230]. Рецептори андрогенів, мінералокортикоїдів та глюкокортикоїдів активуються лігандами транскрипційних факторів, які пошкоджують експресію генів та мають високоваріабельні ефекти в ЦНС. Високі рівні мРНК рецепторів цих гормонів знайдено в пірамідальних клітинах поля CA1 гіпокампа. Показано, що всі ці три типи рецепторів мають здатність до перехресного зв'язування вказаних гормонів. Це означає можливість спільної рецепторної функції чи перехресної відповіді між цими рецепторами на рівні транскрипції. Дослідження регуляції експресії мРНК рецепторів цих гормонів у гіпокампі щурів проводили після введення андрогенів у комбінації з гонад- чи адреналектомією. Тримісячних щурів кастрували, а за 4 дні до евтаназії проводили адреналектомію або несправжню операцію. Результати показали, що в полі CA1 введення дигідротестостерону кастрованим тваринам знижувало рівень мРНК рецепторів глюкокортикоїдів до рівня 69% від того, який мав місце в інтактних щурів і попереджало індуковане адреналектомією підвищення рівня мРНК рецепторів цих гормонів, яке спостерігалось в некастрованих тварин, а також кастрованих без замісної терапії. Не виявлено змін в рівні мРНК глюкокортикоїдів у полі CA3 та зубчастій звивині у випадку, коли експресія рецепторів андрогенів була низькою чи відсутньою. Після адреналектомії ефекти андрогенів не проявлялися щодо мРНК рецепторів мінералокортикоїдів. Рівень мРНК рецепторів андрогенів у полі CA1 був незмінним у всіх групах тварин із замісною терапією. Дослідження *in vitro* показало майже повне ядерне зв'язування гіпокампульними рецепторами в кастрованих щурів із замісною терапією дегідроепіандростероном. Було встановлено, що андрогенна регуляція мРНК рецепторів глюкокортикоїдів у гіпокампі відбувається через зв'язування рецепторами андрогенів. Це свідчить про функціональну подібність андрогенів та глюкокортикоїдів у регуляції рівня мРНК рецепторів глюкокортикоїдів в тих ділянках, де рецептори цих гормонів співлокалізовані. Автори вважають, що андроген-опосередкована down-регуляція рецепторів глюкокортикоїдів може бути

важливою в адаптивних відповідях пірамідних клітин поля CA1 на гормональні стимули.

Про подібність рецепторної взаємодії андрогенів і глюкокортикоїдів свідчать також інші дослідження [231]. Авторами встановлено, що коли під дією несприятливих чинників рівень тестостерону падає, кортикостерон може його замінити в підтриманні синтезу ФСГ.

Таким чином, між статевими гормонами і глюкокортикоїдами існують складні та неоднозначні взаємовідносини.

Статеві стероїди мають вплив на стан рецепторів іншого гормону стресу – вазопресину. У кастрованих самців вміст мРНК рецепторів вазопресину в гіпоталамусі знижується при введенні естрадіолу й не змінюється при дії прогестерону чи тестостерону та естрадіолу в поєднанні з прогестероном [232].

Взаємодія глюкокортикоїдів та статевих гормонів має структурні особливості [233]. Адреналектомія стимулювала в щурів експресію мРНК КРФ й аргінін-вазопресину в медіальній дрібноклітинній зоні паравентрикулярних ядер гіпоталамуса, центральному й медіальному ядрах мигдалика та ядрі ложа *stria terminalis*. Одночасна гонад- та адреналектомія пригнічувала тільки експресію мРНК аргінін-вазопресину, котра нормалізувалася після введення тестостерону й дигідротестостерону. У центральному ядрі мигдалика адреналектомія пригнічувала експресію мРНК КРГ, однак після одночасної гонадектомії вона не відновлювалася замісним введенням андрогенів. У серединному ядрі мигдалика експресія мРНК аргінін-вазопресину, пригнічувана адреналектомією, повністю припинялася після одночасної з нею гонадектомії й нормалізувалася після введення тестостерону чи дигідротестостерону. Адреналектомія не впливала на експресію мРНК обох гормонів у ложі *stria terminalis*. Після одночасної гонадектомії зменшувалась експресія мРНК КРФ у веретеноподібних ядрах *stria terminalis* та кількість нейронів з експресією аргінін-вазопресину в її задніх відділах. Ці зміни компенсувалися введенням андрогенів. Беручи до

уваги відсутність рецепторів андрогенів у гіпофізотропних нейронах паравентрикулярних ядер вважають, що незалежна від глюкокортикоїдів дія андрогенів на експресію мРНК аргінін-вазопресину в дрібноклітинній зоні опосередковується аргінін-вазопресином та КРФ в нейронах інших відділів переднього мозку. Таким чином, андрогени змінюють експресію мРНК кортиколіберину та аргінін-вазопресину в ділянках переднього мозку, які регулюють активність осі гіпоталамус-гіпофіз-наднирники [232, 233].

Нашими дослідженнями не виявлено суттєвих відмінностей конститутивного вмісту тестостерону в плазмі крові тварин старшої та молодшої вікової груп. У той же час рівень прогестерону в тримісячних щурів був вірогідно вищим. Аналіз наслідків ішемічно-реперфузійного впливу на вміст гормонів не виявив якісних вікових відмінностей, оскільки обидва гормони реагували зниженням як у молодших, так і в старших тварин. Проте більш прискіплива кількісна оцінка виявила вищу реактивність на ішемічне втручання з боку прогестерону в тримісячних щурів. На нашу думку, це може свідчити, що отримане постішемічне зниження рівня тестостерону в щурів різного віку має неоднакову природу. Враховуючи, що прогестерон є біохімічним попередником тестостерону та кортикостероїдів, одночасне зниження обох гормонів у тримісячних тварин свідчить про виснаження джерел біосинтезу гормонів, можливо, за рахунок більш активного утворення кортикостероїдів, яке має місце за умов дії несприятливих чинників.

У тварин молодшої вікової групи зниження рівня тестостерону відбувається на тлі незначного зменшення рівня прогестерону. Це може свідчити про вибіркоче порушення біосинтезу статевих гормонів, можливо, за рахунок порушення за даних умов активності відповідних ферментів. Ще одну ймовірну причину таких змін можна вбачати в меншій реактивності системи стрес-реалізації в даному віці, й відповідно, менш вираженій активації біосинтезу кортикостероїдів, або в різній динаміці перебігу патологічного процесу. Можливо, саме з цим пов'язаний більш сприятливий

перебіг ішемії у тварин молодшої вікової групи, адже відомо, що прогестерон та його метаболіти володіють нейропротекторним ефектом, зокрема, викликають зменшення некротичних змін нейронів полів CA1 и CA3 гіпокампа [234].

Отримані нами результати підтверджують літературні дані щодо зниження рівня статевих гормонів при дії несприятливих чинників [231], однак при цьому вказують на залежні від віку відмінності в механізмах розвитку даного явища.

Останніми дослідженнями по вивченню механізмів дії стероїдних гормонів на нейрони встановлено, що часто для досягнення певного ефекту стероїдні гормони та нейротрансміттери можуть діяти разом. Показано, що для реалізації деяких ефектів стероїдів на нейрони необхідна співучасть збудливих амінокислот. Наприклад, така взаємодія необхідна для регуляції синаптогенезу в CA1 пірамідних нейронах гіпокампа та для індукції атрофії дендритів нейронів CA3 під впливом повторних стресів або введення глюкокортикоїдів [235]. Показано, що навіть впродовж пізнього постнатального періоду нейрогенез *gyrus dentatus* здійснюється за участю стероїдів наднирників та збудливих амінокислот [236].

Про взаємозалежність рівня статевих гормонів та моноамінів свідчать дослідження ряду авторів. Показано, наприклад, що неонатальна кастрація самців знижує інтенсивність флуоресценції моноамінів у всі терміни спостереження (10, 20, 30, 60 діб) в ядрах перегородки мозку [133, 238], преоптико-медіальному, преоптико-латеральному та аркуатному ядрах гіпоталамуса [239]. За свідченнями інших авторів у порівнянні з самками в самців виявлено більш високий рівень метаболізму серотоніну в гіпоталамусі, стріатумі й гіпокампі. Овариєктомія посилює метаболізм серотоніну в гіпоталамусі й прилеглому ядрі, дофаміну - в стріатумі, та супроводжується пригніченням дослідницької й загальної локомоторної активності самок. Введення естрадіолу в дозі 10 мг/кг овариєктомованим щурам нормалізує показники метаболізму дофаміну в стріатумі й знижує

оборот серотоніну в гіпоталамусі. У самців при введенні естрадіолу знижується рівень ДА в прилеглому ядрі та зростає вміст НА в гіпокампі [201].

Приклади такої взаємодії та численні дані літератури щодо реакції моноамінергічних систем мозку на ішемію [203, 237] спонукали нас дослідити вплив дефіциту стероїдних гормонів на постішемичну реорганізацію вмісту катехоламінів у досліджуваних структурах.

Неповна глобальна ішемія мозку викликала стабільне та суттєве зниження інтенсивності флуоресценції моноамінів у всіх досліджених структурах мозку одномісячних тварин, однак з певними регіонарними особливостями, які носили кількісний характер. Найбільш виражене падіння цього показника мало місце в потиличній частці кори, а найменш виражене – в полі гіпокампа СА1.

Кастрація значно модифікувала вплив ішемії, до деякої міри нівелюючи його у всіх структурах, за винятком поля гіпокампа СА1. Тобто, в порівнянні з контрольними тваринами ішемія, модельована після кастрації, теж викликала зниження інтенсивності флуоресценції катехоламінів, однак у порівнянні з ішемією без кастрації ці показники значно зростали. Крім того, кастрація суттєво зменшила регіонарні відмінності реакції вмісту катехоламінів на ішемію.

У тварин старшої вікової групи інтенсивність флуоресценції катехоламінів значно перевищувала показники у відповідних структурах одномісячних тварин, що в цілому відповідає даним літератури [133, 141, 238, 239]. Реакція на ішемічно-реперфузійне пошкодження в тримісячних тварин носила такий же характер, як і в одномісячних – у всіх структурах мало місце достовірне зниження вмісту катехоламінів. Зберігалася також закономірність щодо ступеня зниження цього показника – у потиличній частці кори воно було найвищим, а в полі СА1 – найменшим, хоча слід зазначити, що в цілому структурні розбіжності були меншими, ніж у молодших тварин.

Регіонарна та вікова чутливість катехоламінів до ішемічно-реперфузійних впливів може бути зв'язана зі щільністю рецепторів КРФ у структурах мозку [240]. мРНК рецепторів КРФ знайдено в корі великих півкуль, полях гіпокампа СА1, СА2, СА3 та інших лімбічних структурах. На шостий день постнатального життя їх рівень сягав 300-600% від дорослого рівня з наступним поступовим зниженням. У амигдалі між 2-им та 9-им днями рівні даних рецепторів були вдвічі вищими, ніж у дорослих. У корі мРНК рецепторів КРФ були найвищими на другий день, а на 12-й – такі, як у дорослих. Ці дані свідчать про регіонарну та вікову специфічність профілю експресії генів рецепторів КРФ.

Основні вікові відмінності впливу ішемії на вміст катехоламінів проявилися у відсутності статевих гормонів сім'яників. На відміну від одномісячних щурів, у тримісячних кастрація посилювала вплив ішемії у всіх досліджених структурах. Ще одна відмінність полягала в тому, що найбільш виражений вплив кастрація мала (після потиличної частки кори) в полі гіпокампа СА1, тобто там, де в одномісячних вплив її був відсутнім. Крім того, якщо в молодших тварин кастрація сприяла зменшенню постішемічних структурних відмінностей інтенсивності флуоресценції катехоламінів, то у тварин старшої вікової групи вона їх посилювала.

На нашу думку, отримані вікові особливості можна пояснити тим, що в одномісячних тварин переважають андрогени кори надниркових залоз, які мають виражений нейропротекторний вплив [198]. Про це свідчать дані літератури. Дегідроепіандростерон (ДГЕА) та його сульфатований метаболіт ДГЕА сульфат є попередниками в синтезі андрогенів й естрогенів. Однак із віком концентрація ДГЕА та його сульфату значно падає [202]. Крім того, ці речовини проявляють властивості нейроактивних стероїдів, котрі мають різноманітні ефекти в ЦНС гризунів через модуляцію деяких нейромедіаторних систем [241]. Останнім часом виявлено зв'язок між віком і спрямованістю біологічного ефекту ДГЕА. За даними Сапронова и др. [202], ДГЕА нормалізує обмін біогенних амінів у головному мозку після кастрації.

Згідно даних літератури, ДГЕА має естрогенну дію на гіпофізарному рівні, змінюючи рівень експресії мРНК пролактину, а також, ймовірно, бере участь у контролі секреції ЛГ [234, 242]. Крім того, ДГЕА модулює функціональну активність ГАМК- та глутаматергічних систем [241]. Поруч з цим, ДГЕА є сильним антиглюкокортикоїдним агентом [243]. Є дані, що ДГЕА в ЦНС відіграє подвійну роль: як нейрогормон, впливаючи на гормональну ланку, та як нейромедіатор, діючи на моноамінергічні системи, тим самим створюючи баланс у регуляції єдиної нейрогуморальної системи.

Ефекти тестостерону на нервову тканину полідромні. Зокрема, при вивченні впливу кастрації на кількість клітин, здатних утворювати оксид азоту в медіальному преоптичному ядрі, встановлено значне зниження числа нейронів, які містять НАДФ-діафразу і синтазу оксиду азоту (NOS). Число NOS-позитивних нейронів в кінцевій пластинці також знижувалося, але дещо пізніше. Таким чином, одним із механізмів впливу тестостерону на стан катехоламінергічних систем може бути підвищення синтезу оксиду азоту, яке приводить до підсиленого вивільнення дофаміну [244].

Існує багато інших повідомлень про обернену кореляцію між рівнем дегідроепіандростерону та неврологічними захворюваннями. Екзогенний дегідроепіандростерон має протекторну дію в гіпокампі щодо нейротоксичності, обумовленої збудливими амінокислотами. Перед початком транзиторної ішемії переднього мозку самцям щурів імплантували різні дози плацебо або дегідроепіандростерону (25, 50 чи 100 мг). Передньомозкова ішемія була індукована 10-хвилинною 4-судинною оклюзією з наступним дослідженням відсотку загибелі гіпокампальних нейронів на 7-й день. Підраховували нормальні та некротизовані нейрони поля CA1. Відсоток пошкоджених нейронів становив $88 \pm 13\%$ у тварин, лікованих за допомогою плацебо, $84 \pm 8\%$ при застосуванні дегідроепіандростерону у дозі 25 мг, $60 \pm 7\%$ - у групі тварин, які отримували 50 мг препарату. Тварини, які отримали 100 мг дегідроепіандростерону, показали найбільш значне виживання нейронів [198].

Є докази, що зниження рівня дегідроепіандростерону сульфату сприяє підвищенню вразливості старіючого чи стресованого людського мозку до ішемії [197]. Для в'яснення того, чи дегідроепіандростерону сульфат має нейропротекторний ефект проти ішемічного пошкодження нейронів було досліджено його ефект на нейродегенерацію, індуковану депривацією кисню та глюкози в культурі гранулярних клітин мозочка щурів. Дегідроепіандростерону сульфат, доданий до середовища після пошкодження, мав середній нейропротекторний ефект у дозі 0,5 ммоль. При концентрації 10 ммоль отримана майже повна нейропротекція. Ще більш виражений нейропротекторний ефект спостерігався у випадку, коли дегідроепіандростерону сульфат застосовувався за 48 год до пошкодження. Більше того, часткова нейропротекція препарату була також продемонстрована при застосуванні таких нейротоксичних агентів, як 1-метил-4-фенілпіридин, колхіцин, глутамат, N-метил-D-аспаратат. Подальші дослідження показали, що дегідроепіандростерону сульфат елімінує ознаки загибелі нейронів шляхом апоптозу: фрагментацію ДНК та конденсацію/фрагментацію ядер. Дослідження означають, що дегідроепіандростерону сульфат має хороший терапевтичний потенціал в попередженні та лікуванні ішемічно-гіпоксичної загибелі нейронів. Нейропротекторна дія дегідроепіандростерону сульфату може пригнічуватися пентобарбіталом та пікротоксином, тобто, агоністами ГАМК_A рецепторних хлорних каналів та антагоністами відповідно. Це означає, що як пригнічення нейронів, опосередковане ГАМК_A рецепторами, так і їх збудження може знижувати нейропротекторну дію препарату.

Експериментально підтверджено пряму антиоксидантну дію ДГЕА у мозковій тканині [245]. Авторами вивчено антиокиснювальну дію гормону при окисному стресі по відношенню до первинної культури гіпокампа щурів і тканини гіпокампа здорових людей та тих, які страждають на хворобу Альцгеймера. Попередня обробка культури клітин ДГЕА захищає її від токсичного впливу H₂O₂ та нітропрусиду натрію. У тій же концентрації ДГЕА запобігає стимульованому окиснювачами окисненню ліпідів у тканині

гіпокампа здорових та хворих людей. Згідно інших даних метаболіти ДГЕА андростентріол та андростендіол підвищують виживання опромінених мишей, сприяють відновленню кровотворної та імунної систем в пострадіаційному періоді, захищають тварин від вірусної інфекції [246].

Процес надмірної активації вільнорадикальних процесів на тлі пригнічення активності антиоксидантних систем, який дістав назву окиснювального стресу, відіграє надзвичайно важливу роль у механізмах ішемічного пошкодження нейронів мозку [165, 249], оскільки в нервовій тканині є всі умови для перебігу реакцій вільнорадикального окиснення [208; 250]. Вміст поліненасичених жирних кислот – основного субстрату ПОЛ складає 50% сухої речовини мозку, а активність каталази та глутатіонпероксидази – нижча, ніж в інших органах. У тканині мозку інтенсивність обмінних процесів з високим споживанням кисню, який є основним ініціатором та учасником вільнорадикального окиснення, дуже висока. Посилене утворення інтермедіатів кисню в мозку відбувається в циклі арахідонової кислоти під впливом фосфоліпази A_2 , окиснення ксантину за участю ксантиоксидази, синтезі *NO* при активації нейрональної *NO*-синтази, присутньої в тканині мозку у значних кількостях, а також у глутаматному каскаді- накопиченні глутамату в синаптичній щілині за рахунок загибелі нейронів [158].

Провідна роль вільнорадикальних процесів у наслідках ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку дістала підтвердження в численних експериментальних та клінічних спостереженнях, результати яких свідчать про тісний взаємозв'язок між інтенсивністю ліпопероксидації, фосфоліпазного гідролізу, активністю антиоксидантного захисту та важкістю перебігу цього патологічного процесу [251, 252]. Характерно, що за вираженістю вільнорадикальних процесів можна судити не лише про ступінь пошкодження нервової тканини, але й про сприятливий чи несприятливий перебіг хвороби та її наслідки. Особливо важливим прогностичним критерієм є масштаби порушення антиоксидантного захисту та динаміка його

відновлення.

Судячи з наведених даних, оцінка стану вільнорадикальних процесів, антиоксидантного захисту та співвідношення між цими параметрами є надійним критерієм чутливості тканин до ішемії.

Проведений аналіз експериментальних досліджень показав, що в тварин молодшої вікової групи відстрочені наслідки ішемічно-реперфузійних пошкоджень у лобовій частці кори полягали в зниженні активності каталази, що до деякої міри зменшує ємність антиоксидантного потенціалу. Постішемичні зміни в кастрованих тварин були більш вираженими й проявлялися зростанням вмісту малонового альдегіду та суттєвим зниженням активності каталази й супероксиддисмутази, що свідчить про виражене посилення вільнорадикальних реакцій. У корі потиличної частки ішемія викликала зниження функціонального рівня активності прооксидантно-антиоксидантної системи за рахунок одночасного зменшення інтенсивності ліпопероксидації та активності глутатіонпероксидази, а кастрація підвищувала постішемичний вміст дієнових кон'югатів і малонового альдегіду та значно знижувала антиоксидантну активність, що безумовно, є більш небезпечним, ніж просто зниження рівня функціонування системи.

У полі гіпокампа СА1 ішемія знижувала активність супероксиддисмутази та каталази, а ішемія у кастрованих тварин знижувала вміст обох продуктів ліпопероксидації та ще більш суттєво – активність ферментів антиоксидантного захисту (за винятком супероксиддисмутази), що свідчить про виснаження системи в цілому з переважаючим ураженням антиоксидантної складової.

Постішемичні зміни в полі гіпокампа СА2 полягали в зниженні вмісту дієнових кон'югатів та активності супероксиддисмутази. Кастрація посилювала постішемичні зміни ліпопероксидації та послаблювала вплив ішемії на активність супероксиддисмутази, однак при цьому мало місце надзвичайно виражене пригнічення активності каталази.

У полі СА3 постішемичне зниження всіх досліджених показників (за

винятком активності супероксиддисмутази) після кастрації набувало значно більшої виразності.

У тварин старшої вікової групи в лобовій частці кори ішемія викликала більш обширні зміни, ніж в одномісячних. Вони полягали в суттєвому зростанні інтенсивності ліпопероксидації при менш значному збільшенні активності антиоксидантних ферментів. Ішемія, виконана після кастрації, у порівнянні з контролем мала подібний, але менш виражений вплив на показники пероксидного окиснення ліпідів та протилежний (за винятком активності глутатіонпероксидази) – на антиоксидантну активність. Однак при порівнянні наслідків впливу кастрації на перебіг ішемії з показниками, що мали місце при ішемії без кастрації, можна констатувати значне зниження вмісту обох досліджених продуктів ПОЛ.

У корі потиличної частки тримісячних щурів ішемія спричиняла надзвичайно виражений приріст продуктів ліпопероксидації при порівняно незначному зростанні активності супероксиддисмутази, що свідчить про значне зміщення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в бік посилення вільнорадикальних процесів у порівнянні з показниками в контрольних тварин. Після кастрації також спостерігався деякий постішемичний приріст продуктів ліпопероксидації, проте на тлі переважаючого зниження антиоксидантної активності. Якщо порівняти зміни, викликані ішемією на тлі дефіциту статевих гормонів з тими, які мали місце при ішемії без кастрації, то як і в корі лобової частки вони полягали в значному зниженні інтенсивності ПОЛ та активності антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутази і каталази). Таким чином, постішемичні прооксидантні процеси в корі після кастрації, на відміну від ішемії у тварин без кастрації, активуються переважно за рахунок ослаблення антиоксидантного захисту, який вважається одним із найважливіших серед антиішемичних механізмів.

За даними багатьох дослідників [253, 254] стійкість до ішемії значною мірою визначається реактивністю ендогенних антиоксидантів - супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази. Тому описані вище зміни

можна розцінити як зниження ішемічної толерантності під впливом кастрації, яке виникає за рахунок виснаження антиоксидантної системи. За загальноприйнятою оцінкою не стільки зростання інтенсивності ліпопероксидації, скільки зниження антиоксидантного потенціалу є несприятливим прогностичним критерієм щодо виживання нейронів [165, 253, 255]. Звертає на себе увагу той факт, що в структурах кори тварин обох вікових груп кастрація підвищувала активність глутатіонпероксидази, незважаючи на зниження активності решти антиоксидантних ферментів. Цей факт узгоджується з даними літератури про реакцію глутатіону та глутатіонзалежних ферментів на кастрацію [256].

У полі гіпокампа СА1 дорослих щурів ішемія спричиняла зниження активності каталази та глутатіонпероксидази, а кастрація викликала зменшення вмісту дієнових кон'югатів більш ніж удвічі у порівнянні як з контролем, так і з ішемією, незважаючи на те, що ішемія без кастрації не впливала на показники ПОЛ. Що стосується антиоксидантних ферментів, кастрація також достовірно знижувала їх активність.

Постішемичне посилення вільнорадикальних процесів у полі СА2 виникало за рахунок зростання вмісту дієнових кон'югатів та зниження активності всіх ферментів антиоксидантного захисту. Ішемичне втручання після кастрації знижувало інтенсивність ліпопероксидації за рахунок обох продуктів, рівень яких ставав навіть нижчим, ніж у контрольних тварин, проте у порівнянні з контролем викликало ще більш виражене, ніж після ішемії без кастрації, зниження активності каталази. Слід, однак, зазначити, що активність супероксиддисмутази при цьому поверталася до норми, проте активність каталази більш ніж утричі зменшувалась у порівнянні з постішемичними показниками.

У полі СА3 гіпокампа тримісячних щурів ішемія не викликала жодних відстрочених змін, проте після кастрації ішемічно-реперфузійне втручання знижувало як інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів, так й антиоксидантну активність, що в цілому виводило систему на новий, більш

низький рівень функціонування.

Отримані дані демонструють, що дефіцит статевих гормонів міняє характер впливу ішемії на показники оксидативного стресу в досліджених структурах мозку тварин обох вікових груп, однак з певними особливостями. Ці вікові відмінності особливо виражені в кіркових структурах, де в одномісячних щурів кастрація підвищує інтенсивність процесів ПОЛ, а в тримісячних – знижує. Вплив кастрації на перебіг ішемії в полях гіпокампа за показниками прооксидантно-антиоксидантної рівноваги не мав таких принципових відмінностей.

Порівняння конститутивного вмісту продуктів ПОЛ та активності антиоксидантних ферментів у лобовій частці кори тварин різного віку свідчить про наявність вірогідно вищих значень активності каталази та глутатіонпероксидази у тварин молодшої вікової групи. Значно відрізняється реакція показників даної структури на ішемічне втручання – якщо в молодших тварин вона полягає лише в зниженні активності каталази, то у тримісячних щурів має місце принципово інша реакція – паралельне зростання інтенсивності ПОЛ та антиоксидантного захисту. Надзвичайно цікавими, на наш погляд, є наслідки кастрації в тварин різних вікових груп. При порівнянні постішемічних характеристик всіх досліджених нами показників у кастрованих тварин представлених вікових груп не виявлено міжвікових відмінностей параметрів за абсолютним значенням. Тобто, за рахунок кастрації відбувається вирівнювання вікової реакції на ішемічно-реперфузійне втручання, незважаючи на те, що в некастрованих тварин за багатьма показниками реакція на ішемію протилежна або має виражені кількісні відмінності. При подальшому аналізі ця закономірність справджується й для потиличної зони кори.

Незважаючи на те, що в потиличній частці кори реакція на ішемію у тварин різного віку принципово відрізнялася – в одномісячних щурів знижувався вміст продуктів ліпопероксидації та активність глутатіонпероксидази, а в тримісячних – зростав вміст як продуктів ПОЛ, так

й активність супероксиддисмутази, кастрація тварин обох вікових груп привела ці показники практично до однакового рівня.

Незначними були вікові відмінності в реакції на ішемію в полі гіпокампа CA1 - у молодших щурів знижувалася активність супероксиддисмутази та каталази, в старших – каталази та глутатіонпероксидази, тобто, в обох випадках мало місце зниження ємності антиоксидантного захисту. Після поєднаного впливу ішемії та кастрації достовірних відмінностей між дослідженими показниками в різних вікових групах не виявлено.

У полі гіпокампа CA2 реакція на ішемію мала суттєві вікові особливості: у тварин молодшої вікової групи рівень функціонування прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу знижувався за рахунок зменшення вмісту дієнових кон'югатів та активності супероксиддисмутази, а у тримісячних тварин зміни інтенсивності ліпопероксидації були протилежними - зростав уміст дієнових кон'югатів, а антиоксидантний захист зазнавав тотального вираженого виснаження. Цікаво, що внаслідок таких змін постішемичний вміст усіх досліджених продуктів та ферментів у тварин різних вікових груп вирівнювався, залишаючись практично однаковим і після кастрації.

Незважаючи на значні вікові відмінності конститутивних параметрів відповідних показників у полі гіпокампа CA3 щурів досліджених вікових груп ішемія вирівнювала більшість з них, а кастрація – всі.

Таким чином, отримані результати свідчать, що кастрація значною мірою нівелює у мозку вікові відмінності реагування прооксидантно-антиоксидантних показників на ішемію .

Наслідки ішемічно-реперфузійного пошкодження для досліджених нами структур некастрованих тварин є неоднозначними як за кількістю змінених параметрів, так і за вираженістю та глибиною змін. Різна толерантність до ішемічного впливу має цілий ряд причин.

Застосована в наших дослідженнях глобальна ішемія, яка за клінічних

умов виникає при порушенні кровотоку по магістральних судинах (наприклад, по загальних сонних артеріях) чи при гострій зупинці серця, характеризується вибіркоvim ушкодженням нейронів різних структур мозку. За даними літератури найбільш чутливими до кисневого голодування є нейрони 3-го та 4-го шарів нової кори головного мозку, ретикулярного ядра таламуса, полів CA1, CA2 та хілуса гіпокампа, крупні нейрони базальних гангліїв, клітини Пуркін'є мозочка. Цей факт пояснюється особливостями нейрохімічної організації, метаболізму, рецепторного пула, васкуляризації й аферентної іннервації нейронів [257 - 261].

Певну роль у підвищеній чутливості відіграють відмінності нейромедіаторних систем досліджених структур, що також відображає селективність по відношенню до дії несприятливих чинників [262].

Характерно, що селективність має місце як щодо ішемічних, так і щодо реоксигенаційних пошкоджень. Більш значні реоксигенаційні наслідки після ішемії та гіпоксії пояснюються накопиченням відновлених метаболітів, котрі за наявності кисню сприяють інтенсифікації ПОЛ [263]. У селективно чутливих до ішемії структурах – зонах гіпокампа, корі великих півкуль – ультраструктурні зміни (дезінтеграція полірибосом, пероксидне пошкодження ненасичених жирних кислот плазматичної мембрани, пошкодження апарата Гольджі), також зв'язані більшою мірою з реперфузією [264].

У цілому, наведені дані свідчать, що конститутивні показники прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу більшою мірою залежать від віку, ніж індукцйбельні.

Результати наших досліджень свідчать, що кастрація значно знижує селективні та вікові відмінності. Залишається неясним, яким чином дефіцит статевих гормонів практично усуває вікові відмінності реактивності структур мозку до ішемічних пошкоджень. Можна думати, що у некастрованих тварин ця різниця пояснюється переважанням надниркових статевих стероїдів у статевонезрілих тварин [265], метаболічна дія яких дещо відрізняється від

сім'яникових гормонів. Після кастрації в дорослих тварин має місце компенсаторне підвищення синтезу та секреції статевих гормонів надниркових залоз [266], що повинно нівелювати вікову реакцію на несприятливі чинники. Дегідроепіандростерон, який переважно утворюється наднирниками, та його сульфатована форма, регулюють процеси апоптозу через зміну функціонального стану сигнальних протеїназ, які запускають частину патогенетичних механізмів ішемії [267]. Тому можна думати, що кастрація приводить ці механізми до однакового рівня незалежно від віку.

Іншою ймовірною причиною може бути посткастраційна зміна в структурах мозку обміну нейростероїдів, частина яких синтезується з системних статевих гормонів [268].

Крім того, показано, що андрогени сім'яників мають здатність активувати низку ензимів, які забезпечують обмінні процеси в мозку [269]. Відсутність цих гормонів урівнює метаболічні можливості мозку у тварин обох вікових груп.

Отримані нами постішемичні зміни прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу свідчать про переважне виснаження антиоксидантної системи. Із літератури відомо, що тільки достатня активність ендогенних антиоксидантів може стримати неконтрольований ріст вільнорадикальних процесів, а зниження антиоксидантної резервної потужності в структурах головного мозку підвищує ризик загибелі нейронів [270]. Безумовно, що саме зниження антиоксидантної активності є однією з основних причин підвищеної чутливості до ішемії кори мозку, полів CA1 та CA2 в порівнянні з полем CA3. Відсутністю довготривалих наслідків ішемічного порушення проокисно-антиоксидантної рівноваги в останній структурі можна пояснити низьку її чутливість до ішемії.

Антиішемичну роль антиоксидантних ферментів продемонстровано дослідженнями, згідно яких постішемична загибель нейронів у гіпокампі внаслідок введення екзогенної супероксиддисмутази значно зменшувалася [271]. Встановлено, що Mn^{2+} -супероксиддисмутаза запобігає вивільненню

цитохрому *c* з мітохондрій в цитозоль, блокуючи в такий спосіб відстрочену апоптотичну загибель нейронів [272].

У наших дослідженнях зниження потужності ферментативного антиоксидантного захисту найчастіше має місце за умов незміненої інтенсивності ліпопероксидації або навіть її зниження. Це свідчить про виснаження резервних можливостей антиоксидантної системи [273].

Вільнорадикальні пошкодження за умов ішемії-реперфузії не обмежуються процесами пероксидного окиснення ліпідів. Важливу роль у перебігу патологічних процесів у ЦНС відіграє окиснювальна модифікація білків [274, 275].

Експериментально доведено, що вже через 60 хв від початку ішемії рівень протеїнових карбонільних груп у мозку зростає більш ніж вдвічі, а специфічна активність глутамінсинтетази зменшувалася наполовину [276]. Провідна роль вільних радикалів у цьому процесі підтверджувалася тим, що попереднє введення тваринам пасток вільних радикалів частково захищало мозок від оксидації протеїнів та втрати глутамінсинтетази. При безпосередньому впливі активних форм кисню на кору головного мозку протягом декількох годин відбувалася значна оксидація білків синаптосомальних мембран кори, маркерами якої було зростання рівня протеїнових карбонілів та зменшення активності глутамінсинтетази [277]. Цими ж авторами при використанні методу електронного парамагнітного резонансу за даних умов була підтверджена значна оксидація протеїнів мембран, яка, знову ж таки, значно зменшувалася скавенджерами вільних радикалів.

Вільнорадикального пошкодження зазнають не лише мембранні білки, але й ДНК ядер та цитозольні білки нейронів [278]. Такі пошкодження запускають цілий каскад вторинних порушень. Так, за рахунок порушення структури ДНК зростає ризик накопичення помилок у генетичному кодї з подальшим поглибленням порушень синтезу білків. Руйнування цитозольних білків порушує нормальні метаболічні процеси, що також негативно

позначається на функціонуванні клітин мозку. Є дані, що активація вільнорадикальних процесів призводить до порушень проникливості гематоенцефалічного бар'єру. Це створює передумови виникнення автоімунних захворювань.

Посилення окиснювальної модифікації білків за умов ішемії-реперфузії спричиняє пошкодження мітохондріальних білків [279]. Доведено, що за цієї патології страждають також білки постсинаптичних утворень, що порушує синаптичну провідність та викликає дезінтеграцію мозкових функцій [280].

Внаслідок указаних причин, руйнації, спричинені вільнорадикальним пошкодженням білків, доповнюються порушеннями протеїнового синтезу в постішемичному періоді. Цьому сприяють недостатність ендоплазматичного ретикулуму [281] та пошкодження мітохондріальних функцій [261, 282].

Отже, окиснювальна модифікація білків є однією з важливих ланок патогенезу ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку. Незважаючи на це, вікові особливості стану вільнорадикального окиснення білків в пізньому постішемичному періоді та вплив на них дефіциту статевих гормонів сім'яників практично не досліджені.

Нами встановлено, що неповна глобальна ішемія мозку в щурів молодшої вікової групи призвела до вірогідного зростання вмісту продуктів альдегідо- та кетоніохідних нейтрального й основного характеру в корі лобової частки та нейтрального характеру – в корі потиличної частки. Кастрація мала значний вплив на наслідки ішемії. Він проявився зниженням вмісту всіх продуктів в обох зонах кори не лише в порівнянні з ішемією, але й з контролем. У потиличній корі зменшення вмісту продуктів основного характеру відбулося незважаючи на те, що ішемія без кастрації ніяких змін не викликала.

У корі лобової частки тварин тримісячного віку ішемія не мала впливу на досліджувані показники, а кастрація знову ж таки викликала їх зниження в порівнянні як з контролем, так і з ішемією. У потиличній корі тварин цієї вікової групи ішемія викликала зростання альдегідо- та кетоніохідних

нейтрального характеру, а кастрація попереджала розвиток цих змін.

Вплив ішемії на вміст динітрофенілгідразонів у полі СА1 тварин молодшої вікової групи полягав у зниженні вмісту продуктів основного характеру. У той же час, за умов дефіциту статевих гормонів ішемічний вплив спричиняв виражений приріст цього показника до значень, навіть вищих, ніж у псевдооперованих тварин.

У дорослих щурів ішемія мала протилежний вплив – вміст всіх альдегідо- та кетоніохідних вірогідно перевищував контрольні показники. Кастрація не впливала на постішемічний вміст продуктів нейтрального характеру та значно поглиблювала постішемічні зміни продуктів основного характеру.

У полі СА2 щурів молодшої вікової групи вплив ішемії на вміст динітрофенілгідразонів нейтрального та основного характеру був пригнічуючим. Дефіцит статевих гормонів запобігав розвитку постішемічних змін продуктів нейтрального характеру, проте викликав дуже виражений приріст продуктів основного характеру, який перевищував як контрольні, так і постішемічні величини.

У тримісячних тварин у цій зоні гіпокампа ішемія викликала приріст вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків, а кастрація значно посилювала цей вплив.

Вірогідних постішемічних змін вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків у полі СА3 тварин молодшої вікової групи не спостерігалось, а створення дефіциту статевих гормонів призвело до їх вираженого накопичення. У даній структурі тримісячних тварин ішемія викликала зростання вмісту динітрофенілгідразонів як нейтрального, так й основного характеру, а кастрація значно посилювала ці зміни.

Отримані дані демонструють деякі структурні та вікові особливості поєднаної дії ішемії й кастрації на вираженість окиснювальної модифікації білків. Це свідчить, що рівень статевих гормонів в організмі впливає на перебіг ішемічно-реперфузійних процесів та відіграє важливу роль в

механізмах селективної чутливості структур мозку до ішемії. Можна думати, що чинниками, які визначають цей феномен, є кількість рецепторів до статевих гормонів в даній структурі.

Андрогени опосередковують різні функції ЦНС після зв'язування зі своїми рецепторами. Найвищі їх рівні визначаються в латеральній перегородці, медіальній частині ядра ложа, медіальній преоптичній ділянці, центральному та задньому амигдаллярному ядрі, венстромедіальному гіпоталамусі, субікулумі, аркуатно-медіальній емінінції, вентральних преамілярних ядрах, у передній долі гіпофіза, дещо нижчі – в гіпокампі та структурах нової кори [247].

У мозку самців широко розповсюджені також рецептори естрогенів. У інтактних самців зв'язування естрогенів значно відрізнялося в різних ділянках мозку. Від 55% у *bed n. stria terminalis* до 21% в аркуатних ядрах. Гонадектомія чи інгібітор ароматази 4-гідроксистендіон значно зменшували чи взагалі усували регіонарну залежність зв'язування естрогенними рецепторами [248]. Це пояснює отриману нами різну реакцію на кастрацію.

Така неоднозначність реакції вільнорадикального пошкодження білків знаходиться в повній відповідності з концепцією селективної чутливості до ішемічного впливу.

Порівняльний аналіз конститутивної інтенсивності вільнорадикальної модифікації білків у кіркових зонах мозку тварин різного віку не виявив вірогідних відмінностей. Проте у всіх полях гіпокампа вміст окисдованих форм протеїнів був значно вищим у тварин молодшої вікової групи. Ще одна міжвікова особливість полягала в тому, що різниця у вмісті динітрофенілгідразонів основного характеру була більш значною, ніж нейтрального. Це свідчить, що чутливість різних білків до дії вільних радикалів та/або активність внутрішньоклітинних протеаз суттєво міняється з віком.

У гіпокампі структурні відмінності вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків під впливом ішемії, особливо у старших тварин, значно

зменшуються або й зовсім зникають, що зайвий раз підтверджує відсутність залежності між конститутивними та індукційними показниками. Проте в інфантильних тварин міжрегіонарна різниця вмісту динітрофенілгідразонів нейтрального характеру не лише зберігається, але в окремих випадках зростає, що свідчить про міжвікові особливості механізмів регуляції даних процесів. Вплив ішемії на міжвікові взаємовідносини підтверджується також при аналізі постішемичного структурного розподілу продуктів вільнорадикальної модифікації білків. Постішемичне їх накопичення у тварин старшої вікової групи призводить до усунення міжвікової різниці в полях СА1 та СА3 та її зменшення - в полі СА2.

Таким чином, конститутивний розподіл продуктів окиснювальної модифікації білків у різних відділах гіпокампа характеризується регіонарними та віковими особливостями, а характер постішемичних змін вмісту альдегідо- та кетоніохідних нейтрального й основного характеру залежить від віку тварин та досліджуваної структури й не зв'язаний з конститутивним рівнем окиснювальних процесів.

Незважаючи на напрямок, в якому відбуваються зміни вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків, у кінцевому рахунку внутрішньоклітинний їх рівень визначається балансом між швидкістю окисдації та швидкістю деградації білків [188]. Тому їх накопичення чи зниження є комплексною функцією численних факторів, котрі впливають на синтез та окисдацію протеїнів з одного боку, та активність різних протеаз, які селективно деградують окисдовані форми, з іншого [283, 284].

Отримана нами селективність змін окиснювальної модифікації білків в полях гіпокампа ймовірно, пояснюється тим, що в різних клітинах накопичення та деградація модифікованих білків може відбуватися різними шляхами. На цей процес впливають субстрати та кофактори, які захищають ензими від інактивації системою вільних радикалів, антиоксиданти, що пригнічують інактиваційні реакції [285]. Таким чином, виснаження субстратів і кофакторів, так само, як і рівнів природних антиоксидантів, може

робити білки більш чутливими до окиснювальної модифікації.

До захисних механізмів, здатних обмежувати процес окиснювальної модифікації білків, відносять індукцію білків теплового шоку. До сімейства цих білків відносять БТШ 70, БТШ 72, БТШ 90 [286, 287]. Вважають, що цитопротекторний ефект БТШ зумовлений їх зв'язуванням з гідрофобними ділянками частково денатурованих білків, що перешкоджає процесу незворотної агрегації й порушенню їх функції. Вірогідність цього механізму підтверджується тим, що після впливу ішемії має місце посилення індукція БТШ.

Характерно, що при глобальній ішемії мозку часовий патерн посилення експресії БТШ відображає патерн селективної вразливості різних структур мозку, у тому числі ділянок СА1 – СА3 гіпокампа – нова кора – таламус – зубчаста звивина гіпокампа [288]. Існує дозозалежність в продукції БТШ та важкості ішемії [289], що ще раз підкреслює протекторну роль цих білків.

Модифіковані протеїни набувають високої чутливості до дії протеаз, які, в свою чергу, проявляють селективність до цих білків [188, 290, 291]. Тому, якщо рівень внутрішньоклітинних протеаз за певних причин зменшується, матиме місце акумуляція оксидативно модифікованих протеїнів, і навпаки, активація протеаз сприятиме їх деградації.

У цьому контексті доцільним, на наш погляд, є аналіз стану протеолітичної активності в гіпокампі та співставлення її зі станом вільнорадикальної модифікації білків.

Взаємозв'язок і взаємний вплив регуляторних пептидів і протеолітичних ферментів в організмі не викликає сумнівів, у зв'язку з чим можна дійти висновку, що зміна активностей протеолітичних ферментів при різноманітних функціональних станах організму, розвитку патологій та впливу деяких екстремальних чинників, є невід'ємною частиною біологічної дії цих пептидів.

Як будь-яка біологічна система, протеолітична повинна бути збалансована за рахунок узгодженого функціонування її активаторів та

інгібіторів. Надмірна активація або пригнічення протеолізу та фібринолізу може лягти в основу розвитку багатьох патологічних процесів [292]. Порушення балансу протеази-антипротеази є складовою патогенезу багатьох пошкоджень ЦНС [293]. Активація деяких протеолітичних ферментів, зокрема калпаїну, може брати участь в ініціації каскаду екситотоксичності [294].

Тому аналіз постішемичних порушень тканинної протеолітичної активності в досліджуваних структурах після кастрації може надати суттєву інформацію щодо механізмів участі статевих гормонів у регуляції протеолітичної активності.

У корі лобової частки одномісячних щурів кастрація запобігала постішемичним змінам фібринолітичної активності, проте посилювала вплив ішемії на лізис колагену. У тварин тримісячного віку дефіцит статевих гормонів викликав постішемичне зростання всіх показників фібринолітичної активності, на які не впливала ішемія без кастрації, та так само, як в одномісячних тварин, поглиблював постішемичні зміни лізису азоколу.

Наслідки ішемії без кастрації в потиличній корі полягали лише в зниженні лізису колагену у тварин молодшої вікової групи. Кастрація значно посилювала відстрочені наслідки ішемії в даному відділі мозку. В одномісячних тварин це проявлялося зростанням всіх показників фібринолітичної активності, та ще більш значним, ніж після контрольної ішемії, зниженням лізису азоколу. У тримісячних тварин зміни носили тотальний характер і полягали в зростанні всіх показників як фібрино-, так і протеолітичної активності.

Постішемичне зниження фібринолітичної активності в полі гіпокампа CA1 тварин обох вікових груп після кастрації змінювалося зростанням, яке значно перевищувало контрольні показники. В одномісячних щурів кастрація не впливала на постішемичні зміни лізису високомолекулярних білків, повертала до норми лізис азоальбуміну та знижувала лізис колагену не лише стосовно ішемії, але й у порівнянні з контролем. У тварин старшої вікової

групи ішемія після зниження рівня статевих гормонів вплинула лише на лізис колагену, який значно пригнічувався в порівнянні як з показниками в контрольних щурів, так і з постішемичними показниками.

Надзвичайно виражений вплив на перебіг ішемії кастрація мала в полі гіпокампа СА2 тварин обох вікових груп. Фібринолітичну активність, знижену ішемією в одномісячних щурів та незмінену – в тримісячних, ішемія на тлі зниження рівня статевих гормонів підвищувала. Характерно, що після кастрації ці показники значно перевищували навіть ті, які мали місце в інтактних тварин. Що стосується протеолізу, то сама ішемія майже не впливала на його вираженість, однак аналогічне втручання на тлі дефіциту статевих гормонів спричинило значну активацію протеолітичної активності у тварин обох вікових груп.

У полі гіпокампа СА3 одномісячних щурів за умов відсутності статевих гормонів сім'яників у порівнянні з контролем ішемія не впливала на сумарну та неферментативну активність та дещо підвищувала ферментативний фібриноліз, незважаючи на те, що у контрольних тварин ці постішемичні показники були значно зниженими. У порівнянні з показниками у тварин з ішемією без кастрації всі параметри фібринолітичної активності значно зростали. У старшій віковій групі ні в контрольних, ні в кастрованих тварин ішемичне втручання не мало впливу на ці показники. У той же час, вплив кастрації та ішемії на протеолітичну активність був стимулюючим незалежно від віку та впливу самої ішемії.

Отримані результати свідчать про більш значні відстрочені постішемичні порушення фібрино- та протеолітичної активності у тварин молодшої вікової групи. Більш детальний віковий аналіз показав відсутність конститутивних та постішемичних відмінностей показників фібринолітичної активності у корі лобової частки великих півкуль. Появу вікових відмінностей сумарної фібринолітичної активності з вищими значеннями в старшій віковій групі спричинила кастрація.

Щодо протеолітичної активності, то в контрольних тварин більш

високий лізис азоколу мав місце в щурів молодшої вікової групи.

У корі потиличної частки виявлено вікові відмінності конститутивного лізису колагену. Він був значно нижчим у тримісячних щурів. Ішемія нівелює ці вікові відмінності, а кастрація спричиняє їх появу за рахунок зростання лізису низькомолекулярних та високомолекулярних білків у тварин старшої вікової групи.

Конститутивна фібринолітична активність в полі гіпокампа СА1 у тварин різних вікових груп не відрізнялася. Конститутивний лізис високомолекулярних білків був вищим у молодших щурів, а азоколагену - у старших.

Постішемичні показники фібринолітичної активності в полі СА1 не мали вікової різниці, а протеолітична активність була нижчою в тримісячних тварин за рахунок лізису низькомолекулярних білків та азоколагену. Після кастрації ці відмінності зникали.

У полі гіпокампа СА2 конститутивна неферментативна фібринолітична активність, колагенолітична та лізис низькомолекулярних білків були нижчими у щурів молодшої вікової групи.

Після ішемії у тримісячних тварин всі показники фібринолітичної активності були вищими в тримісячних щурів, а протеолітична активність у тварин обох вікових груп не відрізнялася. Кастрація усувала постішемичні зміни.

Не виявлено вікових відмінностей конститутивних показників фібринолітичної активності в полі СА3, проте інтенсивність лізису азоальбуміну та азоколагену була вищою в молодших тварин. Після ішемії всі показники фібринолітичної активності стали вищими у тримісячних тварин, а кастрація спричинила їх вікову реверсію.

Постішемичні вікові відмінності протеолітичної активності, які полягали в підвищеному лізисі колагену у тварин молодшої вікової групи, зникали після кастрації.

Отже, дефіцит статевих гормонів має неоднозначний вплив на

постішемічні зміни фібрино- та протеолітичної активності, зумовлені неповною глобальною ішемією мозку. Він залежить від віку та структури.

Протягом останніх років почали з'являтися роботи, які розкривають характер взаємозв'язків між тканинним фібринолізом, протеолізмом та гормональним статусом організму.

При вивченні впливу тестостерону та прогестерону на активність основних карбоксипептидаз у різних тканинах мишей, у тому числі в нервовій, встановлено виражений модулюючий вплив обох гормонів на функціональний стан цих ферментів [295], від яких залежить активація чи пригнічення біологічно активних пептидів [292]. Екзопептидази сприяють звільненню з високомолекулярних попередників активних пептидів, які під впливом медіаторів, інших регуляторних пептидів, цАМФ виділяються з клітин, мігрують до клітин-мішеней, де зв'язуються зі специфічними рецепторами, а у подальшому розщеплюються різними пептидазами, що спричиняє їх модифікацію чи повну втрату біологічної активності [296].

Таким чином, протеолітичним ферментам належить важлива роль в обміні нейропептидів. Однак, рівень нейропептидів може залежати від різноманітних ендогенних механізмів регуляції активності пептидгідролаз. Одним з таких механізмів є регуляція активності протеолітичних ферментів самими регуляторними пептидами та продуктами їх протеолізу.

Пригнічення та активація ферментів процесингу та деградації пептидів субстратами і продуктами протеолізу регулює рівень нейропептидів при патологічних станах організму, у тому числі при ішемічних впливах. Така ендогенна саморегуляція необхідна для захисту організму від можливого виснаження у результаті гіперфункції стресорних агентів (гормонів, катехоламінів та ін.) [297].

Встановлено, що багато факторів, які впливають на рівень регуляторних пептидів, подібним чином діють і на активність деяких ферментів обміну пептидів. При дії екстремальних чинників, введенні надфізіологічних доз екзогенних глюкокортикоїдів має місце підвищення

активності протеолітичних ферментів, що ймовірно, є однією з ланок неспецифічної реакції організму на дію екстремальних чинників [292, 296,].

Недавніми дослідженнями встановлено, що гіпофізектомія курей спричиняла появу гіперкоагуляції та пригнічення фібринолізу [298].

Взаємозв'язки між гормональним статусом та фібринолітичною активністю характеризуються віковими особливостями. Наприклад, вплив гіпофізектомії більш виражений на ранніх етапах онтогенезу. Так, у неонатально гіпофізектомованих курчат гіперкоагуляція та гальмування фібринолізу було більш вираженим, ніж у старших за віком птахів після аналогічного втручання [299].

Таким чином, сукупність отриманих даних не залишає сумнівів щодо тісних взаємозв'язків між рівнем статевих гормонів сім'яників і наслідками ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку та наявності їх вікових особливостей.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне та експериментальне узагальнення даних щодо вікових особливостей нейрохімічних та біохімічних механізмів участі статевих гормонів у розвитку відстрочених наслідків неповної глобальної ішемії мозку в щурів.

1. Неповна глобальна ішемія мозку знижує вміст прогестерону (в 1,2 та 2,2 раза, $p < 0,05$) та тестостерону (в 1,4 та 1,7 раза, $p < 0,05$) у плазмі крові одномісячних та тримісячних щурів відповідно, що свідчить про вищу чутливість статевих гормонів до ішемії-реперфузії мозку у тварин старшої вікової групи.

2. Ішемічно-реперфузійне пошкодження мозку характеризується зниженням інтенсивності флуоресценції катехоламінів у 5,1, 8,2, 1,5, 2,1, 1,5 раза в лобовій, потиличній частках кори, полях гіпокампа СА1, СА2, СА3 одномісячних тварин та в 3,4, 6,3, 1,2, 1,1 раза в лобовій, потиличній частках кори, полях гіпокампа СА2, СА3 тримісячних щурів.

3. Кастрація значно послаблює вплив ішемії на інтенсивність флуоресценції катехоламінів у досліджених структурах мозку одномісячних тварин та посилює наслідки ішемії щодо вмісту катехоламінів у тримісячних. За відсутності статевих гормонів сім'яників структурні відмінності реакції катехоламінів мозку на ішемію в одномісячних тварин майже зникають, а в тримісячних - значно посилюються.

4. В одномісячних щурів ішемія, виконана після кастрації, підвищує вміст дієнових кон'югатів та малонового альдегіду в 1,4, 1,5 та 1,8, 1,3 раза в корі лобової та потиличної часток відповідно при одночасному зниженні в цих структурах активності супероксиддисмутази та каталази в 2,1, 1,7 та 1,8, 1,6 раза ($p < 0,005$ у всіх випадках) порівняно з показниками при ішемії без кастрації. У всіх полях гіпокампа ішемія на тлі дефіциту статевих гормонів сім'яників призводить до зниження вмісту обох продуктів ліпопероксидації та активності більшості ферментів антиоксидантного захисту стосовно не лише постішемічних, але й конститутивних показників.

5. У тримісячних щурів ішемія після кастрації зменшує вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність більшості антиоксидантних ферментів не лише в тих структурах, де вони зазнавали змін внаслідок ішемії без кастрації, але й у тих, де постішемичних змін не спостерігалось, що свідчить про перехід за цих умов прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу на більш низький рівень функціонування.

6. У корі лобової частки тварин обох вікових груп та потиличної частки одномісячних щурів ішемія після кастрації достовірно знижує вміст продуктів окиснювальної модифікації білків основного та нейтрального характеру в порівнянні як з ішемією без кастрації, так і з конститутивними показниками. У всіх полях гіпокампа ішемія на тлі дефіциту статевих гормонів сім'яників підвищує вміст продуктів окиснювальної модифікації білків незалежно від спрямування й вираженості змін при ішемії без кастрації та віку тварин.

7. За показниками фібрино- та протеолітичної активності більшою чутливістю до ішемії-реперфузії характеризуються структури мозку щурів молодшої вікової групи.

8. Кастрація нівелює (частково або повністю) наслідки ішемії щодо стану фібрино- та протеолітичної активності в корі лобової частки та полі СА3 тварин молодшої вікової групи, посилює вплив ішемії в корі потиличної частки тварин обох вікових груп та лобової – тримісячних, і спричиняє появу якісно нової реакції в полях гіпокампа СА1 і СА2 тварин обох вікових груп.

РЕКОМЕНДАЦІЇ ЩОДО НАУКОВОГО І ПРАКТИЧНОГО ВИКОРИСТАННЯ ЗДОБУТИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Виявлені вікові та структурні особливості впливу кастрації на відстрочені наслідки ішемічно-реперфузійних пошкоджень головного мозку створюють підґрунтя для диференціації ролі статевих гормонів сім'яників, надниркових залоз та нейростероїдів у перебігу цього патологічного процесу.

Розроблені наукові положення можуть бути використаними при застосуванні похідних андрогенів для патогенетичної корекції ішемічних ушкоджень.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Нейропротекторная терапия ишемического инсульта. II. Вторичная нейропротекция // Журн. неврол. и психиатрии. - 2002. – Вып. 6. – Прил.: Инсульт. – С. 3-18.
2. Мищенко Т.С. Вторичная профилактика ишемического мозгового инсульта //Український мед. часопис.– 2001.– Т.25, №5.– С. 8-18.
3. Антиоксидантная терапия при ишемическом инсульте / З.А. Суслина, Т.Н. Федорова, М.Ю. Максимова и др. // Журн. неврол. и психиатрии. – 2000. –Т. 100, №3. – С. 34-38.
4. Виничук С.М., Черевко Т.М. Ишемический инсульт: эволюция взглядов на стратегию лечения. – К., 2003. – 120 с.
5. Магура І. С. Мозкова ішемія-гіпоксія та біофізичні механізми нейродегенеративних і нейропротекторних впливів // Фізіол. журн. – 2003. – Т.49, №2. – С. 7-12.
6. Лукьянова Л.Д. Роль биоэнергетических нарушений в патогенезе гипоксии // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 2004. - №2. – С. 2-11.
7. Скибо Г.Н. Использование различных экспериментальных моделей для изучения клеточных механизмов ишемического поражения мозга // Патология. – 2004. – Т.1, №1. – С. 22-30.
8. Li C., Jackson R.M. Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury // Amer. J. Physiol. Cell Physiol. - 2002.- Vol.282, № 2. - P.227-241.
9. Mauler F., Fahrig T., Horvath E. Inhibition of evoked glutamate release by the neuroprotective 5-HT(1A) receptor agonist BAY 3702 in vitro and in vivo // Elsev. Netherlands.-2001.- №1.- P.150-157.
10. Скворцова В.И. Ишемический инсульт: патогенез ишемии, терапевтические подходы // Неврологический журн. – 2001. - №3. – С.4-9.
11. Frye C.A., Rhodes M.E. Testosterone reduces (pentylentetrazole-induced ictal activity of wildtype mice but not those deficient in type I 5 α -reductase

// Brain Res. - 2001.- Vol.918, № 1-2. - P.182-186.

12. Mellon S.H., Griffin L.D. Synthesis, regulation, and function of neurosteroids //Endocr. Res. – 2002. – Vol. 28, №4. – P. 463-465.

13. Sader M.A., McCredie R.J., Griffiths K.A. Oestradiol improves arterial endothelial function in healthy men receiving testosterone // Clin. Endocrinol.- 2001.- Vol.54, № 2.- P. 175-181.

14. Harukuni I., Hurn P.D., Crain B.J. Deleterious effect of 17 β -estradiol in a rat model of transient forebrain ischemia // Elsev. Netherlands.- 2001.- Vol.1- P.137-142.

15. French-Mullen J.M., Spence K.T. Neurosteroids block Ca²⁺ channel current in freshly isolated hippocampal CA1 neurons // Eur. J. Pharmacol. – 2001. – Vol. 202, №2. – P. 269-272.

16. Болдырев А.А. Парадоксы окислительного метаболизма мозга // Биохимия.-1995.-Т.60, №9.-С.1536-1542.

17. Шимків О.Д., Ткачук С.С. Вікові особливості гуморальної та церебральної реакції циклічних нуклеотидів на каротидну ішемію // Експерим. та клін. мед. – 2003. – № 2. – С. 79-81.

18. Власов Т.Д., Коржевский Д.Э., Полякова Е.А. Ишемическая адаптация головного мозга крысы как метод защиты эндотелия от ишемического/реперфузионного повреждения //Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. – 2004. – Т.90, №1. – С. 40-48.

19. Arvidsson A., Kokaia Z., Airaksine S. Induces widespread changes of gene expression for glial cell line-derived neurotrophic factor family receptors in the adult rat brain // Pergamon.-2001.- №1.-P.27-41.

20. Гомазков О.А. Апоптоз нейрональных структур и роль нейротрофических ростовых факторов. Биохимические механизмы эффективности пептидных препаратов мозга // Журн. неврол. и психиатрии. – Прил.: Инсульт. – 2002. – Вып.7. – С. 17-21.

21. Механизмы повреждения ткани мозга на фоне острой фокальной ишемии мозга / Е.И.Гусев, В.И.Скворцова, А.В.Коваленко, М.А.Соколов //

Журн. невропатол. и психиатрии. – 1999. – Т. 99, № 7. – С. 65-70.

22. Badr A.E., Yin W., Mychaskiw G. Effect of hyperbaric oxygen on striatal metabolites: A microdialysis study in awake freely moving rats after MCA occlusion // Elsev. Netherlands.- 2001.- №1-2.-P.85-90.

23. Лукьянова Л.Д. Митохондриальные дисфункции при гипоксии – типовой патологический процесс // Митохондрии в патологии. – Пущино, 2001. – С. 18-25.

24. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии / Под общ. ред. Ю.А.Зозули. – К.: Наук. думка, 1997. – 420 с.

25. Лукьянова Л.Д. Гипоксия при патологиях. Молекулярные механизмы и принципы коррекции // Перфтороорганические соединения в биологии и медицине. – Пущино, 2001. – С. 56-69.

26. . Влияние румосола на ультраструктурные и метаболические сдвиги в головном мозге при экспериментальной ишемии у крыс / А.И. Панасенко, И.Л. Кечин, Е.Г. Кныш и др. // Эксперим. та клін. фізіол. та біохімія. – 2002. – № 1. – С. 15-20.

27. Лукьянова Л.Д. Современные проблемы гипоксии // Вестн. РАМН. – 2000. – №9. – С.3-12.

28. Влияние фенил-т-бутилнитрона, мексидола и нооглютила на зону ишемического поражения мозга и память крыс после окклюзии средней мозговой артерии / О.В. Поварова, Т.Л. Гарибова, Е.И. Каленикова и др. // Эксперим. и клин. фармакол.- 2004.- Т.67, №1.- С.-3-6.

29. Завалишин И.А., Захарова М.Н. Оксидантный стресс – общий механизм повреждения при заболеваниях нервной системы // Журн. неврол. и психиатрии. – 1996. – Т. 26, № 2. – С. 111-114.

30. Vagnozzi R. Effects of increasing times of incomplete cerebral ischemia upon the energy state and lipid peroxidation in the rat // Exp. Brain Res. – 1997. – Vol. 117, № 3. – P. 411-418.

31. Кургалюк Н.М., Серебровська Т.В. Роль циклу трикарбоновых кислот у

процесах енергозабезпечення та антиоксидантного захисту клітин при гострій гіпоксії // Фізіол. журн.- 2003.- Т.49, №3.- С.104-108.

32. Болдырев А.А. Дискриминация между апоптозом и некрозом нейронов под влиянием окислительного стресса // Биохимия. – 2000. – Т.65, №7. – С. 981-990.

33. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. – М.: Медицина, 2001. – 328 с.

34. Waxman K. Shock: ischemia, reperfusion and inflammation // New Horiz. – 1996. – Vol. 4, № 2. – P. 153-160.

35. Araki H. Effect of calcium channel blockers on cerebral ischemia- induced hyperactivity in Mongolian gerbils // Physiol. and Behav.- 1999.- Vol.67, №4.- P. 573-577.

36. Bazan N.G., Rodriguez E.B., Allan G. Mediators of injury in neurotrauma: intracellular signal transduction and gene expression // J. Neurotrauma. – 1995. – Vol.12, № 5. – P. 791-814.

37. Nagata E. Selective inhibition of inositol 1,4,5-trisphosphate-induced Ca^{2+} release in the CA1 region of the hippocampus in the ischemic gerbil // Neurosci.- 1999.-Vol.93, №3.-P.995-1001.

38. LY393615, a novel neuronal Ca^{2+} and Na^{+} channel blocker with neuroprotective effects in models of in vitro and in vivo cerebral ischemia / K.S. Mathews, D.P. McLaughlin, K.E. Patrick et al. // Elsev. Netherlands.- 2001.- №1.-P.138-149.

39. Метаболічні аспекти формування кисневого гомеостазу в екстремальних станах / М.Ф.Тимочко, О.П.Єлисеєва, Л.І.Кобилянська, І.Ф. Тимочко – Львів, 1998. – 142 с.

40. Раевский К.С., Башкатова В.Г., Ванин А.Ф. Роль оксида азота в глутаматергической патологии мозга // Вестник РАМН. – 2000. – №4. – С. 11–15.

41. Реутов В.П. Медико-биологические аспекты циклов оксида азота и супероксидного анион-радикала // Вестник РАМН.– 2000.- №4.– С. 35-41.

42. Vanderklish P.W., Banhr B.A. The pathogenic activation of calpain: a marker and mediator of cellular toxicity and disease states // *Int. J. Exp. Pathol.* – 2000. – Vol.81, № 5. – P. 323-339.

43. Inhibitory effect of a brain derived peptide preparation on the Ca²⁺-dependent protease calpain / R. Wronski, P. Tompa, B. Hutter-Paier et al. // *J. Neural Transm.* – 2000. – Vol. 107, №2. – P. 145-157.

44. Чернов Ю.Н., Батищева Г.А., Васин М.В. Физиологическая роль и фармакологическая коррекция эффектов простаноидов и лейкотриенов // *Фармакол. и токсикол.* – 1990. – Т. 53, № 6. – С. 64-71.

45. Nishizaki F., Nomura T., Matsuoka T. et al. Arachidonic acid as messenger for the expression of long-term potentiation // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1999. – Vol. 254, № 2. – P. 446-449.

46. Роль фосфоліпідів у мембранах функціонально різних клітин за порушення антиоксидантної системи / З.М. Даценко, Г.В. Донченко, О.В. Шахман та ін. // *Укр. біохим. журн.* – 1996. – Т.68, №1. - С.49-54.

47. Салига Ю.Т., Снітинський В.В., Яремко Р.М. Супероксиддисмутаза – ключовий фермент антиоксидантної системи (огляд літератури) // *Експерим. та клін. фізіол. та біохімія.* – 1999. – № 3(7). – С. 7-17.

48. Katsuki H., Okuda S. Arachidonic acid as a neurotoxic and neurotrophic substance // *Progr. in Neurobiol.* – 1995. – Vol. 46, №3. – P. 607-636.

49. К патологии метаболизма катехоламинов при цереброваскулярных заболеваниях / В.П. Бархатова, Ю.А. Варекин, З.А. Суслина и др. // *Журн. неврол. и психиатрии.* – 1994. – Т. 94, № 2. – С. 33-37.

50. Neurotoxicity induced cleavage of p35 to p25 by calpain / M.S. Lee, Y.T. Kwon, M. Li et al. // *Nature.* – 2000. – Vol. 405, №8526. – P. 360-364.

51. Гуревич К.Г., Шимановский Н.Л. Оксид азота: биосинтез, механизм действия, функции // *Вопр. биол., мед. и фарм. химии.* – 2000. – №4. – С. 416-429.

52. Nomura Y. A transient brain ischemia and bacterial endotoxin-induced glial iNOS expression and NO-induced neuronal apoptosis // *Toxicol. Lett.* – 1998. –

Vol. 102-103, № 1. – P. 65-69.

53. Раевский К.С. Оксид азота – новый физиологический мессенджер: возможная роль при патологии центральной нервной системы // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1997. – Т. 123, № 5. – С. 484-490.

54. Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б., Реутов В.П. NO-синтазы в норме и при патологии различного генеза // Вестник РАМН. – 2000. – №4. – С. 30-34.

55. Телушкин П.К. Глутамат и пероксидное окисление в патогенезе заболеваний ЦНС // Вопр.мед.химии – 1998. – Т.44, Вып.6. – С 527-526.

56. Оксид азота и перекисное окисление липидов как факторы эндогенной интоксикации при неотложных состояниях / П.П. Голиков, Н.Ю. Николаева, И.А. Гавриленко и др // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 2000. - №2. – С. 6-9.

57. Динамика перекисного окисления липидов у больных с острым нарушением мозгового кровообращения ишемического характера / З.А. Суслина, Т.Н. Федорова, Б.А. Кистенев и др. // Журн. неврол. и психиатрии. – 1999. – Т.99, №7. – С. 33-36.

58. Лук'янчук В.Д., Савченкова Л.В., Бібік О.Ю. Окисний гомеостаз мозку при ішемії і досвід експериментальної фармакотерапії (огляд літератури і власних досліджень) // Журн. АМН України. – 2001. – Т.7, №4. – С.647-659.

59. Nehlig A., Pereira de Vasconcelos A., Boyet S. Postnatal changes in local cerebral blood flow measured by the quantitative autoradiographic [¹⁴C]iodantipyrine technique in freely moving rats // J.Cereb.Blood Flow Metabol. – 1989. – Vol.9, №5. – P. 579-588.

60. Ohnishi T., Posner J.B., Schapiro W.R. Vasogenic brain edema induced by arachidonic acid: role of extracellular arachidonic acid in blood-brain barrier dysfunction // Neurosurg. – 1992. – Vol. 30, №2. – P. 545-551.

61. Amelioration of vasospasm after subarachnoid hemorrhage in transgenic mice overexpressing CuZn-superoxide dismutase / H. Kamii, I. Kato, H. Kinouchi et al. // Stroke. – 1999. – Vol. 30, № 4. – P. 867-871.

62. Caner H. The role of lipid peroxidation in the genesis of vasospasm

secondary to subarachnoid hemorrhage // J. Med. Sci.– 1991.– Vol. 37, № 1.– P. 13-20.

63. Zablocka B., Gajkowska B. Isoforms of protein kinase C in postsynaptic densities after cerebral ischemia // Elsev. Netherlands.- 2001.- №1-2.- P. 105-111.

64. Lazzarino G. The relevance of malondialdehyde as a biochemical index of lipid peroxidation of postischemic tissues in the rat and human bongs //Biol. Trace Elem. Res. – 1995. – Vol. 47, № 1-3. – P. 165-170.

65. Kitagawa H. Immunoreactive Akt, PI3-K and ERK protein kinase expression in ischemic rat brain // Neurosci. Lett. -1999.-Vol.274, №1.-P.45-49.

66. Колпикова О.С., Фархутдинов Р.Р., Магжанов Р.В. Влияние некоторых препаратов, используемых в лечении цереброваскулярных расстройств на процессы свободнорадикального окисления в модельных системах // Журн. неврол. и психиатрии. – 2002. – Т. 102, №8. – С. 22-25.

67. Григорова И.А. Патогенетические механизмы ишемического церебрального инсульта //Лікарська справа. – 1998. -№1. – С.58-65

68. Byung P.Y. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species // Physiol. Rev. – 1994. – Vol. 74, №1. – P. 139-162.

69. Heales S.J., Bolanos J.P. Impairment of brain mitochondrial function by reactive nitrogen species: the role of glutathione in distanting subseptibility //Neurochem. Intern. – 2002. – Vol. 40, № 6. – P. 469-474.

70. Involvement of free radicals in cerebral vascular reperfusion injury evaluated in a transient focal cerebral ischemia model of rat / M.Nakashima, M. Niwa, T. Iwai, T. Uematsu // Free Radic. Biol. Moll. – 1999. – Vol. 26, № 5-6. – P. 722-729.

71. Diversity of calcium signaling by metabotropic glutamate receptors / S. Kawabata, A. Kohara, R. Tsutsumi et al. // J.Biol. Chem. – 1998. – Vol. 273, №28. – P. 17381-17385.

72. Деякі особливості дослідження антиоксидантної дії 6-метил-2-етилпіридин-3-олу гідрохлориду (емоксипіну) / В.П. Громова, Г.С. Шаповал, І.Е. Миронюк та ін. // Фізіологічно активні речовини. – 2002. – Т.33, №1. – С.

87-90.

73. Зінкович І.І. Вплив супероксиддисмутази на стійкість міокарду до ізадрину // Архив клин. и эксперим. мед. – 1997. – Т. 6, № 1. – С. 10-12.

74. Зінкович І.І. Фактори прогнозування стійкості організму до стресу // Фізіол. журн. – 1998. – Т.44, №3. – С. 293.

75. Зінкович І.І. Механізми стійкості міокарду до екзогенних β -симпатоміметиків: Автореф. дис. ...д-ра мед. наук: 14.03.04.–К., 2003.– 40с.

76. Зинкович И.И. Состояние липопероксидации при экстремальных воздействиях // Вестник гигиены и эпидемиол.– 2001.– Т. 5, № 2.– С. 172-175.

77. Зозуля Ю.А., Барабой В.А., Сутковой Д.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга. – М.: Знание, 2002. – 344 с.

78. Кулинский В.И., Минакина Л.Н., Усов Л.А. Участие аденозиновых рецепторов в нейропротекторном эффекте при полной глобальной ишемии головного мозга // Бюл.эксперим. биол. и мед.– 2001.– Т.131, №5.– С. 536-538.

79. Class II of metabotropic glutamate receptors modulate the evoked release of adenosine and glutamate from rat hippocampal slices / R. Caciagli, P. Di Iorio, R. Ciccareli et al. // Pharm. Res. – 1995. – Vol. 31, Suppl. – P. 167.

80. Lucchi R., Sebastiano A.M., Ribeiro J.A. The hypoxia induced depression of AMPA-component of EPSPs is mainly due to endogenous adenosine // Pharm. Res. – 1995. – Vol. 31, Suppl. – P. 109.

81. Бархатова В.П., Суслина З.А. Основные направления нейропротекции при ишемии мозга // Неврол. ж. – 2002. – № 4. – С. 42-50.

82. Akaike N. Distribution of different types of calcium channels in the brain structures // Neurophysiology. – 1997. – Vol. 29, № 4-5. – P. 297-306.

83. Markgraf C.D., Nelson L., Velayo B.C. Six-hour window of opportunity for calpain inhibition in focal cerebral ischemia in rats // Stroke. – 1998. – Vol. 29, №1. – 152-158.

84. Mody I., MacDonald J.F. NMDA receptor-dependent excitotoxicity: the role

of intracellular Ca^{2+} release // Trends Pharmacol. Sci. – 1995. – Vol. 16, №. 10. – P. 356-359.

85. O'Neill M.J., Hicks C.A., Ward M.A. LY393615, a novel neuronal Ca^{2+} and Na^+ channel blocker with neuroprotective effects in models of in vitro and in vivo cerebral ischemia // Elsev. Netherlands.-2001.-№1.-P.138-149.

86. Interaction between calcium channels and calcineurin in NG 108-15 cells / E.A. Lukyanetz, T.P. Piper, A.C. Dolphin et al. // J.Physiol. – 1996. – Vol.494, №1. – P.79-80.

87. Роль оксида азота в церебральной вазоконстрикции у крыс при дыхании кислородом под давлением / И.Т. Демченко, А.Е. Босо, С.Ю. Жилияев и др. // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2000. – Т. 86, Вып. 12. – С. 1594-1603.

88. Volaëos J.P. Roles of nitric oxide in brain hypoxia-ischemia //Biochim. et Biophys. Acta Bioenergetics.– 1999.– Vol.1411, №2-3.– P. 415-436.

89. Гипоксия и оксид азота / И.Ю.Мальшев, Е.А.Монастырская, Б.В.Смирин, Е.Б. Манухина // Вестн. РАМН. – 2000. - №9. – С. 44-48.

90. Differential expression of small heat shock proteins in reactive astrocytes after focal ischemia: Possible role of β -adrenergic receptor / T. Imura, S. Shimohama, M. Sato et al. // J. Neurosci. – 1999. – Vol. 19, № 22. – P. 9768-9779.

91. Balestrino M. Block of $(\text{Na}^+, \text{K}^+)$ ATPase with ouabain induces spreading depression-like depolarization in hippocampal slices // Brain Res.– 1999.– Vol.838, №1-2.– P.37-44.

92. Pringle A.K., Anghnawela R., Wilde C.J.C. Induction of 72 kDa heat shock protein following sublethal oxygen deprivation in organotypic hippocampal slice cultures // Neuropathol. Appl. Neurobiol. – 1997.– Vol. 23, №1.– P. 289-298.

93. Yenari M.A., Fink S.L., Sun G.H. Gene therapy with Hsp72 is neuroprotective in rat models of stroke and epilepsy // J. Neurosci. – 1998. – Vol. 18, № 20. – P. 8292-8299.

94. Immunocytochemically detectable metallothionein is expressed by

astrocytes in the ischemic human brain / J.W.Neal, S.K.Singh, B.Jasanit, G.R.Newman // *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* – 1996. – Vol. 22. – P. 243-247.

95. Ye Z.C., Sontheimer H. Astrocytes protect neurons from neurotoxic injury by serum glutamate // *Glia.* – 1998. – Vol.22, № 3. – P.237-248

96. Regulation of matrix metalloproteinase activity in ischemic tissue by interleukin –10: role in ischemia-induced angiogenesis / J.S. Silvestre, Z. Mallat, L. Tamarat et al. // *Circ. Res.* – 2001. – Vol.89, №3. – P. 259-264.

97. Martinou J.C., Dubois-Dauphin M., Staple J.K. Overexpression of bcl-2 in transgenic mice protects neurons from naturally occurring cell death and experimental ischemia // *Neuron.* – 1994. – Vol. 13, № 6. – P. 1017-1030.

98. Immunohistochemical investigation of caspase-1 and effect of caspase-1 inhibitor in delayed neuronal death after transient cerebral ischemia / Y. Hayashi, I. Jikihara, T. Yagi et al. // *Elsev. Netherlands.* – 2001. – №1-2. – P. 113-120.

99. Tortosa A., Blanco R., Ferrer I. Bcl-2 and Bax protein expression in neurofibrillary tangles in progressive supranuclear palsy // *Neuroreport.* – 1998. – Vol. 9, № 6. – P. 1049-1052.

100. bcl-2 is expressed in neurons that survive focal ischemia in rat / J. Chen, S.H. Graham, P.H. Cifian et al. // *Neuroreport.* – 1995. – Vol. 6, № 3. – P. 394-398.

101. Hughes P.J., Alexi T., Schreider S. S. A role of the tumour suppressor gene p53 in regulating neuronal apoptosis // *Neuroreport.* – 1997. – Vol. 8, № 15. – P. 5–12.

102. Самойлов М.О., Мокрушин А.А. Молекулярно-клеточные механизмы "объемной" передачи в мозге // *Труды Научного совета РАМН по экспериментальной и прикладной физиол.* – 1996. – Т. 6. – С. 12-13.

103. Самойлов М.О., Мокрушин А.А. Пептидная модуляция синаптической пластичности, индуцируемая аноксией // *Докл. РАН.* – 1997. – Т.354, №4. – С. 565-567.

104. Влияние опиоидного пептида далааргина и дез-тир-далааргина на насосную функцию сердца в условиях ишемии-реперфузии / Т.В. Ласукова, Л.Н. Маслов, Ю.К. Подоксенов и др. // *Бюл. эксперим. биол. и мед.* – 2004. –

T.137, №1.- С. 35-38.

105. Pechan P.A., Yoshida T., Panahian N. Genetically modified fibroblasts producing NGF protect hippocampal neurons after ischemia in the rat // *Neuroreport*. – 1995. – Vol. 6, № 4. – P. 669-672.

106. Reis D.J., Golanov E.V. Autonomic and vasomotor regulation // *Mol. Neurobiol.* – 1997. – Vol. 14, № 3. – P. 171-201.

107. Central neurogenic neuroprotection central neural systems that protect the brain from hypoxia and ischemia / D.J. Reis, E.V. Golanov, E. Galea, D.D. Feinstein // *Brain Res.* – 1998. – Vol. 785, № 12. – P. 279-286.

108. Glickstein S.B., Ilch C. P., Reis D. Stimulation of the subthalamic vasodilator area and fastigial nucleus independently protects the brain against focal ischemia // *Elsev. Netherlands.*- 2001.- №1.- P.47-59.

109. Голубев А.Г., Гусаков И.В., Камбарова Д.К. Предотвращение и нормализация гипоксических, дисциркуляторных и пароксимальных нарушений в головном мозге: где границы? // *Физиол. человека.* – 1993. – Т. 19, № 2. – С. 156-167.

110. Danzer S.C., McMullen N., Rane N.E. Testosterone modulates the dendritic architecture of arcuate neuroendocrine neurons in adult male rats // *Brain Res.*- 2001.- Vol. 890, № 1.- P. 78-85.

111. Matsumoto A., Arai Y., Urano A. Molecular basis of neuronal plasticity to gonadal steroids // *Funct. Neurol.*-1995.- №2.-P.59-76.

112. Androgen receptor immunoreactivity of male rat cervical motor neurons is increased by chronic pharmacologic testosterone treatment / C.E. Blanco, T. Davenport, S. Wachi, T. Goedken // *Acta physiol. et pharmacol.*– 2001.–Vol. 26, № 1-2.– P. 7-10.

113. Progesterone synthesis and myelin formation by Schwann cells / H.L. Koenig, M. Schumacher, B. Ferzaz et al. // *Science.*– 1995. – Vol. 268. – P. 1500-1503.

114. Day J.R., Laping N.J., Lampert-Etchells M. Gonadal steroids regulate the expression of glial fibrillary acidic protein in the adult male rat hippocampus //

Neurosci.-1995.- №2.-P.435-443.

115. Pike C. J. Testosterone attenuates b-amyloid toxicity in cultured hippocampal neurons // Brain Res. – 2001. – Vol.919, № 1. – С. 160-165.

116. Frye C. A., Lacey E. H. The neurosteroids DHEA and DHEAS may influence cognitive performance by altering affective state // Physiol. and Behav. – 1999.– Vol.66, № 1. – P. 85-92.

117. Crofton J. T., Share L. Gonadal hormones modulate deoxycorticosterone-salt hypertension in male and female rats // Hypertension.– 1997.– №1. – P. 494-499.

118. Steroid hormones and superoxide anion generation in spontaneously hypertensive rat (SHR) / A.P.V. Dantas, R. Scivoletto, Z.B. Fortes et al. // Rev. Farm. Biochem. Univ. Sao Paulo. – 1998. – Vol. 180. – P 219-223.

119. Nie M., Sun M., He F. Zhongguo yixue kexueyuan xuebao. Действие 17β-эстрадиола на высвобождение оксида азота из эндотелиальных клеток пупочного канатика человека // Acta Acad. Med. Sin.- 2001.- Vol.23, № 5.- P. 485-489.

120. Ovariectomy increases mitogens and platelet-induced proliferation of arterial smooth muscle / M.P. Bracamonte, K.S. Rud, W.G. Owen, V.M. Miller // Amer. J. Physiol.– 2002.– Vol.283, №3, Part. 2.– P. H853-H860.

121. Neal D.E., Gangula R., Elfun W. Effects of androgen ablation on angiogenesis in benign prostatic hyperplasia // Prostate. -1999. – Vol.38, № 4. - С. 330-331.

122. Sexual dimorphism of steroid hormone receptor messenger ribonucleic acid expression and hormonal regulation in rat vascular tissue / R. Knauthe, P. Diel, C. Hegele-Hartung et al. // Endocrinology. – 1996. - №8. – P. 3220 - 3227.

123. Ivanova T., Mendez P., Garcia-Segura L.M. Rapid stimulation of the PI3-kinase. Akt signalling pathway in developing midbrain neurones by oestrogen // Neuroendocrinol.– 2002.– Vol.14, № 1.– P. 73-79.

124. Резников А.Г. Нейростероиды: физиологические и патофизиологические аспекты // Эксперим. и клин. мед. – 2003. – №2. – С.

24-29.

125. Гончаров Н.П., Кацяя Г.В., Нижник А.Н. Нейростероиды и их биологическое значение // Успехи физиол. наук.–2004.– Т.35, №4.– С.3-11.

126. Compagnone N.A., Mellon S.H. Neurosteroids: biosynthesis and function of these novel neuromodulators // Front. Neuroendocrinol. – 2000. – Vol. 21, № 1. – P.-56-59.

127. Резников А.Г., Тарасенко Л.В. Образование эстрогенов в нейроэндокринных структурах мозга: физиологические и патофизиологические аспекты // Запорожский мед. журн. – 2002. - № 3. – С.5-6.

128. Yen S.S.C., Jaffe R.B., Barbieri R.L. Neuroendocrinology of reproduction // Reproductive endocrinology. Eds. Philadelphia, 1999. – P. 30-80.

129. Тарасенко Л.В. Влияние пренатального воздействия β -эндорфина на метаболизм андрогенов в мозге новорожденных крыс // Запорожский мед. журн. – 2005. – №3. – С. 113.

130. Хазипов Р.Н., Зефиоров А.Л., Бен-Ари Е. ГАМК – основной медиатор возбуждения на ранних этапах развития гиппокампа // Успехи физиол. наук. – 1998. – Т.29, №2. – С. 55-67.

131. Shughrue P.J. Estrogen is more than just a sex hormone: novel sites for estrogen action in the hippocampus and cerebral cortex // Front. Neuroendocrinol. – 2000. – Vol. 21, №1 – P. 95–101.

132. Оленев С.Н. Развивающийся мозг. Л.:Наука, 1978. – 222 с.

133. Мыслицкий В.Ф. Половая дифференциация некоторых структур лимбической системы головного мозга крыс в онтогенезе: Автореф. дис. ...д-ра биол. наук: 03.00.13.- М., 1990.– 32 с.

134. Резников А.Г., Пишак В.П., Носенко Н.Д., Ткачук С.С., Мыслицкий В.Ф. Пренатальный стресс и нейроэндокринная патология. - Черновцы: Медакадемія, 2004.– 351 с.

135. Моделирование фокальной ишемии головного мозга / В.П. Чехонин, С.В. Лебедев, С.В. Петров и др. // Вестник РАМН. – 2004. - №3. – С. 47-54.

136. Мозговой кровоток и цереброваскулярная реактивность в раннем

постнатальном онтогенезе / Г.Б. Вайнштейн, И.А. Журавин, К. Ровайнен и др. // Журн.эволюц. биохим. и физиол. – 1996. – Т.32, №2. – С. 160-166.

137. Huang C.-M. Age-related changes in the cerebellum: parallel fibers // Brain Res.–1999.– Vol.840, №1-2.– P.148-152.

138. Формирование кровеносной системы полушарий головного мозга у растущих крыс / К.А. Шошенко, И.М. Коростышевская, М.Н. Носова и др. //Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. – 1998. – Т.84, №4. – С. 353-362.

139. Bauer R. Regional distribution of cerebral blood volume and cerebral blood flow in newborn piglets - Effect of hypoxia/hypercapnia // Dev. Brain Res.-1999.- Vol.112, №1.- P.89-98.

140. Koudelova J., Mourek J. The lipid peroxidation in various parts of the rat brain: effect of age, hypoxia and hyperoxia // Physiol. Res. – 1994. – Vol. 43, № 3. – P. 169-173.

141. Age-related changes in levels of tyrosine kinase B receptor and fibroblast growth factor receptor 2 in the rat inferior colliculus: Implications for neural senescence / T. Sato, T.S. Wilson, L.F. Hughes et al. // Neurosci. – 2001.–№3.– P. 695-702.

142. Возрастные изменения окисленности белков и липидов в печени преждевременно стареющих крыс / Н.Г. Колосова, А.Ю. Гришанова, Ж.С. Крысанова и др. // Биомед. химия. – 2004.– Т.50, №1.– С. 73-78.

143. Toda H., Takahashi J., Iwakami N. Grafting neural stem cells improved the impaired spatial recognition in ischemic rats // Elsevier Ireland. – 2001.– №1. – P. 9-12.

144. Tsukahara Y. Antioxidant role of endogenous coenzyme Q against the ischemia and reperfusion-induced lipid peroxidation in fetal rat brain // Acta Obstet. Gynecol. Scand.– 1999.– Vol.78, №8.– P.669-674.

145. Коваленко Н.Я., Мациевский Д.Д. Изменения индивидуальной чувствительности систем кровообращения и дыхания крыс к постгеморрагической гипоксии после фармакологических воздействий на функциональное состояние головного мозга // Патол. физиол. и эксперим.

мед. – 2003. - №3. – С.12-14.

146. Индивидуальная чувствительность к ишемии мозга и негативное влияние эмоционального стресса на ее течение / И.В. Ганнушкина, Е.В. Коплик, И.Л. Конорова и др. // Бюл. эксперим. биол. и мед.- 2004.- Т.137, №2.- С.145-148.

147. Динамика восстановительного периода у крыс, перенесших тотальную ишемию головного мозга / В.В. Дрозд, В.А. Косолапов, О.В. Островский, А.А. Спасов // Бюлл.эксперим. биол. и мед. – 2000. – Т.130, № 10. – С. 475-477.

148. Коплик Е.В., Салиева Р.М., Горбунова А.В. Тест открытого поля как прогностический критерий устойчивости к эмоциональному стрессу у крыс линии Вистар // Журн. высш. нервн. деят-сти. – 1995. – Т.45, вып. 4. – С. 775-781.

149. Судаков К.В. Новые акценты классической концепции стресса // Бюл. эксперим. биол. и мед.– 1997.– Т. 123, №2.– С.124-130.

150. Скибо Г.Н. Использование различных экспериментальных моделей для изучения клеточных механизмов ишемического поражения мозга // Патология. – 2004. – Т.1, №1. – С. 22-30.

151. Семакс предупреждает повышение генерации оксида азота в мозге крыс, обусловленное неполной глобальной ишемией / О.Е. Фадюкова, А.А. Алексеев, В.Г. Башкатова и др.// Эксперим. и клин. фармакол. – 2001. – Т.64, №2. – С. 31-34.

152. Скибо Г.Н. Ишемическое поражение мозга и его фармакологическая коррекция // Запорожский мед. журн.-2005.-№3.- С.108.

153. Состояние процессов перекисного окисления липидов и церебральной оксигенации при локальной ишемии головного мозга в условиях модуляции L-аргинин-NO-системы / Н.И. Нечипуренко, И.П. Антонов, А.Р. Гаврилова, Н.Ю. Щербина // Весці НАН Беларусі. – 2001. - №2. – С. 5-9.

154. Влияние триметазида на метаболизм мозга при острой ишемии, осложненной гипоксией / А.В. Смирнов, И.В. Зарубина, Б.И. Криворучко,

О.П. Миронова //Бюл. эксперим. биол. и мед.– 2000.– Т.129, №2.– С. 142-144.

155. Беленичев І.Ф. Порівняльна оцінка антиоксидантної і протиішемичної активності тіотриазоліну і пірацетаму за умов експериментальної ішемії головного мозку // Одеський мед. журн. – 1999. - № 4 (54). – С. 28-31.

156. Деякі аспекти антиоксидантної та протиішемичної дії нового потенційного препарату "нітрокол" в умовах моделювання ішемічного і геморагічного пошкодження головного мозку / І.Ф. Беленичев, С.І. Коваленко, Н.В. Бухтіярова та ін. // Клін. фармація. – 2001. – Т.5, №2. – С. 68-72.

157. Плотников М.Б., Ваизова О.Е. Сравнительный анализ двух моделей хронической ишемии головного мозга у крыс // Патол.физиол. и эксперим. терапия. – 1994. – №1-4. – С. 59-60.

158. Внутрішньоклітинний кальцієвий гомеостаз сенсорних нейронів при гіпоксичних впливах / П.Г.Костюк, Р.І.Станіка, Л.М.Коваль, О.О.Лук'янець // Фізіол. журн. – 2003. – Т.49, 3№3. – С. 3-10.

159. Benavente O., Moher D., Pham B. Carotid endarterectomy for asymptomatic carotid stenosis: a meta-analysis // B.M.J.– 1998. – Vol.317.– P. 1477-1480.

160. Исмагилов М.Ф., Сайхунов М.В. Патология магистральных сосудов головы и частота некоторых факторов риска при различных формах нарушения мозгового кровообращения // Неврологический вестник. – 2004. – Т.XXXVI, Вып. 1-2. – С.5-7.

161. Залежність ступеню пошкодження нейронів гіпокампу від тривалості ішемії мозку та постішемічного періоду/ Г.Г. Скибо, Т.М. Коваленко, І.О. Осадченко, О.В. Гірник //Запорожский мед.журн.– 2002.– Т.13,№ 3.– С.21-22.

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

163. Сергутина А.В., Гернштейн Л.М. Морфохимические различия гиппокампа крыс, предрасположенных (Август) и устойчивых (Вистар) к

эмоциональному стрессу // Морфология. – 2004. – Т.125, № 2. – С. 15-18.

164. Нейропротекторное действие кверцетина при экспериментальной ишемии мозга / Т.Н. Коваленко, И.А. Осадченко, Е.Г. Сможаник и др. // Запорожский мед. журн.– 2005.-№3.– С.108.

165. Абрамец И.И., Комиссаров И.В. Глутаматергические механизмы ишемических повреждений мозга (обзор литературы и собственных исследований) // Журн. АМН України. – 2001. – Т.4, №4. – С. 613-633.

166. Структурно-функциональная организация нейронов коры большого мозга крыс с различной устойчивостью к эмоциональному стрессу при воздействии пептида, вызывающего дельта сон / Н.Н. Боголепов, Э.Н. Попова, Е.В. Коплик и др. // Морфология. – 2003. – Т.123, Вып.2. – С. 15-20.

167. Гернштейн Л.М., Сергутина А.В., Худоерков Р.М. Морфохимическая характеристика мозга крыс, генетически предрасположенных (Август) и устойчивых (Вистар) к эмоциональному стрессу // Нейрохимия. – 2000. – Т.17, №2. – С.135-139.

168. Гернштейн Л.М. Роль нейромедиаторов и белков в генетическо-функциональной организации мозга животных // Онтогенез. – 2001. – Т.32, №1. – С. 35-40.

169. Семченко В.В., Боголепов Н.Н., Степанов С.С. Синаптоархитектоника коры большого мозга (морфометрические аспекты // Омск: ИПК "Омиг", 1995. – 198 с.

170. Lipton P. Ischemic cell death in brain neurons // *Physiol. Rev.*– 1999. – Vol.79, №4. – P.1431-1568.

171. Sarnowska A. Application of organotypic hippocampal culture for study of selective neuronal death // *Fol. Neuropathol.*– 2002– Vol.40, №2.– P.101-106.

172. Лапша В.И., Бочарова В.Н., Гурин В.Н. Изменение активности НО-синтазы, ферментов энергетического обмена и ультраструктуры в нейронах коры большого мозга при моделировании кратковременной ишемии // Морфология.- 2003.- Т.123, №3.- С.32-35.

173. Castration increase [¹²⁵I]MK80 binding in the hippocampus of male rats / L. Kus, R.J.Handa, J.M.Hauiman, A.J. Bein // *Brain Res.* – 1995. – Vol. 683, № 2. – P. 270-274.
174. Лукьянова Л.Д. Молекулярные механизмы тканевой гипоксии и адаптация организма // *Фізіол. журн.* – 2003. – Т.49, №3. – С. 17-35.
175. Lee J., Zipfel G.I., Choi D.W. The changing landscape of ischemic brain injury mechanismus // *Nature.* – 1999. – Vol. 399, № 6738, Suppl. – P. A7-A14.
176. Phillis J .W. Effect of hyperglycemia on extracellular levels of amino acids and free fatty acids in the ischemic/reperfused rat cerebral cortex // *Brain Res.*– 1999.– Vol.837, №1-2.– P. 177-183.
177. Ozawa H. Delayed neuronal cell death in the rat hippocampus is mediated by the mitogen-activated protein kinase signal transduction pathway // *Neurosci. Lett.* – 1999. – Vol.262, №1. – P. 57-60.
178. Mattson M.P., Liu D. Energetics and oxidative stress in synaptic plasticity and neurodegenerative disorders // *Neuromolecular. Med.*– 2002.– Vol.2, №2.– P. 215-231.
179. Hicks C.A. Synergistic neuroprotective effects by combining an NMDA or AMPA receptor antagonist with nitric oxide synthase inhibitors in global cerebral ischaemia // *Eur. J. Pharmacol.*– 1999.– Vol.381, №2-3.– P.113-119.
180. Schurr A., Payne R.S., Miller J.J. Blockade of lactate transport exacerbates delayed neuronal damage in a rat model of cerebral ischemia // *Elsev. Netherlands.*– 2001.– №1-2. – P. 268-272.
181. Palkovits M. Isolated removal of hypothalamic or other brain nuclei of the rat // *Brain. Res.* – 1973. – Vol.59, №1. – P. 449-450.
182. Sherwood N.M., Timiras P.S. A stereotaxis atlas of the developing rat brain. – Berkely -Los Angeles – London: University of California Press, 1970. – 208 p.
183. Микроспектрофлуориметр с выводом информации на перфоратор / А.Ю. Буданцев, С.И. Жариков, Ш.И. Барилко и др. // *Цитология.*– 1978.- №4.– С.476-479.

184. Falck B., Owman C. A detailed description of the fluorescence method for the cellular localization of biogenic monoamine//Acta Univ.Lundensis. – 1965. – S.II. – P. 7-49.

185. Костюк В.А., Потапович А.И., Лунец Е.Ф. Спектрофотометрическое определение диеновых конъюгатов // Вопр. мед. химии.– 1984.– №4.– С. 125-127.

186. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.

187. Мещишен І.Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові // Бук. мед. вісник. – 1998. – Т. 2, №2. – С. 156-158.

188. Мещишен І.Ф., Польовий В.П. Механізм окислювальної модифікації білків // Бук.мед.вісник. – 1999. – Т.3, №1. – С. 196-205.

189. Protein measurment with Folin phenol reagent / O.H.Lowry, N.I.Rosenbrough, A.L.Parr, R.I.Randwall // J.Biol.Chem. – 1951. – Vol.193, №1. – P. 265-275.

190. Fried R. Enzymatic and non-enzymatic assay of superoxide dismutase // Biochemic.– 1975.– Vol. 57, №3.– P. 657-660.

191. Nashikimi N., Appajik R., Jagi K. The occurence of superoxide anion in the reaction of reduced phenasin methosulfate and molecular oxygen // Biochem. and Biophys. Res. Communs. – 1972. – Vol.46, №2. – P. 849-854.

192. Мещишен І.Ф. Механізм действия четвертичных аммониевых соединений (этония, тиония, додекония и их производных) на обмен веществ в норме и патологии: Автореф. дис... д-ра биол. наук: 03.00.04.– К., 1991.– 37 с.

193. Метод определения активности каталазы / М.А. Королук, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лабор. дело. – 1988.– №1. – С. 16-18.

194. Кухарчук О.Л. Патогенетична роль та методи корекції інтегративних порушень гормонально-месенджерних систем регуляції гомеостазу натрію

при патології нирок: Автореф. дис... д-ра мед. наук: 14.03.05. – Одеса, 1996. – 37 с.

195. Веремеенко К.Б., Голобородько О.П., Кизим А.А. Протеолиз в норме и патологии. – К.: Здоров'я, 1988. – 20 с.

196. Караченцев А.Н., Сергеев П.В. Вазоактивные эффекты половых гормонов // Пробл. эндокринологии. – 1997. – Т.43, №2. – С. 45-53.

197. Dehydroepiandrosterone sulphate prevents oxygen-glucose deprivation-induced injury in cerebellar granule cell culture / A. Kaasik, A. Kalda, K. Jaako, M. Zhar // Pergamon. – 2001. №2. – P.427-432.

198. Dehydroepiandrosterone (DHEA) reduces neuronal injury in a rat model of global cerebral ischemia / H. Li, G. M. Klein, P. Sun, A. Buchan // Elsev. Netherlands. - 2001.- №2. – P. 263-266.

199. Метелица В.И. Блокаторы рецепторов ангиотензина 11 // Тер. архив. – 1996. – Т.68, №8. – С. 64-67.

200. Дорошко В.А., Ткачук С.С., Злотар О.М. Вікові особливості впливу неповної глобальної ішемії мозку на вміст тестостерону та прогестерону в плазмі крові самців щурів // Клін. та експерим. патол. – 2004. – Т.III, №4. – С. 24-26.

201. Межполовые различия в эффектах эстрадиола на уровень моноаминов и их оборот в структурах мозга крыс Вистар / Ю.А. Андреева, К.О. Еремин, А.С. Кудрин и др. // Нейрохимия. – 2002.– Т.19, № 2. – С. 107-111.

202. Сапронов Н.С., Федотова Я.Ш., Байрамов А.А. Влияние дегидроэпиандростерона на условнорефлекторную деятельность и моноаминергический статус у овариэктомированных крыс-самок зрелого возраста // Мед. акад. журн.– 2003.– Т.3, №1.– С. 41-49.

203. Катехоламинергическая система мозга при ишемии / Т.Г. Гукасян, А.А. Петросян, М.Э. Ширинян, Э.А. Ширинян // Нейрохимия. – 2000. – Т.17, №1. – С. 13-22.

204. Дорошко В.А. Вплив статевих гормонів на інтенсивність флуоресценції моноамінів в окремих структурах мозку щурів //Клін. та

експерим. патол. – 2004. – Т.ІІІ, №2, Ч.1. – С.163-164.

205. Дорошко В.А., Мислицький В.Ф., Ткачук С.С. Роль статевих гормонів у постішемичній реакції катехоламінергічних систем окремих структур мозку щурів різних вікових груп //Клін. та експерим. патол. – 2005. – Т.ІУ, №2. – С. 294-31.

206. Дорошко В.А. Вікові особливості впливу статевих гормонів на стан моноамінергічних систем мозку // Тези 59-ї науково-практичної конференції студентів та молодих вчених Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця "Актуальні проблеми сучасної медицини". – Київ, 2005.– С. 121-122.

207. Аврова Н.Ф. Биохимические механизмы адаптации к изменяющимся условиям среды у позвоночных: роль липидов // Журн. эволюц. биохим. и физиол.– 1999.– Т.35, №3. – С. 170-180.

208. Болдырев А.А. Роль активных форм кислорода в жизнедеятельности нейрона //Успехи физиол. наук. – 2003. – Т.34, №3. – С.21-34., 2003

209. Cui Y. Ischemia-induced glutamate release in the dentate gyrus. A microdialysis study in the gerbil // Neurosci. Lett.- 1999.-Vol.271, №3.-P.191-194.

210. Дорошко В.А., Ткачук С.С. Роль статевих гормонів у постішемичній дизрегуляції прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в структурах мозку щурів різного віку// Таврический мед.-биол. вестник. – 2004. – Т.7, №4. – С. 52-56.

211. Дорошко В.А. Модифікація постішемичного рівня окиснювальної модифікації білків у структурах мозку щурів дефіцитом статевих гормонів та її вікові особливості// Бук. мед. вісник. –2004. – Т.8, № 3-4. – С. 273-276.

212. Дорошко В.А. Онтогенетичні особливості перебігу постішемичного періоду при гострій каротидній ішемії // Матеріали міжнародної конференції, присвяченої пам'яті проф. Шостаковської І.В. – Львів, 2002. – С. 58.

213. Дорошко В.А. Реорганізація проокисно-антиоксидантного гомеостазу як прояв відстрочених наслідків неповної глобальної ішемії головного мозку // Тези 58 наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених Національного

медичного університету ім. О.О.Богомольця з міжнародною участю "Актуальні проблеми сучасної медицини". – Київ, 2003. – С. 89.

214. Дорошко В.А. Чутливість деяких структур мозку до ішемічно-реперфузійного пошкодження в залежності від рівня статевих гормонів в організмі // Матер. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 200-річчю з дня заснування Харківського державного медичного університету "Від фундаментальних досліджень – до прогресу в медицині".– Харків, 2005.– С. 61.

215. Tabrizi P., Wang L., Seeds N. Tissue plasminogen activator (tPA) deficiency exacerbates cerebrovascular fibrin deposition and brain injury in a murine stroke model: Studies in tPA-deficient mice and wild-type mice on a matched genetic background // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vasc. Biol.* – 1999. – Vol. 19, № 11. – P. 2801-2806.

216. Шимків О.Д. Деякі біохімічні кореляти впливу емоксипіну на відстрочені наслідки неповної глобальної ішемії мозку //Клін. та експерим. патол. - 2003. – Т.2, № 2. – С.35-40.

217. The effect of specific hormones on fibrinolysis / С.М. Houlihan, R.A. Knuppel, A.M. Vintzileos et al. // *Amer.J. Obstetrics and Gynecol.* – 1996. – V.175, N1. – P. 168-172.

218. Levels of anti-inflammatory cytokines, tissue plasminogen activator and neurological worsening in ischemic stroke / N. Vila, J. Castillo, A. Davalos et al. // *Stroke.* – 2003. – Vol. 34, №4. – P. 632-636.

219. Дорошко В.А. Експериментальне обґрунтування ролі статевих гормонів у постішемічній реорганізації показників фібринолізу та протеолізу у структурах мозку щурів різного віку // *Наук. вісник Ужгородського ун-ту. Серія медицина.*– 2004.– Вип. 23.– С.14-18.

220. Дорошко В.А. Роль статевих гормонів у реалізації ішемічно-реперфузійних пошкоджень деяких структур мозку за показниками тканинного протеолізу та фібринолізу // *Матеріали УІІ міжнародної науково-практичної конференції, "Наука і освіта "2004".* – Т.54. – "Фізіологія людини

та тварин". – Дніпропетровськ:Наука і освіта, 2004. – С.24-25.

221. Панин Л.Е., Хощенко О., Усыпин И. Роль аполипопротеина А-1 в активации биосинтеза белка и ДНК под влиянием стероидных гормонов // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2001. – Т.131, № 1. – С. 63-65.

222. McEwen B.S. Steroid-hormone actions on the brain - when is the genome involved // Hormone Behav.- 1994.- Vol.28, №4.- P.396-405.

223. Панин Л.Е., Хощенко О., Усыпин И. Роль аполипопротеина А-1 в реализации анаболического действия стероидных гормонов // Пробл. эндокринолог. – 2002. – Т.48, №6. – С. 45-48.

224. Zwain I.H., Yen S.S.C. Neurosteroidogenesis in astrocytes, oligodendrocytes, and neurons of cerebral cortex of rat brain // Endocrinology.- 1999. – Vol.140, № 12. – P. 3843-3852.

225. Gonadal-steroid modulation of neuroendocrine transduction – a transsynaptic view / R. Alonsosolis, P. Abreu, I. Lopezcoviella et al. // Cell. Mol. Biol.– 1996.– Vol.16, №3.– P. 357-382.

226. Gonadal-steroid hormone receptors and sex differences in the hypothalamo-pituitary-adrenal axis / R.J. Handa, L.N. Burgess, J.E. Kerr, J.A. Okeefe // Horm. Behav. – 1994. – Vol. 28, № 4. – P. 464-476.

227. Матвієнко Ю.О. Особливості міжгормональних відношень глюкокортикоїдів і андрогенів при розсіяному склерозі // Мед. хімія.– 2000.– Т.2, №3. – С.65-67.

228. Vian V., Meaney M.J. The inhibitory effect of testosterone on hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress is mediated by the medial preoptic area // Neuroendocrinol. – 1996. – Vol. 10, №5. – P. 1866-1876.

229. Whitewelkley J. E., Bunnell B.N., Mougey E. H. Treadmill exercise training and estradiol differentially modulate hypothalamic-pituitary-adrenal cortical responses to acute running and immobilization // Physiol. Behav.– 1995.– Vol.57, №3.– P.533-540.

230. Kerr J.E., Beck S.G., Handra R. Androgens modulate glucocorticoid receptor messenger-RNA, but not mineralcorticoid receptor messenger- RNA

levels, in the rat hippocampus // J. Neuroendocrinol.– 1996.– Vol.8, №6.– P. 439-447.

231. Effects of corticosterone and testosterone on pituitary gonadotropin content, secretion, bioactivity and messenger-RNA levels in the presence or absence of GNRH in male rats / J.M. McAndrews, S.J. Ringstrom, K.D. Dahl et al. // Endocrinol.– 1995.– Vol.3, №1.– P.13-20.

232. Dai W.J., Lu L.-M., Yao T. Влияние стероидных половых гормонов на содержание мРНК вазопрессина в гипоталамусе самцов и самок крысы // Shengli xuebao. – 1996. – № 6.– С. 557-563

233. Vian V., Soriano L., Dallman M.F. Androgens alter corticotropin releasing hormone and arginine vasopressin mRNA within forebrain sites known to regulate activity in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis // Neuroendocrinol.– 2001. – Vol.13, № 5. – P. 442-452.

234. Frye C.A. The neurosteroid 3- α ,5- α -THP has antiseizure and possible neuroprotective effects in an animal model of epilepsy // Brain Res.– 1995.– №1-2.– P.113-120.

235. McEwen B.S. Stress and hippocampal plasticity // Ann. Rev. Neurosci.– 1999.– Vol.22.– P. 105-122.

236. McEwen B.S. Gonadal and adrenal-steroids regulate neurochemical and structural plasticity of the hippocampus via cellular mechanisms involving NMDA receptors // Cell. Mol. Biol.– 1996.– Vol. 16, №2.– P. 103-116.

237. Kukley M., Schaper C., Becker A. Effect of 5-hydroxytryptamine 1A receptor agonist BAY X 3702 on BCL-2 and BAX proteins level in the ipsilateral cerebral cortex of rats after transient focal ischaemia // Pergamon.– 2001.– №3.– P. 405-413.

238. Мыслицкий В.Ф. Роль моноаминергической системы в передаче влияний андрогенов на нейроны отдельных лимбических структур головного мозга крыс//Архив анат., гистол. и эмбриол.- 1989.- Т.46, №5.- С.23-25.

239. Гуньков С.В. Биогенные моноамины и рецепция половых стероидов в преоптико-гипоталамической области в постнатальном онтогенезе крыс в

норме и при нарушении половой дифференциации: Автореф. дис....к. мед. наук: 14.00.23.– Л., 1991.– 22с.

240. Avishaieliner S., Yi S.J., Baram T. Developmental profile of messenger-RNA for the corticotropin-releasing hormone-receptor in the rats limbic system // *Dev. Brain Res.*-1996.- Vol.91, №2.-P.159-163.

241. Akwa Y., Baulieu E. Neurosteroids: behavioral aspects and physiological implications // *J. Soc. Biol.*- 1999.- Vol.193, № 3.- P. 293-298.

242. Garsia de Yebenes E., Hong M., Pelletier G. Effects of dehydroepiandrosterone (DHEA) on pituitary prolactin and arcuate nucleus neuron tyrosine hydroxylase mRNA levels in the rat // *J. Neuroendocrinol.*– 1995. – Vol.7, № 8.– P.589-595.

243. DHEA-S selectively impairs contextual-fear conditioning: support for the antiglucocorticoid hypotesis / M. Fleshner, C.R. Pugh, D. Tremblay et al. // *Behav.Neurosci.*- 1997.- Vol.111, № 3.- P.512-517.

244. Du J., Hull E. M. Effects of testosterone on neuronal nitric oxide synthase and tyrosine hydroxylase // *Brain Res.*– 1999.– Vol.836, № 1-2.– P. 90-98.

245. Dehydro-epiandrosterone (DHEA) protects hippocampal cells from oxidative stress-induced damage / S. Bastianetto, C. Ramassamy, J. Poirier et al. // *Mol.Brain Res.*– 1999. – Vol.66, № 1-2. – P. 35-41.

246. Loria R.M., Corad D.H., Huff T. Androstenetriol and androstenediol. Protection against lethal radiation and restoration of immunity after radiation // *Neuroimmunomodulation: Perspectives at the new millennium.* – N.Y., 2000. – P. 860-867.

247. Androgen receptor-like immunoreactivity in the brazilian opossum brain and pituitary-distribution and effects of castration and testosterone replacement in the adult male / J. Iqbal, J.J. Swanson, G.S Prins, C. Jacobson // *Brain Res.*–1995.– Vol.703, №1-2.– P.1-18.

248. Distribution of occupied and unoccupied estrogen-receptors in the rat brain effects of physiological gonadal-steroid exposure / H. Yuan, D.A. Bowlbu, T.J. Brown et al. // *Endocrinology.*– 1995.– Vol.136, №1.– P.96-105.

249. Farooqui A.A. Lipid peroxides in the free radical pathophysiology of brain diseases // *Cell. Mol. Neurobiol.* – 1998. – Vol. 18, № 6. – P. 599-608.

250. Holtz M. L., Craddock S. D. Rapid expression of neuronal and inducible nitric oxide synthases during post-ischemic reperfusion in rat brain // *Elsev. Netherlands.*–2001.– №1.– P.49-60.

251. Гусев Е. И., Скворцова В. И. Нейропротективная терапия ишемического инсульта // *Нервные болезни.* – 2002. – №1. – С.3-7.

252. Lukacova N. Lipid peroxidation and phospholipid composition in rat brain regions after ischemia and in early perfusion periods // *Arch. Ital. Biol.* – 1998. – Vol. 136, № 3. – P. 167.

253. Зяблицев С.В. Патогенез порушень функціонування нейрогуморальних регуляторних систем у гострому періоді травматичної хвороби при черепно-мозковій травмі: Автореф. дис... д. мед. наук: 14.03.04.– Донецьк, 2004.– 40 с.

254. Адаптивные эффекты гипоксического прекодиционирования нейронов мозга / М.О. Самойлов, Е.В. Лазаревич, Д.Г. Семенов и др. // *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* – 2001. – Т. 87, № 6. – С. 714-728.

255. Watson B.D. Usual and unusual methods for detection of lipid peroxides as indicators of tissue injury in cerebral ischemia: what is appropriate and useful? // *Cell.Moll.Neurobiol.* – 1998. – Vol.18, №6. – P. 581-598.

256. Effect of ovariectomy and sex hormone replacement on glutathione and glutathione-related enzymes in rat / Z. Hambali, W.Z. Ngah, S.A. Wahid, K.A. Kadir // *Pathology.* – 1995.– №3.– P. 30-35.

257. Bertram E.H. Thalamic excitation of hippocampal CA1 neurons: A comparison with the effects of CA3 stimulation // *Neurosci.* – 1999.– Vol.92, №1.– P.15-26.

258. Cavaglia M., Dombrowski S.M., Draz M. Regional variation in brain capillary density and vascular response to ischemia // *Elsev. Netherlands.*- 2001.- №1-2.- P. 81-93.

259. Gottlieb M. Expression of nerve growth factor in astrocytes of the hippocampal CA1 area following transient forebrain ischemia // *Neurosci.* –

1999.– Vol.91, №3.– P.1027-1034.

260. Mc Gehee D.S. Nicotinic receptors and hippocampal synaptic plasticity it's all in the timing // Trends Neurosci.– 2002.– Vol.25, №4.– P.171-172.

261. Локальный мозговой кровоток, кортикальный импеданс, церебральное внутрисосудистое кининообразование при переднемозговой ишемии и реперфузии у крыс / В.Б. Семенютин, Ю.Н. Зубков, И.П. Ломова, В.С. Еремеев // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2000. – Т.86, №4. – С.410-421.

262. Bardgett M. E. Locomotor activity and accumbens Fos expression driven by ventral hippocampal stimulation require D1 and D2 receptors // Neurosci.– 1999.–Vol.94, №1.– P.59-70.

263. Yoshino H. Postischemic accumulation of lipid peroxidation products in the rat brain: immunophysicochemical detection of 4-hydroxy-2-nonenal modified proteins // Brain Res. – 1997. – Vol. 767, № 1. – P. 81-86.

264. Global brain ischemia and reperfusion / В.С. White, L.I. Grossman, В.Ј. O'Neil et al. // Ann. Emerg. Med. – 1996. – Vol.27, №5.– P. 588-594.

265. Резников А.Г. Половые гормоны и дифференциация мозга. К.: Наук. думка, 1982. - 252 с.

266. Чернышева М.П. Гормоны животных. Введение в физиологическую эндокринологию. – СПб.: "Глаголь", 1995. –296 с.

267. Zhaug L., Li B., Ma W. Dehydroepiandrosteron (DHEA) and its sulfated derivative (DHEAS) regulate apoptosis during neurogenesis by triggering the Akt signaling pathway in opposing ways // Mol. Brain Res.– 2002.– Vol.98, № 1-2. – P. 58-66.

268. Naghdi N., Nafisy N., Majlessi N. The effects of intrahippocampal testosterone and flutamide on spatial localization in the Morris water maze // Brain Res.– 2001.– Vol.897, № 1-2.– P. 44-51.

269. Poletti A., Martini L. Androgen-activating enzymes in the central nervous system // J. Steroid Biochem. Molec. Biol.– 1999. – Vol. 69. – P. 117-122.

270. Edmonds H. L. Jr, Jiang Y. D. Topiramate as a neuroprotectant in a rat

model of global ischemia-induced neurodegeneration // Elsev. USA.– 2001.– №19.– P. 2265-2277.

271. Гипоксическая вазоконстрикция в головном мозгу реализуется путем инактивации оксида азота супероксидными анионами / С.Ю. Жилиев, А.Н. Москвин, Т.Ф. Платонова и др. // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2002. – Т.88, №5. – С. 553-561.

272. Manganese superoxide dismutase mediates the early release of mitochondrial cytochrome C and subsequent DNA fragmentation after permanent focal cerebral ischemia in mice / M. Fujimura, Y. Morita-Fujimura, M Kawase et al. // J.Neurosci. – 1999. – Vol. 19, № 9. – P. 3414-3422.

273. Neuronal hyperexcitability induced by reperfused brief episodes of hypoxia in rat hippocampal slices: involvement of ionotropic glutamate receptors and L-type Ca^{2+} channels / O. Godukhin, A. Savin, S. Kalemenev et al. // Neuropharmacol.– 2002. – Vol.42. – P.459 - 466.

274. Ткачук С.С. Стрес-індуковані зміни окиснювальної модифікації білків в структурах мозку щурів // Бук. мед. вісник. – 1999. – Т. 3, №1. – С. 191-195.

275. Ткачук С.С., Пішак В.П., Мислицький В.Ф. Структурно-функціональна дезінтеграція стресреалізуючої та стреслімітуючої систем мозку як прояв модифікації гормон-медіаторного імпринтингу у самців щурів із синдромом пренатального стресу // Журн. АМН України. – 2003. – Т.9, № 1. – С. 130-140.

276. Haghghi A.Z., Malpes K. On the mechanisms of the inhibition of glutamine-synthetase and creatine-phosphokinase by methionine sulfoxide // J. Neurosci. Res. – 1996. – Vol.43, №1.– P. 107-111.

277. Prevention of hyperoxia-induced alterations in synaptosomal membrane-associated proteins by N-tert-butyl-alpha phenilnitron and 4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxyl (tempol) / B.J. Howard, S. Yatin, Hensley K. et al. // J. Neurochem. – 1996.– Vol.67, №5.– P. 2045-2050.

278. Facchinetti F., Dawson V.L., Dawson T.M. Free radicals as mediators of neuronal injury // Cell. Mol. Neurobiol. – 1998. – Vol. 18, № 6. – P. 667-682.

279. McDonald R.P. Mitochondrial DNA deletions in acute brain injury // NeuroReport. – 1999. – Vol.10, №9.– P.1875-1878.

280. Domanska-Janik K. Ischemia-induced modifications of protein components of rat brain postsynaptic densities // Neurochem. Internat. – 1999.–Vol.34, №4.– P.329-336.

281. Kamiya T., Katayama Y., Terachi A. Ischemic tolerance phenomenon from an approach of protein synthesis in gerbils // J.Cerebr. Blood Flow Metab. – 1997. – Vol. 17, №1. – P. 54-58.

282. Abe K., Aoki M., Kawagoe J. Ischemic delayed neuronal death. A mitochondrial hypothesis // Stroke. – 1995. – Vol.26, №8. – P. 1478-1489.

283. Stadtman E.R., Oliver C.N. Metal-catalyzed oxidation of protein // J. Biol. Chem.– 1991.– Vol. 266, №4.– P. 2005-2008.

284. Oxidative damage to brain proteins, loss of glutamine synthetase activity, and production of free radicals during ischemia / reperfusion induced injury to gerbil brain / C.N. Oliver, P.E. Starke Reed, E.R. Stadtman et al. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1998. – Vol.87.– P.5144-5147.

285. Tuor U.I., Delbigio M.R., Chumas P.D. Brain-damage due to cerebral hypoxia in the neonate-pathology and pharmacological modification // Cerebrovascular. and Brain Metabol. Rev. – 1996.–Vol.8, №2.– P.159-193.

286. Kelly S., McCulloch J., Horsburgh H. Minimal ischaemic neuronal damage and HSP70 expression in MF1 strain mice following bilateral common carotid artery occlusion // Elsev. Netherlands.– 2001.– №1-2. – P. 185-195.

287. Cerebral activation and distribution of inducible hsp110 and hsp70 mRNAs following focal ischemia in rat / H. Kim, P.W. Huh, C.-M. Kim, Y. Kim // J. Elsev. Ireland. – 2001. – №2.– P. 135-144.

288. The temporal profile of 72-kDa heat-shock protein expression following global ischemia / R.P. Simon, H.Cho, R. Cwiirn, D.H. Lowenstein // J. Neurosci. – 1991. – Vol. 11, №2. – P. 881-889.

289. Chen J., Simon R. Ischemic tolerance in the brain // Neurology. – 1997. – Vol. 48, № 2. – P. 306-311.

290. Vilarrojas C., Guzmangrenfeld A.M., Hicks J. Participarion of oxygen-free radicals in the oxide-reduction of proteins // Arch.Med.Res.– 1996.– Vol. 27, №1.– P. 1-6.

291. Long-term neuroprotective effect of inhibiting poly (ADP-ribose) polymerase in rats with middle cerebral artery occlusion using a behavioral assessment / Y. Ding, Y. Zhou, Q. Lai et al. // Elsev. Netherlands.– 2001.– №2.– P. 210-217.

292. Влияние гидроксибутирата натрия на активность карбоксипептидазы H и ангиотензинпревращающего фермента в различных отделах мозга крыс/А.Н. Вернигора, М.Т. Генгин, Н.В. Щетинина, Д.А. Спиридонов // Укр. биохим. журн. – 1999. – Т. 71, № 2. – С. 91-92.

293. Веремеенко К.Б. Белковые ингибиторы плазмы крови – регуляторы активности протеолитических ферментов // Системная энзимотерапия. Теоретические основы, опыт клинического применения. – Киев: МОРИОН, 2000. – С. 21-53.

294. Kimura Y., Saya H., Nakao M. Calpain-dependent proteolysis of NF2 protein: involvement in schwannomas and meningiomas // Neuropathol. – 2000.– Vol.20, №3. – P. 153-160.

295. Салдаев Д.А. Активность основных карбоксипептидаз в тканях мышей при введении тестостерона и прогестерона: Автореф дис.... канд. биол. наук: 03.00.04. – СПб, 2001. – 17 с..

296. Метаболизм энкефалинов при различных функциональных и патологических состояниях организма / Л.Ф. Панченко, Н.В. Митюшина, Н.В. Фирстова, М.Т. Генгин // Вопр. мед. химии. – 1999.– Т.45, Вып. 4. – С. 277-288.

297. Ашмарин И.П. Регуляторные пептиды сильного и быстрого действия // Патол. физиол. и эксперим. терапия.– 1998.– №3.– С. 3-8.

298. Влияние гипофизэктомии на показатели иммунитета, эритропоэза, свертывания крови и фибринолиза у цыплят и старых кур / Б.И. Кузник, А.В. Патеюк, Ю.Б. Данилишин и др. // Мед. иммунол. – 2004. – Т.6, №3-5. –

С. 235-236.

299. Влияние неонатальной гипофизэктомии и пептидов гипофиза на морфологическую структуру вилочковой железы и сумки Фабрициуса у птиц /А.В. Патеюк, Б.И. Кузник, М.А. Джулай, Л.М. Баранчугова // Мед. иммунол. –2004.– Т.6, №3-5.– С.244.

300. Патеюк А.В., Кузник Б.И. Сравнительное действие тималина и бурсилина на иммунитет и гемостаз у неонатально гипофизэктомированных цыплят // Иммунол. – 2003.– Т.24, №4-5. – С. 216-218.