

Міністерство охорони здоров'я України
Буковинський державний медичний університет

На правах рукопису

Тимофійчук Інга Романівна

УДК 612.826.4+ 616.45–001.1/.3]:599.323.4

**ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ІШЕМІЧНО-РЕПЕРФУЗІЙНОЇ
РЕОРГАНІЗАЦІЇ КАТЕХОЛАМІНЕРГІЧНИХ СИСТЕМ ЛІМБІКО-
ГІПОТАЛАМІЧНИХ СТРУКТУР МОЗКУ ТА СТРЕС-
РЕАКТИВНОСТІ В САМЦІВ ЩУРІВ**

14.03.04 – патологічна фізіологія

Дисертація

на здобуття наукового ступеня

кандидата медичних наук

Науковий керівник

Пішак Василь Павлович

доктор медичних наук, професор,

член-кореспондент АПН України

Чернівці - 2006

ЗМІСТ

| | |
|---|----|
| ВСТУП..... | 5 |
| Розділ 1. ПАТОБІОХІМІЧНІ ТА СТРУКТУРНІ КОРЕЛЯЦІЇ ІШЕМІЧНО-РЕПЕРФУЗІЙНОГО ПОШКОДЖЕННЯ МОЗКУ І РОЗВИТКУ СТРЕС-РЕАКЦІЇ (огляд літератури)..... | 12 |
| 1.1. Патобіохімічна реорганізація мозку за умов ішемічно- реперфузійних пошкоджень..... | 12 |
| 1.2. Структурно-функціональні основи стрес-реактивності..... | 25 |
| 1.3. Ішемічна та стресорна реорганізація катехоламінергічних систем мозку..... | 30 |
| Розділ 2. МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ..... | 35 |
| 2.1. Обґрунтування критеріїв вибору віку та статі експериментальних тварин..... | 35 |
| 2.2. Формування експериментальних груп..... | 37 |
| 2.3. Обґрунтування моделі ішемічного пошкодження мозку..... | 37 |
| 2.4. Обґрунтування вибору структур для дослідження..... | 40 |
| 2.5. Характеристика досліджуваного препарату, обґрунтування доз та способу введення..... | 40 |
| 2.6. Евтаназія тварин, спосіб забору та зберігання досліджуваного матеріалу..... | 41 |
| 2.7. Критерії оцінки стрес-реактивності..... | 42 |
| 2.8. Імуноферментні дослідження..... | 42 |
| 2.9. Гістохімічне визначення моноамінів..... | 42 |
| 2.10. Біохімічні дослідження..... | 43 |
| 2.11. Математична обробка результатів досліджень..... | 44 |
| Розділ 3. ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ РЕАКЦІЇ КОРТИЗОЛУ, ПРОЛАКТИНУ ТИРОКСИНУ ТА ТРИЙОДТИРОНІНУ НА НЕПОВНУ ГЛОБАЛЬНУ ІШЕМІЮ МОЗКУ..... | 46 |

| | |
|---|-----|
| Розділ 4. ПОСТІШЕМИЧНА РЕОРГАНІЗАЦІЯ КАТЕХОЛАМІН-ЕРГІЧНИХ СИСТЕМ ЛІМБІКО-ГІПОТАЛАМІЧНИХ СТРУКТУР МОЗКУ В ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ | 49 |
| Розділ 5. СТАН ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ І АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ЛІМБІКО-ГІПОТАЛАМІЧНИХ СТРУКТУРАХ МОЗКУ ЩУРІВ З ВІДСТРОЧЕНИМИ НАСЛІДКАМИ НЕПОВНОЇ ГЛОБАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ..... | 57 |
| 5.1. Вікові та структурні особливості вільнорадикального окиснення ліпідів та активності ферментів антиоксидантного захисту в лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку щурів після неповної глобальної ішемії..... | 58 |
| 5.2. Вікові та структурні особливості окиснювальної модифікації білків у в лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку щурів після неповної глобальної ішемії..... | 63 |
| Розділ 6. ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ НЕПОВНОЇ ГЛОБАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ МОЗКУ НА СТАН ТКАНИННОГО ПРОТЕОЛІЗУ ТА ФІБРИНОЛІЗУ В ЛІМБІКО-ГІПОТАЛАМІЧНИХ СТРУКТУРАХ МОЗКУ | 70 |
| Розділ 7. ВПЛИВ ЕМОКСИПІНУ НА ДЕЯКІ НЕЙРОХІМІЧ ТА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ СТРЕС-РЕАКТИВНОСТІ ПРИ НЕПОВНІЙ ГЛОБАЛЬНІЙ ІШЕМІЇ МОЗКУ..... | 81 |
| Розділ 8. АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ..... | 110 |
| ВИСНОВКИ..... | 143 |
| РЕКОМЕНДАЦІЇ ЩОДО НАУКОВОГО І ПРАКТИЧНОГО ВИКОРИСТАННЯ ЗДОБУТИХ РЕЗУЛЬТАТІВ..... | 146 |
| СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ..... | 147 |
| ДОДАТКИ..... | 181 |

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

| | |
|------|---|
| АФК | активні форми кисню |
| БТШ | білки теплового шоку |
| ГАМК | гамма-аміномасляна кислота |
| ГГНС | гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникова система |
| ДА | дофамін |
| КРФ | кортиколіберин |
| МБГ | медіобазальний гіпоталамус |
| МК | мигдалеподібний комплекс ядер |
| НА | норадреналін |
| ПМ | перегородка мозку |
| ПОД | преоптична ділянка |
| ПОЛ | пероксидне окиснення ліпідів |
| СТ | серотонін |
| цАМФ | аденозин-3':5'-циклофосфат (циклічний АМФ) |
| цГМФ | гуанозин-3':5'-циклофосфат (циклічний ГМФ) |
| NO | оксид азоту (II) |
| iNOS | індуцибельна синтаза оксиду азоту |
| eNOS | ендотеліальна синтаза оксиду азоту |
| nNOS | нейрональна синтаза оксиду азоту |

ВСТУП

Актуальність теми. Проблема гострої та хронічної ішемії мозку має надзвичайно важливу медичну і соціальну значимість. Ріст розповсюдженості судинних захворювань, зафіксований протягом останніх років, зумовив збільшення частоти гострих порушень мозкового кровообігу [1,2]. У більшості країн, у тому числі й в Україні, інсульт займає 2-3-тє місце в структурі загальної смертності населення та стає основною причиною інвалідизації і соціальної дезадаптації, що робить цю патологію багато в чому визначальною щодо рівня здоров'я і тривалості життя [3,4, 5].

Згідно сучасних поглядів ішемічні інсульти розглядають як комплекс взаємозв'язаних багатокomпонентних метаболічних, гемодинамічних змін, які послідовно розгортаються в мозку на певних стадіях недостатності його кровопостачання [6, 7].

Окрім численних електрофізіологічних, морфологічних, біохімічних порушень у тканині мозку, церебральна ішемія супроводжується нейрогормональною відповіддю, яка є компонентом реакції єдиної нейроімуноендокринної системи [8, 9].

Гормони є еволюційно найбільш древніми та універсальними регуляторами диференціації нервових клітин, тому зміни гормонального балансу, біосинтезу, секреції та метаболізму гормонів є неодмінною складовою реакції організму на чинники зовнішнього та внутрішнього середовища [10, 11, 12]. Саме реакція компонентів системи стрес-реалізації та стрес-обмеження забезпечує метаболічну основу компенсаторно-приспосувальних змін, від яких багато в чому залежить перебіг ішемічно-реперфузійних пошкоджень нервової тканини [9, 13,14,]. Вираженість стресорних нейрогормональних перебудов відображає тяжкість ішемії, впливає на перебіг патологічного процесу та має прогностичне значення [15, 16]. Однак традиційно склалося так, що питання порушення стрес-

реактивності за умов ішемії мозку тривалий час вважалося другорядним, а тому маловивченим. Вікові ж аспекти стрес-реактивності при ішемії та їх корекція взагалі залишилися поза увагою науковців, що свідчить про необхідність та актуальність подібних досліджень.

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 межах даної теми автором досліджено стан системи стрес-реалізації та стрес-обмеження при ішемічно-реперфузійних пошкодженнях мозку. Тема дисертації затверджена Проблемною комісією "Фізіологія людини" 14 травня 2003 року (протокол № 47).

Мета дослідження. З'ясувати вікові особливості реакції катехоламінергічних систем лімбіко-гіпоталамічних структур мозку та деяких інших компонентів стрес-реалізуючої і стрес-лімітуючої систем організму щурів при ішемічно-реперфузійних пошкодженнях мозку.

Задачі дослідження:

1. Проаналізувати реакцію гормональних показників стрес-реактивності на гостру каротидну ішемію в одно- та тримісячних щурів.
2. Оцінити реакцію катехоламінергічних систем деяких структур лімбіко-гіпоталамічного комплексу в самців щурів різних вікових груп на двобічну каротидну ішемію.

3. Зіставити вираженість оксидативного стресу (окиснювальної модифікації білків, пероксидного окиснення ліпідів) та стан антиоксидантного захисту в структурах лімбіко-гіпоталамічного комплексу самців щурів різних вікових груп за умов каротидної ішемії.

4. З'ясувати реакцію тканинної протео- та фібринолітичної активності в структурах лімбіко-гіпоталамічного комплексу мозку самців щурів різних вікових груп на двобічну каротидну ішемію.

5. Встановити механізми впливу емоксипіну на показники стрес-реактивності за реакцією катехоламінергічних систем лімбіко-гіпоталамічних структур мозку, показників вільнорадикального окиснення ліпідів та білків, активності антиоксидантних ферментів, протеолітичної та фібринолітичної активності.

Об'єкт дослідження: ішемічно-реперфузійна модифікація стрес-реактивності.

Предмет дослідження: ішемічно-реперфузійна реорганізація катехоламінергічних систем лімбіко-гіпоталамічних структур мозку та показників стрес-реактивності в самців щурів різного віку.

Методи дослідження:

- імуноферментні (визначення вмісту кортизолу, пролактину, трийодтироніну, тетрайодтироніну в плазмі крові);

- біохімічні (визначення показників вільнорадикального окиснення ліпідів, білків 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 показано, що в одномісячних та тримісячних щурів за умов неповної глобальної ішемії

мозку гормональна стресорна відповідь у пізньому постішемичному періоді докорінно відрізняється. Отримані результати свідчать про збереження в цей період високої стрес-реактивності в одномісячних щурів та виснаження її у тримісячних.

Виявлена наявність вікових особливостей у реагуванні на ішемічно-реперфузійне пошкодження катехоламінергічних систем лімбіко-гіпоталамічних структур мозку, які полягають у більш значному постішемичному зниженні інтенсивності флуоресценції катехоламінів майже в усіх досліджених відділах мозку тримісячних щурів.

Показано, що конститутивні показники функціонального стану прооксидантно-антиоксидантної системи вищі в тримісячних щурів. Ішемія також спричиняє більш вагомі порушення показників ліпопероксидації та антиоксидантного захисту у тварин старшої вікової групи, що свідчить про взаємозв'язок конститутивних та індукційних параметрів функціонування даної системи. Особливо значні постішемичні порушення в тримісячних щурів виявлено стосовно активності антиоксидантних ферментів.

Вперше встановлено, що більш обширні зміни окиснювальної модифікації білків та фібринолітичної активності, спричинені ішемією, також притаманні тримісячним щурам, а порушення протеолітичної активності майже однаковою мірою виражені в лімбіко-гіпоталамічних структурах тварин обох вікових груп.

Вперше продемонстрована залежність впливу емоксипіну на патогенетичні ланки ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку від віку тварин. Виявлено, що за впливом на катехоламінергічні системи лімбіко-гіпоталамічних структур мозку, активність антиоксидантних ферментів препарат має вищий нейропротекторний ефект в одномісячних щурів. У тварин даної групи препарат має здатність підвищувати активність антиоксидантних ферментів, у той час як у тримісячних щурів він може навіть посилювати ефекти ішемії. Разом із

тим, на постішемичні зміни окиснювальної модифікації білків препарат має більш виражений позитивний вплив у структурах головного мозку тримісячних щурів, що свідчить про меншу залежність окиснювальних змін білків від активності антиоксидантних ферментів у порівнянні з ліпідами.

Встановлено, що незалежно від вираженості та поширеності постішемичних змін фібрино- й протеолітичної активності емоксипін має більш обширні та значні впливи у тварин молодшої вікової групи.

Показано, що стрес-реактивність за умов ішемії мозку в одномісячних щурів остаточно не сформована і зазнає вікової еволюції.

Практичне значення одержаних результатів. Робота належить до фундаментальних досліджень. Результати досліджень розкривають нові церебральні і гуморальні механізми активації та пригнічення системи стрес-реалізації та стрес-обмеження при ішемічно-реперфузійних пошкодженнях мозку, їх вікові та структурні особливості. Отримані дані щодо нейрохімічних та біохімічних корелятивів ефективності емоксипіну в лімбіко-гіпоталамічних структурах розширюють уяву про центральні механізми дії препарату та обґрунтовують ступінь його ефективності у тварин різних вікових груп.

Результати роботи можуть бути використані в навчальному процесі при викладанні нормальної та патологічної фізіології, фармакології, нервових та дитячих хвороб, медичної хімії, ендокринології, у роботі науково-дослідних лабораторій із 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 підібрана та проаналізована література за темою дисертації, здійснено всі експериментальні втручання, статистичну обробку отриманих результатів, написано всі розділи дисертаційної роботи та публікації. 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 матеріалів 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), 85-й, 86-й підсумкових конференціях

професорсько-викладацького складу Буковинської державної медичної академії (2004, 2005 рр).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 12 наукових праць, із них 8 – у фахових наукових журналах, 4 – у матеріалах і тезах конференцій.

РОЗДІЛ 1

ПАТОБІОХІМІЧНІ ТА СТРУКТУРНІ КОРЕЛЯТИ ІШЕМІЧНО-РЕПЕРФУЗІЙНОГО ПОШКОДЖЕННЯ МОЗКУ І РОЗВИТКУ СТРЕС-РЕАКЦІЇ (огляд літератури)

1.1. Патобіохімічна реорганізація мозку за умов ішемічно-реперфузійних пошкоджень

Пошкодження тканини мозку, викликане ішемією, є наслідком низки взаємозв'язаних процесів, які з певною послідовністю розгортаються в часі та просторі [17, 18]. У зв'язку з цим за умов ішемії розрізняють ранні і відстрочені пошкодження нейронів.

Ранні пошкодження, які розвиваються через 5-30 хв після початку ішемізації мозку, опосередковані гострим набряком клітин, нетривалою активацією NMDA–рецепторів і потенціалзалежних кальцієвих каналів, що призводить до підвищення внутрішньонейрональної концентрації Ca^{2+} і некротичної загибелі нейронів, у першу чергу інтернейронів [19, 20, 21]. Крім того, активуються кальційзалежні протеази - кальпаїни, які зв'язані з мембранами і асоційовані з інгібіторними білками кальпостатинами. Кальпаїни викликають протеоліз елементів цитоскелета, інтегральних білків-рецепторів, транслоказ [22, 23].

Відстрочені аноксичні пошкодження індукуються утворенням в постсинаптичних нейронах трансинаптичних посередників - арахідонової кислоти і NO, які діючи на пресинаптичні закінчення, викликають довготривале посилення вивільнення і підвищення позаклітинної концентрації збуджувальних амінокислот [24, 25]. Останні, активуючи модифіковані постсинаптичні NMDA–рецептори, підвищують внутрішньонейрональну концентрацію Ca^{2+} і викликають апоптичну загибель нейронів [26].

Наслідки церебральної ішемії, вираженість її пошкоджувальної дії визначається насамперед ступенем зниження мозкового кровотоку. Аналіз динаміки розгортання молекулярних і біохімічних механізмів, які запускаються гострою ішемією мозку, показав чітку послідовність їх включення. Упродовж перших трьох годин з моменту гострого порушення кровообігу в ішемізованій тканині максимально представлений енергетичний дефіцит, через 3-6 годин – глутаматна екситотоксичність, порушення кальцієвого гомеостазу і лактат-ацидоз, які згасають до кінця першої доби [27, 28]. Відстрочені наслідки ішемії починають проявлятися через дві-три години і завершуються апоптозом [26, 29].

Експериментально встановлено алгоритм метаболічних реакцій тканини мозку на зниження мозкового кровотоку [18, 19]. При зниженні рівня кровотоку до 70-80% (менше 50-100 мл/100г·1хв - перший критичний рівень) виникає початкова реакція у вигляді гальмування білкового синтезу. Подальше зниження кровотоку до 50% від нормальної величини (до 35 мл/100г·хв - другий критичний рівень) супроводжується активацією анаеробного гліколізу, збільшенням концентрації лактату, розвитком лактат-ацидозу і тканинного цитотоксичного набряку. Наростаюча ішемія (зниження кровотоку до 20 мл/100г·1хв - третій критичний рівень) призводить до зниження утворення аденозинтрифосфату (АТФ), формування енергетичної недостатності і, як наслідок, до дестабілізації клітинних мембран та надлишкового викиду збуджувальних аміноацидергічних нейротрансмітерів. Коли мозковий кровотік знижується до 20% від нормальної величини (10-15 мл/100г·хв) нейрони починають втрачати іонні градієнти і розвивається аноксична деполаризація мембран, яка є основним критерієм необоротного ураження клітин [18, 19, 30]. При фокальній ішемії ушкодження ділянки мозку проявляється вибірковою загибеллю популяції найбільш чутливих нейронів і утворенням зони інфаркту, обсяг якої залежить від тривалості та ступеня оклюзії судин і можливості колатерального кровообігу [31].

Аналіз часової динаміки розвитку глутамат-кальцієвого каскаду дозволив виділити три етапи: індукцію (запуск), ампліфікацію (підсилення) та експресію, яка безпосередньо призводить до загибелі клітин [17, 19]. Зниження вмісту АТФ в ішемізованій зоні і компенсаторна активація анаеробного гліколізу у відповідь на гіпоксію викликають підвищення рівня неорганічного фосфату, підсилене утворення лактату і іонів H^+ , що зумовлює формування метаболічного ацидозу. Поряд із цим розщеплення нейрональної АТФ призводить до „знеструмлення” Na^+/K^+ -АТФ-азної ферментної системи, яка керує енергозалежним іонним транспортом [32, 33]. Порушення активного іонного транспорту зумовлює пасивний відтік іонів K^+ з клітини та притік до неї іонів Ca^{2+} , що призводить до деполаризації клітинних мембран. Крім того, іони водню можуть конкурувати з іонами кальцію за одні й ті ж місця зв'язування, накопичення кислих валентностей в клітині призводить до значного вивільнення іонів кальцію з органел [34]. Внутрішньоклітинне накопичення іонів Ca^{2+} при мозковій ішемії створює перенавантаження мітохондрій із розмежуванням окиснювального фосфорилування й підсиленням катаболічних процесів [35, 36]. Це супроводжується переходом іонів Ca^{2+} в активну форму шляхом з'єднання з внутрішньоклітинним рецептором кальмодуліном, що веде до активації кальмодулін-залежних протеїнкіназ, ліпаз і ендонуклеаз, фрагментації ДНК і загибелі клітини [37]. Таким чином, уже на самих початкових етапах патобіохімічного каскаду, запущеного дефіцитом макроергів, розпочинається процес внутрішньоклітинного накопичення Ca^{2+} , який є одним із ключових механізмів деструктивних процесів, що лежать в основі некротичної загибелі нейронів [38].

Глутамат-кальцієвий каскад приводиться в дію надлишковим вивільненням збуджувальних нейротрансмітерів глутамату і аспартату із закінчень ішемізованих нейронів у міжклітинний простір [17]. Викид нейротрансмітерних амінокислот спостерігається упродовж 10-30 хв з

початку гострої ішемії внаслідок порушень активного іонного транспорту й деполяризації пресинаптичної мембрани [20].

Роль надлишкового вивільнення глутамату і аспартату в патогенезі ішемічного інсульту була підтверджена в клінічних роботах, які показали достовірне збільшення концентрації збуджувальних нейротрансмітерів у спинномозковій рідині хворих на гострий ішемічний інсульт (у перші 6-12 годин), ступінь якого корелює з тяжкістю інсульту і розміром інфаркту до кінця першої доби [22].

Етап ампліфікації пов'язаний із наростанням концентрації іонів кальцію, що в поєднанні з підвищенням вмісту діацилгліцеролу змінює активність ферментів, модифікує мембранні білки, в тому числі й глутаматні рецептори [39]. Внаслідок цього збільшується чутливість нейронів до збуджувальних сигналів. Таким чином, замикається порочне коло: підвищена збудливість сприяє подальшому накопиченню кальцію. Особливо важливим пошкоджувальним наслідком надмірного навантаження нейронів кальцієм, зумовленим екситотоксичною активацією глутаматних рецепторів, є формування реактивних кисневих сполук (кисневих вільних радикалів) [21]. Основним джерелом утворення O_2^- і H_2O_2 є ферментні системи: НАДФН-оксидаза, ксантин-оксидаза, мітохондріальна цитохром-с-оксидаза і мікросомальні монооксигенази, система цитохрому P-4500 [40-43]. Утворення OH^- у біологічних системах відбувається в ході реакції Фентона за участі металів змінної валентності, головним чином Fe^{2+} . Синглетний кисень утворюється як супутний метаболіт у багатьох ферментативних реакціях за участі супероксиддисмутази, каталази, пероксидаз [44, 45]. Особлива небезпека розвитку оксидативного стресу в центральній нервовій системі визначається значною інтенсивністю окиснювального метаболізму в мозку [46].

Крім дихального мітохондріального ланцюга в нормі утворення вільнорадикальних інтермедіатів O_2 відбувається в ЦНС при різних

ферментативних реакціях, автоокисненні моноамінів, синтезі простагландинів і лейкотрієнів [47-49]. Більшість цих реакцій є Ca^{2+} -залежними. Будь-яке збільшення вмісту внутрішньоклітинного кальцію може призводити до утворення інтермедіатів кисню. На даний час у патогенезі ішемії-реперфузії провідна роль генератора інтермедіатів O_2 належить утворенню ксантиноксидази з ксантиндегідрогенази під дією Ca^{2+} -залежного кальпіну-1 [44, 50]. Накопичення ксантину та інших продуктів пуринового обміну в результаті інтенсифікації катаболізму АТФ є основою для реалізації дії ксантиноксидази. При реперфузії і надходженні O_2 в ішемізовану тканину відбувається окиснення ксантину і накопичення великої кількості супероксидного аніону. Крім цього механізму, який веде до розвитку оксидативного стресу, велику роль відіграє утворення продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і в результаті накопичення арахідонової кислоти, синтез простагландинів і лейкотриєнів [24]. Інтермедіати O_2 і продукти ПОЛ здатні блокувати низку ферментних систем, а саме глутаматсинтетазу в астроглії, тим самим порушуючи утилізацію глутамату, що сприяє накопиченню його в синаптичній щілині [22, 51].

Особливо руйнівним є розпад фосфоліпідів зовнішньої клітинної мембрани й мембран внутрішньоклітинних органел. Одним із продуктів деградації фосфоліпідів є арахідонова кислота, метаболізм якої значно інтенсифікує процеси вільнорадикального окиснення й пероксидного окиснення ліпідів [52]. Роль арахідонатів у патогенезі ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку вивчали у досліджах на монгольських піщанках після 5-хвилинної ішемії, викликаній перетисканням сонних артерій із подальшим відновленням мозкового кровотоку. Із початком рециркуляції мозку тваринам внутрішньовенно вводили H^3 -мічену арахідонову кислоту з подальшим біохімічним або кількісним радіоавтографічним аналізом мозку (різні ділянки неокортекса, гіпокамп, ядра таламуса, гіпоталамуса, лімбічні утворення, вестибулярні ядра).

Аналіз включення жирних кислот в фосфоліпиди мозку з визначенням концентрації неміченого ацил-КоА показав, що реперфузія мозку після 5-хвилинної його ішемії супроводжується трикратним підсиленням повторного включення неміченої арахідонової кислоти, яка вивільняється під час ішемії [53].

Незалежно від виду гіпоксії в основі характерних для неї порушень лежить неспроможність основної енергопродукувальної системи – процесів мітохондріального окиснювального фосфорилування – до продукції АТФ [54].

Енергетичний метаболізм в структурах головного мозку порушується ішемією та поглиблюється реперфузією. У щанок при двосторонній оклюзії сонних артерій з подальшою реперфузією зростала активність піруватдегідрогенази, знижувався вміст АТФ, у 7-8 разів зростала кількість лактату [55].

Дефіцит енергії, в свою чергу, активує вільнорадикальне окиснення в клітині. За умов відсутності кисню, як акцептора електронів, компоненти клітини стають більш відновленими й можуть передавати електрони прямо на кисень або на низькомолекулярні посередники, які ініціюють вільнорадикальні процеси. Внаслідок високої реакційної здатності вільних радикалів багато компонентів клітини - нуклеїнові кислоти, структурні білки, білки-ферменти, ліпіди - стають мішенями хімічних пошкоджень [56].

Процеси пошкодження білків і нуклеїнових кислот за умов дії активних форм кисню можуть проходити паралельно з окиснювальним пошкодженням мембранних ліпідів [57]. У процес окиснювальної модифікації білків залучаються різні амінокислотні радикали. Окиснення білків може призводити до порушення або модифікації їх функцій. Так, вплив АФК на активність Na^+/K^+ АТФ-ази викликає втрату чутливості фермента до регулювальної дії АТФ, окиснювальна атака SH-групи НМДА-рецепторів призводить до пригнічення їх функції [58], що

віддзеркалює контроль за екситотоксичними ефектами глутамата з боку АФК. Крім цистеїну в білкових молекулах легко окиснюються залишки лізину, тирозину і карбоксильні групи дикарбонових амінокислот. У процесі різноманітних пошкоджувальних реакцій накопичуються орто- і мета-тирозин, метіонінсульфоксид, а також різноманітні карбонільні похідні білків [59]. Білки легко взаємодіють з цукрами, що призводить до накопичення глікозильованих продуктів. У результаті утворюються шифові основи. Разом із продуктами пероксидного окиснення ліпідів вони накопичуються в ліпофусцинових гранулах нейронів. Радикальна атака нуклеїнових основ в ДНК і РНК призводить до гідроксилювання їх азотистих основ і порушує регулярну упаковку подвійної спіралі ДНК і функцій РНК [60, 61].

Важливою особливістю нейронів є те, що АФК безпосередньо беруть участь у процесі збудження. У глутаматергічних структурах мозку є два типи глутаматних рецепторів - іонотропні й метаботропні [7, 62], які різняться як за локалізацією (перші переважно - на постсинаптичній мембрані, а другі, як на пост-, так і на пресинаптичній мембранах нейронів), так і за функціональним значенням. Іонотропні рецептори зв'язані з відповідними іонними каналами, активація яких забезпечує електричну активність нейронів, тоді як метаботропні канали модифікують клітинний метаболізм завдяки утворенню в активованому нейроні вторинних месенджерів через G-білки, з якими вони зв'язані [19, 20].

Активація NMDA-рецепторів на постсинаптичній мембрані глутаматергічного синапсу активними формами кисню призводить до відкриття каналів, проникних для іонів натрію і кальцію. Наслідком активації цих рецепторів є посилення внутрішньоклітинної продукції різних АФК [7] - головним чином супероксиданіону і гідроксид-радикалу, а також Ca^{2+} -залежна активація *NO*-синтази [КФ 1.14.13.39], яка призводить до утворення *NO*-радикала [63, 64]. При дефіциті аргініну *NO*-синтаза може утворювати супероксид-аніон [65]. За умов незбалансованого

накопичення супероксиданіону і NO можливе утворення пероксинітриду, який здатний викликати суттєве пошкодження клітинних структур [66]. Таким чином, надлишкове вивільнення збуджувального медіатора в синаптичну щілину може призводити до токсичних впливів, тому глутамат і відносять до екситотоксичних медіаторів.

Прийнято вважати, що NO володіє високою токсичністю, однак у фізіологічних концентраціях, які постійно існують в умовах нормального функціонування мозку, не спостерігається будь-яких проявів його нейротоксичності. Високий дифузійний коефіцієнт NO , який в 1,4 раза вищий, ніж у кисню, визначає його здатність розповсюджуватися в тканини мозку на відносно значні відстані. При цьому біологічні мембрани не тільки не перешкоджають дифузії NO в тканини, а, навпаки, прискорюють її [65, 66]. Як вільний радикал з одним неспареним електроном, NO здатен реагувати з більшістю біологічних молекул, однак його окиснювальний потенціал відносно нижчий, ніж в інших вільних радикалів. За умов ішемічної патології при значному збільшенні продукції NO його цитотоксичність визначається переважно здатністю перетворюватися в нові вторинні оксиданти. Взаємодія NO з вільним киснем веде до утворення високотоксичного двоокису азоту NO_2 , однак ця реакція перебігає повільно й при низьких концентраціях NO не відіграє суттєвої ролі в пошкодженні клітин. Основний цитотоксичний фактор пероксинітриду ($O=N-O-O-H$) утворюється в результаті взаємодії NO з супероксид-аніон-радикалом [67]. Як сильний окиснювач, пероксинітрид володіє високою цитотоксичністю, окислюючи сульфгідрильні групи цитоплазматичних білків, протеоліпідів, ДНК протеїнів [63]. Другий механізм нейротоксичності пероксинітриду полягає в його взаємодії з супероксиддисмутазою. Реагуючи з іонами металів, які входять до складу супероксиддисмутази, пероксинітрид викликає утворення реактивного високотоксичного іону нітрозонію, який зв'язується з фенольними групами амінокислот, утворює нітрофеноли. Пероксинітрид взаємодіє

також з іоном водню, утворюючи пероксинітритну кислоту, яка розпадається і дає початок молекулам гідроксирадикала і NO_2 [67].

Наслідки ішемії визначаються залученням широкого спектру функціонально-метаболических систем, результатом діяльності яких є не лише пошкодження тканини мозку, а й активація великої кількості механізмів, які лімітують цей процес [68]. Ці механізми здатні обмежувати як ранні, так і відстрочені наслідки ішемії-реперфузії. Серед них можна виділити специфічні для ішемічного пошкодження та ті, які спрацьовують при всіх стресорних впливах.

Ми вважаємо за доцільне, в першу чергу, охарактеризувати специфічні механізми протидії та адаптації.

Показано, що у хворих на гострий церебральний ішемічний інсульт у гострому періоді відбувається порушення активності мембранозалежних ферментів крові, переважно її підвищення [69]. Це більшою мірою стосується креатинфосфокінази, і меншою – лактатдегідрогенази, лужної фосфатази, γ -глутамілтрансферази. Найбільша активність ферментів плазми крові спостерігалася в осіб із сприятливим перебігом ішемічного інсульту. У хворих із тяжким станом показники ферментної активності були дуже низькі. Це дає підставу думати, що активність ферментів, які беруть участь в енергетичному обміні, є компенсаторною реакцією організму, а напруження ліпідного обміну у хворих спрямовано на компенсацію і є захисним механізмом.

Важливу нейропротекторну роль за умов ішемії-реперфузії може виконувати оксид азоту (II), особливо в реперфузійному періоді [67]. 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 [65].

Експериментальні дослідження ролі *NO* в ішемічній патології були виконані *in vivo* на моделях фокальної й глобальної ішемії мозку мишей і щурів. У цих дослідженнях виявлено як позитивний, так і негативний вплив *NO* на розвиток мозкового інфаркту залежно від інтенсивності кисневого голодування, стадії розвитку ішемічного пошкодження мозку і джерел *NO* [66]. На початкових стадіях розвитку ішемії, а також при відносно низькому рівні кисневого дефіциту *NO*, як активний вазодилататор, може відігравати захисну роль, збільшуючи інтенсивність кровотоку.

Значний вклад у захисний механізм вносить здатність *NO* знижувати ступінь активації нейрональних NMDA-рецепторів. Показано, що введення L-нітроаргініну щурам при ішемії, викликаній оклюзією середньої мозкової артерії, зменшувало об'єм мозкового інфаркту [63].

Вважається, що ефекти оксиду азоту (II) реалізуються через підвищення внутрішньоклітинної концентрації цГМФ - вторинного месенджера клітинної активації [29] за участі тіолів і гемопротеїнів, глутатіонтрансферази та інших ферментів. Визначна роль у цих процесах належить системі цитохрому P-450, яка бере участь у метаболізмі органічних нітратів і викликає накопичення *NO*. Активація гуанілатциклази під дією *NO* пов'язана з сульфгідрильними групами, зменшенням впливу катіонів кальцію внаслідок блоку потрапляння через потенціалзалежні кальцієві канали мембрани. Це призводить до зниження мобілізації іонів кальцію із внутрішньоклітинних депо (ендоплазматичний ретикулум і мітохондрії), активації механізмів їх виведення з клітини, стимуляції поглинання катіонів кальцію і його накопичення у внутрішньоклітинних депо [70]. Але основним компонентом серед цих реакцій вважається блокада входу катіонів кальцію в клітину через хемочутливі кальцієві канали й безпосередній вплив цГМФ на активність Ca^{2+} -Mg⁺-АТФ-ази. Ймовірно, що це зумовлює провідні стрес-лімітуючі ефекти *NO*, пов'язані з роллю катіонів кальцію.

Зменшують токсичність екситотоксичних медіаторів (зокрема, глутамату) метаботропні рецептори. Роль іонотропних рецепторів полягає в забезпеченні електричної активності нейрона, а метаботропні рецептори модифікують властивості іонотропних, регулюючи тривалість та інтенсивність іонних потоків через мембрану. У такий спосіб 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 у клітині [71].

Інший антиішемічний механізм реалізується через активацію ACDP-залежних метаботропних рецепторів мембрани нейронів, яка спричиняє модифікацію активності ряду ферментів, у тому числі й протеїнкінази A, внаслідок чого суттєво зростає співвідношення цАМФ/цГМФ [72], що також прийнято розглядати як захисний механізм.

Активація іншого типу метаботропних рецепторів - 3-HPG-залежних - викликає посилення обміну 3-фосфоінозитидів і вивільнення іонів кальцію з внутрішньоклітинних депо, що в свою чергу, служить причиною активації протеїнкінази C. Вона викликає фосфорилювання як NMDA-, так і не-NMDA-рецепторів [72]. Фосфорилювання NMDA-рецепторів знижує їх гіперреактивність, тому цей механізм також розглядають як спосіб захисту клітин від нейротоксичної дії глутамату.

Зменшує пресинаптичне вивільнення збудливих амінокислот, протидіючи механізмам екситотоксичності, активація пресинаптичних гетеро- та авторецепторів глутамату й аденозину [73, 74].

У нейронах добре розвинені також механізми протидії глутаматопосередкованому ішемічному наростанню внутрішньоклітинної концентрації вільного Ca^{2+} . Вони реалізуються трьома шляхами: 1. Зменшенням виходу іонів кальцію з внутрішньоклітинних депо; 2. Зв'язуванням надмірної кількості Ca^{2+} ; 3. Гальмуванням надходження позаклітинного кальцію.

Зменшує вивільнення депонованого внутрішньоклітинного кальцію активація протеїназ С [72].

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 ретикулу, мітохондрій [75]. Останнє зумовлено зі значною кількістю гетерогенних кальційрегулювальних комплексів ендоплазматичного ретикулу нейронів.

Надзвичайно важлива роль у підтриманні кальцієвого гомеостазу при ішемії належить також Ca^{2+} -АТФазі цитоплазматичної мембрани нейронів, яка активно поглинає та депонує значну кількість іонів Ca^{2+} [7, 21].

Гальмування надходження позаклітинного кальцію реалізується через фосфопротеїнази, під впливом яких за рахунок дефосфорилювання потенціалзалежних кальцієвих каналів надходження Ca^{2+} ззовні значно зменшується [21]. З фосфопротеїнфосфатазами пов'язаний ще один протиішемічний механізм - дефосфорилювання та значне підвищення активності Na^+ , K^+ -АТФази, яке зменшує гострий набряк мозку за рахунок зниження внутрішньонейрональної концентрації Na^+ [7].

Розвиток або гальмування механізмів загибелі клітин шляхом апоптозу, який характерний для відстрочених наслідків ішемії, відбувається за активної участі генів сімейства bcl (bcl-2, bax, bak та p53), а також їх продуктів - транскрипційних факторів, які збільшують або зменшують ризик виникнення апоптозу. Показано, що гени bax, bak та p53 індують апоптоз, а bcl-2 – пригнічує цей процес [76, 77]. Посередниками посилення апоптозу білками bax і bak є каспази [78]. Як в усіх системах реалізації пошкоджувальних впливів, індукція проапоптотичних генів активує систему протиапоптотичних. Наприклад, ген p53, який сприяє розвитку апоптозу, має здатність активувати експресію гена bcl-2 [79].

Вважають, що переважання того чи іншого компонента даної системи визначає загибель або виживання клітини. Це доведено тим, що в нейронах, які зазнали ішемічного пошкодження, майже не виявлено експресії антиапоптозного гена *bcl-2*, проте проапоптозні гени *bax* та *p53* експресуються в підвищених кількостях, а в тих клітинах, що пережили ішемію, – навпаки [80]. В експерименті посилення експресії білка *bcl-2* запобігає гіпоксичному пошкодженню нейронів мозку [79].

Упродовж останніх років з'явилися переконливі докази існування в головному мозку двох окремих систем нейронів, які є дуже чутливими до зниження оксигенації та запускають захисні протиішемічні механізми [81, 82]. Перша з них розташована у ростральному вентролатеральному ретикулярному ядрі довгастого мозку. Вона представлена чутливими до кисню симпатичними збудливими нейронами, які мають здатність реагувати на зниження церебрального кровотоку чи напруги кисню в судинах мозку. Їх збудження активує судинні компоненти й підвищує регіонарний мозковий кровотік, нормалізуючи рівень кисню. Це система швидкого реагування, проте реакції, які вона запускає нетривалі. Аксони цих нейронів проєктуються на популяцію кіркових нейронів, які безпосередньо здійснюють трансдукцію нейрональних сигналів у вазодилатацію [81, 82].

Набагато тривалішу нейропротекцію (протягом декількох тижнів) забезпечує інша центральна система, яка бере початок від мозочка, зокрема – від ядра шатра [83]. Ефективність цієї системи надзвичайно висока. 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 ішемічної напівтіні. Активація цих нейронів

при неповній глобальній ішемії мозку може навіть запобігати екситотоксичній загибелі нейронів.

Неспецифічні антистресорні механізми також беруть участь в антиішемічному захисті мозку. Протягом останнього десятиліття увагу дослідників привертають ендогенні нейропептиди (опіодні пептиди, кортиколіберин, пептиди сімейства нейтрофінів) як можливі фактори нейропротекції [84, 85, 86].

З перших хвилин ішемії в нейронах відбувається індукція продуктів генів раннього реагування *c-fos*, *c-jun*, *jun-B*, *jun D* [87, 88]. Роль генів раннього реагування в механізмах регуляції функцій організму за умов дії різноманітних стресів перш за все зумовлена здатністю стимулювати синтез клітинами мозку білкових продуктів, які забезпечують вибірккову індукцію тих чи інших компонентів геному, визначаючи в такий спосіб напрямок біохімічних процесів клітини. Тим самим забезпечується регуляція рівня гормонів, нейромедіаторів, когнітивних функцій мозку, що спричиняє оптимальну для адаптації перебудову функцій організму [89].

Обмежує пошкоджувальний вплив ішемії синтез білків теплового шоку (БТШ), зокрема БТШ 72 [90]. Встановлено, що експресія цих білків починає зростати відразу після початку ішемізації мозку або дії будь-яких стресорів. У тварин із підвищеною експресією цих білків загибель нейронів при фокальній та двобічній каротидній ішемії значно менша, ніж у звичайних щурів [91].

Таким чином, ступінь ішемічного пошкодження мозку значною мірою залежить від збалансованості його про- та антиішемічних механізмів.

1.2. Структурно-функціональні основи стрес-реактивності

Стрес-реакція будь-якої природи є результатом взаємодії окремих компонентів (нейрохімічних та ендокринних) надзвичайно

складноорганізованої, багаторівневої ієрархічної системи, діяльність та кінцевий результат якої залежить від співвідношення активності механізмів стрес-реалізації та стрес-лімітування [92, 93].

У механізмах регуляції стрес-реактивності роль пейсмекера стресорної реакції відводять гіпоталамо-гіпофізарно-адренкортикальній системі (ГГАС). Саме вона ініціює секрецію гіпоталамічних нейрогормонів, тропних гормонів гіпофіза та низки периферійних стероїдних гормонів, а також активацію системи стрес-обмеження [94, 95].

З класичної точки зору на нейроендокринну природу стрес-реакції головним нейрохімічним чинником, який запускає стресорну відповідь, вважають кортиколіберин [96, 97], а індикатором вираженості стресорних реакцій – продукцію кортикостероїдів, які сприяють адекватним перетворенням метаболізму на рівні геному [92, 93].

Довголітня історія вчення про стрес закріпила за гіпоталамусом чільне місце основного морфологічного та фізіологічного інтегратора адаптивних функцій організму [98]. Використання різних моделей експериментального стресу в багатьох тварин показало, що найбільш виражені компенсаторно-приспосувальні реакції на початкових стадіях експерименту та переважання дистрофічних процесів на заключних його стадіях відбувається саме в гіпоталамічних ядрах [99].

Тривале дослідження природи стресу суттєво доповнило існуючі погляди на структурні еквіваленти стрес-реакції. Показано, що численні терміналі нейросекреторних гіпоталамічних клітин розповсюджуються на деякі інші структури мозку, котрі пов'язані з регуляцією адаптивних функцій [100]. У цих ділянках закінчуються нервові шляхи, які несуть різноманітну інформацію з багатьох відділів мозку, що забезпечує як стереотипну активацію гіпофізарно-адренкортикальної системи під час стресу, так і специфічну мінливість реакції, зумовлену природою стресора, тривалістю його дії, індивідуальною стратегією суб'єкта на дію стресора тощо [101]. Нейрони цих же ділянок утворюють самостійні

нейроендокринні системи, здатні продукувати низку нейрохімічних чинників, котрим, за сучасними поглядами, належить власне місце в нейроендокринній регуляції стресу [102]. Насамперед, це лімбічні структури – гіпокамп, мигдалеподібний комплекс, перегородка мозку. Їх роль у розвитку та перебігу стрес-реакції підтверджується і на молекулярному рівні – вони першими реагують на стресові впливи продукцією ранніх генів (c-fos, c-jun, c-myc, jun-B, jun-D тощо), котрі вважаються маркерами активації нейронів [89, 103]. Стрес або внутрішньомозкове введення кортиколіберину індукує експресію мРНК гена c-fos у гіпокампі, ядрах мигдалеподібного комплексу, септальних та гіпоталамічних ядрах, ядрах стовбура мозку та блакитної плями [104].

Роль різних компонентів лімбічної системи в забезпеченні перебігу стрес-реакції неоднозначна. Встановлено, що в гіпокампі сконцентрована більшість рецепторів, які сприймають сигнали кортикостероїдних гормонів та реалізують їх інгібіторний вплив на гіпофізарно-адренкортикальну систему [105, 106].

В ядрах мигдалеподібного комплексу виявлено значну кількість нейроендокринних, особливо кортиколіберинових елементів. Цей факт, а також висока функціональна і нейрохімічна реактивність нейронів мигдалика, дає право розглядати його як складову функціональної системи забезпечення адаптивних реакцій організму [107]. Здатність цієї структури здійснювати такі важливі етапи інформаційного процесингу, як аферентний синтез і об'єднання нейроендокринних, поведінкових та вегетативних компонентів стресу робить її у даній системі особливо важливою [108, 109]. Морфологічно доведено наявність прямих топографічних проєкцій з центрального, медіального та медіоцентрального ядер мигдалика на різні відділи гіпоталамуса, що має важливе значення в стрес-індукованому звільненні АКТГ. Кортикомедіальний відділ мигдалеподібного комплексу має полегшуючий вплив на активність ГГНС, який здійснюється за рахунок норадренергічних механізмів [110].

До складу лімбіко-гіпоталамічної системи регуляції стрес-реактивності входить також перегородка мозку. Це багата кортиколіберинпродукуючими нейронами структура, що забезпечує її вагому роль в організації стрес-реакції [104, 111]. При зруйнуванні перегородки гормональні і судинні реакції, а також інші вегетативні компоненти іммобілізаційного стресу не проявляються [112]. Окрім безпосередньої відповіді на дію стресора нейрони перегородки беруть участь у впливах кортиколіберину на нейрони гіпокампа [113].

Таким чином, лімбіко-гіпоталамічні структури об'єднані у функціональну систему, здатну активуватися стресорними впливами. Це підтверджується також авторадіографічними дослідженнями локалізації рецепторів кортиколіберину та визначенням експресії їх мРНК. Найвищі рівні рецепторів виявлено в передній і проміжній частці гіпофіза, мигдалеподібному комплексі, перегородці мозку, церебральній корі [114]. Експресія мРНК рецепторів КРФ показана в СА1, СА2, СА3 полях гіпокампа, в корі, ядрах мигдалеподібного комплексу, гіпоталамуса [115].

Організм у цілому та головний мозок зокрема мають ефективні спеціалізовані системи, які забезпечують досить високу стійкість до стресорних ситуацій, у тому числі й до ішемії [14, 92, 93]. Ці системи дістали назву стрес-лімітуючих [11, 92, 116]. Їх роль зумовлена здатністю обмежувати різноманітні прояви стрес-реакції, підвищувати резистентність клітин і органів до пошкоджувальних впливів, прямою цитопротекторною дією. До них відносять гальмівні медіатори, в першу чергу ГАМК, а також сімейство натрійуретичних пептидів, β -ендорфін тощо [117, 118, 119].

Суттєвою протиположною активаційним системам стресу є самі кортикостероїди, які секретуються під впливом стресорних факторів, модулюючи генну транскрипцію і генеруючи експресію геному, з одного боку, проявляють тривалий активаційний вплив на всі метаболічні та фізіологічні процеси [120]. З іншого боку, глюкокортикоїди пригнічують синтез АКТГ, діючи як репресор транскрипції гена проопіомеланокортину

та послаблюють секрецію АКТГ, зменшують КРФ-стимульоване накопичення цАМФ. Таким чином, за В.Г. Шаляпиною [93] кортикостероїди створюють в нейроендокринній регуляції стресу своєрідний функціональний "маятник", що прагне до балансу збудливих та гальмівних процесів.

Стрес-лімітуючим фактором може бути також кортиколіберин. Залежно від шляхів його дії він може як підсилювати імпульсацію нейронів блакитної плями (через парабрахіальне ядро), так і пригнічувати її, впливаючи на активність цих нейронів безпосередньо [121].

Провідне місце в системі антистресорного захисту мозку займають гальмівні ГАМК-ергічні процеси [122, 123]. Згідно даних літератури існує декілька механізмів стрес-лімітуючої дії центральної ГАМК-ергічної системи. Найбільш важливими з них є ті, які спрямовані на взаємодію з адренергічною системою мозку та системою гіпоталамус-гіпофіз-кора наднирників [119, 124].

Однією з головних стрес-лімітуючих ланок організму є система опіоїдних пептидів, яка в числі перших активується під час стресу [125] та бере безпосередню участь у перебігу стрес-реакцій як регулятор рівня больової чутливості та модулятор емоційного, вегетативного, поведінкового, нейроендокринного компонентів цієї реакції [126].

Велика кількість опіоїдергічних волокон і закінчень міститься в паравентрикулярному ядрі, яке є координаційним центром нейроендокринних та автономних функцій, у медіальній преоптичній ділянці, серединному преоптичному ядрі, дорзомедіальному та аркуатному ядрах гіпоталамуса і латеральному ядрі перегородки, ядрах мигдалика [13, 127, 128]. Стрес-лімітуюча дія опіоїдних пептидів значною мірою зумовлена їх властивістю зменшувати активацію адренергічних нейронів ЦНС та симпатичних гангліїв [92].

Важливе місце серед компонентів стрес-лімітуючої системи посідає система простагландинів. Стрес-реакція співспряжена з активацією

синтезу простагландинів у ключовій ланці цього процесу, а саме – в механізмах звільнення арахідонової кислоти. Суть співспряження полягає в тому, що в механізмі активуючої дії гормонів і медіаторів на клітину міститься етап звільнення арахідонової кислоти з фосфоліпідів клітинної мембрани [92, 125]. При стрес-реакції збільшення секреції гормонів і медіаторів – агоністів Ca^{2+} -мобілізуючих рецепторів і рецепторів, що активують аденілатциклазу – спричиняє не тільки активацію функцій клітини, але й співспряжено (за рахунок вивільнення арахідонової кислоти) стимулює біосинтез простагландинів.

Вираженими стрес-протекторними властивостями володіють ПГЕ₂ та простациклін за рахунок здатності обмежувати стрес-індуковану секрецію АКТГ, активацію адренергічної ланки стрес-реакції та її пошкоджувальні ефекти, здійснювати вазодилатацію та цитопротекторні ефекти [129, 130]. Простагландин Е₂ та простациклін мають помітний нейропротекторний ефекти під час гіпоксії [131]. Вважають, що в основі цитопротекторної дії цих простагландинів лежить мембранстабілізуючий вплив [92].

Разом з тим, інші простаноїди, а саме ТхА₂ та ПГФ_{2α} за властивостями можна скорше віднести до компонентів стрес-реалізуючої системи з помітним пошкоджувальним ефектом [129].

Представлений тут короткий огляд механізмів, що забезпечують узгоджену відповідь організму на дію стресора, далеко не повний, але й він свідчить про надзвичайну складність та багатокomпонентну ієрархію системи стрес-реактивності.

1.3. Ішемічна та стресорна реорганізація катехоламінергічних систем мозку

Вразливість структур головного мозку до ішемічно-реперфузійних пошкоджень зокрема та стресорних у цілому залежить від його нейрохімічної картини, яка багато в чому визначає пластичність мозку

[132, 133, 134]. Загальноприйнято, що в патогенезі ішемічного пошкодження провідну роль виконують збудливі амінокислотні медіатори (глутамат, аспартат) [135, 136], однак катехоламінергічна система мозку може виконувати протекторну роль, активуючи нейрони, які вижили під час ішемії, а також беручи участь у розвитку колатерального кровообігу [137]. Незважаючи на деякі протиріччя даних щодо стану катехоламінергічної системи мозку при ішемії, не викликає сумнівів той факт, що будь-які ішемічні пошкодження мозку стають причиною зміни вмісту катехоламінів у мозку в цілому або ж в його окремих структурах [138].

При ішемічній загибелі нейронів, які, як відомо, містять високу концентрацію медіаторів, останні можуть звільнюватися в синаптичну щілину, міжклітинний простір, в оточення кровоносних судин [139].

Регіонарні зміни катехоламінів у мозку при ішемії, головним чином, зумовлені дією двох різноспрямованих процесів – з одного боку, зменшенням O_2 -залежних реакцій, зумовлених гіпоксією, з іншого – стресорним впливом (гіпоксично-метаболічним стресом), який, навпаки, є причиною зростання ступеня оновлення і вивільнення медіаторів [138]. Пригнічувальний вплив гіпоксичного фактора на киснево-залежні реакції в синтезі катехоламінів відображаються чіткою кореляцією між вмістом у крові кисню та кількістю синтезованого в мозку ДОФА [140].

Активність центральної ланки ГГАС пептидергічних нейроендокринних центрів гіпоталамуса модулюють численні нейрохімічні чинники, однак провідним серед них вважається катехоламінергічна система мозку. Найбільш характерною центральною ознакою стресу є зниження рівня НА в гіпоталамусі, а підвищення і нормалізація його кількості не лише корелює зі стійкістю до емоційного стресу, але й розглядається як один з ключових її факторів [141].

У стрес-специфічних ділянках мозку, особливо у гіпоталамусі, катехоламіни присутні у високих концентраціях [142, 143]. Головними

джерелами внутрішньоцентральної аферентації гіпоталамуса є лімбічні утворення, інформація від яких надходить до гіпоталамуса по ДА-, НА-, СТ-ергічних та інших волокнах [103].

Оптимальні можливості для швидкої та глобальної модуляції функції мозку у відповідь на дію стресорів ґрунтовані на складній нейроанатомічній організації НА-ергічної системи [144]. Основні скупчення тіл катехоламінергічних нейронів знаходяться в блакитній плямі стовбура головного мозку та в довгастому мозку [145, 146]. Аксони цих нейронів моносинаптично іннервують кору та підкіркові структури, включаючи гіпоталамус, таламус, гіпокамп, мигдалеподібний та септальний комплекси. Це створює морфологічну основу для швидкої та узгодженої реакції лімбіко-гіпоталамічної системи в цілому, яка відіграє важливу роль у розвитку адаптивних процесів при дії стресуючих факторів. Послідовність включення ланок катехоламінергічного обміну в регуляцію яскраво проявляється в показниках вивільнення біогенних амінів і метаболітів при мікродіалізному дослідженні цих структур [147].

Експериментально обґрунтовано наявність двобічних зв'язків у цій системі. Встановлено, що стресорні впливи супроводжуються підсиленням імпульсації в джерелах адренергічної іннервації та підвищенням синтезу, виділення і обміну НА в тих ділянках, котрі отримують цю іннервацію [146, 148]. З іншого боку, порушення НА-ергічної іннервації деяких структур мозку корелює зі змінами стрес-реактивності. Так, зруйнування locus coeruleus в експериментальних тварин супроводжується неадекватними відповідями на подразники навколишнього середовища, порушеннями емоційних проявів стресу [149].

Сучасні схеми розвитку стрес-реакції не залишають сумнівів стосовно того, що адренергічні системи мозку та гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникова вісь зв'язані складними двобічними взаємовідносинами [148]. Експериментальні дослідження свідчать, що стрес-індукована активація НА-ергічної системи стимулює виділення кортиколіберину з

паравентрикулярного ядра гіпоталамуса [150]. Полегшуючий вплив амігдали на зумовлену подразниками секрецію КРФ, АКТГ чи кортикостерону здійснюється теж за участі НА-ергічних механізмів — зниження рівня НА в амігдалі зменшувало реактивність ГГНС [110].

З іншого боку, існують експериментальні докази того, що введений системно екзогенний кортиколіберин активує нейрони блакитної плями так само, як і гострий стрес [148]. Існують дані, згідно яких кортиколіберин є одним з нейромедіаторів у locus coeruleus, а стрес модулює його нейромедіаторні властивості на постсинаптичному рівні [151].

Результати, отримані в дослідях на адреналектомованих щурах з використанням глюкокортикоїдного заміщення чи без нього свідчать, що пригнічення глюкокортикоїдами секреції кортиколіберину з паравентрикулярного ядра шляхом зворотного зв'язку реалізується через виснаження норадренергічної іннервації [152].

Особливої вираженості під час стресу будь-якого генезу набувають зміни в структурах гіпоталамо-лімбіко-ретикулярного комплексу [101].

Експерименти, проведені на щурах та кролях показали, що нейронам медіального гіпоталамуса та лімбічних структур притаманна хімічна чутливість до різних медіаторів, у тому числі до норадреналіну, дофаміну, серотоніну. У цих структурах не просто коливається вміст катехоламінів, але й відбувається перебудова чутливості до них нейронів, виявлена при мікроінофоретичній аплікації серотоніну, дофаміну, норадреналіну [112, 132].

Зміни чутливості нейронів мозку до нейромедіаторів носять складний інтегративний характер – одні нейрони збільшують чутливість, інші – гальмують. Таким чином, головний мозок, як інтегроване ціле, в умовах вираженого стресу може змінювати свої нейрохімічні властивості [101 112].

Результати проведених досліджень пластичних змін нейрохімічних механізмів головного мозку, які мають місце під час дії пошкоджувальних чинників, дозволили дійти принципово нового висновку: як стрес, так і ішемія спричиняють дезорганізацію вихідної нейрохімічної інтеграції та формування нової, зміненої організації молекулярних структур мозку.

Таким чином, стрес-реакція, у тому числі ішемічного походження, пов'язана з нейрогенно детермінованою активацією гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової та адренергічної систем, які прийнято називати стрес-реалізуючими, а надмірній її активації протидіють стрес-лімітуючі системи. Співвідношення та взаємна узгодженість їх функціонування значною мірою визначає наслідки багатьох патологічних процесів, у тому числі, ішемічно-реперфузійних пошкоджень мозку. Незважаючи на це, дизрегуляторні зміни в системі стрес-реактивності та її складових при ішемічній патології мозку досліджено вкрай недостатньо, а дані щодо вікових особливостей цих змін взагалі відсутні, що обґрунтовує актуальність подібних наукових доробок.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Обґрунтування критеріїв вибору віку та статі експериментальних тварин

Дослідження проведено на 236 безпородних білих самцях щурів двох вікових груп – один та три місяці. Обрані вікові групи тварин суттєво відрізняються за ступенем зрілості церебральних та системних регуляторних механізмів, які значною мірою визначають перебіг і наслідки ішемічно-реперфузійних пошкоджень та стресорну реактивність. Як і всі ссавці, щурі на момент народження мають незавершену в структурному та функціональному плані центральну нервову систему [153]. Особливо інтенсивно морфогенетичні процеси становлення ЦНС відбуваються впродовж першого місяця - зростає кількість гліальних клітин, прогресує мієлінізація відростків, нейрони за розмірами наближаються до тих, що притаманні дорослим тваринам, зростає синаптогенез [154, 155]. Функціональна зрілість мозку тісно зв'язана з формуванням та дозріванням окремих медіаторних систем та нейроімуноендокринної регуляції. В одномісячних щурів ці процеси також незавершені [156, 157, 158, 159].

Чутливість до ішемії значною мірою визначається особливостями кровопостачання, тому постнатальна перебудова мозкового кровоносного русла та гемодинаміки, механізмів регуляції кровообігу також лежить в основі вікових відмінностей реакції на ішемію [160, 161, 162].

Вибір статі тварин зумовлений більш низькими адаптивними спроможностями у самців [154, 163], що дозволяє отримати особливо чіткі критерії оцінки патологічного процесу. У самок адаптивні системи більш чутливі до дії фізіологічних стресів, мають більшу резервну

потужність і забезпечують більш досконалу адаптацію до сильних і тривалих стресових ситуацій [164]. Крім того, наявність естральних статевих циклів у тримісячних самок значно утруднює порівняльну оцінку вікових особливостей реагування на несприятливі чинники.

Одним із основних показників реакції на ішемію ми обрали вміст у мозку катехоламінів. Вивчення центральних норадренергічних та дофамінергічних систем, постійних медіаторних компонентів стресу, показало, що в самок у різних відділах мозку вміст катехоламінів у 2-3 рази вищий, ніж у самців [165]. Це корелює з підвищеною у самок активністю відповідних ферментів синтезу катехоламінів та більшими розмірами блакитної плями – основного норадренергічного утворення мозку. Крім того, є роботи, які демонструють вищу чутливість самців до цереброваскулярних пошкоджень при дії сильних стресорів [166].

Серотонінергічна система в мозку самок щурів також набуває більшого розвитку, ніж у самців [164].

Відомо, що однією з особливостей реагування щурів на дію стресорів є статевий диморфізм, який особливо чітко проявляється у стрес-індукованій секреції катехоламінів та глюкокортикоїдів [164, 165]. Показано існування статевої різниці стосовно дії гострих стрес-факторів, яка корелює зі статевими відмінностями в адаптації до тривалих стресів [167].

Виключно велике значення в обмеженні стресорних пошкоджень має антиоксидантна система, яка виступає у ролі периферійної стрес-лімітуючої ланки, обмежуючи зростаючу під час стресу інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів. Активніша мобілізація під час стресу антиоксидантної системи у самок в порівнянні з самцями також свідчить про більшу захищеність жіночого організму [168].

Таким чином, адаптивні системи самок більш динамічні, надійні, економні і мають більшу резервну потужність, а отже саме у самців легше виявити нейрохімічні, ендокринні та біохімічні кореляти механізмів

порушень стрес-реактивності.

Наведені факти пояснюють мотиви вибору статі та віку експериментальних тварин.

Експериментальні втручання та евтаназія тварин проводилися з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985), ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2000). Комісією з питань біоетики Буковинського державного медичного університету (протокол №6 від 15.12.2005р.) порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

2.2. Формування експериментальних груп

Вивчення стратегії формування адаптивних реакцій у тварин і людей беззаперечно довело наявність індивідуальних механізмів резистентності до дії несприятливих чинників [169, 170, 171], що свідчить про необхідність формування однорідних експериментальних груп.

Відбір тварин за стійкістю до дії стресорів проводили попередньо (за тиждень до початку досліджень) за їх поведінкою у відкритому полі [172].

Показано, що щури, які проявляють у відкритому полі короткий латентний період першого руху та виходу в центр, а також високу рухову активність по периферії і особливо в центрі, відносяться до стійких, у той час як щури, які демонструють тривалий латентний період першого руху та виходу в центр, низьку активність як у центрі, так і на периферії, мають високі показники вегетативного балансу, вважаються схильними до дії стресу.

У наших дослідженнях всі групи спостереження були сформовані з середньостійких тварин.

2.3. Обґрунтування моделі ішемічного пошкодження мозку

Намагання експериментально відтворити певні клінічні ситуації призвело до розробки значної кількості моделей ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку, які відрізняються ступенем зниження мозкового кровотоку, обширністю зони ішемії (фокальна, дифузна ішемія, транспівкульна асиметрія кровопостачання мозку), особливостями технічного виконання, співвідношенням ішемічного та реперфузійного періодів тощо [173, 174].

Ми зупинили свій вибір на неповній глобальній ішемії мозку, яку моделювали двобічною оклюзією загальних сонних артерій [175]. Під внутрішньоочеревинним наркозом (каліпсол, 75 мг/кг маси тіла) переднім серединним шийним доступом проводили розтин шкіри і підшкірної клітковини, виділяли обидві загальні сонні артерії, на 20 хв накладали на них кліпси. Рану зашивали неперервним швом. Тварини знаходилися в експерименті 5 діб.

Контрольну групу склали псевдооперовані тварини, котрим здійснювали розтин шкіри, сепарацію м'язів і виділення судин без їх перетиснення.

При виборі моделі та тривалості ішемії ми керувалися низкою міркувань. По-перше, подібна модель адекватна клінічним ситуаціям, за яких має місце значне падіння системного артеріального тиску, що часто зустрічається при невідкладних станах у людей різного віку. По-друге, двадцятихвилинне суттєве зниження мозкового кровотоку – це нижня межа реанімаційних заходів, при якій церебральні порушення носять зворотний характер і піддаються терапії. П'ятидобове спостереження створює можливість дати доклінічну оцінку церебропротекторних властивостей обраного нами препарату емоксипіну. І, насамкінець, така тривалість ішемії викликає некротичні та апоптотичні зміни лише в селективно чутливих зонах мозку (гіпокамп, неокортекс) [175], а лімбіко-

гіпоталамічні структури, обрані нами для дослідження, реагують функціональними змінами, що дає можливість оцінити церебральні прояви стрес-реактивності, специфічні для ішемічного стресу.

За даними літератури, при двобічній оклюзії загальних сонних артерій у великих півкулях мозку щурів має місце різке зниження інтенсивності кровотоку [176]. Напруга кисню в судинах мозку за цих умов знижується до 4-8 мм рт.ст.

Внаслідок такого втручання в селективно чутливих зонах головного мозку через 3,5 год після операції спостерігалось двократне зростання генерації оксиду азоту, збільшення вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації та високий ступінь кореляції між вмістом NO та вираженістю неврологічного дефіциту [177].

За даними Бєленичева І.Ф. [178] перев'язування сонної артерії в дорослих щурів супроводжувалася стійким порушенням метаболізму мозкової тканини - зниженням рівня АДФ та АТФ з одночасним збільшенням рівня АМФ. Таке зменшення енергетичних ресурсів нервової тканини супроводжувалося активацією анаеробного гліколізу – підвищенням рівня лактату, зниженням рівня пірувату й уповільненням циклу Кребса (зниження рівня малату). Автор вважає, що подібний енергодефіцит й активація реакцій гліколізу, сприяли дефосфорилюванню клітинних мембран та їх ушкодженню за рахунок активації ПОЛ.

Ефективність обраної нами моделі щодо ішемізації головного мозку переконливо продемонстрована також у дослідах з безпосередньою реєстрацією мозкового кровотоку методом водневого кліренсу з електрохімічною генерацією водню [179]. Ці ж електроди використовували для оцінки ступеня набряку-набухання мозкової тканини методом реєстрації імпедансу та його складових. Авторами встановлено, що одnobічна перев'язка загальної сонної артерії зліва мала наслідком зниження мозкового кровотоку в іпсилатеральній півкулі на 32 –36%. При одночасному обмеженні кровотоку на 50% по правій загальній сонній

артерії зниження кровотоку зліва досягало 70% та супроводжувалося раннім і вираженим формуванням постішемичного набряку мозку. Таким чином, очевидно, що двобічне припинення кровотоку по загальних сонних артеріях має ще більш виражений вплив на досліджувані показники.

Клінічні спостереження також свідчать про значні порушення церебральної гемодинаміки при оклюзійних ураженнях екстракраніальних магістральних судин [180].

2.4. Обґрунтування вибору структур для дослідження

Критерієм вибору структур мозку, в першу чергу, були дані літератури стосовно участі їх молекулярних та нейрохімічних механізмів у реалізації стрес-реакції [181, 182]. Свідченням цього було підсилення експресії протоонкогена *c-fos* та інших генів раннього реагування в ядрах гіпоталамуса, в різних ділянках гіпокампа, мигдалика, блакитній плямі, перегородці [183, 184]. Встановлено, що експресія генів раннього реагування у цих структурах мозку починає зростати вже на 5-й – 7-й хв стресорного впливу. Про причетність лімбіко-гіпоталамічних структур до ініціації стрес-реакції свідчить також швидка активація їх катехоламінергічних систем [181]. Під час стресу знайдено вірогідні зміни хімічної чутливості нейронів медіального гіпоталамуса та ретикулярної формації середнього мозку до НА, які полягають у зникненні тих реакцій на підведені речовини, які мали місце у інтактних тварин, появи якісно нових реакцій або змінах характеру відповіді на протилежний [185].

Стрес-реакція супроводжується змінами зв'язування мічених моноамінів нейронами ядер структур лімбіко-гіпоталамічного комплексу [186, 187]. Ступінь активації адренергічних механізмів лімбіко-гіпоталамічних структур асоціюється зі станом стрес-реактивності .

2.5. Характеристика досліджуваного препарату, обґрунтування дози та способу введення

Оскільки метою наших досліджень було вивчення віддалених наслідків ішемії, для їх корекції ми обрали препарат емоксипін, що відноситься до засобів вторинної нейропротекції, дія яких спрямована на переривання відстрочених механізмів пошкодження клітин [188]. Враховуючи, що основними патогенетичними ланками ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку є посилення інтенсивності вільнорадикального окислення та розвиток метаболічних порушень, корекція цих змін, крім традиційних вазоактивних речовин у комплексі з фібринолітиками й антиагрегантами, повинна включати препарати, спрямовані на нормалізацію енергетичного обміну, стабілізацію клітинних та субклітинних мембран нервових клітин, нормалізацію вільнорадикальних процесів та антиоксидантного захисту [189].

При дослідженні активності та механізму антиоксидантної дії похідних 3-оксипіридину емоксипіну та мексидолу встановлено, що в основі антиоксидантної дії цих препаратів лежить їх здатність пригнічувати стадію ініціації вільнорадикальних реакцій пероксидного окиснення ліпідів, зумовлену утворенням активних форм кисню та появою каталітично активних іонів заліза [190].

Наявні в літературі показники нейропротекторного впливу емоксипіну характеризують, головним чином, його антиоксидантні властивості. Проте не виключено, що існують деякі інші біохімічні кореляти його антиішемічної дії, на виявлення яких спрямовано наші дослідження. Крім того, в проаналізованій літературі ми не зустріли жодних даних щодо вікових та структурних церебральних особливостей протекторної дії препарату. Між тим, гіпоксичні пошкодження головного мозку в дитячому віці не є рідкістю, а їх корекція, безумовно, має свої особливості.

Виходячи з означених міркувань, ми порахували за доцільне зупинити свій вибір на даному препараті.

Емоксипін ("Московский эндокринный завод", Россия) вводили внутрішньоочеревинно в дозі 5 мг/кг у перші три хвилини після зняття затискачів, потім щоденно протягом 5 днів [189, 190]. Евтаназію тварин проводили через 6 год після останньої ін'єкції препарату.

Контрольним тваринам вводили розчинник (фізіологічний розчин) у тому ж об'ємі та в той же спосіб.

2.6. Евтаназія тварин, спосіб забору та зберігання досліджуваного матеріалу

Евтаназію тварин виконували шляхом декапітації під легким ефірним наркозом по закінченню терміну спостереження. Мозок швидко виймали на холоді й одразу занурювали в рідкий азот. Робили кріостатні зрізи товщиною 300 мкм, виділяли перегородку мозку (ПМ), преоптичну ділянку (ПОД), медіобазальний гіпоталамус (МБГ) та мигдалеподібний комплекс (МК), звіряючись з атласом стереотаксичних координат [191]. У момент декапітації кров збирали в центрифужні пробірки, попередньо покриті ЕДТА, центрифугували 20 хв при 600 g, плазму тубували по 0,25 мл і зберігали при -20°C для подальших досліджень.

2.7. Критерії оцінки стрес-реактивності

Для оцінки стрес-реактивності визначали рівні кортизолу, пролактину, трийодтироніну, тироксину в плазмі крові, інтенсивність флуоресценції катехоламінів та стан прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у ПМ, ПОД, МБГ, МК, як показники стрес-реалізуючих та стрес-лімітуючих механізмів [125, 164].

2.8. Імуноферментні дослідження

Рівень кортизолу, пролактину, трийодтироніну (T_3), тироксину (T_4) в плазмі крові визначали наборами фірми “Хьюмен” (Німеччина). Концентрацію кортизолу, трийодтироніну та тироксину виражали в нмоль/л плазми, пролактину – у мкг/л плазми.

2.9. Гістохімічне визначення моноамінів

Визначення моноамінів проводили за методом Фалька-Овмена [192] в модифікації А.Ю. Буданцева [193]. Для цього головний мозок швидко виймали на холоді, фіксували 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 за допомогою люмінесцентного мікроскопа МЛ-4 з мікрофотометричною насадкою ФМЭЛ – 1А. Проводили по 50 замірів у кожному препараті в досліджуваних структурах та по 50 замірювань фону, вираховували різницю отриманих показників. Інтенсивність флуоресценції моноамінів виражали в умовних одиницях.

2.10. Біохімічні дослідження

Для оцінки інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів у гомогенатах досліджуваних структур мозку визначали вміст дієнових кон'югатів та малонового альдегіду [194] з використанням спектрофотометра СФ-46 (“ЛОМО”, Росія) Кількість малонового альдегіду та дієнових кон'югатів розраховували в нмоль/мг білка.

Стан антиоксидантного захисту оцінювали за активністю супероксиддисмутази [КФ 1.15.1.1], каталази [КФ 1.11.1.6] та

глутатіонпероксидази [КФ 1.11.1.9] [194].

Активність супероксиддисмутази виражали в од/хв·мг білка, каталази - в мкмоль/хв·мг білка, глутатіонпероксидази - в нмоль окисненого глутатіону/хв·мг білка.

Про ступінь окиснювальної модифікації білків судили по кількості 2,4-динітрофенілгідразонів, отриманих при взаємодії 2,4-динітрофенілгідразину з альдегідними і кетонними групами, утвореними в процесі окиснювальної модифікації білків у радикалах залишків аліфатичних амінокислот [195].

Оптичну густину утворених динітрофенілгідразонів реєстрували на фотоелектроколориметрі КФК-3 при 370 і 430 нм проти контролю і виражали в одиницях оптичної густини на 1 г білка. У всіх пробах проводилося паралельне визначення вмісту білка [196].

Тканинну фібринолітичну активність визначали за утворенням плазміну при інкубації азофібрину зі стандартною кількістю плазміногену в присутності активаторів фібринолізу, які містяться в гомогенаті. Активність неферментативного фібринолізу визначали за ступенем забарвлення розчину в лужному середовищі в присутності ϵ -амінокапронової кислоти, а без неї – сумарну фібринолітичну активність. Різниця між цими показниками становить інтенсивність ферментативного фібринолізу [194, 197].

Протеолітичну активність в гомогенатах структур мозку визначали на основі інтенсивності забарвлення після реакції з азоальбуміном, азоказеїном та азоколом [194].

В усіх дослідженнях використано реактиви Simko Ltd, Україна.

2.11. Математична обробка отриманих результатів

Статистичний аналіз отриманих даних проводили з використанням пакета прикладних програм ("StatSoft" США та "Stat Graf"). Порівнювали дані, отримані в дослідних і контрольних групах. 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 достовірними вважали зміни при $P \leq 0,05$.

РОЗДІЛ 3

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ РЕАКЦІЇ КОРТИЗОЛУ, ПРОЛАКТИНУ
ТИРОКСИНУ ТА ТРИЙОДТИРОНІНУ НА НЕПОВНУ ГЛОБАЛЬНУ
ІШЕМІЮ МОЗКУ

Секрецію кортикостероїдів, пролактину, тиреоїдних гормонів вважають одними з основних ендокринних показників стрес-реактивності [198-201].

Кортикостероїди мають надзвичайно широкий спектр дії, контролюючи процеси розвитку і диференціювання клітин, регулюють клітинну проліферацію, зміни метаболізму та розвиток нейроендокринних модифікацій, що дозволяє організму відповідати на стрес адекватним чином та адаптуватись до умов існування [158, 198].

Численними дослідженнями встановлено, що пролактин теж має виражені адаптивні властивості та підвищує стійкість тварин і людей до багатьох екстремальних впливів [198, 200], хоча оцінка його ролі у механізмах стрес-реактивності неоднозначна. На стрес-індуковане зростання секреції пролактину у відповідь на різноманітні стимули вказують літературні дані [201, 202, 203].

Участь тиреоїдних гормонів у процесах розвитку стресорних реакцій організму не викликає сумнівів [204, 205], однак конкретні стрес-індуковані прояви тиреоїдної функції залежать від багатьох умов, що, очевидно, є причиною неоднозначної оцінки ролі цих чинників різними дослідниками.

Дані літератури щодо реакції вмісту в плазмі крові різних гормонів стресу в динаміці розвитку ішемічного пошкодження мозку поодинокі, а вікові особливості цього процесу зовсім не вивчені.

У наших дослідженнях на 6-й день постішемічного періоду в одномісячних щурів достовірні зміни виявлено стосовно вмісту в плазмі

крові пролактину та трийодтироніну (табл. 3.1). Рівень обох гормонів зріс в 2 рази та 1, 8 рази відповідно.

Таблиця 3.1

Вміст кортизолу, пролактину, тироксину та трийодтироніну в плазмі крові щурів різного віку в пізньому постішемичному періоді ($M \pm m$; $n=8$)

| Група спостереження | Рівень | | | |
|---------------------|--|----------------------------|---------------------|---|
| | кортизолу (мкмоль/л) | пролактину (мкг/л) | тироксину (нмоль/л) | трийодтироніну (нмоль/л) |
| 1 місяць | | | | |
| Контроль | 4,29±0,58 | 4,15±0,37 | 1,34±0,17 | 1,12±0,28 |
| Ішемія | 4,67±0,42 | 8,32±0,78 $p < 0,005$ | 1,48±0,16 | 1,96±0,12 $p < 0,01$ |
| три місяці | | | | |
| Контроль | 5,22±0,51 | 2,50±0,29 $p_1 < 0,005$ | 1,29±0,67 | 1,29±0,12 |
| Ішемія | 2,90±0,23 $p < 0,025$ $p_2 < 0,01$ | 3,03±0,28 $p_2 < 0,005$ | 1,36±0,18 | 0,82±0,06 $p < 0,025$ $p_2 < 0,005$ |

Примітки: Достовірність: p – змін, стосовно показників у контрольних тварин відповідного віку; p_1 – міжвікових відмінностей конститутивного вмісту гормонів; p_2 – міжвікових відмінностей постішемичного вмісту гормонів

Відмінності конститутивного вмісту гормонів у тварин представлених вікових груп мали місце лише стосовно пролактину, який був вищим в одномісячних щурів в 1,7 раза. Вміст решти гормонів у тварин різного віку не відрізнявся.

У тримісячних тварин відстрочена гормональна реакція на ішемію полягала у зниженні вмісту кортизолу (в 1,8 раза) та трийодтироніну (в 1,6 раза).

Ішемія спричиняла появу вікових відмінностей для тих гормонів, конститутивний вміст яких не відрізнявся у тварин різного віку. Так, постішемичний вміст кортизолу та трийодтироніну став достовірно нижчим у тримісячних щурів (в 1,6 та 2,4 раза відповідно). Різниця вмісту пролактину в щурів різного віку під впливом ішемії зросла з 1,7 у контрольних тварин до 2,7 у тварин після ішемії.

Отримані результати можна узагальнити у вигляді проміжних висновків:

1. Вікові відмінності конститутивного вмісту досліджених гормонів мали місце лише стосовно пролактину, який був достовірно вищим в одномісячних тварин.

2. Гормональна реакція на ішемічно-реперфузійне втручання в одномісячних тварин полягала в зростанні вмісту в плазмі крові пролактину та трийодтироніну, у тримісячних – у зниженні вмісту кортизолу та трийодтироніну, що свідчить про принципові вікові відмінності.

За результатами даного розділу опублікована стаття:

[206] Тимофійчук І.Р., Пішак В.П. Вікові особливості реакції кортикостерону, пролактину тироксину та трийодтироніну на неповну глобальну ішемію мозку // Клін. та експерим. патол. – 2005. –Т.IV, №4. – С.96-99.

РОЗДІЛ 4

ПОСТІШЕМІЧНА РЕОРГАНІЗАЦІЯ КАТЕХОЛАМІНЕРГІЧНИХ СИСТЕМ ЛІМБІКО-ГІПОТАЛАМІЧНИХ СТРУКТУР МОЗКУ В ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ

Питання специфічних проявів стрес-реакції, обумовлених ішемією мозку, до сьогоднішнього дня залишається відкритим. За багатьма ендокринними показниками адаптаційний синдром при ішемії в людей не має специфічних проявів [207]. Однак центральні механізми стрес-реактивності, зі зрозумілих причин, визначити в людини неможливо. Разом із тим, їх знання є досить важливими для проведення патогенетично обґрунтованої корекції патологічних змін.

Одним із універсальних механізмів розвитку стрес-реакції при дії стресорів будь-якого генезу достатньої сили та тривалості є активація катехоламінергічних систем мозку [181], зокрема, гіпоталамуса й лімбічних структур (мигдалеподібного комплексу, перегородки). У цих стрес-специфічних ділянках мозку катехоламіни присутні в особливо високих концентраціях [185], а наявність тісних двобічних зв'язків між ними та послідовна активація катехоламінергічних систем цих структур є запорукою швидкої та скоординованої активації системи стрес-реалізації [181, 186, 187]. Однак традиційно дослідження ішемічно-реперфузійних пошкоджень мозку зосереджувалися на структурах нової кори та гіпокампа, а лімбіко-гіпоталамічні утворення залишалися поза увагою.

Саме тому ми поставили за мету дослідити відстрочену реакцію катехоламінів лімбіко-гіпоталамічних структур на неповну глобальну ішемію мозку в щурів різного віку.

Порівняльний аналіз конститутивного вмісту катехоламінів у тварин обраних вікових груп показав, що інтенсивність флуоресценції в 1,4, 1,3,

1,7 раза вища в дорзальному, латеральному, медіальному ядрах перегородки мозку тримісячних тварин (табл. 4.1).

Таблиця 4.1

Вплив ішемії на інтенсивність флуоресценції катехоламінів (умовні одиниці) в ядрах стріарної групи перегородки ($M \pm m$)

| Група спостереження | Назва ядра | | |
|---------------------|---|-----------------------------------|---|
| | дорзальне | латеральне | медіальне |
| один місяць | | | |
| Контроль (n=10) | 62,4±6,79 | 76,8±6,18 | 35,8±2,23 |
| Ішемія (n=8) | 38,3±3,12 p<0,005 | 43,2±3,78 p<0,005 | 20,8±2,45 p<0,005 |
| три місяці | | | |
| Контроль (n=10) | 84,9±5,28 p ₁ <0,025 | 97,4±3,73 p ₁ <0,01 | 60,8±5,33 p ₁ <0,001 |
| Ішемія (n=8) | 50,4±2,79 p<0,005 p ₁ <0,005 | 51,9±3,15 p<0,005 | 29,7±2,27 p<0,005 p ₁ <0,025 |

У всіх таблицях даного розділу: зміни, достовірні в порівнянні з: p – показниками в контрольних тварин; p₁ – аналогічними показниками у тварин різного віку

Отримані нами дані свідчать, що в ядрах стріарної групи перегородки мозку одномісячних щурів ішемія має пригнічувальний вплив на інтенсивності флуоресценції катехоламінів (табл. 4.1). Даний показник зазнав зниження в дорзальному, латеральному, медіальному ядрах в 1,6, 1,8, 1,7 раза відповідно.

У тварин тримісячного віку реакція катехоламінів на ішемію була

подібною за спрямуванням, але дещо вищою. Зниження інтенсивності флуоресценції становило 1,7, 1,9, 2 рази в дорзальному, латеральному, медіальному ядрах відповідно.

Постішемичні вікові відмінності мали меншу вираженість, ніж конститутивні. Переважання постішемичного вмісту катехоламінів у тримісячних щурів зберігалось в дорзальному та медіальному ядрах (в 1,3 та 1,4 рази) і зникало в латеральному ядрі.

У всіх ядрах ретикулярної групи перегородки мозку тримісячних тварин конститутивні показники інтенсивності флуоресценції катехоламінів в 1,4 рази перевищували аналогічні показники в одномісячних щурів (табл.4.2).

Таблиця 4.2

Вплив ішемії на інтенсивність флуоресценції катехоламінів (умовні одиниці) в ядрах ретикулярної групи перегородки ($M \pm m$)

| Група спостереження | Назва ядра | | |
|---------------------|--|-----------------------------------|------------------------------------|
| | прилегле | ложа термінальної смужки | діагональної зв'язки |
| один місяць | | | |
| Контроль (n=10) | 57,5±3,01 | 49,3±5,43 | 56,9±2,75 |
| Ішемія (n=8) | 40,7±2,52 p<0,005 | 29,0±3,55 p<0,025 | 42,7±3,14 p<0,005 |
| три місяці | | | |
| Контроль (n=10) | 79,1±2,40 p ₁ <0,005 | 68,8±2,59 p ₁ <0,01 | 78,7±2,58 p ₁ <0,001 |
| Ішемія (n=8) | 48,6±2,53 p<0,005 p ₁ <0,05 | 38,5±1,69 p<0,005 | 46,0±3,85 p<0,005 |

Внаслідок ішемічно-реперфузійного впливу вміст катехоламінів значно знижувався у всіх ядрах даної групи як одномісячних, так і тримісячних щурів. Зниження становило 1,4, 1,7, 1,3 раза у тварин молодшої вікової групи та 1,6, 1,8, 1,7 раза у старших щурів у прилеглому ядрі, ядрі ложа термінальної смужки та ядрі діагональної зв'язки відповідно.

Аналіз постішемічних вікових відмінностей інтенсивності флуоресценції катехоламінів показав, що вони зберігаються лише в прилеглому ядрі. У решті ядер ішемія їх усуває.

Результати вивчення впливу ішемії на інтенсивність флуоресценції катехоламінів у ядрах переднього гіпоталамуса представлені в табл. 4.3.

Таблиця 4.3

Вплив ішемії на інтенсивність флуоресценції катехоламінів (умовні одиниці) в ядрах переднього гіпоталамуса ($M \pm m$)

| Група спостереження | Назва ядра | | |
|---------------------|---|---|-----------------------------------|
| | паравентрикулярне | преоптико-медіальне | преоптико-латеральне |
| один місяць | | | |
| Контроль (n=9) | 276±7,04 | 276±5,51 | 180±7,27 |
| Ішемія (n=8) | 223±7,39 p<0,005 | 219±8,75 p<0,005 | 186±5,51 |
| три місяці | | | |
| Контроль (n=9) | 325±8,47 p ₁ <0,005 | 316±13,3 p ₁ <0,05 | 227±8,13 p ₁ <0,005 |
| Ішемія (n=8) | 249±4,92 p<0,005 p ₁ <0,05 | 240±5,55 p<0,005 p ₁ <0,05 | 187±5,41 p<0,005 |

При аналізі представлених результатів звертає на себе увагу високий рівень флуоресценції, який у декілька разів перевищує показники в ядрах перегородки.

Як і в попередніх структурах, за нашими даними вміст катехоламінів переважає у тримісячних тварин (в 1,2, 1,2, 1,3 раза для паравентрикулярного, преоптико-медіального і преоптико-латерального ядер відповідно).

Постішемичні зміни показників полягали в їх зниженні в 1,2 та 1,3 раза в паравентрикулярному і преоптико-медіальному ядрі гіпоталамуса одномісячних тварин та в 1,3, 1,3, 1,2 раза в паравентрикулярному, преоптико-медіальному і преоптико-латеральному ядрах тримісячних щурів.

Міжвікові відмінності інтенсивності флуоресценції катехоламінів після ішемії в паравентрикулярному і преоптико-медіальному ядрах зберігалися, а в преоптико-латеральному – зникали (табл. 4.3).

Інтенсивність флуоресценції катехоламінів в аркуатному та вентромедіальному ядрах гіпоталамуса була дещо нижчою, ніж в ядрах переднього гіпоталамуса, проте вона значно перевищувала показники в перегородці та мигдалику (табл.4.4).

Достовірна міжвікова відмінність конститутивного вмісту катехоламінів мала місце лише в вентромедіальному ядрі (в 1,2 раза показник був вищим у тримісячних щурів).

Ішемічно-реперфузійні зміни інтенсивності флуоресценції катехоламінів проявлялися її зниженням в 1,2 раза в аркуатному ядрі одномісячних щурів та в 1,3 і 1,2 раза в аркуатному і вентромедіальному ядрі тримісячних.

Постішемичних вікових відмінностей інтенсивності флуоресценції катехоламінів у даних ядрах гіпоталамуса не виявлено.

Таблиця 4.4

Вплив ішемії на інтенсивність флуоресценції катехоламінів (умовні одиниці) в аркуатному та вентромедіальному ядрах гіпоталамуса інтенсивності флуоресценції катехоламінів ($M \pm m$)

| Група спостереження | Назва ядра | |
|---------------------|---------------------|-----------------------------------|
| | аркуатне | вентромедіальне |
| один місяць | | |
| Контроль (n=10) | 236±10,5 | 175±4,13 |
| Ішемія (n=8) | 197±4,57 p<0,005 | 181±6,30 |
| три місяці | | |
| Контроль (n=10) | 265±14,23 | 208±5,16 p ₁ <0,005 |
| Ішемія (n=8) | 210±7,48 p<0,005 | 177±6,72 p<0,005 |

Серед досліджених ядер мигдалеподібного комплексу найвищий рівень флуоресценції катехоламінів виявлено в центральному ядрі та ядрі кінцевої смужки тварин обох вікових груп (табл. 4.5).

Як і в попередніх структурах, в ядрах мигдалика інтенсивність флуоресценції катехоламінів у цілому вища в тримісячних тварин (в 1,7, 1,2, 1,2 раза в кортико-медіальному, центральному ядрах та ядрі кінцевої смужки відповідно).

Внаслідок ішемічно-реперфузійного пошкодження рівень флуоресценції катехоламінів знизився в одномісячних щурів в 1,3, 1,2, 1,2, 1,5 раза в кортико-медіальному, центральному ядрі, базолатеральному та ядрі кінцевої смужки відповідно. У тримісячних щурів зниження

флуоресценції відбулося у всіх відділах мигдалика, було більш значним, ніж в одномісячних, і становило 2,3 1,5, 1,3, 1,9 рази для кортико-медіального, центрального, базолатерального ядер та ядра кінцевої смужки відповідно.

Таблиця 4.5

Вплив ішемії на інтенсивність флуоресценції катехоламінів (умовні одиниці) в ядрах мигдалика ($M \pm m$)

| Група спостереження | Назва ядра | | | |
|---------------------|------------------------------------|----------------------------------|----------------------|-----------------------------------|
| | кортико-медіальне | центральне | базолатеральне | кінцева смужка |
| один місяць | | | | |
| Контроль (n=8) | 34,5±1,48 | 120±3,67 | 73,2±4,45 | 124±4,01 |
| Ішемія (n=8) | 25,8±3,04 p<0,05 | 97,4±4,07 p<0,005 | 61,7±4,52 p<0,05 | 85,2±6,16 p<0,005 |
| три місяці | | | | |
| Контроль (n=8) | 58,9±2,72 p ₁ <0,005 | 147±7,78 p ₁ <0,01 | 84,4±6,04 | 149±5,61 p ₁ <0,005 |
| Ішемія (n=8) | 26,1±1,51 p<0,005 | 98,2±2,54 p<0,005 | 65,6±4,72 p<0,025 | 79,2±2,39 p<0,005 |

Ішемія повністю усувала вікові відмінності інтенсивності флуоресценції катехоламінів, притаманні контрольним тваринам.

За результатами дослідження можна зробити такі проміжні висновки:

1. У тварин обох вікових груп конститутивні показники інтенсивності флуоресценції катехоламінів характеризуються особливостями структурного розподілу - вони є найвищими в ядрах

гіпоталамуса, центральному ядрі і ядрі кінцевої смужки мигдалеподібного комплексу тварин обох вікових груп.

2. Конститутивна інтенсивність флуоресценції катехоламінів достовірно переважає в усіх ядрах перегородки та мигдалеподібного комплексу мозку, передньої гіпоталамічної ділянки, вентромедіального ядрі гіпоталамуса тримісячних щурів (тобто, у 13-ти з 15-ти досліджених ядер).

3. Двобічна каротидна ішемія мозку викликає зниження інтенсивності флуоресценції катехоламінів в лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку одно- та тримісячних щурів, однак у тварин старшої вікової групи ефекти цього втручання більш виражені.

4. За рахунок більш істотного постішемичного зниження інтенсивності флуоресценції катехоламінів у тримісячних щурів, вікові відмінності після ішемії зберігаються лише в п'яти ядрах із досліджених 15-ти (дорзальному, медіальному, прилеглому ядрах перегородки, паравентрикулярному та преоптико-медіальному ядрах гіпоталамуса).

За матеріалами даного розділу опубліковано статтю:

[208] Тимофійчук І.Р., Пішак В.П., Мислицький В.Ф. Постішемична реорганізація катехоламінергічних систем лімбіко-гіпоталамічних структур мозку та її корекція емоксипіном у щурів різного віку // Клін. та експерим. патол. – 2005. –Т.IV, №2. – С.96-99.

РОЗДІЛ 5

СТАН ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ ТА
АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ЛІМБІКО-ГІПОТАЛАМІЧНИХ
СТРУКТУРАХ МОЗКУ ЩУРІВ З ВІДСТРОЧЕНИМИ НАСЛІДКАМИ
НЕПОВНОЇ ГЛОБАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ

Найважливіші функції нервових клітин – створення та підтримка трансмембранного потенціалу, рецепція та наступна передача сигналу, синтез та регуляторна дія вторинних месенджерів, захват та виділення нейромедіаторів – надзвичайно чутливі до надмірного накопичення в мембранних структурах ендогенних продуктів пероксидного окиснення ліпідів [209].

У відповідності до цього оксидативний стрес розглядається як провідний патогенетичний фактор ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку [210].

Згідно сучасних уявлень активація процесів пероксидного окиснення ліпідів є провідною причиною порушення структури та функції мембран, роз'єднання процесів окиснення і фосфорилування [200].

Разом із тим, збільшення вмісту продуктів пероксидації ліпідів поруч зі змінами вмісту гормонів кори надниркових залоз широко використовують як показник вираженості стрес-реакції, а активацію системи антиоксидантного захисту вважають однією з ключових стрес-лімітуючих ланок організму, функціонування якої знаходиться під модулювальним впливом гормонів стресу.

У зв'язку з цим стан вільнорадикальних процесів та антиоксидантного захисту в тих структурах мозку, які вважаються морфологічним еквівалентом стрес-реакції, може дати характеристику ішемічно-реперфузійного впливу як стресора.

5.1. Вікові та структурні особливості вільнорадикального окиснення ліпідів та активності ферментів антиоксидантного захисту в лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку щурів після неповної глобальної ішемії

Як видно з даних, представлених у табл. 5.1-5.4, в одномісячних тварин найвищим конститутивним вмістом продуктів ліпопероксидації характеризується мигдалеподібний комплекс ядер. Активність ферментів антиоксидантного захисту не мала таких чітких структурних розмежувань. У тримісячних щурів за вмістом дієнових кон'югатів перше місце посіла преоптична ділянка, а за вмістом малонового альдегіду – перегородка мозку. У щурів даної групи, на відміну від одномісячних, антиоксидантна активність мала чіткий зв'язок із рівнем пероксидного окиснення ліпідів – вона також виявилася найвищою в перегородці та преоптичній ділянці.

Ішемія мала суттєвий вплив на показники окисного гомеостазу в лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку тварин обох вікових груп. Звертає на себе увагу досить виражена варіабельність постішемичних змін у досліджених відділах.

У перегородці мозку щурів молодшої вікової групи ішемія знижувала вміст дієнових кон'югатів та активність супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази в 1,3, 1,5, 1,4, 1,3 рази відповідно (табл.5.1).

У тримісячних тварин також знижувалися як інтенсивність ліпопероксидації, так й антиоксидантна активність, однак ці зміни носили дещо інший характер за рахунок більш значних змін антиоксидантної активності. При зменшенні вмісту дієнових кон'югатів в 1,2 рази активність супероксиддисмутази та каталази знижувалась у 2,8 та 4,1 рази відповідно, що свідчить про значне розбалансування прооксидантно-антиоксидантної рівноваги.

Аналіз вікових особливостей конститутивного вмісту продуктів ліпопероксидації та антиоксидантної активності в перегородці мозку

показав значне переважання всіх показників у тримісячних щурів (у 2,2, 1,8, 2,4, 2,0 1,6 раза для дієнових кон'югатів, малонового альдегіду, супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази відповідно.

Таблиця 5.1

Вплив ішемії на вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у перегородці мозку щурів різного віку ($M \pm m$, $n=8$)

| 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) |
| 1 місяць | | | | | |
| Контроль | 5,51±0,42 | 4,24±0,46 | 8,11±0,80 | 2,98±0,30 | 3,77±0,31 |
| Ішемія | 4,23±0,24 $p < 0,025$ | 3,97±0,19 | 5,47±0,46 $p < 0,005$ | 2,09±0,13 $p < 0,025$ | 2,81±0,16 $p < 0,025$ |
| 3 місяці | | | | | |
| Контроль | 11,7±0,18 $p_B < 0,001$ | 7,76±1,12 $p_B < 0,025$ | 19,3±3,53 $p_B < 0,01$ | 6,03±1,12 $p_B < 0,05$ | 6,10±0,52 $p_B < 0,005$ |
| Ішемія | 9,57±0,76 $p < 0,025$ $p_B < 0,001$ | 6,65±0,56 $p_B < 0,005$ | 6,82±1,35 $p < 0,005$ | 1,47±0,17 $p < 0,005$ $p_B < 0,01$ | 5,56±0,29 $p_B < 0,005$ |

Примітки: у всіх таблицях даного підрозділу: достовірність: p – постішемичних змін щодо контролю; p_B - вікової різниці

Після ішемічно-реперфузійного впливу втрачаються вікові відмінності активності супероксиддисмутази. Активність каталази у тримісячних щурів стає нижчою в 1,4 раза. Решта показників у тварин цієї вікової групи залишаються достовірно вищими (в 2,3, 1,7 раза та 2 рази для дієнових кон'югатів, малонового альдегіду та глутатіонпероксидази

відповідно). Таким чином, ішемія до певної міри модифікує вікові характеристики прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу.

У преоптичній ділянці одномісячних щурів ішемія спричинила достовірне зростання (в 1,5 та 1,8 раза відповідно) вмісту дієнових кон'югатів та активності глутатіонпероксидази (табл.5.2).

Таблиця 5.2

Вплив ішемії на вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у преоптичній ділянці щурів різного віку ($M \pm m$, $n=8$)

| 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) |
| 1 місяць | | | | | |
| Контроль | 5,67±0,60 | 2,59±0,36 | 6,49±0,69 | 1,29±0,12 | 3,17±0,26 |
| Ішемія | 8,48±0,36 $p < 0,005$ | 2,09±0,51 | 6,04±1,23 | 1,64±0,57 | 5,61±0,13 $p < 0,01$ |
| 3 місяці | | | | | |
| Контроль | 15,6±1,35 $p_b < 0,001$ | 4,57±0,98 | 35,5±3,11 $p_b < 0,001$ | 7,19±0,70 $p_b < 0,001$ | 9,01±1,25 $p_b < 0,001$ |
| Ішемія | 5,46±0,18 $p < 0,005$ $p_b < 0,001$ | 2,01±0,39 $p < 0,025$ | 6,44±1,04 $p < 0,005$ | 0,97±0,24 $p < 0,005$ | 4,86±0,64 $p < 0,005$ |

У тримісячних щурів реакція на ішемію виявилася більш обширною та глибокою й полягала в зниженні всіх досліджених показників (у 2,8, 2,3, 5,5, 7,4, 1,9 раза відповідно для дієнових кон'югатів, малонового альдегіду, супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази). Знову ж таки звертає на себе увагу переважаюче зниження активності ферментів антиоксидантного захисту.

Що стосується вікових особливостей вільнорадикальних процесів, то вони мали місце лише стосовно конститутивних показників. Як і в перегородці мозку, всі досліджені параметри були вищими у тварин старшої вікової групи в 2,8, 1,8, 5,5, 5,6, 1,9 раза для дієнових кон'югатів, малонового альдегіду, супероксиддисмутази, каталази, та глутатіон-пероксидази. Ішемія усувала вікові відмінності, за винятком дієнових кон'югатів, вміст яких в 1,6 раза став нижчим у тримісячних щурів.

Надзвичайно виражені вікові відмінності в реакції на ішемічно-реперфузійний вплив знайдено в медіобазальному гіпоталамусі (табл 5.3).

Таблиця 5.3

Вплив ішемії на вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у медіобазальному гіпоталамусі щурів різного віку ($M \pm m$, $n=8$)

| 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) | глутатіон-пероксидази (нмоль/хв·мг білка) |
| 1 місяць | | | | | |
| Контроль | 6,59±0,33 | 4,19±0,22 | 7,81±0,40 | 1,50±0,32 | 5,17±0,32 |
| Ішемія | 6,87±0,51 | 4,42±0,32 | 6,68±0,49 | 2,19±0,28 | 5,51±0,27 |
| 3 місяці | | | | | |
| Контроль | 9,95±0,42 $p_B < 0,005$ | 5,64±0,19 $p_B < 0,005$ | 10,5±0,46 $p_B < 0,005$ | 1,71±0,19 | 5,64±0,44 |
| Ішемія | 1,3±0,22 $p < 0,005$ $p_B < 0,005$ | 9,45±0,16 $p < 0,005$ $p_B < 0,005$ | 6,58±0,37 $p < 0,005$ | 1,21±0,13 $p < 0,005$ $p_B < 0,01$ | 4,35±0,77 |

Якщо в одномісячних тварин жодних постішемічних змін не було, то в тримісячних вони були дуже вираженими й полягали в зниженні вмісту дієнових кон'югатів, активності супероксиддисмутази, каталази в 7,6, 1,6,

1,4 раза, зростанні вмісту малонового альдегіду в 1,8 раза.

У тримісячних самців щурів конститутивний вміст дієнових кон'югатів, малонового альдегіду, супероксиддисмутази достовірно (в 1,5, 1,3, 1,3 раза) вищий, ніж в одномісячних. За рахунок постішемичних коливань у щурів старшої вікової групи вміст дієнових кон'югатів та каталази став у 5,3 і 1,8 раза нижчим, вміст малонового альдегіду – у 2,1 раза вищим, ніж в одномісячних, активність супероксиддисмутази втратила вікові відмінності, натомість з'явилася відмінність активності каталази.

У мигдалеподібному комплексі мозку одномісячних щурів реакція на ішемію була незначною (табл.5.4).

Таблиця 5.4

Вплив ішемії на вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у ядрах мигдалеподібного комплексу мозку щурів різного віку ($M \pm m$, $n=8$)

| 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) |
| 1 місяць | | | | | |
| Контроль | 8,74±0,33 | 5,50±0,27 | 7,07±0,50 | 2,27±0,32 | 5,66±0,61 |
| Ішемія | 8,45±0,45 | 5,59±0,27 | 6,74±0,34 | 1,49±0,15 p<0,05 | 5,40±0,46 |
| 3 місяці | | | | | |
| Контроль | 7,28±0,68 p _B <0,05 | 4,40±0,44 p _B <0,05 | 7,27±0,33 | 2,01±0,16 | 5,91±0,49 |
| Ішемія | 11,2±0,33 p<0,005 p _B <0,01 | 6,11±0,23 p<0,005 | 7,07±0,37 | 2,04±0,29 | 5,56±0,24 |

Вона проявлялася зниженням в 1,5 раза активності каталази.

Постішемичні зміни прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в даній структурі тримісячних щурів полягали в зростанні вмісту первинних та вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів в 1,5 та 1,4 раза відповідно. Активність антиоксидантних ферментів не зазнавала достовірних змін.

Вікові відмінності конститутивного вмісту досліджених показників виявлено стосовно дієнових кон'югатів та малонового альдегіду, які були вищими в одномісячних щурів (в 1,2 та 1,3 раза). Ішемія призводила до обмеження вікових відмінностей більш високим вмістом дієнових кон'югатів (в 1,3 раза) у тварин старшої вікової групи.

5.2. Вікові та структурні особливості окиснювальної модифікації білків у лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку щурів після неповної глобальної ішемії

Вивчення впливу ішемії на показники вільнорадикальної модифікації білків показало неоднорідність реакції різних відділів мозку на дане втручання (табл. 5.5 – 5.8).

У перегородці мозку одномісячних щурів (табл. 5.5) внаслідок ішемічно-реперфузійного втручання знизився вміст альдегідо- та кетоніпохідних нейтрального і основного характеру (в 1,2 в обох випадках, $p < 0,05$).

У тварин старшої вікової групи відстрочених наслідків ішемії щодо вмісту модифікованих білків не спостерігалось.

Аналіз вікових відмінностей конститутивного вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків виявив вищий вміст альдегідо- та кетоніпохідних основного характеру в щурів старшої вікової групи (в 1,2 раза, $p < 0,01$). Постішемичний вміст цих продуктів також був вищим (в 1,5 раза, $p < 0,005$) в тримісячних щурів.

Таблиця 5.5

Вплив ішемії на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у перегородці мозку щурів різних вікових груп ($M \pm m$, $n=8$)

| Група спостереження | Вміст альдегідо- та кетонпохідних | |
|---------------------|--|---|
| | нейтрального характеру (о.о.г./г білка, 370 нм) | основного характеру (о.о.г./г білка, 420 нм) |
| 1 місяць | | |
| Контроль | 46,2±1,90 | 14,7±0,79 |
| Ішемія | 40,1±2,68 $p < 0,05$ | 12,1±1,05 $p < 0,05$ |
| 3 місяці | | |
| Контроль | 42,6±0,94 | 17,5±0,57 $p_b < 0,01$ |
| Ішемія | 40,3±1,07 | 18,2±0,44 $p_b < 0,005$ |

Примітки: у всіх таблицях даного підрозділу: достовірність: p – постішемічних змін щодо контролю; p_b - вікової різниці

У преоптичній ділянці одномісячних щурів наслідки ішемії кардинально відрізнялися від тих, що мали місце в перегородці мозку. Незважаючи на деяке зростання альдегідо- та кетонпохідних нейтрального і основного характеру, статистично достовірних змін не виявлено, про що свідчать дані, представлені в табл. 5.6.

У тримісячних щурів у даній структурі достовірно зріс вміст продуктів окиснювальної модифікації білків як нейтрального, так і основного характеру.

Вікові відмінності конститутивного вмісту динітрофенілгідразонів нейтрального та основного характеру полягали у вищому їх рівні в

одномісячних щурів, а ішемія усунула вікові відмінності для обох груп продуктів.

Таблиця 5.6

Вплив ішемії на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у преоптичній ділянці мозку щурів різних вікових груп ($M \pm m$, $n=8$)

| Група спостереження | Вміст альдегідо- та кетоніпохідних | |
|---------------------|--|---|
| | нейтрального характеру (о.о.г./г білка, 370 нм) | основного характеру (о.о.г./г білка, 420 нм) |
| 1 місяць | | |
| Контроль | 38,0±1,30 | 16,7±0,55 |
| Ішемія | 41,8±2,12 | 17,6±0,82 |
| 3 місяці | | |
| Контроль | 35,3±0,62 $p_{\text{в}} < 0,05$ | 15,2±0,29 $p_{\text{в}} < 0,025$ |
| Ішемія | 40,3±1,07 $p < 0,01$ | 17,8±0,48 $p < 0,005$ |

Ще іншою, ніж у перегородці та преоптичній ділянці, була картина в медіобазальному гіпоталамусі одномісячних щурів. У цій структурі ми не спостерігали жодних відстрочених наслідків ішемічно-реперфузійного втручання (табл. 5.7).

У тримісячних щурів ішемія спричинила достовірне зростання вмісту альдегідо- та кетоніпохідних нейтрального характеру.

За конститутивним вмістом продукти окиснювальної модифікації білків нейтрального та основного характеру достовірно переважали в медіобазальному гіпоталамусі одномісячних щурів. Ішемія усунула вікові відмінності вмісту альдегідо- та кетоніпохідних нейтрального характеру, а

постішемичний вміст продуктів основного характеру залишався вищим в одномісячних тварин.

Таблиця 5.7

Вплив ішемії на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у медіобазальному гіпоталамусі мозку щурів різних вікових груп ($M \pm m$, $n=8$)

| Група спостереження | Вміст альдегідо- та кетонпохідних | |
|---------------------|--|---|
| | нейтрального характеру (о.о.г./г білка, 370 нм) | основного характеру (о.о.г./г білка, 420 нм) |
| 1 місяць | | |
| Контроль | 42,6±0,94 | 17,5±0,57 |
| Ішемія | 40,3±1,07 | 18,2±0,44 |
| 3 місяці | | |
| Контроль | 35,9±0,61 $p_B < 0,005$ | 15,3±0,49 $p_B < 0,01$ |
| Ішемія | 40,2±1,07 $p < 0,01$ | 15,9±0,34 $p_B < 0,005$ |

У мигдалеподібному комплексі щурів молодшої вікової групи ішемічно-реперфузійне втручання спричинило достовірне накопичення альдегідо- та кетонпохідних основного характеру (табл.5.8). Вміст продуктів нейтрального характеру мав тенденцію до зростання, однак зміни не набули достовірного характеру.

У тримісячних щурів постішемичні зміни носили більш виражений характер та протилежне спрямування – вміст продуктів окиснювальної модифікації білків як нейтрального, так і основного характеру достовірно знизився.

Таблиця 5.8

Вплив ішемії на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у мигдалеподібному комплексі мозку щурів різних вікових груп ($M \pm m$, $n=8$)

| Група спостереження | Вміст альдегідо- та кетонпохідних | |
|---------------------|--|---|
| | нейтрального характеру (о.о.г./г білка, 370 нм) | основного характеру (о.о.г./г білка, 420 нм) |
| один місяць | | |
| Контроль | 42,4±0,28 | 17,4±0,29 |
| Ішемія | 44,1±1,97 | 19,1±1,11 $p < 0,05$ |
| три місяці | | |
| Контроль | 42,5±0,99 | 17,9±0,42 |
| Ішемія | 38,8±1,04 $p < 0,05$ $p_B < 0,05$ | 15,8±0,69 $p < 0,01$ $p_B < 0,005$ |

Конститутивний вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у щурів даних вікових груп не відрізнявся. Ішемія спричинила появу достовірних вікових відмінностей, які полягали в більшому вмісті альдегідо- і кетонпохідних нейтрального та основного характеру в одномісячних щурів.

Аналіз результатів, викладених у даному розділі, дозволяє зробити проміжні висновки:

- У всіх досліджених структурах мозку, за винятком мигдалеподібного комплексу, конститутивний вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність ферментів антиоксидантного захисту значно вищі в тримісячних щурів. У ядрах мигдалеподібного комплексу вікові відмінності конститутивних показників полягають у вищому вмісті продуктів ліпопероксидації в одномісячних тварин.

2. У щурів старшої вікової групи, на відміну від одномісячних, конститутивна антиоксидантна активність має чіткий позитивний зв'язок з рівнем пероксидного окиснення ліпідів.

3. Відстрочені постішемичні зміни проокисно-антиоксидантного гомеостазу в структурах лімбіко-гіпоталамічного комплексу щурів обох вікових груп характеризуються регіонарними особливостями.

4. Серед досліджених структур мозку за показниками ліпопероксидації та активності антиоксидантних ферментів найбільш чутливими до дії ішемії-реперфузії є перегородка мозку тварин обох вікових груп та преоптична ділянка і медіобазальний гіпоталамус тримісячних щурів.

5. За кількістю та глибиною змін відстрочені наслідки ішемії значно домінують у тварин старшої вікової групи.

6. У тримісячних щурів постішемичне пригнічення активності антиоксидантних ферментів істотно переважає над змінами вмісту продуктів ліпопероксидації.

7. В одномісячних тварин за вразливістю білків до окиснювальної модифікації найбільш чутливою виявилася перегородка мозку, у тримісячних – преоптична ділянка та мигдалеподібний комплекс.

8. За вираженістю та глибиною постішемичні зміни окиснювальної модифікації білків переважають у тварин старшої вікової групи.

9. Вираженість постішемичних змін окиснювальної модифікації білків та їх вікові особливості не мають чіткого зв'язку з конститутивним вмістом цих продуктів.

10. Структурні та вікові особливості реагування на ішемичні впливи свідчать про важливу роль місцевих механізмів у накопиченні продуктів окиснювальної модифікації білків та їх вікову еволюцію.

За результатами дослідження опубліковано наступні роботи:

[212] Тимофійчук І.Р. Вікові особливості постішемичних проокисно-антиоксидантних взаємовідносин у структурах лімбіко-гіпоталамічного комплексу щурів //Клін. та експерим. патол. – 2004. –Т.III, №2, Ч.1. – С.165-167.

[213] Тимофійчук І.Р. Характеристика модулюючого впливу ішемії на постішемичні показники окиснювальної модифікації білків у лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку щурів // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія медицина. – 2004. – вип.23. – С. 26-29.

[214] Тимофійчук І.Р., Пішак В.П., Ткачук С.С., Мислицький В.Ф., Кісілюк В.Л. Деякі біохімічні кореляти вікової чутливості окремих структур мозку до неповної глобальної ішемії // Бук. мед. вісник. –2005. – Т.9, № 3-4. – С. 201-203.

[215] Тимофійчук І.Р. Характеристика чутливості деяких структур проміжного мозку щурів до ішемії за показниками вільнорадикальної модифікації білків // 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 6

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ НЕПОВНОЇ ГЛОБАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ
МОЗКУ НА СТАН ТКАНИННОГО ПРОТЕОЛІЗУ ТА ФІБРИНОЛІЗУ В
ЛІМБІКО-ГІПОТАЛАМІЧНИХ СТРУКТУРАХ МОЗКУ

Як надмірна активація, так і пригнічення тканинного протеолізу та фібринолізу може бути важливим чинником патогенезу багатьох пошкоджень нервової тканини [216]. Результати сучасних досліджень не залишають сумніву в тому, що реакція протеолітичних систем організму є неодмінною складовою будь-якої стрес-реакції та надійним її маркером [217]. Тканинна фібринолітична активність відіграє надзвичайно важливу роль у процесах деструкції клітин при ішемії, ангіогенезі та ремодуляції судин [218]. Протеолітична система організму юєре активну участь у регуляції кровообігу та кровопостачання різних органів, у тому числі, головного мозку [219]. Важливу роль тканинна протео- та фібринолітична активність відіграє в механізмах селективної чутливості тканин мозку до ішемії [220]. Особливо небезпечним для нервової тканини є порушення рівноваги в системі протеази-антипротеази [221].

У проаналізованій літературі нами не виявлено характеристик постішемічного стану систем протеолізу та фібринолізу в структурах мозку, які є морфологічними субстратами стрес-реакції. Тому ми провели дослідження відстрочених наслідків ішемічно-реперфузійних ушкоджень лімбіко-гіпоталамічних структур мозку за показниками фібрино- та протеолітичної активності та їх вікових особливостей. Отримані результати представлені в табл. 6.1 – 6.8.

У перегородці мозку одномісячних щурів (табл. 6.1) відстрочені постішемічні зміни полягали в зростанні сумарної, неферментативної та ферментативної фібринолітичної активності в 1,6, 1,5, 1,6 раза відповідно.

Таблиця 6.1

Вплив ішемії на показники тканинного фібринолізу в перегородці мозку щурів різного віку ($M \pm m$, $n=8$)

| Група спостереження | Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год) | Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год) | Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год) |
|---------------------|---|---|---|
| 1 місяць | | | |
| Контроль | 37,6±2,85 | 18,7±2,18 | 19,0±2,12 |
| Ішемія | 60,0±4,41 p<0,005 | 28,9±1,94 p<0,005 | 31,1±2,47 p<0,005 |
| 3 місяці | | | |
| Контроль | 40,7±2,87 | 18,7±1,44 | 22,0±1,51 |
| Ішемія | 48,4±2,74 p<0,05 p _в <0,05 | 22,8±1,39 p<0,05 p _в <0,025 | 25,9±1,30 p<0,05 p _в <0,05 |

Примітки: у всіх таблицях даного підрозділу: достовірність: p – постішемичних змін щодо контролю; p_в - вікової різниці

У тварин тримісячного віку в даній структурі також мало місце постішемичне зростання всіх показників фібринолітичної активності (в 1,2 раза для сумарної, неферментативної та ферментативної фібринолітичної активності, p<0,05 в усіх випадках).

За конститутивними параметрами фібринолітичної активності не виявлено жодних вікових відмінностей, однак ішемія спричинила їх появу. Постішемичні показники сумарної, неферментативної та ферментативної

фібринолітичної активності були вищими в одномісячних щурів в 1,2, 1,3, 1,2 раза відповідно.

Внаслідок ішемічно-реперфузійного втручання в перегородці мозку одномісячних тварин достовірно зростали показники протеолітичної активності (в 1,2, 1,4, 1,3 раза для низькомолекулярних, високомолекулярних білків та колагену відповідно).

Таблиця 6.2

Вплив ішемії на показники тканинного протеолізу в перегородці мозку щурів різного віку ($M \pm m$, $n=8$)

| Група спостереження | Лізис низькомолекулярних білків (мкг азоальбуміну/г тканини за год) | Лізис високомолекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год) | Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за год) |
|---------------------|---|---|---|
| 1 місяць | | | |
| Контроль | 246±10,9 | 197±12,6 | 17,5±1,11 |
| Ішемія | 289±17,4 $p < 0,05$ | 285±21,9 $p < 0,005$ | 23,5±2,45 $p < 0,05$ |
| 3 місяці | | | |
| Контроль | 220±14,6 | 168±12,4 | 11,2±1,53 $p_B < 0,005$ |
| Ішемія | 203±16,5 $p_B < 0,005$ | 160±12,3 $p_B < 0,001$ | 13,6±0,80 $p_B < 0,005$ |

Цікаво, що при тотальних постішемічних змінах у тварин молодшої вікової групи, у тримісячних щурів інтенсивність протеолізу за жодним із визначених показників вірогідних змін не зазнала (табл. 6.2).

Вікові відмінності конститутивних показників протеолітичної активності мали місце лише стосовно лізису колагену, який виявився в 2,1 раза вищим в одномісячних щурів.

За рахунок виражених постішемичних змін досліджених показників у тварин молодшої вікової групи за відсутності подібних у старших тварин виникли високодостовірні вікові відмінності по всіх досліджених параметрах. Лізис азоальбуміну, азоказеїну, азоколу був вищим в одномісячних щурів в 1,4, 1,8, 1,7 раза відповідно.

У преоптичній ділянці одномісячних щурів ішемія не справила достовірних впливів на показники фібринолітичної активності (табл. 6.3).

Таблиця 6.3

Вплив ішемії на показники тканинного фібринолізу в преоптичній ділянці мозку щурів різного віку ($M \pm m$, $n=8$)

| Група спостереження | Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год) | Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год) | Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год) |
|---------------------|---|---|---|
| 1 місяць | | | |
| Контроль | 49,8±2,68 | 23,5±1,71 | 26,1±1,50 |
| Ішемія | 50,0±4,00 | 27,8±2,29 | 22,2±1,87 |
| 3 місяці | | | |
| Контроль | 38,6±2,90 $p_B < 0,025$ | 19,1±1,56 $p_B < 0,05$ | 19,4±1,86 $p_B < 0,025$ |
| Ішемія | 34,5±2,11 $p_B < 0,005$ | 22,5±1,27 $p_B < 0,005$ | 12,2±1,60 $p < 0,01$ $p_B < 0,001$ |

У тримісячних щурів зміни також були необширними і полягали

лише в зниженні в 1,6 раза ферментативної фібринолітичної активності.

У цій ділянці мозку вираженими були вікові відмінності як конститутивних, так і постішемічних показників обмеженого тканинного фібринолізу. Ті й інші значно переважали в щурів молодшої вікової групи. Це переважання щодо сумарного, неферментативного та ферментативного фібринолізу становило 1,3, 1,2, 1,3 раза для конститутивних показників та 1,4, 1,2, 1,8 раза – для постішемічних.

Характеристика відстрочених постішемічних змін обмеженого тканинного протеолізу в преоптичній ділянці представлена в табл. 6.4.

Таблиця 6.4

Вплив ішемії на показники тканинного протеолізу в преоптичній ділянці мозку щурів різного віку ($M \pm m$, $n=8$)

| Група спостереження | Лізис низькомолекулярних білків (мкг азоальбуміну/г тканини за год) | Лізис високомолекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год) | Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за год) |
|---------------------|---|---|---|
| 1 місяць | | | |
| Контроль | 252±10,6 | 179±6,6 | 26,8±2,50 |
| Ішемія | 212±14,0 $p < 0,005$ | 162±7,9 | 13,4±1,25 $p < 0,005$ |
| 3 місяці | | | |
| Контроль | 233±13,3 | 198±12,4 | 18,6±1,57 $p_B < 0,025$ |
| Ішемія | 181±16,5 $p < 0,025$ | 134±13,3 $p < 0,005$ | 10,5±1,09 $p < 0,005$ |

В одномісячних щурів вони полягали в достовірному зниженні лізису низькомолекулярних білків (в 1,2 раза) та колагену (в 2 рази).

У тварин старшої вікової групи виявлено більш обширні зміни, які проявилися зниженням лізису низькомолекулярних, високомолекулярних білків та колагену в 1,3, 1,5, 1,8 раза відповідно.

Не виявлено суттєвих вікових відмінностей досліджуваних показників. Вони обмежувалися більш низьким (в 1,4 раза) конститутивним лізисом азоколу в тримісячних щурів.

У таблиці 6.5 наведено дані стосовно вікових особливостей впливу ішемії на обмежену тканинну фібринолітичну активність у медіобазальному гіпоталамусі.

Таблиця 6.5

Вплив ішемії на показники тканинного фібринолізу в медіобазальному гіпоталамусі щурів різного віку ($M \pm m$, $n=8$)

| Група спостереження | Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год) | Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год) | Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год) |
|---------------------|---|---|---|
| 1 місяць | | | |
| Контроль | 37,3±2,16 | 19,4±1,28 | 17,9±1,88 |
| Ішемія | 38,8±2,84 | 18,9±1,40 | 19,9±1,48 |
| 3 місяці | | | |
| Контроль | 31,6±2,60 | 15,7±1,11 $p_B < 0,05$ | 15,9±1,62 |
| Ішемія | 25,4±2,21 $p < 0,05$ $p_B < 0,005$ | 12,5±1,22 $p < 0,05$ $p_B < 0,005$ | 12,9±1,38 $p_B < 0,025$ |

Представлені дані свідчать, що в одномісячних щурів ішемічно-реперфузійні впливи не мали жодних відстрочених наслідків щодо вивчених показників. У той же час у тримісячних щурів постішемічні

зміни досить виражені, про що свідчить достовірне зниження сумарної та неферментативної фібринолітичної активності в 1,2 та 1,3 раза відповідно.

Відмінності конститутивних показників у тварин досліджуваних вікових груп достовірними виявилися лише для неферментативної фібринолітичної активності, нижчої в старших тварин. У той же час постішемні вікові відмінності стосувалися всіх показників фібринолітичної активності та були нижчими у щурів старшого віку в 1,5 раза у всіх випадках.

Наслідки впливу ішемії-реперфузії на показники тканинної протеолітичної активності в медіобазальному гіпоталамусі представлено в табл. 6.6.

Таблиця 6.6

Вплив ішемії на показники тканинного протеолізу в медіобазальному гіпоталамусі щурів різного віку ($M \pm m$, $n=8$)

| Група спостереження | Лізис низькомолекулярних білків (мкг азоальбуміну/г тканини за год) | Лізис високомолекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год) | Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за год) |
|---------------------|---|---|---|
| 1 місяць | | | |
| Контроль | 249±23,9 | 174±16,3 | 12,1±2,20 |
| Ішемія | 286±17,3 | 221±9,11 $p < 0,05$ | 13,3±1,53 |
| 3 місяці | | | |
| Контроль | 264±11,9 | 199±12,58 | 17,9±1,50 $p_b < 0,05$ |
| Ішемія | 214±17,5 $p_1 < 0,05$ $p_b < 0,01$ | 174±11,8 $p_b < 0,01$ | 12,9±1,0 $p_1 < 0,025$ |

В одномісячних щурів вони представлені зростанням в 1,3 раза ($p < 0,05$) лізису високомолекулярних білків. У тримісячних тварин мали

місце більш обширні зміни, які полягали в зниженні лізису низькомолекулярних білків (в 1,2 раза, $p < 0,05$) та колагену (в 1,4 раза, $p < 0,05$).

Що стосується вікових відмінностей конститутивних показників, то вони виявлені лише стосовно лізису азоколу, який був вищим у тримісячних тварин в 1,5 раза. Ішемія спричиняє появу вікової різниці між лізисом низько- та високомолекулярних білків за рахунок переважання цих показників в одномісячних щурів (в 1,3 раза в обох випадках, $p < 0,01$).

У мигдалеподібному комплексі ядер одномісячних щурів постішемічних змін зазнали всі досліджені показники тканинної фібринолітичної активності (табл. 6.7).

Таблиця 6.7

Вплив ішемії на показники тканинного фібринолізу в мигдалеподібному комплексі мозку щурів різного віку ($M \pm m$, $n=8$)

| Група спостереження | Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год) | Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год) | Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год) |
|---------------------|---|---|---|
| 1 місяць | | | |
| Контроль | 62,6±5,31 | 30,3±2,87 | 35,3±1,90 |
| Ішемія | 48,3±3,05 $p < 0,025$ | 22,1±2,00 $p < 0,025$ | 26,2±2,41 $p < 0,01$ |
| 3 місяці | | | |
| Контроль | 53,9±2,95 | 26,0±1,34 | 28,9±1,68 $p_b < 0,05$ |
| Ішемія | 45,1±2,29 $p < 0,025$ | 22,1±1,56 $p < 0,05$ | 23,0±2,02 $p < 0,05$ |

Сумарна, неферментативна та ферментативна фібринолітична активність достовірно знизилась в 1,3, 1,4, 1,3 раза відповідно.

У тварин тримісячного віку зміни фібринолітичної активності в мигдалику також проявлялися зниженням сумарної, неферментативної та ферментативної фібринолітичної активності (в 1,2, 1,2, 1,3 раза відповідно).

Вікові відмінності виявлено лише стосовно конститутивного показника ферментативної фібринолітичної активності. Постішемичні показники стану фібринолізу у тварин досліджених вікових груп не відрізнялися.

Результати дослідження постішемичних змін протеолітичної активності в мигдалеподібному комплексі представлено в табл. 6.8.

Таблиця 6.8

Вплив ішемії на показники тканинного протеолізу в мигдалеподібному комплексі мозку щурів різного віку ($M \pm m$, $n=8$)

| Група спостереження | Лізис низькомолекулярних білків (мкг азоальбуміну/г тканини за год) | Лізис високомолекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год) | Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за год) |
|---------------------|---|---|---|
| 1 місяць | | | |
| Контроль | 287±10,5 | 231±17,2 | 21,1±2,09 |
| Ішемія | 228±15,1 p<0,01 | 196±12,2 | 14,5±1,60 p<0,005 |
| 3 місяці | | | |
| Контроль | 202±2,95 p _в <0,005 | 126±11,3 p _в <0,005 | 11,6±0,97 p _в <0,005 |
| Ішемія | 252±16,5 p<0,025 | 189±14,2 p<0,01 | 15,8±1,02 p<0,01 |

В одномісячних щурів внаслідок ішемічно-реперфузійного втручання відбулося зниження лізису низькомолекулярних білків та колагену в 1,3 та 1,5 раза відповідно.

У тримісячних щурів у даній структурі зміни носили тотальний характер і були протилежними до змін в одномісячних тварин - лізис азоальбуміну, азоказеїну та азоколу зріс в 1,2, 1,2, 1,4 раза.

Вікові відмінності конститутивних показників активності тканинного протеолізу мали місце стосовно всіх досліджених параметрів та були високодостовірними. Лізис низько-, високомолекулярних білків та колагену виявився в 1,4, 1,8, 1,8 раза вищим в одномісячних щурів. Відповідні постішемичні параметри були однаковими, тобто, ішемія усувала вікові відмінності.

На основі приведених у даному розділі результатів можна сформулювати проміжні висновки:

1. Вікові відмінності конститутивної фібринолітичної активності добре виражені в преоптичній ділянці, а протеолітичної – в преоптичній ділянці та мигдалику. У решти структур вони відсутні або кількісно обмежені одним показником.

2. Постішемичні вікові відмінності фібринолітичної активності більш обширні і мають місце в перегородці, преоптичній ділянці та медіобазальному гіпоталамусі. Після ішемії вікові відмінності протеолітичної активності зазнають структурної реверсії, зникаючи в преоптичній ділянці та мигдалику і з'являючись у перегородці мозку та медіобазальному гіпоталамусі.

3. Неповна глобальна ішемія мозку істотно порушує фібринолітичну активність у перегородці мозку й мигдалику одномісячних щурів та в усіх досліджених структурах тварин старшої вікової групи за винятком преоптичної ділянки.

4. Постішемичні зміни протеолітичної активності виражені в перегородці мозку, преоптичній ділянці, мигдалику одномісячних тварин

та в преоптичній ділянці, медіобазальному гіпоталамусі, мигдалику - тримісячних.

5. Структурні відмінності реагування на ішемію за показниками фібринолітичної активності у тварин представлених вікових груп виявлено у медіобазальному гіпоталамусі, де зміни в одномісячних щурів були відсутніми, а в тримісячних мало місце зниження фібринолітичної активності. У решті структур зміни були односпрямованими.

6. Протеолітична активність зазнала різноспрямованих змін у медіобазальному гіпоталамусі та мигдалику тварин різного віку, в перегородці одномісячних щурів протеолітична активність зростала, а в тримісячних – змін не було. У преоптичній ділянці зміни були односпрямованими.

За результатами досліджень, представлених у даному розділі, опубліковано наступні роботи:

[222] Тимофійчук І.Р. Вікові особливості впливу емоксипіну на постішемичні зміни фібрино- та протеолітичної активності в структурах проміжного мозку щурів // Бук. мед. вісник.- 2004.- Т.8, № 3-4.- С. 280-284.

[223] Тимофійчук І.Р. Вплив емоксипіну на деякі відстрочені наслідки ішемічно-реперфузійного пошкодження 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. 90.

РОЗДІЛ 7

ВПЛИВ ЕМОКСИПІНУ НА ДЕЯКІ НЕЙРОХІМІЧНІ ТА БІОХІМІЧНІ
ПОКАЗНИКИ СТРЕС-РЕАКТИВНОСТІ ПРИ НЕПОВНІЙ ГЛОБАЛЬНІЙ
ІШЕМІЇ МОЗКУ

Введення розчинника (фізіологічний розчин) не викликало вірогідних змін досліджуваних показників, тому надалі в усіх таблицях цього розділу наводиться одна група контрольних тварин.

Порівняльний аналіз стану катехоламінергічної системи лімбіко-гіпоталамічних структур у тварин, які зазнали впливу ішемії без корекції та на тлі введення емоксипіну представлено в табл. 7.1 – 7.5.

В ядрах стріарної групи перегородки мозку одномісячних щурів емоксипін мав яскраво виражений протекторний ефект (табл. 7.1). Про це свідчить те, що у групі щурів, які зазнали корекції ішемічних впливів емоксипіном, у дорзальному та медіальному ядрах інтенсивність флуоресценції катехоламінів достовірно не відрізнялася від показників у контрольних тварин, зате у порівнянні з постішемічними показниками без корекції вона була вищою в 1,4 та в 1,8 раза. У латеральному ядрі постішемічні зміни на тлі використання емоксипіну зберігалися, проте різниця у порівнянні з контролем зменшувалася з 1,8 до 1,2 раза, що свідчить про часткову нормалізацію показника.

Емоксипін суттєво зменшував вплив ішемії також у тримісячних щурів, хоча у цій віковій групі його ефект був менш вираженим. Препарат запобігав розвитку постішемічних змін лише в медіальному ядрі перегородки (у порівнянні з ішемією інтенсивність флуоресценції в цій структурі зростала в 1,8 раза). У дорзальному та латеральному ядрах постішемічне падіння рівня флуоресценції на тлі емоксипіну зберігалось й становило 1,2 та 1,4 раза відповідно, однак стосовно контрольних показників воно зменшувалося з 1,7 та 1,9 до 1,4 раза в обох структурах.

Таблиця 7.1

Вплив емоксипіну на інтенсивність флуоресценції катехоламінів (умовні одиниці) в ядрах стріарної групи перегородки ($M \pm m$)

| Група спостереження | Назва ядра | | |
|---------------------|--|---|------------------------------------|
| | дорзальне | латеральне | медіальне |
| один місяць | | | |
| Контроль (n=10) | 62,4±6,79 | 76,8±6,18 | 35,8±2,23 |
| Ішемія (n=8) | 38,3±3,12 p<0,005 | 43,2±3,78 p<0,005 | 20,8±2,45 p<0,005 |
| Корекція (n=8) | 52,5±3,95 p ₁ <0,005 | 60,7±2,77 p<0,005 p ₁ <0,01 | 37,9±2,68 p ₁ <0,005 |
| три місяці | | | |
| Контроль (n=10) | 84,9±5,28 | 97,4±3,73 | 60,8±5,33 |
| Ішемія (n=8) | 50,4±2,79 p<0,005 | 51,9±3,15 p<0,005 | 29,7±2,27 p<0,005 |
| Корекція (n=8) | 60,3±3,04 p<0,05 p ₁ <0,025 | 71,9±2,72 p<0,005 p ₁ <0,005 | 53,6±3,19 p ₁ <0,005 |

Примітки: у всіх таблицях даного підрозділу: достовірність: p – змін щодо контролю; p₁ – змін стосовно постішемичних показників

В ядрах ретикулярної групи перегородки тварин молодшої вікової групи антиішемичний ефект емоксипіну був стовідсотковим - всі показники залишалися на рівні контрольних (табл. 7.2). При цьому зростання рівня флуоресценції стосовно ішемії склало 1,3, 1,8, 1,3 рази для прилеглого ядра, ядер ложа термінальної смужки та діагональної зв'язки.

У тримісячних щурів препарат дозволяв уникнути наслідків ішемії лише в ядрі ложа термінальної смужки. У прилеглому ядрі та ядрі

діагональної зв'язки інтенсивність флуоресценції була нижчою стосовно контролю в 1,3 та 1,2 раза відповідно та вищою по відношенню до постішемичних змін в 1,2 та 1,6 раза, що свідчить про частковий превентивний ефект препарату.

Таблиця 7.2

Вплив емоксипіну на інтенсивність флуоресценції катехоламінів (умовні одиниці) в ядрах ретикулярної групи перегородки ($M \pm m$)

| Група спостереження | Назва ядра | | |
|---------------------|---|------------------------------------|---|
| | прилегле | ложа термінальної смужки | діагональної зв'язки |
| один місяць | | | |
| Контроль (n=10) | 57,5±3,01 | 49,3±5,43 | 56,9±2,75 |
| Ішемія (n=8) | 40,7±2,52 p<0,005 | 29,0±5,55 p<0,025 | 42,7±3,14 p<0,005 |
| Корекція (n=8) | 51,5±3,39 p ₁ <0,005 | 50,8±3,54 p ₁ <0,005 | 56,4±4,35 p ₁ <0,01 |
| три місяці | | | |
| Контроль (n=10) | 79,1±2,40 | 68,8±2,59 | 78,7±2,58 |
| Ішемія (n=8) | 48,6±2,53 p<0,005 | 38,5±1,69 p<0,005 | 46,0±3,85 p<0,005 |
| Корекція (n=8) | 60,3±2,86 p<0,005 p ₁ <0,005 | 59,8±4,98 p ₁ <0,005 | 67,1±3,21 p<0,025 p ₁ <0,005 |

У паравентрикулярному та преоптико-медіальному ядрах переднього гіпоталамуса одномісячних щурів емоксипін достовірно підвищував (в 1,3 та 1,1 раза) знижену ішемією інтенсивність флуоресценції катехоламінів, не повертаючи, однак, її до контрольних величин (табл. 7.3).

На незмінений ішемією вміст катехоламінів у преоптико-латеральному ядрі емоксипін також не справляв ніякого впливу, що

свідчить про його вибіркочу тропність до тих параметрів, які зазнали змін.

Таблиця 7.3

Вплив емоксипіну на інтенсивність флуоресценції катехоламінів (умовні одиниці) в ядрах переднього гіпоталамуса ($M \pm m$)

| Група спостереження | Назва ядра | | |
|---------------------|--|---|---|
| | паравентрикулярне | преоптико-медіальне | преоптико-латеральне |
| один місяць | | | |
| Інтактні (n=9) | 276±7,04 | 276±5,51 | 180±7,27 |
| Ішемія (n=8) | 223±7,39 p<0,005 | 219±8,75 p<0,005 | 186±5,51 |
| Корекція (n=8) | 254±5,30 p<0,005 p ₁ <0,005 | 246±3,90 p<0,005 p ₁ <0,01 | 195±6,88 |
| три місяці | | | |
| Інтактні (n=9) | 325±8,47 | 316±13,3 | 227±8,13 |
| Ішемія (n=8) | 249±4,92 p<0,005 | 240±5,55 p<0,005 | 187±5,41 p<0,005 |
| Корекція (n=8) | 273±4,25 p<0,005 p ₁ <0,005 | 250±6,15 p<0,005 | 206±6,41 p<0,05 p ₁ <0,025 |

У щурів тримісячного віку корегуючий ефект емоксипіну мав структурні відмінності від ефекту в одномісячних тварин. Препарат зменшував наслідки ішемії-реперфузії в паравентрикулярному та преоптико-латеральному ядрах і не мав жодного впливу в преоптико-медіальному ядрі, незважаючи на наявність у цій структурі виражених постішемичних змін.

В аркуатному ядрі гіпоталамуса одномісячних щурів емоксипін зменшував вплив ішемії на інтенсивність флуоресценції катехоламінів, хоча різниця з контрольними показниками залишалася достовірною (табл. 7.4).

Таблиця 7.4

Вплив емоксипіну на інтенсивність флуоресценції катехоламінів (умовні одиниці) в аркуатному та вентромедіальному ядрах гіпоталамуса ($M \pm m$)

| Група спостереження | Назва ядра | |
|---------------------|---|--|
| | аркуатне | вентромедіальне |
| один місяць | | |
| Контроль (n=10) | 236±10,5 | 175±4,13 |
| Ішемія (n=8) | 197±4,57 p<0,005 | 181±6,30 |
| Корекція (n=8) | 212±3,80 p<0,05 p ₁ <0,025 | 197±6,88 p<0,025 p ₁ <0,025 |
| три місяці | | |
| Контроль (n=10) | 265±14,23 | 208±5,16 |
| Ішемія (n=8) | 210±7,48 p<0,005 | 177±6,72 p<0,005 |
| Корекція (n=8) | 217±4,90 p<0,005 | 202±6,93 p ₁ <0,025 |

У вентромедіальному ядрі вплив препарату взагалі виявився несподіваним: незважаючи на відсутність постішемічних змін, емоксипін достовірно збільшував вміст катехоламінів стосовно контролю та ішемії.

У тримісячних щурів введення препарату запобігало розвитку постішемічних змін у вентромедіальному ядрі та не справляло жодного впливу в аркуатному.

В усіх ядрах мигдалеподібного комплексу тварин молодшої вікової групи емоксипін підвищував постішемічний вміст катехоламінів (табл.7.5).

Таблиця 7.5

Вплив емоксипіну на інтенсивність флуоресценції катехоламінів
(умовні одиниці) в ядрах мигдалика ($M \pm m$)

| Група спостереження | Назва ядра | | | |
|---------------------|---|--|------------------------------------|---|
| | кортико-медіальне | центральне | базолатеральне | кінцева смужка |
| один місяць | | | | |
| Контроль (n=8) | 34,5±1,48 | 120±3,67 | 73,2±4,45 | 124±4,01 |
| Ішемія (n=8) | 25,8±3,04 | 97,4±4,07 p<0,005 | 61,7±4,52 p<0,05 | 85,2±6,16 p<0,005 |
| Корекція (n=8) | 38,3±3,41 p ₁ <0,025 | 118±3,98 p ₁ <0,005 | 76,9±3,39 p ₁ <0,025 | 113±7,79 p ₁ <0,01 |
| три місяці | | | | |
| Контроль (n=8) | 58,9±2,72 | 147±7,78 | 84,4±6,04 | 149±5,61 |
| Ішемія (n=8) | 26,1±1,51 p<0,005 | 98,2±2,54 p<0,005 | 65,6±4,72 p<0,025 | 79,2±2,39 p<0,005 |
| Корекція (n=8) | 44,1±3,12 p<0,005 p ₁ <0,005 | 126±5,21 p<0,025 p ₁ <0,005 | 91,3±3,11 p ₁ <0,005 | 131±8,22 p<0,05 p ₁ <0,005 |

Це підвищення становило 1,5, 1,2, 1,2, 1,3 раза для кортико-медіального, центрального, базолатерального ядер та ядра кінцевої смужки відповідно, що усувало відмінності з показниками в контрольних тварин.

У тримісячних щурів повний превентивний ефект щодо рівня флуоресценції катехоламінів емоксипін мав лише в базолатеральному ядрі (цей показник зростав у порівнянні з постішемічним в 1,4 раза). У кортико-

медіальному, центральному ядрах та ядрі кінцевої смужки препарат наближав інтенсивність флуоресценції катехоламінів до контрольного рівня за рахунок її зростання в 1,7, 1,3, 1,7 раза відповідно, однак повного відновлення показників не спостерігалось.

7.2. Особливості впливу емоксипіну на показники інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів та активність ферментів антиоксидантного захисту в лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку щурів різного віку

У перегородці мозку одномісячних щурів введення емоксипіну повністю запобігало зниженню активності супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази в постішемичному періоді (табл. 7.6).

Таблиця 7.6

Вплив емоксипіну на постішемичний вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у перегородці мозку 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 | 5,51±0,42 | 4,24±0,46 | 8,11±0,80 | 2,98±0,30 | 3,77±0,31 |
| Ішемія | 4,23±0,24 $p < 0,025$ | 3,97±0,19 | 5,47±0,46 $p < 0,005$ | 2,09±0,13 $p < 0,025$ | 2,81±0,16 $p < 0,025$ |
| Корекція | 4,93±0,37 | 3,61±0,61 | 8,64±0,28 $p_1 < 0,005$ | 3,63±0,28 $p_1 < 0,005$ | 4,34±0,18 $p_1 < 0,005$ |

Примітки: у всіх таблицях даного підрозділу: зміни, достовірні у порівнянні: p - із показниками в контрольних тварин; p_1 - з постішемичними показниками

По відношенню до постішемичних показників активність цих ферментів стала вищою 1,6, 1,7, 1,5 раза для супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази відповідно ($p < 0,005$ в усіх випадках).

Достовірне зниження вмісту дієнових кон'югатів, яке відбулося під впливом ішемії, препарат не відновлював, однак значно наближав до контрольного рівня.

Препарат не мав впливу на вміст малонового альдегіду, який не зазнавав постішемичних змін.

У тримісячних щурів емоксипін переважно посилював вплив ішемії на досліджені показники ліпопероксидації та антиоксидантного захисту (табл. 7.7).

Таким чином, в перегородці мозку вплив емоксипіну у тварин обраних вікових груп носив переважно протилежний характер.

Таблиця 7.7

Вплив емоксипіну на постішемичний вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у перегородці мозку тримісячних 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 | 11,7±0,18 | 7,76±1,12 | 19,3±3,53 | 6,03±1,12 | 6,10±0,52 |
| Ішемія | 9,57±0,76 $p < 0,025$ | 6,65±0,56 | 6,82±1,35 $p < 0,005$ | 1,47±0,17 $p < 0,005$ | 5,56±0,29 |
| Корекція | 5,0±0,30 $p < 0,005$ $p_1 < 0,005$ | 4,92±0,60 $p < 0,025$ $p_1 < 0,01$ | 11,0±1,49 $p < 0,05$ $p_1 < 0,005$ | 1,85±0,25 $p < 0,01$ | 3,21±0,16 $p < 0,005$ $p_1 < 0,005$ |

Це проявлялося зниженням вмісту дієнових кон'югатів, малонового альдегіду, активності каталази та глутатіонпероксидази в 2,3, 1,6, 3,3, 1,9 раза у порівнянні з відповідними показниками в контрольних тварин та в 1,9, 1,4, 1,7 раза для дієнових кон'югатів, малонового альдегіду, активності глутатіонпероксидази у порівнянні з постішемичними показниками. Препарат не впливав на постішемичну активність каталази та значно зменшував вплив ішемії на активність супероксиддисмутази. Останній показник зріс в 1,6 раза по відношенню до постішемичного, хоча й залишався нижчим від контролю в 1,8 раза.

У преоптичній ділянці одномісячних щурів, як і в перегородці мозку, емоксипін мав однозначно протекторний вплив, повертаючи до контрольного рівня змінені ішемією вміст дієнових кон'югатів та активність глутатіонпероксидази (табл. 7.8). Знову ж таки, на ті параметри, які не зазнали змін внаслідок ішемії, препарат не мав жодного впливу.

Таблиця 7.8

Вплив емоксипіну на постішемичний вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у преоптичній ділянці мозку 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 | 5,67±0,60 | 2,59±0,36 | 6,49±0,69 | 1,29±0,12 | 3,17±0,26 |
| Ішемія | 8,48±0,36 $p < 0,005$ | 2,09±0,51 | 6,04±1,23 | 1,64±0,57 | 5,61±0,13 $p < 0,01$ |
| Корекція | 5,48±0,57 $p_1 < 0,005$ | 2,48±0,31 | 5,98±0,59 | 1,38±0,10 | 3,24±0,23 $p_1 < 0,005$ |

У тримісячних щурів, незважаючи на тотальні постішемичні зміни досліджених прооксидантно-антиоксидантних параметрів, емоксипін не справляв на них жодного корегуючого впливу (табл. 7.9).

Таблиця 7.9

Вплив емоксипіну на постішемичний вміст продуктів перексидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у преоптичній ділянці мозку тримісячних щурів ($M \pm m$, $n=8$)

| Група спостереження | Вміст | | Активність ферментів | | |
|---------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------|---|
| | дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка) | малонового альдегіду (нмоль/мг білка) | супероксид-дисмутази (од/хв·мг білка) | каталази (мкмоль/хв·мг білка) | глутатіонпероксидази (нмоль/хв·мг білка) |
| Контроль | 15,6±1,35 | 4,57±0,98 | 35,5±3,11 | 7,19±0,70 | 9,01±1,25 |
| Ішемія | 5,46±0,18 p<0,005 | 2,01±0,39 p<0,025 | 6,44±1,04 p<0,005 | 0,97±0,24 p<0,005 | 4,86±0,64 p<0,005 |
| Корекція | 5,48±0,56 p<0,005 | 2,48±0,31 p<0,01 | 5,99±0,74 p<0,005 | 1,13±0,09 p<0,005 | 3,23±0,22 p<0,005 p ₁ <0,025 |

Зміни активності глутатіонпероксидази препарат навіть посилював. Якщо ішемія знижувала цей показник в 1,9 раза, то емоксипін – в 2,8 раза.

Аналіз впливу емоксипіну на постішемичні зміни показників ліпопероксидації та антиоксидантного захисту в медіобазальному гіпоталамусі одномісячних щурів загалом підтвердив тенденцію препарату впливати лише на змінені ішемією показники (табл. 7.10). У цій ділянці мозку ішемія не мала жодних наслідків, а вплив препарату полягав лише в деякому зростанні (в 1,3 раза, $p<0,05$) активності супероксиддисмутази. Стосовно ж відповідного показника в контрольних тварин активність даного ферменту залишалася незмінною.

Таблиця 7.10

Вплив емоксипіну на постішемичний вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у медіобазальному гіпоталамусі одномісячних щурів ($M \pm m$, $n=8$)

| Група спостереження | Вміст | | Активність ферментів | | |
|---------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------|---|
| | дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка) | малонового альдегіду (нмоль/мг білка) | супероксид-дисмутази (од/хв·мг білка) | каталази (мкмоль/хв·мг білка) | глутатіон-пероксидази (нмоль/хв·мг білка) |
| Контроль | 6,59±0,33 | 4,19±0,22 | 7,81±0,40 | 1,50±0,32 | 5,17±0,32 |
| Ішемія | 6,87±0,51 | 4,42±0,32 | 6,68±0,49 | 2,19±0,28 | 5,51±0,27 |
| Корекція | 6,28±0,24 | 3,76±0,27 | 8,48±0,74 $p_1 < 0,05$ | 2,29±0,35 | 5,88±0,33 |

У медіобазальному гіпоталамусі тримісячних щурів препарат мав добре виражений захисний ефект (табл. 7.11).

Таблиця 7.11

Вплив емоксипіну на постішемичний вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у медіобазальному гіпоталамусі тримісячних щурів ($M \pm m$, $n=8$)

| Група спостереження | Вміст | | Активність ферментів | | |
|---------------------|---|---------------------------------------|--|-------------------------------|---|
| | дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка) | малонового альдегіду (нмоль/мг білка) | супероксид-дисмутази (од/хв·мг білка) | каталази (мкмоль/хв·мг білка) | глутатіон-пероксидази (нмоль/хв·мг білка) |
| Контроль | 9,95±0,42 | 5,64±0,19 | 10,5±0,46 | 1,71±0,19 | 5,64±0,44 |
| Ішемія | 1,3±0,22 $p < 0,005$ | 9,45±0,16 $p < 0,005$ | 6,58±0,37 $p < 0,005$ | 1,21±0,13 $p < 0,005$ | 4,35±0,77 |
| Корекція | 4,24±0,45 $p < 0,005$ $p_1 < 0,005$ | 5,37±0,20 $p_1 < 0,005$ | 8,77±0,53 $p < 0,05$ $p_1 < 0,005$ | 1,96±0,21 $p_1 < 0,01$ | 5,28±0,30 |

У мигдалеподібному комплексі мозку одномісячних щурів емоксипін запобігав зниженню активності каталази, яке виникало під впливом ішемії-реперфузії (табл. 7.12).

Таблиця 7.12

Вплив емоксипіну на постішемичний вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у ядрах мигдалеподібного комплексу мозку одномісячних щурів ($M \pm m$, $n=8$)

| Група спостереження | Вміст | | Активність ферментів | | |
|---------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|---|
| | дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка) | малонового альдегіду (нмоль/мг білка) | супероксид-дисмутази (од/хв·мг білка) | каталази (мкмоль/хв·мг білка) | глутатіон-пероксидази (нмоль/хв·мг білка) |
| Контроль | 8,74±0,33 | 5,50±0,49 | 7,07±0,50 | 2,27±0,32 | 5,66±0,61 |
| Ішемія | 8,45±0,45 | 5,59±0,27 | 6,74±0,34 | 1,49±0,15 p<0,05 | 5,40±0,46 |
| Корекція | 7,60±0,44 | 4,40±0,37 p ₁ <0,025 | 8,01±0,26 p ₁ <0,05 | 2,37±0,21 p ₁ <0,05 | 5,06±0,38 |

Незважаючи на відсутність достовірних постішемичних змін, препарат знижував вміст малонового альдегіду в 1,3 раза та підвищував активність супероксиддисмутази в 1,2 раза. Причиною цих ефектів, ймовірно, є тенденція цих показників до постішемичних змін, яка зникала під впливом емоксипіну. Це підтверджується тим, що в порівнянні з аналогічними показниками в контрольних тварин зміни не виявлені.

Високий корегуючий ефект препарату в даній структурі спостерігався в тримісячних щурів, в яких він запобігав постішемичним змінам дієнових кон'югатів та малонового альдегіду (табл. 7.13). На активність антиоксидантних ферментів, не змінених ішемією, препарат не впливав.

Таблиця 7.13

Вплив емоксипіну на постішемичний вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у ядрах мигдалеподібного комплексу мозку тримісячних щурів ($M \pm m$, $n=8$)

| Група спостереження | Вміст | | Активність ферментів | | |
|---------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------|---|
| | дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка) | малонового альдегіду (нмоль/мг білка) | супероксид-дисмутази (од/хв·мг білка) | каталази (мкмоль/хв·мг білка) | глутатіон-пероксидази (нмоль/хв·мг білка) |
| Контроль | 7,28±0,68 | 4,40±0,44 | 7,27±0,33 | 2,01±0,16 | 5,91±0,49 |
| Ішемія | 11,2±0,33 p<0,005 | 6,11±0,23 p<0,005 | 7,07±0,37 | 2,04±0,29 | 5,56±0,24 |
| Корекція | 7,03±0,47 p ₁ <0,005 | 4,36±0,35 p ₁ <0,005 | 6,67±0,21 | 1,85±0,25 | 4,97±0,36 |

7.3. Особливості впливу емоксипіну на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у лімбіко-гіпоталамічних структурах тварин різних вікових груп

Дослідження впливу емоксипіну на показники окиснювальної модифікації білків показало, що в перегородці мозку одномісячних щурів препарат усував зміни вмісту альдегідо- та кетоніо-похідних нейтрального характеру, про що свідчить його підвищення до показника в контрольних тварин (табл. 7.14).

Що стосується продуктів основного характеру, то знижений ішемією їх вміст препарат також підвищував, однак внаслідок цього зростання даний показник став в 1,3 раза вищим, ніж у контролі.

Таблиця 7.14

Вплив емоксипіну на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у перегородці мозку щурів різних вікових груп ($M \pm m$, $n=8$)

| Вік тварин | Група спостереження | Вміст альдегідо- та кетоніпохідних | |
|------------|---------------------|--|---|
| | | нейтрального характеру (о.о.г./г білка, 370 нм) | основного характеру (о.о.г./г білка, 420 нм) |
| 1 місяць | Контроль | 46,2±1,90 | 14,7±0,79 |
| | Ішемія | 40,1±2,08 $p < 0,05$ | 12,1±1,05 $p < 0,05$ |
| | Корекція | 50,2±1,31 $p_1 < 0,05$ | 18,6±1,89 $p < 0,01$ $p_1 < 0,01$ |
| 3 місяці | Контроль | 42,6±0,94 | 17,5±0,57 |
| | Ішемія | 40,3±1,07 | 18,3±0,44 |
| | Корекція | 50,7±5,54 $p_1 < 0,05$ | 19,4±3,45 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ |

Примітки: у всіх таблицях даного підрозділу: зміни, достовірні у порівнянні: p - із показниками в контрольних тварин; p_1 - з постішемичними показниками

У цілому, в одномісячних тварин можна стверджувати про протекторний ефект емоксипіну в перегородці мозку.

У тримісячних щурів препарат достовірно (в 1,3 раза) підвищував постішемичний вміст альдегідо- та кетоніпохідних нейтрального характеру, хоча в порівнянні з контролем достовірних змін не виявлено (табл. 7.14).

Чіткий посилюючий вплив емоксипіну в цій структурі виявлено і щодо вмісту альдегідо- та кетоніпохідних основного характеру.

У преоптичній ділянці одномісячних щурів вміст продуктів окиснювальної модифікації білків не зазнавав постішемичних змін, емоксипін також не мав на них жодного впливу (табл. 7.15).

У той же час, у щурів старшої вікової групи препарат повністю запобігав пошкоджувальним впливам ішемії стосовно альдегідо- та кетоніпохідних як нейтрального, так і основного характеру, про що свідчить відсутність достовірних відмінностей з показниками в контрольних тварин.

Таблиця 7.15

Вплив емоксипіну на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у преоптичній ділянці мозку щурів різних вікових груп ($M \pm m$, $n=8$)

| Вік тварин | Група спостереження | Вміст альдегідо- та кетоніпохідних | |
|------------|---------------------|--|---|
| | | нейтрального характеру (о.о.г./г білка, 370 нм) | основного характеру (о.о.г./г білка, 420 нм) |
| 1 місяць | Контроль | 38,0±1,30 | 16,7±0,55 |
| | Ішемія | 41,8±2,12 | 17,6±0,82 |
| | Корекція | 38,8±1,78 | 17,1±0,78 |
| 3 місяці | Контроль | 35,3±0,62 | 15,2±0,29 |
| | Ішемія | 40,3±1,07 $p < 0,01$ | 17,8±0,48 $p < 0,005$ |
| | Корекція | 35,3±1,42 $p_1 < 0,05$ | 14,4±0,7 $p_1 < 0,002$ |

Ефекти емоксипіну в медіобазальному гіпоталамусі тварин обох вікових груп були незначними (табл. 7.16). В одномісячних щурів препарат достовірно підвищував вміст продуктів окиснювальної модифікації білків

нейтрального характеру стосовно контрольних та постішемічних показників, хоча ішемія на них не впливала. У тримісячних тварин, також незважаючи на відсутність постішемічних змін, препарат викликав накопичення продуктів основного характеру.

Таблиця 7.16

Вплив емоксипіну на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у медіобазальному гіпоталамусі мозку щурів різних вікових груп ($M \pm m$, $n=8$)

| Вік тварин | Група спостереження | Вміст альдегідо- та кетонпохідних | |
|------------|---------------------|--|---|
| | | нейтрального характеру (о.о.г./г білка, 370 нм) | основного характеру (о.о.г./г білка, 420 нм) |
| 1 місяць | Контроль | 42,6±0,94 | 17,5±0,57 |
| | Ішемія | 40,3±1,07 | 18,2±0,44 |
| | Корекція | 45,9±1,37 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,01$ | 18,7±0,67 |
| 3 місяці | Контроль | 35,9±0,61 | 15,3±0,49 |
| | Ішемія | 40,2±1,07 $p < 0,01$ | 15,9±0,34 |
| | Корекція | 40,6±0,44 $p < 0,005$ | 16,8± 0,28 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ |

У мигдалеподібному комплексі ядер одномісячних щурів емоксипін дещо зменшує ефект ішемії на вміст основних продуктів окиснювальної модифікації білків, однак цей вплив не набуває достовірного характеру (табл. 7.17).

Таблиця 7.17

Вплив емоксипіну на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у мигдалеподібному комплексі мозку щурів різних вікових груп ($M \pm m$, $n=8$)

| Вік тварин | Група спостереження | Вміст альдегідо- та кетоніпохідних | |
|------------|---------------------|--|---|
| | | нейтрального характеру (о.о.г./г білка, 370 нм) | основного характеру (о.о.г./г білка, 420 нм) |
| 1 місяць | Контроль | 42,4±0,28 | 17,4±0,29 |
| | Ішемія | 44,1±1,97 | 19,1±1,11 $p_k < 0,05$ |
| | Корекція | 42,41±0,84 | 18,2±0,38 $p < 0,05$ |
| 3 місяці | Контроль | 42,5±0,99 | 17,9± 0,42 |
| | Ішемія | 38,8±1,04 $p < 0,05$ | 15,8±0,69 $p < 0,01$ |
| | Корекція | 44,3±1,38 $p_1 < 0,05$ | 18,5±0,61 $p_1 < 0,05$ |

У тварин старшої вікової групи препарат практично повертає до контрольних величин вміст динітрофенілгідразонів нейтрального та основного характеру шляхом підйому знижених ішемією їх рівнів.

7.3. Структурні особливості впливу емоксипіну на показники обмеженого тканинного фібринолізу та протеолізу в лімбіко-гіпоталамічних структурах щурів різних вікових груп

У тварин молодшої вікової групи добре виражений протекторний вплив емоксипін мав у перегородці мозку стосовно стану фібринолітичної активності (табл. 7.18).

Таблиця 7.18

Вплив емоксипіну на постішемічні показники тканинного фібринолізу в перегородці мозку щурів різного віку ($M \pm m$, $n=8$)

| Група спостереження | Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год) | Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год) | Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год) |
|---------------------|---|---|---|
| 1 місяць | | | |
| Контроль | 37,6±2,85 | 18,7±2,18 | 19,0±2,18 |
| Ішемія | 60,0±4,41 $p < 0,005$ | 28,9±1,94 $p < 0,005$ | 31,1±2,47 $p < 0,005$ |
| Корекція | 37,7±2,05 $p_1 < 0,005$ | 21,7±2,22 $p_1 < 0,025$ | 16,0±1,76 $p_1 < 0,005$ |
| 3 місяці | | | |
| Контроль | 40,7±2,87 | 18,7±1,44 | 22,0±1,51 |
| Ішемія | 48,4±2,74 $p < 0,05$ | 22,8±1,39 $p < 0,05$ | 25,9±1,30 $p < 0,05$ |
| Корекція | 39,2±3,17 $p_1 < 0,05$ | 21,5±2,64 | 18,4±2,17 $p_1 < 0,05$ |

Тут та в наступних таблицях даного підрозділу - вірогідність змін стосовно показників: p - у контрольних тварин; p_1 – у тварин після ішемії

У групі тварин, які отримували емоксипін, сумарна фібринолітична активність, неферментативна та ферментативна знижувалася відносно постішемічних величин в 1,6, 1,3 та 1,9 раза відповідно. Таким чином, всі досліджені нами показники, які зазнали вираженого постішемічного зростання, препарат фактично повертав до рівня, притаманного контрольним тваринам.

У тримісячних тварин дія емоксипіну була менш виражена, ніж в одномісячних (табл. 7.18). Повернення до контрольних величин зазнали сумарна та ферментативна фібринолітична активність, хоча подібна тенденція спостерігалася щодо неферментативної фібринолітичної активності. Проте вірогідних значень ця тенденція не набувала.

Вплив емоксипіну на протеолітичну активність у перегородці мозку одномісячних щурів був досить неоднозначним (табл. 7.19).

Таблиця 7.19

Вплив ішемії та емоксипіну на показники тканинного протеолізу в перегородці мозку щурів різного віку ($M \pm m$, $n=8$)

| Група спостереження | Лізис низькомолекулярних білків (мкг азоальбуміну/г тканини за год) | Лізис високомолекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год) | Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за год) |
|---------------------|---|---|---|
| 1 місяць | | | |
| Контроль | 246±10,9 | 197±12,6 | 17,5±1,11 |
| Ішемія | 289±17,4 $p < 0,05$ | 285±21,9 $p < 0,005$ | 23,5±2,45 $p < 0,05$ |
| Корекція | 237±12,5 $p_1 < 0,05$ | 245±18,6 $p < 0,005$ | 14,3±1,16 $p < 0,05$ $p_1 < 0,005$ |
| 3 місяці | | | |
| Контроль | 220±14,6 | 168±12,4 | 11,2±1,53 |
| Ішемія | 203±16,5 | 160±12,3 | 13,6±0,80 |
| Корекція | 152±11,9 $p < 0,005$ $p_1 < 0,01$ | 121±9,6 $p < 0,01$ $p_1 < 0,025$ | 8,40±1,17 $p_1 < 0,05$ |

Лізис низькомолекулярних білків під впливом препарату нормалізувався. Лізис колагену зазнав часткового повернення до контрольних показників, хоча й залишався достовірно нижчим (в 1,2 раза). Особливою була реакція на препарат лізису високомолекулярних білків – цей показник під впливом емоксипіну достовірно (в 1,3 раза) зростав у порівнянні з контрольним, тобто, відбулися зміни, характерні для ішемічного впливу.

У тварин старшої вікової групи, незважаючи на відсутність постішемічних змін протеолітичної активності, емоксипін достовірно знижував всі її види. Під впливом препарату стосовно контролю знизився лізис азоальбуміну та азоказеїну в 1,4 раза, стосовно ішемії – лізис азоальбуміну, азоказеїну та азоколу в 1,3, 1,3, 1,6 раза.

При порівнянні показників обмеженої тканинної фібринолітичної активності у тварин, які зазнали впливу ішемії без корекції та на тлі введення емоксипіну в преоптичній ділянці ми отримали наступні результати (табл.7.20).

У даній структурі одномісячних тварин вірогідного впливу емоксипіну на сумарну та ферментативну фібринолітичну активність не знайдено, а ферментативна активність достовірно зросла у порівнянні як із контролем, так із постішемічним рівнем (в 1,2 та 1,4 раза відповідно).

У тварин старшої вікової групи емоксипін значно підвищував сумарну та ферментативну фібринолітичну активність. Вона зростала в 1,5 та 1,8 раза щодо контролю, й в 1,7 та 2,9 раза стосовно показників при ішемії.

Вплив емоксипіну на показники протеолітичної активності в преоптичній ділянці був неоднозначним (табл. 7.21). Препарат запобігав постішемічним змінам лізису низькомолекулярних білків, не впливав на лізис високомолекулярних білків, які не зазнали також і впливу ішемії, не впливав на постішемічні зміни колагенолізу.

Таблиця 7.20

Вплив ішемії та емоксипіну на показники тканинного фібринолізу в преоптичній ділянці мозку щурів різного віку ($M \pm m$, $n=8$)

| Група спостереження | Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год) | Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год) | Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год) |
|---------------------|---|---|---|
| 1 місяць | | | |
| Контроль | 49,8±2,68 | 23,5±1,71 | 26,1±1,50 |
| Ішемія | 50,0±4,00 | 27,8±2,29 | 22,2±1,87 |
| Корекція | 54,8±3,87 | 23,5±1,20 | 31,0±2,46 $p < 0,05$ $p_1 < 0,005$ |
| 3 місяці | | | |
| Контроль | 38,6±2,90 | 19,1±1,56 | 19,4±1,86 |
| Ішемія | 34,5±2,11 | 22,5±1,77 | 12,2±1,60 $p_1 < 0,01$ |
| Корекція | 57,7±3,32 $p < 0,005$ $p_1 < 0,005$ | 22,8±2,07 | 34,9±2,63 $p_1 < 0,005$ $p_1 < 0,005$ |

У тримісячних щурів емоксипін не мав достовірних впливів на знижені ішемією показники лізису азоальбуміну та азоказеїну, хоча прослідковувалася виразна тенденція до зменшення цих порушень. Препарат запобігав постішемічному зниженню лізису азоколу, підвищуючи цей показник в 1,4 раза в порівнянні з ішемією.

Таблиця 7.21

Вплив ішемії та емоксипіну на показники тканинного протеолізу в преоптичній ділянці мозку щурів різного віку ($M \pm m$, $n=8$)

| Група спостереження | Лізис низькомолекулярних білків (мкг азоальбуміну/г тканини за год) | Лізис високомолекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год) | Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за год) |
|---------------------|---|---|---|
| 1 місяць | | | |
| Контроль | 252±10,6 | 179±6,6 | 26,8±2,50 |
| Ішемія | 212±14,0 $p < 0,005$ | 162±7,9 | 13,4±1,25 $p < 0,005$ |
| Корекція | 241±9,7 $p_1 < 0,05$ | 160±6,3 $p < 0,05$ | 11,5±1,62 $p < 0,005$ |
| 3 місяці | | | |
| Контроль | 233±13,3 | 198±12,4 | 18,6±1,57 |
| Ішемія | 181±16,5 $p < 0,025$ | 134±13,3 $p < 0,005$ | 10,5±1,09 $p < 0,05$ |
| Корекція | 204±12,1 | 157±11,8 $p < 0,025$ | 14,7±1,81 $p_1 < 0,05$ |

Незважаючи на те, що в медіобазальному гіпоталамусі одномісячних щурів ішемія не викликала відстрочених змін фібринолітичної активності, застосування емоксипіну спричинило достовірне зниження сумарного та неферментативного фібринолізу в 1,3 та 1,6 раза

відповідно у порівнянні як з контролем, так із постішемичними показниками (табл. 7.22).

Таблиця 7.22

Вплив ішемії та емоксипіну на показники тканинного фібринолізу в медіобазальному гіпоталамусі щурів різного віку ($M \pm m$, $n=8$)

| Група спостереження | Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год) | Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год) | Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год) |
|---------------------|---|---|---|
| 1 місяць | | | |
| Контроль | 37,3±2,16 | 19,4±1,28 | 17,9±1,88 |
| Ішемія | 38,8±2,84 | 18,9±1,40 | 19,9±1,48 |
| Корекція | 30,7±2,38 $p < 0,05$ $p_1 < 0,025$ | 11,9±0,57 $p < 0,005$ $p_1 < 0,005$ | 18,8±2,50 |
| 3 місяці | | | |
| Контроль | 31,6±2,60 | 15,7±1,11 | 15,9±1,62 |
| Ішемія | 25,4±2,21 $p < 0,05$ | 12,5±1,22 $p_i < 0,05$ | 12,9±1,38 |
| Корекція | 38,8±2,31 $p < 0,05$ $p_1 < 0,005$ | 20,42±1,84 $p < 0,05$ $p_1 < 0,005$ | 18,4±2,15 $p_1 < 0,05$ |

У медіобазальному гіпоталамусі тримісячних щурів препарат підвищує знижену ішемією сумарну та неферментативну фібринолітичну активність в 1,5 та 1,6 раза відповідно. Стимулювальний ефект емоксипіну

на дані показники проявляється також у тому, що вони достовірно перевищують навіть відповідні величини в контрольних тварин.

Дія емоксипіну щодо постішемічних зрушень протеолітичної активності в медіобазальному гіпоталамусі одномісячних щурів полягала в нормалізації єдиного зміненого ішемією показника – лізису високомолекулярних білків (табл. 7.23).

Таблиця 7.23

Вплив ішемії та емоксипіну на показники тканинного протеолізу в медіобазальному гіпоталамусі щурів різного віку ($M \pm m$, $n=8$)

| Група спостереження | Лізис низькомолекулярних білків (мкг азоальбуміну/г тканини за год) | Лізис високомолекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год) | Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за год) |
|---------------------|---|---|---|
| 1 місяць | | | |
| Контроль | 249±23,9 | 174±16,3 | 12,1±3,20 |
| Ішемія | 286±17,3 | 221±9,11 $p < 0,05$ | 13,3±1,53 |
| Корекція | 270±17,99 | 188±11,6 $p_1 < 0,05$ | 17,1±2,05 |
| 3 місяці | | | |
| Контроль | 264±11,9 | 199±12,58 | 17,9±1,50 |
| Ішемія | 214±17,5 $p < 0,05$ | 174±11,8 | 12,9±1,0 $p < 0,025$ |
| Корекція | 234±19,0 | 171±11,5 | 11,37±1,3 $p < 0,025$ |

У даній структурі тварин старшої вікової групи, незважаючи на досить виражені постішемічні зміни тканинної протеолітичної активності, препарат не мав на них жодного ефекту.

У мигдалеподібному комплексі одномісячних тварин, які отримували емоксипін (табл. 7.24), сумарна фібринолітична активність, неферментативна та ферментативна зростала відносно постішемічних величин в 1,3, 1,4 та 1,3 раза відповідно.

Таблиця 7.24

Вплив ішемії та емоксипіну на показники тканинного фібринолізу в мигдалеподібному комплексі мозку щурів різного віку ($M \pm m$, $n=8$)

| Група спостереження | Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год) | Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год) | Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год) |
|---------------------|---|---|---|
| 1 місяць | | | |
| Контроль | 62,6±5,31 | 30,3±2,87 | 35,3±1,90 |
| Ішемія | 48,3±3,05 $p < 0,025$ | 22,1±2,00 $p < 0,025$ | 26,2±2,41 $p < 0,01$ |
| Корекція | 65,1±3,08 $p_1 < 0,005$ | 31,7±2,24 $p_1 < 0,01$ | 33,8±1,90 $p_1 < 0,025$ |
| 3 місяці | | | |
| Контроль | 53,9±2,95 | 26,0±1,34 | 28,9±1,68 |
| Ішемія | 45,1±2,29 $p < 0,025$ | 22,1±1,56 $p < 0,05$ | 23,0±2,02 $p < 0,05$ |
| Корекція | 49,2±3,83 $p < 0,025$ | 25,6±2,88 | 23,6±2,05 $p < 0,05$ |

Таким чином, всі досліджені нами показники, які зазнали істотного постішемічного зниження, препарат фактично повертав до рівня, притаманного контрольним тваринам.

Значно меншою ефективністю в даній структурі характеризувалася дія емоксипіну щодо постішемічних зрушень фібринолітичної активності у тримісячних щурів – під впливом препарату недостовірно зменшувався вплив ішемії на сумарний та неферментативний фібриноліз.

В ядрах мигдалеподібного комплексу одномісячних тварин застосування емоксипіну повністю нормалізувало лізис низько- та високомолекулярних білків, котрий під впливом ішемії зазнав достовірного зниження (табл. 7.25).

Таблиця 7.25

Вплив ішемії та емоксипіну на показники тканинного протеолізу в мигдалеподібному комплексі мозку щурів різного віку ($M \pm m$, $n=8$)

| Група спостереження | Лізис низькомолекулярних білків (мкг азоальбуміну/г тканини за год) | Лізис високомолекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год) | Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за год) |
|---------------------|---|---|---|
| 1 місяць | | | |
| Контроль | 287±10,5 | 231±17,2 | 21,1±2,09 |
| Ішемія | 228±15,1 $p < 0,01$ | 196±12,2 | 14,5±1,60 $p < 0,005$ |
| Корекція | 296±20,1 $p_1 < 0,025$ | 236±18,8 $p_1 < 0,05$ | 16,0±1,57 $p_1 < 0,05$ |
| 3 місяці | | | |
| Контроль | 202±2,95 | 126±11,3 | 11,6±0,97 |
| Ішемія | 252±16,5 $p < 0,025$ | 189±14,2 $p < 0,01$ | 15,8±1,02 $p < 0,01$ |
| Корекція | 232±18,8 | 156±14,8 | 13,6±1,58 |

Лізис колагену також зріс, однак ці зміни були недостовірними.

У щурів старшої вікової групи, незважаючи на виражений вплив ішемії на всі показники протеолітичної активності, емоксипін не зменшував жоден із наслідків ішемічного пошкодження.

Проміжні висновки:

1. Емоксипін у дозі 5 мг/кг зменшує вплив ішемії на стан катехоламінергічних систем досліджених структур мозку.

2. Більш істотний корегуючий ефект препарату щодо інтенсивності флуоресценції катехоламінів має місце в одномісячних тварин.

3. У структурах лімбіко-гіпоталамічного комплексу одномісячних щурів емоксипін має чітко виражену вибірккову тропність до порушених ішемією показників ліпопероксидації та антиоксидантного захисту. Корекція постішемічних змін емоксипіном відбувається, головним чином, за рахунок його здатності посилювати активність антиоксидантних ферментів.

4. У тримісячних щурів вплив препарату неоднозначний в різних структурах і коливається від корегуючого до посилюючого ішемічні впливи. Чітко визначені корегуючі ефекти виявлено у медіобазальному гіпоталамусі та мигдалеподібному комплексі, де препарат повністю запобігає постішемічним змінам.

5. Найвищий корегуючий ефект щодо постішемічних змін окиснювальної модифікації білків емоксипін здійснює в перегородці мозку одномісячних та преоптичній ділянці і мигдалеподібному комплексі мозку тримісячних щурів.

6. У перегородці мозку та медіобазальному гіпоталамусі тримісячних щурів введення емоксипіну в ранньому реперфузійному періоді посилює вплив ішемії на окиснювальну модифікацію білків.

7. У перегородці мозку тримісячних щурів емоксипін знижує лізис низько-, високомолекулярних білків та колагену, незважаючи на відсутність впливу ішемії на ці показники.

8. Емоксипін повністю запобігає розвитку постішемічних змін фібринолітичної активності в перегородці мозку та мигдалику одномісячних щурів, медіобазальному гіпоталамусі тримісячних, частково – у перегородці тримісячних щурів. Препарат викликає порушення фібринолітичної активності у преоптичній ділянці і медіобазальному гіпоталамусі одномісячних та преоптичній ділянці тримісячних тварин, незважаючи на відсутність у цих структурах постішемічних змін. У решти досліджених структур препарат не має ні корегуючого, ні пошкоджувального впливу.

9. У щурів молодшої вікової групи емоксипін нормалізує або зменшує порушення змінених показників протеолітичної активності в перегородці мозку, преоптичній ділянці, медіобазальному гіпоталамусі та мигдалику. У тримісячних щурів препарат практично не впливає на розвиток постішемічних змін протеолітичної активності, а в перегородці мозку навіть викликає достовірне зниження всіх показників протеолітичної активності, незважаючи на відсутність їх порушення за умов ішемії.

10. Незалежно від вираженості та розповсюдженості постішемічних змін фібрино- й протеолітичної активності емоксипін має більш обширні та значні впливи у тварин молодшої вікової групи.

11. У цілому вплив препарату неоднозначний – від повного усунення ефектів ішемії до вираженого посилення її наслідків, що обмежує його застосування при локалізації ішемічного вогнища в структурах проміжного мозку.

За результатами досліджень, представлених у даному розділі, опубліковано наступні праці:

[208] Тимофійчук І.Р., Пішак В.П., Мислицький В.Ф. Постішемічна реорганізація катехоламінергічних систем лімбіко-гіпоталамічних структур мозку та її корекція емоксипіном у щурів різного віку // Клін. та експерим. патол. – 2005. –Т.ІУ, №2. – С.96-99.

[213] Тимофійчук І.Р. Характеристика модулюючого впливу емоксипіну на постішемні показники окиснювальної модифікації білків у лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку щурів // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія медицина. – 2004. – вип.23. – С. 26-29.

[222] Тимофійчук І.Р. Вікові особливості впливу емоксипіну на постішемні зміни фібрино- та протеолітичної активності в структурах проміжного мозку щурів // Бук. мед. вісник. –2004. – Т.8, № 3-4. – С. 280-284.

[224] Тимофійчук І.Р. Патогенетичне обґрунтування вікових аспектів ефективності емоксипіну при неповній глобальній ішемії мозку // Таврический медико-биологический вестник. – 2004. – Т.7, №4. – С.120-123.

[225] Тимофійчук І.Р., Пішак В.П. Оцінка впливу емоксипіну на стан прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в деяких структурах проміжного мозку щурів різного віку після двосторонньої каротидної ішемії // 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.41.

РОЗДІЛ 8

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Вивчення гормональних взаємодій при церебральній ішемії і тяжкій черепно-мозковій травмі показало, що реалізація відповіді симпатико-адреналової системи відбувається одночасно зі стимуляцією гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової і ренін-ангіотензинової систем [207, 226]. Ключову роль в їх одночасній активації відіграє кортиколіберин, який з одного боку є найбільш важливим фактором стимуляції синтезу адренокортикотропного гормону (АКТГ) в гіпофізі, що викликає активацію гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової осі і зниження місцевого запального і аутоімунного процесів [226]. З іншого боку, кортиколіберин і АКТГ стимулюють симпатико-адреналову активність і сприяють надлишковому виробленню реніну, приводячи до утворення ангіотензину-ІІ, вивільненню катехоламінів із аксонів симпатичних нейронів, що в свою чергу підвищує секрецію АКТГ. Це викликає додаткову симпатичну активацію, підсилює цитотоксичний ефект катехоламінів і потенціює розвиток оксидативного стресу. Крім того, підвищення вмісту реніна приводить до активації генів негайного реагування, які індукують апоптоз [227].

Експериментальні і клінічні дослідження довели важливий вплив реакції стрес-реалізуючої ендокринної системи на перебіг і наслідки гострих соматичних захворювань [125]. У зв'язку з цим нами досліджені зміни концентрації кортизолу, пролактину, тироксину, трийодтироніну в плазмі крові щурів різного віку.

Отримані результати продемонстрували вагомі вікові відмінності реагування даних гормонів на ішемію в одно- та тримісячних щурів. Відстрочена гормональна реакція в одномісячних тварин проявлялася зростанням вмісту пролактину та трийодтироніну, а в тримісячних - зниженням вмісту кортизолу та трийодтироніну.

За даними літератури, стресорні впливи істотно підвищують у плазмі крові концентрацію кортикостероїдів та пролактину [171, 198, 199]. Значне підвищення секреції цих гормонів під час стресу має місце і в людей [228, 229].

Таким чином, підвищення рівня пролактину в одномісячних щурів є свідченням збереження у них стрес-реактивності в пізньому постішемичному періоді. Відсутність подібної реакції пролактину у тримісячних щурів може мати декілька пояснень. Однією з причин може стати виснаження системи, відповідальної за стрес-реактивність, іншою - різна динаміка перебігу патологічного процесу в даних вікових групах. На наш погляд, паралельне зниження вмісту кортизолу у тварин старшої вікової групи свідчить на користь першої з них.

Важливу роль у регуляції рецепторів пролактину відіграють також інші гормони. Відомо, що тиреоїдні гормони стимулюють секрецію пролактину [203], отже, вищий постішемичний рівень трийодтироніну в одномісячних щурів також може бути причиною більш активної пролактинової реакції.

Вікові відмінності конститутивного вмісту пролактину можуть бути зв'язані з тим, що в регуляції його рецепторів у тканинах-мішенях велике значення мають статеві гормони [203, 230]. Пролактин є одним з основним гормональних чинників, здатних стримувати передчасне статеве дозрівання [231], що може також пояснити більш високий його вміст у статевонезрілих щурів.

Що стосується реагування трийодтироніну, у тримісячних щурів воно також узгоджується з даними літератури. Проведене комплексне клініко-біохімічне обстеження при гострому порушенні мозкового кровообігу дозволило встановити наявність "низького-Т₃-синдрому", який супроводжується збільшенням в плазмі крові концентрації Т₄ на 7-у добу захворювання, а також підвищенням рівня ТТГ, АКТГ і реніну на 2-у добу інсульту, що відображало тяжкість перебігу ішемії. Виявлена тісна

кореляція між ступенем нормалізації концентрації гормонів і вираженістю регресу неврологічних розладів на 7-у і 21-у доби дає підстави розглядати ці показники, як прогностичний критерій для визначення наслідків гострого періоду ішемічного інсульту [207, 227]. Отже, значне постішемічне зниження вмісту трийодтироніну в тримісячних тварин та високий вміст цього гормону в одномісячних може бути ознакою різної вразливості мозку та системи стрес-реактивності до ішемічного пошкодження.

Одна з ключових ролей у збереженні гомеостазу мозку й визначенні кінцевих наслідків інсульту належить катехоламінергічній системі мозку [232, 233]. Концентрація катехоламінів в ішемічній і пограничній з нею зоні може бути важливою не тільки для активування пре- і постсинаптичних рецепторів, але й для розвитку колатерального кровообігу, а значить, для забезпечення мозку глюкозою й O_2 , що необхідно як для нейрональних функцій, так і для синтезу і метаболізму самих медіаторів [234].

Експерименти з селективними пошкодженням моноамінергічних систем показали, що моноаміни функціонально активні на всіх без винятку стадіях індивідуального розвитку. У пренатальному періоді вони регулюють процеси розвитку нервової системи і формування мозку. Їх присутність необхідна для реалізації генетичної програми розвитку ЦНС. До моменту народження моноаміни набувають функцій медіаторів, які проявляються у формі класичних нейротрансмітерів, несинаптичних міжклітинних інтеграторів, внутрішньоклітинних регуляторів і локальних гормонів. Моноамінергічні системи при народженні остаточно не сформовані. Цей процес триває упродовж постнатального онтогенезу до періоду статевого дозрівання. Дефіцит моноамінів викликає сутєві перебудови як в самих медіаторних системах, так і в нервових клітинах-мішенях, аж до їх загибелі [235]. Саме тому вікові аспекти реакції

моноамінергічних систем мозку на дію пошкоджувальних чинників можуть відрізнятися.

При аналізі отриманих нами результатів впадають у вічі декілька особливостей. По-перше, при порівнянні конститутивної інтенсивності флуоресценції катехоламінів у мозку щурів представлених вікових груп виявлено, що майже в усіх досліджених структурах даний показник значно вищий у тварин старшого віку.

Подібні результати отримані іншими авторами для перегородки мозку [236], гіпоталамуса [237], що підтверджує функціональну незрілість мозку одномісячних щурів і може бути підґрунтям для особливостей їх вікової реакції на ішемічне пошкодження.

Звертає на себе увагу також високий рівень флуоресценції катехоламінів в ядрах гіпоталамуса, особливо переднього, який у декілька разів перевищує показники в ядрах перегородки та мигдалика. Виходячи з даних літератури про топографію катехоламінергічних систем мозку, це переважання можна віднести на рахунок ДА-ергічних систем [238].

Між конститутивним рівнем катехоламінів у мозку та наслідками впливу ішемії-реперфузії встановлено чіткий взаємозв'язок [239]. Автори викликали фокальну ішемію мозку на тлі використання селективного знижувача вмісту НА. Через 3 дні проводили вимірювання зони тотального інфаркту, субкортикального та кортикального. Виявилось, що зона тотального некрозу у тварин із виснаженням резервів НА була значно редукованою в порівнянні з контролем. Субкортикальний інфаркт також був меншим, а кортикальний - не відрізнявся. Неврологічна симптоматика корелювала з розмірами інфаркту. Ці дослідження означають, що НА мозку впливає на розвиток інсульту за рахунок прямої нейротоксичності та/чи через вплив на циркуляцію в зоні пенумбри.

За нашими даними ішемія спричинила довготривале суттєве зниження інтенсивності флуоресценції катехоламінів майже у всіх досліджених структурах тварин обох вікових груп. Виняток становили

преоптико-латеральне та вентромедіальне ядра гіпоталамуса й кортико-медіальне та базолатеральне ядра мигдалика одномісячних щурів, де вірогідних відмінностей не виявлено. Слід зазначити, що у тварин старшої вікової групи постішемичне зниження флуоресцеції катехоламінів у ядрах перегородки та мигдалика набагато перевершувало подібний ефект ішемії в одномісячних.

За даними літератури ішемія мозку, незалежно від способу моделювання, спричиняє суттєві зрушення вмісту катехоламінів як у цілісному мозку, так і в його окремих структурах [240].

Експериментальні дані, отримані на монгольських піщанках, свідчать, що в цих тварин як однобічна, так і двобічна перев'язка сонної артерії призводить до значного зниження рівня НА і ДА в ішемізованій зоні мозку, особливо в місцях з переважною локалізацією ДА-ергічних нейронів [140, 241]. Ці дослідження підтверджують думку про те, що ступінь руйнування нервових закінчень і зниження в них рівня КА знаходиться в прямій залежності від зменшення мозкового кровотоку.

У дослідях на монгольських піщанках і щурах виявлено, що відновлення мозкового кровотоку (після 5-15-хвилинної ішемії переднього мозку) уже не в змозі протягом тривалого часу запобігти постішемичним пошкодженням (некрозу) нейронів у деяких структурах мозку (гіпокампі, стріатумі) і зниженню в них рівня катехоламінів [242].

Клінічні спостереження також підтверджують незаперечну роль у патогенезі ішемічного пошкодження мозку виділення в екстрацелюлярний простір катехоламінів, у першу чергу, дофаміну [243]. Рівні дофаміну та норадреналіну в крові хворих на інсульт підвищені. Є підстави вважати, що це зростання віддзеркалює вивільнення катехоламінів із нервової тканини і є несприятливим чинником, який погіршує перебіг захворювання та додатково може провокувати кардіальні ускладнення [244, 245]. Цей висновок базується на позитивних наслідках застосування агоністів D₂-дофамінових рецепторів при експериментальному відтворенні глобальної

ішемії мозку [246]. Встановлено, що агоністи D₂ рецепторів мають протекторну роль проти нейродегенеративних змін у гіпокампі, зумовлених ішемією.

У патогенезі ішемічного пошкодження нервової тканини значна роль належить дофаміну. У самців і самок на непошкодженій стороні вміст ДА в неостріатумі підвищувався впродовж ішемії, а на ішемізованій стороні - знижувався [140].

Глобальна ішемія спричиняє швидке виділення ДА в кортикостріарних зрізах мозку [248].

На моделі тромбогенної ішемії з використанням спектрофлуориметричного методу показано, що в зоні пенумбри також знижується вміст НА, ДА, СТ [249].

Обговорюються різні механізми участі катехоламінів у перебігу ішемічно-реперфузійного пошкодження, у тому числі й пряма їх нейротоксичність.

Відомо, що основними ферментами, які каталізують реакції розщеплення КА є моноаміноксидаза (МАО) і катехоламін-О-метилтрансфераза (КОМТ). Активність МАО киснево- і енергозалежна. При ішемії мозку в монгольських піщанок (перев'язка сонних артерій) уже через 5-15 хвилин в корі, стріатумі і гіпокампі активність МАО знижувалася на 65-69%. Зниження активності МАО відбувалося переважно в ділянках локалізації дофамінергічних нейронів. Відновлення кровообігу в період реперфузії призводило до підвищення активності мітохондріальної МАО уже протягом першої години реперфузії [250].

З метою вивчення активності МАО в різних відділах мозку було досліджено 54 випадки автопсії осіб, які загинули у віці 22-92 роки [251]. Найнижча активність ферменту відмічена в мозочку і корі великих півкуль великого мозку. Вдвічі більший рівень ферментативної активності виявлено в базальних гангліях (хвостате ядро, блідий шар) і в середньому мозку. Довгастих мозок, таламус, гіпоталамус і лімбічні структури

характеризувалися найбільшою активністю MAO. Такий розподіл активності залежав від філогенетичного віку мозкових структур. По мірі збільшення віку людини відмічається наростання активності MAO. На відміну від змін активності MAO, розподіл продуктів ПОЛ (наростання кількості переокиснених ліпідів) відбувалося в напрямку від стовбурових структур до нової кори. По мірі старіння організму відмічається суттєве підвищення чутливості ліпідів нервової тканини до оксидативного стресу. Це може бути пов'язано з наростанням активності MAO в цих структурах [251]. Такою віковою динамікою MAO можуть, певною мірою, пояснюватися вікові особливості реагування катехоламінів на ішемію.

Аналіз постішемичних вікових відмінностей інтенсивності флуоресценції катехоламінів показав, що вони мають місце в дорзальному, медіальному, прилеглому ядрах перегородки, паравентрикулярному і преоптико-медіальному ядрах гіпоталамуса. Характерно, що в мигдалику ішемія повністю усувала вікові відмінності інтенсивності флуоресценції катехоламінів, притаманні контрольним тваринам.

Ішемічно-реперфузійне втручання збільшує вікові відмінності інтенсивності флуоресценції моноамінів в ядрах перегородки, не впливає або зменшує їх в ядрах гіпоталамуса та усуває - в ядрах мигдалика.

Реакція катехоламінів на ішемію залежить також від інших чинників: тривалості, глибини ішемії. Наприклад, при 3-5-хвилинній неповній глобальній ішемії мозку спостерігається помірне зниження вмісту АТФ, помірне підвищення вмісту ГАМК і значне підвищення вмісту лактату і холіну. У корі мозку і гіпокампі підвищується рівень норадреналіну і серотоніну, у гіпокампі - вміст дофаміну. Зростання вмісту всіх моноамінів вказує на збереження в нервових клітинах-мішенях при неповній ішемії мозку активностей моноаміноксидази, катехоламін-О-метилтрансферази [139].

Катехоламіни можуть впливати на перебіг ішемії через зміни мозкового кровообігу. Це продемонстровано в досліджах зі створенням

локальної ішемії мозку, яку в щурів викликали перев'язкою середньої мозкової артерії [251]. При дослідженні мікроциркуляції в корі головного мозку щурів в умовах локальної ішемії було встановлено, що через 30 хвилин після оклюзії середньої мозкової артерії дофамін викликає виражене підвищення локального мозкового кровотоку в тім'яній частці кори головного мозку та рівня артеріального тиску. Через 10 секунд після введення дофаміну кірковий кровотік в ішемічному вогнищі зростає більш, ніж удвічі, а артеріальний тиск - на 50 %. Через 2 хвилини після введення нейротрасмітера ступінь підвищення мозкового кровотоку склав 42 %, а артеріального тиску – 41 %. Через 3 хвилини від початку дії катехоламіну артеріальний тиск повертався до свого вихідного значення, а рівень кровопостачання мозку залишався вищим від контрольної величини на 29 % [227].

За даними літератури, між інтенсивністю процесів ліпопероксидації, антиоксидантною активністю і вмістом моноамінів існують тісні та неоднозначні взаємозв'язки.

Механізм активації вільнорадикального окиснення ліпідів під час стресу будь-якого генезу пов'язують із підсиленням функціональної активності гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи і, як наслідок, збільшення секреції катехоламінів та глюкокортикоїдів у кров.

За сучасною уявою для стрес-індукованої активації пероксидації ліпідів необхідна гіперпродукція катехоламінів, тривале та значне підвищення їх вмісту (в 5-10 і більше разів) [252].

Механізм цієї активації пов'язаний з особливостями метаболізму катехоламінів, який здійснюється декількома паралельними шляхами.

За фізіологічних умов головний шлях інактивації катехоламінів - метилювання за участі катехоламін-О-метильтрансфери (80-90 % катехоламінів перетворюється в метанефрин та норметанефрин). Значно меншу роль відіграє інактивація шляхом окиснювального дезамінування за участі моноаміноксидази. І зовсім незначна частина циркулюючих

катехоламінів інактивується шляхом утворення неактивних парних сполук з сірчаною та глюкуроновою кислотами [253].

Інактивація по шляху окиснювального розпаду з утворенням адренохрому через проміжну стадію семіхінонного радикалу в нормі відіграє другорядну роль.

При високій концентрації катехоламінів суттєво змінюється співвідношення шляхів інактивації і все більшої ролі набуває хіноїдний шлях перетворення з утворенням вільнорадикальних інтермедіатів [252, 253]. Таким чином, при високих концентраціях катехоламінів у крові, які мають місце під час стресу, вільнорадикальні інтермедіати катехоламінів набувають ролі ініціаторів ліпопероксидації та стають факторами патогенезу.

Адренергічна активація процесів пероксидного окиснення ліпідів можлива також за рахунок дії катехоламінів на внутрішньоклітинні процеси через β -рецептори [125].

Одним із ефектів такої дії є індуковане катехоламінами роз'єднання окиснення і фосфорилювання в мітохондріях. Це явище супроводжується втратою електронів з електронно-транспортного ланцюга і може призвести до активації вільнорадикального окиснення ліпідів у мембранах мітохондрій [254]. Експериментальне підтвердження цьому отримано в досліджах із введенням адреналіну і гідрокортизону інтактним та адреналектомованим щурам. Введення адреналіну інтактним тваринам призводить до зростання лише рівня дієнових кон'югатів, а введення гідрокортизону значно збільшує рівень як дієнових кон'югатів, так і шифових основ. При одночасному введенні обох препаратів рівень дієнових кон'югатів зростає, а шифових основ — не відрізнявся від контролю [255].

Імобілізація адреналектомованих щурів не призводила до зміни вивчених показників пероксидації ліпідів, а при введенні адреналіну адреналектомованим тваринам також спостерігалось збільшення в плазмі

крові первинних продуктів ліпопероксидації і зменшення шифових основ, у той час як гідрокортизон у цих тварин зовсім не впливає на їх рівні. Таким чином, правомірним є висновок, що для реалізації ефектів глюкокортикоїдів на процеси вільнорадикального окиснення ліпідів необхідна наявність катехоламінів.

У цих же досліджах показано, що при іммобілізації інтактних тварин, так само як і при введенні їм адреналіну чи гідрокортизону, мобілізація ендогенного антиоксиданту α -токоферолу збільшувалася, в той час як у адреналектомованих тварин вона зростала лише після введення їм даних препаратів.

Таким чином, адреналін та гідрокортизон мають здатність активувати не тільки пероксидне окиснення ліпідів, але й неферментативні ендогенні компоненти антиоксидантної системи, зокрема, α -токоферол.

Катехоламіни і стрес паралельно з пероксидним окисненням ліпідів запускають захисні механізми - активацію в різних органах антиоксидатних ферментів - глутатіонпероксидази та глутатіон-S-трансфери. Стимуляція цього захисного механізму надзвичайно важлива, беручи до уваги, що потужність ферментативних антиоксидантних систем набагато більша, ніж неферментативних [253].

Крім здатності катехоламінів активувати різні компоненти антиоксидантної системи, вони самі безпосередньо на ранніх стадіях стресу можуть виконувати роль "пасток" супероксидних радикалів [252, 256]. Активація перехоплення супероксидних радикалів у мозку та сироватці крові в цей період здійснюється, перш за все, за рахунок активації небілкового, ціанідрезистентного компоненту, що є непрямим підтвердженням ролі гормонів наднирників у знешкодженні вільних радикалів.

При порушенні мікроциркуляції, що характерно не лише для ішемії, але й для стресу [252], накопичення легкоокиснювальних фосфоліпідів, призводить до підсиленого утворення радикалів, змін у структурі

мембрани, а катехоламіни при надлишку радикалів автоокиснюються і з "пасток" перетворюються в генератори додаткових радикалів. Все це створює умови, сприятливі для активації пероксидного окиснення ліпідів.

Описано механізм, який відіграє дуже важливу роль в цитопротекції проти ушкодження нейронів вільними радикалами, що утворюються при оксидативному стресі. У тканині мозку ідентифіковані три протеїни з молекулярною масою 47, 40 і 26 кДа, які дістали назву катехоламінабсорбуючі протеїни за свою здатність з високою афінністю зв'язувати катехоламіни [257].

Як відомо, оксидативний метаболізм катехоламінів у мозку, особливо катаболізм ДА та його кон'югація з метаболічними протеїнами мозку, призводить до продукції високотоксичних вільних радикалів. Вважають, що катехоламінабсорбуючі протеїни відіграють протекторну роль щодо цих шкідливих метаболітів катехоламінів. Введення дофаміну, апоморфіну, норадреналіну, N-n-пропілнорапоморфіну супроводжувалося зростанням у порівнянні з контролем всіх трьох протеїнів. Така відповідність між підвищенням рівня катехоламінів і катехоламінабсорбуючих протеїнів у мозку дає право вважати ці протеїни факторами обмеження інтенсифікації пероксидного окиснення ліпідів у ЦНС. Виходячи з цього, стає зрозумілим, чому резистентність організму до стресу залежить від типологічних особливостей нервової системи, зв'язаних зі станом катехоламінієргічних систем мозку.

Одним із універсальних механізмів розвитку стрес-реакції в цілому та ішемії зокрема є зміщення окисно-антиоксидантної рівноваги в напрямку активації вільнорадикальних процесів, подальший перебіг яких значною мірою залежить від рівня збудливих амінокислот, катехоламінів і глюкокортикоїдів, супроводжується посиленням утворенням активних форм кисню та окиснювальним катаболізмом складних органічних сполук [258, 259].

Вільнорадикальне окиснення може порушувати структуру та функцію будь-яких молекул клітини. Відомо, що окиснення нуклеїнових кислот призводить до появи в них розривів, білків - до утворення зшивок, фрагментації та деградації і, як наслідок, до ферментативних порушень, вуглеводів - до їх полімеризації, ліпідів - до пероксидного окиснення з наступною деградацією [255, 260, 261]. Гідропероксили ліпідів порушують регулярну упаковку мембранного бішару й викликають утворення в мембрані дефектних зон. Гідроксирадикали володіють властивістю утворювати аддукти з фосфоліпідами, білками і нуклеїновими кислотами, приводячи до їх пошкодження. Малоновий альдегід, взаємодіючи з білками і нуклеїновими кислотами, крім того викликає утворення внутрішньо- і міжмолекулярних зшивок, причому ця його властивість активується при ацидозі [258]. Особливий інтерес викликають процеси вільнорадикального пошкодження компонентів ядерного хроматину, а саме ДНК, яка є носієм генетичної інформації. Дія вільних радикалів викликає декілька видів пошкодження ДНК: одно- і двониткові розриви ланцюгів, утворення поперечних зшивок білок-ДНК. Однориткові розриви ДНК виникають на одному з ланцюгів і репаруються, двохниткові розриви виникають при значному впливі пошкоджувального фактора, і тільки частково відновлюються. Пошкодження молекул ДНК і білків у хроматині призводять до порушення його структури, спотворення процесів зчитування інформації, і як наслідок, до загибелі клітини [262, 263].

Таким чином, прооксидантна та антиоксидантна ланки рівноваги є важливими складовими гомеостазу організму.

Дослідження стану вільнорадикальних процесів у лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку нами було проведено за вмістом дієнових кон'югатів, малонового альдегіду, продуктів окиснювальної модифікації білків.

Аналіз конститутивного вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активності ферментів антиоксидантного захисту показав, що в

ядра перегородки та гіпоталамуса ці показники значно вищі в тримісячних щурів. В ядрах мигдалеподібного комплексу вікові особливості конститутивних показників стосувалися лише продуктів ліпопероксидації, вміст яких був вищим в одномісячних тварин.

Відстрочені наслідки ішемічно-реперфузійного стресорного впливу щодо показників окисного гомеостазу мали місце в лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку тварин обох вікових груп. Незважаючи на досить виражену регіонарну та вікову варіабельність постішемічних змін у досліджених відділах, можна прослідкувати окремі закономірності.

По-перше, за вразливістю до ішемічного впливу в одномісячних тварин на першому місці знаходиться перегородка мозку. У тримісячних постішемічні зміни добре виражені в усіх досліджених структурах, за винятком мигдалика.

Незважаючи на те, що зміни проокисно-антиоксидантного гомеостазу в перегородці мозку істотні у тварин обох вікових груп, однак у тримісячних тварин мали місце суттєвіші порушення в системі антиоксидантного захисту.

У преоптичній ділянці одномісячних щурів постішемічне зростання вмісту дієнових кон'югатів урівноважувалося ще більшим зростанням активності глутатіонпероксидази, а в тримісячних щурів деяке зниження вмісту продуктів ПОЛ супроводжувалося глибокою депресією антиоксидантної активності.

Найбільш вираженими віковими відмінностями реагування системи ліпопероксидація-антиоксидантний захист на ішемічно-реперфузійний вплив характеризувався медіобазальний гіпоталамус. У цій структурі одномісячних тварин не виявлено жодних постішемічних змін, у той же час у тримісячних щурів зростання вмісту малонового альдегіду супроводжувалося зниженням активності супероксиддисмутази і каталази.

У мигдалеподібному комплексі мозку одномісячних щурів реакція на ішемію полягала в деякому зниженні активності каталази, а в

тримісячних відбулося зростання вмісту первинних та вторинних продуктів ліпопероксидації.

Таким чином, постішемичні зміни в тримісячних щурів більш обширні та глибокі. Ще одним важливим узагальнюючим моментом є те, що у тварин старшої вікової групи ішемія викликала більш глибокі порушення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу, головним чином, за рахунок виснаження антиоксидантного потенціалу.

Ймовірним джерелом підвищення рівня ТБК-продуктів у крові хворих на ішемічний інсульт можуть бути пероксили ліпідів, які формуються в плазмі при окисненні ліпопротеїнів низької щільності. Надлишковий вміст ПОЛ у загальній циркуляції у хворих, здійснює пошкоджувальну дію на речовину мозку і є відповідальним за порушення реактивності судинної системи внаслідок інгібування її простагліцином. Простагліцин є основним антитромбогенним метаболітом і виконує моделювальну функцію щодо вазоактивних препаратів [258].

Отримані нами дані співпадають із клінічними спостереженнями. Вивчення стану ПОЛ в крові 36 хворих на першу, сьому, 21-шу доби ішемічного гострого порушення мозкового кровообігу в системі внутрішньої сонної артерії показало активацію ПОЛ (гідропероксили, ТБК-продукти, здатність ліпідів до окиснення) з одночасним виснаженням ендogenous антиоксидантного фону у всіх пацієнтів. Комплексна терапія спричиняла нормалізацію всіх параметрів ПОЛ до 7-ї доби, однак активність ендogenous антиоксидантів за цей період не відновлювалася [264].

Подібні дані щодо активації ліпопероксидації та пригнічення антиоксидантного захисту при неповній глобальній ішемії головного мозку отримані в дослідженнях інших авторів [211].

У цілому, можна констатувати, що відстрочені постішемичні зміни ліпопероксидації та антиоксидантної активності в структурах лімбіко-

гіпоталамічного комплексу щурів обох вікових груп характеризуються регіонарними особливостями.

Вважають, що різна інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів у структурах мозку може пояснюватися деякими відмінностями вмісту в них ліпідів, і відповідно, різною схильністю до утворення продуктів їх пероксидації. З іншого боку, є відділи мозку, особливо чутливі до окиснювального пошкодження, оскільки містять більшу кількість іонів заліза, які накопичуються меланіном DA-ергічних нейронів і звільнюються при несприятливих впливах на мозок [265].

Як показано в деяких дослідженнях, інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів у мозку залежить також від кількості в даному відділі рецепторів глюкокортикоїдів [266]. Стосовно ролі глюкокортикоїдів в ініціації та протіканні процесів пероксидного окиснення ліпідів відомо, що глюкокортикоїди, які секретуються під час стресу у дорослих тварин, впливають на різні аспекти дії реактивних видів кисню - від посилення ішемічних пошкоджень до альтерації активності антиоксидантних ензимів [267, 268]. Показано, що в нейрональних культурах навіть високі дози глюкокортикоїдів не проявляють власної токсичності, але вони здатні посилювати токсичність генераторів оксигенних радикалів. Вираженість їх посилюючої дії пропорційна кількості рецепторів у даній тканині в первинній нейронній культурі гіпокампа, який має найвищу концентрацію рецепторів кортикостероїдів у мозку, глюкокортикоїди значно збільшують токсичність адріаміцину (генератора вільних радикалів), а в кортикальних структурах з мінімальною кількістю кортикостероїдних рецепторів вони не впливали на ефект адріаміцину.

Ефект глюкокортикоїдів у мозку залежить від віку. На відміну від дорослих, у новонароджених тварин помірні дози екзогенних глюкокортикоїдів при ішемічних/гіпоксичних інсультах захищають мозок від впливу вільних радикалів [267].

Зменшення в головному мозку активності супероксиддисмутази літературні дані пояснюють окисненням сульфгідрильних груп білкової частини молекул фермента активними формами кисню, гіперпродукція яких має місце за даних умов [269]. Особливістю функціонування супероксиддисмутази є той факт, що в присутності надлишкового вивільнення H_2O_2 , вона може утворювати гідроксид радикал, який атакує саму білкову молекулу супероксиддисмутази, спричиняючи її фрагментацію і втрату активності [270]. Таким чином, для ефективної роботи цей фермент, ймовірно вимагає присутності низькомолекулярних антиоксидантів. Останні взаємодіють з вільними радикалами в тих компартментах клітини, які позбавлені антиоксидантних ферментів [269].

Супероксиддисмутаза є найбільш важливим рівнем клітинного захисту від АФК [210, 271]. Дані літератури свідчать, що відновлення активності мозку після перенесеного інсульту, ймовірно протікає на фоні зниженого рівня супероксиддисмутази [272].

Про важливу роль антиоксидантних ензимів у захисті нервової тканини від оксидативного стресу свідчать результати дослідів [273]. Автори показали, що хронічно збільшена активність супероксиддисмутази в мозку трансгенних мишей, експресованих Cu/Zn-супероксиддисмутазою людини, сприяє клітинному виживанню і нормальному перебігу нейрональних процесів у постсинаптичних нейронах середнього мозку. Підвищення активності Cu/Zn-супероксиддисмутази в культурах цих нейронів значно сповільнювало загибель клітин як шляхом некрозу, так і шляхом апоптозу. Цікаво, що найбільш вираженою протекторна дія була по відношенню до ДА-ергічних, трохи меншою - для ГАМК-ергічних і ще меншою - для решти нейронів.

Механізм цитопротекторної ролі супероксиддисмутази стосовно ДА-ергічних нейронів стає більш зрозумілим при аналізі результатів досліджень [274]. Автори показали, що довготривалий нейротоксичний ефект метамфетаміну на нігростріарну ДА-ергічну систему гризунів

зумовлений підсиленням виділенням ДА з пресинаптичних закінчень з подальшим його оксидативним метаболізмом і утворенням вільних оксирадикалів. Гістоавторадіографічне вивчення кількості зв'язуючих місць міченого ДА показало, що у трансгенних, гетеро- та гомозиготних мишей, експресованих Cu/Zn-супероксиддисмутазою людини загибель ДА-ергічних терміналей, зумовлена метамфетаміном, значно зменшувалася дозозалежно від генів (тобто протекторний ефект у гомозиготних тварин більший). У той же час у нетрансгенних мишей під впливом метамфетаміну спостерігалася загибель ДА-ергічних терміналей і значне зменшення кількості зв'язуючих місць ДА.

За даними Fujimura et al. [275] Mn^{2+} -супероксиддисмутаза запобігає вивільненню цитохрому *c* з мітохондрій в цитозоль, блокуючи в такий спосіб у клітинах апоптоз, який виникає при ішемії мозку.

Таким чином, цитопротекторний ефект супероксиддисмутази свідчить про нейротоксичну роль супероксидних радикалів, а зниження її активності у тримісячних щурів може до деякої міри пояснити більш виражене, ніж в одномісячних щурів, зниження інтенсивності флуоресценції катехоламінів.

Хоча за даними літератури активність каталази у мозку найнижча серед ферментів антиоксидантного захисту, та незважаючи на провідну роль супероксиддисмутази, є дослідження, які свідчать, що за певних патологічних станів активність каталази стає фактором стабільності всієї антиоксидантної системи мозку [276]. Авторами показано, що у хворих із черепно-мозковою травмою активація ПОЛ відбувалася на тлі зниження активності супероксиддисмутази, а підтримання клітинного гомеостазу в основному здійснювалося за рахунок активності каталази, яка значно зростала.

Вікові особливості процесів ліпопероксидації можна пояснити також різним співвідношенням статевих стероїдів сім'яників та надниркових залоз у тварин представлених нами вікових груп. Відомо, що статеві

стероїди наднирників мають нейропротекторний вплив, а сім'яників - неоднозначний. Оскільки в одномісячних щурів переважають статеві гормони наднирників, а в тримісячних - сім'яників, це може зумовити різний вплив на перебіг ішемії.

Взаємодія глюкокортикоїдів та статевих гормонів має структурні особливості [277]. 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*. У центральному, серединному ядрах мигдалика адреналектомія пригнічувала експресію мРНК КРФ.

Значна кількість фізіологічних та патологічних процесів у головному мозку в тій чи іншій мірі пов'язана з окиснювальною модифікацією білків [278, 279].

У досліджах на щурах показано, що ішемія мозку має надзвичайно виражений пошкоджувальний вплив на білки. Вже через 60 хв від початку ішемії значно зростає рівень протеїнових карбонільних дериватів та наполовину знижувалася специфічна активність глутамінсинтетази [280]. Ці пошкодження мають вільнорадикальну природу, про що свідчить запобігання оксидації протеїнів та втрати активності глутамінсинтетази шляхом попереднього введення тваринам пасток вільних радикалів. В експериментах з безпосереднім впливом активних форм кисню на кору головного мозку протягом декількох годин було також отримано виражену оксидацію протеїнів синаптосомальних мембран кори, про що свідчило зростання рівня протеїнових карбонільних та зменшення активності глутамінсинтетази. Ці зміни підтвердилися шляхом використання методу електронного парамагнітного резонансу [280] і також зменшувалися при застосуванні скавенджерів вільних радикалів.

У наших дослідженнях конститутивний вміст продуктів окиснювальної модифікації білків основного характеру був вищим у щурів

старшої вікової групи.

Вплив ішемії на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків мав структурний характер та залежав від віку щурів.

У перегородці мозку одномісячних щурів ішемічно-реперфузійне втручання призвело до зниження вмісту альдегідо- та кетоніпохідних нейтрального і основного характеру. У той же час, незважаючи на значне переважання інтенсивності ліпопероксидації та зниження активності антиоксидантних ферментів у цій структурі тримісячних щурів, відстрочених наслідків ішемії щодо вмісту модифікованих білків не спостерігалось. Це свідчить, що вільнорадикальні пошкодження ліпідів та білків можуть здійснюватися незалежними шляхами.

Зворотна ситуація мала місце у преоптичній ділянці. По-перше, вищий конститутивний вміст продуктів окиснювальної модифікації білків виявлено в одномісячних тварин, по-друге в одномісячних щурів тут не виявлено жодних постішемічних змін, а в тримісячних - зріс вміст продуктів окиснювальної модифікації білків як нейтрального, так і основного характеру. Ішемія усунула вікові відмінності для обох продуктів.

У медіобазальному гіпоталамусі одномісячних щурів також не спостерігалось жодних відстрочених наслідків ішемічно-реперфузійного втручання, а в тримісячних щурів ішемія спричинила достовірне зростання вмісту альдегідо- та кетоніпохідних нейтрального характеру.

Конститутивний вміст усіх продуктів окиснювальної модифікації білків був вищим у медіобазальному гіпоталамусі одномісячних щурів, а ішемія усувала вікові відмінності вмісту альдегідо- та кетоніпохідних нейтрального характеру.

Протилежно спрямовані постішемічні зміни у щурів двох вікових груп спостерігалися також у мигдалеподібному комплексі: в одномісячних щурів мало місце зростання вмісту альдегідо- та кетоніпохідних основного

характеру, а в тримісячних - вміст продуктів окиснювальної модифікації білків як нейтрального, так і основного характеру достовірно знизився.

Незважаючи на відсутність у даному відділі мозку вікових відмінностей конститутивного вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків, ішемія спричинила їх появу: більш високий вміст альдегідо- та кетонічних нейтрального та основного характеру після ішемії мав місце в одномісячних тварин.

Таким чином, наслідки ішемічно-реперфузійного стресу щодо змін вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків у досліджених нами структурах були неоднозначними і коливалися від його зростання до зниження.

Рівень оксидативно модифікованих білків визначається співвідношенням між швидкістю їх оксидації та темпом деградації. Тому їх вміст залежить від тих чинників, котрі регулюють синтез та оксидацію протеїнів, збільшуючи їх вміст, і активність протеаз, які селективно деградують оксидовані форми білків, утримуючи їх вміст у фізіологічних межах [281, 282]. Як зростання, так і надмірне зниження продуктів окиснювальної модифікації білків є свідченням порушеного функціонування клітин.

Накопичення оксидативно модифікованих протеїнів вважають ранньою ознакою пошкодження тканин, опосередкованого активними формами кисню, а утворення білкових карбонільних дериватів зустрічається при патологічних станах у людей і тварин [283, 284].

У різних клітинах накопичення модифікованих білків може відбуватися неоднаковими шляхами. На цей процес впливають субстрати та кофактори, які захищають ензими від інактивації системою вільних радикалів, антиоксиданти, що пригнічують інактиваційні реакції [269, 270, 281]. Таким чином, виснаження субстратів і кофакторів, так само, як і рівнів природних антиоксидантів, може сприяти тому, що білки стають більш чутливими до окиснювальної модифікації. Модифіковані протеїни

набувають високої чутливості до дії протеаз, які, в свою чергу, проявляють селективність до цих білків [282, 285]. Тому, якщо рівень внутрішньоклітинних протеаз за певних причин зменшується, матиме місце акумуляція оксидативно модифікованих протеїнів. При підвищенні активності протеаз вміст карбонільних дериватів зазнаватиме зменшення.

Структурна вибірковість оксидативного пошкодження білків може мати також інше пояснення. Вважають, що оксидативне пошкодження білків у клітині може служити одним із механізмів регуляції їх розпаду. Послідовність реакції така, що активні форми кисню, модифікуючи певні амінокислотні залишки, найчастіше гістидин, маркують білки для протеаз, котрі атакують їх набагато легше, ніж немодифіковані. Щодо природи активних форм кисню, які беруть участь у цих реакціях, то експерименти, виконані з використанням пасток вільних радикалів і синглетного кисню, ферментів каталази та супероксиддисмутази, які видаляють H_2O_2 та $\text{O}_2^{\cdot-}$, нібито свідчать на користь участі різних форм кисню в цих реакціях, але більш детальний аналіз показує, що безпосереднім модифікуючим агентом, найвірогідніше, є гідроксильний радикал [281, 285].

Внаслідок своєї високої реакційної здатності гідроксильний радикал не може дифундувати на значну відстань. Інші активні форми кисню, $\text{O}_2^{\cdot-}$ та H_2O_2 , здатні до дифузії і не мають високої окиснювальної активності. Взаємодіючи зі зв'язаними на макромолекулах іонами перехідних металів чи з перехідними металами, які входять до складу активних центрів ферментів, супероксидний радикал та пероксид водню розпадаються з утворенням гідроксильного радикалу, який модифікує білок. У випадку оксидаз та оксигеназ він може безпосередньо утворюватися в активному центрі цих ферментів і проявляти там свою модифікуючу дію. Таким чином, селективність модифікації у всіх випадках задається локалізацією металовмісного радикалгенеруючого центру макромолекули [285, 286]. Безпосереднім модифікуючим агентом є гідроксильний радикал, а

супероксидний радикал та пероксид водню є попередниками гідроксильного радикалу і використовуються як частки, що транспортують окиснювальні еквіваленти в клітині.

Згідно сучасних поглядів одним з найважливіших шляхів модифікації протеїнів у тканинах головного мозку є сайт-специфічна оксидація протеїнів, індукована прооксидантами [286]. Висока специфічність модифікації у цьому випадку забезпечується наявністю певного місця зв'язування іонів заліза чи міді в молекулах білків, в результаті чого під впливом пероксиду водню в реакції Фентона відбувається утворення гідроксильних радикалів, які реагують з розташованими поблизу боковими ланцюгами амінокислотних залишків [287]. Деякі амінокислотні залишки при цьому конвертуються в карбонільні деривати.

У літературі останніх років описані нові механізми окиснювальної модифікації білків, у тому числі і ферментних, функціонування яких важливе, насамперед, для центральної нервової системи.

Як згадувалося вище, при гіпоксії та ішемії мозку, при стресах різного генезу підсилюється утворення NO, який може пригнічувати ключові ензими енергетичного метаболізму, внутрішньоклітинний глутатіон, пошкоджувати ДНК. При взаємодії супероксиданіону та NO утворюється пероксинітрит - високореактивна сполука, здатна ініціювати пероксидне окиснення ліпідів, утворення гідрооксидів, нітрацію ароматичних амінокислотних залишків та окиснення SH-груп протеїнів [270, 288]. Встановлено, що пероксинітрит інактивує глутатіонредуктазу.

Крім того, є дані, що пероксинітрит у головному мозку прямо пригнічує ензими мітохондріального дихального ланцюга, інактивує гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназу, пригнічує Na^+/K^+ -АТФ-азу та модифікує деякі інші білки, ініціює ішемію ЦНС [289].

Важливим показником стрес-реактивності вважається також тканинна протео- та фібринолітична активність. Активність систем

протеолізу та фібринолізу залежить від узгодженості її активаторів та інгібіторів. Як надмірна активація, так і надлишкове пригнічення протеолізу та фібринолізу може спричинити розвиток деяких патологічних процесів [290, 291]. Порушення балансу протеази-антипротеази є складовою патогенезу багатьох пошкоджень ЦНС [216]. Особливо небезпечною для ішемічного ушкодження мозку є надмірна активація деяких протеолітичних ферментів, зокрема калпаїну, який бере участь в пускових механізмах екситотоксичності [292, 293]. Разом із тим, активація деяких інших протеаз запускає метаболізм нейропептидів, які є важливими компонентами системи обмеження стрес-реакції (ендорфінів, енкефалінів, α -передсердного натрійуретичного пептиду) [294].

Метаболізм активних регуляторних пептидів визначається обширним спектром впливів, що змінюють гомеостаз на будь-якому рівні - клітинному (транскрипція, трансляція та посттрансляційний процесинг), тканинному (секреція й інактивація нейропептидів), а також на рівні організму в цілому [295]. Саме ці морфогенетичні та біохімічні особливості біогенезу і визначають рівень активних регуляторних пептидів в організмі. При цьому, безперечно, важлива регуляторна роль у метаболізмі нейропептидів належить протеолітичним ферментам, які необхідні для їх утворення та інактивації [291].

Під впливом екзопептидаз з високомолекулярних попередників звільняються активні пептиди, які за дії певних стимулів (медіатори, інші регуляторні пептиди, цАМФ) виділяються з клітин, мігрують до клітин-мішеней, де зв'язуються зі специфічними рецепторами, а в подальшому розщеплюються різними пептидазами, що спричиняє їх модифікацію чи повну втрату біологічної активності [295].

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 має важливе біологічне значення, яке полягає у регуляції рівня нейропептидів при патологічних станах організму, у тому числі при стрес-реакції. Така ендогенна саморегуляція необхідна для захисту організму від можливого виснаження в результаті гіперфункції стресорних агентів (гормонів, катехоламінів та ін.) [294].

Встановлено, що багато факторів, які впливають на рівень регуляторних пептидів, подібним чином діють і на активність деяких ферментів обміну пептидів. При моделюванні стрес-реакції, введенні глюкокортикоїдів, має місце підвищення активності протеолітичних ферментів, що ймовірно, є однією з ланок неспецифічної реакції організму на дію екстремальних чинників [217].

У наших дослідженнях постішемичні порушення фібринолітичної активності в одномісячних щурів мали місце в перегородці та мигдалеподібному комплексі мозку. Вони полягали в підвищенні сумарної, неферментативної та ферментативної фібринолітичної активності в перегородці та зниженні всіх цих показників в ядрах мигдалика. У тварин старшої вікової групи ішемія викликала більш обширні порушення. У перегородці мозку тримісячних щурів всі показники фібринолітичної активності зазнавали підвищення, а в мигдалику - зниження. Крім того, в преоптичній ділянці знизилася ферментативна фібринолітична активність, а в медіобазальному гіпоталамусі - сумарна та неферментативна.

Дослідження впливу ішемії на стан тканинного протеолізу в одномісячних тварин продемонструвало значне підвищення всіх досліджуваних показників у перегородці мозку та лізису високомолекулярних білків - у медіобазальному гіпоталамусі. У преоптичній ділянці та мигдалику знижувався лізис азоальбуміну та

азоколу. Це свідчить, що наслідки ішемічно-реперфузійного впливу в різних структурах є неоднозначними як за вираженістю змін, так і за їх спрямуванням.

Постішемічні порушення протеолітичної активності в досліджених нами структурах мозку тримісячних щурів були дещо меншими, ніж в одномісячних. Основні відмінності полягали в повній відсутності впливу ішемії на показники протеолітичної активності в перегородці мозку. Ішемія спричинила пригнічення лізису азоальбуміну, азоказеїну, азоколу в преоптичній ділянці, лізису азоальбуміну та азоколу - в медіобазальному гіпоталамусі. Всі три показники протеолітичної активності в мигдалику даної групи тварин значно зросли.

Таким чином можна заключити, що ішемія спричиняє більш вагомі зміни фібринолітичної активності в лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку тримісячних щурів у порівнянні з одномісячними, а вікові відмінності протеолітичної активності мають місце в медіобазальному гіпоталамусі та перегородці мозку.

За свідченням провідних дослідників проблеми церебральної ішемії та основних стратегій нейропротекторної терапії [190, 226] перспективний розвиток клінічної неврології є можливим лише за умов тісної співпраці з фундаментальними нейронауками. Тільки спільні клініко-експериментальні дослідження здатні забезпечити патогенетичне обґрунтування ефективності того чи іншого препарату, способу його введення, дозування, вікових особливостей дії тощо. Цілком природно, що чим обширніший спектр патогенетичних ланок охоплено при вивченні властивостей препарату, тим точнішим може стати вибір напрямку нейропротекції відповідно до віку, локалізації ішемічного вогнища та інших чинників, що впливають на перебіг ішемії.

Обраний нами для корекції ішемічних ушкоджень препарат емоксипін належить до засобів вторинної нейропротекції, дія яких спрямована на переривання відстрочених механізмів смерті клітин, тобто

віддалених наслідків ішемії. До них належать надлишковий синтез оксиду азоту й розвиток оксидантного стресу, активація мікроглії й дисбаланс цитокінів, імунні зрушення, локальне запалення, порушення мікроциркуляції та гематоенцефалічного бар'єру, трофічна дисфункція й апоптоз. Всі поіменовані процеси, діючи в сукупності, викликають довготривалу перебудову нейроімуноендокринної системи, сприяють прогресуванню атерогенезу та дифузному пошкодженню тканини головного мозку протягом багатьох місяців після інсульту [252, 295].

Емоксипін - це похідне 3-гідроксипіридину, структурний аналог вітаміну В₆. Встановленими ефектами емоксипіну є гальмування пероксидного окиснення ліпідів та активація антиоксидантної системи; зміна активності мембранозв'язаних ферментів, модифікація метаболічної, рецепторної та транспортної функцій клітинних мембран. Внаслідок цих властивостей препарат, за даними літератури, достовірно зменшує вираженість процесів оксидативного стресу [189, 190].

Однак серед клініцистів немає одностайної думки щодо ефективності емоксипіну [226], а дані експериментальних досліджень не висвітлюють церебральних механізмів його дії, а також вікових аспектів ефективності. Тому необхідність додаткового вивчення властивостей препарату з урахуванням вищенаведених мотивів очевидна.

У наших дослідженнях введення емоксипіну значною мірою зменшувало постішемичні зміни інтенсивності флуоресценції катехоламінів у досліджених структурах мозку тварин обох вікових груп, а в деяких випадках навіть запобігало їх виникненню. Особливо виражений корегуючий ефект емоксипіну спостерігався в одномісячних тварин - у чотирьох із шести ядер перегородки та у всіх ядрах мигдалика тварин даної вікової групи препарат повністю нормалізував вміст катехоламінів, у 4 із 5 ядер гіпоталамуса - зменшував наслідки ішемії. Із подібними віковими та структурними особливостями впливу емоксипіну ми зустрілися при дослідженні його ефектів на процеси вільнорадикального

окиснення та фібрино- й протеолітичну активність, на що буде вказано нижче. На нашу думку, це вказує на залежність ефектів препарату від багатьох чинників (стану обміну речовин, зрілості нейрогуморальної регуляції тощо).

Наведені дані свідчать, що емоксипін є не лише антиоксидантом, але й має здатність діяти на рівні нейрохімічних систем мозку.

Фармакологічні препарати, які зменшують постішемичне зниження моноамінів у мозку відносять до нейропротекторів [296, 297]. Авторами проведено вивчення впливу німодипіну на наслідки ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку за реакцією моноамінів та електроенцефалографічною картиною. Показано, що введення препарату більш, ніж удвічі зменшувало ступінь зниження моноамінів у корі й гіпокампі, яке мало місце після 30-хвилинної ішемії з 1-годинною реперфузією та пришвидшувало відновлення електроенцефалографічної картини.

Можливим механізмом дії препаратів, які запобігають зниженню вмісту катехоламінів при ішемії є здатність зменшувати їх оксидацію. У дослідах *in vitro* показана здатність амтизолу і триметазидину блокувати автоокиснення адреналіну. Амтизол гальмує аскорбатзалежні процеси ПОЛ в ліпосомах і в метаболізуючій модельній системі, інгібує ферментативні НАДФ-залежні процеси ПОЛ в гомогенатах тканини мозку [211].

В одномісячних щурів введення емоксипіну повністю запобігало постішемичному зниженню активності супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази в перегородці мозку, в той час як у тримісячних - препарат посилював вплив ішемії на досліджені показники ліпопероксидації та активність глутатіонпероксидази.

Значне постішемичне зниження обох досліджених продуктів ПОЛ, як і їх підвищення, свідчить про порушення рівня активності клітини, адже фізіологічна роль цих продуктів є неодмінною умовою нормального

функціонування клітини [298]. Вільнорадикальні реакції є невід'ємною частиною нормального метаболізму й функціонування нейронів та відіграють важливу роль в їх пластичних перебудовах у ході пристосування до змін умов середовища. Окрім того, активні форми кисню виконують функції вторинних месенджерів, здатних викликати експресію генів, модуляцію активності протеїназ і впливати на функціональну активність клітин [299]. Завдяки процесам пероксидного окиснення ліпідів та білків відбувається швидка зміна складу й будови мембран, приведення їх молекулярної організації у відповідність з новими вимогами до функціональних властивостей мембран [300]. Тому значне пригнічення вільнорадикальних реакцій є не менш шкідливим для життєдіяльності клітини, ніж їх активація.

Отже, в перегородці мозку вплив емоксипіну в одномісячних та тримісячних тварин кардинально відрізнявся.

Абсолютно різний вплив у тварин представлених вікових груп препарат мав у преоптичній ділянці: в одномісячних щурів, як і в перегородці мозку, емоксипін нормалізував ті параметри, які зазнали ішемічних змін (вміст дієнових кон'югатів та активність глутатіонпероксидази). Знову ж таки, на ті параметри, які не зазнали змін внаслідок ішемії, препарат не мав жодного впливу.

У перегородці мозку тримісячних щурів емоксипін поглиблював пригнічувальний вплив ішемії на активність каталази, а на решту показників не впливав, незважаючи на їх виражені постішемічні зміни.

У медіобазальному гіпоталамусі одномісячних тварин ішемія не мала жодних наслідків, а препарат лише дещо підвищував активність супероксиддисмутази. Тобто, це підтверджує тенденцію препарату впливати лише на змінені ішемією показники.

У даній структурі мозку тримісячних щурів емоксипін нормалізував вміст малонового альдегіду та активність каталази, а також наближав до

норми вміст дієнових кон'югатів і активність супероксиддисмутази, що свідчить про істотний антиішемічний антистресорний ефект.

В одномісячних щурів емоксипін запобігав зниженню активності каталази в ядрах мигдалика мозку, яке виникало під впливом ішемії-реперфузії, а також наближав до норми вміст малонового альдегіду та супероксиддисмутази, які мали виражену тенденцію до постішемічних змін.

У мигдалеподібному комплексі мозку тримісячних щурів емоксипін запобігав постішемічним змінам, нормалізуючи вміст дієнових кон'югатів та малонового альдегіду. На активність антиоксидантних ферментів, не змінених ішемією, препарат не впливав.

Аргументом щодо вибору антиішемічних препаратів, здатних зменшувати порушення проксидантно-антиоксидантної рівноваги є те, що за умов ішемії страждають від вільнорадикального окиснення не лише ліпіди, але й білки нейронів та ДНК, які також необхідно захистити від окисних ушкоджень, оскільки полем дії вільних радикалів є гідрофільний простір клітин [301]. Виходячи з цього, найбільш ефективний антигіпоксичний захист здійснюють гідрофільні антиоксиданти. Позитивний ефект емоксипіну щодо окиснювальної модифікації білків показано для гіпокампа [302]. Однак ми не зустріли в проаналізованій нами літературі жодної інформації відносно впливу препарату на вільнорадикальні процеси в лімбіко-гіпоталамічних структурах, тобто, щодо можливих стрес-протекторних здатностей емоксипіну.

Нами встановлено, що вплив емоксипіну на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у лімбіко-гіпоталамічних структурах відзначається структурною та віковою неоднорідністю.

Наприклад, у перегородці мозку одномісячних щурів препарат запобігав впливам ішемії на вміст альдегідо- та кетоніо- похідних нейтрального характеру повністю, а на вміст продуктів основного

характеру - частково. Однак у тримісячних тварин препарат посилював вплив ішемії на вміст альдегідо- та кетоніохідних основного характеру.

Емоксипін не впливав на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у преоптичній ділянці мозку одномісячних щурів, що можна пояснити відсутністю відстрочених впливів ішемії в цій ділянці мозку. Разом із тим, у тримісячних щурів препарат повністю запобігав пошкоджувальним впливам ішемії стосовно альдегідо- та кетоніохідних як нейтрального, так і основного характеру.

Важко трактувати вплив емоксипіну в медіобазальному гіпоталамусі - у тварин обох вікових груп препарат не впливав на змінені ішемією параметри, проте підвищував вміст тих продуктів, на які ішемія не вплинула. На наш погляд, такі зміни скоріше можна оцінити як негативні.

У мигдалеподібному комплексі одномісячних щурів емоксипін не мав ніякого впливу, а у тримісячних нормалізував всі постішемічні зміни.

Наведені дані не дозволяють дійти однозначних висновків щодо впливу емоксипіну на процеси окиснювальної модифікації білків.

У випадках позитивних ефектів препарату на показники вільнорадикального окиснення ліпідів та білків наші дослідження відповідають даним літератури про його антиоксидантні та мембранопротекторні властивості, отримані як при дослідженні *in vitro*, так й *in vivo* [189, 190]. Однак значна кількість отриманих у наших дослідженнях результатів свідчить про його неефективність, або навіть посилення ішемічних впливів. У літературі описані випадки, коли антиоксиданти за певних умов посилювали вільнорадикальні процеси. В організмі вони виступають у ролі буфера і в надлишковій кількості можуть набувати прооксидантних властивостей [300, 303, 304]. Саме тому доза та тривалість застосування препарату повинні бути такими, щоб він не викликав ні пригнічення ендогенних антиоксидантних систем, ні адаптивної перебудови мембран, яка може стати причиною хвороби адаптації. Індивідуальні конститутивні особливості нейрохімічного та

біохімічного статусу окремих відділів ЦНС, які продемонстровано нами на прикладі лімбіко-гіпоталамічних структур, свідчать про потенціальні можливості своєрідної реакції окремих ділянок мозку на ідентичні втручання, в тому числі, і на корегуючі. Ймовірно, це одна з можливих причин неоднозначних результатів застосування нейропротекторів у різних хворих. Для в'яснення цього моменту потрібні додаткові дослідження з вивченням часової динаміки ефективності препарату, оптимальних доз.

Малочисельні дані літератури стосовно механізмів дії емоксипіну свідчать, що препарат не лише знижував вміст загального холестерину крові, малонового альдегіду, але й мав позитивний вплив на показники гемостазу, запобігаючи розвитку гемокоагуляційних порушень покращував мікроциркуляцію за рахунок зменшення вмісту фібриногену та споживання антитромбіну III й фібриногену в судинному руслі [305]. Цю дію препарату автори пов'язують з його антиоксидантними й мембранопротекторними властивостями, здатністю пригнічувати вільнорадикальне окиснення ліпідів та позитивно впливати на процеси гемостазу. Такі властивості препарату навели нас на думку про можливість його впливу на показники тканинної фібрино- та протеолітичної активності.

У цілому, в одномісячних щурів емоксипін мав хороший корегуючий вплив на змінені показники фібринолітичної активності. Проте незважаючи на відсутність постішемичних змін, препарат значно підвищував ферментативну фібринолітичну активність у преоптичній ділянці та пригнічував сумарний і неферментативний фібриноліз у медіобазальному гіпоталамусі.

У тримісячних щурів ефекти емоксипіну відрізнялися - однозначно корегуючий його вплив щодо змінених параметрів відмічався лише в перегородці. У преоптичній ділянці та медіобазальному гіпоталамусі препарат підвищував знижені ішемією показники, однак при цьому їх рівні

вірогідно перевищували контрольні величини. В ядрах мигдалика препарат не впливав на постішемичні зміни, тобто говорити про захисний ефект препарату стосовно даних показників у тримісячних тварин навряд чи можна.

У перегородці мозку одномісячних щурів емоксипін усував наслідки ішемії щодо лізису низькомолекулярних білків та дещо зменшував постішемичні зміни лізису азоказеїну, однак ці зміни не набували вірогідності й даний показник залишався вищим від контрольного. У цій структурі під впливом препарату відбувалося також значне пригнічення лізису колагену не тільки в порівнянні з постішемичними показниками, але й з контрольними.

У преоптичній ділянці препарат нормалізував ішемичне порушення лізису азоальбуміну, але одночасно з цим поглиблював його щодо лізису азоказеїну та азоколу. У медіобазальному гіпоталамусі та мигдалику емоксипін нормалізував всі постішемичні зміни.

Таким чином, можна констатувати, що в одномісячних тварин за показниками протео- та фібринолітичної активності емоксипін, у цілому, мав позитивний вплив на перебіг ішемії.

У перегородці мозку тримісячних щурів ефект емоксипіну полягав у значному зниженні лізису низькомолекулярних білків та колагену, хоча дані показники не зазнали впливу ішемії. Вірогідних наслідків введення препарату не спостерігалось в преоптичній ділянці, медіобазальному гіпоталамусі та мигдалику, хоча тенденція до нормалізації деяких показників мала місце. Таким чином, достовірного антиішемичного впливу за показниками протео- та фібринолітичної активності у тримісячних щурів емоксипін не мав.

Сукупний аналіз стану стрес-реактивності при неповній глобальній ішемії мозку у тварин представлених вікових груп, проведений за показниками гормональної реакції, реакції катехоламінінергічних систем лімбіко-гіпоталамічних структур мозку, вираженістю ліпопероксидації,

окиснювальної модифікації білків, антиоксидантної та протеолітичної активності свідчить, що в одномісячних тварин формування стрес-реалізуючих та стрес-лімітуючих механізмів остаточно не завершено, а застосування нейропротекторів з антиоксидантними властивостями потребує розуміння цих вікових особливостей.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне та експериментальне узагальнення даних щодо вікових особливостей функціонування системи стрес-реалізації та стрес-обмеження за окремими ендокринними, нейрохімічними, біохімічними показниками та патогенетично обґрунтовано вплив емоксипіну на ці показники.

1. За гормональними показниками стресорна відповідь на неповну глобальну ішемію мозку в одномісячних щурів полягала в достовірному зростанні в плазмі крові вмісту пролактину в 2 рази та трийодтироніну в 1,8 раза, а в тримісячних – у зниженні вмісту кортизолу в 1,8 раза та трийодтироніну в 1,6 раза, що свідчить про високу стрес-реактивність у тварин молодшої вікової групи та виснаження її у старших щурів.

2. Неповна глобальна ішемія мозку знижує інтенсивність флуоресценції катехоламінів у лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку тварин обох вікових груп, за винятком преоптико-латерального та вентромедіального ядер гіпоталамуса одномісячних. У тримісячних щурів за даними показниками наслідки ішемічного втручання більш виражені.

3. За кількістю та глибиною змін показників ліпопероксидації та активності антиоксидантних ферментів відстрочені наслідки ішемії значно домінують у структурах мозку тварин старшої вікової групи. Найбільш вразливими до дії ішемії-реперфузії в одномісячних щурів є перегородка мозку (активність супероксиддисмутази, каталази і глутатіонпероксидази знизилася відповідно в 1,5, 1,4, 1,3 раза), у тримісячних щурів – перегородка (активність супероксиддисмутази і каталази знизилася в 2,8, 4,1 раза) преоптична ділянка (активність супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази знизилася в 5,5, 7,4, 1,9 раза) і медіобазальний гіпоталамус (активність супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази та каталази знизилася в 7,6, 1,4, 1,6 раза відповідно). Значне постішемічне

зниження активності антиоксидантних ферментів в тримісячних щурів свідчить про виснаження цієї важливої ланки системи обмеження стрес-реакції.

4. В одномісячних тварин достовірні постішемичні зміни окиснювальної модифікації білків відбулися в перегородці мозку (на 15% і 21% знизився вміст продуктів нейтрального й основного характеру відповідно), мигдалику (на 10% зріс вміст продуктів основного характеру), у тримісячних – у преоптичній ділянці (на 14% та 17% зріс вміст продуктів нейтрального і основного характеру), медіобазальному гіпоталамусі (на 12% зріс вміст продуктів нейтрального характеру) та мигдалику (вміст продуктів нейтрального й основного характеру знизився на 10% і 13% відповідно), що свідчить про більшу вразливість білків мозку до вільнорадикальних пошкоджень у тримісячних тварин.

5. Неповна глобальна ішемія мозку викликає значні порушення фібринолітичної активності в перегородці мозку й мигдалику одномісячних щурів та в усіх досліджених структурах, за винятком преоптичної ділянки, тварин старшої вікової групи. Постішемичні зміни протеолітичної активності виражені в перегородці мозку, преоптичній ділянці, мигдалику одномісячних тварин та в преоптичній ділянці, медіобазальному гіпоталамусі, мигдалику - тримісячних.

6. Емоксипін запобігав постішемичним змінам інтенсивності флуоресценції катехоламінів або значно зменшував їх у всіх досліджених структурах тварин обох вікових груп (за винятком преоптико-медіального і аркуатного ядер гіпоталамуса тримісячних щурів), однак в одномісячних щурів повна корекція мала місце в 46% ядер, а в тримісячних - лише у 20%.

7. У структурах лімбіко-гіпоталамічного комплексу одномісячних щурів корекція постішемичних змін емоксипіном відбувається, головним чином, за рахунок його здатності посилювати активність антиоксидантних ферментів. У тримісячних щурів вплив

препарату неоднозначний в різних структурах і коливається від корегуючого до посилюючого ішемічні впливи. Найвищий корегуючий ефект щодо постішемічних змін окиснювальної модифікації білків емоксипін здійснює в перегородці мозку одномісячних та преоптичній ділянці і мигдалеподібному комплексі мозку тримісячних щурів.

8. Емоксипін запобігає постішемічним змінам фібринолітичної активності в перегородці мозку і мигдалику одномісячних щурів та медіобазальному гіпоталамусі тримісячних, зменшує їх у перегородці тримісячних щурів. В одномісячних щурів емоксипін нормалізує показники протеолітичної активності або зменшує їх порушення в усіх досліджених структурах мозку, у тримісячних - практично не впливає на них.

РЕКОМЕНДАЦІЇ ЩОДО НАУКОВОГО І ПРАКТИЧНОГО ВИКОРИСТАННЯ ЗДОБУТИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Встановлені вікові особливості порушення стрес-реактивності при ішемічно-реперфузійних пошкодженнях головного мозку свідчать про необхідність диференційованого підходу до вибору стратегії їх попередження та корекції в залежності від віку.

Розроблені наукові положення можуть також бути корисними для пошуку нових патогенетичних засобів збільшення потужності та ємності стрес-лімітуючих систем, спрямованих на зменшення ішемічних ушкоджень мозку.

Виявлені нові нейрохімічні та біохімічні аспекти дії емоксипіну відкривають можливості більш вибіркового підходу до застосування препаратів подібної дії.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Исмагилов М.Ф. Ишемический мозговой инсульт: терминология, эпидемиология, принципы диагностики, патогенетические подтипы, терапия острого периода заболевания // Неврологический вестник. - 2005.- Т.37, вып. 1-2. - С. 67-76.
2. Виленский Б.С. Инсульт: профилактика, диагностика, лечение. - СПб, 2002. - 223 с.
3. Виничук С.М., Черевко Т.М. Ишемический инсульт: эволюция взглядов на стратегию лечения. - К., 2003. - 120 с.
4. Мищенко Т.С. Вторичная профилактика ишемического мозгового инсульта //Укр. мед. часопис.- 2001.- Т.25, №5.- С. 8-18.
5. Федин А.И. Профилактика инсульта // Неврол. вестник. - 2005.- Т.37, вып. 1-2. - С. 93-104.
6. Скворцова В.И. Механизмы повреждающего действия церебральной ишемии и нейропротекция // Вестник РАМН. - 2003. - №11. - С.74-80.
7. Магура І. С. Мозкова ішемія-гіпоксія та біофізичні механізми нейродегенеративних і нейропротекторних впливів // Фізіол. журн. - 2003. - Т.49, №2. - С. 7-12.
8. Scheepens A. Alterations in the neural growth hormone axis following hypoxic-ischemic brain injury // Mol. Brain Res. - 1999- Vol. 68, № 1-2. - P. 88-100.
9. Влияние гормонов стрессреализующей системы на течение острого периода ишемического инсульта / В.И.Скворцова, И.А. Платонова, И.В.Островцова и др. // Журн. неврол. и психиатрии.- 2000. - №4.- С.22-27.
10. Пренатальный стресс и нейроэндокринная патология / А.Г. Резников, В.П. Пишак, Н.Д. Носенко и др. - Черновцы: Медакадемія, 2004.- 351 с.
11. Носенко Н.Д., Мішуніна Т. М., Резніков О. Г. Роль

глюкокортикоїдів у пренатальній модифікації стрес-реалізуючої та стрес-лімітуючої систем головного мозку у щурів // Фізіол. журн. - 2002. - Т.48, №2 - С. 111-112.

12. Носенко Н.Д., Резников А.Г. Половая дифференциация мозга как проявление его пластичности // Нейрофизиол.- 2001.- Т.33, № 2. - С. 141-150.

13. Пішак В.П., Ткачук С.С., Мислицький В.Ф. Концепція патогенезу порушень стрес-реактивності у самців з синдромом пренатального стресу // Архив клин. и эксперим. мед. - 2002. - Т.11, №1. - С. 100 - 107.

14. 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.

15. Гусев Е. И., Скворцова В. И. Нейропротективная терапия ишемического инсульта // Нервные болезни. - 2002. - №1. - С.3-7.

16. Adachi N., Namba C., Nagaro T. Glucocorticoids reduces energy utilization in ischemic gerbil brain // Brain Res. - 2001- Vol. 73, № 2. - P. 119-123.

17. 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.

18. Лукьянова Л.Д. Роль биоэнергетических нарушений в патогенезе гипоксии // Патол. физиол. и эксперим. терапия. - 2004. - №2. - С. 2-11.

19. Гусев Е. И., Скворцова В.И. Глутаматная нейротрансмиссия и метаболизм кальция в норме и при ишемии головного мозга // Успехи физиол. наук. - 2002. - Т. 33, №4. - С. 80-94.

20. 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.
21. 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.
22. Vannucci R. C., Brucklacher R. M. Intracellular calcium accumulation during the evolution of hypoxic-ischemic brain damage in the immature rat // *Brain Res.* - 2001. – Vol. 840, №1. – P. 117-120.
23. 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.
24. 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.
25. 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.
26. 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.
27. Tao F., Lu S. D., Zhang L. M. Role of excitatory amino acid transporter 1 in neonatal rat neuronal damage induced by hypoxia-ischemia // *Pergamon.* - 2001. - №3. - P. 503-513.
28. Cassady C.J., Phillis J.W. Further studies on the effects of topical lactate on amino acid efflux from the ischemic rat cortex // *Brain Res.*- 2001.- Vol. 840, №1-2.- P.30-37.

29. Elibol B., Soylemezoglu F., Unal I. Nitric oxide is involved in ischemia-induced apoptosis in brain: A study in neuronal nitric oxide synthase null mice // Pergamon. - 2001. Vol.1. - P. 79-86.

30. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Нейропротекторная терапия ишемического инсульта. Вторичная нейропротекция // Журн. неврол. и психиатрии. - 2002. - Вып. 5. - Прил.: Инсульт. - С. 3-16.

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

32. Badr A.E., Yin W., Mutchaskiw 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.

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

34. Dijkhuizen R. M. Correlation between tissue depolarizations and damage in focal ischemic rat brain // Brain Res. – 1999. - Vol.840, № 1-2. - P. 194-205

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

36. Phillis J. W. Lactate reduces amino acid release and fuels recovery of function in the ischemic brain // Neurosci. Lett. - 1999. - Vol. 272, № 3. - P. 195-198.

37. Puka-Sundvall M., Wallin C., Gilla S. M. Impairment of mitochondrial respiration after cerebral hypoxia-ischemia in immature rats: Relationship to activation of caspase-3 and neuronal injury // Elsev. Netherlands. - 2000. - №1-2. - P. - 43-50.

38. Treatment advances for cocaine-induced ischemic stroke: focus on dihydropyridine-class calcium channel antagonists / B.A. Johnson, M.D.Devous, P.Ruiz, N.Ait-Daoud // Am. J. Psychiat.- 2001.- Vol.158, №.8.- P.1191-1198.

39. 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.

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

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

42. Петрищев Н.Н., Власов Т.Д., Галагудза М.М. Ишемическая адаптация: основные механизмы и перспективы исследования // *Эксперим. и клин. мед.* - 2003. - №2. С.49-53.

43. 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.

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

45. Islekel H. Evaluation of lipid peroxidation, cathepsin L and acid phosphatase activities in experimental brain ischemia-reperfusion // *Brain Res.* - 1999. - Vol. 843, № 1-2. - P. 18-24

46. Механизмы повреждения ткани мозга на фоне острой фокальной церебральной ишемии и нейропротекторная терапия в остром периоде ишемического инсульта / И.Е.Гусев, В.И.Скворцова, Е.Ю.Журавлева, Е.В. Яковлева // *Международ. мед. журн.* - 1999. - № 1. - С. 45-51.

47. Kondo T., Kinouchi K. Differential response in the release of hydrogen-peroxide between astroglial cells and endothelial-cells following hypoxia // *Neurosci. Lett.* - 1996.- Vol.215, №2. - P.103-106.

48. 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.

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

50. Gottlieb M. Changes in excitatory and inhibitory circuits of the rat hippocampus 12-14 months after complete forebrain ischemia // *Neurosci.* – 1999. Vol. 92, № 1. – P. 27-45.

51. 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.

52. 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.

53. Selective acceleration of arachidonic acid reincorporation into brain membrane phospholipid following transient ischemia in awake gerbil / O. Rabin, M. Chang, E. Grange et al. // *J. Neural Transm.* - 1998. - Vol. 105, №1. - P.325-334.

54. Лукьянова Л.Д. Молекулярные механизмы тканевой гипоксии и адаптация организма // *Фізіол. журн.* - 2003. - Т.49, №3. - С. 17-35.

55. Katayama Y., Fukuchi T., McKee A. Effect of nicardipine a Ca^{2+} channel blocker on pyruvate dehydrogenase activity and energy metabolites during cerebral ischemia and reperfusion in gerbil brain// *Brain Res.* - 1998.- Vol.1, №2. - P. 212-217.

56. 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.

57. Болдырев А.А., Куклей М.Л. Свободные радикалы в нормальном и ишемическом мозге // Нейрохимия. - 1996. - Т.13, №3. - С. 271-278.
58. Domanska-Janik K. Ischemia-induced modifications of protein components of rat brain postsynaptic densities // *Neurochem. Internat.* - 1999.- Vol.34, №4.-P.329-336.
59. Мещишен І.Ф., Польовий В.П. Механізм окислювальної модифікації білків // Бук.мед.вісник. - 1999. - Т.3, №1. - С. 196-205.
60. McDonald R.P.A. Mitochondrial DNA deletions in acute brain injury // *NeuroReport.* - 1999. - Vol. 10, №9. - P. 1875-1878.
61. Won M. H. Immunohistochemical detection of oxidative DNA damage induced by ischemia-reperfusion insults in gerbil hippocampus in vivo // *Brain Res.* - 1999. - Vol.83, №1-2. - P. 70-78.
62. Телушкин П.К. Глутамат и пероксидное окисление в патогенезе заболеваний ЦНС // *Вопр.мед.химии* - 1998. - Т.44, Вып.6. – С 527-526.
63. 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.
64. 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.
65. Гуревич К.Г., Шимановский Н.Л. Оксид азота: биосинтез, механизм действия, функции // *Вопр. биол., мед. и фарм. химии.*- 2000.- №4.- С. 416-429.
66. 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.
67. Реутов В.П. Медико-биологические аспекты циклов оксида

азота и супероксидного анион-радикала // Вестник РАМН.- 2000.- №4.- С. 35-41.

68. 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.

69. Григорова И. А., Дубовская С. С. Состояние ферментативной активности и показателей липидного обмена в крови больных в остром периоде ишемического инсульта // Эксперим. и клин. мед. - 2003. - №2. - С. 134-137.

70. 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.

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

73. 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.

74. Von Lubitz D. K. Protection against ischemic damage by adenosine amine congener, a potent and selective adenosine A1 receptor agonist // Eur. J. Pharmac. - 1999. - Vol. 369, № 3. - P. 313-317.

75. O'Neill M.J., Hicks C.A., Ward M.A. A new neuronal Ca²⁺ and Na⁺ channel blocker with neuroprotective effects // Elsev. Netherlands.-2001.-№1.- P.138-149.

76. 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.

77. 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.

78. 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.

79. 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.

80. 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.

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

82. 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.

83. 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.

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

85. Влияние опиоидного пептида даларгина и дез-тир-даларгина 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.- Т.137, №1.- С. 35-38.

86. 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.

87. 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.

88. 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.

89. Умрюхин П.Е. Ранние гены в церебральных механизмах эмоционального стресса // *Успехи физиол. наук.*- 2000.- Т.31, №1.- С. 54-70.

90. Santos M.S., Moreno A.J., Carvalho A.P. Gene therapy with Hsp70 is neuroprotective in rat models of stroke // *Brain Res.* - 1999. - Vol. 18, № 2. - P. 292-299.

91. Mancuso A. Transient MRI-detected water apparent diffusion coefficient reduction correlates with c-fos mRNA but not hsp70 mRNA induction during focal cerebral ischemia in rats // *Brain Res.* - 1999. - Vol. 839, №1. - P. 7-22.

92. Пшенникова М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии // *Патол.физиол. и эксперим.терапия.*-2000.- №2.-С. 24-31.

93. Шаляпина В.Г. Функциональные качели в нейроэндокринной регуляции стресса // *Физиол. журн. им. И.М.Сеченова.*- 1996.- Т.82, №4.- С. 9-14.

94. Neuroendocrine response during stress with relation to gender differences / D. Jesova, E. Jurancova, A. Mosnarova et al. // *Acta Neurobiol. Exp.*- 1996.- Vol.56, №3.- P. 779-785.

95. Виноградова Е.П., Жуков Д.А. Обратная связь в системе

"стимул-реакция" определяет особенности стресса // Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. - 2001. - Т.87, №3. - С. 319-323.

96. Худавердян Д.Н., Аракелян К.П. О включении кальцийрегулирующих гормонов, кортизола и электролитов крови в ранние приспособительные реакции организма // Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. - 2002. - Т.88, №3. - С.381-386.

97. Corticotropin-releasing hormone-receptor type-1-generation and characterization of polyclonal antipeptide antibodies and their localisation in pituitary-cells and cortical-neurons in vitro / M.G. Castro, E. Morrison, K.J. Perone et al. // J.Neuroendocrinol.- 1996.- Vol.8, №7.- P. 521-531.

98. Brain-stem hemisection decreases corticotropin-releasing hormone messenger-RNA in the paraventricular nucleus but not in the central amygdaloid nucleus / K. Pacak, M. Palkovits, S. Makino et al. // J. Neuroendocrinol.- 1996.- Vol.8, №7.- P. 543-551.

99. Роль различных иерархических структур головного мозга при психоэмоциональном перенапряжении / В.Б. Писарев, В.П. Туманов, А.Ю. Ерофеев, М.Б. Потанин // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1997. - Т.122, №5. - С. 578-582.

100. Акмаев И.Г. Нейроиммуноэндокринология: факты и гипотезы // Пробл. эндокринолог. - 2000.-Т.43, №1. - С.3-9.

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

102. Oliveira C.L. de, Guimaraes F.S., Del Bel E.A. C-jun mRNA expression in the hippocampal formation induced by restraint stress // Brain Res.- 1997.- Vol.753, №1.- P. 202-208.

103. Cullinan W.E., Helmreich D.L., Watson S.J. Fos expression in forebrain afferents to the hypothalamic paraventricular nucleus following swim stress // Neurosci.- 1996.- Vol.368, №1.- P. 88-99.

104. Noxious colorectal distension induced-C-fos protein in limbic brain structures in the rat / R.J. Traub, E. Silva, G.F. Gebhard et al. // Neurosci.Lett.-

1996.- Vol.215, №3.- P.165-168.

105. Boksa P., Krishnamurthy A., Sharma S. Hippocampal and hypothalamic type-I corticosteroid receptor affinities are reduced in adult-rats born by a cesarean procedure with or without an added period of anoxia // *Neuroendocrinol.*- 1996.- Vol.64, №1.- P. 25-34.

106. De Kloet E.R., Rots N.Y., Cools A.R. Brain-corticosteroid hormone dialogue — slow and persistent // *Cell. and Mol. Neurobiol.* - 1996.- Vol.16, №3.- P.345-356.

107. Role of amygdala in hypothalamo-pituitary-adrenocortical responses / S.Feldman, M.Newmann, E.Gur, J.Weidenfeld // *Neuroreport.*- 1998.- Vol.9, №9.- P. 2007-2009.

108. Жуков Д.А. Психогенетика стресса. - СПб.: СПбЦНТИ, 1997.- 176 с.

109. Vandekar L.D. Forebrain pathways mediating stress-induced renin secretion // *Clin.and Exp.Pharmacol. and Physiol.*- 1996.- Vol.23, №2.- P.166-170.

110. Feldman S., Weidenfeld J. Norepinephrine depletion in the amygdala inhibits CRF-41, ACTH, and corticosterone responses following photic neural stimulation // *Brain Res. Bull.*- 1996.- Vol.41, №2.- P. 83-86.

111. Мыслицкий В.Ф. Перегородка мозга: функциональная морфология, нервные связи и роль в нейроэндокринных корреляциях /обзор литературы // *МРЖ* - 1983. - Раздел XX, №8. - С. 1-5.

112. Судаков К.В. Механизмы устойчивости к эмоциональному стрессу: преимущества индивидуального подхода // *Вест. РАМН.*- 1998.- №8. - С. 8-12.

113. Takashi O. Effects of CRF and LHRH on rat septo-hippocampal neurons // *Endocr.J.* - 1997. - Vol.44, № 4. - P. 520-525.

114. Шалыпина В.Г., Ордян Н.Э. Рецепторы кортикостероидов в мозгу как сигнальные системы стресса и адаптации // *Успехи физиол. наук.* - 2000. -Т.31, №4. - С. 86-101.

115. Avishaieliner S., Yi S.J., Baram T. Developmental profile of messenger-RNA for the corticotropin-releasing hormone-receptor in the rat limbic system // Dev.Brain Res.- 1996.- Vol.91, №2.- P. 159-163.

116. Ткачук С.С. Аналіз стану деяких компонентів стреслімітуючої системи мозку у пренатально стресованих щурів // Бук. мед. вісник. - 1998. - Т.2, № 2 - С. 52-58.

117. Ткачук С.С. Стрес-індуковані зміни вмісту передсердного натрійуретичного пептиду в структурах мозку // Науковий вісник Ужгородського ун-ту, серія "Медицина". - 1999. - вип.9. - С. 51-53.

118. Ткачук С.С., Пішак В.П., Мислицький В.Ф. Модифікація стрес-лімітуючої здатності передсердного натрійуретичного пептиду пренатальними стресорними впливами // Експерим. та клін. фізіол. і біохімія. - 1999. - Т.7, №3. - С. 23-26.

119. Ткачук С.С., Пішак В.П., Мислицький В.Ф. Механізми ГАМК-ергічної регуляції рівнів β -ендорфіну в структурах гіпоталамуса пренатально стресованих самців щурів // Фізіол. журн.- 2000. - Т.46, №2. - 109-115.

120. Бородин П.М. Стресс и генетическая изменчивость // Генетика.- Т.23, №6.- С.1003-1010.

121. Borsody M.K., Weiss J. Influence of corticotropin-releasing hormone on electrophysiological activity of locus-coeruleus neurons // Brain Res.- 1995.- Vol.56, №20.- P. 1665-1678.

122. Мишуніна Т.М. Содержание гамма-аминомасляной кислоты в крови - "периферический индикатор" состояния центральной нейромедиаторной системы // Вопр. мед. химии.- 1998.- Т. 44, вып. 6.- С. 511-516.

123. Мишуніна Т.М., Кононенко В.Я. Участь гамма-аміномасляної кислоти в регуляції функції системи гіпоталамус-гіпофіз-кора надниркових залоз // Ендокринологія.- 1997. - Т.2, №2.- С. 83-94.

124. Мишуніна Т.М., Кононенко В.Я., Калініченко О.В.

Особливості впливу ГАМК-ергічних препаратів на перебіг гормонально-медіаторної реакції надниркових залоз на стрес за умов норми та фармакологічної адреналектомії // *Ендокринологія*.- 1999.- Т.4, №2.-С. 259.

125. Пшенникова М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии (продолжение) // *Патол.физиол. и эксперим.терапия*.- 2000.- №3.- С. 20-26.

126. Тіткова А.М. Нейрохімічне забезпечення системи позитивного підкріплення: опіоїдні пептиди // *Доп. НАН України*. - 1998. - № 5. - С. 161-165.

127. Ткачук С.С. Вплив пренатального стресу на рівні β -ендорфіну в окремих структурах мозку щурів // *Архив клин. и эксперим. мед.* - 1999. - Т.8, №2. – С. 158-160.

128. Beaulieu J., Champagne D., Drolet C. Enkephalin innervation of the paraventricular nucleus of the hypothalamus-distribution of fibers and origins of input // *J.Chem.Neuroanat.* - 1996.- Vol.10, №2.- P.79-92.

129. Структурно-нейрохімічна дезінтеграція механізмів стрес-реактивності у самців з синдромом пренатального стресу / С.С.Ткачук В.П. Пішак, В.Ф. Мислицький, О.В. Ткачук // *Запорожский мед.журн.* - 2002. - Т.13, № 3. - С. 39-41.

130. Intravenous interleukin1-beta-induced inhibition of gastric-emptying - involvement of central corticotropin-releasing factor and prostaglandin pathways in rats / G. Suto, A. Kiraly, V. Plourde, Y. Tache // *Digestion*.- 1996.- Vol.57, №2.- P. 135-140.

131. Hertting G., Seregi A. Formation and function of eicosanoids in the central nervous system // *Arachidonic Acid in the Nervous System. Physiological and pathological significance* // *Ann. of the New York Academy of Sci.*- 1999.- Vol.559.- P. 84-99.

132. Судаков К.В. Пластичность системных механизмов мозга // *Успехи физиол. наук*.- 1996.-Т.27, №2.- С. 3-27.

133. 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.

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

135. Mattson M.P., Liu D. Energetics and oxidative stress in synaptic plasticity and neurodegenerative disorders // Neuromolecular. Med.- 2002.- Vol.2, №2.- P.215-231.

136. Жданов Г.Н., Герасимова М.М. Оценка роли аутоиммунной воспалительной реакции в патогенезе церебральной ишемии // Неврол. вестн.. - 2003. - Т.35, вып. 3-4. - С. 13-17.

137. Пуговкин А.П. Адренергическая иннервация церебральных артерий при изменении активности холинергических и моноаминергических систем головного мозга // Росс. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. - 1999. - Т.84, №9. - С. 898-905.

138. The disruption of spatial cognition and changes in brain amino acid, monoamine and acetylcholine in rats with transient cerebral ischemia / K. Iwasaki, Y. Kitamura, Y. Ohgami et al. // Brain Res.- 1996. - Vol.709, №.2.- P.163-172.

139. Phillis J.W. Failure of kynurenic acid to inhibit amino acid release from the ischemic rat cerebral cortex // Neurosci. Lett.- 1999.-Vol.273, №1.- P. 21-24.

140. Xu Z. C. Gender difference in dopamine concentration and postischemic neuronal damage in neostriatum after unilateral dopamine depletion // Experim. Neurol. - 1999. - Vol. 158, №1. - P. 182-191.

141. Горбунова А.В. Биогенные амины в центральной нервной системе у крыс Август и Вистар в условиях экспериментального эмоционального стресса // Нейрохимия.- 1998.- Т.15, №3.- С. 293-302.

142. Участие моноаминергических клеток гипоталамуса в регуляции стрессорной реакции организма при старении /

Е.В. Черниговская, Е.Д. Бажанова, Ж. Тибо, О.А. Данилова // Журн. эволюц. биохимии и физиол. - 1999.- Т.35, №1.- С. 48-52.

143. Носенко Н.Д., Резников А.Г. Пренатальный стресс и половая дифференциация моноаминергических систем головного мозга // Нейрофизиология. - 2001. - Т.33, №3. - С. 225-235.

144. Effects of immobilisation on in vivo release of norepinephrine in the bed nucleus of the stria terminalis in conscious rats / К. Расака, R. McCarty, M Palkovits et al. // Brain Res.- 1995.- Vol.688, №1-2.- P. 242-246.

145. Palkovits M., Brownstein M.J. Catecholamine in the central nervous system // Handbook of experimental pharmacology. - Berlin: Springer., 1989.- P. 1-26.

146. Noradrenergic mechanisms in stress and anxiety. 1.Preclinical studies // J.D. Bremner, J.H. Krystal, S.M. Southwick, D.S. Charney // Synapse.- 1996.- Vol.23, №1.- P. 28-38.

147. Гишинский М.А., Файбушевич А.Я., Ланте К.Е. Холодовой стресс и внеклеточные моноамины миндалины. Микродиализное исследование //Адапт. организма к природ. и экосоц. условиям среды.- 1998.-Т.2.- С.20-21.

148. Conti L.H., Foote S.L. Reciprocal cross-desensitization of locus-coeruleus electrophysiological responsivity to corticotropin-releasing factor and stress // Brain Res.- 1996.- Vol.722, №1-2.- P. 19-29.

149. Sato Y., Suzuki N., Horita H. Effects of long-term psychological stress on sexual-behavior and brain catecholamine levels // J. Andrology.- 1996.- Vol.17, №2.- P. 83-90.

150. Cizza C., Bergamini E. Modification associate all invecchiamento dell'ipotalamo-ipofisi-surrene CRH secernente // G.Gerontol.- 1994.- Vol.44, №9.- P. 673-677.

151. Previous stress alters corticotropin-releasing factor neurotransmission in the locus-coeruleus / A.L. Curtis, L.A. Pavcovich, D.E. Grigoriadis, R. Valentino // Neurosci.- 1995.- Vol.65, №2.- P. 541-550.

152. Stress-induced norepinephrine release in the hypothalamic paraventricular nucleus and pituitary-adrenocortical and sympathoadrenal activity - in vivo microdialysis studies / K.Pacak, M.Palkovits, I.J.Kopin, D.S. Golstein // *Front. Neuroendocrinol.* - 1995. - Vol.16, №2. - P. 89-95.

153. Оленев С.Н. Развивающийся мозг. - Л.:Наука, 1978. - 222 с.

154. Ранние и отдаленные нейроэндокринные эффекты пренатального стресса у самцов и самок крыс / А.Г.Резников, Н.Д.Носенко, Л.В.Тарасенко и др. // *Пробл. эндокринолог.* - 2000. - № 1. - С. 30-34.

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

156. Мыслицкий В.Ф. Половая дифференциация некоторых структур лимбической системы головного мозга крыс в онтогенезе: Автореф. дис. ...д-ра биол. наук: 14.03.13.-М., 1990.- 32 с.

157. Гуньков С.В. Моноамины гипоталамуса в постнатальном онтогенезе крыс // *Пробл. эндокринолог.* - 1990. - Т.36, №2. - С. 63-66.

158. Резніков О.Г., Сініцин П.В., Тарасенко Л.В. Вікові та статеві особливості норадренергічної реактивності гіпоталамо-гіпофізарно-адреноталічної системи у пренатально стресованих щурів // *Доп. НАН України.* - 2001. - №1. - С. 177-180.

159. Differential regulation of the expression of corticotropin-releasing factor receptor type 2 (CRF2) in hypothalamus and amygdala of the immature rat by sensory input and food intake / A.M. Eghbal, E.S. Avishai, C.G. Hatalski, T.Z. Baram // *J. Neurosci.* - 1999. - Vol.19 - P. 3982-3991.

160. 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.

161. Формирование кровеносной системы полушарий головного мозга у растущих крыс / К.А. Шошенко, И.М. Коростышевская, М.Н. Носова и др. // *Росс.физиол.журн. им. И.М.Сеченова.* - 1998. - Т.84,

№4. - С. 353-362.

162. 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 Metab. - 1989. - Vol.9, №5. - P. 579-588.

163. Носенко Н. Д., Резніков О. Г. Фізична витривалість щурів, які зазнали пренатального впливу стресу або екзогенних глюкокортикоїдів // Фізіол. журн. - 2000. - Т.46, №3. - С. 31-35.

164. Вундер П.А., Андронов Е.В., Андропова Т.А. Стрессорные реакции и роль пола в их осуществлении // Успехи соврем. биол. - 1999.- Т.119, №4.-С. 335-344.

165. Анищенко Т.Г. Половые аспекты проблемы стресса и адаптации // Успехи соврем. биол.- 1991.- Т.111, вып. 3.- С. 460-475.

166. Половые различия адренкортикальной чувствительности и устойчивости к цереброваскулярным повреждениям у крыс при сильном стрессе / Т.Г.Анищенко, Г.Е. Бриль, Т.П.Романова, Н.Б.Игошева // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1992. - Т.114, №10. - С. 353-355.

167. Анищенко Т.Г., Гудкова Е.В. Половые различия в чувствительности белых крыс к адреналину // Бюл.эксперим.биол. и мед. - 1992. - Т.113, №6. - С. 577- 579.

168. Половые различия в степени активации перекисного окисления липидов и устойчивости к сердечно-сосудистым повреждениям у крыс при стрессе / Т.Г. Анищенко, Г.Е. Бриль, Т.П. Романова, Л.М. Шорина // Бюл.эксперим.биол. и мед. - 1995. - Т.119, №4. - С. 354- 357.

169. 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.

170. 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.

171. Индивидуально-типологические особенности гормональных реакций у собак при психоэмоциональном стрессе / В.Г. Шаляпина, Н.Л. Войлокова, Н.Ф. Суворов, В.В. Ракицкая // Росс. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. - 2001. - Т.87, №7. - С. 926-932.

172. 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.

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

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

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

176. 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.

177. 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.

178. Деякі аспекти антиоксидантної та протиішемичної дії нового потенційного препарату "нітрокол" в умовах моделювання ішемичного 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.

179. 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.

180. Церебральная гемодинамика при окклюзирующих поражениях экстракраниальных магистральных артерий / Л.И.Пышкина, М.Р.Бекузарова, Л.Б.Тлапшокова, Л.И. Черкасов // Журн. неврол. и психиатрии. - 1991. - Т. 89, Вып. 7. - С. 86-88.

181. Содержание биогенных аминов в мозгу у крыс с разной устойчивостью к эмоциональному стрессу / А.В.Горбунова, Р.М.Салиева, Н.Н. Лобанова и др. // Физиол.журн. им. И.М.Сеченова.- 1995.- Т.81, №5.- С.14-22.

182. Структурно-метаболические изменения клеточных образований различных отделов мозга при стрессовых воздействиях на организм / Ф.И.Фурдуй, Л.М.Мамалыга, Г.С.Пасечник, Ю.А.Митенков // Изв. АН Респ. Молдова. Биол. и хим. наук.- 1995.- №5.- С. 56-79.

183. Анохин К.В., Рябина А.Э., Судаков К.И. Экспрессия гена *c-fos* в мозге мышей в динамике выработки навыков оборонительного поведения // Журн. высш. нервн. деят.-ти. - 2000. - Т.50, №1. - С.88-93.

184. Рыбникова Е.А., Пельто-Хьюкко М., Шаляпина В.Г. Экспрессия ранних генов в мозгу крыс после введения кортиколиберина в стриатум // Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. - 2001. - Т.87, №6. - С. 810-814.

185. Юматов Е.А. Нейромедиаторная интеграция эмоционального возбуждения и механизмы устойчивости к стрессу // Вестн. РАМН. - 1995.- №11.- С. 9-16.

186. Ткачук С.С Характеристика центральных норадренергичних корелятив стрес-реактивності за даними гістоавторадіографії // Бук. мед.

вісник.- 2000.- Т.4, №2.- С. 235-243.

187. Ткачук С.С. Вплив пренатального стресу на базальну та стрес-індуковану здатність нейронів деяких структур мозку зв'язувати мічений дофамін // Бук. мед. вісник.- 2000.- Т.4, №3.- С. 218-223.

188. Юшкова В.В., Степанюк Г.І., Пентюк О.О. Порівняльна оцінка впливу похідних 1,4-нафтохінону та емоксипіну на гемодинаміку та енергетичний метаболізм мозку кішок // Ліки. - 1998. - № 4. - С. 43-46.

189. Противоишемическая защита головного мозга антиоксидантами из группы 3-оксипиридина / М.Д. Гаевый, В.Е. Погорельый, А.В. Арльт и др. // Тез. докл. IV Рос. нац. конгр. "Человек и лекарство". – Москва, 1997. - С. 252.

190. Поиск и изучение новых церебропротекторов / М.Д.Гаевый, В.Е.Погорельый, А.А. Озеров и др. // Тез. докл. V Росс. нац. конгр. "Человек и лекарство". - Москва, 1998. - С. 554.

191. 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.

192. 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.

193. Микроспектрофлуориметр с выводом информации на перфоратор / А.Ю. Буданцев, С.И. Жариков, Ш.И. Барилко и др. //Цитология.- 1978.- №4.- С.476-479.

194. Сучасні методи експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії /В.М. Магальяс, А.О. Міхєєв, Ю.Є. Роговий та ін.- Чернівці, 2001.- 42 с.

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

196. 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.

197. 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 / Одеський мед. ін-т. - Одеса, 1996. - 37 с.

198. Whitewelkley J.E., Warren G.L., Bunnel B.N. Treadmill execise training and estradiol increase plasma АСТН and prolactin after novel footshok // J.Applied Physiol. - 1996. - Vol.80, №3. - P. 931-939.

199. Ткачук С.С., Пішак В.П., Мислицький В.Ф. Вплив пренатального стресу на центральну серотонінергічну регуляцію глюкокортикоїдної функції // Бук. мед. вісник.- 1999.- Т.3, №3.- С. 229-232.

200. Ткачук С.С. Особливості серотонінергічної регуляції рівнів пролактину у плазмі крові пренатально стресованих щурів // Бук. мед. вісник.- 1999.- Т.3, №4.- С. 16-20.

201. Ткачук С.С., Пішак В.П., Мислицький В.Ф. Вплив пренатального стресу на серотонін- та ГАМК-ергічну регуляцію рівня тироксину у плазмі крові // Бук. мед. вісник.- 2000.- Т.4, № 2-3.- С.140-144.

202. Юматов Е.А. Пролактин в механизмах устойчивости к эмоциональному стрессу // Экспериментальная и прикладная физиология. Психоэмоциональный стресс. М., 1992.- Т.1.— С. 3-15.

203. Саутін Ю.Ю. Трофічний ефект пролактину в первинній культурі адренкортикальних клітин // Ендокринологія.- 1997.- Т.2, №1. - С. 117-119.

204. Божко А.П., Солодков А.П. Зависимость адаптационного эффекта коротких стрессорных воздействий от тиреоидного статуса организма // Пробл.эндокринол. - 1990. - Т.36, № 5. - С. 74-78.

205. Божко А.П., Городецкая И.В. Значение тиреоидных гормонов в предупреждении нарушений сократительной функции и антиоксидантной

активности миокарда при тепловом стрессе // Рос. физиол.ж. им. И.М.Сеченова - 1998. - Т. 84, №3. - С.226-232.

206. Тимофійчук І.Р. Вікові особливості реакції кортикостерону, пролактину тироксину та трийодтироніну на неповну глобальну ішемію мозку // Клін. та експерим. патол. - 2005. - Т.IV, №4. - С.96-99.

207. Влияние гормонов стресс-реализующей системы на течение острого периода ишемического инсульта / В.И. Скворцова, И.А. Платонова, И.В. Островцова и др. // Журн. неврол. и психиатрии. - 2000. - №4. - С.22-27.

208. Тимофійчук І.Р., Пішак В.П., Мислицький В.Ф. Постішемична реорганізація катехоламінергічних систем лімбіко-гіпоталамічних структур мозку та її корекція емоксипіном у щурів різного віку // Клін. та експерим. патол. - 2005. -Т.IV, №2. - С.96-99.

209. Телушкин П.К. Интенсивность процессов перекисного окисления липидов, активность НАДФ-зависимых дегидрогеназ и протеаз в мозге крыс при многократном введении инсулина // Пробл. эндокринологии. - 1998.- Т.44, №4.- С. 35-38.

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

211. Влияние триметазидина 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.

212. Тимофійчук І.Р. Вікові особливості постішемичних проокисно-антиоксидантних взаємовідносин у структурах лімбіко-гіпоталамічного комплексу щурів //Клін. та експерим. патол. - 2004. -Т.III, №2, Ч.1. - С.165-167.

213. Тимофійчук І.Р. Характеристика модулюючого впливу ішемії на постішемичні показники окиснювальної модифікації білків у лімбіко-

гіпоталамічних структурах мозку щурів // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія медицина. - 2004. - вип.23. - С. 26-29.

214. Деякі біохімічні кореляти вікової чутливості окремих структур мозку до неповної глобальної ішемії / І.Р. Тимофійчук, В.П. Пішак, С.С. Ткачук та ін. // Бук. мед. вісник. -2005. - Т.9, № 3-4. - С. 201-203.

215. Тимофійчук І.Р. Характеристика чутливості деяких структур проміжного мозку щурів до ішемії за показниками вільнорадикальної модифікації білків // 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.

216. Веремеенко К.Б. Белковые ингибиторы плазмы крови - регуляторы активности протеолитических ферментов // Системная энзимотерапия. Теоретические основы, опыт клинического применения. - Киев:МОРИОН, 2000. - С. 21-53.

217. Гарська Н.О. Роль нейтрофілів у механізмах взаємодії імунних і гемостатичних реакцій при іммобілізаційному стресі //Одеськ.мед.ж. - 2000. - № 3. - С. 19-22.

218. Ahn M. Y. Endogenous plasminogen activator expression after embolic focal cerebral ischemia in mice // Brain Res. - 1999. - Vol.837, №1-2. - P. 169-176.

219. 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.

220. 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.

221. Yoon H.C., Shin C.M., Myeung T.K. Enhanced expression of L-

type Ca^{2+} channels in reactive astrocytes after ischemic injury in rats // Brain Res. - 2001. – Vol. 840, № 2-3. - P. 93-96.

222. Тимофійчук І.Р. Вікові особливості впливу емоксипіну на постішемичні зміни фібрино- та протеолітичної активності в структурах проміжного мозку щурів // Бук. мед. вісник. - 2004. - Т.8, № 3-4. - С. 280-284.

223. Тимофійчук І.Р. Вплив емоксипіну на деякі відстрочені наслідки ішемічно-реперфузійного пошкодження 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. 90.

224. Тимофійчук І.Р. Патогенетичне обґрунтування вікових аспектів ефективності емоксипіну при неповній глобальній ішемії мозку // Таврический медико-биологический вестник. - 2004. - Т.7, №4. - С.120-123.

225. Тимофійчук І.Р., Пішак В.П. Оцінка впливу емоксипіну на стан прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в деяких структурах проміжного мозку щурів різного віку після двосторонньої каротидної ішемії // 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.41.

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

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

228. Plasma cortisol, PRL, ACTH, AVP and corticotropin-releasing hormone responses to direct-current cardioversion and electroconvulsive-therapy / С.М. Florkowsky, I.J. Crozier, A. Nightingale et al. // Clin.Endocrinol. - 1996. - Vol.44, №2. - P. 163-168.

229. Neuroendocrine responses to emotional arousal in normal women /

G.Gerra, G.Fertomani, A. Zaimovic et al. // *Neuropsychobiol.*- 1996.- Vol.33, №4.- P. 173-181.

230. Effects of chronic stress on food acquisition, plasma hormones, and the estrous-cycle of female rats / S.M. Anderson, G.A. Saviolakis, R.A. Bauman et al. // *Physiol.Behav.*- 1996.- Vol. 60, №1.- P.325-329.

231. Чернышева М.П. Гормоны животных. Введение в физиологическую эндокринологию. - СПб.: "Глаголь", 1995. -296 с.

232. Tanaka K., Wada N., Ogawa N. Chronic cerebral hypoperfusion induces transient reversible monoaminergic changes in the rat brain // *Neurochem Res.*- 2000.- Vol.25, №.2.- P.313-320.

233. Haque ME., Tanaka K., Ogawa N. Relationship between locomotor activity and monoamines following single and double transient forebrain ischemia in gerbils // *Neurochem. Res.*- 2001.-Vol.26, №.4.-P.401-406.

234. Kozuka M., Iwata N. Changes in levels of monoamines and their metabolites in incompletely ischemic brains of spontaneously hypertensive rats // *Neurochem Res.*- 1995.-Vol.20, №.12.- P. 1429-1435.

235. Obrenovitch T.P., Richards D.A. Extracellular neurotransmitter changes in cerebral ischaemia // *Cerebrovasc. Brain Metab. Rev.* - 1995.- Vol.- 7, №.1.-P.1-54.

236. Отеллин В.А. Структурные основы моноаминергических механизмов регуляции функций ЦНС в норме и при патологии // *Всерос. науч. конф. с междунар. участием, посвященная 150-летию со дня рождения академика И. П. Павлова.* - Санкт-Петербург, 1999 - С. 245-246.

237. 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.

238. 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.

239. Ortiz J., Fitzgerald L.W., Lane S. Biochemical adaptations in the mesolimbic dopamine system in response to repeated stress // *Neuropsychopharm.*- 1996.- Vol.14, №6.- P. 443-452.

240. Nellgard B. Pre-ischemic depletion of brain norepinephrine decreases infarct size in normothermic rats exposed to transient focal cerebral ischemia // *Neurosci. Lett.* - 1999. - Vol. 275, №3. - P. 167-170.

241. 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.

242. Ohta K., Fukuuchi Y., Shimazu K. Presynaptic glutamate receptors facilitate release of norepinephrine and 5-hydroxytryptamine as well as dopamine in the normal and ischemic striatum // *J Auton. Nerv. Syst.* -1994.- Vol.49, № 2.- P.195-202.

243. Blockade of central histaminergic H₂ receptors facilitates catecholaminergic metabolism and aggravates ischemic brain damage in the rat telencephalon / R.Otsuka, N.Adachi, G. Hamami et al. // *Brain Res.*-2003.- Vol.974, №.1-2.-P.117-126.

244. Biochemical study of the postischemic neuronal damage / D. Jiang, X. Rong, Q. Li, Z. Wei // *Adv. Exp. Med. Biol.*- 1995.- Vol.363. - P.133-142.

245. 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.

246. Monoamine metabolism and sympathetic nervous activation following subarachnoid haemorrhage: influence of gender and hydrocephalus / G. Lambert, S. Naredi, E. Eden et al. // *Brain Res Bull.*- 2002.- Vol.58,№.1.- P.77-82.

247. Dopamine D₂ receptor agonists protect against ischemia-induced hippocampal neurodegeneration in global cerebral ischemia / M.J. O'Neill,

C.A. Hicks, M.A. Ward et al. // *Stroke*. - 1998. - Vol.29, №8. - P. 1666-1670.

248. Mathews K.S., Toner C.C. Comparison of ketamine stereoisomers on tissue metabolic activity in an in vitro model of global cerebral ischaemia // *Pergamon*.-2001.-№5.-P.367-372.

249. Li S. Experimental therapy of a platelet-activating factor antagonist (ginkgolide B) on photochemically induced thrombotic cerebral ischaemia in tree shrews // *Clin. and Experim. Pharmacol. Physiol.* - 1999. - Vol. 26, № 10 - P. 123-129.

250. Возрастная динамика активности моноаминоксидазы и содержание продуктов перекисного окисления липидов в мозге человека / И.А. Волчегорский, С.Е. Шемяков, В.В. Турыгин, Н.В. Малиновская // *Журн. неврол. и психиатрии*. - 2003. - №1 - С. 46-48.

251. Реакция микрососудов ишемизированного мозга на дофамин / В.Б. Топчян, М.Г. Баласанян, Т.С. Ганьшина, Р.С. Мирзоян // *Эксперим. и клин. фармакол.* - 1996. - Т.59,№5. - С.62-64.

252. 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.

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

254. Kovács P., Juranek I., Stankovicova T., Svec P. Lipid-peroxidation during acute stress // *Pharmazie*.- 1996.- Vol.51, №1.- P.51-53.

255. Влияние стресса на пероксидное окисление липидов и физико-химическое состояние мембран эндоплазматического ретикулума печени взрослых и старых крыс / Г.И.Парамонова, Ю.И.Губский, А.Г.Горюшко и др. // *Укр.биохим.журн.*- 1996.- Т.68, №5.- С. 47-53.

256. Yeast glutathionereductase is required for protection against oxidative stress and is a target gene for YAP-1 transcriptional regulation / C.M. Grand, L.P. Collinson, J.H. Roe, I.W. Dawes // *Mol.Microbiol.*- 1996.-

Vol.21, №1.- P.171-179.

257. Modi P.I., Kachyar A., Nair V.D. Modulation of brain catecholamineabsorbing proteins by dopaminergic agents // Eur.J.Pharmacol.- 1996.- Vol.299, №1-3.- P. 213-220.

258. Oarkovic N. 4-hydroxynonenal as a second messenger of free radicals and growth modifying factor // Life Sci. - 1999. - Vol.65, №18-19. - P. 1901-1904.

259. Ravati A. Enalapril and moexipril protect from free radical-induced neuronal damage in vitro and reduce ischemic brain injury in mice and rats // Eur. J. of Pharmacol. - 1999. - Vol.373, №1. - P. 8 -12.

260. Ткачук С.С. Стрес-індуковані зміни окиснювальної модифікації білків в структурах мозку щурів // Бук. мед. вісник.- 1999.- Т.3, №1.- С. 191-195.

261. 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 //Весті НАН Беларусі. - 2001. - №2. - С. 5-9.

262. Neuronal and inducible nitric oxide synthase expression and protein nitration in rat cerebellum after oxygen and glucose deprivation / J.Rodrigo, D.Alonso, A.Fernandez et al. // Brain Res. – 2001. – Vol. 840, № 1-2. – P. 20-45.

263. 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.

264. 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.

265. Winn L.M., Wells P. Free radical-mediated mechanisms of anticonvulsant teratogenicity // Eur.J.Neurol.- 1995.- Vol.2, №4.- P. 5-29.

266. McIntosh L.J., Sapolsky R.M. Glucocorticoids increase the accumulation of reactive oxygen species and enhance adryamycin — induced toxicity in neuronal culture // *Exp.Neurol.*- 1996.- Vol.141, №2.- P. 201-206.

267. Early environmental-regulation of forebrain glucocorticoid receptor gene-expression — implications for adrenocortical responses to stress / M.J. Meaney, J. Diorio, D. Francis et al. // *Dev.Neurosci.* - 1996. - Vol.18, №1-2. - P. 49-72.

268. 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.

269. Superoxide dismutase undergoes proteolysis and fragmentation following oxidative modification and inactivation / D.S. Salo, R.E. Pacifici, S.W. Lin et al. // *J.Biol.Chem.*- 1990.- Vol. 265, №20.- P. 11919 - 11927.

270. Гипоксическая вазоконстрикция в головном мозгу реализуется путем инактивации оксида азота супероксидными анионами / С.Ю.Жиляев, А.Н. Москвин, Т.Ф. Платонова и др. // *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* - 2002. - Т.88, №5. - С. 553-561.

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

272. Вільнорадикальне окислення ліпідів та антирадикальний захист мозку щурів під час адаптації до інтенсивного фізичного навантаження / Е.Ф. Баринов, Н.М. Бондаренко, О.Д. Якубенко, М.Е. Баринова // *Укр. біохим. журн.* - 1999. - Т. 71, № 2. - С. 61-64.

273. Przedborski S., Khan U., Kostic V. Increased superoxide-dismutase activity improves survival of cultured postnatal midbrain neurons // *J.Neurochem.*- 1996.- Vol.67, №4.- P.1383-1392.

274. Hirata H., Gadenheim B., Carlson E. Autoradiographic evidence for methamphetamine-induced striatal dopaminergic loss in mouse-brain - attenuation in Cu-Zn-superoxide dismutase transgenic mice // *Brain Res.*-1996.-

Vol.714, № 1-2.- P.95-103.

275. 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.

276. Fridovich I. Fundamental aspects of reactive oxygen species, or whats the metter with oxygen // Ann. N.Y. Acad. Sci. - 1999. -Vol. 893 . - P. 13-18.

277. 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.

278. The heat-shock oxidative stress connection-relevance to Alzheimer-disease / M.A. Pappolla, M. Sos, R.A. Omar, K. Sambamurti // Mol. and Chemic. Neuropathol. - 1996.- Vol.28, №1-3.- P. 21-34.

279. Defeo P. Hormonal-regulation of human protein metabolism // Eur. J. Endocrinol. - 1996.- Vol.135, №1.- P. 7-18.

280. Haghghi A.Z., Malpes K. On the mechanisms of the inhibition of glutamine-synthetase and creatine-phospokinase by methionine sulfoxide // J. Neurosci. Res. - 1996. - Vol.43, №1.- P. 107-111.

281. 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.

282. Oxidative damage to brain proteins, loss of glutamine synthetase activity, and production of free radicals during ishemia / reperfusion induced injury to gerbil brain / C.N. Oliver, P.E. Starke Reed, E.R. Stadtman el at. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA .- 1998. - Vol.87.- P.5144-5147.

283. Colaco C., Harrington C.R. Inhibitors of the Maillard reaction-potential in the treatment of Alzheimers-disease // CNS Drugs. - 1996. - Vol.6,

№3. - P.167-177.

284. Oxidative damage in chemical teratogenesis / P.G. Wells, P.M. Kim, R.R. Laposa et al. // *Mutat. Res.*- 1997.-Vol.396, №1-2.- P. 65-78.

285. Dawson V.L., Dawson T.M. Free-radicals and neuronal cell-death // *Cell Death and Differentiation.*- 1996.- Vol.3, №1.- P.71-78.

286. Heme oxygenase-1 (HO-1) protein induction in rat-brain following focal ischemia / T.Nimura, P.R.Weinstein, S.M. Massa et al. // *Mol.Brain Res.*- 1996.- Vol. 37, №1-2.- P.201-208.

287. Zhao F., Yang J., Schoneich S. Effects of polyaminocarboxylate metal chelators on iron-thiolate induced oxidation of methionine-containing and histidine-containing peptides // *Pharmaceutical Res.* - 1996.- Vol.13, №6.- P. 931-938.

288. 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.

289. Szabo C. The pathophysiological role of peroxynitrite in shock, inflammation, and ischemia-reperfusion injury // *Shock.*- 1996.- Vol.6, №2.- P. 79-88.

290. Братчик А.М. Клинические проблемы фибринолиза. - К.: Здоров'я, 1993. - 433 с.

291. Влияние гидроксибутирата натрия на активность карбоксипептидазы Н 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.

292. 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.

293. 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.

294. Ашмарин И.П. Регуляторные пептиды сильного и быстрого действия // Патол. физиол. и эксперим. терапия.- 1998.- №3.- С. 3-8.

295. 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.

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

297. Effects of delayed treatment with nafronyl oxalate on microsphere embolism-induced changes in monoamine levels of rat brain regions / N. Takagi, K. Miyake, A. Ohiwa et al. // Br. J. Pharmacol. - 1996.- Vol.118, №1.- P.33-40.

298. He Mei-Xia, Ke Jun, Li Zhi-Gang. Effects of nimodipine on acute cerebral ischemia and reperfusion injury of rats // Zhongguo yaoli xuebao.- 1996.- №4.-P.309-310.

299. Болдырев А.А. Двойственная роль свободнорадикальных форм кислорода в ишемическом мозге //Нейрохимия. - 1995. - Т.12, Вып. 3. - С. 3-13.

300. 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.

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

302. 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.

303. Шимків О.Д., Ткачук С.С. Структурні та вікові особливості вільнорадикального окиснення й антиоксидантного захисту в щурів з відстроченими наслідками неповної глобальної ішемії мозку//Наук. вісник Ужгородського університету. Серія медицина.- 2003.- Вип. 21.- С. 48-52.

304. Федорова Т.Н., Болдырев А.А., Ганнушкина И.В. Перекисное окисление липидов при экспериментальной ишемии мозга // Биохимия. - 1999. - Т. 64, Вып. 1. - С. 94-98.

305. Столярова В.В. Исследование кардиопротекторного действия эзоксипина у больных с острым нарушением мозгового кровообращения // Росс. кардиол. журн. - 2001. - № 2 (28). - С. 42-43.