

**DIFFERENTIATION OF LYMPHOCYTES IN THYMUS OF RATS WITH STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES COMPLICATED WITH ISCHEMIA-REPERFUSION OF BRAIN**

*A. V. Tkachuk*

**Abstract.** It has been immunohistochemically investigated the combined influence of streptozotocin-induced diabetes and brain ischemia-reperfusion on the thymocytes differentiation processes using monoclonal antibodies to CD4 and CD8 rats an-

tigens. It was ascertained that the diabetes disturbs CD4+ and CD8+ lymphocytes differentiation and its balance in thymus and brain ischemia-reperfusion intensifies these changes.

**Key words:** streptozotocin, diabetes mellitus, thymus, brain ischemia-reperfusion, CD4, CD8.

**Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)**

*Clin. and experim. pathol. - 2010. - Vol. 9, №1 (31). - P. 77-81.*

*Надійшла до редакції 25.02.2010*

*Рецензент – проф. В. Ф. Мислицький*

*© А. В. Ткачук, 2010*

УДК 612.826.4+ 616.45-001.1/3]:599.323.4

**С. С. Ткачук  
Т. І. Бойчук  
В. Ф. Мислицький**

Буковинський державний медичний  
університет, Чернівці

**ДИНАМІКА ВМІСТУ КАТЕХОЛАМІНІВ  
В ОКРЕМИХ СТРУКТУРАХ МОЗКУ ЩУРІВ  
РІЗНОГО ВІКУ ПРИ ДВОБІЧНІЙ  
КАРОТИДНІЙ ІШЕМІЇ- РЕПЕРFUЗІЇ**

**Ключові слова:** каротидна ішемія-реперфузія, катехоламіни мозку, старі щури.

**Резюме.** Досліджено вплив ішемії головного мозку з наступною реперфузією на реакцію катехоламінів кори, гіпокампа, ядер гіпоталамуса, перегородки та мигдалеподібного комплексу в дорослих і старих щурів. Встановлено, що реакція катехоламінів означених структур в постішемичному періоді схожа в щурів обох вікових груп, а відновлення вмісту катехоламінів протягом реперфузійного періоду в старих щурів порівняно з дорослими сповільнене.

**Вступ**

Серед чинників, які відіграють важливу роль у патогенезі ішемічного пошкодження мозку (надлишкове вивільнення збудливих амінокислот (глутамат, аспартат), підвищення внутрішньоклітинної концентрації  $Ca^{2+}$ , оксидативний стрес тощо) є порушення його нейрохімічної картини [3, 4, 9]. Зокрема, важлива роль у перебігу та наслідках ішемічного і геморагічного інсультів належить коливанням вмісту катехоламінів мозку [11, 13, 15]. Вони багато в чому визначають чутливість головного мозку до ішемічно-реперфузійних впливів, необхідні для активації непошкоджених ішемією пре- та постсинаптичних рецепторів, розвитку колатерального кровообігу [5]. Їх участь у цих процесах значною мірою залежить від тривалості ішемії, вихідного співвідношення різних нейротрансмітерів тощо.

Важливим чинником, який модифікує нейрохімічний статус головного мозку, є старіння [7, 10]. Крім того, із віком міняється характер віль-

© С. С. Ткачук, Т. І. Бойчук, В. Ф. Мислицький, 2010

норадикальних процесів, активність ферментів обміну моноамінів, стан судин головного мозку [2], що, безумовно, впливає на перебіг його ішемічно-реперфузійного пошкодження. Однак механізми пошкоджувальних і захисних реакцій, які розвиваються при ішемії та реперфузії мозку до кінця не розмежовані. Це стосується й ролі катехоламінів. Особливо важливою є проблема реакції катехоламінергічних систем мозку на ішемію та реперфузію при старінні, адже в цей віковий період ішемічні стани мозку є найчастішими.

**Мета дослідження**

Провести порівняльний аналіз реакції катехоламінів окремих структур головного мозку на неповну глобальну ішемію з наступною реперфузією в дорослих та старих щурів.

**Матеріал і методи**

У самців білих лабораторних щурів віком п'ять та 22 міс моделювали 20-хвилинну двобіч-

Таблиця 1

## Інтенсивність флуоресценції катехоламінів в ядрах перегородки після двобічної каротидної ішемії та ішемії-реперфузії

Група тварин	Назва ядра					
	дорзальне	латеральне	медіальне	прилегле	ложа термінальної смужки	діагональної зв'язки
п'ять місяців						
Контроль	101±6,34	112±4,48	76.0±5,63	94,9±2,90	82,6±3,11	95,1±3,10
Ішемія	48,0±2,65*	57,1±3,29*	25,2±2,51*	44,2±2,09*	42,3±1,85*	41,0±3,50*
Ішемія-реперфузія	89,6±7,29 <sup>^</sup>	95,3±3,21* <sup>^</sup>	78.0±3,43 <sup>^</sup>	88,5±5,37 <sup>^</sup>	87,2±5,32 <sup>^</sup>	89,3±6,22 <sup>^</sup>
22 місяців						
Контроль	75,0±8,15 <sup>#</sup>	97,8±7,41	41,8±2,61 <sup>#</sup>	89,0±3,41	52,2±6,41 <sup>#</sup>	68,3±3,30 <sup>#</sup>
Ішемія	40,2±3,02*	39,4±4,01*	21,9±2,57*	32,8±2,67*	30,5±3,68*	34,8±3,29*
Ішемія-реперфузія	45,3±7,51*	47,3±5,32*	32,6±1,72* <sup>^</sup>	72,0±4,29 <sup>^</sup>	47,5±4,48 <sup>^</sup>	55,4±2,37* <sup>^</sup>

**Примітка.** Тут та в наступних таблицях – вірогідність змін стосовно: <sup>#</sup> – дорослих тварин; \* – контролю; <sup>^</sup> – ішемії у відповідних вікових групах

Таблиця 2

## Інтенсивність флуоресценції катехоламінів в ядрах гіпоталамуса після двобічної каротидної ішемії та ішемії-реперфузії

Група тварин	Назва ядра				
	паравентрикулярне	преоптико-медіальне	преоптико-латеральне	аркуатне	вентро-медіальне
п'ять місяців					
Контроль	390±10,49	379±6,0	272±9,76	318±17,10	250±6,20
Ішемія	226±4,47*	252±6,51*	178±5,04*	185±6,23*	159±6,05*
Ішемія-реперфузія	289±5,62* <sup>^</sup>	287±7,29* <sup>^</sup>	202±8,61* <sup>^</sup>	200±12,13*	221±7,19* <sup>^</sup>
22 місяці					
Контроль	331±8,45 <sup>#</sup>	340±7,01 <sup>#</sup>	216±8,31 <sup>#</sup>	283±10,2 <sup>#</sup>	210±5,86 <sup>#</sup>
Ішемія	201±7,13*	196±7,32*	205±6,05	179±5,01*	199±7,12
Ішемія-реперфузія	194±8,45*	211±9,37*	172±7,19* <sup>^</sup>	181±7,52*	110±8,22* <sup>^</sup>

Таблиця 3

## Інтенсивність флуоресценції катехоламінів в ядрах мигдалика після двобічної каротидної ішемії та ішемії-реперфузії

Група тварин	Назва ядра			
	кортико-медіальне	центральне	базолатеральне	кінцева смужка
п'ять місяців				
Контроль	70,7±3,26	176±9,34	101±7,25	179±6,74
Ішемія	28,7±1,70*	108±2,79*	59,6±3,29*	175±2,21
Ішемія-реперфузія	51,2±4,46* <sup>^</sup>	98±7,67*	62,0±5,47*	187±5,26
22 місяці				
Контроль	41,0±5,37 <sup>#</sup>	183±4,40	87,8±5,34 <sup>#</sup>	149±4,81 <sup>#</sup>
Ішемія	21,2±2,10*	102±4,81*	64,9±5,01*	93,8±6,78*
Ішемія-реперфузія	26,4±3,81*	96,6±5,40*	59,3±3,18*	128±6,43* <sup>^</sup>

ну каротидну ішемію мозку. В якості контрольного дослідження препарували обидві сонні артерії та подразнювали їх стінку, не порушуючи кровотік. Усі втручання та евтаназію здійснювали під каліпсоловим наркозом (70 мг/кг маси тіла). По завершенні експерименту мозок швидко виймали на холоді, занурювали в рідкий азот. Виділяли ділянки мозку з досліджуваними структурами (гіпокамп, лобова та потилична частки кори, перегородка мозку, преоптична ділянка, медіобаз-

льний гіпоталамус і мигдалик) згідно атласу стереотаксичних координат [14]. Забрані ділянки піддавали ліофільному висушуванню під вакуумом  $0,66 \times 10^{-5} - 10^{-6}$  кПа. Інтенсивність флуоресценції катехоламінів вимірювали за допомогою люмінесцентного мікроскопу МЛ-4 з мікрофотометричною насадкою ФМЭЛ – 1А й виражали в умовних одиницях [6, 12]. У кожному препараті проводили 50 замірювань досліджуваних структур і таку ж кількість замірювань фону.

**Інтенсивність флуоресценції катехоламінів у корі великого мозку та гіпокампа після двобічної каротидної ішемії та ішемії-реперфузії**

Група тварин	Назва ядра				
	лобова частка кори	потилична частка кори	поле СА1	поле СА2	поле СА3
п'ять місяців					
Контроль	180±2,7	133±1,86	47,4±1,72	64,2±1,37	102±4,27
Ішемія	28,5±1,48*	20,5±0,91*	9,20±0,67*	16,1±0,74 *	36,1±1,91*
Ішемія-реперфузія	40,0±1,26* ^	79,1±4,09* ^	33,7±1,23*^	49,2±2,92*^	67,8±3,71*^
22 місяці					
Контроль	75,1±1,29 <sup>#</sup>	116,2±2,95 <sup>#</sup>	8,05±0,19 <sup>#</sup>	23,8±1,26 <sup>#</sup>	89,7±5,47
Ішемія	14,9±0,31*	6,82±0,18*	5,18±0,14 *	11,4±0,12*	33,8±1,23*
Ішемія-реперфузія	18,8±1,28*^	13,0±1,01* ^	4,83±0,12*	13,1±0,20*^	29,7±1,16*^

Статистичну обробку отриманих даних проводили за t-критерієм Стьюдента.

**Обговорення результатів дослідження**

У переважній кількості досліджених структурах головного мозку тварин контрольної групи конститутивна інтенсивність флуоресценції катехоламінів переважала в п'ятимісячних щурів (табл. 1-4). Лише в латеральному і прилеглому ядрах перегородки мозку, центральному ядрі мигдалика та полі СА3 гіпокампа достовірних відмінностей не виявлено.

Вікова різниця особливо помітна в досліджених частках кори головного мозку та полях гіпокампа СА1 і СА2, а в ядрах гіпоталамуса вона найменша.

У цілому, отримані результати узгоджуються з даними інших дослідників, згідно яких при старінні в деяких структурах мозку знижується вміст катехоламінів, що супроводжується порушенням пам'яті, сповільненням реакцій, зниженням переносимості різних навантажень [8].

За даними А.Г.Резникова и др. [7] катехоламінова система гіпоталамуса старих самців зазнає значних змін - у них вміст норадреналіну в гіпоталамусі суттєво нижчий (приблизно вдвічі), ніж у дорослих. Однак характерно, що при цьому зберігається його здатність реагувати зниженням на гострий стрес.

Виявлені відмінності у тварин обраних вікових груп, ймовірно, можна пояснити залежністю цих структур від рівня статевих гормонів в організмі, їх метаболізму в різних ділянках мозку, різницею в інтенсивності біосинтезу нейростероїдів, які здатні модулювати як ефекти нейромедіаторів, так і їх метаболізм [7].

20-хвилинна каротидна ішемія призвела до зниження інтенсивності флуоресценції катехоламінів майже у всіх досліджених структурах мозку тварин обох вікових груп, крім ядра кінцевої

смушки дорослих, преоптико-латерального і вентромедіального ядер гіпоталамуса старих щурів, що вказує на неспецифічність такої реакції та свідчить про виснаження джерел катехоламінів у мозку.

По закінченні одноденної реперфузії в більшості досліджених ядер структур мозку дорослих щурів інтенсивність флуоресценції катехоламінів або відновлювалася до контрольного рівня, або наближалася до нього. Виняток становили аркуатне ядро гіпоталамуса, центральне і базолатеральне ядра мигдалика. У старих щурів повного або часткового відновлення зазнали досліджені параметри в меншій кількості структур. Не відбулося суттєвих зрушень інтенсивності флуоресценції катехоламінів у дорзальному, латеральному ядрах перегородки, паравентрикулярному, преоптико-медіальному, аркуатному ядрах гіпоталамуса, кортикомедіальному, центральному та базолатеральному ядрах мигдалика, полі СА1 гіпокампа, а в решті структур ступінь відновлення був значно меншим порівняно з дорослими тваринами.

За даними літератури однією з причин менш вираженої реакції катехоламінів мозку на його ішемію є накопичення в різних відділах головного мозку старих щурів вільних жирних кислот. Це, у свою чергу, призводить до змін функціонального стану рецепторного апарату нервових клітин, а у плазматичних мембранах – до зниження чутливості А1-аденозинових рецепторів. Встановлено, що останні є на поверхні нервових клітин різних відділів головного мозку, зокрема неокортексу та гіпокампа (клітин піраміди, полів СА1, СА3 і гранулярних клітин зубчастої фасції). Активіація пресинаптичних А1-аденозинових рецепторів супроводжується  $Ca^{2+}$ -залежним інгібуванням вивільнення норадреналіну в синаптичний простір, а постсинаптичних – стимулює ефекти катехоламінів через  $\alpha_1$ -адренорецептори. Таким чином, накопичення вільних жирних кислот у клітинах мозку щурів при старінні може зумов-

лювати порушення чутливості нервових клітин до дії нейротрансмітерів і змін функціонування в клітинах систем сигнальної трансдукції [1].

### Висновки

1. Старіння шурів супроводжується зниженням вмісту катехоламінів у корі мозку, полях гіпокампа, ядрах перегородки та мигдалеподібного комплексу мозку.

2. 20-хвилинна неповна глобальна ішемія головного мозку знижує інтенсивність флуоресценції катехоламінів у більшості досліджених структур мозку дорослих та старих шурів.

3. Протягом одноденної реперфузії в більшості досліджених структур мозку дорослих шурів (15 із 20 вивчених) інтенсивність флуоресценції катехоламінів повертається до нормальних показників або наближається до них, у старих шурів подібне відновлення має місце лише в дев'яти із 20 досліджених.

### Перспективи подальших досліджень

Отримані результати свідчать про доцільність подальшого вивчення ролі катехоламінів мозку та їх рецепторів у процесах старіння за умов норми та патології.

**Література.** 1. Вікові особливості вмісту сигнальних ліпідів у печінці та мозку шурів / Л. Х. М. Хасунех, Я. О. Семенова, О. А. Красильникова [ та ін. ] // Фізіол. журн. - 2006. - Т.52, №6. - С.79-84. 2. Возрастная динамика активности моноаминоксидазы и содержание продуктов перекисного окисления липидов в мозге человека / И.А. Волчегорский, С.Е. Шемяков, В.В. Турыгин [и др.] // Журн. неврол. и психиатрии. - 2003. - №1. - С. 46-48. 3. Гусев Е.И. Ишемия головного мозга / Е.Гусев, В.Скворцова. - М.: Медицина, 2001. - 328с. 4. Исмагилов М.Ф. Ишемический мозговой инсульт: терминология, эпидемиология, принципы диагностики, патогенетические подтипы, терапия острого периода заболевания / М.Ф.Исмагилов // Неврол. вестник. - 2005. - Т.37, вып.1-2. - С.67-76. 5. Катехоламинаминергическая система мозга при ишемии / [Т.Г. Гукасян, А.А. Петросян, М.Э. Шириян и др.] // Нейрохимия. - 2000. - Т.17, №1. - С. 13-22. 6. Микроспектрофлуориметр с выводом информации на перфоратор / Буданцев А.Ю., Жариков С.И., Барилко Ш.И. [и др.] // Цитология. - 1978. - №4. - С.476-479. 7. Пренатальный стресс и нейроэндокринная патология / А.Г. Резников, В.П. Пишак, Н.Д. Носенко [и др.] - Черновцы: Медакадемія, 2004. - 351 с. 8. Рейхардт Б.А. Динамика нарушенной регуляторной систем нейронов мозга при возрастной амнезии у крыс / Б.А. Рейхардт, О.Г. Куликова, Н.С.Сапронов // Психофармакология и биол. наркологи. - 2001. - Т.1, №1. - С. 38-42. 9. Скворцова В.И. Механизмы повреждающего действия церебральной ишемии и нейропротекция / В.И. Скворцова // Вестник РАМН. - 2003. - №11. - С. 74-80. 10. Участие моноаминергических клеток гипоталамуса в регуляции стрессорной реакции организма при старении / Е.В.Черниговская,

Е.Д.Бажанова, Ж.Тибо [и др.] // Журн. эволюц. биохимии и физиол. - 1999. - Т.35, №1. - С. 48-52. 11. 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. 12. Falck B. A detailed description of the fluorescence method for the cellular localization of biogenic monoamine / B.Falck, C.Owman // Acta Univ.Lundensis. - 1965. - S.II. - P. 7-49. 13. Haque M.E. Relationship between locomotor activity and monoamines following single and double transient forebrain ischemia in gerbils / M.E.Haque, K.Tanaka, N.Ogawa // Neurochem. Res. - 2001. - Vol.26, №.4. - P.401-406. 14. Konig J.F. The rat brain. A stereotaxis atlas of forebrain and lower part of the brain stem / J.F.Konig, P.A.Klippel - Baltimore: The Williams @ Wilkins Comp., 1963. - 162p. 15. 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.

### ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ КАТЕХОЛАМИНОВ В ОТДЕЛЬНЫХ СТРУКТУРАХ МОЗГА КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА ПРИ ДВУСТОРОННЕЙ КАРОТИДНОЙ ИШЕМИИ-РЕПЕРFUЗИИ

С. С. Ткачук, Т. И. Бойчук, В. Ф. Мыслицкий

**Резюме.** Исследовано влияние ишемии головного мозга с последующей реперфузией на реакцию катехоламинов коры, гиппокампа, ядер гипоталамуса, перегородки, миндалевидного комплекса у взрослых и старых крыс. Показано, что реакция катехоламинов упомянутых структур в постисшемическом периоде похожа у крыс обеих возрастных групп, а восстановление содержания катехоламинов в течение реперфузионного периода у старых крыс сравнительно со взрослыми замедлено.

**Ключевые слова:** каротидная ишемия-реперфузия, катехоламины мозга, старые крысы.

### DYNAMICS OF CATECHOLAMINES CONTENT OF SOME RATS BRAIN STRUCTURES OF DIVERSE AGE IN CASE OF BILATERAL CAROTID ISCHEMIA-REPERFUSION

S. S. Tkachuk, T. I. Boichuk, V. F. Myslytskyi

**Abstract.** The effect of cerebral ischemia with further reperfusion to the reaction of the catecholamines of the cerebral cortex, hippocamp, the nuclei of hypothalamus, the septum and the amygdaloid complex in adult and old rats has been investigated. It has been established that the reaction of catecholamines of this structure during the postischemic period is similar in the rats of both age groups, whereas a restoration of the content of catecholamines during the reperfusion period in the old rats is retarded in comparison with the adult ones.

**Key word:** carotid ischemia-reperfusion, brain catecholamines, old rats.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. - 2010. - Vol.9, №1 (31). - P.81-84.

Надійшла до редакції 25.02.2010

Рецензент – д.мед.н. Р. С. Булик

© С. С. Ткачук, Т. И. Бойчук, В. Ф. Мыслицкий, 2010