

УДК 616.8315 - 005.1/ - 053

С.С. Ткачук,

О.В. Ткачук,

В.Ф. Мислицький

Вищий державний навчальний заклад
України "Буковинський державний
медичний університет", м. Чернівці

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ РЕАГУВАННЯ ВМІСТУ КЛІТИННОЇ РНК ТИМОЦИТІВ ЩУРІВ НА НЕПОВНУ ГЛОБАЛЬНУ ІШЕМІЮ-РЕПЕРФУЗІЮ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Ключові слова: неповна глобальна ішемія-реперфузія головного мозку, клітини лімфоїдної популяції тимуса, РНК.

Резюме. Досліджено реакцію РНК тимоцитів різних структурно-функціональних зон тимуса щурів різного віку на неповну глобальну ішемію-реперфузію головного мозку. Встановлено, що концентрація РНК після неповної глобальної ішемії-реперфузії головного мозку знижується в лімфоцитах усіх структурно-функціональних зон тимуса тварин обох вікових груп за винятком субкапсулярної зони тримісячних і глибокої кіркової зони одномісячних щурів, де відбулося зростання цього показника.

Вступ

Однією з умов збереження морфофункціонального стану нервової та імунної систем є підтримання адекватних двобічних нейроімунних зв'язків [1, 2]. Чинники, що спричиняють їх стійкі зміни, призводять до дизрегуляторних порушень у нейроімунних взаємовідносинах [3]. До таких чинників можна віднести ішемічно-реперфузійні пошкодження головного мозку завдяки порушенню за цих умов цілісності гематоенцефалічного бар'єру з наступним виробленням високого рівня нейроантитіл [4, 5, 6]. Нейроімунопатологічний підхід до природи ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку та багатьох інших неврологічних захворювань вимагає оцінки не лише неврологічного дефіциту, але й імунного статусу з метою проведення імунокорекції [7, 8].

Одним із найперших на стресогенні впливи різного характеру морфофункціональними змінами реагує тимус [9, 10]. У свою чергу, характер цієї реакції визначається силою та специфікою подразника, його тривалістю, віком тварин тощо [9, 11, 12]. Незважаючи на це, реакція тимуса на неповну глобальну ішемію мозку та її вікові особливості майже недосліджені.

Мета дослідження

Вивчити вплив неповної глобальної ішемії-реперфузії головного мозку на вміст РНК у тимоцитах щурів різного віку.

Матеріал і методи

У самців білих лабораторних щурів віком один та три міс. моделювали 20-хвилинну неповну глобальну ішемію мозку [13]. На гістологічних зрізах тимуса, пофарбованих гематоксилін-еозинном, в субкапсулярній, внутрішній кортикальній, медулярній зонах і внутрішньочасточкових периферіях

васкулярних просторах вивчали концентрацію клітинної РНК [14, 15]. Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під каліпсоловим наркозом на 6-ту добу після моделювання ішемії-реперфузії мозку. Тимус 18 год фіксували в розчині Буена, після стандартної гістологічної обробки заливали в парафін, готували серійні зрізи товщиною 5 мкм. Для виявлення РНК зрізи депарафінували, регідрували в нісхідних концентраціях етанолу та зафарбовували галлоціанін-хромовими галунами за Ейнарсеном. Аналіз гістологічних зрізів проводили в системі цифрового аналізу зображення VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Германия) люмінесцентним мікроскопом AXIOSKOP (Zeiss, Германия). У випадково відібраних зрізах кіркової та мозкової речовини тимуса визначали концентрацію РНК (в одиницях оптичної щільності, ЕОП на 1 мм²). Отримані результати опрацьовано математично за допомогою пакета прикладних програм "Statistica" ("Statsoft", США). Згідно тесту Шапіро-Уїлка групи порівняння мали нормальний розподіл. Статистичну значимість відмінностей оцінювали за t-критерієм Стьюдента для незалежних виборок. Дані представлені у вигляді середніх арифметичних та стандартного відхилення. Відмінності в групах порівняння вважали достовірними при $PST < 0,05$.

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

Обговорення результатів дослідження

Результати визначення концентрації РНК у тимоцитах контрольних щурів та після впливу неповної глобальної ішемії-реперфузії головного

мозку представлена в табл. 1-4.

У субкапсулярній зоні тимуса одномісячних тварин ішемія мозку знижує вміст РНК у незмінених лімфобластах, великих та середніх тимоцитах, лімфобластах та великих лімфоцитах з

ознаками деструкції.

У той же час зросла концентрація РНК у малих нормальних і деструктивних лімфоцитах та тих клітинах, що зазнали апоптозу.

Таблиця 1

Концентрація РНК у клітинах лімфоїдної популяції субкапсулярної зони тимуса в контролі та після неповної глобальної ішемії-реперфузії мозку в щурів різного віку (M±m)

Група спостереження	Класи клітин лімфоїдної популяції	Нормальні клітини	Клітини з ознаками деструкції
1 місяць			
Контроль	Лімфобласти	0,207±0,003	0,192±0,003
	Великі лімфоцити	0,230±0,001	0,224±0,002
	Середні лімфоцити	0,252±0,001	0,230±0,003
	Малі лімфоцити	0,254±0,001	0,243±0,002
	Апоптичні клітини	0,262±0,003	
Ішемія	Лімфобласти	0,185±0,004*	0,172±0,004*
	Великі лімфоцити	0,213±0,002*	0,195±0,003*
	Середні лімфоцити	0,247±0,002*	0,230±0,004
	Малі лімфоцити	0,267±0,0008*	0,257±0,003*
	Апоптичні клітини	0,278±0,003*	
3 місяці			
Контроль	Лімфобласти	0,167±0,002 [#]	0,156±0,002 [#]
	Великі лімфоцити	0,191±0,001 [#]	0,173±0,003 [#]
	Середні лімфоцити	0,206±0,001 [#]	0,188±0,003 [#]
	Малі лімфоцити	0,211±0,0005 [#]	0,202±0,002 [#]
	Апоптичні клітини	0,212±0,003	
Ішемія	Лімфобласти	0,176±0,002* [#]	0,161±0,003 [#]
	Великі лімфоцити	0,210±0,002*	0,194±0,004*
	Середні лімфоцити	0,246±0,001*	0,215±0,004* [#]
	Малі лімфоцити	0,262±0,001* [#]	0,232±0,004* [#]
	Апоптичні клітини	0,258±0,003*	

Примітка: достовірність: * – змін щодо показників у контрольних тварин; # - вікових відмінностей відповідних показників

У контрольних тварин уміст РНК домінував у лімфоцитах одномісячних тварин. Ішемія суттєво зменшувала вікові відмінності за рахунок зростання вмісту РНК у всіх тимоцитах тримісячних щурів.

У глибокій корі тимуса одномісячних щурів ішемія спричинила зростання концентрації РНК у всіх лімфоцитах, за винятком нормальних та деструктивних лімфобластів і деструктивних великих лімфоцитів (табл. 2).

Уміст РНК у тимоцитах тримісячних тварин був достовірно нижчим, ніж в одномісячних, за винятком деструктивних середніх та апоптичних клітин. Ішемія значно знижує концентрацію РНК в усіх клітинах лімфоїдного ряду даної зони тимуса тримісячних тварин, посилюючи вікові відмінності.

Зміни концентрації РНК у внутрішньочасточ-

кових периваскулярних просторах тимуса одномісячних щурів полягали в її зниженні стосовно всіх тимоцитів, за винятком малих незмінених та апоптичних лімфоцитів, де даний показник зріс (табл. 3).

У даній зоні тимуса контрольних тримісячних щурів концентрація РНК у всіх клітинах лімфоїдного ряду виявилася вищою, ніж в одномісячних, однак внаслідок ішемії мозку вона знизилася суттєвіше, ніж в одномісячних, що спричинило реверсію вікових відмінностей порівняно з контрольними тваринами.

У мозковій зоні тимуса одномісячних щурів ішемія-реперфузія головного мозку суттєво знизилу концентрацію РНК в усіх тимоцитах (табл.4).

Вікові відмінності концентрації РНК у мозковій зоні залози контрольних тварин були несуттєвими

Таблиця 2

Концентрація РНК у клітинах лімфоїдної популяції глибокої кори тимуса в контролі та після неповної глобальної ішемії-реперфузії мозку в щурів різного віку (M±m)

Група спостереження	Класи клітин лімфоїдної популяції	Нормальні клітини	Клітини з ознаками деструкції
1 місяць			
Контроль	Лімфобласти	0,224±0,003	0,220±0,0043
	Великі лімфоцити	0,240±0,002	0,240±0,003
	Середні лімфоцити	0,259±0,001	0,254±0,004
	Малі лімфоцити	0,275±0,001	0,267±0,003
	Апоптичні клітини	0,277±0,007	
Ішемія	Лімфобласти	0,230±0,003	0,214±0,003
	Великі лімфоцити	0,256±0,002*	0,241±0,003
	Середні лімфоцити	0,295±0,002*	0,296±0,003*
	Малі лімфоцити	0,321±0,0007*	0,310±0,002*
	Апоптичні клітини	0,338±0,002*	
3 місяці			
Контроль	Лімфобласти	0,210±0,004 [#]	0,193±0,005 [#]
	Великі лімфоцити	0,216±0,002 [#]	0,218±0,004 [#]
	Середні лімфоцити	0,242±0,002 [#]	0,243±0,006
	Малі лімфоцити	0,265±0,001 [#]	0,254±0,004 [#]
	Апоптичні клітини	0,282±0,007	
Ішемія	Лімфобласти	0,174±0,002* [#]	0,171±0,003* [#]
	Великі лімфоцити	0,191±0,002* [#]	0,192±0,003* [#]
	Середні лімфоцити	0,230±0,002* [#]	0,231±0,004 [#]
	Малі лімфоцити	0,255±0,0006* [#]	0,226±0,004* [#]
	Апоптичні клітини	0,254±0,002* [#]	

Таблиця 3

Концентрація РНК у клітинах лімфоїдної популяції внутрішньочасточкових периваскулярних просторів у контролі та після неповної глобальної ішемії мозку в щурів різного віку (M±m)

Група спостереження	Класи клітин лімфоїдної популяції	Нормальні клітини	Клітини з ознаками деструкції
1 місяць			
Контроль	Лімфобласти	0,188±0,003	0,190±0,004
	Великі лімфоцити	0,211±0,002	0,208±0,003
	Середні лімфоцити	0,245±0,001	0,222±0,004
	Малі лімфоцити	0,255±0,0007	0,245±0,003
	Апоптичні клітини	0,255±0,003	
Ішемія	Лімфобласти	0,158±0,003*	0,143±0,004*
	Великі лімфоцити	0,195±0,002*	0,186±0,004*
	Середні лімфоцити	0,240±0,001*	0,214±0,006
	Малі лімфоцити	0,265±0,0008*	0,248±0,004
	Апоптичні клітини	0,285±0,004*	
3 місяці			
Контроль	Лімфобласти	0,201±0,003 [#]	0,203±0,005 [#]
	Великі лімфоцити	0,241±0,002 [#]	0,225±0,005 [#]
	Середні лімфоцити	0,280±0,001 [#]	0,259±0,005 [#]
	Малі лімфоцити	0,290±0,001 [#]	0,277±0,005 [#]
	Апоптичні клітини	0,305±0,006 [#]	
Ішемія	Лімфобласти	0,120±0,002* [#]	0,116±0,003* [#]
	Великі лімфоцити	0,140±0,002* [#]	0,131±0,004* [#]
	Середні лімфоцити	0,180±0,001* [#]	0,144±0,004* [#]
	Малі лімфоцити	0,195±0,0007* [#]	0,165±0,004* [#]
	Апоптичні клітини	0,190±0,004* [#]	

Таблиця 4

Концентрація РНК у клітинах лімфоїдної популяції медулярної зони тимуса в контролі та після неповної глобальної ішемії мозку в щурів різного віку (M±m)

Група спостереження	Класи клітин лімфоїдної популяції	Нормальні клітини	Клітини з ознаками деструкції
1 місяць			
Контроль	Лімфобласти	0,151±0,002	0,151±0,004
	Великі лімфоцити	0,192±0,002	0,166±0,004
	Середні лімфоцити	0,229±0,001	0,175±0,005
	Малі лімфоцити	0,233±0,0008	0,224±0,004
	Апоптичні клітини	0,236±0,004	
Ішземія	Лімфобласти	0,127±0,002*	0,130±0,003*
	Великі лімфоцити	0,160±0,002*	0,143±0,003*
	Середні лімфоцити	0,200±0,001*	0,146±0,004*
	Малі лімфоцити	0,196±0,0008*	0,173±0,004*
	Апоптичні клітини	0,200±0,004*	
3 місяці			
Контроль	Лімфобласти	0,156±0,003	0,154±0,005
	Великі лімфоцити	0,199±0,001 [#]	0,167±0,004
	Середні лімфоцити	0,230±0,001	0,189±0,006
	Малі лімфоцити	0,231±0,0009	0,208±0,004 [#]
	Апоптичні клітини	0,238±0,005	
Ішемія	Лімфобласти	0,088±0,002* [#]	0,088±0,002* [#]
	Великі лімфоцити	0,132±0,001* [#]	0,103±0,003* [#]
	Середні лімфоцити	0,166±0,0008* [#]	0,115±0,003* [#]
	Малі лімфоцити	0,152±0,0008* [#]	0,133±0,003* [#]
	Апоптичні клітини	0,154±0,004* [#]	

Примітка до табл. 2, 3, 4: достовірність: * – змін щодо показників у контрольних тварин; # – вікових відмінностей відповідних показників

- вищим в тримісячних щурів був показник у великих нормальних лімфоцитах та нижчим - у деструктивних малих.

Ішемія знижувала концентрацію РНК у всіх тимоцитах тримісячних щурів, унаслідок чого вікові відмінності з'явилися в усіх типах клітин.

Висновки

1. Концентрація РНК після неповної глобальної ішемії-реперфузії головного мозку знижується у лімфоцитах усіх структурно-функціональних зон тимуса тварин обох вікових груп за винятком субкапсулярної зони тримісячних і глибокої кіркової зони одномісячних щурів, де відбулося зростання цього показника.

Перспективи подальших досліджень

Подальші дослідження необхідно спрямувати на вивчення механізмів виявлених відхилень.

Література. 1. Арцимович Н.Г. Современный взгляд на этиологию и патогенез нейроиммунной патологии / Н.Г. Арцимович, А.В. Корнев // Аллергол. иммунол. - 2004. - Т.5, №1. - С. 191-193. 2. Лисяный Н.И. Иммунологическая классификация нервных заболеваний и виды иммунных нарушений при них / Н.И. Лисяный // Аллергол. и иммунол. - 2004. - Т.5, №1. - С.195. 3. Крыжановский Г.Н. Дисрегуляторная патология / Г.Н. Крыжановский - М.: Медицина,

2002. - С.18-75. 4. Аутоиммунные механизмы при ишемии / Н.Константинова, В.И.Скворцова, И.Еремич и [др.] // Аллергол. и иммунология. - 2005. - Т.6, №2. - С. 147-149. 5. Цимбалюк В.И. Роль некоторых нейронных и сосудистых факторов при ишемических повреждениях головного мозга / В.И.Цимбалюк, М.С.Бровченко // Укр. мед. часопис. - 2005. - № 4(48). - С. 25-28. 6. Черненко Т.М. Роль показателей постгемической заплывной та нейровроавтоимунної відповіді у прогнозуванні тяжкості неврологічного дефіциту в гострий період інсульту / Т.М.Черненко, С.М.Віничук // Укр. мед. часопис. - 2008. - Т.2 (64), № III-IV. - С. 118-122. 7. Прогностическое значение маркеров воспаления и аутоантител к нейроспецифическим антигенам у больных с острым ишемическим инсультом / Н.Ю.Рудева, П.Р.Камчатнов, Т.К.Люкова и др. // Аллергол. и иммунология. - 2004. - Т.5, №1. - С.211. 8. Иммунохимическая верификация постинсультной хронизации нейродегенеративного процесса у крыс с окклюзией средней мозговой артерии / С.В.Петров, С.В.Лебедев, О.Ц.Турина, В.П.Чехонин // Нейрохимия. - 2005. - № 2. - С.38-44. 9. Ткачук О.В. Пренатальна стрессова модифікація реактивності тимуса в самців щурів // Клін. та експерим. патол.- 2005. - Т.IV, №1 - С. 98-103. 10. Сашук М.М. Реорганізація структури лімфоїдної популяції вилочкової залози неповною глобальною ішемією мозку та її корекція емоксипіном в експерименті / М.М.Сашук, С.С.Ткачук // Клін. анат. та оперативна хірургія. - 2006. - Т.5, №3. - С. 45-51. 11. Парахонский А.П. Возрастные аспекты иммуномодуляторных изменений при хроническом стрессе / А.П. Парахонский // Аллергол. и иммунол. - 2006. - Т.7, №3. - С.265. 12. Ярилин А.А. Старение иммунной системы и тимус / А.А. Ярилин // Клиническая геронтология. - 2003. - №3. - С.8-17. 13. Скибо Г.Н. Использование различных экспериментальных моделей для изучения клеточных механизмов ишемического поражения мозга / Г.Н.Скибо // Патология. - 2004. - Т.1, №1. - С. 22-30. 14. Алгоритм автоматичного аналізу лімфоїдної популяції тимуса /

А.В.Абрамов, Ю.М.Колесник, В.А.Любомирська, О.М.Камышний // Вісник морфології. - 2002. - № 2. - С. 261-262.
15. Структурно-функциональная организация лимфоидной популяции тимуса: опыт применения математического классификационного анализа /А.В. Абрамов, Ю.М. Колесник, В.А. Любомирская, А.М. Камышний // Клін. та експерим. патол.- 2002 - Т.1, №1.- С.5-9.

**ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАГИРОВАНИЯ
СОДЕРЖАНИЯ КЛЕТОЧНОЙ РНК ТИМОЦИТІВ
КРЫС НА НЕПОЛНУЮ ГЛОБАЛЬНУЮ ИШЕМИЮ-
РЕПЕРФУЗИЮ ГОЛОВНОГО МОЗГА**

С.С.Ткачук, А.В.Ткачук, В.Ф.Мыслицкий

Резюме. Исследовано реакцию РНК тимоцитов различных структурно-функциональных зон тимуса крыс разного возраста на неполную глобальную ишемию-реперфузию головного мозга. Показано, что концентрация РНК после неполной глобальной ишемии-реперфузии головного мозга снижается в лимфоцитах всех структурно-функциональных зон тимуса животных обоих возрастных групп за исключением субкапсулярной зоны трехмесячных и глубокой корковой зоны одномесячных крыс, где произошло возрастание этого показателя.

Ключевые слова: неполная глобальная ишемия-реперфузия головного мозга, клетки лимфоидной популяции тимуса, РНК.

**THE AGE PECULIARITIES OF THE REACTION OF
CELL RNA CONTENT IN THYMOCYTES OF RATS
UNDER INCOMPLETE GLOBAL BRAIN ISCHEMIA-
REPERFUSION**

S. S. TKACHUK, O.V. TKACHUK, V.F.MYSLYTSKYI

Abstract. Reaction of RNA thymocytes in the different structural and functional areas of the thymus of different ages rats at the brain incomplete global ischemia-reperfusion has been studied. It was shown that the concentration of RNA after brain incomplete global ischemia-reperfusion decreases in lymphocytes of all structural and functional areas of thymus of both age groups of animals except subcapsular zone of three-months rats and deep cortical zone of one-months rats, in which this indicator was an increased.

Key words: incomplete global brain ischemia-reperfusion, cells of the thymic lymphoid population, RNA.

**Higher State Educational Establishment of Ukraine
"Bukovinian State Medical University", Chernivtsi**

Clin. and experim. pathol.- 2015.- Vol.14, №4 (54).-P.170-174.

Надійшла до редакції 02.12.2015

Рецензент – проф. І.І. Заморський

© С.С. Ткачук, О.В.Ткачук, В.Ф. Мыслицкий, 2015