 Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ’Я УКРАЇНИ**

**НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**імені О.О.БОГОМОЛЬЦЯ**

**ДІДЕНКО Світлана Миколаївна**

**УДК 613.863:612.018:612.82**

**ГОРМОНАЛЬНИЙ СТАТУС ТА КОНЦЕНТРАЦІЯ ЦИКЛІЧНИХ І АДЕНІЛОВИХ НУКЛЕОТИДІВ В УМОВАХ ІМУНІЗАЦІЇ І ЕМОЦІЙНОГО СТРЕСУ**

**14.01.32** - медична біохімія

**АВТОРЕФЕРАТ**

**дисертації на здобуття наукового ступеня**

**кандидата медичних наук**

**Київ – 2009**

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана вЗапорізькій медичній академії

післядипломної освіти МОЗ України

**Науковий керівник:** доктор медичних наук, професор

**ЯКУШЕВ Володимир Сергійович,**

завідувач кафедри клінічної

лабораторної діагностики,

Запорізька медична академія

післядипломної освіти

**Офіційні опоненти:** доктор медичних наук, професор

**КРИШТАЛЬ Микола Васильович,**

завідувач кафедри патологічної фізіології,

Національний медичний університет

імені О.О.Богомольця

доктор медичних наук

**ЛІТВІНОВА Надія Володимирівна,**

головний науковий співробітник відділу біохімічної фармакології, ДУ „Інститут

фармакології та токсикології АМН України”

**Захист дисертації відбудеться** „8” жовтня 2009 р. о 1330годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.003.07 Національного медичного університету імені О.О.Богомольця ( 03057, м. Київ, пр. Перемоги, 34, фізико-хімічний корпус НМУ).

**З дисертацією можна ознайомитись** у бібліотеці Національного медичного університету імені О.О.Богомольця ( 03057, м. Київ, вул. Зоологічна, 1).

**Автореферат розісланий** „8” вересня 2009 р.

**Вчений секретар**

**спеціалізованої вченої ради,**

**кандидат біологічних наук** Толстих О.І.

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** Відомо, що життя сучасної людини перенасичене різноманітними за характером, тривалістю та інтенсивністю стресовими впливами. При цьому залучається система нейроендокринної регуляції, яка виконує гормональне та вегетативне забезпечення метаболічних змін організму, спрямованих на підтримання гомеостатичних параметрів. Доведено, що майже у 50-70% населення країни знижена імунологічна реактивність (Шабашкова Н.В., 2000). Даний стан є наслідком дії забруднення повітря, ґрунту, продуктів їжі фарбниками, ароматизаторами, важкими металами, радіоактивними сполуками, тощо. Свою частку також додає фармацевтична індустрія з різноманітними вакцинами й іншими лікарськими речовинами. При потраплянні вище зазначених чужорідних чинників до організму для знешкодження та елімінації антигену залучається імунна система. Якщо при цьому на організм діє стресовий фактор, виникають певні метаболічні перебудови, які включають в себе зміни гормонального статусу, енергетичного забезпечення головного мозку (Дудченко А.М., 1993; Квітницька-Рижова Т.Ю., 2004; Пішак В.П., 2000).

На теперішній час встановлено, що наслідками емоційного стресу є пошкодження центральної нервової системи, серцево-судинної та інших систем організму на фоні гормональних зсувів та імунодефіцитних станів (Величковський Б.Т., 2006; Волошин П.В., 2000; Геник С.М., 2005; Ізмеров Н.Ф., 2000; Цяпець С.В., 2002). Встановлено вирішальну роль психоемоційного впливу на виникнення онкологічних захворювань (Бульон В.В., 1995; Бабічев В.Н., 2004), хвороб травної системи (Yashiro H., 1994; Levenstein S., 1995; Філаретова Л.П., 1996), зниження імунологічної резистентності організму (Дегтяренко Т.В., 2004; Колесніков О.Л., 2006; Сапін М.Р., 2000). Як наслідок виникає порушення майже всіх видів обміну (Кутіков О.Є., 1997; Самохвалов В.Г., 2002; Курашвілі Л.В., 2003).

Однак у вказаних роботах недостатньо приділялось уваги оцінці гормонального статусу сумісно з дослідженням циклічних і аденілових нуклеотидів, які в комплексі характеризують біохімічні зміни метаболізму та стан енергетичного обміну кори головного мозку.

Однією з важливих проблем сучасності є те, що всі біосистеми піддаються антигенному навантаженню в умовах сучасного виробництва (Носов М.А., 2001; Шейко В.І., 2002; Кучеренко О.В., 2006).

Тому актуальним питанням є комплексне дослідження гормонального статусу, а також циклічних і аденілових нуклеотидів за умов антигенної дії та одночасного впливу емоційного стресу. При цьому дія імуногенів і послідуючий вплив емоційного стресу до теперішнього часу практично не досліджувались на рівні найважливіших гормональних показників, циклічних нуклеотидів і аденілової системи кори великих півкуль головного мозку.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана як розділ планової науково-дослідної роботи кафедри клінічної лабораторної діагностики Запорізької медичної академії післядипломної освіти „Нейрогуморальна регуляція і енергетичний обмін кори головного мозку імунізованих тварин після перенесеного емоційного стресу” (№ держреєстрації 0105U004572).

**Мета дослідження.** Дати характеристику особливостям гормонального статусу і стану обміну циклічних, а також аденілових нуклеотидів у корі великих півкуль головного мозку при антигенній стимуляції за умов емоційного стресу (ЕС).

**Завдання дослідження:**

1) вивчити зміни концентрацій ряду гормонів гіпофізу, підшлункової і щитоподібної залоз, кори надниркових залоз при імунізації, емоційному стресі та їх комбінованій дії;

2) визначити концентрацію циклічного аденозинмонофосфату (цАМФ), циклічного гуанозинмонофосфату (цГМФ) і їх співвідношення у корі великих півкуль головного мозку при імунізації, емоційному стресі та їх комбінованій дії;

3) визначити вміст аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ), аденозиндифосфорної кислоти (АДФ), аденозинмонофосфорної кислоти (АМФ), а також розрахувати енергетичний заряд, потенціал фосфорилювання та суму аденілових нуклеотидів у корі великих півкуль головного мозку при імунізації, емоційному стресі та їх комбінованій дії.

*Об’єкт дослідження* – енергетичний обмін кори великих півкуль головного мозку, гормональний статус.

*Предмет дослідження* – показники енергетичного обміну кори великих півкуль головного мозку і особливості нейроендокринної регуляції при імунізації та наступному впливі ЕС.

*Методи дослідження* – біохімічні, фізіологічні, радіоімунологічні, математичної статистики.

**Наукова новизна одержаних результатів.** У роботі вперше проведено комплексне дослідження гормонів крові та визначення рівня циклічних нуклеотидів і нейропептидів, а також показників аденілової системи кори великих півкуль головного мозку за умов моделювання гострого емоційного стресу у попередньо імунізованих тварин.

Вплив імуногену на організм викликає комплекс гормональних зсувів у нейроендокринній системі організму, а також в обміні внутрішньоклітинних месенджерів. Встановлено, зокрема, значне збільшення у крові вмісту пролактину, вазопресину, глюкагону, трийодтироніну (Т3). Вперше показано, що за умов антигенного навантаження у корі великих півкуль головного мозку суттєво знижується концентрація цГМФ, підвищується співвідношення цАМФ/цГМФ, збільшується споживання АТФ.

Вперше встановлено, що ЕС у імунізованих тварин мобілізує активну продукцію вазопресину у гіпоталамусі і наступну його секрецію у кров. При цьому зменшується концентрація пролактину у крові. Гормональна перебудова нейроендокринної системи за умов імунізації та ЕС супроводжується у клітинах кори великих півкуль головного мозку зростанням концентрації цАМФ і зменшенням цГМФ, на фоні більш значного зростання вмісту АТФ і АДФ, а також посиленого споживання АМФ. Отримані результати свідчать про те, що ЕС на фоні імунізації різко підсилює як розпад, так і синтез АТФ у клітинах кори великих півкуль головного мозку.

**Практичне значення одержаних результатів.** Отримані результати експериментальних досліджень розширюють існуючі уявлення про роль нейрогуморальної та біохімічної взаємодії стресреалізуючих систем за умов імунізації та стресу, що створює передумови для розробки методів попередження та корекції наслідків стресу.

Результати дослідження можуть використовуватися не тільки у науково-дослідній роботі в спеціальностях суміжних з клінічною біохімією, але й у практичній медицині, пов’язаній з проведенням імунізації та вакцинації у шкідливих умовах і дії різних екстремальних і емоційно-больових факторів стресової природи.

Основні результати дисертації впроваджено у навчальний процес на кафедрі клінічної імунології алергології та ендокринології Донецького державного медичного університету, кафедрі клінічної біохімії Харківської медичної академії післядипломної освіти, Британського медичного центру (м. Харків).

**Особистий внесок здобувача.** Дисертантом самостійно проведено інформаційно-патентний пошук, аналіз наукової літератури за обраною темою, освоєні та відтворені моделі патологічних станів, проведені експериментальні дослідження. Самостійно здійснені всі біохімічні та радіоімунологічні дослідження. Автор самостійно провів статистичну обробку результатів експериментальних досліджень та проаналізував їх, сформулював основні положення та висновки дисертації.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення і результати дисертації були викладені та обговорені на науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми медичної і клінічної біохімії» (Чернівці, 2005), міжнародній конференції «Сучасні проблеми біології, екології і хімії» (Запоріжжя, 2007), Всеукраїнській науково-практичній конференції «Сучасні методичні підходи до аналізу стану здоров’я» (Луганськ, 2007), науково-практичній конференції „Актуальні питання медичної науки та практики” (Запоріжжя, 2008).

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 8 наукових робіт, з них 5 статей у фахових наукових журналах, 3 роботи – у матеріалах і тезах наукових та науково-практичних конференцій.

**Структура дисертації.** Робота викладена на 139 сторінках друкованого тексту. Складається із вступу, огляду літератури, розділу „Матеріали і методи досліджень”, 3 розділів власних досліджень, аналізу та обговорення отриманих результатів, висновків, списку використаних джерел (142 кирилицею, 107 латиницею). Текст містить 18 таблиць і 6 рисунків.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ**

Досліди були проведені на 177 щурах-самцях Вістар. Усі експериментальні дослідження проводили з дотриманням вимог „Європейської конвенції захисту тварин, які використовуються з експериментальними та іншими цілями” (Страсбург, 1986), наказу МОЗ УССР № 32 від 22.02.1988 р. Емоційний стрес (ЕС) моделювали за Desiderato  О. et al. (1974). Для дослідження реакції імунної відповіді тваринам вводили внутрішньоочеревинно еритроцити барану 0,5 мл 50 відсоткової суспензії.

Експерименти проводили в таких серіях дослідів: 1 група – інтактні тварини (n = 30); 2 група – тварини, у яких моделювали ЕС у формі неврозу тривоги: 2.1 група – щури, досліджені в перший день експерименту (n = 29); 2.2 група – тварини, яких досліджували на другий день після відтворення емоційного стресу (n = 29); 3 група – імунізовані тварини, яких досліджували на піку титру антитілоутворення (7 день) (n = 30); 4 група – тварини, у яких на висоті максимального збільшення титру антитіл (7 день) відтворювали емоційний стрес: 4.1 група – щури, досліджені в перший день експерименту (n = 30); 4.2 група – імунізовані тварини, які досліджувались на другий день після моделювання емоційного стресу (n = 29).

За допомогою радіоімунного дослідження визначали рівень гормонів у крові, циклічних нуклеотидів і лей-енкефаліну у корі головного мозку, використовуючи набори Bühlmann Laboratories A.G. (Швеція), РИО-Т3–ПГ (Росія), РИО-ИНС-ПГ-125 I (Росія), Serono Diagnostics (Германія), Sorin Biomedica (Італія), UPRLK–PR Oris Industrie SA (Франція), Becton Dickinson (США). Після декапітації з мозку вилучали гіпоталамус у відповідності з методикою J.Glowinski et L.L.Iversen (1981) і визначали рівень вазопресину набором Вühlmann Laboratories A.G. (Швеція). Аденілові нуклеотиди у корі великих півкуль головного мозку – спектрофотометрично (АТФ за W.Lampercht, J.Trautshold (1962), АДФ и АМФ за H.Adam (1962)).

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з вирахуванням значень середньоарифметичного (М), середньої помилки середнього арифметичного (m), ступеню достовірності (р) з використанням критерію Ст’юдента (t). Зміни, що спостерігали, розцінювали як статистично достовірні при р<0,05.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ**

Результати досліджень показали, що в перший день після відтворення ЕС концентрація вазопресину достовірно підвищується і становить 190 %, а пролактину 155 % у порівнянні з інтактними тваринами (табл. 1). Такі ж самі зміни спостерігаються і на другий день після ЕС. При цьому концентрація вазопресину ще більше зростає. Дослідження гормонів підшлункової залози виявило їхню різноспрямовану динаміку (табл. 1). Вміст інсуліну одразу після ЕС зменшується і становить 32 % (р<0,05), а на другу добу після

*Таблиця 1*

Вміст гормонів у крові за умов імунізації та емоційного стресу(М+m, n = 7)

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Група  тварин | Вазопресин,  нг/л | Пролактин,  пг/мл | Інсулін,  пмоль/л | Глюкагон,  нг/л | Т3,  нмоль/л | Альдостерон  нмоль/л |
| 1. Інтактні  тварини | 7,8+2,1 | 84,7+22,9 | 110,5+10,9 | 14,4+0,8 | 0,4+0,1 | 305,2+55,1 |
| 2.1 ЕС | 14,8+2,1\* | 131,2+8,1\* | 35,9+9,2\* | 36,7+3,4\* | 0,1+0,02\* | 249,1+11,4 |
| 2.2 ЕС, 2 день | 34,3+1,8\* | 115,8+11,0 | 23,1+5,5\* | 37,8+4,8\* | 0,6+0,02\* | 288,1+8,3 |
| 3. Імунізовані тварини | 23,7+7,2\* | 1225,3+14,9\* | 362,5+11,7\* | 86,1+6,2\* | 1,6+0,1\* | 381,1+41 |
| 4.1 Імунізовані тварини+ЕС | 73,3+13,3\*\*,# | 750,5 +31,1\*\*,# | 125,7+15,4\*\*,# | 163,2+3,6\*\*,# | 1,8+0,1# | 818,2+49,3\*\*,# |
| 4.2 Імунізовані тварини+ЕС,  2 день | 50,2+7.2\*\*,## | 1343,8 +34,9\*\*,## | 176,1+33,1\*\*,## | 43,1+14,0\*\* | 1,3+0,09\*\*,## | 965,1+90,2\*\*,## |

П р и м і т к и. Тут і в подальшому:

1. \* - р < 0,05 у порівнянні з групою 1; 3. # - р< 0,05 у порівнянні з групою 2.1;

2.\*\* - р < 0,05 у порівнянні з групою 3; 4. ## - р< 0,05 у порівнянні з групою 2.2.

ЕС ще більше знижується і становить 21 % у порівнянні з інтактними тваринами. При цьому вміст глюкагону після ЕС різко зростає і становить

262 % (р<0,05) у порівнянні з інтактними тваринами. Вміст трийодтироніну (Т3) – гормону щитоподібної залози при ЕС знижується на 75 % (р<0,05) у порівнянні з інтактними тваринами. На другий день після ЕС рівень цього гормону зростає і становить 150 % (р<0,05) у порівнянні з початковим рівнем (табл. 1). Визначення вмісту альдостерону при ЕС показує, що спостерігається тенденція до його зниження.

При проведенні імунізації вміст вазопресину підвищується втричі, а пролактину в 14 разів у порівнянні з інтактними тваринами (табл. 1). Також проведення імунізації призводить до достовірного підвищення рівня інсуліну на 228 % (р<0,05) і глюкагону на 498 % (р<0,05) у порівнянні з інтактними тваринами. Рівень Т3 в даних умовах становить 400 %, а концентрація альдостерону 125 % у порівнянні з показниками інтактних тварин.

Відтворення ЕС на фоні імунізації сприяє ще більшому підвищенню вмісту вазопресину на 209 % у порівнянні з імунізованими тваринами (табл. 1). При цьому концентрація пролактину у даної групи тварин знижується і становить 61 % (р<0,05) у порівнянні з імунізованими тваринами. На другий день після ЕС у імунізованих тварин концентрація пролактину зростає майже вдвічі у порівнянні з результатами першої доби ЕС у імунізованих тварин. Вміст же вазопресину має тенденцію до зниження, але залишається вище майже в 2 рази у порівнянні з імунізованими тваринами. В перший день після відтворення ЕС на фоні імунізації спостерігається підвищення рівня глюкагону, що становить 189 % (р<0,05), а на другий день цей показник знижується майже вдвічі у порівнянні з імунізованими тваринами. При відтворенні ЕС на фоні імунізації визначено, що рівень трийодтироніну залишається майже на рівні імунізованих тварин. Вміст же альдостерону підвищується і становить 215 % у порівнянні з імунізованими тваринами (табл. 1). Дослідження рівня даних гормонів наступного дня після відтворення ЕС на фоні імунізації показує, що значення Т3 знижується і становить 81 % у порівнянні з імунізованими тваринами, а концентрація альдостерону має тенденцію до ще більшого підвищення (на 153 % у порівнянні з імунізованими тваринами).

Дослідження концентрації лей-енкефаліну у корі великих півкуль головного мозку і вазопресину в гіпоталамусі виявило характерні зміни в динаміці цих компонентів за умов моделювання різних патологічних станів. Так, показано, що ЕС призводить до значного підвищення вмісту лей-енкефаліну у корі головного мозку – на 133 % і 195 % в перший і другий дні відповідно, у порівнянні з інтактними тваринами (рис. 1).

пг/г пг/г

Рис. 1. Концентрація лей-енкефаліну у корі великих півкуль головного мозку і вазопресину у гіпоталамусі щурів при ЕС, імунізації та моделюванні ЕС на фоні імунізації.

П р и м і т к и. Тут і в подальшому:

1. 1 група – інтактні тварини;

2. 2.1 група – емоційний стрес, 1 день;

3. 2.2 група – емоційний стрес, 2 день;

4. 3 група – імунізовані тварини;

5. 4.1 група – імунізовані тварини+ЕС, 1 день;

6. 4.2 група – імунізовані тварини+ЕС, 2 день.

Показано, що імунізація тварин суттєво не впливає на концентрацію лей-енкефаліну. Відтворення ЕС у імунізованих тварин також не змінює вміст лей-енкефаліну у корі головного мозку у порівнянні з інтактними тваринами. Дослідження концентрації вазопресину у гіпоталамусі показує, що за умов стресу вміст цього гормону зменшується починаючи з 1 дня спостереження, а на другий день післястресового періоду становить 38 % від показника інтактних тварин. Проведення самої лише імунізації практично не впливає на рівень вазопресину у гіпоталамусі. Натомість, за умов відтворення ЕС у імунізованих тварин відбувається збільшення вмісту вазопресину у гіпоталамусі: в перший день після моделювання ЕС рівень цього нейропептиду підвищується і становить 172 % (р<0,05), а на другий день 185 % (р<0,05) у порівнянні з показником імунізованих тварин (рис. 1).

Дослідження вмісту циклічних нуклеотидів при відтворенні ЕС показує, що вміст цАМФ у корі великих півкуль головного мозку зростає (табл. 2). Зокрема, у першу добу після відтворення ЕС концентрація цАМФ збільшується на 107 % у порівнянні з початковим рівнем, а на другу добу після ЕС повертається майже до рівня інтактних тварин.

*Таблиця 2*

Концентрація циклічних нуклеотидів у корі великих півкуль головного мозку при імунізації та ЕС (М+m, n = 7)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Група тварин | цАМФ | цГМФ | цАМФ/цГМФ |
| нмоль/г | |
| 1. Інтактні тварини | 1,5+0,3 | 0,4+0,03 | 3,8 |
| 2.1 ЕС, 1 день | 3,1+0,3\* | 0,2+0,01\* | 15,5 |
| 2.2 ЕС, 2 день | 1,3+0,04 | 0,3+0,03\* | 4,3 |
| 3. Імунізовані тварини | 1,3+0,2 | 0,07+0,01\* | 18,6 |
| 4.1 Імунізовані тварини+ЕС, 1 день | 2,4+0,2\*\* | 0,2+0,01\*\* | 12,0 |
| 4.2 Імунізовані тварини+ЕС, 2 день | 0,9+0,08\*\*,## | 0,1+0,02\*\*,## | 9,0 |

У той самий час вміст цГМФ знижується. Так, в перший та другий дні моделювання ЕС концентрація цГМФ у корі головного мозку зменшується і становить відповідно 50 % і 75 % у порівнянні з показником інтактних тварин.

Циклазний індекс, тобто співвідношення цАМФ/цГМФ, одразу після відтворення ЕС значно зростає не тільки за рахунок підвищення концентрації цАМФ, але й за рахунок зниження вмісту цГМФ. Але на другу добу після ЕС цей показник практично повертається до рівня інтактних тварин.

Дослідження вмісту циклічних нуклеотидів у імунізованих тварин показує, що за цих умов у корі головного мозку відбувається значне зниження концентрації цГМФ, яке становить 18 % у порівнянні з інтактною групою. Значення цАМФ залишається майже на рівні показника інтактних тварин. Наслідком цього стало значне підвищення циклазного індексу: співвідношення цАМФ/цГМФ у групі імунізованих тварин зростає майже в 5 разів у порівнянні з групою інтактних тварин (табл.2).

Відтворення ЕС у імунізованих тварин супроводжується підвищенням рівня цАМФ (на 85 %) і цГМФ (на 186 %) у порівнянні з групою імунізованих тварин. Однак на 2 день після ЕС спостерігається зниження концентрації цАМФ і цей показник становить 69 % у порівнянні з групою імунізованих тварин. Значення цГМФ повертається практично до рівня імунізованих тварин. Відмічено, що зберігається зниження в 2 рази співвідношення цАМФ/цГМФ у даної групи тварин у порівнянні з групою імунізованих тварин (табл. 2).

Встановлено, що відтворення ЕС у інтактних тварин супроводжується певними змінами показників аденілової системи (табл. 3). Так, вміст АТФ одразу після відтворення ЕС знижується і становить 38 % у порівнянні з показником інтактних тварин. Цей аденіловий нуклеотид залишається на такому ж рівні і на другу добу після відтворення ЕС. Концентрація АДФ у корі головного мозку щурів збільшується в 3,0 і 3,7 разів у перший та другий дні відповідно після моделювання стресу у порівнянні з інтактними тваринами. Концентрація АМФ має тенденцію до зниження одразу після ЕС (становить 67 %) та достовірно зменшується на другу добу після відтворення ЕС (становить 33 %) у порівнянні з інтактним контролем. Співвідношення АТФ/АМФ при ЕС знижується і становить 58 % в перший день, але підвищується на 16 % в наступний день після відтворення ЕС у порівнянні з рівнем інтактних тварин (табл. 3). Такі показники, як енергетичний заряд (ЕЗ) і сума аденілових нуклеотидів суттєво не змінюються в першу і другу добу після ЕС. Тільки потенціал фосфорилювання (ПФ) знижується майже у 8 разів в перший і другий день після відтворення ЕС (рис. 2).

*Таблиця 3*

Показники енергетичного обміну у корі великих півкуль головного мозку щурів при імунізації та ЕС (М+m, n = 7)

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Група тварин | ATФ,  мкмоль/г | AДФ,  мкмоль/г | AMФ,  мкмоль/г | AТФ/АМФ |
| 1. Інтактні тварини | 1,3+0,1 | 0,3+0,04 | 0,3+0,03 | 4,3 |
| 2.1 ЕС, 1 день | 0,5+0,06\* | 0,9+0,02\* | 0,2+0,02\* | 2,5 |
| 2.2 ЕС, 2 день | 0,5+0,1\* | 1,1+0,02\* | 0,1+0,02\* | 5 |
| 3. Імунізовані тварини | 0,9+0,3\* | 0,3+0,07 | 0,4+0,1 | 2,2 |
| 4.1 Імунізовані тварини+ЕС,  1 день | 1,4+0,1\*\*,# | 0,8+0,1\*\* | 0,7+0,01\*\*,# | 2 |
| 4.2 Імунізовані тварини+ЕС,  2 день | 1,5+0,1\*\*,## | 1,1+0,04\*\* | 0,2+0,04\*\*,## | 7,5 |

Дослідження показників аденілової системи імунізованих тварин на висоті піку титру антитілоутворення показує, що у корі головного мозку цієї групи тварин виявляються особливості в досліджуваних величинах. Так, із показників аденілових нуклеотидів зменшується тільки концентрація АТФ і становить 69 % (р<0,05) у порівнянні з інтактним контролем (табл. 3). Показники АДФ і АМФ залишаються на рівні інтактних тварин. Значення ЕЗ, суми аденілових нуклеотидів, а також відношення АТФ/АМФ при імунізації майже такі ж, що і у тварин з емоційним стресом. Показник ПФ підвищується в 5 разів у порівнянні з щурами, які перенесли ЕС, але відносно інтактних тварин становить лише 63 % (рис. 2)

Відтворення емоційного стресу у попередньо імунізованих тварин супроводжується змінами показників енергетичного обміну кори головного мозку.

Рис. 2. Показники енергетичного обміну у корі великих півкуль головного мозку щурів при імунізації та ЕС.

У цієї групи тварин одразу після ЕС на 53 % зростає сума аденілових нуклеотидів у порівнянні з інтактним контролем, що вище по відношенню до будь-якої групи тварин з ЕС або з імунізацією (рис. 2). Це збільшення пов’язано з підвищенням концентрації переважно АТФ і АДФ, вміст яких становить 155 % і 267 % відповідно у порівнянні з імунізованими тваринами (табл. 3). Виявлені зміни в аденіловій системі однак не супроводжуються зсувами у значеннях АТФ/АМФ і ЕЗ, однак ПФ знижується на 40 % у порівнянні з групою імунізованих тварин (рис. 2). Збільшення тривалості післястресового періоду до двох діб супроводжується схожою динамікою у досліджуваних показниках енергетичного обміну, що й у тварин попередньої серії досліджень. Однак існують суттєві відмінності, які пов’язані з різким збільшенням відношення АТФ/АМФ (в 3,4 рази) і ЕЗ (в 1,2 рази) у порівнянні з імунізованими тваринами.

Отже, на фоні активного антитілоутворення вплив емоційного стресу призводить до підвищеної секреції у кров майже всіх досліджуваних гормонів, зокрема гормонів гіпофізу, підшлункової та щитоподібної залоз, а також кори надниркової залози. Відмічено первинне підвищення концентрації у крові контрінсулярних гормонів (глюкагону, трийодтироніну, вазопресину), які впливають на різні види обміну, а особливо вуглеводний. Це призводить до підвищення рівня енергетичних субстратів, необхідних для забезпечення метаболічних потреб органів, зокрема головного мозку. Дослідження концентрації циклічних нуклеотидів у корі головного мозку показало збільшення концентрації цАМФ у гостру фазу стресу, що вказує на переважний вплив симпатичної нервової системи. Оскільки цАМФ опосередковує вплив стресових гормонів на метаболізм клітин, а цГМФ – антистресових, то зменшення циклазного індексу (відношення цАМФ/цГМФ) на другий день відтворення емоційного стресу може вказувати на збільшення резистентності організму до дії екстремальних факторів. Вплив стресу на попередньо імунізованих тварин, включає важливі механізми, що впливають як на розпад, так і на синтез компонентів аденілової системи кори головного мозку, спрямовані на адекватне забезпечення нервової тканини макроергічними фосфатами. Це проявляється у збільшенні суми аденілових нуклеотидів і знижені потенціалу фосфорилювання. Але показник енергетичного заряду залишається стабільним, що вказує на здатність відновлювати порушене за умов стресу співвідношення компонентів аденілової системи.

**ВИСНОВКИ**

У дисертації наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення актуальної задачі медичної біохімії – визначення ключових патобіохімічних порушень гормонального гомеостазу, змін концентрацій регуляторних нейропептидів, аденілових нуклеотидів, вторинних месенджерів у головному мозку, які виникають за умов імунізації та гострого емоційного стресу.

1. Емоційний стрес та імунізація призводять до змін рівнів майже всіх досліджуваних гормонів. За умов відтворення обох моделей у крові щурів відбувається значне підвищення концентрацій контрінсулярних гормонів - глюкагону, вазопресину, трийодтироніну, що завдяки посиленню їхніх регуляторних впливів призводить до підвищення рівня енергетичних субстратів, необхідних для забезпечення метаболічних потреб головного мозку. У той же самий час відмічено вторинне підвищення рівня інсуліну, який захищає організм від надмірної гіперглікемії.
2. За умов гострого стресу відмічено зміни вмісту гормонів у імунізованих тварин: підвищення рівня вазопресину, глюкагону і трийодтироніну, та зниження вмісту пролактину і інсуліну у порівнянні з імунізованими тваринами. На другий день експерименту відмічено достовірне підвищення інсуліну і пролактину, а концентрація вазопресину, глюкагону і трийодтироніну знижується.
3. Емоційний стрес викликає достовірне збільшення вмісту лей-енкефаліну у корі головного мозку. Імунізація і сумісна дія емоційного стресу та імунізації не впливає на рівень цього нейропептиду. Тобто, за умов найбільшої пошкоджуючої дії стресу підвищення синтезу нейропептидів впливає на активацію центральних гальмівних механізмів, які лімітують стресову реакцію. Отже, при імунізації і послідуючій дії емоційного стресу інтенсивність стресової реакції знижена.
4. Емоційний стрес у попередньо імунізованих тварин призводить до змін концентрацій циклічних нуклеотидів у корі головного мозку щурів, а саме, до підвищення концентрації цАМФ і зниження рівня цГМФ у перший день та до зменшення концентрацій обох циклічних нуклеотидів на другий день після дії стресового чинника по відношенню до показників групи інтактних тварин. Зменшення циклазного індексу (відношення цАМФ/цГМФ) на другий день відтворення емоційного стресу вказує на збільшення резистентності організму до дії екстремальних факторів.
5. Відтворення емоційного стресу призводить до зниження рівня АТФ і АМФ, а також значного підвищення рівня АДФ. Сума аденілових нуклеотидів і енергетичний заряд залишаються стабільними, що вказує на достатнє забезпечення клітини макроергічними фосфатами, незважаючи на зниження за цих умов показника потенціалу фосфорилювання.
6. Відтворення емоційного стресу у попередньо імунізованих тварин призводить до збільшення концентрації всіх досліджених компонентів аденілової системи у мозку експериментальних тварин. За таких умов значне підвищення концентрації АМФ у перший день після ЕС (в 2,3 та 3,5 разів у порівнянні з інтактним контролем та показником тварин зі стресом відповідно) свідчить про підсилення мобілізації енергетичних ресурсів мозку, активацію процесів розпаду і синтезу макроергічних фосфатів.
7. Емоційний стрес на тлі імунізації призводить до значного збільшення суми аденілових нуклеотидів. Показник потенціалу фосфорилювання знижений, але ресинтез АДФ до АТФ достатній за рахунок високого рівня АДФ. Енергетичний заряд залишається стабільним у всіх експериментальних групах тварин.
8. Порівняння результатів досліджень за умов трьох експериментальних моделей – гострого емоційного стресу, імунізації, а також емоціонального стресу у імунізованих тварин свідчить, що попередня імунізація виступає як адаптивна ланка реакції організму на дію екстремальних факторів (прекондиціювання).

**ПУБЛІКАЦІЇ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Діденко С.М. Аденілові нуклеотиди кори головного мозку і особливості гормональної ланки регуляції у імунізованих тварин / Діденко С.М., Якушев В.С. // Мат. науково-практичної конференції з міжнародною участю „Сучасні проблеми медичної та клінічної біохімії”. – Чернівці. – Буковинський мед. вісник. – 2005. – Т.9, № 2. С. 85-86. (Проведення експериментальних досліджень, оформлення статті).

2. Диденко С.Н. Кальций крови у иммунизированных животных, перенесших эмоциональный стресс / Диденко С.Н., Якушев В.С. // Крымский терапевтический журнал. – 2006. - № 1. – С.79-81. (Проведення експериментальних досліджень, оформлення статті).

3.Диденко С.Н. Содержание гормонов крови у иммунизированных животных, подвергнутых воздействию эмоционального стресса / Диденко С.Н., Якушев В.С. // Таврич. медико-биол. вест. – 2006. – Т. 9, № 1. – С. 146-148. (Проведення експериментальних досліджень, оформлення статті).

4. Диденко С.Н. Циклические нуклеотиды в коре больших полушарий головного мозга у иммунизированных животных, перенесших эмоциональный стресс / Диденко С.Н., Якушев В.С. // Експерим. та клінічна фізіологія і біохімія. – 2006. - № 3. – С. 7-10. (Проведення експериментальних досліджень, оформлення статті).

5. Диденко С.Н. Циклические нуклеотиды, лей-энкефалин и вазопрессин в коре больших полушарий головного мозга у иммунизированных животных, перенесших эмоциональный стресс / Диденко С.Н., Якушев В.С. // Медична хімія. – 2006. – Т. 8, № 4. – С. 23-26. (Проведення експериментальних досліджень, оформлення статті).

6. Діденко С.М. Енергетичний обмін у корі великих півкуль головного мозку у імунізованих тварин, які перенесли емоційний стрес / Діденко С.М., Якушев В.С. // Збірник наук. праць „Актуальні питання медичної науки і практики”. – 2008. – Вип. 74, Кн.1. – С. 53-57.

7.Діденко С.М. Співвідношення циклічних нуклеотидів у головному мозку імунізованих тварин, які перенесли емоційний стрес / Діденко С.М., Якушев В.С. // Тези доп. міжнар. конференції „Сучасні проблеми біології, екології та хімії”. – Запоріжжя. – 2007. – С. 540-541.

8. Діденко С.М. Особливості нейрогуморальної регуляції та стан аденілової системи кори головного мозку при відтворенні емоційного стресу на фоні імунізації / Діденко С.М., Якушев В.С. // Тези доп. всеукраїнської наук.-практ. конференції „Сучасні методичні підходи до аналізу стану здоров’я” – Луганськ. – 2007. – С. 9.

9. Діденко С.М. Аденілові нуклеотиди в корі головного мозку у імунізованих тварин після перенесеного емоційного стресу / Діденко С.М., Якушев В.С. // Тези доп. наук.-практ. конференції з міжнародною участю „Вчені майбутнього”. – Одеса. – 2007. – С. 7.

**АНОТАЦІЯ**

**Діденко С.М. Гормональний статус та концентрація циклічних і аденілових нуклеотидів в умовах імунізації і емоційного стресу. – Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.32 – медична біохімія. – Національний медичний університет імені О.О.Богомольця, Київ, 2009.

Дисертацію присвячено дослідженню біохімічних аспектів емоційного стресу, які стосуються вивчення динаміки змін енергетичного обміну і особливостей нейрогуморальних порушень за умов імунізації.

Показано, що при емоційному стресі підвищується рівень таких гормонів крові як пролактин і вазопресин. При цьому в корі головного мозку різко зростає концентрація лей-енкефаліну, при одночасному зниженні вазопресину у гіпоталамусі. Спостерігається також зміна вмісту циклічних нуклеотидів і їх співвідношення у корі головного мозку. Всі ці процеси проходять на фоні дефіциту АТФ і підвищення концентрації АДФ.

Проведення імунізації у тварин призводить до достовірного збільшення майже всіх досліджуваних гормонів у крові. При цьому у корі головного мозку спостерігається зниження цГМФ.

Дослідження тварин після відтворення ЕС на фоні імунізації показало, що рівень таких гормонів крові як вазопресин, глюкагон і альдостерон підвищується з одночасним зниженням пролактину. При цьому спостерігається зростання рівня циклічних нуклеотидів, на фоні підвищення концентрації АТФ і АДФ.

Отримані фундаментальні дані надають можливість мати уявлення про стан аденілової системи і гормональну регуляцію за умов ЕС на фоні імунізації.

**Ключові слова:** емоційний стрес, енергетичний обмін, нейрогуморальна регуляція, циклічні нуклеотиди, імунізація.

**АННОТАЦИЯ**

**Диденко С.Н. Гормональный статус и концентрация циклических и адениловых нуклеотидов в условиях иммунизации и эмоционального стресса. – Рукопись.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.32 – медицинская биохимия. – Национальный медицинский университет имени А.А.Богомольца, Киев, 2009.

Установлено, что во время ЭС в крови животных содержание вазопрессина повышается и составляет 189 %, пролактина 155 % и глюкагона 262 % по отношению к интактным животным. При этом концентрация инсулина снижается на 67 % и на вторые сутки составляет всего 21 % от первоначального уровня, а содержание Т3 снижается на 75 % в первый день опыта и повышается на 50 % на второй день опыта от исходного. Изучение нейропептида лей-энкефалина в коре головного мозга показало его повышение в 2,9 раз, при этом концентрация вазопрессина в гипоталамусе снижается в 2,6 раз.

Иммунизация способствует повышению концентраций в крови вышеперечисленных гормонов. Так, содержание пролактина увеличивается в 14 раз, вазопрессина и инсулина почти в 3 раза, глюкагона в 6 раз, Т3 в 4 раза в сравнении с интактными животными. Концентрация лей-энкефалина в данной группе животных существенно не меняется, при одновременном снижении вазопрессина в гипоталамусе в 1,1 раза.

Изучение гормонов крови у иммунизированных животных после воздействия ЭС показало, что у них резко возрастает уровень вазопрессина на 209 % в первый день опыта и на 112 % на второй день опыта в сравнении с группой иммунизированных животных. При исследовании концентрации гормона пролактина наблюдается обратная тенденция: в первый день составляет всего лишь 61 % и на второй день опыта 109 % в сравнении с иммунизированными животными. При этом концентрация гормонов поджелудочной железы снижается. Уровень Т3 повышается на 13 %, а альдостерона почти в 3 раза. Воспроизведение ЭС у иммунизированных животных существенно не влияет на содержание лей-энкефалина в коре головного мозга, но при этом концентрация вазопрессина в гипоталамусе возрастает и составляет 185 % по сравнению с иммунизированными животными.

Исследование циклических нуклеотидов в коре больших полушарий головного мозга при ЭС показало увеличение цАМФ на 107 % и снижение цГМФ на 50 % по сравнению с показателями интактных животных. При иммунизации уровень цГМФ снижается на 82 %. Воспроизведение ЭС у иммунизированных животных сопровождается повышением уровня цАМФ (на 85 %) и цГМФ (на 186 %) по отношению к группе иммунизированных животных.

Изучение энергетического обмена коры головного мозга при воспроизведении ЭС показало снижение АТФ на 62 % и АМФ на 33 %, при этом концентрация АДФ увеличивается в 3 раза по сравнению с интактными животными. Показатели энергетического заряда и суммы адениловых нуклеотидов практически не изменяются, а потенциал фосфорилирования снижается в 8 раз.

Проведение иммунизации приводит к снижению концентрации АТФ и составляет 69 % в сравнении с первоначальным уровнем. При воспроизведении ЭС у предварительно иммунизированных животных в коре головного мозга концентрация АТФ увеличивается на 55 % , АДФ на 167 % и АМФ на 75 % по отношению к иммунизированным животным. Отмечено также значительное увеличение суммы адениловых нуклеотидов и снижение потенциала фосфорилирования почти в 2 раза по сравнению с группой иммунизированных животных

Следовательно, на фоне активного антителообразования влияние эмоционального стресса приводит к активной секреции в кровь гормонов гипофиза, поджелудочной и щитовидной желез, а также коры надпочечников. Наибольшие изменения испытывают концентрации инсулина и глюкагона, которые влияют на разные виды обмена, а особенно, углеводный. Это приводит к повышению уровня энергетических субстратов, необходимых для обеспечения метаболических потребностей органов, в частности головного мозга. Полученные результаты показывают, что в коре головного мозга происходят изменения в соотношении циклических и адениловых нуклеотидов, которые направлены на адекватное обеспечение нервной ткани макроэргическими фосфатами.

**Ключевые слова:** эмоциональный стресс, энергетический обмен, нейрогуморальная регуляция, циклические нуклеотиды, иммунизация.

**ANNOTATION**

**Didenko S.N. Hormonal status and concentration cyclic and adenyl nucleotides in the conditions of immunization and emotional stress. - Manuscript.**

Dissertation on the receipt of scientific degree of candidate of medical sciences after speciality 14.01.32 – Medical Biochemistry. – O.O.Bogomolets National Medical University, Kiyv, 2009.

In dissertation are shown the results of research of biochemistry aspects of emotional stress, which touch the study of dynamics the changes of energy exchange and features of neuro-hormonal process at the terms of immunization.

It is shown that at emotional stress the level of such hormones of blood rises as prolactin and vasopressin. Thus is the cortex sharply grows concentrations of leu-encaephalin, at the simultaneous decline of vasopressin in hypothalamic. There is also a change of maintenance of cyclic nucleotides and their correlation in the cortex. All of these processes pass on a background the deficit of ATP and increase of concentration of ADP.

Conducting of immunization for animal’s results in the reliable increase of almost all of the probed hormones in blood. Thus there is a decline of cGMP in the cortex.

Research of animals after the recreation of ES on a background immunization showed that level of such hormones of blood, vasopressin, glucagon and aldosteron rises with the simultaneous decline of prolactin. Thus there is growth of level of cyclic nucleotides, on a background the increase of concentration of ATP and ADP.

The got fundamental information enable to know and hormonal adjusting about the state adenyl system in the conditions of ES on a background immunization.

**Key words:** emotional stress, energy exchange, neuroendocrine regulation, cyclic nucleotides, immunization.

Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>