

УДК 616.8315-005.1/–053

DOI: 10.24061/1727-0847.22.4.2023.52

С. С. Ткачук, О. В. Ткачук*, О. І. Денисенко***Кафедри фізіології імені Я. Д. Кіришенблата (зав. – проф. С. С. Ткачук); *анестезіології та реаніматології (зав. – проф. В. М. Коновчук); **дерматовенерології (зав. – проф. О. І. Денисенко) закладу вищої освіти Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці*

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН СТРУКТУРИ ЛІМФОЇДНОЇ ПОПУЛЯЦІЇ ТИМУСА ЩУРІВ ПІСЛЯ ГОСТРОГО ПОРУШЕННЯ МОЗКОВОГО КРОВОТОКУ В БАСЕЙНІ СОННИХ АРТЕРІЙ

Резюме. На сьогодні до найбільш поширених причин інвалідизації та летальності на планеті відносять гострі порушення мозкового кровообігу, у спектрі яких домінують ішемічні ураження. Досягнення нейроімунології та нейроімунопатології дозволили віднести порушення церебрального кровообігу до імунозалежних захворювань нервової системи, тому акцент у пошуках нових підходів до підвищення ефективності терапії інсультів упродовж останніх років змістився з корекції локальних змін у самому мозку на реакцію органів імунної системи, як можливої мішені фармакологічних впливів, що дадуть можливість зменшити вторинну загибель нейронів унаслідок запалення.

Мета роботи – дослідити вікові особливості змін у структурі лімфоїдної популяції тимуса після гострого порушення церебрального кровотоку в басейні сонних артерій у шести- та дев'ятимісячних щурів.

Матеріал і методи. Гостре порушення мозкового кровообігу моделювали у білих нелінійних лабораторних щурів віком 6-ти та 9-ти місяців двобічним кліпсуванням сонних артерій упродовж 20 хв із подальшою реперфузією. Тимус забирали на 12-ту добу постішемічного періоду, фіксували його в розчині Буена, після стандартної гістологічної обробки виготовляли серійні зрізи товщиною 5,0 мкм, зафарбовували гематоксилін і еозином. У субкапсулярній, глибокій кортикальній зонах, внутрішньочасточкових периваскулярних просторах та медулярній зоні тимуса вивчали структуру лімфоїдної популяції (щільність розташування різних класів тимоцитів на 1,0 мм²) у системі цифрового аналізу зображення VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина) люмінесцентним мікроскопом AXIOSKOP (Zeiss, Німеччина) в автоматичному режимі.

Результати. У структурі лімфоїдної популяції всіх структурно-функціональних зон тимуса переважають малі лімфоцити. Вікові відмінності структури лімфоїдної популяції тимуса щурів груп контролю полягають у нижчих показниках щільності середніх та малих тимоцитів у всіх досліджених зонах залози тварин старшої вікової групи, за винятком субкапсулярної, в якій щільність малих тимоцитів вища у дев'ятимісячних щурів. На 12-ту добу після моделювання ішемічно-реперфузійного ушкодження головного мозку у субкапсулярній та глибокій кірковій зонах тимуса шестимісячних щурів зростає кількість деструктивних тимоцитів та тимоцитів з ознаками апоптозу, натомість у дев'ятимісячних щурів у всіх зонах залози, крім мозкової, щільність деструктивних та апоптичних клітин знижується.

Висновки. Ішемічно-реперфузійне ушкодження головного мозку модифікує структуру лімфоїдної популяції тимуса щурів, причому характер цих модифікацій визначається віком та структурно-функціональними зонами залози.

Ключові слова: тимус, структура лімфоїдної популяції, ішемія-реперфузія головного мозку.

На сьогодні до найбільш поширених причин інвалідизації та летальності на планеті відносять гострі порушення мозкового кровообігу [1-3], у спектрі яких домінують ішемічні ураження, що становлять близько 85 % усіх випадків інсультів [1-3]. Статистика інсультів в Україні також невтішна: щороку у нашій країні реєструється до 140 тисяч нових випадків [4, 5].

Незважаючи на зусилля світової науки в боротьбі з цереброваскулярною патологією, кількість гострих порушень мозкового кровообігу продовжує невпинно зростати. Однією з причин такого зростання є збільшення тривалості життя у розвинених країнах світу, що призводить до підвищення частки населення похилого та старечого віку, а саме вік є визначальним фактором

ризиком гострих порушень церебрального кровотоку [5-7].

Досягнення нейроімунології та нейроімунопатології дозволили віднести порушення церебрального кровообігу та інсульти до імунозалежних захворювань нервової системи [8, 9]. Нейроімунопатологічний підхід до природи ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку вимагає оцінки не лише неврологічного дефіциту, але й імунного статусу, оскільки руйнуючи двобічні нейроімунні зв'язки, інсульт призводить до змін в обох системах [9, 10]. Внаслідок цього виникає системна імуносупресія [9, 10], роль якої сьогодні вважається неоднозначною, оскільки вона запускає як пошкоджувальні, так і адаптивні механізми [13]. Саме тому пошуки нових підходів до підвищення ефективності терапії інсультів протягом останніх років змістилися з корекції локальних змін у самому мозку та зосередилися на органах імунної системи, як можливої мішені фармакологічних впливів, що дадуть можливість зменшити вторинну загибель нейронів унаслідок запалення.

Зміни у загрудничній залозі експериментальних тварин після ішемічного інсульту у вигляді атрофії тимуса, зменшення у залозі кількості CD8+T-клітин і макрофагів на тлі їх збільшення в головному мозку засвідчили про значний внесок залози у перебіг інсульту [10, 13]. Крім того, є дослідження, що демонструють роль тимуса в збалансуванні популяції запальних клітин [14], а тимічний стромальний лімфопоетин (TSLP), цитокін, отриманий з епітеліальних клітин тимуса, індукуює відповідь Th2 після оклюзії середньомозкової артерії у щурів [15]. Усі ці факти свідчать про незаперечну роль тимуса у перебігу імунної відповіді на ішемічні інсульти.

Відомо, що вікова інволюція тимуса є однією з причин імунологічного старіння [6, 7, 16]. Нами продемонстровані вікові особливості реакції тимуса на гостре порушення церебрального кровотоку у басейні сонних артерій вже в одно- та тримісячних щурів [17]. Тому, на нашу думку, доцільно продовжити подібні дослідження на більш пізніх етапах онтогенезу з урахуванням збільшення ризику такої патології з віком, оскільки подібних досліджень у літературі ми не зустріли.

Мета дослідження: дослідити вікові особливості змін у структурі клітин лімфоїдної популяції тимуса після гострого порушення церебрального кровотоку в басейні сонних артерій у шести- та дев'ятимісячних щурів.

Матеріал і методи. Дослідження виконане на самцях білих нелінійних лабораторних щурів віком 6-ти та 9-ти місяців. Гостре порушення

мозкового кровотоку моделювали двобічним кліпсуванням сонних артерій протягом 20 хв під каліпсоловим наркозом (70 мг/кг маси тіла). Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації на 12-ту добу після моделювання ішемії-реперфузії мозку. На холоді вилучали тимус, упродовж 18 год фіксували його в розчині Буена, після стандартної гістологічної обробки заливали парафіном, виготовляли серійні зрізи товщиною 5,0 мкм. Для подальших досліджень зрізи депарафінували, здійснювали їх регідратацію в нисхідних концентраціях етанолу та зафарбовували гематоксилін-еозином. У субкапсулярній, глибокій кортикальній зоні, внутрішньочасточкових периваскулярних просторах та медулярній зоні тимуса вивчали структуру лімфоїдної популяції (щільність розташування різних класів тимоцитів на 1,0 мм²). Математичний аналіз різних класів лімфоїдних клітин тимуса здійснювали в автоматичному режимі за допомогою флуоресцентного мікроскопа AXIOSKOP. Зображення вводили в комп'ютерну систему цифрового аналізу VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина).

Результати опрацьовано з використанням пакету прикладних і статистичних програм VIDAS 2.5 (Kontron Elektronik, Німеччина) та EXCELL із пакета MS Office 2000 (Microsoft Corp., США) з використанням t-критерію Ст'юдента. Дані представлені у вигляді середніх арифметичних та стандартного відхилення. Відмінності в групах порівняння вважали достовірними при $P_{st} < 0,05$.

Усі експериментальні дослідження та евтаназію тварин здійснювали, дотримуючись основних положень GLP (1981 р.) Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях, від 18.03.1986 р.; Директиви ЄС № 609 від 24.11.1986 р. і Наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Результати дослідження та їх обговорення.

Аналіз отриманих результатів демонструє, що в субкапсулярній зоні тимуса шестимісячних щурів групи контролю щільність розташування клітин лімфоїдної популяції зростає у процесі їх дозрівання і кількість найбільш зрілих малих лімфоцитів переважає над кількістю лімфобластів, великих і середніх клітин у 6,7, 1,5, 1,2 раза відповідно (табл. 1). У тварин старшої вікової групи це переважання становило 9,9, 1,9 та 1,7 раза відповідно. Такі вікові відмінності можна пояснити достовірним перевищенням щільності розташування малих тимоцитів у дев'ятимісячних щурів. Крім того, вікові відмінності стосувалися більшої щільності середніх лімфоцитів та клітин з ознаками апоптозу у щурів старшого віку. Останнє знаходиться у відповідності з відомим фактом вікової інволюції тимуса [7, 16].

Таблиця 1

**Вікові особливості структури лімфоїдної популяції в субкапсулярній зоні тимуса щурів
у контролі та після ішемії мозку
(на 1,0 мм² залози) (M±m)**

Класи клітин лімфоїдної популяції	Незмінені клітини	Клітини з ранніми ознаками деструкції
Контроль (6 місяців)		
Лімфобласти	887±51	410±35,7
Великі лімфоцити	3907±98	1401±56,0
Середні лімфоцити	4854±78	729±55
Малі лімфоцити	5956±121	904±58
Клітини з ознаками апоптозу	298±31	
Ішемія (6 місяців)		
Лімфобласти	5222±48*	378,6±44,2
Великі лімфоцити	3030±94*	1128±68,5
Середні лімфоцити	3516±96*	1096±57*
Малі лімфоцити	11189±162*	1204±63*
Клітини з ознаками апоптозу	890±45*	
Контроль (9 місяців)		
Лімфобласти	807±63	497±52,0
Великі лімфоцити	4152±108	1316±69
Середні лімфоцити	4756±117	894±49 [#]
Малі лімфоцити	7992±126 [#]	1264±89
Клітини з ознаками апоптозу	401±41 [#]	
Ішемія (9 місяців)		
Лімфобласти	940±64 [#]	574±42,0
Великі лімфоцити	3202±119**	908±67,3*
Середні лімфоцити	4104±123**	653±48**
Малі лімфоцити	9659±196**	718±58**
Клітини з ознаками апоптозу	198±30* [#]	

Примітка: у всіх таблицях статті * – вірогідність змін щодо показників у тварин груп контролю; # вікові відмінності у відповідних групах спостереження

Ішемічно-реперфузійне ушкодження головного мозку у шестимісячних тварин призвело до достовірного зниження щільності розташування всіх незмінених тимоцитів, за винятком субпопуляції малих, кількість яких на одиницю площі залози зросла на 88 %. Унаслідок цих змін співвідношення між субпопуляціями тимоцитів ще більше змістилося в бік малих і їх переважання стосовно лімфобластів, великих і середніх клітин становило 21,4, 3,7, 3,2 рази. Крім того, зросла також щільність середніх і малих тимоцитів з ранніми ознаками деструкції та клітин з ознаками апоптозу, що вкладається в концепцію акцидентальної інволюції тимуса у відповідь на дію стресорів [10].

У дев'ятимісячних щурів після ішемії-реперфузії головного мозку щільність великих і середніх лімфоцитів достовірно знизилася, а незмінених малих – зросла, внаслідок чого їх переважання щодо лімфобластів, великих і середніх лімфоцитів становило 10,27, 3,0, 2,35 рази. Отже, якщо у тварин груп контролю домінування малих тимоцитів над менш зрілими формами переважало

у тварин старшої вікової групи, то внаслідок ішемії цей акцент змістився в бік шестимісячних щурів, що засвідчує більш активне реагування лімфоїдної популяції тимуса на ішемічно-реперфузійне ушкодження мозку у молодших щурів.

Привертають увагу нижчі постішемічні показники щільності великих, середніх і малих тимоцитів з ознаками деструкції та клітин з ознаками апоптозу у щурів старшої вікової групи як щодо відповідних показників у тварин групи контролю цього ж віку, так і щодо постішемічних показників у шестимісячних щурів. Це дозволяє припустити, що постішемічна загибель клітин у дев'ятимісячних щурів відбувається не за рахунок апоптозу, а іншими шляхами клітинної загибелі, зокрема, некрозу, що потребує подальших досліджень.

У структурі лімфоїдної популяції глибокої кіркової зони тимуса контрольних щурів обох вікових груп також переважають малі тимоцити: щодо лімфобластів, великих і середніх лімфоцитів у 14,45, 2,85, 2,06 рази у шести- та у 13,25, 2,64,

1,94 раза у дев'ятимісячних щурів (табл. 2). Вікові відмінності структури лімфоїдної популяції в глибокій кірковій зоні вилочкової залози контрольних

тварин встановлено для середніх та малих незмінених лімфоцитів, які переважали в шестимісячних щурів.

Таблиця 2

Вікові особливості структури клітин лімфоїдної популяції в глибокій кірковій зоні загруднинної залози щурів у контролі та після ішемії мозку (на 1,0 мм 2 залози) (M±m)

Класи клітин лімфоїдної популяції	Незмінені клітини	Клітини з ранніми ознаками деструкції
Контроль (6 місяців)		
Лімфобласти	752±54	384±37
Великі лімфоцити	3814±117	1169±72
Середні лімфоцити	5270±121	802±61
Малі лімфоцити	10870±153	1108±52
Клітини з ознаками апоптозу	259±33	
Ішемія (6 місяців)		
Лімфобласти	749±57	408±43
Великі лімфоцити	3697±131	1138±59
Середні лімфоцити	3729±132*	1102±68*
Малі лімфоцити	13412±232*	1505±80*
Клітини з ознаками апоптозу	729±56*	
Контроль (9 місяців)		
Лімфобласти	728±53	467±46
Великі лімфоцити	3649±128	1332±86
Середні лімфоцити	4982±113 [#]	798±66
Малі лімфоцити	9649±156 [#]	1195±76
Клітини з ознаками апоптозу	402±40 [#]	
Ішемія (9 місяців)		
Лімфобласти	554±49**	322±39*
Великі лімфоцити	3004±109*	1169±72,1
Середні лімфоцити	3978±138*	784±67
Малі лімфоцити	10304±173**	797±55**
Клітини з ознаками апоптозу	278±21 [#]	

У цій зоні шестимісячних щурів після ішемії-реперфузії головного мозку виявлено достовірно меншу щільність середніх незмінених лімфоцитів та вищу – малих незмінених, середніх і малих лімфоцитів з ознаками деструкції і клітин з ознаками апоптозу.

У дев'ятимісячних щурів після ішемії мозку порівняно з контролем встановлено нижчу щільність усіх незмінених субпопуляцій лімфоїдних клітин за винятком малих, лімфобластів та малих лімфоцитів з ознаками деструкції, а також клітин з ознаками апоптозу. Водночас виявлено вищу щільність незмінених малих лімфоцитів. Такі різноспрямовані зміни нормальних тимоцитів спричинили зміни у співвідношенні їх субпопуляцій: малі лімфоцити переважали над щільністю лімфобластів, великих, середніх лімфоцитів у 18,60, 3,43, 2,60 раза відповідно, тобто, порушення церебрального кровообігу змістило субпопуляційну ієрархію на користь малих тимоцитів порівняно з тваринами групи контролю.

Знову ж таки, як і в попередній зоні, у тварин старшої вікової групи порівняно з шестимісячними у постішемичному періоді встановлена нижча кількість окремих деструктивних клітин та клітин з ознаками апоптозу, що наводить на думку про переважання загибелі тимоцитів (враховуючи зниження сумарної щільності всіх незмінених тимоцитів стосовно контролю) не шляхом апоптозу, а можливо, некрозу та/або аутофагії.

У структурі лімфоїдної популяції внутрішньочасточкових периваскулярних просторів тимуса тварин обох вікових також домінують малі клітини (табл. 3), про що засвідчує співвідношення лімфобластів, великих, середніх і малих тимоцитів (10,63, 2,55, 1,78 у шестимісячних щурів і 9,23, 2,52, 1,96 – у дев'ятимісячних). Вікові відмінності структури лімфоїдної популяції у цій зоні проявлялися нижчою щільністю незмінених середніх і малих тимоцитів та вищою щільністю цих же класів клітин з ознаками деструкції у тварин старшої вікової групи, що може бути проявом вікової інволюції тимуса.

Таблиця 3

Вікові особливості структури клітин лімфоїдної популяції у внутрішньочасточкових периваскулярних просторах загруднинної залози щурів у контролі та після ішемії мозку (на 1,0 мм² залози) (M±m)

Класи клітин лімфоїдної популяції	Незмінені клітини	Клітини з ранніми ознаками деструкції
Контроль (6 місяців)		
Лімфобласти	908±58	459±42
Великі лімфоцити	3784±139	798±64
Середні лімфоцити	5418±138	583±56
Малі лімфоцити	9658±198	721±52
Клітини з ознаками апоптозу	365±35	
Ішемія (6 місяців)		
Лімфобласти	898±55	389±31
Великі лімфоцити	3321±119*	1087±62*
Середні лімфоцити	5542±198	641±48
Малі лімфоцити	11754±202*	916±49*
Клітини з ознаками апоптозу	389±35	
Контроль (9 місяців)		
Лімфобласти	968±59	398±36
Великі лімфоцити	3542±119	816±56
Середні лімфоцити	4556±127 [#]	769±48 [#]
Малі лімфоцити	8941±169 [#]	878±41 [#]
Клітини з ознаками апоптозу	473±31 [#]	
Ішемія (9 місяців)		
Лімфобласти	872±56	345±36
Великі лімфоцити	3409±151	731±69
Середні лімфоцити	5229±126*	431±37*
Малі лімфоцити	9848±190*	568±55*
Клітини з ознаками апоптозу	179±28*	

У щурів молодшої вікової групи після ішемії-реперфузії головного мозку виявлено достовірно нижчу щільність незмінених великих лімфоцитів та вищу – малих (табл. 4). Крім того, вищою була щільність великих і малих лімфоцитів з ознаками деструкції. Характерною відмінністю від реакції на ішемію зон, описаних вище, була відсутність достовірних змін щільності клітин з ознаками апоптозу.

Після ішемії переважання малих тимоцитів стосовно лімфобластів, великих і середніх клітин у цій зоні шестимісячних щурів становило 13,08, 3,54, 2,12, що засвідчує зростання частки найбільш зрілих клітин порівняно з контролем.

У внутрішньочасточкових периваскулярних просторах дев'ятимісячних щурів після порушення мозкового кровообігу порівняння з показниками у тварин групи контролю продемонструвало вищу щільність середніх і малих незмінених лімфоцитів і нижчу – середніх і малих лімфоцитів з ознаками деструкції та клітин з ознаками апоптозу. Щільність малих тимоцитів була вищою, ніж щільність лімфобластів, великих і середніх клітин в 11,29, 2,88, 1,88 раза.

У мозковій зоні тимуса шестимісячних щурів щільність малих тимоцитів перевищувала щільність лімфобластів, великих і середніх лімфоцитів у 8,10, 1,84, 1,33 раза, а у дев'ятимісячних – у 7,22, 1,50 і 1,39 раза, тобто, суттєвих вікових особливостей за цією ознакою не виявлено. Стосовно вікових відмінностей окремих субпопуляцій, можна зазначити нижчу щільність середніх і малих тимоцитів у дев'ятимісячних щурів.

Наслідками порушення церебрального кровотоку у щурів молодшої вікової групи стали достовірно вища щільність незмінених і деструктивних середніх лімфоцитів та нижча – незмінених і деструктивних малих. Така реакція відрізняє цю зону від описаних вище, в яких постішемичні зміни щільності малих тимоцитів полягали у найвищих показниках щільності саме найбільш зрілих малих клітин лімфоїдної популяції. Це призвело і до відмінностей у співвідношенні різних форм: постішемична щільність малих незмінених тимоцитів переважала над щільністю лімфобластів та великих клітин у 6,42 та 1,50 раза, однак поступалася щільності середніх в 1,19 раза.

Вікові особливості структури клітин лімфоїдної популяції у мозковій зоні загруднинної залози шурів у контролі та після ішемії мозку (на 1,0 мм² залози) (M±m)

Класи клітин лімфоїдної популяції	Незмінені клітини	Клітини з ранніми ознаками деструкції
Контроль (6 місяців)		
Лімфобласти	896±55	439±39
Великі лімфоцити	3946±128	884±53
Середні лімфоцити	5463±132	439±23
Малі лімфоцити	7259±167	639±46
Клітини з ознаками апоптозу	202±24	
Ішемія (6 місяців)		
Лімфобласти	936±52	402±35
Великі лімфоцити	4001±1116	916±52
Середні лімфоцити	7146±131*	637±52*
Малі лімфоцити	6016±160*	267±41,2*
Клітини з ознаками апоптозу	164±26	
Контроль (9 місяці)		
Лімфобласти	861±49	386±36
Великі лімфоцити	4152±124	928±52
Середні лімфоцити	4478±131 [#]	419±33
Малі лімфоцити	6218±172 [#]	582±39
Клітини з ознаками апоптозу	186±16	
Ішемія (9 місяців)		
Лімфобласти	1013±49,4	416±39
Великі лімфоцити	4113±135	896±54
Середні лімфоцити	7408±186 ^{**}	512±39
Малі лімфоцити	4923±143 ^{**}	362±29*
Клітини з ознаками апоптозу	163±18	

У мозковій зоні тимуся тварин дев'ятимісячного віку після ішемії мозку також встановлено вищу щільність незмінених середніх лімфоцитів і нижчу – незмінених і деструктивних малих. Відповідним було і співвідношення різних субпопуляцій: переважання малих над лімфобластами і великими лімфоцитами в 4,86 і 1,20 раза та середніх над малими – в 1,50 раза.

Привертає увагу той факт, що в мозковій зоні тимуся відсутні вікові та асоційовані з ішемією мозку відмінності щільності апоптичних клітин. Ймовірно, це пов'язано з функціональним призначенням цієї зони: звідси лімфоцити постійно надходять до периферійних органів лімфопоезу, де проходить їх подальша проліферація та диференціація, тобто, перебування їх у цій зоні нетривале. Їх вихід із залози пришвиджується під впливом тригерних чинників імунних реакцій [10, 14], яким у нашому випадку є ішемія-реперфузія головного мозку.

Отже, гостре порушення мозкового кровообігу у шурів призводить до перерозподілу у структурі лімфоїдної популяції тимуся, характер якого залежить від віку та структурно-функціональної зони залози.

Висновки. 1. У структурі лімфоїдної популяції всіх структурно-функціональних зон тимуся переважають малі лімфоцити. 2. Вікові відмінності структури лімфоїдної популяції тимуся шурів груп контролю полягають у нижчих показниках щільності середніх та малих тимоцитів у всіх досліджених зонах залози тварин старшої вікової групи, за винятком субкапсулярної, в якій щільність малих тимоцитів вища у дев'ятимісячних шурів. 3. На 12-ту добу після моделювання ішемічно-реперфузійного ушкодження головного мозку у субкапсулярній та глибокій кірковій зонах тимуся шестимісячних шурів зростає кількість деструктивних тимоцитів та тимоцитів з ознаками апоптозу, натомість у дев'ятимісячних шурів у всіх зонах залози, крім мозкової, щільність деструктивних та апоптичних клітин знижується. 4. Ішемічно-реперфузійне ушкодження головного мозку модифікує структуру лімфоїдної популяції тимуся шурів, причому характер цих модифікацій визначається віком та структурно-функціональними зонами залози.

Перспективи подальших досліджень. У подальшому вважаємо доцільним здійснити аналіз морфометричних параметрів клітин лімфоїдної популяції тимуся у шурів різних вікових груп.

Список використаної літератури

1. Hu J, Nan D, Lu Y, Niu Z, Ren Y, Qu X, et al. Microcirculation No-Reflow Phenomenon after Acute Ischemic Stroke. *Eur Neurol.* 2023;86(2):85-94. doi: 10.1159/000528250.
2. Fan JL, Brassard P, Rickards CA, Nogueira RC, Nasr N, McBryde FD, et al. Integrative cerebral blood flow regulation in ischemic stroke. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2022;42(3):387-403. doi: 10.1177/0271678x211032029.
3. Zigmond MJ, Wiley CA, MF. Chesselet, editors. *Neurobiology of Brain Disorders. Biological Basis of Neurological and Psychiatric Disorders.* 2 ed. Elsevier; 2022. Chapter 24, Introduction: acute insults to the central nervous system; p. 425.
4. Сайко ОВ. Аналіз смертності від мозкових інсультів в ангіоневрологічному відділенні Військово-медичного клінічного центру Західного регіону з 2013 по 2017 рік. *Медицина невідкладних станів.* 2018;8:73-6. doi: 10.22141/2224-0586.8.95.2018.155159.
5. Теренда НО, Фарійон НЯ, Теренда ОА. Медико-соціальне значення мозкових інсультів та фактори ризику їх розвитку. *Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України.* 2021;1:70-7. doi: 10.11603/1681-2786.2021.1.12150.
6. Ahnstedt H, McCullough LD. The impact of sex and age on T cell immunity and ischemic stroke outcomes. *Cell Immunol [Internet].* 2019[cited 2023 Dec 30];345:103960. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6832888/pdf/nihms-1539590.pdf> doi: 10.1016/j.cellimm.2019.103960.
7. Ahnstedt H, Patrizz A, Chauhan A, Roy-O'Reilly M, Furr JW, Spsychala MS, et al. Sex differences in T cell immune responses, gut permeability and outcome after ischemic stroke in aged mice. *Brain Behav Immun.* 2020;87:556-67. doi: 10.1016/j.bbi.2020.02.001.
8. Boltze J, Perez-Pinzon MA. Focused Update on Stroke Neuroimmunology: Current Progress in Preclinical and Clinical Research and Recent Mechanistic Insight. *Stroke.* 2022;53(5):1432-7. doi: 10.1161/strokeaha.122.039005.
9. Choi YH, Laaker C, Hsu M, Cismaru P, Sandor M, Fabry Z. Molecular Mechanisms of Neuroimmune Crosstalk in the Pathogenesis of Stroke. *Int J Mol Sci [Internet].* 2021[cited 2024 Jan 18];22(17):9486. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8431165/pdf/ijms-22-09486.pdf> doi: 10.3390/ijms22179486.
10. Tan C, Wang Z, Zheng M, Zhao S, Shichinohe H, Houkin K. Responses of immune organs after cerebral ischemic stroke. *J Nippon Med Sch.* 2021;88(3):228-37. doi: 10.1272/jnms.jnms.2021_88-308.
11. Jiang Q, Stone CR, Elkin K, Geng X, Ding Y. Immunosuppression and Neuroinflammation in Stroke Pathobiology. *Exp Neurol.* 2021;30(2):101-12. doi: 10.5607/en20033.
12. Anthony M. Neuroinflammatory pathways in stroke: Implications for neuroimmunology and recovery. *J Clin Immunol.* 2023;6(3):154. doi: 10.35841/aacir-6.3.154.
13. Rayasam A, Hsu M, Hernandez G, Kijak J, Lindstedt A, Gerhart C, et al. Contrasting roles of immune cells in tissue injury and repair in stroke: the dark and bright side of immunity in the brain. *Neurochem Int.* 2017;107:104-16. doi: 10.1016/j.neuint.2017.02.009.
14. Atif F, Yousuf S, Espinosa-Garcia C, Harris WAC, Stein DG. Post-ischemic stroke systemic inflammation: immunomodulation by progesterone and vitamin D hormone. *Neuropharmacology [Internet].* 2020[cited 2024 Jan 18];181:108327. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0028390820303956> doi: 10.1016/j.neuropharm.2020.108327.
15. Yu X, Zeng K, Liu X, Peng Y, Li C, Fu K, Liang H. Increased expression of thymic stromal lymphopoietin receptor in a rat model of middle cerebral artery occlusion. *Neuroreport.* 2019;30(3):182-7. doi: 10.1097/wnr.0000000000001181.
16. Liang Z, Dong X, Zhang Z, Zhang Q, Zhao Y. Age-related thymic involution: Mechanisms and functional impact. *Aging Cell [Internet].* 2022[cited 2023 Dec 28];21(8): e13671. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9381902/pdf/ACEL-21-e13671.pdf> doi: 10.1111/accel.13671.
17. Tkachuk SS, Tkachuk OV, Denysenko OI, Yasinska OV, Garvasiuk OV. Age features of the thymocyte RNA response in the thymus structural and functional areas to blood circulation disorders in the pool of carotic arteries in rats. *Journal of Education, Health and Sport.* 2023;47(1):125-32. doi: 10.12775/JEHS.2023.47.01.012.

References

1. Hu J, Nan D, Lu Y, Niu Z, Ren Y, Qu X, et al. Microcirculation No-Reflow Phenomenon after Acute Ischemic Stroke. *Eur Neurol.* 2023;86(2):85-94. doi: 10.1159/000528250.
2. Fan JL, Brassard P, Rickards CA, Nogueira RC, Nasr N, McBryde FD, et al. Integrative cerebral blood flow regulation in ischemic stroke. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2022;42(3):387-403. doi: 10.1177/0271678x211032029.
3. Zigmond MJ, Wiley CA, MF. Chesselet, editors. *Neurobiology of Brain Disorders. Biological Basis of Neurological and Psychiatric Disorders.* 2 ed. Elsevier; 2022. Chapter 24, Introduction: acute insults to the central nervous system; p. 425.
4. Saiko OV. Analiz smertnosti vid mozkovykh insul'tiv v anhionevrolohichnomu viddilenni Viis'kovo-medychnoho klinichnoho tsentru Zakhidnoho rehionu z 2013 po 2017 rik [Analysis of mortality rate after cerebral strokes at the angioneurology department of the Military Medical Clinical Center of the Western Region from 2013 to 2017]. *Emergency Medicine (Ukraine).* 2018;8:73-6. doi: 10.22141/2224-0586.8.95.2018.155159. [in Ukrainian].
5. Terenda NO, Fariyon NYa, Terenda OA. Medyko-sotsial'ne znachennia mozkovykh insul'tiv ta faktory ryzyku yikh rozvytku [Medical and social significance of stroke and risk factors of their development]. *Bulletin of Social Hygiene and Organization of Public Health of Ukraine.* 2021;1:70-7. doi: 10.11603/1681-2786.2021.1.12150. [in Ukrainian].
6. Ahnstedt H, McCullough LD. The impact of sex and age on T cell immunity and ischemic stroke outcomes. *Cell Immunol [Internet].* 2019[cited 2023 Dec 30];345:103960. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6832888/pdf/nihms-1539590.pdf> doi: 10.1016/j.cellimm.2019.103960.
7. Ahnstedt H, Patrizz A, Chauhan A, Roy-O'Reilly M, Furr JW, Spsychala MS, et al. Sex differences in T cell immune responses, gut permeability and outcome after ischemic stroke in aged mice. *Brain Behav Immun.* 2020;87:556-67. doi: 10.1016/j.bbi.2020.02.001.
8. Boltze J, Perez-Pinzon MA. Focused Update on Stroke Neuroimmunology: Current Progress in Preclinical and Clinical Research and Recent Mechanistic Insight. *Stroke.* 2022;53(5):1432-7. doi: 10.1161/strokeaha.122.039005.
9. Choi YH, Laaker C, Hsu M, Cismaru P, Sandor M, Fabry Z. Molecular Mechanisms of Neuroimmune Cross-talk in the Pathogenesis of Stroke. *Int J Mol Sci [Internet].* 2021[cited 2024 Jan 18];22(17):9486. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8431165/pdf/ijms-22-09486.pdf> doi: 10.3390/ijms22179486.
10. Tan C, Wang Z, Zheng M, Zhao S, Shichinohe H, Houkin K. Responses of immune organs after cerebral ischemic stroke. *J Nippon Med Sch.* 2021;88(3):228-37. doi: 10.1272/jnms.jnms.2021_88-308.
11. Jiang Q, Stone CR, Elkin K, Geng X, Ding Y. Immunosuppression and Neuroinflammation in Stroke Pathobiology. *Exp Neurol.* 2021;30(2):101-12. doi: 10.5607/en20033.
12. Anthony M. Neuroinflammatory pathways in stroke: Implications for neuroimmunology and recovery. *J Clin Immunol.* 2023;6(3):154. doi: 10.35841/aacir-6.3.154.
13. Rayasam A, Hsu M, Hernandez G, Kijak J, Lindstedt A, Gerhart C, et al. Contrasting roles of immune cells in tissue injury and repair in stroke: the dark and bright side of immunity in the brain. *Neurochem Int.* 2017;107:104-16. doi: 10.1016/j.neuint.2017.02.009.
14. Atif F, Yousuf S, Espinosa-Garcia C, Harris WAC, Stein DG. Post-ischemic stroke systemic inflammation: immunomodulation by progesterone and vitamin D hormone. *Neuropharmacology [Internet].* 2020[cited 2024 Jan 18];181:108327. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0028390820303956> doi: 10.1016/j.neuropharm.2020.108327.
15. Yu X, Zeng K, Liu X, Peng Y, Li C, Fu K, Liang H. Increased expression of thymic stromal lymphopoietin receptor in a rat model of middle cerebral artery occlusion. *Neuroreport.* 2019;30(3):182-7. doi: 10.1097/wnr.0000000000001181.
16. Liang Z, Dong X, Zhang Z, Zhang Q, Zhao Y. Age-related thymic involution: Mechanisms and functional impact. *Aging Cell [Internet].* 2022[cited 2023 Dec 28];21(8): e13671. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9381902/pdf/ACEL-21-e13671.pdf> doi: 10.1111/accel.13671.
17. Tkachuk SS, Tkachuk OV, Denysenko OI, Yasinska OV, Garvasiuk OV. Age features of the thymocyte RNA response in the thymus structural and functional areas to blood circulation disorders in the pool of carotid arteries in rats. *Journal of Education, Health and Sport.* 2023;47(1):125-32. doi: 10.12775/JEHS.2023.47.01.012.

AGE CHARACTERISTICS OF CHANGES IN THE LYMPHOID POPULATION STRUCTURE OF THE RATS' THYMUS AFTER ACUTE DISTURBANCE OF CEREBRAL BLOOD FLOW IN THE BASIN OF CAROTID ARTERIES

Abstract. Today, the most common causes of disability and mortality on the planet include acute disorders of cerebral blood circulation, the spectrum of which is dominated by ischemic lesions. Advances in neuroimmunology and neuroimmunopathology have made it possible to attribute cerebral blood circulation disorders to immune-dependent diseases of the nervous system, therefore, the emphasis in the search of new approaches to the effectiveness increase of stroke therapy has shifted from the correction of local changes in the brain itself to the reaction of the immune system organs, as a possible target of pharmacological effects, that will make it possible to reduce the secondary death of neurons as a result of inflammation.

The purpose of the work. to investigate the age-specific changes in the structure of the lymphoid population of the thymus after acute disruption of cerebral blood flow in the basin of the carotid arteries in six- and nine-month-old rats.

Material and methods. Acute cerebrovascular accident was simulated in 6- and 9-month-old white non-linear laboratory rats by bilateral carotid artery clamping for 20 min. followed by reperfusion. The thymus was taken on the 12th day of the postischemic period, it was fixed in Buen's solution, after standard histological processing, serial sections with a thickness of 5 μm were made, stained with hematoxylin-eosin. In the subcapsular, deep cortical zones, intralobular perivascular spaces and the medullary zone of the thymus, the structure of the lymphoid population (density of different classes of thymocytes per 1 mm^2) was studied in the digital image analysis system VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Germany) with a fluorescent microscope AXIOSKOP (Zeiss, Germany) in automatic mode.

The results. In the structure of the lymphoid population of all structural and functional zones of the thymus, small lymphocytes predominate. Age-related differences in the structure of the lymphoid population of the thymus of the control groups consist of lower indicators of the density of medium and small thymocytes in all investigated zones of the gland of animals of the older age group, with the exception of the subcapsular, in which the density of small thymocytes is higher in nine-month-old rats. On the 12th day after simulation of ischemia-reperfusion of the brain injury the number of destructive thymocytes and thymocytes with the signs of apoptosis increases in the subcapsular and deep cortical zones of the thymus of six-month-old rats, but in nine-month-old rats in all zones of the gland, except the brain, the density of destructive and apoptotic cells decreases.

Conclusions. Ischemic-reperfusion injury of the brain modifies the structure of the lymphoid population of the thymus of rats, and the nature of these modifications is determined by age and structural and functional zones of the gland.

Key words: thymus, lymphoid population structure, brain ischemia-reperfusion.

Відомості про авторів:

Ткачук Світлана Сергіївна – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри фізіології імені Я. Д. Кіршенבלата закладу вищої освіти Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці;

Ткачук Олексій Володимирович – доктор медичних наук, доцент кафедри анестезіології та реаніматології закладу вищої освіти Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці;

Денисенко Ольга Іванівна – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри дерматовенерології закладу вищої освіти Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці.

Information about authors:

Tkachuk Svitlana S. – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Physiology named Ya. D. Kirshenblat of the higher education institution of the Bukovinian State Medical University, Chernivtsi;

Tkachuk Olexsij V. – Doctor of Medical Sciences, Assistant Professor of the Department of Anesthesiology and Reanimatology of the higher education institution of the Bukovinian State Medical University, Chernivtsi;

Denysenko Olga I. – Doctor of Medicine Sciences, Professor, Head of the Department of Dermatovenereology of the higher education institution of the Bukovinian State Medical University, Chernivtsi.

Надійшла 15.11.2023 р.

Рецензент – проф. Ю. С. Роговий (Чернівці)