



1483480597238750

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**  
**ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ**  
**УНІВЕРСИТЕТ**  
**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**  
**ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ**  
**УНІВЕРСИТЕТ**

Кваліфікаційна  
праця на правах рукопису

**РОМАНОВА КАТЕРИНА БОРИСІВНА**

УДК : 616.831.4-018.83-092-02:574.2-021.342]-092.9:599.323.45

**ДИСЕРТАЦІЯ**  
**ПАТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ МОРФОДЕНСИТОМЕТРИЧНИХ**  
**ПАРАМЕТРІВ ВЕЛИКОКЛІТИННИХ НЕЙРОНІВ ГІПОТАЛАМУСУ**  
**ТА ГОРМОНАЛЬНО-МЕТАБОЛІЧНИХ ЗМІН ПРИ СТРЕС-**  
**ОБМЕЖЕННІ РІЗНОЇ ТРИВАЛОСТІ У ЩУРІВ**

222 «Медицина»

22 «Охорона здоров'я»

Подається на здобуття ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

\_\_\_\_\_ К.Б. Романова

Науковий керівник – **Ганчева Ольга Вікторівна**, доктор медичних наук,  
професор

Запоріжжя – 2024



1483480597238750

## АНОТАЦІЯ

*Романова К.Б.* Патогенетичні особливості морфоденситометричних параметрів великоклітинних нейронів гіпоталамусу та гормонально-метаболических змін при стрес-обмеженні різної тривалості у щурів. – Кваліфікаційна праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина» (22 – Охорона здоров'я). – Запорізький державний медико-фармацевтичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2024.

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2024.

Дисертаційна робота присвячена встановленню патогенетичних особливостей морфофункціонального стану великоклітинних нейронів паравентрикулярного ядра (ПВЯ) гіпоталамусу мозку та визначенню специфіки гормонально-метаболических змін у щурів при стрес-обмеженні різної тривалості (6-, 15- та 21 тиждень).

У роботі було проведено комплекс досліджень, який включав моделювання багатofакторного хронічного стресу низької інтенсивності, що складався з обмеження життєвого простору тваринам, їх малорухливістю та додатковими соціальними негараздами для гальмування процесів адаптації через постійні щотижневі зміни партнерів. Використовувалися інструментальні (в лабораторії експериментальної патофізіології), імуноферментні (в лабораторії імуноферментних досліджень), біохімічні (в лабораторії фармакології та функціональної біохімії), морфоденситометричні методи (в лабораторії морфометричних, гістохімічних і денситометричних вимірів) та статистичний аналіз отриманих результатів.

Для проведення експериментального дослідження були використанні 75 нормотензивних щурів-самців лінії Wistar, віком 6-12 місяців, що були



розподілені випадковим шляхом на 6 експериментальних груп. Перші три групи (контроль-1 (вік 7,5 місяців), контроль-2 (вік 10 місяців) та контроль-3 (вік 11,5 місяців) по 10 тварин) не показали суттєвих коливань та відмінностей у досліджуваних параметрах, що було обумовлено стабільністю утримання тварин, відсутністю стресорних впливів та збалансованістю харчового раціону. Це дало можливість об'єднати результати всіх трьох вікових контролів та сформувавши одну групу «Контроль» із 10 тварин, які стали єдиним контролем для трьох груп щурів із змодельованим стресом-обмеження (по 15 тварин): 6 тижнів обмеження – вік 7,5 місяців, 15-тижнів стресу – вік 10 місяців; 21 тиждень стресу – вік 11,5 місяців.

Для досягнення поставленої мети у щурів на 6-, 15- та 21 тижні стресу через обмеження життєвого простору була проаналізована динаміка змін маси тіла та рівня артеріального тиску; досліджений глікемічний профіль (концентрація глюкози натще, внутрішньочеревинний тест толерантності до глюкози; розраховано індекс НОМА-IR); оцінені особливості гормонального балансу (рівнів кортикостерону, інсуліну та АКТГ, визначено інсулін/кортикостеронове співвідношення); досліджена специфіка метаболічних змін (за показниками вуглеводного та жирового обміну); визначені морфоденситометричні показники великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу (за значеннями площ цитоплазми, ядра та ядерців, вмісту нуклеїнових кислот у цитоплазмі, ядрі та ядерцях); встановлена залежність змін морфоденситометричних параметрів великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу від тривалості обмеження життєвого простору та доведений їх взаємозв'язок із гормонально-метаболічними перебудовами, формуванням артеріальної гіпертензії та інсулінорезистентності.

За результатами проведеного комплексного дослідження було встановлено, що 6-тижневе обмеження життєвого простору тварин призводить до зменшення їх маси та стабільного підвищення систолічного тиску порівняно до контролю на 7 % без зміни значень діастолічного тиску. Зміни гормонального профілю свідчили про реалізацію «класичних» механізмів



адаптаційного синдрому, було відмічене збільшення концентрації адренкортикотропного гормону більш ніж на 50 %, зниження рівня інсуліну на третину та сталість, порівняно до контролю, концентрації ключового гормону адаптації кортикостерону. Показники вуглеводного та жирового обмінів показали достовірно нижчу концентрацію глюкози натще майже на третину без змін концентрацій тригліцеридів та холестеролу на тлі вищого на 22,8 % рівня загальних ліпідів. При проведенні внутрішньочеревинного тесту толерантності до глюкози був виявлений «нормоглікемічний» тип глікемічної кривої, яка проте мала низку відмінностей від контрольної: глікемічний максимум досягав «пікових значень» тільки на 30 хв, а не на 15 хв; через низьку вихідну концентрацію глюкози рівень глікемії на 15 та 30 хв був нижчим від контрольних; еуглікемічний рівень досягався не до 30 хв, як у контролі, а лише до 90 хв тесту, рівень глюкози на 90 хв не досягав вихідних значень, та був на 75 % вищим.

Розрахунковий індекс інсулінорезистентності НОМА-IR показав достовірне дворазове зниження порівняно до контролю.

Експериментальне дослідження показало, що на 15 тижні стрес-обмеження відбулося відновлення маси тіла тварин до вихідних значень на тлі подальшого збільшення систолічного тиску на 17 %, порівняно до контролю, та суттєвого підвищення діастолічного – на 21,4 %. Відбулося подальше зниження рівня інсуліну удвічі, відмічені на 45 % вищі значення адренкортикотропного гормону та «пікове» зростання в 3,75 рази концентрації кортикостерону. Також спостерігалось збільшення на 28 % рівня глюкози натще. У досліджуваному періоді відбулося збільшення на 43 % рівня тригліцеридів при стабільних концентраціях холестеролу та загальних ліпідів. Результатом проведеного тесту толерантності до глюкози було встановлення «гіпоінсулінемічного» типу глікемічної кривої та виявлення особливостей засвоєння післяпрандіальної глюкози: більш високий вихідний рівень глюкози (вище значень контролю на 28 %); формування глікемічного максимуму на 15 хв тесту із найвищими значеннями  $15,14 \pm 0,29$  мМ/л у порівнянні з



контролем, групами 6- та 21-тижневого обмеження; повільність динаміки зниження концентрації глюкози в після абсорбційному періоді з 30 до 90 хв без повернення на 90 хв ( $7,13 \pm 0,43$  мМ/л) до початкових значень ( $5,91 \pm 0,14$  мМ/л), що на 20,8 % було вищим. Відмічене вихід рівня глюкози в гіперглікемічний діапазон на 90 хв тесту. Індекс НОМА-ІР залишався нижчим на 37 % за значень контрольної групи.

Подальше проведення стрес-обмеження призвело до збільшення маси щурів на 21 тижні, що перевищила контрольні значення на 26,1 %, стійкого підвищення показників артеріального тиску (систоличного – на 26 %, діастолічного – на 37 %), що перевищило цільові рекомендовані параметри 130/80 мм рт.ст., і становило в середньому майже 145/95 мм рт.ст., що за рекомендаціям Європейського товариства гіпертензії та Європейського товариства кардіології розглядається як артеріальна гіпертензія І ступеня. Гормональний профіль, порівняно до контролю, показав достовірне збільшення концентрації інсуліну в 1,5 рази, адренкортикотропного гормону – більш ніж у два рази та на 19,4 % вищі значення кортикостерону. Концентрація глюкози натще знаходилась у межах еуглікемічного діапазону, але була вище значень контролю на 17 %. Концентрація тригліцеридів та загальних ліпідів була вдвічі збільшеною, а холестеролу – в 1,62 рази. При проведенні тесту толерантності до глюкози встановлене формування «діабетичного» типу глікемічної кривої із порушенням ранньої та пізньої фаз секреції інсуліну з розвитком інсулінорезистентності. Про це свідчили високі рівні глікемії протягом 15-30-45 хв після абсорбційного періоду ( $13,78 \pm 0,41$  мМ/л,  $12,22 \pm 0,4$  мМ/л,  $11,08 \pm 0,65$  мМ/л) із низькими коливаннями значень та збереження гіперглікемії о завершенні тесту на 90 хв ( $9,26 \pm 0,57$  мМ/л). Вартий уваги факт нормативних еуглікемічних значень рівня глюкози на початку тесту  $5,4 \pm 0,22$  мМ/л та його перевищення більше 70 % в пізньому після абсорбційному періоді. Розрахунковий індекс інсулінорезистентності НОМА-ІР показав суттєве зростання в 1,76 рази порівняно до значень контролю.



Гістохімічне дослідження морфоденситометричних показників великоклітинних нейронів паравентрикулярного ядра гіпоталамусу мозку показало, що площа їх цитоплазми зменшувалася прямо пропорційне тривалості стрес-обмеженню та ставала достовірно меншою при порівнянні з контрольною (на 6 тижні – на 18 %, на 15 тижні – на 23 %, на 21 тижні - на 40 %). Середня площа ядер нейронів показала закономірність, подібну до площі цитоплазми, – зменшення на 9 % при 6-и тижнях і на 25 % на 21-у тижні стресу проти контролю. Сумарна площа ядерець представила зворотну залежність. На тлі прямо пропорційного строкам стресу зменшенню площі цитоплазми та ядер нейронів площа ядерець демонструвала осцилятивні коливання із збільшенням більш ніж на третину при 6-и та 15-и тижнях стресу та зменшенням на 15 % на 21 тижні.

У дослідженні денситометричних показників вмісту нуклеїнових кислот у цитоплазмі, ядрі та ядерцях великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу було встановлено, що через 6 тижнів стрес-обмеження в цитоплазмі нейронів їх міститься менше за контроль на 39 % та на 34 % і 42 % через 15 і 21 тиждень, відповідно. У їх ядрах вміст нуклеїнових кислот з 6 до 15 тижня обмеження життєвого простору зменшувався приблизно однаково, а саме на 37 % і 35 %, відповідно; довготривале обмеження протягом 21 тижня сприяло ще більш значному зменшенню на 41 %. Уміст нуклеїнових кислот в ядерцях нейронів при змодельованому стресі змінювався подібно до значень у цитоплазмі та ядрах нейронів у порівнянні з контролем, у групі 6 тижнів ставав меншим на 40 %, на 39 % і 43 % після 15 і 21 тижня, відповідно.

Кореляційний аналіз взаємозв'язків морфоденситометричних показників нейронів ПВЯ гіпоталамусу (площі цитоплазми, ядра, ядерець та вмісту в них нуклеїнових кислот) із досліджуваними параметрами (концентрацій глюкози, тригліцеридів, холестеролу, рівнів гормонів, артеріального тиску, розрахункових індексів) показав переважно слабкі позитивні, рідше негативні, зв'язки у контрольних щурів. Тривалий комбінований стрес трансформував картину кореляційних взаємин, які



частіше змінювали свій вектор на негативний, сила ставала більш значущою, а у випадках, де в контролі був зв'язок позитивним, він ставав негативним.

**Наукова новизна отриманих результатів.** На експериментальній моделі соціального стресу різної тривалості надана комплексна характеристика морфофункціональних особливостей великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу. Вперше виявлена важлива закономірність системного зменшення вмісту нуклеїнових кислот у цитоплазмі, ядрах та ядерцях великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу із невеликими, в середньому на 5 %, коливаннями в динаміці стрес-обмеження, що є вагомими свідченням повільного гальмуючого впливу тривалого стресу низької інтенсивності на їх синтетичну активність через обмеження життєвого простору, малорухливість та складні комунікаційні відносини у тварин. Виявлене прямо пропорційне строку стрес-обмеження зменшення площі цитоплазми та ядер великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу зі зворотною залежністю змін сумарної площі їх ядерць, що демонструвала осцилятивні коливання із збільшенням більше ніж на третину через 6 і 15 тижнів стресу та зниженням на 15 % через 21 тиждень.

Доповнено уявлення про вплив тривалого комбінованого стрес-обмеження низької інтенсивності на формування гормональних змін, які на початку проявляються гіпоінсулінемією, збільшенням рівня адренкортикотропного гормону та сталістю концентрації кортикостерону. Пролонгація стресорних впливів призводить до дезадаптивних перебудов, сприяє підвищенню адренкортикотропного гормону, збільшенню рівнів кортикостерону та інсуліну.

Розширено уявлення про вплив обмеження життєвого простору, малорухливості та складних комунікаційних відносин у щурів на поступове формування комплексу порушень, що змінює характер глікемічної реакції на глюкозне навантаження, порушує прандіальну секрецію інсуліну, підвищує



гіперглікемізуючу дію контрінсулярного гормону кортикостерону та реалізує дисфункціональні прояви прандіальної/після прандіальної глікемії.

Показано, що при проведенні тесту толерантності до глюкози динаміка змін глікемічної реакції на глюкозне навантаження прогресує з часом, оскільки 6 тижнів обмежень формують гіпоглікемічно-гіпоінсулінемічний тип глікемічної кривої із високою чутливістю тканин до глюкози, через 15 тижнів формується гіпоінсулінемічна крива із збереженою чутливістю тканин до глюкози, 21 тиждень обмежень утворює діабетичний тип глікемічної кривої із порушенням чутливості тканин до глюкози, розвитком інсулінорезистентності та артеріальної гіпертензії.

**Практичне значення отриманих результатів.** Робота є фундаментальним дослідженням. Її результати розширюють наукові уявлення про патогенетичні особливості морфофункціонального стану великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу при експериментальному комбінованому соціальному стресі через обмеження життєвого простору різної тривалості. Отримані результати характеризують морфоденситометричні зміни нейронів та показують їх взаємозв'язок із гормонально-метаболічними трансформаціями.

Нові теоретичні положення дисертації використовуються в навчальному процесі на кафедрі патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології Дніпропетровського державного медичного університету МОЗ України, кафедрі загальної та клінічної патофізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету МОЗ України, кафедрі патофізіології Полтавського державного медичного університету МОЗ України, патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету МОЗ України, в навчально-науковій роботі навчально-наукового медико-лабораторного центру з віварієм Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.





1483480597238750

*Публікації результатів дослідження.* За темою дисертаційного дослідження опубліковано 13 наукових праць, з них 3 статті у фахових виданнях України категорії А та журналах, що включені до міжнародних наукометричних баз Web of Science та Scopus, 2 статті в зарубіжному журналі; 8 тез доповідей у матеріалах міжнародних і Всеукраїнських науково-практичних конференцій, 3 роботи – без співавторів.

*Ключові слова:* стрес-обмеження, гіпоталамус, нейрони, головний мозок, морфофункціональний стан, інсулін, кортикостерон, АКТГ, вуглеводний та жировий обмін, артеріальна гіпертензія, інсулінорезистентність, щури.



## ABSTRACT

*Romanova K.B.* Pathogenetic features of morphodensitometric parameters of hypothalamic large-cell neurons and hormonal-metabolic changes during restraint stress of different duration in rats. – Qualifying scientific work as a manuscript.

The thesis for the degree of Philosophy Doctor in specialty 222 «Medicine» (22 Health Care). – Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2024.

Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2024.

The thesis focuses on specifying the pathogenetic features of the morphofunctional state of large-cell neurons of the hypothalamic paraventricular nucleus (PVN) and identifying the specifics of hormonal and metabolic changes in rats exposed to restraint stress of different durations (6-, 15-, and 21 weeks).

This study employed a range of complex examinations, which included simulation of low intensity multifactorial chronic stress consisted of limiting the living space of animals, their immobility and additional social difficulties to inhibit adaptation processes due to constant weekly changes of partners. Instrumental (at the Laboratory of Experimental Pathophysiology), immunoenzymatic (at the Laboratory of Immunoenzymatic Research), biochemical (at the Laboratory of Pharmacology and Functional Biochemistry), morphodensitometric methods (at the Laboratory of Morphometric, Histochemical and Densitometric Measurements) and statistical analysis of the obtained results were applied. In total, 75 normotensive male Wistar rats aged 6-12 months were used for the experimental study, which were randomly assigned to 6 experimental groups. The first three groups (control-1 (7.5 months of age), control-2 (10 months of age) and control-3 (11.5 months of age) of 10 animals each) did not show significant fluctuations or differences in the studied parameters, which was due to the stability of animal housing, the absence of stressors and a balanced diet. This provided the opportunity to combine the results of all three



age-matched controls and grouped them into one "Control" group of 10 animals, which was the common control for three groups of rats with simulated restraint stress (15 animals each): 6-week restraint stress - 7.5 months of age, 15-week restraint stress - 10 months of age; 21-week restraint stress - 11.5 months of age.

To achieve this goal, the dynamics of changes in body weight and blood pressure were analyzed in rats at 6, 15, and 21 weeks of stress due to living space restriction; glycemic profile (fasting glucose concentration, intra-abdominal glucose tolerance test; NOMA-IR index) was examined; characteristics of hormonal balance (corticosterone, insulin and ACTH levels, insulin/corticosterone ratio) were assessed; specifics of metabolic changes (based on indicators of carbohydrate and fat metabolism) were studied; morphodensitometric parameters of the hypothalamic PVN large-cell neurons (according to the values of cytoplasmic, nuclear and nucleolar areas, cytoplasmic, nuclear and nucleolar content of nucleic acids) were quantified; the association between changes in the morphodensitometric parameters of the hypothalamic PVN large-cell neurons and the duration of living space restriction was found, and their interrelation with hormonal and metabolic changes as well as with arterial hypertension and insulin resistance development was proved.

Based on the comprehensive study results, it has been revealed that a 6-week living space restriction caused a decrease in animal weight and a stable 7% increase in systolic pressure compared to the control without any changes in diastolic pressure values. Hormonal profile alterations were indicative of the "classical" mechanisms of adaptation syndrome implementation, an increase in ACTH concentrations by more than 50%, a reduction in insulin by a third, and stable concentrations of the key adaptation hormone corticosterone, as compared to the control, were noted. Parameters of carbohydrate and fat metabolism showed a significantly lower concentration of fasting glucose by almost a third without changes in the concentrations of triglycerides and cholesterol along with a 22.8% higher level of total lipids. A "normoglycemic" type of glycemic curve was detected via an intra-abdominal glucose tolerance test, which, however, showed a number of differences from the control curve: the glycemic maximum reached "peak values" only at 30



1483480597238750

min, but not at 15 min; the level of glycemia at 15 and 30 min was lower than the control one; the euglycemic level was not reached by 30 min, as in the control, but only by 90 min of the test, the glucose level did not returned to baseline values by 90 min being 75% higher. The calculated insulin resistance index HOMA-IR was significantly two-fold decreased.

The experimental study has demonstrated restoring the baseline animal body weight with a further 17% increase in systolic pressure by the 15th week of the restraint stress and a significant 21.4% increase in diastolic pressure compared to the control. There was a further reduction in insulin levels by half, 45% higher ACTH values and a 3.75-fold "peak" increase in corticosterone concentrations. A 28% increase in fasting glucose was also observed. A 43% increase in the triglyceride levels with stable concentrations of cholesterol and total lipids were documented over the studied period. The results of glucose tolerance test have indicated a "hypoinsulinemic" type of glycemic curve and identified the features of postprandial glucose uptake: a higher baseline glucose level (28% higher than control values); a glycemic peaking after 15 min of the test with the highest values of  $15.14 \pm 0.29$  mM/l in comparison with the control and groups of 6 - and 21-week restriction; a slowdown in the dynamics of glucose concentration reduction in the post-absorption phase between 30 and 90 min without returning to the baseline values ( $5.91 \pm 0.14$  mM/l) by 90 min ( $7.13 \pm 0.43$  mM/l), which was 20.8% higher. The glucose level has been estimated withing the hyperglycemic range after 90 min of the test. The HOMA-IR index remained 37% lower than the control group values.

Continuation of the restraint stress resulted in a 26.1% increased body weight of rats after 21 weeks compared to the control values, persistently increased blood pressure parameters (systolic - by 26%, diastolic - by 37%), which exceeded the recommended targets of 130/80 mm Hg, being on average almost 145/95 mm Hg, that according to the European Society of Hypertension and the European Society of Cardiology recommendations is considered as I degree arterial hypertension. The hormonal profile, compared to the control, showed a significant increase in insulin concentration by 1.5 times, ACTH - by more than 2 times, and corticosterone values



by 19.4%. Fasting glucose concentration was within the euglycemic range but was 17% higher than the control values. Concentrations of triglycerides and total lipids were doubled, and cholesterol levels were 1.62 times increased. The glucose tolerance test revealed a "diabetic" type of the glycemic curve with a violation of early and late phases of insulin secretion and the development of insulin resistance. This was evidenced by high levels of glycemia during 15-30-45 min after the absorption period ( $13.78 \pm 0.41$  mM/l,  $12.22 \pm 0.4$  mM/l,  $11.08 \pm 0.65$  mM/l) with minimal variations in values and persisting hyperglycemia at the end of the test after 90 min ( $9.26 \pm 0.57$  mM/l). It is noteworthy that the normative euglycemic value of the glucose level at the beginning of the test was  $5.4 \pm 0.22$  mM/l but it was exceeded by more than 70% in the late post-absorption period. The calculated insulin resistance index HOMA-IR showed a 1.76 times significant increase compared to the control values.

The histochemical study on the morphodensitometric parameters of the hypothalamic PVN large-cell neurons has shown that their cytoplasm area was decreased in direct proportion to the restraint stress duration being significantly smaller when compared with the control (at 6 weeks - by 18%, at 15 weeks - by 23%, at 21 weeks - by 40%). The mean nuclear area of the neurons showed a pattern similar to that in the cytoplasmic area - a 9% decrease after 6 weeks and 25% after 21 weeks of the stress by contrast to the control. The total nucleolar area presented an inverse relationship since it demonstrated oscillatory variations with an increase of more than a third at the 6th and 15th weeks of the stress and a 15% decrease at the 21st week along with a decrease in the cytoplasmic and nuclear areas of the neurons, that was directly proportional to the stress duration.

The study on the densitometric parameters has revealed that the nucleic acid content in the cytoplasm of the hypothalamic PVN large-cell neurons was 39%, 34% and 42% reduced after 6, 15 and 21 weeks of the restraint stress, respectively, as compared to the control. The nuclear content of nucleic acids was roughly equally decreased between the 6th and the 15th weeks of living space restriction, namely by 37% and 35%, respectively; long-term restriction for 21 weeks produced an even



more significant reduction of 41%. The nucleolar content of nucleic acids under simulated stress varied similarly to the neuronal cytoplasmic and nuclear values as compared to the control, being 40%, 39% and 43% lower in 6-, 15- and 21-week groups, respectively.

The correlation analysis of the associations between the morphodensitometric parameters of hypothalamic PVN neurons (cytoplasmic, nuclear, nucleolar areas and nucleic acid contents in them) and the studied parameters (concentrations of glucose, triglycerides, cholesterol, hormone levels, blood pressure, calculated indices) has shown mainly weak positive, less frequently negative, relations in the control rats. Long-term combined stress transformed the pattern of correlations, predominantly changing their vectors to negative ones, the strength became more significant, and in cases where correlations were positive in the control, they converted to negative ones.

**Scientific novelty of the results obtained.** The experimental model of social stress of different duration has provided a comprehensive description of the morphofunctional characteristics of the hypothalamic large-cell neurons. For the first time, an important regularity of a systemic decrease in the content of nucleic acids in the cytoplasm, nuclei, and nucleoli of the hypothalamic PVN large-cell neurons has been revealed with slight variations on average of 5% in the dynamics of the restraint stress, that offered substantial evidence to suggest the slow inhibitory effect of long-term and low-intensity stress on their synthetic activity due to living space restriction, immobility and difficult communication relations in animals. The directly proportional reduction in cytoplasmic and nuclear areas of the hypothalamic PVN large-cell neurons to the stress duration alongside the inverse correlation of changes with the total area of their nucleoli, that was seen in oscillatory variations with the increase of more than a third after 6 and 15 weeks of the stress and the 15% decrease after 21 weeks has been proved for the first time.

Ideas about the impact of long-term combined low intensity restraint stress on the induction of hormonal changes have been complemented by evidence of initially



manifesting hypoinsulinemia, increased ACTH levels and stable corticosterone concentrations. Prolonged stress stimulation has resulted in maladaptive alterations, promoted the increase in ACTH, corticosterone and insulin levels.

Knowledge about the influence of living space restriction, immobility, and difficult communication relations in rats on the gradual development of complex disorders, modifying the nature of glycemic responses to glucose load, impairing prandial insulin secretion, increasing hyperglycemic effect of the counterinsular hormone corticosterone, and realizing the dysfunctional manifestations of prandial/postprandial glycemia has been broadened.

The findings of glucose tolerance test have shown the progressive dynamics of changes in the glycemic response to a glucose load over time, since the glycemic curve of hypoinsulinemic-hypoglycemic type with high tissue glucose sensitivity were detected after 6 weeks of restrictions, hypoinsulinemic curve and preserved tissue glucose sensitivity were observed after 15 weeks, the diabetic glycemic curve with impaired tissue glucose sensitivity, the development of insulin resistance and arterial hypertension were seen after 21 weeks of restrictions.

**Practical significance of the results obtained.** The thesis is a fundamental research. Its results broaden scientific perspectives on the pathogenetic features of the morphofunctional state of the hypothalamic PVN large-cell neurons exposed to experimental combined social stress due to the living space restriction of different duration. The obtained results characterize the morphodensitometric changes of neurons and show their relationship with hormonal and metabolic transformations.

The new theoretical statements of the thesis are translated into educational process at the Department of Pathological Anatomy, Forensic Medicine and Pathological Physiology, Dnipro State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; Department of General and Clinical Pathophysiology named after V.V. Podvysotsky, Odesa National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; Department of Pathophysiology, Poltava State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; Pathological Physiology with the course of Normal



1483480597238750

Physiology, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of Ukraine; educational and scientific work of the Educational and Scientific Medical Laboratory Centre with a Vivarium, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University.

*Publications of the research results.* In total, 13 scientific papers have been published on the thesis topic, including 3 articles in professional publications of category A of Ukraine and journals indexed in international scientometric databases Web of Science and Scopus; 2 articles - in a foreign journal; 8 abstracts of reports in the materials of International and All-Ukrainian Scientific and Practical Conferences, 3 papers - without co-authors.

*Key words:* restraint stress, hypothalamus, neurons, brain, morphofunctional state, insulin, corticosterone, ACTH, carbohydrate and fat metabolism, arterial hypertension, insulin resistance, rats.





## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ НА ТЕМУ ДИСЕРТАЦІЇ

**Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:**

1. Hancheva, O., & Romanova, K. (2021). Vision of the role of long-term social stress in the formation of " diseases of civilization". Mechanisms of adaptation to stressor situations and factors of its failure. *Journal of Education, Health and Sport*, 11(10), 325-331. <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2021.11.10.031>.

(Дисертантка виконала набір та аналіз літератури).

2. Romanova, K. B., & Hancheva O. V. (2022). Modern ideas about the role of the hypothalamus in the implementation of adaptation programs under stressor loads (references). *Journal of Education, Health and Sport*, 12(2), 302-312. <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2022.12.02.032>].

(Дисертантка виконала набір та аналіз літератури).

3. Романова, К.Б., Ганчева, О.В., & Колесник, Ю.М. (2023). Патогенетичні особливості гормонального профілю у щурів, що зазнали restraint-стресу різної тривалості. *Сучасні медичні технології*, 2(57), 12-15. DOI: 10.34287/ММТ.2(57).2023.2.

(Дисертантка виконала набір матеріалу, імуноферментне дослідження та статистичну обробку результатів)

4. Романова, К.Б., Ганчева, О.В., & Колесник, Ю.М. (2023). Тривалий restraint-стрес як предиктор формування інсулінорезистентності в експериментальних щурів. *Патологія*, 20, 2(58), 103-107. DOI: 10.14739/2310-1237.2023.2.285694.

(Дисертантка виконала набір матеріалу, виконала тест толерантності до глюкози у щурів, дослідила рівень гормонів та провела статистичну обробку результатів)

5. Романова, К. Б., Ганчева, О. В., & Колесник, Ю. М. (2023). Характер змін морфоденситометричних параметрів великоклітинних нейронів паравентрикулярного ядра гіпоталамуса при restraint-стресі різної тривалості.

*Запорізький медичний журнал*. 25, 6(141), 535-540. DOI: 10.14739/2310-1210.2023.6.291522 (Дисертантка виконала набір матеріалу, виконала



*морфо-денситометричні дослідження характеристик великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу та провела статистичну обробку результатів).*

6. Ганчева, О.В., & Романова, К.Б. (2019). Морфо-денситометричні характеристики крупноклітинних нейронів паравентрикулярного та супраоптичного ядер гіпоталамусу щурів-самців лінії Вістар в умовах соціального стресу. *Сучасні питання молекулярно-біохімічних досліджень та лабораторного скринінгу у клінічній та експериментальній медицині* : збірка тез Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (11-12 квітня 2019 р., Запоріжжя) (с. 14-15). Запоріжжя.

7. Романова, К.Б. (2019). Вплив довготривалого обмеження життєвого простору на морфо-денситометричні характеристики нейронів ПВЯ та СОЯ гіпоталамусу у щурів. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації* : тези доповідей І Науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (15 травня 2019 р., Харків) (с. 151-152). Х. : Вид-во НФаУ.

8. Ганчева, О.В., & Романова, К.Б. (2019). Вплив довготривалого restraint-стресу на формування артеріальної гіпертензії із метаболічними порушеннями. *Проблеми ендокринної патології (спеціальний випуск). 100-річний ювілей ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України»*: тези доповідей ІХ з'їзду ендокринологів України, (19-22 листопада 2019 р., Харків) (с. 251-252) (*Дисертантка виконала набір матеріалу, біохімічні дослідження та статистичну обробку результатів*).

9. Романова, К.Б. (2021). Характер ізоформного профілю синтази оксиду азоту в структурах гіпоталамусу в умовах соціального стресу в експерименті. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2021* : збірник тез доповідей науково-практичної конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів (15-16 квітня 2021 р., Запоріжжя) (с. 24-25). Запоріжжя: ЗДМУ.



10. Maiorov, A. F., Romanova, K.B., & Hancheva, O. V. (2022). Influence of chronic restraint stress on the morphological heterogeneity of hypothalamic neurons of Wistar rats. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації* : тези доповідей IV науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (19 травня 2022 р., Харків) (370 с). Х. : Вид-во НФаУ. (Дисертантка виконала набір матеріалу, морфо-денситометричне дослідження та статистичну обробку результатів).

11. Романова, К. Б., & Ганчева, О. В. (2023). Тривале обмеження життєвого простору формує у експериментальних щурів restraint-стрес та змінює функціональні показники. *Сучасні тенденції спрямовані на збереження здоров'я людини* : збірник наукових праць IV науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю, присвяченої пам'яті професора О.В. Пешкової (20-21 квітня, 2023 р. м. Харків.). Вип. 3. (с, 144-146). (Дисертантка виконала набір матеріалу, біохімічні дослідження та статистичну обробку результатів).

12. Романова, К. Б. (2023). Динаміка метаболічних змін при експериментальному стресі у щурів, що знаходилися в умовах обмеження життєвого простору. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2023* : збірник тез доповідей 83 Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю (25-56 травня 2023 р., Запоріжжя,) (с. 70-71). Запоріжжя: ЗДМФУ.

13. Романова, К. Б. (2023). Тривале обмеження життєвого простору – вагомий фактор порушення гормонального балансу. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція: *Матеріали VI науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю*. (16 листопада 2023 р., Харків) (с. 399-400). Х. : НФаУ.



## ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, символів, скорочень і термінів	23
Вступ	24
Розділ 1 Сучасні уявлення про роль тривалого соціального стресу у формуванні «хвороб цивілізації». Механізми адаптації до стресорних ситуацій та фактори її зриву. Роль гіпоталамусу в реалізації адаптаційних програм (огляд літератури)	32
1.1 Сучасні уявлення про механізми адаптації до стресорних ситуацій та стрес-лімітуючі системи організму	32
1.2 Пошкоджуюча стресорна ситуація та адаптація до неї	35
1.3 Аналіз наукових досліджень стосовно моделювання довготривалого соціального стресу та його впливів на організм	36
1.4 Результати клінічних спостережень про вплив різного роду стресорних навантажень на стан здоров'я людини	39
1.5 Ключові експериментальні дослідження стану нейронів гіпоталамусу при моделях соціального стресу	40
1.6 Роль великоклітинних нейронів гіпоталамусу в реалізації адаптаційних програм при територіальних обмеженнях в експерименті	42
Розділ 2 Матеріали та методи дослідження	46
2.1 Матеріал дослідження	46
2.1.1 Дизайн дослідження	47
2.2 Методи дослідження	49
2.2.1 Моделювання соціального стресу обмеженням життєвого простору (стрес-обмеження)	50
2.2.2 Методика зважування тварин	51
2.2.3 Методика вимірювання артеріального тиску	52
2.2.4 Методика вимірювання концентрації глюкози натще	53



2.2.5	Методика проведення внутрішньочеревинного тесту толерантності до глюкози	53
2.2.6	Методика розрахунку індексу НОМА та кортикостерон/інсулінового співвідношення	54
2.2.7	Методика визначення показників жирового обмінів	55
2.2.8	Методика оцінки рівнів досліджуваних гормонів	55
2.2.9	Методика морфоденситометричного дослідження великоклітинних нейронів паравентрикулярного ядра гіпоталамуса	55
2.3	Методи статистичного аналізу	59
Розділ 3 Патогенетичні особливості гормонально-метаболічних змін у щурів при стрес-обмеженні різної тривалості		60
3.1	Динаміка змін маси тварин та артеріального тиску у щурів із стрес-обмеженням різної тривалості	61
3.2	Характер змін гормонального профілю у щурів із стрес-обмеженням різної тривалості	62
3.3	Динаміка змін показників вуглеводного та жирового обмінів у щурів із стрес-обмеженням різної тривалості	66
3.4	Особливості змін глікемічного профілю при внутрішньочеревинному тесті толерантності до глюкози у щурів із стрес-обмеженням різної тривалості	69
3.5	Оцінка чутливості тканин до інсуліну за результатами розрахункового індексу НОМА-IR та стресової адаптації/деадаптації за кортикостерон/інсуліновим співвідношенням у щурів із стрес-обмеженням різної тривалості	73
Розділ 4 Морфоденситометричні параметри великоклітинних нейронів паравентрикулярного гіпоталамусу у щурів при стрес-обмеженні різної тривалості		80



1483480597238750

4.1 Морфометричні показники великоклітинних нейронів паравентрикулярного ядра гіпоталамусу у щурів при стрес-обмеженні різної тривалості	84
4.2 Денситометричні показники великоклітинних нейронів паравентрикулярного ядра гіпоталамусу у щурів при стрес-обмеженні різної тривалості	87
4.3 Характер кореляційних взаємин морфоденситометричних параметрів великоклітинних нейронів паравентрикулярного гіпоталамусу із гормонально-метаболічними змінами при стрес-обмеженні різної тривалості у щурів	90
Розділ 5 Аналіз та узагальнення результатів дослідження	102
Висновки	130
Список використаних джерел	134
Додаток А Акти впровадження	161
Додаток Б Наукові праці, опубліковані за темою дисертації	166
Додаток В Відомості про апробацію результатів дисертації	169



1483480597238750

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

- АВП – аргінін вазопресин
- АГ – артеріальна гіпертензія
- АКТГ - адренкортикотропний гормон
- АТ – артеріальний тиск
- ВНС – вегетативна нервова система
- ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я
- ГАМК – гама-аміномасляна кислота
- ГГНЗ – гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникові залози
- ГТТ – тест толерантності до глюкози
- ІР – інсулінорезистентність
- КРГ – кортикотропін рилізінг гормон
- КС – кортикостерон
- НАДФН – нікотинамід-аденін-ди-нуклеотид фосфат
- НК – нуклеїнові кислоти
- ОТ – окситоцин
- Рс – систолічний артеріальний тиск
- Рд – діастолічний артеріальний тиск
- МОЗ – Міністерство охорони здоров'я
- ПВЯ – паравентрикулярне ядро гіпоталамусу
- СОЯ – супраоптичне ядро гіпоталамусу
- УОог/мкм<sup>2</sup> – умовні одиниці оптичної густини у мкм<sup>2</sup>
- ЧСС – частота серцевих скорочень
- 
- NO – оксид азоту
- nNOS – нейрональна синтаза монооксиду азоту



## ВСТУП

### Обґрунтування вибору теми дослідження

Останнє десятиріччя характеризується неухильним зростанням доли порушення психічного та соматичного здоров'я у структурі хвороб людства. За даними ВООЗ головним чинником їх формування є різного роду надмірні стресорні навантаження та негативні соціальні фактори [1].

Сьогодні вже не викликає сумніву, що сучасна людина все менш стикається із природними біологічними стресорами, які потребують негайних дій, однак все частіше її переслідують щоденні навантаження цивілізаційних негативних факторів. Складністю адекватної відповіді на них є неможливість реагування звичними природними засобами, а саме – бійка або втікання від конфлікту. Проте, стрес сучасного життя, який є психосоціальним за суттю, реалізується через цілком певні біологічні механізми, що зачіпають незмінну біологічну сутність людини та його фізіологічне здоров'я [2-7].

Ще на початку ХХ сторіччя думки відомих науковців про те, що цивілізація робить людину невротиком, сьогодні стають ще більш актуальними, через виникнення нових високотехнологічних чинників. Висока урбанізація у великих містах та довготривалі скупчення людей із обмеженням життєвого простору стають невидимими повільними факторами розвитку хвороб. Є припущення, які вже частково підтверджені клінічними спостереженнями та експериментальним дослідженнями, що у формуванні «захворювань цивілізації» серед етіологічних чинників обов'язково необхідно враховувати соціальні фактори: умови праці та життя, соціальний статус, матеріальне забезпечення та інші [8-15].

Нажаль повномасштабна війна в Україні, що триває вже більше двох років, тільки загострила проблему психічного здоров'я населення [16-20]. Доведено, що на початку в результаті впливу цих негативних факторів формується загальний адаптаційний синдром або стійкість організму до стресу [21, 22 ]





Однак у міру виснаження адаптаційних можливостей відбувається зрив регуляторних систем організму (дезадаптація) і незворотні патологічні зміни. Безліч проведених останнім часом досліджень явно демонструють зв'язок між стресом і розвитком різних соматичних захворювань (виразки шлунково-кишкового тракту, гіпертонічної хвороби, серцево-судинних захворювань, пухлин, цукрового діабету і ін.) [23-30].

У той же час механізми, що пояснюють виникнення патологічних станів під дією стресогенних факторів різної природи, до кінця не вивчені. За класичним уявленням відповідь на стрес-реакцію відбувається за рахунок участі багатьох регуляторних систем – центральної нервової системи (ЦНС), вегетативної нервової системи (ВНС) та системи нейро-ендокринної регуляції. У рамках останнього механізму особлива роль належить гіпоталамо-гіпофізарно-котрикоїдній вісі, особливо, коли мова йде про довготривало діючі негативні сигнали соціального середовища [31-34].

На сьогодні проблематика дослідження механізмів впливу соціального стресу на здоров'я населення та його роль у формуванні ключових хвороб людства є актуальною та необхідною. Цій проблемі присвячено безліч робіт, як клінічних спостережень, так і експериментальних досліджень. Однак, не зважаючи на високу зацікавленість проблемою, в ній все ще існують «білі плями». Слід відмітити, що більшість досліджень носять фрагментарний характер, або зосереджені виключено на спостережні за хворими із сформованою патологією. Тобто частіше проводиться ретроспективний аналіз взаємозв'язку хвороби та можливих факторів, які на думку хворого або лікаря могли його викликати. Тому проведення експериментального дослідження із моделюванням патології, дослідження на кожному етапі від початку формування загального адаптаційного синдрому та до його зриву із розвитком хвороби, стає важливим та необхідним для розуміння цієї проблеми. Проведене дослідження надасть відповіді на цілу низку питань:

- 1) Як соціальний стрес, пов'язаний із довготривалим обмеженням життєвого простору, впливає на вищий інтегративний центр регуляції стрес-



реакцій та вегетативних функцій – гіпоталамус?

2) Чи існує зв'язок між тривалістю впливу негативного фактору та морфоструктурним станом великоклітинних нейронів паравентрикулярного ядра (ПВЯ) гіпоталамусу?

3) Чи дозволить проведене дослідження підтвердити гіпотезу, про етіологічну роль тривалого соціального стресу у формуванні «хвороб цивілізації» – артеріальної гіпертензії, цукрового діабету, ожиріння, атеросклерозу?

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертація є фрагментом науково-дослідних робіт кафедри патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету МОЗ України: «Роль пептидергічних структур гіпоталамусу та стовбуру мозку в патогенезі артеріальної гіпертензії», 2017–2019 рр. (№ державної реєстрації 0117U002579) та «Дисфункція нейро-гуморальної регуляції в патогенезі метаболічних розладів та когнітивних порушень при експериментальній патології», 2023-2028 рр. ((№ державної реєстрації 0123U103051).

**Мета і завдання дослідження.** Мета – встановити патогенетичні особливості морфофункціонального стану великоклітинних нейронів паравентрикулярного ядра гіпоталамусу мозку та визначити специфіку гормонально-метаболічних змін у щурів при стрес-обмеженні різної тривалості (6-, 15- та 21 тиждень).

Для досягнення поставленої мети були сформовані наступні завдання:

1. Проаналізувати динаміку змін маси тіла та рівня артеріального тиску у щурів при стрес-обмеженні різної тривалості (6-, 15- та 21 тиждень).

2. Дослідити глікемічний профіль (концентрація глюкози натще, внутрішньочеревинний тест толерантності до глюкози) у щурів при стрес-обмеженні різної тривалості (6-, 15- та 21 тиждень).

3. Оцінити особливості гормонального профілю (рівнів кортикостерону, інсуліну та АКТГ) при стрес-обмеженні різної тривалості (6-, 15- та 21 тиждень).



4. Дослідити специфіку метаболічних змін (за показниками вуглеводного та жирового обмінів) у щурів при стрес-обмеженні різної тривалості (6-, 15- та 21 тиждень).

5. Визначити зміни морфоденситометричних показників великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу (за значеннями площі цитоплазми, ядра та ядерець, вмісту нуклеїнових кислот у цитоплазмі, ядрі та ядерецях) у щурів при стрес-обмеженні різної тривалості (6-, 15- та 21 тиждень).

6. Встановити залежність змін морфоденситометричних параметрів великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу мозку від тривалості обмеження життєвого простору та довести їх взаємозв'язок із гормонально-метаболічними перебудовами, формуванням артеріальної гіпертензії та інсулінорезистентності.

*Об'єкт дослідження:* морфофункціональний стан великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу мозку та гормонально-метаболічні зміни при стрес-обмеженні різної тривалості (6-, 15- та 21 тиждень).

*Предмет дослідження:* морфоденситометричні параметри великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу мозку (за площею цитоплазми, ядер та ядерець нейронів, вмістом нуклеїнових кислот в цитоплазмі, ядрі та ядерецях нейронів), показники гормонального статусу (за концентрацією кортикостерону, інсуліну та АКТГ) та вуглеводного й жирового обмінів (за концентрацією інсуліну та глюкози натще, характером змін глікемічної кривої при проведенні внутрішньочеревинного тесту толерантності до глюкози, рівнями тригліцеридів, холестеролу, загальних ліпідів).

*Методи дослідження:* патофізіологічні, інструментальні, імуноферментні, біохімічні, морфоденситометричні дослідження великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу, статистичний аналіз результатів.



**Наукова новизна одержаних результатів.** На експериментальній моделі соціального стресу різної тривалості надана комплексна характеристика морфофункціональних особливостей великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу. Вперше виявлена важлива закономірність системного зменшення вмісту нуклеїнових кислот в цитоплазмі, ядрах та ядерцях великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу із невеликим, в середньому на 5 %, коливаннями в динаміці стрес-обмеження, що є вагомими свідченням повільного гальмуючого впливу тривалого стресу низької інтенсивності через обмеження життєвого простору, малорухливість та складні комунікаційні відносини у тварин на їх синтетичну активність. Доведене прямо пропорційне строку стрес-обмеження зменшення площі цитоплазм та ядер великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу зі зворотною залежністю змін сумарної площі їх ядерць, що демонструвала осцилятивні коливання із збільшенням більш ніж на третину при 6-и та 15-и тижнях стресу, та зниженням на 15 % на 21 тижні.

Доповнено уявлення про вплив тривалого комбінованого стрес-обмеження низької інтенсивності на формування гормональних зміни, які на початку проявляються гіпоінсулінемією, збільшенням рівня АКТГ та сталістю концентрації кортикостерону. Пролонгація стресорних впливів призводить до дезадаптивних перебудов, сприяє підвищенню АКТГ, збільшенню рівнів кортикостерону та інсуліну.

Розширено уявлення про вплив обмеження життєвого простору, малорухливість та складні комунікаційні відносини у щурів на поступове формування комплексу порушень, що змінює характер глікемічної реакції на глюкозне навантаження, порушує прандіальну секрецію інсуліну, підвищує гіперглікемізуючу дію контрінсулярного гормону кортикостерону та реалізує дисфункціональні прояви прандіальної/після прандіальної глікемії.

Показано, що при проведенні тесту толерантності до глюкози динаміка змін глікемічної реакції на глюкозне навантаження прогресує з часом, так 6 тижнів обмежень формують гіпоглікемічно-гіпоінсулінемічний тип



глікемічної кривої із високою чутливістю тканин до глюкози, 15 тижнів показує гіпоінсулінемічну криву із збереженою чутливістю тканин до глюкози, 21 тиждень обмежень формує діабетичний тип глікемічної кривої із порушенням чутливості тканин до глюкози, розвитком інсулінорезистентності та артеріальної гіпертензії.

**Практичне значення отриманих результатів.** Робота є фундаментальним дослідженням. Її результати розширюють наукові уявлення про патогенетичні особливості морфофункціонального стану великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу при експериментальному комбінованому соціальному стресі через обмеження життєвого простору різної тривалості. Отримані результати характеризують морфоденситометричні зміни нейронів та показують їх взаємозв'язок із гормонально-метаболічними трансформаціями.

Нові теоретичні положення дисертації використовуються в навчальному процесі на кафедрі патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології Дніпропетровського державного медичного університету МОЗ України, кафедрі загальної та клінічної патофізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету МОЗ України, кафедрі патофізіології Полтавського державного медичного університету МОЗ України, патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету МОЗ України, в навчально-наукову роботу навчально-наукового медико-лабораторного центру з віварієм Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.

**Особистий внесок дисертанта.** Дисертаційна робота є самостійно виконаним дослідженням автора, науковим керівником визначені тема і складена програма дослідження. Дисертант особисто виконала патентно-інформаційний пошук і аналіз літератури, а також патофізіологічні, інструментальні, гістохімічні, імуноферментні та морфоденситометричні



дослідження матеріалу всіх щурів; провела статистичний аналіз отриманих даних, систематизувала та інтерпретувала отримані результати; написала всі розділи дисертації; сформулювала висновки.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на всеукраїнських наукових форумах: Сучасні питання молекулярно-біохімічних досліджень та лабораторного скринінгу у клінічній та експериментальній медицині» – всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю (м. Запоріжжя, 11-12 квітня 2019 р.), Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації – I науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (м. Харків 15 травня 2019 р.), IX з'їзді ендокринологів України, що присвячений 100-річному ювілею ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України» (м. Харків, 19-22 листопада 2019 р.), Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2021 – науково-практичній конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів (м. Запоріжжя, 15-16 квітня 2021 р.), Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації – IV науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (м. Харків 19 травня 2022 р.), Сучасні тенденції спрямовані на збереження здоров'я людини – IV науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю, що присвячена пам'яті професора О.В. Пешкової (м. Харків, 20-21 квітня, 2023 р.), Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2023 : 83 всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю (м. Запоріжжя, 25-56 травня 2023 р.), Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція – VI науково-практичній internet-конференції з міжнародною участю (м. Харків, 16 листопада 2023 р.).



1483480597238750

**Публікації результатів дослідження.** За темою дисертаційного дослідження опубліковано 13 наукові праці, з них 3 статті у фахових виданнях України категорії А та журналах, що включені до міжнародної наукометричних баз Web of Science та Scopus, 2 статті у зарубіжному журналі; 8 тез доповідей в матеріалах міжнародних і Всеукраїнських науково-практичних конференцій, 3 роботи – без співавторів.

**Структура то обсяг дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 170 сторінках машинопису і складається з анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 2 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел, додатків. Робота ілюстрована 26 рисунками та 12 таблицями. Список літератури містить 203 джерела (24 кирилицею та 179 латиницею).



## РОЗДІЛ 1

# СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО РОЛЬ ТРИВАЛОГО СОЦІАЛЬНОГО СТРЕСУ У ФОРМУВАННІ «ХВОРОБ ЦИВІЛІЗАЦІЇ». МЕХАНІЗМИ АДАПТАЦІЇ ДО СТРЕСОРНИХ СИТУАЦІЙ ТА ФАКТОРИ ЇЇ ЗРИВУ. РОЛЬ ГІПОТАЛАМУСУ В РЕАЛІЗАЦІЇ АДАПТАЦІЙНИХ ПРОГРАМ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

### 1.1 Сучасні уявлення про механізми адаптації до стресорних ситуацій та стрес-лімітуючі системи організму

Ситуації, при яких середовище висуває організму нове завдання, формують загальну адаптаційну стрес-реакцію. Ця реакція не тільки передуює розвитку стійкої адаптації, але відіграє важливу роль у її формуванні. Її розвиток забезпечується, по-перше, шляхом мобілізації енергетичних і структурних ресурсів організму, по-друге, спрямованістю їх перерозподілу у бік переважного забезпечення саме систем, відповідальних за адаптацію до даного фактору. У цих системах формується системний структурний слід шляхом прямого впливу стресорних гормонів і медіаторів на метаболізм та функцію клітин системи [35-38].

У міру формування системного структурного сліду та стійкої адаптації зі зміною гомеостазу поступово зникають як сама стрес-реакція, що зіграла свою роль у становленні адаптації, так і поступово ліквідується дисбаланс гомеостазу. Це визначає співвідношення між стресом та адаптацією й дозволяє підкреслити, що стрес-реакція склалася в процесі еволюції як необхідна, неспецифічна ланка більш складного цілісного механізму адаптації. Однак, цим значенням стрес-реакції в житті організму не обмежується. У реальному житті існують так звані безвихідні ситуації, коли вимоги середовища не можуть бути реалізовані за допомогою специфічних поведінкових або інших реакцій, при цьому формування адекватної відповіді й системного





структурного сліду виявляється неможливим, тому адаптація не реалізується [31, 39, 40].

При дії надзвичайно сильного безумовного подразника – значного фізичного навантаження, холоду, голоду, болі, від яких не можна позбавитися, ці ситуації оцінюються як ситуації «змушеного терпіння». При дії стереотипних умовних подразників, які виступають як сигнали наближення пошкоджуючих факторів, а також при тривалому збереженні розриву між сильною потребою та відсутністю інформації про те, чи можна її задовольнити, ці ситуації оцінюються, як явища «пастки» та «тривоги». В усіх ситуаціях такого роду відсутність можливості реалізувати адаптацію призводить до того, що порушення гомеостазу, які складають стимул стресу, зберігаються тривалий час. Тривалим виявляється порушення адренергічної і гіпофізарно-адреналової систем, які і формують стрес-реакцію [31, 41-43].

У результаті незвичайно тривалої й інтенсивної дії високих концентрацій катехоламінів та глюкокортикоїдів виникають різні ушкодження, що становлять групу так званих стресорних захворювань, які займають одне з основних місць у сучасній медицині. На теперішній час доказана роль стресу, як головного або допоміжного етіологічного фактору виразки шлунку, гіпертонічної хвороби, атеросклерозу, порушень функції та структури серця, імунодефіцитних станах і навіть злоякісних пухлин [44-48]. Ці факти означають, що при певних обставинах стрес-синдром із загальної неспецифічної ланки адаптації організму до різних факторів середовища перетворюється у неспецифічну ланку патогенезу захворювань, що обмежують строк людського життя.

Положення про роль стресу в патології настільки популярне, що нерідко приховує його основне еволюційно детерміноване значення, як ланки адаптації, та перешкоджає зосередити увагу на найважливіші обставини, які полягають в тому, що більшість людей та тварин, які поставлені у так звані безвихідні ситуації, не гинуть, а набувають той або інший ступінь резистентності до цих стресорних ситуацій. Такі стресорні ситуації у формі



тривалих періодів холоду, стихійного лиха, міжвидових і внутрішньовидових конфліктів, обмеження життєвого простору, завжди широко представлені в природному середовищі проживання, у якому успішно адаптуються тварини [49, 50].

На жаль, у середовищі мешкання *Homo sapiens* якісно більш складні соціально детерміновані стресорні ситуації представлені не менш широко. Дійсно, тільки протягом останнього відрізка своєї історії людство пройшло через періоди рабства, кріпосного права, світових війн і при цьому не деградувало, продемонструвавши, таким чином, високу ефективність адаптації до так званих безвихідних стресових ситуацій. Це означає, що тимчасове перетворення стрес-реакції з ланки адаптації в ланку патогенезу – не кінець життєвого процесу, а його проміжний етап. Цим перетворенням справа не обмежується – більшість тварин і людей не вмирають від довготривалих та повторних стресорних ситуацій, однак в них формуються хронічні захворювання, які погіршують якість життя та скорочують його тривалість [31, 51, 52].

Адаптацію до стресорних ситуацій можна позначити як процес, що забезпечує збереження життя, активну діяльність організму й попереджує його захворювання у небезпечних ситуаціях, що потенційно пошкоджують, але які не можуть бути переборені за рахунок простих реакцій уникнення та рятування шляхом специфічного пристосування до якого-небудь фізичного, хімічного або біологічного стрес-фактору [53-55].

Зовні така адаптація виражається двома добре відтвореними явищами. По-перше, трансформацією поведінки, у результаті якої спеціалізована робота людей або складні поведінкові навички тварин дозволяють їм пристосуватися до складних умов. По-друге, тим, що емоційно-больові стресові ситуації, які раніше закономірно викликали ушкодження певних систем та органів, після розвитку адаптації втрачають здатність викликати такі ушкодження. Так дослідниками було доведено, що стандартні емоційно-больові та іммобілізаційні стресорні впливи у неадаптованих тварин призводять до



розвитку виразкових уражень слизової оболонки шлунку, ушкодженню міокарду й порушенню його скорочувальної функції, сприяють також різкому зниженню активності важливої ланки протипухлинного імунітету – нормальних кілерів. Ці стресорні впливи втрачають свої ушкоджуючі властивості після адаптації, обумовленої порівняно нечисленними короткими, свідомо непошкоджуючими стресовими впливами, які можна розглядати як тренувальні фактори [56, 57]. Оскільки успішна діяльність в екстремальних природних і соціальних умовах, а також профілактика в цих умовах основних неінфекційних хвороб належать до важливих завдань, висунутих сучасним етапом цивілізації, то вочевидь, що вивчення адаптації до стресорних ситуацій і керування цим процесом є однією з головних завдань сучасної патофізіології та експериментальної медицини.

## **1.2 Пошкоджуюча стресорна ситуація та адаптація до неї**

Різноманітні ситуації, що викликають важкий і тривалий стрес, небезпечний ушкодженням внутрішніх органів, в остаточному підсумку зводяться до конфлікту між наказовою потребою негайно здійснити оборонну, харчову, полову реакції й непереборною заборонаю на здійснення цих реакцій. У більш складній формі реалізується цей конфлікт, коли людина зазнає соціально детерміновані впливи, які загрожують її існуванню або гідності, а заборона на відповідну реакцію накладена іншими (теж соціально детермінованими) умовами, які вимагають витримки щоб уникнути ще більших небезпек [58, 59].

Ця витримка забезпечується шляхом критичного напруження механізмів гальмування кіркової мозкової діяльності, але при цьому загальмованим або видозміненим стає лише зовнішній поведінковий компонент реакції. Її внутрішній вегетативний компонент, тобто стрес-синдром, який реалізується через мобілізацію функцій кровообігу, дихання та ін., зберігається й навіть може виявитися більш інтенсивним та тривалим, чим при реалізації самої



поведінкової реакції. Ця ситуація характеризується, тим, що посилений стрес-синдром проявляється тривалим та значним підвищеннями концентрації катехоламінів і глюкокортикоїдів у крові [60-62].

### **1.3 Аналіз наукових досліджень стосовно моделювання довготривалого соціального стресу та його впливів на організм**

Не розглядаючи досить складне питання, якою мірою відтворені на тваринах стресорні ситуації, що викликають захворювання людини, слід вважати цілком виправданим реальне положення, яке склалося в науці та полягає в тому, що для наближеного моделювання таких ситуацій використовується головним чином згаданий основний конфлікт між «потребою» реалізувати оборонну реакцію та «забороною» на цю реакцію [63, 64].

У ході такого моделювання з'ясувалося, що ступінь стрес-реакції та виникаючих ушкоджень суттєво зростає, якщо на основний елементарний конфлікт нашаровуються додаткові впливи, що підсилюють активацію апарату емоцій. Такими додатковими впливами є введення сигналів, що заздалегідь повідомляють про неминучий болючий удар, нанесення ударів через випадкові не занадто короткі проміжки часу, які породжують очікування болю, сполучене із тривогою та страхом. Аналогічне значення має введення, крім основного конфлікту, додаткових, а саме нанесення болю у відповідь на вироблену харчову реакцію або нанесення болю у відповідь на реакцію, за допомогою якої раніше тварині вдавалося уникнути небезпеки [65].

Не менш цікавим є відтворення додаткового впливу через соціальні внутрішньо групові конфлікти у тварин – обмеження життєвого простору, постійне переведення в нові групи тварин. Саме за таких умов виразкові ураження шлунку виникають із такою більшою сталістю, що були внесені до списку обов'язкових ознак першої аварійної стадії стрес-синдрому [59, 66].

Стрес-синдром, що реалізується як неспецифічна ланка адаптації, може



не супроводжуватися розвитком виразкових уражень слизової оболонки шлунку, але безсумнівно, що розвиток таких пошкоджень становить одне з перших і досі чітких проявів перетворення стресу в ланку патогенезу, причому цей прояв піддається точній кількісній оцінці. Тому саме виразкові ураження відіграють найбільш важливу роль у з'ясуванні механізму стресорних ушкоджень [67, 68].

Відомо, що в динаміці розвитку реакцій адренергічної та гіпоталамо-гіпофізарно-адреналової системи на стрес виявляють три періоди.

1). У першому періоді – з моменту початку емоційно-больового впливу й протягом 36-39 год після його закінчення – у 3-4 рази підвищується рівень кортикостерону в плазмі крові й органах, в 1,5-2 рази знижується в серці та наднирникових залозах вміст катехоламінів, знижується в цих органах синтез міченого норадреналіну, розвивається виражена еозинопенія.

2). У другий період – через 39-45 год після закінчення дії стресового фактору – у плазмі крові й органах різко знижується рівень кортикостерону та розвивається еозинофілія.

3). У третьому періоді – протягом наступних 6-7 діб показники функціонального стану адренергічної та гіпоталамо-гіпофізарно-адреналової систем поступово наближаються до вихідних значень [69, 70].

Адаптивне вгасання стрес-реакції при повторних стресах проявляється не тільки в зменшенні її інтенсивності (зниженні гормональних відповідей і реакції органів мішеней), але також у зменшенні тривалості цих відповідей. Будь-який стрес супроводжується еозинопенією, викликаною надлишком кортикостероїдів. При завершенні стресу еозинопенія не просто припиняється, вона завершується суттєвим збільшенням еозинофілів, таким чином, час від завершення стресорної ситуації до піку еозинофілів, тобто тривалість еозинопенії, – гарний критерій завершення стрес-реакції. Чим коротше цей період, тим ближче до завершення процес адаптації до будь-якого фактору, а зокрема до стресу. Для розуміння цього явища треба мати на увазі, що в процесі адаптації поряд із вгасанням самої стрес-реакції розвивається



своєрідне зниження чутливості – десенсибілізація до стрес медіаторів та гормонів [69].

Вочевидь, що найбільш ймовірною причиною такої високої резистентності до стресорного пошкодження є зниження кількості бета-адренорецепторів та їх спорідненості до катехоламінів, тобто те ж саме явище, яке лежить в основі адаптивного ефекту десенсибілізації. Придбане у процесі адаптації або генетично детерміноване зниження адренореактивності є потужним чинником проти-стресорного захисту [71, 72].

У зв'язку із цим становить інтерес можливий механізм десенсибілізації. Є роботи, які зв'язують явище десенсибілізації зі зміною подвійного ліпідного шару клітинних мембран нейронів і виконавчих органів, тобто, зі змінами ліпідного мікро оточення адренорецепторів при повторних стресах. Під час десенсибілізації в мембранах відбувається руйнування фосфатидилхоліну й накопичення продуктів його розпаду – лізофосфатидилхоліну та арахідонової кислоти. Інгібітор фосфоліпази А блокує цей процес і робить неможливою десенсибілізацію *in vivo* та *in vitro* в мозку та серці [73].

Одним з важливих механізмів адаптації до стресорних ситуацій навколишнього середовища є активація центральних регуляторних механізмів, які при дії емоційно-больових та інших аналогічних подразників гальмують вихід релізінг-факторів та, як наслідок, вихід кортикостерону та катехоламінів. У головному мозку системи гальмівних нейронів здійснюють синтез та виділення гальмівних медіаторів: гама-аміномасляної кислоти (ГАМК), дофаміну, серотоніну, гліцину та інших гальмівних пептидів [74-77].

На периферії діють не менш важливі регуляторні системи аденін-нуклеотидів, простагландинів, цитокінова, калікреїн-кінінова та антиоксидантні системи, які виступають у ролі модуляторів, можуть обмежувати надмірні ефекти катехоламінів та інших факторів, стають, таким чином, основою десенсибілізації й попереджають стресорні-пошкодження [78, 79].



## **1.4 Результати клінічних спостережень про вплив різного роду стресорних навантажень на стан здоров'я людини**

Відправною крапкою профілактики захворювання людства є вивчення життєдіяльності здорового організму з урахуванням комплексу впливів факторів зовнішнього та внутрішнього середовища. Частіше в клінічній практиці лікарям приходиться спостерігати пацієнтів вже з розвинутою патологією, коли в організмі відбулися значні зміни, в тому числі як на рівні системної регуляції (ЦНС, гіпоталамус) так і на рівні міжклітинної сигналізації та нейро-імуно-ендокринних взаємодій. Підґрунтям цих змін, частіше, стають незначні, але постійно діючі фактори зовнішнього або внутрішнього середовища, що поступово накопичуються та порушують функціонування центральних регуляторних систем.

Сьогодні дуже багато фактів та клінічних спостережень про складних вплив хронічних стресорних навантажень на організм людини чи тварини. Більш того, вони формують після стресорний синдром, що сам собою стає патогенетичним механізмом формування хвороби [ 80-83].

Національним інститутом охорони здоров'я та Адміністрацією ветеранів США було проведено широкомасштабне когортне обстеження під час якого були отримані докази про зв'язок посттравматичного стресового розладу з ризиком серцево-судинних захворювань, визначені механізми, які можуть викликати цей зв'язок, оцінений прогностичний ризик серцево-судинних захворювань [84, 85]

Rebeca Robles-García та співавт. у 2020 році показала, що висока урбанізація може підвищити ризик посттравматичного стресового стресу через концентрацію бідності, обмеження життєвого простору, вживання психоактивних речовин і злочинності. Жінки зазвичай перебувають у більш несприятливому соціальному та економічному становищі і стають жертвами колективного та домашнього насильства частіше, ніж чоловіки. Відповідно, міські жінки більш схильні до травматичних подій, які збільшують



поширеність посттравматичного стресового стресу, ніж сільські жінки, а також чоловіки як у сільській місцевості, так і в містах, особливо ті, у кого немає соціального та сімейного захисту та підтримки [86].

Тобто, навіть незначні та невиразні стресорні впливи, які діють постійно та не можуть бути подолані людиною стають важливим етіологічним фактором формування цілої низки хвороб.

### **1.5 Ключові експериментальні дослідження стану нейронів гіпоталамусу при моделях стресу**

Експериментальне дослідження стану нейронів ПВЯ гіпоталамусу при артеріальній гіпертензії, що була спричинена стресом виявило нейрозапалення в структурі ядра. Автори вважають, що посилене вторгнення периферичних імунних клітин у ПВЯ може бути пов'язано з підвищенням регуляції хемокінів та активацією клітин мікроглії. Спостерігався цитокіновий дисбаланс через те, що стрес посилював експресію білка прозапальних цитокінів інтерлейкіну-6 та інтерлейкіну-17 і зменшував експресію протизапальних цитокінів трансформуючого фактору росту- $\beta$  та інтерлейкіну-10 у ПВЯ гіпоталамусу [87].

Група дослідників Наоюа Катаока та співавт. 2020 при дослідженні фізіологічних реакцій, що формуються через психологічний стрес, виявили центральний головний нейронний шлях у щурів, який керує вегетативними та поведінковими реакціями на стрес, з'єднуючи кортиколімбічні ланцюги стресу з гіпоталамусом. Сигнали психосоціального стресу від пов'язаних з емоціями ділянок переднього мозку активували везикулярний глутаматний транспортер-1 позитивний глутаматергічний шлях від дорсальної ніжкової кори і дорсальної тенії текта до дорсомедіального гіпоталамуса. За їх висновку саме цей шлях опосередковує поведінку уникнення психосоціальних стресових факторів [88].





Інша команда науковців показала, що гострий стримувальний стрес викликає активацію нейронів у супраоптичному ядрі гіпоталамуса (СОЯ). Автори показали, що попередня обробка СОЯ хлоридом кобальту зменшила артеріальний тиск та частоту серцевих скорочень (ЧСС), що були попередньо збільшеними через стрес. Крім того, попередня обробка СОЯ  $\text{CoCl}_2$  знижувало стрес-індуковане підвищення рівня кортикостерону та окситоцину, не впливаючи на рівні вазопресину в плазмі, що свідчить про його важливу участь у стрес-індукованих нейроендокринних реакціях. Результати показали, що СОЯ є важливим компонентом нервового шляху, який контролює вегетативні, нейроендокринні та поведінкові реакції, індуковані гострим стримувальним стресом [89].

Співробітники кафедри фармакології Школи медицини Рибейран-Прету, Університет Сан-Паулу досліджували участь нітритергічної нейротрансмісії в паравентрикулярному ядрі гіпоталамуса у модуляції локальної нейронної активації, вегетативних та нейроендокринних реакцій та поведінкових наслідків при гострому restrain-стресі у щурів. Вони показали, що двосторонні мікроін'єкції селективного інгібітора нейрональної синтази оксиду азоту (nNOS) Nw-пропіл-L-аргініну (NPLA) або поглинача NO карбокси-PTIO в ПВЯ знижують артеріальний тиск (АТ) і збільшують ЧСС, а також зменшують температура шкірного хвоста, спричиненого restrain-стресом. Науковці прийшли до висновку, що нітритергічна нейротрансмісія ПВЯ, яка діє через активацію нейрональної NOS, має сприятливий вплив на вегетативну реакцію на гостре обмеження та відстрочені емоційні наслідки стресу та підтверджують думку багатьох дослідників про важливу роль локальної нітритергічної нейротрансмісії в активації нейронів ПВЯ під час стресу [90].

В моделі із тривалою соціальною ізоляцією у щурів дослідники показали роль окислювального стресу у молекулярних механізмах, що пов'язують хронічний психосоціальний стрес із серцево-судинними захворюваннями. Було показано, що опосередкований NADPH-оксидазою окислювальний стрес



в гіпоталамусі необхідний для активації осі гіпоталамус-гіпофіз-наднирникові залози (ГГНЗ), спричиненої соціальною ізоляцією, у соціально ізольованих щурів. Окислювальний стрес у ростральному вентролатеральному мозку також є ключовим регулятором активності симпатичного нерву. У судинній системі окислювальний стрес підвищує тонус судин і сприяє атерогенезу. Відповідно, запобігання окислювальному стресу може представляти собою терапевтичну стратегію для зменшення шкідливого впливу соціального стресу на здоров'я [91].

Таким чином, сучасні дослідження різних за механізмами моделей стресу показують ключову роль у реалізації вегетативних реакцій, що необхідні для подолання стресу, гіпоталамічних структур, серед яких найважливіші - це великоклітинні нейрони ПВЯ [92-94].

Необхідно відмітити роботи, що присвячені визначенню ролі нітритергічної системи при розвитку стресорних реакцій. Нажаль акцент зроблено на нейрональну синтазу оксиду азоту без визначення всіх інших компонентів ізоформного профілю [95, 96].

## **1.6 Роль великоклітинних нейронів гіпоталамусу в реалізації адаптаційних програм при стресорних впливах в експерименті**

Гіпоталамус, як вентральна частка діенцефальної області мозку – є складно організованою структурою, що містить в собі комплекс ядерних утворень та тісно пов'язаною з різними рівнями ЦНС та гіпофізом. Він являє собою важливий координаційний центр діяльності нервової та ендокринної систем [97].

Необхідно відмітити, що особливістю гіпоталамічних інтегруючих нейронів, на відміну від нейронів інших відділів ЦНС, є подвійна властивість – вони чутливі до дії нейромедіаторів, що виділяються в області пресинаптичних терміналій; та до впливу факторів навколишнього середовища окремого нейрону: температури, рівню глюкози, нейропепетидів,



нейромедіаторів, газотрансмітерів та іншим біологічно активним сполукам [98].

Сьогодні, багатьма науковцями, вже доведено, що гіпоталамус розглядається важливим субстратом інтеграції різних емоційно-поведінкових реакцій та їх координації із гемодинамічними та кардіоваскулярними взаєминами [99, 100].

Дослідження по виявленню взаємозв'язку вісцеромоторних та соматомоторних проявів цілісних сомато-вегетативних реакцій емоційно-поведінкового типу, що пов'язані із різними структурами гіпоталамусу, були проведені в деяких лабораторіях. Науковці показали, що подразнення в гострих експериментах структур гіпоталамусу, які у тих самих тварин викликали в попередніх хронічних дослідницьких серіях харчових або захисних поведінкових реакціях, приводило до характерних патернів кардіоваскулярних відповідей до кожного типу поведінкових реакцій. Кореляція серцево-судинних реакцій з емоційно-поведінковими проявами, що виникають при стимуляції гіпоталамічних зон, пов'язані із симпатичним відділом ВНС [101].

В інших роботах було доведено, що після подразнення сірої речовини середнього мозку розвивалося збудження, формувалася агресивна поведінка тварин, відбувалося підвищення артеріального тиску та кровотоку у висхідному відділі аорти, верхньої брижової артерії та зовнішньої хребетної. Кардіо-васкулярні зміни виражалися під час бійки тварин тахікардією, різким та швидким зростанням м'язового тону, що пов'язаний із підвищенням м'язової активності. Одночасно відбувалася вісцеральна вазоконстрикція та спазм судин у неактивних м'язах [102].

Автори звертають увагу, що у тварин, у період прекофронтації, під час розвитку виключно емоційного стану люті-страху, серцево-судинні зсуви характеризувалися, навпаки, зниженням серцевого викиду, зниженням кровотоку у клубовій артерії (м'язового кровообігу) та деяким зниженням артеріального тиску через зменшення серцевого викиду та зміни



периферичного спротиву судин. Результат їх досліджень свідчить про те, що виключно емоційне напруження характеризується м'язовою вазоконстрикцією та симпатичною холінергічною м'язовою вазодилатацією, що виникає при подразненні або при природному збудженні захисних областей гіпоталамусу (ядер, що пов'язані із центрами симпатичної нервової системи) [102].

Заслужують уваги дослідження авторів про стійке підвищення артеріального тиску при багаторазовій стимуляції емоціогенних зон гіпоталамусу. В умовах хронічного експерименту довготривале щоденне подразнення захисної зони гіпоталамусу викликало поступове підвищення артеріального тиску. Автори вважають, що при повторних психічних стресах хронічне збудження захисної зони гіпоталамусу є тригерним механізмом генезу хронічної гіпертензії у людини [103].

Є достатньо фактів про нейрогенну альфа-адренергічну церебральну вазоконстрикцію при подразненні задньо-латерального та супраоптичного відділів гіпоталамусу та слабо виразну холінергічну вазодилатацію при подразненні його преоптичної області [103].

Серед робіт, що присвячені вивченню впливу гіпоталамусу на регіональну гемодинаміку, особливе значення мають дослідження, що стосуються гіпоталамічної регуляції вінцевого кровообігу. Дослідження цього питання представляється важливим, тому що збудження «емоціогенних регіонів» гіпоталамусу в умовах емоційного стресу супроводжуються різкими змінами тону судин, дуже часто коронарним спазмом та інфарктом міокарда стає трагічним фіналом емоційної бурі, що зароджується в структурі гіпоталамусу [104].

Всі ці групи досліджень свідчать про те, що вегетативні, та частково серцево-судинні реакції, що виникають при подразненні зон гіпоталамусу, що пов'язані із симпатичним відділом ВНС, є компонентом різних типів емоційно-поведінкових реакцій на стрес. Дослідники доводять, що гіпоталамус є ключовим диригентом в розвитку специфічних змін



регіонального кровообігу та серцевої діяльності при впливі стресорних подразників [105].

**Резюме:** Таким чином, проведений аналіз літературних наукових джерел свідчить про безсумнівну роль гіпоталамусу в регуляції стрес-реакції організму та наявність в них морфофункціональних змін, асоційованих із стресом. Важливо зазначити, що за останні 20 років науковцями багато уваги приділялося дослідженню окремих моделей стресу, а саме больовому, іммобілізаційному та гіпоксичному. Нажаль обмаль фактів, що стосуються аналізу впливу довготривалих негативних соціальних факторів, які не викликають стереотипні реакції, але формують латентні зміни, які притаманні класичним стрес-реакціям.

Слід також відмітити, що основні дослідження присвячені визначенню стану та ролі домінуючих систем при стресі – це серце, мозок, наднирникові залози та печінка, однак замало фактів, які пояснюють довгострокові перебудови у регуляторних системах – гіпоталамусі. Недостатньо фактів стосовно взаємозв'язку стану нейронів гіпоталамусу, які виступають у ролі ключового диригента розвитку стрес-реакції. Немає чіткої концепції про роль довготривалого соціального стресу із обмеженням життєвого простору на характер гормонально-метаболічних змін та глікемічний профіль. Саме ці питання залишають невирішеними та потребують доцільного вивчення.

Матеріали розділу відображені в 2 статтях [106, 107].



## **РОЗДІЛ 2**

### **МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ**

Дисертаційна робота виконана на базах кафедри патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології та навчально-наукового медико-лабораторного центру з віварієм (свідоцтво про технічну компетентність № 033/18 від 25.12.2018, чинне до 25.12 2023) Запорізького державного медико-фармацевтичного університету МОЗ України протягом 2018-2023 років.

Для встановлення патогенетичних особливостей морфоденситометричних параметрів великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу та визначення характеру гормонально-метаболических змін у щурів при стрес-обмеженні різної тривалості (6-, 15- та 21 тиждень) було проведено комплекс досліджень, який включав моделювання багатфакторного хронічного стресу низької інтенсивності, що складався із обмеження життєвого простору тваринам, їх малорухливістю та додатковими соціальними негараздами для гальмування процесів адаптації через постійні щотижневі зміни партнерів; використовувалися інструментальні (в лабораторії експериментальної патофізіології), імуноферментні (в лабораторії імуноферментних досліджень), біохімічні (в лабораторії фармакології та функціональної біохімії), морфоденситометричні методи (в лабораторії морфометричних, гістохімічних і денсометричних вимірів) та статистичний аналіз отриманих результатів.

#### **2.1 Матеріал дослідження**

Щури, які використані в експерименті були отримані з віварію «Об'єднання ветеринарної медицини ПП «Біомодельсервіс»», м. Київ. Дослідження були проведені в осінньо-зимовий період у віварії Запорізького



державного медико-фармацевтичного університету, що відповідає вимогам GLP (Good laboratory practice).

Уся експериментальна частина дослідження виконувалась в відповідності з національними «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах» (Україна, 2001), узгодженими з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових задач» (Страсбург, 1985), «Положенням про використання тварин в біомедичних дослідженнях» та з директивою Ради 2010 / 63EU Європейського парламенту і Ради від 22 вересня 2010 року по захисту тварин, які використовуються для наукових цілей [108, 109].

Протокол дослідження погоджено з локальним етичним комітетом (№ 10 від 21.12.2023 р.), порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено. Усі прилади, які використовувались для дослідження, сертифіковані та проходять щорічну метрологічну експертизу (протокол № 364 від 16.11.2023 р.).

Об'єктом дослідження в експериментальних щурів була плазма крові та гіпоталамус.

### **2.1.1 Дизайн дослідження**

Для проведення експериментального дослідження були використанні 75 нормотензивних щурів-самців лінії Wistar, віком 6-12 місяців, які були розподілені випадковим шляхом на 6 експериментальних груп (рис. 2.1).

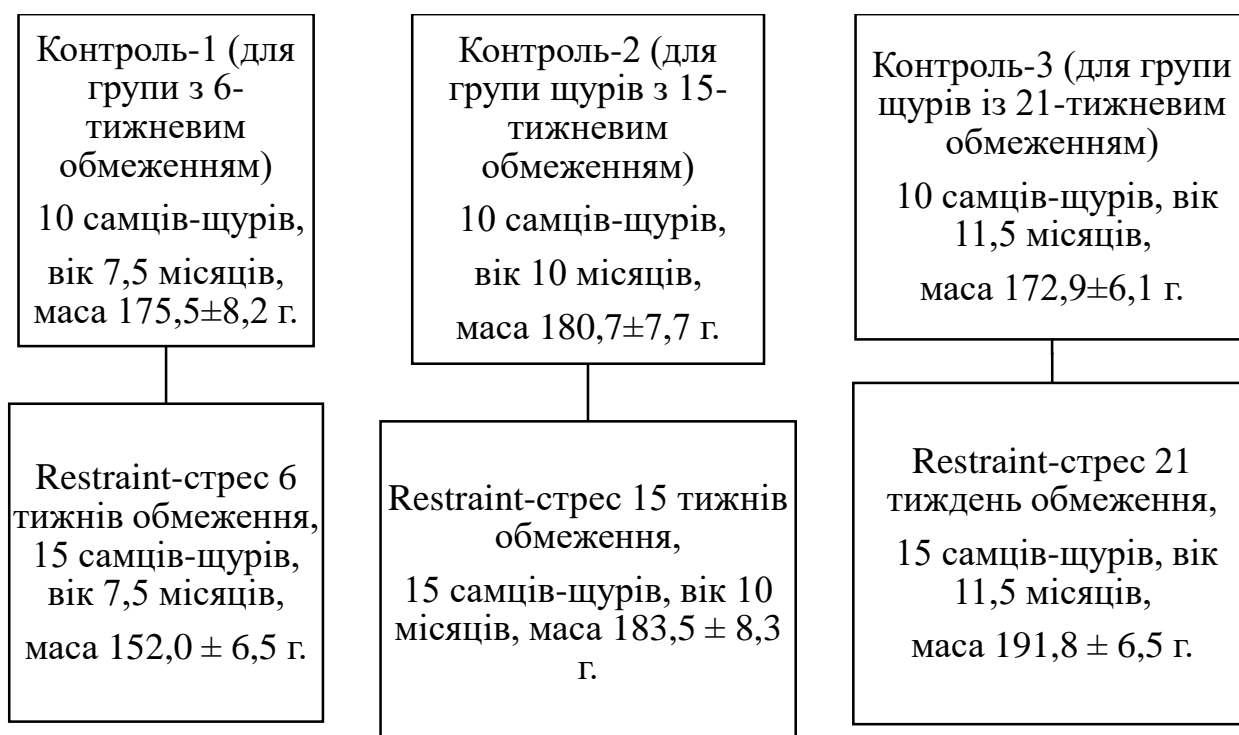


Рисунок 2.1 – Дизайн дослідження, розподіл тварин по групах.

В групах Контроль-1, -2 та -3 проведені визначення маси тіла щурів, динаміки змін артеріального тиску, концентрації глюкози, холестеролу, тригліцеридів, загальних ліпідів та досліджуваних гормонів не показали суттєвих коливань та відмінностей, що було обумовлено стабільністю утримання тварин, відсутністю стресорних впливів та збалансованістю харчового раціону. Це дало можливість об'єднати результати щурів всіх трьох вікових контролів та сформувати одну групу Контролю з 10 тварин в яких середня маса щурів склала  $176,4 \pm 9,4$  г., артеріальний тиск  $115,05 \pm 1,70 / 68,10 \pm 1,20$  мм рт.ст., концентрація глюкози натще  $4,61 \pm 0,09$  мМ/л, рівні інсуліну  $2,66 \pm 0,02$  мМО/мл, кортикостерону  $89,4 \pm 2,49$  мг/мл, АКТГ  $23,7 \pm 0,17$  пг/мл, тригліцеридів  $1,64 \pm 0,14$  мМ/л; холестеролу  $4,94 \pm 0,28$  мМ/л, загальних ліпідів  $3,37 \pm 0,19$  г/л.





## 2.2 Методи дослідження

План експериментального дослідження включав комплекс паралельних масометричних, інструментальних, імуноферментних, біохімічних і морфоденситометричних методів, та складався з:

1. Щомісячного зважування щурів та вимірювання у них артеріального тиску і рівня глюкози натще.

2. Дослідження глікемічного профілю за концентрацією інсуліну та глюкози натще, що вимірювались на початку формування груп, при проведенні тесту толерантності до глюкози (ГТТ) та перед виведенням з експерименту у відповідний термін (на 6-, 15- та 21 тижнях). Розраховувався індекс НОМА та кортикостерон/інсулінове співвідношення.

3. Встановлення характеру гормонального балансу за рівнем інсуліну, кортикостерону та АКТГ; та метаболізму за показниками жирового обміну – тригліцеридів, холестеролу та ліпідів і глюкозного гомеостазу.

4. Визначення морфоденситометричних характеристик великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу за площею клітин, їх ядер та ядерця, вмістом нуклеїнових кислот у цитоплазмі досліджуваних нейронів, їх ядрах та ядерцях.

Щурів виводили з експерименту у відповідні терміни шляхом одномоментної декапітації під наркозом (тіопентал натрію 120 мг / кг внутрішньочеревно).

Для виконання плану дослідження та досягнення мети після декапітації тварин кров щурів негайно відбирали в пробірки з 2,7 % ЕДТА в 0,9 % розчині NaCl, які попередньо були розміщені на льоді. Після забору крові вміст ретельно перемішували. Для поділу плазми і формених елементів зразки крові центрифугували при 3000 об / хв на центрифусі CM-6MT (ELMI ltd.) протягом 15 хв. Плазму обережно відбирали в сухі пластикові пробірки, заморожували при -50 °C та ліофілізували на апараті (Operating Manual Freeze Dryer ALPHA 1-2 LD plus).



Головний мозок щурів відразу після забирання фіксували в розчині Буена на 1 добу. Після 2-годинного відмивання пікринової кислоти в проточній холодній воді виділені частки мозку із гіпоталамусами проводили у висхідних концентраціях етанолу 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 96 %, 100 %-1, 100 %-2, розчинах етанол 100 % + хлороформ 2:1, етанол 100 % + хлороформ 1:1, етанол 100 % + хлороформ 1:2, хлороформ, хлороформ + парапласт (MkCormick, США) 1:3 ( $t=+37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), на 1 годину поміщали в рідкий парапласт (MkCormick, США) ( $t=+56\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). У кінці фіксували в парапластні блоки.

### **2.2.1 Моделювання соціального стресу обмеженням життєвого простору (стрес-обмеження)**

Питання вибору методу для експериментального моделювання багатофакторного хронічного стресу низької інтенсивності, що складається із комплексу впливів, які частіше зустрічаються у людському суспільстві та комбінуються у різних співвідношеннях, зажадало детального аналізу наукової літератури та клінічних спостережень. Серед різноманітних стресорів були обрані наступні: це тривале обмеження життєвого простору, малорухливість, соціальні негаразди та міжособистісні конфлікти, що гальмують природні механізми адаптації та порушують гомеостатичні відновлення.

Варто відмітити, що адаптивна реакція на фізичні або психологічні виклики або загрози включає модуляцію трьох регуляторних систем: нервової, ендокринної та імунної. Правильний зв'язок між цими системами необхідний для підтримки гомеостатичного балансу і гарантії здоров'я та виживання людини. Хоча реакція на стрес необхідна для виживання, нездатність упоратися зі стресом може погіршити функцію цих регуляторних систем та перешкодити ефективній комунікації між ними. За таких обставин втрата гомеостазу зрештою призводить до розвитку патологій, які можуть поставити під загрозу виживання. Соціальні види живуть групами, підтримка яких



забезпечує виживання особини, забезпечуючи захист від загроз довкілля. Однак розрив соціальних зв'язків у таких видів є потужним емоційним стресом. Реакція на ізоляцію або навпаки, перенаселення, може сильно відрізнятись через сумацію різних впливів [31, 110-112]. Порівняно з гострим стресом, тривалий хронічний стрес більш шкідливий і може спричинити або посилити багато серйозних проблем зі здоров'ям, включаючи високий кров'яний тиск, хвороби серця, хронічні болі та психічні захворювання [113]. Експериментальні дослідження біологічних шляхів, пов'язаних із серцево-судинними ускладненнями, спричиненими стресом, показують важливу роль метаболічної та імунологічної дезадаптації, що призводить до посилення розвитку та прогресування захворювань [114].

Враховуючи вищезазначені умови формування хронічного стресу була обрана комбінована модель стрес-обмеження із тривалим обмеженням життєвого простору клітки (нормальний розмір – 350 см<sup>2</sup>) на 40 % (210 см<sup>2</sup>) при одномоментному знаходженні у клітці по 5 тварин. З метою створення додаткових стресорних негараздів та для гальмування процесу адаптації кожного тижня двох щурів з групи переміщували у іншу клітку в межах групи. Тварини знаходилися у відповідних умовах в залежності від експериментальної групи протягом 6, 15 і 21 тижнів.

Щури контрольних груп відповідної статі та віку знаходилися у звичайних клітках розміром 350 см<sup>2</sup> по чотири тварини у кожній без додаткових переміщень.

У відповідні терміни (16, 15 та 21 тиждень) щурів виводили з експерименту шляхом одномоментної декапітації під наркозом (тіопентал натрію 120 мг / кг внутрішньочеревно).

### **2.2.2 Методика зважування тварин**

Одним із важливих та інформативних показників збалансованості метаболічних процесів в організмі є динаміка набору або втрати ваги.



Контроль та аналіз коливань маси тіла важливі не тільки у дитячому періоді. Так відсутність змін масових характеристик у дорослому віці свідчить про відносну стабільність метаболізму, тоді як відхилення та непостійність – свідчення гормонально-метаболічних порушень.

Зважування тварин проводили в ранковий період з 9-00 до 10-00 години після 10-12-годинного нічного голодування на початку формування груп та один раз на тиждень до завершення терміну відповідної групи.

### 2.2.3 Методика вимірювання артеріального тиску

Перший вимір артеріального тиску проводили на етапі формування груп, а надалі щотижнево і в залежності від потреб експерименту: на 6-у, 15-у та 21-у тижнях.

Вимірювання систолічного та діастолічного тиску здійснювалось за допомогою системи неінвазивної реєстрації AT Blood Pressure Analysis Systems™ BP-2000 Series II (Visitech Systems, USA) (рис. 2.2).



Рисунок 2.2 – Система неінвазивної реєстрації артеріального тиску BP-2000 із одномоментним вимірюванням АТ у двох щурів контрольної групи.



Згідно рекомендаціям від виробника приладу щури на протязі 2-х тижнів проходили адаптацію до іммобілізаційних світлозахищаючих тунелів. Вимірювання проводилося хвостовою манжетою в умовах повної тиші, що дозволяє зменшити вірогідність помилкового підвищення АТ через стрес тварини. Кожна процедура вимірювання здійснювалась серійно по 7 реєстрацій з інтервалом 1,5-2 хв. Підрахунок середніх значень систолічного та діастолічного тиску проводився в автоматичному режимі програмою приладу.

#### **2.2.4 Методика вимірювання концентрації глюкози натще**

Значення рівня глюкози натще вранці є важливим показником сталості вуглеводного обміну, балансу регуляторних гормонів та засвоєння глюкози в нічному періоді. Коливання її концентрації залежить як від інсулін-глюкагонових взаємин так і дії цілого комплексу контрінсулярних гормонів ключовим з яких розглядається кортикостерон.

Методологія проведення полягала в тому, що щурів всіх груп о 8-00 ранку після 12-14 нічного голодування по одному переносили на теплу платформу, скарифікували кінчик хвосту, прибирали першу краплю крові стерильним тампоном, а другу наносили на стандартну тест-смужку Test Strip II, що попередньо була зафіксована у порті глюкометру Glucocard (ARKRAY Inc., Японія) для фотометричного сканування та отримання цифрових значень.

#### **2.2.5 Методика проведення внутрішньочеревинного тесту толерантності до глюкози**

Для вивчення характеру глікемічної реакції на глюкозне навантаження, особливостей прандіальної секреції інсуліну та оцінки стану прандіальної та післяпрандіальної регуляції глікемії, діагностики прихованих порушень вуглеводного обміну у експериментальних тварин було використано тест толерантності до глюкози. Тест проводився відповідно з методичними



1483480597238750

рекомендаціями «Доклінічні дослідження лікарських засобів» рекомендованих Фармакологічним комітетом МОЗ України для експериментального вивчення нових гіпоглікемічних засобів [115].

ГТТ проводився вранці з 9-00 години після попереднього 14-годинного нічного голодування щурів. Перед початком тесту у кожної тварини визначали натще рівень глюкози плазми крові з хвостової вени глюкозооксидазним методом за допомогою стандартних тест-смужок Test Strip II на глюкометрі Glucocard (ARKRAY Inc., Японія).

Для безпосереднього проведення тесту щурів розміщували по одному в клітинах при вільному доступі до води. Тест виконувався шляхом одноразового внутрішньочеревинного введення 2 г глюкози на кг маси тварини, розведеної в 6 мл 0,9% розчину NaCl.

Через 15, 30, 45 та 90 хвилин після глюкозного навантаження проводився забір крові з хвостової вени для визначення концентрації глюкози.

#### **2.2.6 Методика розрахунку індексу НОМА та кортикостерон/інсулінового співвідношення**

Індекс НОМА [116] використовується для оцінки чутливості тканин до інсуліну, при цьому, чим вищий індекс НОМА, тим нижча чутливість до інсуліну і, отже, вища інсулінорезистентність. Для його розрахунку у тварин попередньо проводилося визначення рівня глюкози натще (див. п. 2.2.3) та імунореактивного інсуліну в плазмі, перераховували за формулою:

$$I_{\text{НОМА}} = C_1 * C_2 / 22,5 \quad (2.1.),$$

де  $C_1$  – концентрація інсуліну в плазмі натще, uIU/mL;

$C_2$  – концентрація глюкози в плазмі натще, мМ/л;

22,5 – коефіцієнт.

Враховуючи той важливий факт, що метою дослідження було провести комплексну оцінку характеру змін гормонально-метаболічних співвідношень в динаміці прогресування складної стрес-реакції при динамічних коливаннях



гормонів регуляторів основного енергетичного субстрату – глюкози. Реалізація їх дії має пряму залежність від співвідношення інсуліну та кортикостерону, що розглядається, як один з основних ефекторів адаптаційних змін при стресі та індуктор патологічних процесів при зриві адаптації.

Індекс співвідношення розраховувався за формулою:

$$I_{\text{К/І}} = C_{\text{К}}/C_{\text{І}} \quad (2.2.),$$

де  $C_{\text{К}}$  – концентрація кортикостерону в плазмі натще, мг/мл;

$C_{\text{І}}$  – концентрація інсуліну в плазмі натще, мМО/мл.

### **2.2.7 Методика визначення показників жирового обміну**

Для оцінки стану жирового обміну спектрофотометрично з використанням біохімічного аналізатору Autolyser ISE (DIALAB, Австрія) та стандартних діагностичних наборів у експериментальних тварин у плазмі крові визначали загальний вміст ліпідів, тригліцеридів та холестеролу.

### **2.2.8 Методика оцінки рівнів досліджуваних гормонів**

Концентрацію гормонів інсуліну, кортикостерону та АКТГ визначали імуноферментним методом на автоматичному імуноферментному аналізаторі Thunderbolt® Analyzer (Gold Standard Diagnostics, США), використовуючи комерційні набори для щурів фірми Monobind, USA відповідно до інструкції фірми виробника.

### **2.2.9 Методика морфоденситометричного дослідження великоклітинних нейронів паравентрикулярного ядра гіпоталамуса**

З метою визначення характеру змін кількісних показників площі нейрона, його ядра та ядерця, вмісту в цитоплазмі клітини, ядрі та ядерці нуклеїнових кислот (гетерогенних ДНК і РНК) після попередньої гістологічної



підготовки матеріалу (див. п.п. 2.2) на ротаційному мікротомі Microm-325 (Microm Corp., Німеччина) готували серійні фронтальні зрізи гіпоталамуса завтовшки 5–6 мкм.

Провели стандартну гістологічну підготовку для забарвлення: депарафінізацію (у висхідних розчинах етанолу та хлороформу) та регідратацію (у хлороформі та низхідних розчинах етанолу). Після цього скельця з серійними зрізами переднього гіпоталамуса протягом 48 годин забарвлювали галоціанін-хромовими галунами за Ейнарсоном. Наступним етапом у методиці було 3-разове промивання по 5 хв. в дистильованій воді з послідуною дегідратацією у висхідних спиртах і двічі в ксилолі. На фінальному етапі відбувалася фіксація у синтетичній суміші EUKITT (Balsamo, Німеччина) під покривним склом та під тиском 5 г гирьки залишали на 1 добу. Забарвлені зрізи вивчали у видимому спектрі на мікроскопі AxioImager-M2 (Carl Zeiss, Німеччина).

Для отримання статистично достовірних значень було досліджено не менше ніж 180–200 великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу із кожної серії.

Топографічну ідентифікацію великоклітинних нейронів паравентрикулярного ядра гіпоталамуса здійснювали за допомогою стереотаксичного атласу мозку щурів (рис. 2.3) [117].





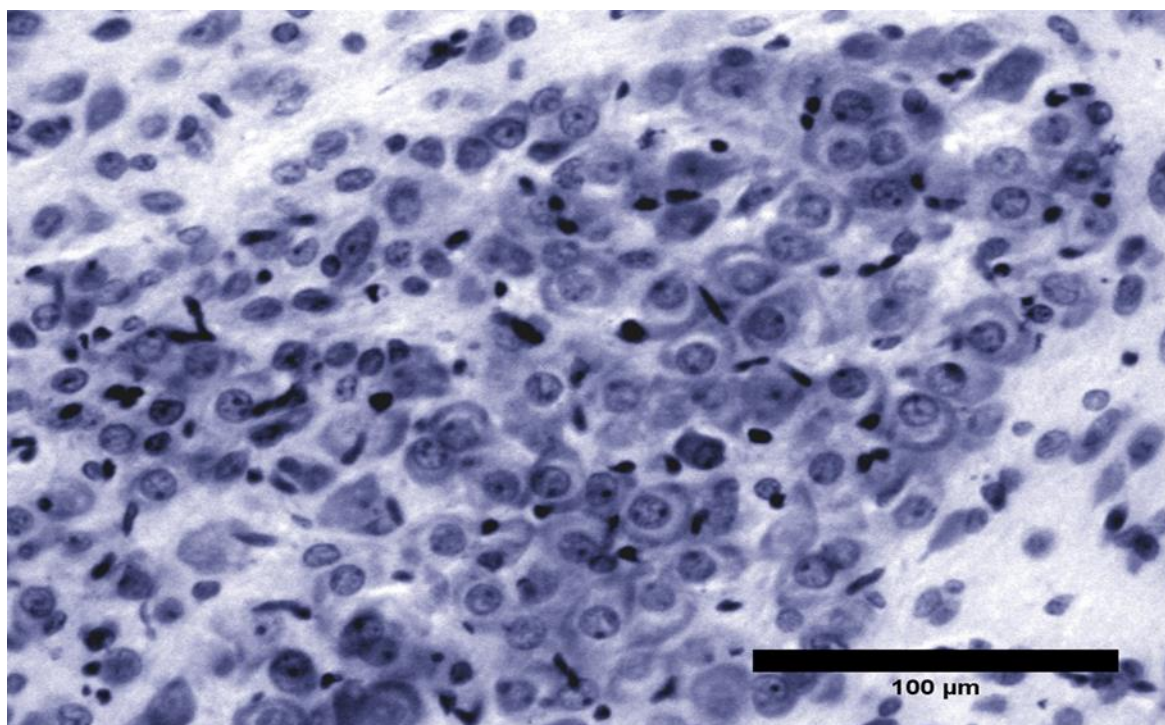


Рисунок 2.4 – Великоклітинні нейрони ПВЯ гіпоталамусу щурів контрольної групи. Фарбування за Ейнарсеном, збільшення x40.

Використання цифрового аналізу зображення великоклітинних нейронів здійснювалось після попередньої їх обробки та виділення «в ручному режимі» на мікрозображеннях цитоплазму нейронів, область їх ядра та ядерця. У ядра, подальшому виділені структури нейронів розглядали як зону «інтересу». Це надало можливість отримати наступні морфометричні та денситометричні параметри:

- ✓ Площі цитоплазми, ядра та ядерців нейрону ( $S$ ,  $\mu\text{км}^2$ ), що розраховувалися в автоматичному режимі завдяки попередньо заданому програмі скейлінгу, який перерахувався із пікселей в  $\mu\text{км}^2$ .
- ✓ Вміст нуклеїнових кислот в зрізі цитоплазми, ядра та ядерця нейрону (Integrated density, ID) - або оптична густина нуклеїнових кислот. Вимірювання проводилося в умовних одиницях оптичної густини ( $\text{УО}_{\text{ог}}/\mu\text{км}^2$ ) та розраховувалось за формулою:



$$ID = UOD * S \quad (2.3),$$

де UOD - некалібрована оптична щільність;

S – площа досліджуваної структури нейрону (цитоплазми, ядра або ядерців), мкм<sup>2</sup>.

UOD розраховувалася за формулою:

$$UOD = \log_{10}(255 / MG\text{V}) \quad (2.4),$$

де MG\text{V} (Mean Gray Value) - показник, що відображає середнє значення градацій сірого в межах зони «інтересу». Розглядається сяк сума значень градацій сірого всіх пікселів в цій зоні, поділеної на загальну кількість пікселів.

### 2.3 Методи статистичного аналізу

Всі результати обробляли пакетом прикладних та статистичних програм «EXCEL-7,0» (Microsoft Corp., США) та програмою «Statistica» (ліцензія №JPZ804I382130ARCN10-J).

Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m). Для виявлення достовірності відмінностей результатів досліджень в експериментальних і контрольних групах щурів визначали коефіцієнт Стюдента (t) для вибірки з нормальним законом розподілення даних та визначали критерій Манна-Уїтні (U) для вибірки, дані якої не розподілялися за нормальним законом. Після чого визначали ймовірність відмінності вибірок (p). Достовірними вважали значення, для яких  $p \leq 0,05$ . Для перевірки гіпотез про зв'язки між отриманими показниками нами використовувалося визначення коефіцієнта кореляції Пірсона, що підходить для двох безперервних, виміряних на одній і тій же вибірці [118].



### РОЗДІЛ 3

## ПАТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ГОРМОНАЛЬНО-МЕТАБОЛІЧНИХ ЗМІН У ЩУРІВ ПРИ СТРЕС-ОБМЕЖЕННІ РІЗНОЇ ТРИВАЛОСТІ

В представленому розділі наведені результати комплексного багатомісячного дослідження специфіки впливів соціального стресу із обмеженням життєвого простору та малорухливостю, їх роль у формуванні гормонально-метаболічних змін та прогресуванні інсулінорезистентності. Варто відмітити, що незважаючи на високу значущість цієї проблеми, зацікавленість науковців та лікарів в її розв'язанні дуже висока. Сьогодні залишається ціла низка нез'ясованих питань, що стосуються не тільки ролі тригерів та їх комбінацій у формуванні хвороби, актуальним є розуміння унікальної «матриці стресорів», що формує багаточисленні ансамблі нейронів ЦНС та забезпечує часову, простору та контекстну специфічність кожної окремої реакції на стрес.

У відповідь на стресорні виклики організм секретує комбінацію гормонів, що допомагає йому не лише подолати стресову ситуацію, а й фактично відновити гомеостаз. Але для подолання надмірних викликів необхідне надходження до кровообігу високої кількості енергетичних субстратів, що реалізується за ведучої участі ендокринної системи. Саме під час стрес-відповіді відбувається секреція у кров адреналіну наднирниковими залозами та глюкокортикоїдів (кортизолу, кортикостерону), яким і належить ключова роль у механізмі розвитку стресу.

За «звичайних умов» при природніх стрес-навантаженнях секреція гормонів наднирковими залозами зазвичай має адаптивний ефект при короткостроковій дії. Інше значення та прояв при тривалому або повторному стресі, в тому випадку вони можуть викликати патологічні зміни в організмі. Багатьма науковцями пошкоджуючий ефект глюкокортикоїдів у цих умовах



визначається як «алостатичне навантаження», що стає одним з основних патогенетичних ланцюгів формування метаболічних порушень. Більш того, при наростанні тяжкості та з часом алостатичне навантаження збільшеним рівнем глікемії через гіперглікемізуючі ефекти кортикостероїдів набуває патологічних наслідків й формує інсулінорезистентність, порушення жирового обміну та гормональні зміни.

Це потребує проведення експериментального дослідження із моделюванням комбінації негативних впливів та вивчення динаміки змін від початку дії факторів до формування специфічних симптомів патології.

Для отримання відповідей на поставлені питання було проаналізовано динаміку змін рівня артеріального тиску та маси тіла щурів; оцінено особливості гормонального профілю за рівнями кортикостерону, інсуліну та АКТГ; за показниками вуглеводного та жирового обмінів досліджено характер метаболічних змін; особливості змін глікемічного профілю та етапи формування інсулінорезистентності за концентрацією глюкози натще, результатами внутрішньочеревинного тесту толерантності до глюкози й розрахункового індексу НОМА у щурів при стрес-обмеженні різної тривалості на етапі формування груп та при тривалому обмеженні життєвого простору на 6-, 15- та 21 тижні. Дослідження показало, що обмеження життєвого простору та скупчення тварин з часом формують цілий комплекс метаболічних та гормональних змін, які стають вагомими патогенетичними ланками розвитку хвороб, призводять до змін їх вагових характеристик та поступовому підвищенню артеріального тиску.

### **3.1 Динаміка змін маси тварин та артеріального тиску у щурів із стрес-обмеженням різної тривалості**

Аналіз динаміки змін вагових характеристик у щурів із змодельованим стресом показав суттєві коливання маси тварин, що мала залежність від



терміну обмеження життєвого простору та характеру гормонально-метаболічних змін (табл. 3.1).

Таблиця 3.1 – Показники маси тіла та артеріального тиску у щурів із стрес-обмеженням різної тривалості, ( $M \pm m$ )

Показник	Експериментальні групи			
	1-а (контроль, n=10)	2-а (6 тижнів, n=15)	3-а (15 тижнів, n=15)	4-а (21 тиждень, n=15)
Маса тварин, г	176,4±9,4	152,0±6,5 <sup>1</sup>	183,5±8,3 <sup>2</sup>	191,8±6,5 <sup>1,2,3</sup>
Артеріальний тиск (Рс/Рд) мм рт.ст.	115,05±1,7 /68,1±1,2	123,4±2,0 <sup>1</sup> /69,3±1,9	135,1±1,7 <sup>1,2</sup> / 82,6±3,2 <sup>1,2</sup>	144,9±1,9 <sup>1,2,3</sup> / 93,2±1,6 <sup>1,2,3</sup>

Примітка 1. ( <sup>1</sup> ) – достовірна різниця показників груп із стресом різної тривалості ( $p_{st} < 0,05$ ) відносно відповідних показників контрольної групи.

Примітка 2. ( <sup>2</sup> ) - достовірна різниця показників 3 та 4 груп із стресом ( $p_{st} < 0,05$ ) до значень 2 групи із 6 тижнями обмеження життєвого простору.

Примітка 3. ( <sup>3</sup> ) - достовірна різниця показників 3 групи із стресом ( $p_{st} < 0,05$ ) до значень 4 групи із 21 тижнями обмеження життєвого простору.

З наведеної таблиці 3.1 видно, що обмеження життєвого простору та соціальні негаразди у тварин вже через 6 тижнів призводять до достовірного зниження маси на 20,72 %. До 15 тижня відбулося відновлення вагового показника до вихідних, а вже на 21 тижні маса щурів перевищила контрольні на 26,1 %.

Порівняння значень маси тіла щурів експериментальних груп показало, що на 6 тижні обмеження життєвого простору показник був нижчим, чим в групах із 15 та 21 тижнями на 20,7 % та 26 %, тоді як збільшення ваги у щурів з 15 до 21 тижня не перевищило 5 % (див. табл. 3.1).

Виявлені коливання вагових характеристик у щурів на тлі стресу стали свідченням динамічних поступових змін адаптаційно-присосувальних механізмів для подолання стресорних навантажень та відновлення



гомеостазису. Однак, подальше зростання маси тіла тварин на 21 тижні стресу на тлі стабільного підвищення артеріального тиску може свідчити про формування метаболічних порушень, зрив адаптації та, як наслідок, у подальшому розвиток інсулінорезистентності.

Проведення вимірювання артеріального тиску у тварин показало його поступове динамічне зростання, що мало чітку залежність від терміну стресорного впливу на щурів (див. табл. 3.1).

Так вже на 6 тижні обмеження життєвого простору було відмічене стабільне підвищення систолічного тиску порівняно до контролю на 7 % без зміни значень діастолічного тиску. На 15 тижні зростаючий тренд продовжився, спостерігалось збільшення систолічного тиску, порівняно до контролю, на 17 %, діастолічного – на 21,4 %. Довготривалий restraint-стресом протягом 21 тижня призвів до збільшення систолічного тиску на 26 %, діастолічного - на 37 % (див. табл. 3.1). Необхідно відмітити, що АТ неуклінне зростав вже з 6 тижнів обмеження життєвого простору та на 21 тижні restraint-стресу перевищив цільові 130/80 мм рт.ст. склавши, в середньому, майже 145/95 мм рт.ст., що за рекомендаціям Європейського товариства гіпертензії та Європейського товариства кардіології розглядається як артеріальна гіпертензія I ступеня [119].

Формування цієї нозологічної форми обов'язково пов'язана із гормонально-метаболічними змінами, що прогресують з часом та потенціюють зміни за патогенетичним принципом «хибного кола».

### **3.2 Характер змін гормонального профілю у щурів із стрес-обмеженням різної тривалості**

Наступним етапом дослідження було вивчення показників гормонального профілю, що виявляються у щурів при тривалому комбінованому стрес-обмеженні, та аналізу динаміки змін їх концентрацій в залежності від тривалості обмеження життєвого простору.



Варто відмітити, що характер змін гормонального профілю свідчив про реалізацію «класичних» механізмів адаптаційного синдрому та дезадаптації наприкінці експерименту. Так на початку сформованого стресу на 6-у тиждень обмеження життєвого простору спостерігалось збільшення концентрації АКТГ більш ніж на 50 %, зниження інсуліну на 34 % та сталість, порівняно до контролю, концентрації ключового гормону адаптації кортикостерону (табл. 3.2).

Таблиця 3.2 – Концентрації досліджуваних гормонів у щурів із стрес-обмеженням різної тривалості, ( $M \pm m$ )

Концентрації гормонів в плазмі крові	Експериментальні групи			
	1-а (контроль, n=10)	2-а (6 тижнів, n=15)	3-а (15 тижнів, n=15)	4-а (21 тиждень, n=15)
Інсулін, мМО/мл	2,66±0,02	1,95±0,01 <sup>1</sup>	1,23±0,01 <sup>1,2</sup>	3,98±0,03 <sup>1,2,3</sup>
Адренкортикотропний гормон, пг/мл	23,7±0,17	35,7±0,23 <sup>1</sup>	34,4±0,22 <sup>1</sup>	48,8±0,28 <sup>1,2,3</sup>
Кортикостерон, мкг/мл	89,4±2,49	82,16±2,75	336,6±7,53 <sup>1,2</sup>	106,8±2,37 <sup>1,2,3</sup>

Примітка 1. ( <sup>1</sup> ) – достовірна різниця показників груп із стресом різної тривалості ( $p_{st} < 0,05$ ) відносно відповідних показників контрольної групи.

Примітка 2. ( <sup>2</sup> ) - достовірна різниця показників 3 та 4 груп із стресом ( $p_{st} < 0,05$ ) до значень 2 групи із 6 тижнями обмеження життєвого простору.

Примітка 3. ( <sup>3</sup> ) - достовірна різниця показників 3 групи із стресом ( $p_{st} < 0,05$ ) до значень 4 групи із 21 тижнями обмеження життєвого простору.

15 тиждень стрес-обмеження порівняно до контролю показав подальше зниження рівня інсуліну у два рази, на 45 % вищі значення АКТГ та «пікове» у 3,76 рази зростання концентрації кортикостерону (див. табл. 3.2).

Обмеження життєвого простору у щурів протягом 21 тижня призвело до достовірного у 1,5 рази збільшення концентрації інсуліну, більш ніж у два рази АКТГ та вищих на 19,4 % значень кортикостерону (див. табл. 3.2).





Порівняння концентрацій гормонів в залежності від терміну експериментального стресу показало зворотну осциляцію рівнів інсуліну та кортикостерону та лінійне поступове збільшення концентрації АКТГ. При цьому значення інсуліну в плазмі крові щурів ставало найменшим на 15 тижні стрес-обмеження (нижче на 58,5 % та у 3,2 рази порівняно із значеннями 6 та 21 тижневих періодів). Концентрація кортикостерону в цей період навпаки була максимально високою перевищивши значення 6 тижневого стресу в 4 рази, 21 тижня – у 3 рази. Реципрокність коливань значень інсуліну та кортикостерону зберігалася і на 21 тижні, було характерно збільшення рівня інсуліну, порівняно до попереднього періоду більш ніж у 3 рази на тлі зниження концентрації кортикостерону у 3,15 рази (див. табл. 3.2).

Динаміка змін рівня АКТГ у плазмі крові щурів із експериментальним стрес-обмеженням показала порівняно до контролю стабільно підвищений вміст гормону на 6 та 15 тижнях на 34% та 32% без достовірних коливань в межах описаних періодів. Довготривале обмеження життєвого простору протягом 21 тижня призвело до подальшого зростання концентрації АКТГ порівняно із попередніми термінами на 27% (із 6-тижневим) та 28,6 (з 15 тижневим) (див. табл. 3.2).

Проведене дослідження та аналіз цифрових значень концентрацій гормонів показали, що тривале обмеження життєвого простору у тварин та соціальні негаразди, такі як скупчення та постійна зміна партнерів, не зважаючи на свою не виразність та прихований вплив, формують класичні симптоми та стадії стрес-реакції, що реалізуються через механізми загального адаптаційного синдрому. Необхідно зауважити, що для стійкої адаптації та відновленню гомеостазу, що є важливою умовою подолання стресу, ключовим є його завершення. Однак у реальному житті існують так звані безвихідні ситуації, коли вимоги середовища не можуть бути подолані за допомогою специфічних поведінкових реакцій та метаболічних змін. Через неможливість подолання або уникнення стресорів реалізація адекватної відповіді й системного структурного сліду не відбувається, тому адаптація не формується,



а постійні гормональні коливання стають підґрунтям та патогенетичним чинником стійких метаболічних порушень [31, 120].

Відповідно, дослідження показало, що тривалий комбінований стрес-обмеження низької інтенсивності формує гормональні зміни, які на початку проявляються гіпоінсулінемією, збільшенням рівня АКТГ та сталістю концентрації кортикостерону. Пролонгація стресорних впливів призводить до дезадаптивних перебудов, сприяє підвищенню АКТГ, збільшенню рівнів кортикостерону та інсуліну.

### **3.3 Динаміка змін показників вуглеводного та жирового обмінів у щурів із стрес-обмеженням різної тривалості**

В проведеному дослідженні було встановлено, що характер змін рівня глюкози натще динамічно змінювався протягом усіх періодів спостереження та мав достовірні відмінності від значень контролю. Так на 6 тижні обмеження життєвого простору була відмічена достовірно низька концентрації глюкози майже на третину (табл. 3.3).

15 тиждень показав відновлення рівня глюкози, яка перевищила контрольний показник на 28 %, на 21 тижні – на 17 % (див. табл. 3.3).

Слід зазначити, що достовірні коливання концентрації глюкози у щурів із комбінованим стрес-обмеженням майже не виходила за межі еуглікемічного діапазону.

Оцінка динаміки змін рівня глюкози натще у щурів експериментальних груп на 6-у, 15-у та 21-у тижнях показало суттєве майже на 50% збільшення її концентрації на 15-у тижні, порівняно до попереднього терміну, та сталістю наприкінці моделювання стресу (див. табл. 3.3).



Таблиця 3.3 – Показники вуглеводного та жирового обмінів у щурів із стрес-обмеженням різної тривалості, ( $M \pm m$ )

Концентрації досліджуваних показників в плазмі крові	Експериментальні групи			
	1-а (контроль, n=10)	2-а (6 тижнів, n=15)	3-а (15 тижнів, n=15)	4-а (21 тиждень, n=15)
Глюкоза, мМ/л	4,6±0,09	3,13±0,14 <sup>1</sup>	5,9±0,14 <sup>1,2</sup>	5,4±0,22 <sup>1,2</sup>
Тригліцериди, мМ/л	1,64±0,14	1,56±0,17	2,36±0,13 <sup>1,2</sup>	3,37±0,16 <sup>1,2,3</sup>
Холестерол, мМ/л	4,94±0,28	4,69±0,09	5,63±0,25	7,64±0,41 <sup>1</sup>
Загальні ліпіди, г/л	3,37±0,19	4,14±0,23 <sup>1</sup>	3,93±0,22	6,69±0,27 <sup>1,2,3</sup>

Примітка 1. ( <sup>1</sup> ) – достовірна різниця показників груп із стресом різної тривалості ( $p_{st} < 0,05$ ) відносно відповідних показників контрольної групи.

Примітка 2. ( <sup>2</sup> ) - достовірна різниця показників 3 та 4 груп із стресом ( $p_{st} < 0,05$ ) до значень 2 групи із 6 тижнями обмеження життєвого простору.

Примітка 3. ( <sup>3</sup> ) - достовірна різниця показників 3 групи із стресом ( $p_{st} < 0,05$ ) до значень 4 групи із 21 тижнями обмеження життєвого простору.

Визначення значень у плазмі крові щурів тригліцеридів, холестеролу та загальних ліпідів, як основних показників жирового обміну, показало їх поступове динамічне збільшення із максимальними концентраціями на 21 тиждень обмеження життєвого простору. При цьому концентрація тригліцеридів ставала достовірно вище на 43 % значень контролю починаючи із 15 тижня стрес-обмеження із подальшим двократним збільшенням на 21 тиждень. Розглядаючи динаміку змін концентрації тригліцеридів слід відмітити залежність її збільшення від тривалості обмеження життєвого простору. Так на 15 тижні, порівняно із 6-тижневим періодом відбулося збільшення рівня тригліцеридів більш ніж на 50 %, на 21 – у 2,16 рази. При цьому з 15 до 21 тижня вміст тригліцеридів став більшим на 42% (див табл. 3.3).



Концентрація холестеролу у щурів, що зазнали тривалого впливу комбінованого стресу показала достовірні відмінності, порівняно до контролю тільки на при кінці експерименту на 21 тижні, при цьому його значення ставали більшими більш ніж у 1,5 рази. Оцінка динаміки змін значень холестеролу з 6 по 21 тижні обмеження життєвого простору тваринам показало поступову динаміку збільшення показника. Так вже на 15 тижні, порівняно із 6-м, відбулося достовірне збільшення холестеролу на 20 %, на 21, порівняно до 15 тижня – ще на 35,7%. Динаміка змін показала поступове динамічне зростання концентрації холестеролу з 6 по 21 тижні експерименту в 1,62 рази (див. табл. 3.3).

Рівень загальних ліпідів через тривалий стрес-обмеження показав порівняно до контролю синусоїдальну криву. При цьому на 6 тижні відбулося на 22,8 % їх збільшення, відносно сталість на 15 тижні та достовірне, майже у два рази збільшення на 21 тижні. Аналізуючи отримані значення в динаміці розвитку стресу треба відмітити, що 6 та 15 тижні характеризувалися сталістю показників рівня загальних ліпідів, тоді як завершення експерименту на 21 тижні показало суттєве підвищення досліджуваного показника, порівняно до попередніх термінів на 61 % та 62,5 % відповідно (див. табл. 3.3).

Резюмуючи вищеописане можна відмітити деякі особливості встановлених змін показників вуглеводного (глюкоза натще) та жирового (рівні тригліцеридів, холестеролу та загальних ліпідів) обмінів в експериментальних групах із тривалим стресом по відношенню до контрольних тварин та тимчасові особливості в динаміці формування стрес-реакції. Так порівняно до значень контрольної групи на 6 тижні стрес-обмеження рівень глюкози натще був нижчим майже на третину, при цьому концентрації тригліцеридів та холестеролу достовірно не відрізнялися, а рівень загальних ліпідів ставав вищим на 22,8 %. 15 тиждень показав значні коливання досліджуваних параметрів, при цьому рівень глюкози показав не тільки відновлення значень, спостерігалось достовірне переважання значення контролю на 28 %. В описаний період відбулося збільшення на 43 % рівня



тригліцеридів, тоді як концентрації холестеролу та загальних ліпідів залишалися стабільними. Суттєві зміни досліджуваних параметрів показали на 21 тиждень, які значуще перевищили як контрольні цифри, так і попередні терміни (окрім глюкози натще), що можна розглядати як ознаки виснаження адаптаційних резервів, порушення гомеостазу із формуванням дезадаптаційних змін.

### **3.4 Особливості змін глікемічного профілю при внутрішньочеревинному тесті толерантності до глюкози у щурів із стрес-обмеженням різної тривалості**

На сучасному етапі критерії діагностики порушення вуглеводного обміну та категорії ризику формування інсулінорезистентності в клінічній практиці встановлюються за допомогою перорального глюкозотолерантного тесту [121-125]. Це доведений факт, який широко увійшов до методичних підходів сучасних ендокринологів, гінекологів, кардіологів та інших фахівців.

Тести на толерантність до глюкози часто використовують у доклінічних дослідженнях на лабораторних тваринах, що необхідно при характеристиці фенотипів ожиріння, методології моделювання та аналізі специфіки метаболічних змін [126-128]. При проведенні тестів враховуються одразу багато параметрів: це і вихідний рівень глюкози натще, характер та швидкість підйому рівня глюкози, особливості та динаміка зниження глюкози, особливості завершального періоду наприкінці тесту. Більшість з описаних параметрів характеризує форма глікемічної кривої.

Так при клінічних спостереженнях було доведено, що форми кривої концентрації глюкози в плазмі під час перорального глюкозотолерантного тесту пов'язані з різними профілями метаболічного ризику та майбутнім ризиком розвитку цукрового діабету 2 типу [129, 130].

Враховуючи високу інформативність ГТТ та виявлені у експериментальних щурів, що тривало знаходилися в умовах обмеженого



життєвого простору із комбінацією впливів інших негараздів (малорухливість, постійна заміна партнерів), гормонально-метаболических порушень, збільшення ваги та стійкого підвищення АТ, з'явилась необхідність оцінити специфіку метаболічного фенотипу тварин та виявити приховану інсулінорезистентність.

На першому етапі ГТТ було проведено щуром, що знаходився у звичайних умовах без обмеження простору та соціальних негараздів. У щурів контрольної групи вихідний рівень глюкози натще знаходився в межах еуглікемічного діапазону та складав  $4,61 \pm 0,09$  мМ/л. Після внутрішньочеревинного введення глюкози вже на 15 хв тесту її рівень досяг максимальних значень склавши в середньому  $11,38 \pm 0,32$  мМ/л, на 30 хв відбулося двократне зниження рівня глікемії  $6,63 \pm 0,21$  мМ/л із повним відновленням до вихідного рівня на 90-й хв тесту до  $4,19 \pm 0,12$  мМ/л. Описаний тип глікемічної кривої представлений на рисунку 3.1 де контрольні значення представлені у вигляді синьої кривої, а її тип визначений як нормоглікемічний (рис. 3.1).

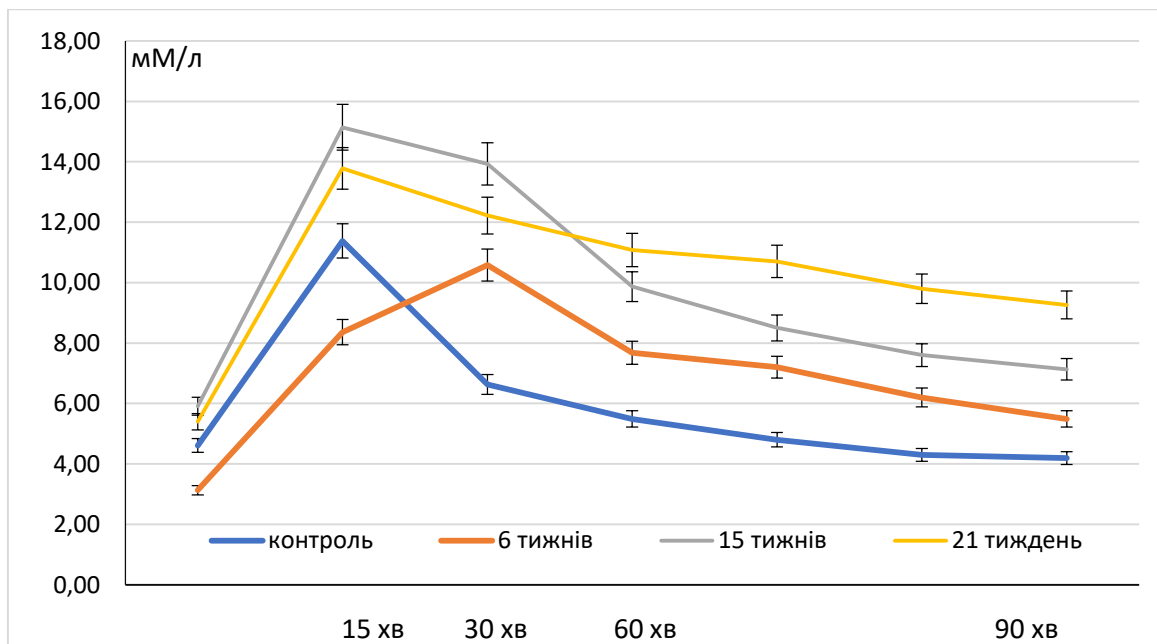


Рисунок 3.1 – Характер змін глікемічних кривих при проведенні внутрішньочеревинного тесту толерантності до глюкози у щурів із стрес-обмеженням різної тривалості, ( $M \pm m$ )



Проведення ГТТ у щурів, що тривалий час знаходилися в умовах обмеженого життєвого простору у комбінації із додатковими негараздами низької інтенсивності, виявило значні відмінності реакції на глюкозу, що залежала від тривалості обмеження та вихідних значень глюкози.

Так у щурів, які 6 місяців знаходилися в умовах обмеження життєвого простору тип глікемічної кривої був схожим на нормоглікемічним (див. рис. 3.1 – помаранчева крива), але мав деякі відмінності від контрольної. При порівнянні кривих було встановлено, глікемічний максимум, який у контрольних тварин формувався вже на 15 хв тесту досягав «пікових значень» тільки на 30 хв. Цікавим було встановлено, що ні на 15, ні на 30 хв рівень глюкози не досягав значень контролю, а знаходився в межах  $8,36 \pm 0,43$  мМ/л -  $10,58 \pm 0,51$  мМ/л, тобто глікемічний максимум в крові був достовірно нижчим, або «гіпоглікемічним». Еуглікемічний рівень досягався не до 30 хв як в контролі, а лише до 90 хв тесту, при цьому рівень глюкози не досягав вихідних значень, який на початку тесту становив  $3,13 \pm 0,14$  мМ/л, на при кінці -  $5,49 \pm 0,17$  мМ/л, що на 75 % вище (див. рис. 3.1). Ймовірно, встановлені зміни пов'язані із вихідними низькими значеннями рівнів глюкози й інсуліну (див. табл. 3.2 та 3.3) через знижену відповідь  $\beta$ -клітин на глікемічні стимули, а глікемічну криву можна охарактеризувати як гіпоглікемічно-гіпоінсулінімічну.

Обмеження простору у тварин протягом 15 тижнів сприяло значній зміні післяпрандіального засвоєння глюкози, що проявлялося відмінностями глікемічної кривої при проведенні ГТТ. Результат тесту показав, що на тлі більш високого вихідного рівня глюкози (вище значень контролю на 28%) та низької концентрації інсуліну (менше контролю на 54%) була сформована глікемічна крива за гіпоінсулінімічним типом із збереженою чутливістю тканин до глюкози (див. рис. 3.1 – жовта лінія на графіку). Слід відмітити, що глікемічний максимум формувався на 15 хв тесту та мав найвищі значення  $15,14 \pm 0,29$  мМ/л порівняно із контролем, групами із 6 та 21 тижнями обмеження. Динаміка зниження концентрації глюкози в після абсорбційному



періоді з 30-ї до 90 хв була дуже повільною без повернення на 90 хв ( $7,13 \pm 0,43$  мМ/л) до початкових значень ( $5,91 \pm 0,14$  мМ/л), що на 20,8 % було вищим. Варто відмітити, що значення глюкози на 90 хв тесту свідчить за її вихід у гіперглікемічний діапазон. Описаний характер змін глікемічної кривої (див. рис. 3.1 – сіра лінія на графіку) відповідає гіпоінсулінічному типу, що сформувався через вихідний низький рівень інсуліну та додатковий гіперглікемізуючий вплив кортикостерону, концентрація якого в цей період перевищувала значення контролю у 2,77 рази (див. табл. 3.2).

Через 21 тижневе обмеження життєвого простору, малорухливість та складні комунікаційні відносини у щурів відбувалося формування діабетичного типу глікемічної кривої (див. рис. 3.1 – жовта лінія на графіку), для якої було характерно порушення ранньої та пізньої фаз секреції інсуліну з розвитком інсулінорезистентності. Про це свідчили високі рівні глікемії протягом 15-30-45 хв після абсорційного періоду ( $13,78 \pm 0,41$  мМ/л,  $12,22 \pm 0,4$  мМ/л,  $11,08 \pm 0,65$  мМ/л) із низькими коливаннями значень, збереженням гіперглікемії при завершенні тесту на 90 хв ( $9,26 \pm 0,57$  мМ/л). Звертає на себе увагу той факт, що на тлі нормативних еуглікемічних значень рівня глюкози на початку тесту  $5,4 \pm 0,22$  мМ/л її перевищення в пізньому після абсорційному періоді склало більше 70 % (див. рис. 3.1).

Таким чином, обмеження життєвого простору, малорухливість та складні комунікаційні відносини у щурів поступово формують комплекс порушень, що змінюють характер глікемічної реакції на глюкозне навантаження, порушують прандіальну секрецію інсуліну, підвищують гіперглікемізуючу дію контрінсулярного гормону кортикостерону та реалізують дисфункціональні прояви прандіальної/після прандіальної глікемії. При цьому динаміка змін прогресує з часом, так 6 тижнів обмежень та негараздів формують гіпоінсулінічно-гіпоглікемічний тип глікемічної кривої із високою чутливістю тканин до глюкози. 15 тижнів показує гіпоінсулінічну криву із збереженою чутливістю тканин до глюкози. 21





тиждень обмежень формує діабетичний тип глікемічної кривої із порушенням чутливості тканин до глюкози та розвитком інсулінорезистентності.

### **3.5 Оцінка чутливості тканин до інсуліну за результатами розрахункового індексу НОМА-IR та стресової адаптації/дезадаптації за кортикостерон/інсуліновим співвідношенням у щурів із стрес-обмеженням різної тривалості**

Різні типи стресорів, в тому числі психологічні та складні комбіновані, впливають як на центральний, так і на периферичний метаболізм та транспорт гормонів через вісь гіпоталамо-гіпофіз-надниркові залози. Таким чином, стрес грає вирішальну роль в етіології та прогресуванні надмірної ваги та ожиріння, призводячи до ряду хронічних захворювань, таких як діабет, серцево-судинні хвороби та розладів психічного здоров'я. Однак взаємодія біологічних та психометричних корелятив стресу, метаболічних параметрів та психосоціальних факторів, залишаються погано вивченими та складно діагностуємыми.

Інсулінорезистентність є одним із основних факторів, що посилюють метаболічний синдром при сформованих стрес-реакціях та їх ускладненнях. Існує безліч методів оцінки резистентності до інсуліну від складних до простих показників. Еталонні методи гіперінсулінемічного еуглікемічного клемп-тесту та його альтернатива внутрішньовенному тесту толерантності до глюкози, що часто використовується, є найбільш надійними доступними методами оцінки інсулінорезистентності. Однак є і багато простих методів, на основі яких можна отримати індекси, наприклад, оцінка моделі гомеостазу глюкози (НОМА) [131].

Індекс інсулінорезистентності (IR) можна визначити як кількісний вимір біологічного ефекту ендогенного або екзогенного інсуліну щодо рівня глюкози в крові. Схильність до IR багатофакторна і має сильний генетичний та екологічний вплив. В останні роки з'явився широкий науковий інтерес до



цієї теми, оскільки стало очевидним, що ІР розвивається на ранніх стадіях патологічного процесу, що призводить до діабету. Багато досліджень показали, що це може передувати виникненню діабету на 10-20 років [132].

Індекси ІР можна отримати зі зразків натщесерце, використовуючи математичні формули, що представляють кінетику інсуліну натщесерце з вимірюванням рівня глюкози. Прості індекси, засновані на рівнях глюкози та інсуліну натще (наприклад, НОМА-ІР та QUICKI), оцінюють печінкову ІР більшою мірою, ніж периферичну чутливість до інсуліну. ІР печінки вважається основною детермінантою гіперглікемії натще і, як така, є основним фактором, що сприяє переддіабетичному стану, порушенню рівня глюкози натще [133-135].

Математичні розрахунки індексу НОМА-ІР, як найбільш вживаного діагностичного індексу, показали, що його зміни протягом експериментальної моделі стрес-обмеження у щурів мали значні відмінності, що залежали від періоду спостереження, та коливань рівнів гормонів, які залучені до глюкозного гомеостазу. Аналіз показав, що через 6 місяців обмеження життєвого простору із комбінацією додаткових стресорних впливів у тварин спостерігалось достовірне, більш ніж дворазове зниження індексу НОМА-ІР (табл. 3.4).

На 15 тижні експерименту індекс НОМА-ІР залишався меншим на 37 % значень контрольної групи, але ставав вищим майже на третину порівняно до попереднього терміну спостереження. Тривале обмеження життєвого простору (21 тиждень), що супроводжувалося значними гормонально-метаболічними перебудовами, порушенням ТТГ, збільшенням маси тіла тварин та стійким підвищенням АТ характеризувалося суттєвим збільшенням показнику індексу НОМА-ІР в 1,76 рази (див. табл. 3.4).

Характер змін кортикостерон/інсулінового співвідношення став другим розрахунковим індексом, який показав характер гормональних перебудов та рівень змін в системі регуляції глюкозного гомеостазу. Варто відмітити, що за своїми ефектами впливу на рівень глюкози їх вважають



антагоністами, відповідно, збільшення, або зменшення їх співвідношення покаже вектор змін у вуглеводному обміні.

Таблиця 3.4 – Показники розрахункового індексу НОМА-IR та кортикостерон/інсулінового співвідношення у щурів із стрес-обмеженням різної тривалості, ( $M \pm m$ )

Розрахункові індекси	Експериментальні групи			
	1-а (контроль, n=10)	2-а (6 тижнів, n=15)	3-а (15 тижнів, n=15)	4-а (21 тиждень, n=15)
НОМА-IR	0,54±0,03	0,23±0,01 <sup>1</sup>	0,33±0,02 <sup>1,2</sup>	0,95±0,03 <sup>1,2,3</sup>
I <sub>к/і</sub> (кортикостерон/ інсуліновий)	33,69±1,08	42,75±1,35 <sup>1</sup>	275,4±22,1 <sup>1,2</sup>	112,68±7,39 <sup>1,2,3</sup>

Примітка 1. ( <sup>1</sup> ) – достовірна різниця показників груп із стресом різної тривалості ( $p_{st} < 0,05$ ) відносно відповідних показників контрольної групи.

Примітка 2. ( <sup>2</sup> ) - достовірна різниця показників 3 та 4 груп із стресом ( $p_{st} < 0,05$ ) до значень 2 групи із 6 тижнями обмеження життєвого простору.

Примітка 3. ( <sup>3</sup> ) - достовірна різниця показників 3 групи із стресом ( $p_{st} < 0,05$ ) до значень 4 групи із 21 тижнями обмеження життєвого простору.

Розрахунок показав, що експериментальний стрес-обмеження, не залежно від тривалості обмеження життєвого простору, призводив до збільшення коефіцієнту кортикостерон/інсулінового співвідношення, при цьому на 6 тижні він був вищим за значення контрольної групи на 26,8 %, на 15 тижні – більш ніж у 8 разів, на 21 тижні – перевищував у три рази. Окремо слід звернути увагу, що під час спостереження відбувалося синусоїдальне коливання значень із коефіцієнту із максимумом на 15 тижні (див. табл. 3.4).

Таким чином, у проведеному дослідженні цікавими виявилися зміни індексів інсулінорезистентності (НОМА-IR) та стресової адаптації/деадаптації (кортикостерон/інсуліновий). Їх розрахунки у тварин з груп 6 та 15 тижнів стрес-обмеження показали нижчі значення індексу НОМА-



IR чим в контролі через гіпоінсулінемію та високий рівень кортикостерону, що свідчить про збереженість чутливості тканин до інсуліну на тлі потужних гормональних змін. Тривале стрес-обмеження протягом 21 тижня формує складні гормонально-метаболичні порушення, які призводять до збільшення індексів, особливо НОМА-IR в 1,76 рази, що стало хоч і непрямим, але неперевершеним аргументом сформованої інсулінорезистентності, при цьому кортикостерон/інсуліновий індекс значно збільшився на 15 тижні експерименту саме через виразну гіперкортикостеронемию, що дає можливість припустити в цьому періоді перехід до дезадаптивних змін. Секреція гормонів наднирковими залозами зазвичай має адаптивний ефект при короткострокової дії. Однак при тривалому або повторному стресі вони можуть викликати патологічні зміни в організмі. Пошкоджуючий ефект глюкокортикоїдів у цих умовах визначають як «алостатичне навантаження», що стає одним з основних патогенетичних ланцюгів формування метаболичних порушень. При наростанні тяжкості та з часом алостатичне навантаження збільшеним рівнем глікемії через гіперглікемізуючі ефекти кортикостероїдів набуває патологічних наслідків й формує інсулінорезистентність. Відповідно обидва індекси показали ключові ланцюги та закономірності формування IR, яка стане базисом у прогресуванні порушень вуглеводного та жирового обмінів.

**Резюме.** Проведене дослідження гормонально-метаболичних змін дозволило вперше у тварин з експериментальним стрес-обмеженням різної тривалості надати комплексну оцінку змін гормонального профілю (рівнів кортикостерону, інсуліну та АКТГ) та метаболичних параметрів (за показниками вуглеводного та жирового обмінів). Враховуючи низьку інтенсивність, невиразність та прихований вплив комплексу негараздів, накопичення метаболичних змін спостерігалось поступово. Експеримент показав, що у щурів, які піддавалися довготривалому стресу низької інтенсивності, що не може бути подоланим (обмеження життєвого простору), постійна індукція додаткових підпорогових стресорів (соціальні негаразди,



постійна заміна партнерів, малорухливість) вже з 6 місяця спостерігаються виразні та різноспрямовані зміни гормонального балансу, що формують патерни змін у вуглеводному та жировому обмінах для реалізації адаптивних програм, але через пролонгацію впливів на 15 тижні розвиваються дезадаптивні зміни із їх трансформацією у стійкі патологічні форми: артеріальну гіпертензію та інсулінорезистентність.

Дослідження показало, що 6-й тиждень обмеження життєвого простору тварин призводив до значного зменшення маси тварин та стабільного підвищення систолічного тиску порівняно до контролю на 7 % без зміни значень діастолічного тиску. Специфіка змін гормонального профілю свідчила про реалізацію «класичних» механізмів адаптаційного синдрому, спостерігалось збільшення концентрації АКТГ більш ніж на 50 %, зниження інсуліну на третину та сталість, порівняно до контролю, концентрації ключового гормону адаптації кортикостерону. Відмічена достовірно низька концентрації глюкози майже на третину, тоді як концентрації тригліцеридів та холестеролу достовірно не відрізнялися, а рівень загальних ліпідів ставав вищим на 22,8 %. При проведенні ГТТ був встановлений «гіпоглікемічно-гіпоінсулінемічний» тип глікемічної кривої, яка мала низку відмінностей від контрольної: глікемічний максимум, досягав «пікових значень» тільки на 30 хв, а не на 15 хв; рівень глікемії на 15 та 30 хв був нижче контрольних; еуглікемічний рівень досягався не до 30 хв як в контролі, а лише до 90 хв тесту, рівень глюкози на 90 хв не досягав вихідних значень, та був на 75 % вище. Розрахунковий індекс інсулінорезистентності НОМА-IR показав достовірне, більш ніж дворазове його зниження.

До 15 тижня відбулося відновлення вагового показника до вихідних значень, спостерігалось збільшення систолічного тиску порівняно до контролю на 17 %, діастолічного – на 21,4 %. Відбулося подальше зниженням рівня інсуліну у два рази, відмічені на 45 % вищі значення АКТГ та «пікове» у 3,75 рази зростання концентрації кортикостерону. При цьому спостерігалось збільшення рівня глюкози до значень контрольної групи та збільшення на 43%



рівня тригліцеридів, тоді як концентрації холестеролу та загальних ліпідів залишалися стабільними. Результатом проведеного ГТТ було встановлення «гіпоінсулінемічного» типу глікемічної кривої та виявлення особливостей засвоєння післяпрандіальної глюкози: більш високий вихідний рівень глюкози (вище значень контролю на 28%); формування глікемічного максимуму на 15 хв тесту із найвищими значеннями  $15,14 \pm 0,29$  мМ/л порівняно із контролем, групами із 6 та 21 тижнями обмеження; повільність динаміки зниження концентрації глюкози в після абсорбційному періоді з 30-ї до 90 хв без повернення на 90 хв ( $7,13 \pm 0,43$  мМ/л) до початкових значень ( $5,91 \pm 0,14$  мМ/л), що на 20,8 % було вищим. Відмічено вихід рівня глюкози на 90 хв тесту у гіперглікемічний діапазон. Індекс НОМА-IR залишався меншим на 37 % значень контрольної групи.

На 21 тижні маса щурів перевищила контрольні на 26,1 %, збільшення показників АТ продовжилося, відбулося підвищення систолічного тиску на 26 %, діастолічного - на 37 %. АТ щурів перевищив цільові 130/80 мм рт.ст. склавши, в середньому, майже 145/95 мм рт.ст., що за рекомендаціям Європейського товариства гіпертензії та Європейського товариства кардіології розглядається як артеріальна гіпертензія I ступеня. Гормональний профіль, порівняно до контролю, показав достовірне у 1,5 рази збільшення концентрації інсуліну, більш ніж у два рази АКТГ та вищі на 19,4 % значення кортикостерону. Концентрація глюкози натще знаходилась в межах еуглікемічного діапазону, але була вище значень контролю на 17 %. концентрації тригліцеридів та загальних ліпідів показали дворазове збільшення, холестеролу в 1,62 рази. При проведенні ГТТ встановлене формування «діабетичного» типу глікемічної кривої із порушенням ранньої й пізньої фаз секреції інсуліну та розвитком інсулінорезистентності. Про це свідчили високі рівні глікемії протягом 15-30-45 хв після абсорбційного періоду ( $13,78 \pm 0,41$  мМ/л,  $12,22 \pm 0,4$  мМ/л,  $11,08 \pm 0,65$  мМ/л) із низькими коливаннями значень, збереженням гіперглікемії при завершенні тесту на 90 хв ( $9,26 \pm 0,57$  мМ/л). Звертає на себе увагу той факт, що на тлі нормативних



1483480597238750

еуглікемічних значень рівня глюкози на початку тесту  $5,4 \pm 0,22$  мМ/л її перевищення в пізньому після абсорбційному періоді склало більше 70 %.

Розрахунковий індекс НОМА-IR показав відсутність інсулінорезистентності на 6 та 15 тижнях стресу через менші чим в контролі значення глюкози та інсуліну, але підтвердив її формування на 21 тижні коли він перевищив контрольні у 1,76 рази. Кортикостерон/інсуліновий коефіцієнт показав синусоїдальне коливання значень: на 6 тижні він був вищим за значення контрольної групи на 26,8 %, на 15 тижні – більш ніж у 8 разів, на 21 тижні – перевищував у три рази.

Матеріали розділу відображені в 2 статтях та 4 наукових тезах [136-141].



## РОЗДІЛ 4

### МОРФОДЕНСИТОМЕТРИЧНІ ПАРАМЕТРИ ВЕЛИКОКЛІТИННИХ НЕЙРОНІВ ПАРАВЕНТРИКУЛЯРНОГО ГІПОТАЛАМУСУ ТА ХАРАКТЕР ЇХ КОРЕЛЯЦІЙНИХ ВЗАЄМИН ІЗ ГОРМОНАЛЬНО-МЕТАБОЛІЧНИМИ ЗМІНАМИ ПРИ СТРЕС- ОБМЕЖЕННІ РІЗНОЇ ТРИВАЛОСТІ У ЩУРІВ

В представленому розділі показані результати дослідження морфоденситометричних показників великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу при тривалому комбінованому стрес-обмеженні. Було досліджено показники морфологічних змін структур нейронів ПВЯ гіпоталамусу за площею ( $\text{мкм}^2$ ) цитоплазми, ядер та ядерць нейронів. Проведена оцінка їх функціональної активності за синтезом нуклеїнових кислот, що вираховувалось за допомогою гістохімічного методу, котрим отримували наступні параметри: вміст нуклеїнових кислот, про що свідчили кількісні зміни оптичної густини (в умовних одиницях оптичної густини –  $\text{УО}_{\text{ог}}$ ) в ядрах, ядерцях і цитоплазмі клітин, які були обумовлені рівнем накопичення гетерогенних нуклеїнових кислот в площі досліджуваної структури ( $\text{УО}_{\text{ог}}/\text{мкм}^2$ ).

Варто відмітити, що в реалізації програм стресу приймає участь ціла група гіпоталамічних нейрогормонів таких як окситоцин, нейропептид Y, орексин, серотонін, дофамін, грелін, динорфін, урокортин, галанін, речовина P, але ключовими та найвагомішими нейропептидами, що безпосередньо ініціюють та модулюють реакцію на стрес, є кортикотропін-релізинг-гормон (КРГ) та аргінін-вазопресин (АВП). Ці два гормони виявляються в багатьох нейронах, однак основною структур мозку, в якій вони синтезуються, є гіпоталамус з його ПВЯ та СОЯ ядрами. Дослідження показали, що обидва регулятори реалізують свій вплив як системно, через метаболічні та поведінкові зміни, так і місцево, впливаючи на стимуляцію або гальмування





навколишніх нейронів тим самим змінюючи вектор реалізації програм адаптації [89, 142-144]. При локальній дії їх ефекти характеризуються взаємо потенціуючим впливом. Доведений нейромодуючий вплив КРГ та АВП на нейрони-мішені як в самому гіпоталамусі, так і на вище, або нижче розташовані центри мозку, що є компонентами реалізації загального адаптаційного синдрому [142].

Цікавим виявився факт, що кожен з гормонів-регуляторів стресу має не тільки свої власні переважні просторові області вивільнення і дії, доведено значущість тимчасовості впливу КРГ та АВП, що безпосередньо формує картину адаптаційного синдрому. Саме ці умови – просторовість та тимчасовість ефекту регуляторів, дозволяє мозку ефективно справлятися з усім спектром проблем, що спровоковані стресом – від негайної уваги, прийняття стратегічних рішень та механізмів їх реалізації, важливих для виживання у короткостроковій перспективі, до зберігання інформації про саму стресову ситуацію на випадок виникнення подібних подій у подальшому житті, що є вигідним у довгостроковій перспективі. Відповідно, приходить розуміння важливої умови для ефективності реалізації складної програми адаптації – всі дії різноманітних медіаторів стресу на залучених рівнях мозкових центрів повинні бути чітко організовані в скоординовану реакцію, яка може бути успішно реалізована виключно за умов ефективності та узгодженості роботи ключового координатора – гіпоталамусу, особливо його різнорідних за структурою та функцією велико- та дрібноклітинних нейронів паравентрикулярного ядра [145].

Слід зазначити, що не менш важливою умовою ефективності реалізації стрес-реакції та її завершення є характер дії та сталість антистресорної системи. Сьогодні важливою її часткою розглядається окситоцинергічний компонент [146-148].

Класичний та добре відомий гормон окситоцин (ОТ) в основному виробляється в нейронах СОЯ, ПВЯ та додаткових ядер між ними. Експериментально було встановлено, що великоклітинні окситоцинергічні



нейрони в СОЯ та ПВЯ переважно іннервують області гіпофіза та переднього мозку, а дрібноклітинні ОТ-нейрони в ПВЯ пов'язані із стовбуровими структурами головного та спинного мозку. Мікроскопічні дослідження показали, що ці дві популяції ОТ-нейронів мають тісні взаємодії, як гістологічно, так і функціонально [149].

На сьогодні існує незаперечний факт, що окситоцинергічна система чинить гальмуючий вплив на симпатичну активність за рахунок зниження простресорного компоненту та індукції висі ГГНЗ в цілому. Існує велика кількість даних, що дозволяють стверджувати, що ОТ вивільняється у системний кровотік під впливом гострих стресорів та чинить протективний вплив зменшуючи негативні прояви стресу [146].

Зацікавленість окситоцином та вазопресином багатьма науковцями пов'язана із особливостями їх молекулярної структури, що дуже подібна за структурою – є нонапептидними гормонами з дисульфідним містком, а амінокислотні послідовності відрізняються лише у двох положеннях. Але виявляється парадокс, при цьому вони чинять різноспрямовані ефекти – антистресорний у окситоцину та простресорний у вазопресину. Ще один факт, що їх поєднує – місце синтезу. Обидва нейрогормони утворюються, в більшості, у великоклітинних нейронах ПВЯ гіпоталамусу, які гістологічно майже не відрізняються, тобто мають практично однакові морфологічні ознаки [150].

Отримана ґрунтовна наукова інформація дозволяє стверджувати, що нейросекреторна система гіпоталамусу залучена до реалізації стрес-реакції, ключове значення в реалізації якої грають великоклітинні нейрони ПВЯ. До того є докази хронічної стрес-індукованої морфологічної пластичності цих нейронів. Доведено, що хронічне стрес-напруження сприяє змінам розміру клітин, їх ГАМК-ергічної та глутаматергічної іннервації. Було визначено, що реакція великоклітинної системи гіпоталамусу варіюється в залежності від різних парадигм хронічного впливу. Так встановлено, що зміни експресії генів нейрогіпофізарних гормонів, секреції пептидів і морфології спостерігаються в



першу чергу після інтенсивного стресового впливу, тоді як тривале навантаження призводить до виражених змін в експресії генів, рівнях пептидів і пулах пептидів, що вивільняються [151].

Подальші системні дослідження показали, що активація великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу спостерігається у деяких, але не у всіх парадигмах хронічного стресу. Науковці показали, що фізіологічні хронічні стресори, які частіше включають модуляцію балансу рідини та електролітів (наприклад, гіпертонічний сольовий розчин), достовірно збільшують експресію АВП і ОТ у великоклітинних нейронах гіпоталамусу, що відповідно супроводжується підвищеною секрецією пептидів у системний кровотік. На відміну при інших моделях, включаючи хронічний періодичний стрес, або хронічний соціальний стрес, в клітинних структурах ПВЯ гіпоталамусу не відбувається збільшення експресії мРНК АВП, а, навпаки, доведено його зменшення [151].

Висновком аналізу проблематики дослідження механізмів впливу соціального стресу із обмеженням життєвого простору та малорухливістю, як приклад складного хронічного соціального стресу, на стан та морфо-функціональні особливості великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу, є ствердженням про його актуальність, через невирішеність низки питань про специфічність та залученість заявлених структур до реалізації адаптаційних програм. Враховуючи тривалість, складність та комбінативність обраної моделі стресу, складність інтерпретації отриманих результатів, можна стверджувати про необхідність проведення саме експериментального дослідження із моделюванням комплексу негативних впливів, вивчення динаміки змін від початку дії стресорів до формування типових ознак та симптомів патології.



#### 4.1 Морфометричні показники великоклітинних нейронів паравентрикулярного ядра гіпоталамусу у щурів при стрес-обмеженні різної тривалості

Візуальний аналіз фотозображень великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу у щурів контрольної групи показав чітку картину розташування клітин в структурі ядра, при цьому більшість нейронів мали рівномірне зафарбовування цитоплазми, її цілісність, переважно центральне розміщення клітинного ядра та наявність одного ядерця (рис. 4.1).

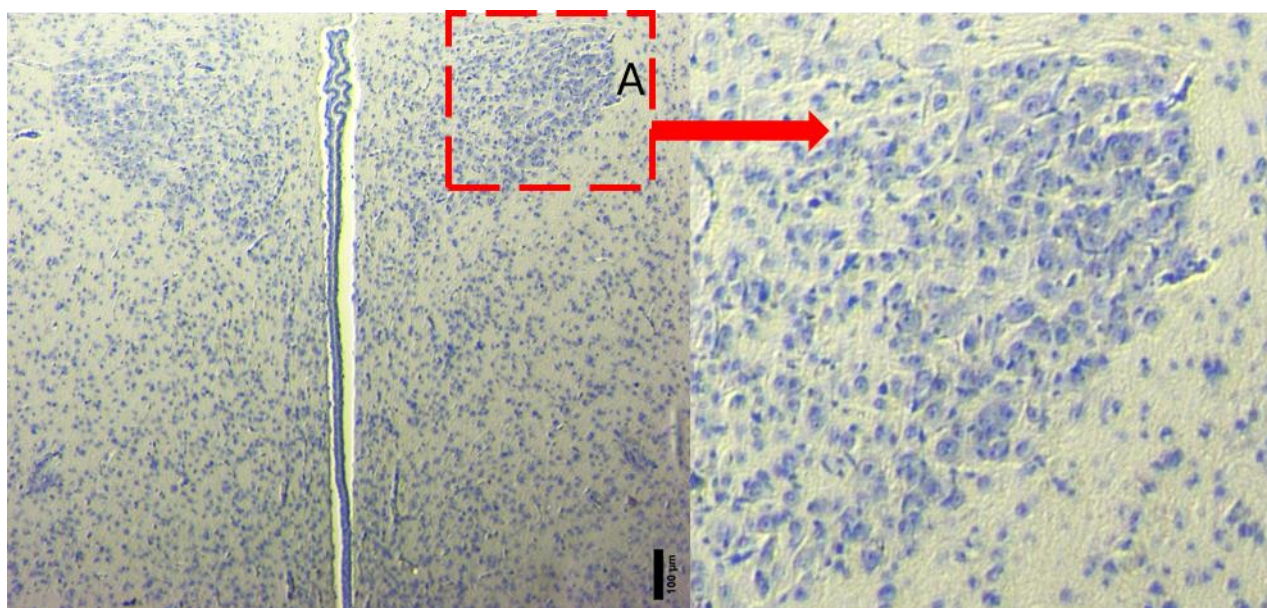


Рисунок 4.1 – ПВЯ гіпоталамусу щура контрольної групи із виділеним збільшеним зображенням великоклітинних нейронів (А). Забарвлення галоціанин-хромовими галунами за Ейнарсоном. Ок. х 10.

На відміну, у щурів експериментальних груп із тривалим обмеженням життєвого простору, що комбінувався із іншими негараздами низької інтенсивності (малорухливістю та соціальними конфліктами) на знімках ПВЯ гіпоталамусу було відмічено наявність нейродегенеративних змін, що переважали саме у великоклітинних нейронах (рис. 4.2).

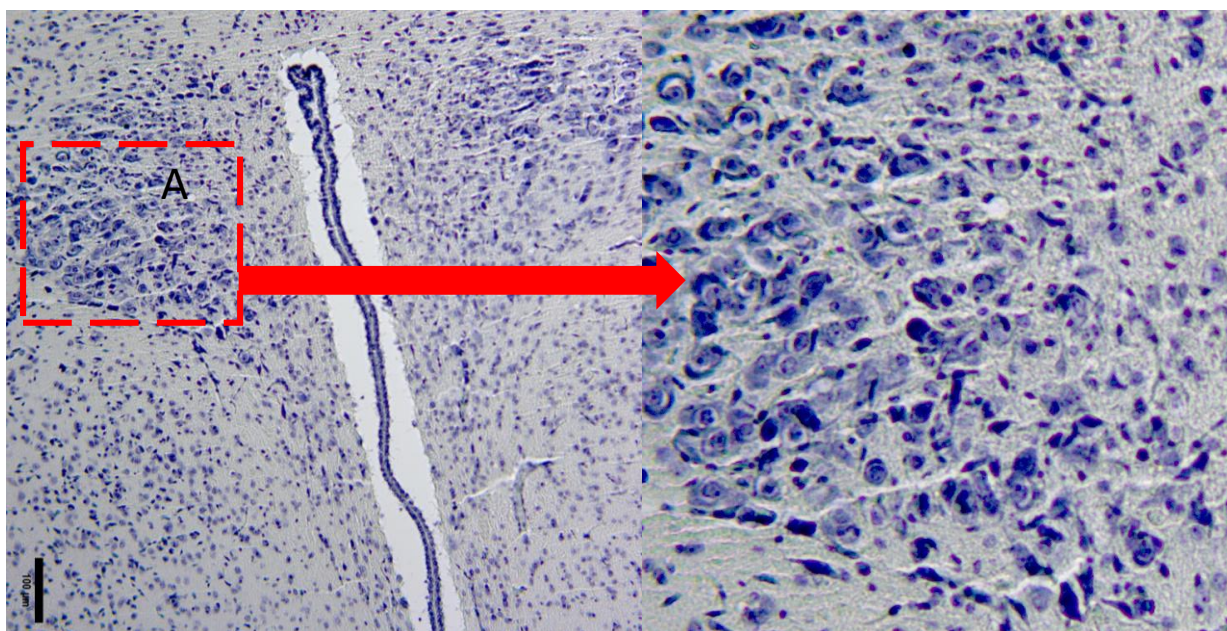


Рисунок 4.2 – ПВЯ гіпоталамусу щура при 21-тижневому стрес-обмеженні із виділеним збільшеним зображенням великоклітинних нейронів (А). Забарвлення галоціанин-хромовими галунами за Ейнарсоном. Ок. х 10.

На мікрофотографіях нейронів ПВЯ у щурів із при стрес-обмеженні було виявлені нейрони із ознаками пікнозу ядер з інтенсивним забарвленням, що скоріше було пов'язане із конденсацією хроматину, ексцентричним зміщенням у них ядерець, згущенням цитоплазматичного вмісту навколо зовнішньої мембрани та перинуклеарним знебарвленням (див. рис. 4.2-А) [152].

При статистичній обробці відеозображень великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу щурів експериментальних груп отримані цифрові данні показали, що порівняно до контрольних значень площа їх цитоплазми зменшувалась прямо пропорційне строку стрес-обмеження. Варто відмітити, що показники площі нейронів у тварин всіх трьох експериментальних груп були достовірно меншими порівняно до контролю. Так на 6 тижні обмеження життєвого простору площа цитоплазми ставала на 18 % меншою, на 15 тижні – на 23 % та на 40 % при 21 тижнях тривалості комбінованого стресу (табл.4.1).





Таблиця 4.1 – Морфометричні параметри великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу у щурів із стрес-обмеженням різної тривалості, ( $M \pm m$ )

Досліджувані параметри	Експериментальні групи			
	1-а (контроль, n=10)	2-а (6 тижнів, n=15)	3-а (15 тижнів, n=15)	4-а (21 тиждень, n=15)
Площа цитоплазми, мкм <sup>2</sup>	339,2±13,4	279,5±14,45 <sup>1</sup>	260,3±7,78 <sup>1</sup>	204,5±5,68 <sup>1,2,3</sup>
Площа ядра, мкм <sup>2</sup>	146,8±3,24	133,9±3,81 <sup>1</sup>	145,5±2,65 <sup>2</sup>	110,8±2,95 <sup>1,2,3</sup>
Сумарна площа ядерців, мкм <sup>2</sup>	54,22±3,94	71,09±2,86 <sup>1</sup>	72,22±2,21 <sup>1</sup>	62,34±2,26 <sup>2,3</sup>

Примітка 1. ( <sup>1</sup> ) – достовірна різниця показників груп із стресом різної тривалості ( $p_{st} < 0,05$ ) відносно відповідних показників контрольної групи.

Примітка 2. ( <sup>2</sup> ) - достовірна різниця показників 3 та 4 груп із стресом ( $p_{st} < 0,05$ ) до значень 2 групи із 6 тижнями обмеження життєвого простору.

Примітка 3. ( <sup>3</sup> ) - достовірна різниця показників 3 групи із стресом ( $p_{st} < 0,05$ ) до значень 4 групи із 21 тижнями обмеження життєвого простору.

Порівняння змін площі цитоплазми в межах експериментальних груп показало, що досліджуваний показник на 6 та 15 тижнях достовірно не відрізнялися, але відмічалася тенденція до зменшення. Порівняння значень попередніх термінів з групою 21 тижня (4-а група) виявило зменшення показника у останніх на 27 %, тоді як різниця між 15-и та 21 тижнями склала 21 % (див. табл. 4.1).

Порівняльний аналіз значень такого важливого показника активності та функціональності нейрону ПВЯ гіпоталамусу як середня площа їх ядер показав подібну закономірність щодо площі цитоплазми. Було доведено, що протягом стресу зміни площі ядер великоклітинних нейронів, також, як і площі їх цитоплазм, ставали меншими порівняно до контролю від 9 % при 6-и тижнях і 25 % при 21-у тижні стресу. Слід звернути увагу, що на 15-у тижні



розміри ядер нейронів наближалися до значень контролю, але подальше обмеження ставало вагомим чинником зменшення площі ядер клітин майже на чверть (див. табл.4.1).

На відміну зміни сумарної площі ядерець протягом тривалого стресу показали зворотню залежність. При цьому площі цитоплазми та ядер нейронів зменшувались прямо пропорційне строкам стресу, площі ядерець нейронів ПВЯ щурів демонстрували осцилятивні коливання із збільшенням на 31 % при 6-и тижнях стресу і 33 % при 15-и, порівняно до контролю. В той час 21-о тижневий стрес викликав достовірне збільшення площі ядерець лише на 15 %, порівняно до контролю (див. табл. 4.1).

В динаміці прогресування стресорної реакції при порівнянні значень площ ядерець у межах експериментальних груп були доведені статистично значущі відмінності між показником групи 6-и тижнів з групою 21-о тижня, де виявлене зменшення на 12 % в останніх, в той час при порівнянні 15-и та 21-о тижневих впливів – на 14 % (див. табл.4.1).

Проведений аналіз цифрових даних морфометричних показників великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу у щурів із тривалим обмеженням життєвого простору показав чітку строкозалежність та різноспрямованість коливань, що пов'язані із функціональними особливостями структурних компонентів нейрону (цитоплазми, ядра та ядерця). Важливим виявився факт, що показав майже синхронне зменшення розмірів цитоплазми нейрону та його ядра, що прогресували зі збільшенням строку стресу, на відміну – площа ядерець показала максимальне збільшення на 6 та 15 тижнях стресу із зниженням до контрольних показників на 21 тижні експерименту.

## **4.2 Денситометричні показники великоклітинних нейронів паравентрикулярного ядра гіпоталамусу у щурів при стрес-обмеженні різної тривалості**

Раніше вже було відмічене, що важливим та достовірним показником



функціональної активності нейрону розглядається вміст та коливання в його компартментах нуклеїнових кислот (НК), що представлені у різних відділах нейрону гетерогенними ДНК (в ядрі та ядерцях) та РНК (в ядрі, ядерцях та цитоплазмі).

Аналіз отриманих результатів показав, що денситометричні параметри, які характеризували ці кількісні зміни, а саме оптична густина в цитоплазмі, ядрах і ядерцях, характеризувалися одно спрямованими змінами в бік достовірного зменшення порівняно до контролю. Слід зазначити, що ці зміни були приблизно рівнозначними.

В досліджуваних великоклітинних нейронах ПВЯ гіпоталамусу щурів експериментальних груп цифровий аналіз значень вмісту НК показав, що в групі із 6-и тижневим обмеженням в цитоплазми клітин їх вміст був меншим за контроль на 39 %, на 15-у тиждень на 34 %, на 21-у тиждень стрес-обмеження на 42 % (табл.4.2).

В структурі ядра великоклітинного нейрону ПВЯ гіпоталамусу вміст нуклеїнових кислот у щурів після 6-о та до 15-о тижня обмеження життєвого простору порівняно до контролю зменшувався приблизно однаково, а саме на 37 % і 35 % відповідно. Довготривале обмеження протягом 21 тижня сприяло ще більш значнішому зменшенні – на 41 % (див. табл. 4.2.).

Аналіз та порівняння змін накопичення нуклеїнових кислот у ядрах великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу в межах експериментальних груп із стресом показали, що зниження їх вмісту на 6-у тиждень залишалося майже не змінним на 15-у, а до 21-о тижня відбулося подальше зменшення на 7 % та 10 % порівняно із попередніми термінами спостереження (див. табл. 4.2).





Таблиця 4.2 – Денситометричні параметри великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу у щурів при стрес-обмеженні різної тривалості, ( $M \pm m$ )

Досліджувані параметри	Експериментальні групи			
	1-а (контроль, n=10)	2-а (6 тижнів, n=15)	3-а (15 тижнів, n=15)	4-а (21 тиждень, n=15)
Вміст НК в цитоплазмі, $УО_{ог}/мкм^2$	156,8 $\pm$ 0,7	95,5 $\pm$ 0,9 <sup>1</sup>	103,0 $\pm$ 0,7 <sup>1,2</sup>	90,7 $\pm$ 0,8 <sup>1,2,3</sup>
Вміст НК в ядрі нейрону, $УО_{ог}/мкм^2$	146,8 $\pm$ 0,6	92,0 $\pm$ 0,8 <sup>1</sup>	95,4 $\pm$ 0,5 <sup>1,2</sup>	86,0 $\pm$ 0,9 <sup>1,2,3</sup>
Сумарний вміст НК в ядерцях нейронів, $УО_{ог}/мкм^2$	137,2 $\pm$ 0,6	81,9 $\pm$ 0,5 <sup>1</sup>	83,4 $\pm$ 0,4 <sup>1,2</sup>	77,7 $\pm$ 0,5 <sup>1,2,3</sup>

Примітка 1. ( <sup>1</sup> ) – достовірна різниця показників груп із стресом різної тривалості ( $p_{st} < 0,05$ ) відносно відповідних показників контрольної групи.

Примітка 2. ( <sup>2</sup> ) - достовірна різниця показників 3 та 4 груп із стресом ( $p_{st} < 0,05$ ) до значень 2 групи із 6 тижнями обмеження життєвого простору.

Примітка 3. ( <sup>3</sup> ) - достовірна різниця показників 3 групи із стресом ( $p_{st} < 0,05$ ) до значень 4 групи із 21 тижнями обмеження життєвого простору.

В ядерцях великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу при змодельованому стресі вміст нуклеїнових кислот, порівняно до контролю, змінювався аналогічно: в групі 6-и тижнів було характерне зменшення на 40 %, після 15-и тижнів – на 39 % і на 43 % після 21 тижня (див. табл. 4.2).

Оцінка змін вмісту нуклеїнових кислот в ядерцях нейронів ПВЯ протягом сформованої стрес реакції показало, що з 6-о по 15-й тиждень значення вмісту НК було рівномірно меншим контрольних без значущих коливань, на 21-у тиждень відбулося подальше зменшення вмісту НК на 6 % та 8 % порівняно із попередніми термінами спостереження (див. табл. 4.2).

Таким чином дослідження показало важливу закономірність системного



зменшення накопичення НК в цитоплазмі, ядрах та ядерцях великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу. При цьому в межах показників щурів експериментальних груп між різними термінами було доведене не велике їх коливання, в середньому на 5 %, що стає вагомими свідченням повільного гальмуючого впливу тривалого стресу низької інтенсивності через обмеження життєвого простору, малорухливість та складні комунікаційні відносини у тварин на синтетичну активність великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу (див. табл.4.2).

#### **4.3 Характер кореляційних взаємин морфоденситометричних параметрів великоклітинних нейронів паравентрикулярного гіпоталамусу із гормонально-метаболічними змінами при стрес-обмеженні різної тривалості у щурів**

Виявлення взаємозв'язків між явищами – одне з основних завдань статистичного аналізу. Якщо відомо, що процес залежить від іншого, то перший можна впливати через другий. Навіть якщо причинно-наслідковий зв'язок відсутній, то щодо зміни одного показника можна передбачити зміну іншого. Взаємозв'язок двох змінних проявляється у спільній варіації: за зміни одного показника має місце тенденція зміни іншого. Такий взаємозв'язок називається кореляцією, а розділ статистики, що займається взаємозв'язками – кореляційний аналіз [118, 153].

Картина регуляторних взаємин у експериментальних тварин, яку характеризують кореляційні зв'язки, дозволила встановити, що в умовах тривалого комбінованого стресу відбуваються порушення формування або зміна спрямованості кореляційних зв'язків показників метаболізму, гормонального статусу та показників активності гіпоталамічних нейронів. Наслідком таких змін можуть бути порушені поведінкові реакції, змінена харчова поведінка, трансформація гомеостазу.



Важливо відзначити, що генерація змінених стереотипів поведінки та характеру гормонально-метаболических змін здійснюється у вищих інтеграційних центрах мозку, але формування їх можливе тільки в результаті складних структурних і функціональних перебудов певних регуляторних зон під впливом цілого комплексу регуляторів та метаболітів.

Аналізуючи результати кореляційного аналізу взаємозв'язків морфометричного показника нейронів ПВЯ гіпоталамусу площі цитоплазми та досліджуваних параметрів (концентрацій глюкози, тригліцеридів, рівнів гормонів, тощо) необхідно підкреслити, що за нормальних умов у щурів групи контролю були відмічені помірні позитивні кореляційні взаємини із рівнем холестеролу ( $r = 0,34, p > 0,05$ ) та кортикостерон/інсуліновим співвідношенням ( $r = 0,42, p > 0,05$ ) та негативні помірної сили із концентрацією тригліцеридів ( $r = -0,56, p > 0,05$ ), систолічним ( $r = -0,35, p > 0,05$ ) та діастолічним ( $r = -0,63, p > 0,05$ ) тиском (табл. 4.3).

В ході формування стрес-реакції з 6 по 21 тижні обмеження життєвого простору відбулося суттєве перетворення кореляційних взаємин – майже із всіма параметрами, що досліджувалися. Необхідно відмітити, що високої сили позитивна кореляція була відмічена виключно із рівнем АКТГ, інші значущі кореляції були негативні із сильним зв'язком при яких  $r$  був більше  $-0,9$ . Ця залежність була виявлена із рівнями глюкози, тригліцеридів, холестеролу, концентрації загальних ліпідів; інсуліну, масою тварин; систолічним та діастолічним АТ (див. табл. 4.3).



Таблиця 4.3 – Кореляційний взаємозв'язок площі цитоплазми (мкм<sup>2</sup>) великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу із досліджуваними параметрами у щурів із стрес-обмеженням протягом 6-21 тижнів

Взаємозв'язок площі цитоплазми нейронів ПВЯ із дослідженими параметрами	Лінійний коефіцієнт кореляції Пірсона			
	Група контролю (6-12 тижнів, n=10)	Статистична значущість	Група щурів із restraint-стресом (6-21 тиждень, n=10)	Статистична значущість
Глюкоза, мМ/л	0,059	p>0,05	<b>-0,86</b>	p<0,05
Тригліцериди, мМ/л	<b>-0,56</b>	p>0,05	<b>-0,96</b>	p<0,05
Холестерол, мМ/л	<b>0,34</b>	p>0,05	<b>-0,91</b>	p<0,05
Загальні ліпіди, г/л	0,29	p>0,05	<b>-0,91</b>	p<0,05
Інсулін, мМО/мл	0,041	p>0,05	<b>-0,72</b>	p<0,05
АКТГ, пг/мл	0,056	p>0,05	<b>0,87</b>	p<0,05
КС, мкг/мл	0,158	p>0,05	-0,04	p>0,05
Маса тварин, г	-0,004	p>0,05	<b>-0,92</b>	p>0,05
Рс, мм рт.ст.	<b>-0,35</b>	p>0,05	<b>-0,94</b>	p>0,05
Рд, мм рт.ст.	<b>-0,63</b>	p>0,05	<b>-0,9</b>	p>0,05
НОМА-IR	-0,27	p>0,05	<b>-0,96</b>	p>0,05
КС/Інс індекс	<b>0,42</b>	p>0,05	-0,24	p>0,05

Аналіз кореляційних взаємин досліджуваних параметрів із площею ядер великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу у контрольних щурів показав наявність помірної сили залежностей, серед яких негативною була із рівнем глюкози ( $r = -0,57$ ,  $p > 0,05$ ) та позитивні із діастолічним тиском ( $r = 0,37$ ,  $p > 0,05$ ) концентраціями тригліцеридів ( $r = 0,44$ ,  $p > 0,05$ ) та інсуліну ( $r = 0,31$ ,  $p > 0,05$ ) (табл. 4.4).



Таблиця 4.4 – Кореляційний взаємозв'язок площі ядер (мкм<sup>2</sup>) великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу із досліджуваними параметрами у щурів із стрес-обмеженням протягом 6-21 тижнів

Взаємозв'язок площі ядер нейронів ПВЯ із досліджуваними параметрами	Лінійний коефіцієнт кореляції Пірсона			
	Група контролю (6-12 тижнів, n=10)	Статистична значущість	Група щурів із restraint-стресом (6-21 тижнів, n=10)	Статистична значущість
Глюкоза, мМ/л	<b>-0,57</b>	p>0,05	<b>-0,39</b>	p>0,05
Тригліцериди, мМ/л	<b>0,44</b>	p>0,05	<b>-0,79</b>	p<0,05
Холестерол, мМ/л	0,165	p>0,05	<b>-0,75</b>	p<0,05
Загальні ліпіди, г/л	0,033	p>0,05	<b>-0,92</b>	p<0,05
Інсулін, мМО/мл	<b>0,31</b>	p>0,05	<b>-0,7</b>	p<0,05
АКТГ, пг/мл	-0,15	p>0,05	<b>-0,79</b>	p<0,05
КС, мкг/мл	-0,08	p>0,05	<b>0,51</b>	p>0,05
Маса тварин, г	0,21	p>0,05	<b>-0,57</b>	p>0,05
Рс, мм рт.ст.	-0,12	p>0,05	<b>-0,56</b>	p>0,05
Рд, мм рт.ст.	<b>0,37</b>	p>0,05	<b>-0,79</b>	p<0,05
НОМА-IR	0,213	p>0,05	<b>-0,85</b>	p<0,05
КС/Інс індекс	-0,28	p>0,05	<b>0,35</b>	p>0,05

Тривалий стрес-обмеження у щурів призводив до суттєвої трансформації характеру кореляційних зв'язків значень площі ядер нейронів із досліджуваними показниками. При цьому майже із всіма параметрами (концентраціями глюкози, тригліцеридів, холестеролу, загального рівня ліпідів, інсуліну, АКТГ, масою тіла, систолічним та діастолічним тиском, індексом НОМА) були відмічені зворотні кореляції середньої та високої сили, при яких значення r знаходилося в діапазоні від -0,39 до -0,92. Необхідно відмітити, що позитивні кореляції формувалися тільки із двома показниками –



це рівнем кортикостерону та індексом співвідношення кортикостерону/інсуліну, але вони були помірні та становили  $r = 0,30$ ,  $p > 0,05$  та  $r = 0,51$ ,  $p > 0,05$  відповідно (див. табл. 4.4).

Визначення характеру кореляційних взаємин показнику сумарної площі ядерця нейронів ПВЯ гіпоталамусу у щурів групи контролю показало наявність помірної сили позитивного зв'язку із рівнем тригліцеридів та кортикостерону, значеннями систолічного та діастолічного тиску. Негативна кореляція помірної сили була виявлена із індексом НОМА (табл. 4.5).

Таблиця 4.5 – Кореляційний взаємозв'язок сумарної площі ядерця (мкм<sup>2</sup>) великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу із досліджуваними параметрами у щурів із стрес-обмеженням протягом 6-21 тижнів

Взаємозв'язок сумарної площі ядерця нейронів ПВЯ із досліджуваними параметрами	Лінійний коефіцієнт кореляції Пірсона			
	Група контролю (6-12 тижнів, n=10)	Статистична значущість	Група щурів із restraint-стресом (6-21 тиждень, n=10)	Статистична значущість
Глюкоза, мМ/л	0,27	$p > 0,05$	<b>-0,41</b>	$p > 0,05$
Тригліцериди, мМ/л	<b>0,65</b>	<b><math>p &lt; 0,05</math></b>	<b>-0,74</b>	<b><math>p &lt; 0,05</math></b>
Холестерол, мМ/л	0,19	$p > 0,05$	<b>-0,63</b>	$p > 0,05$
Загальні ліпіди, г/л	-0,08	$p > 0,05$	<b>-0,89</b>	<b><math>p &lt; 0,05</math></b>
Інсулін, мМО/мл	-0,19	$p > 0,05$	<b>-0,57</b>	$p > 0,05$
АКТГ, пг/мл	0,05	$p > 0,05$	<b>-0,74</b>	<b><math>p &lt; 0,05</math></b>
КС, мкг/мл	<b>0,69</b>	<b><math>p &lt; 0,05</math></b>	<b>0,43</b>	$p > 0,05$
Маса тварин, г	-0,19	$p > 0,05$	<b>-0,56</b>	$p > 0,05$
Рс, мм рт.ст.	<b>0,34</b>	$p > 0,05$	<b>-0,51</b>	$p > 0,05$
Рд, мм рт.ст.	<b>0,63</b>	$p > 0,05$	<b>-0,72</b>	<b><math>p &lt; 0,05</math></b>
НОМА-IR	<b>-0,60</b>	$p > 0,05$	<b>-0,82</b>	<b><math>p &lt; 0,05</math></b>
КС/Інс індекс	-0,27	$p > 0,05$	<b>0,30</b>	$p > 0,05$



Тривалий експериментальний стрес-обмеження протягом 6-21 тижнів призводив до суттєвих змін у сформованих кореляційних взаєминах, які, переважно, характеризувалися негативними взаєминами від помірної до високої сили. Причому зворотність зв'язків ставала і у тих випадках, коли вона була позитивною у контрольних щурів (рівні тригліцеридів та глюкози, значення систолічного та діастолічного тиску) (див. табл. 4.5).

Оцінка характеру кореляційних взаємин важливого денситометричного показника синтетичної та функціональної активності нейронів – вмісту нуклеїнових кислот в окремих його компартментах показала, що у контрольних щурів зв'язок вмісту НК в цитоплазмі великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу був частіше позитивним помірної сили з такими параметрами, як концентрації глюкози, тригліцеридів, холестеролу, ліпідів, кортикостерону, систолічним тиском. Негативна середньої сили кореляція формувалася із рівнем інсуліну та масою тварин (див. табл. 4.6).

Вплив тривалого стресу через обмеження життєвого простору характеризувався зміною картини кореляційних взаємин в більшості на негативну, при цьому сила зв'язків посилювалася, спостерігалася зміна позитивних зв'язків на негативні (із рівнями глюкози, холестеролу та ліпідів) (див. табл. 4.6).



Таблиця 4.6 – Кореляційний взаємозв’язок вмісту нуклеїнових кислот у цитоплазмі ( $УО_{от}/\mu\text{км}^2$ ) великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу із досліджуваними параметрами у щурів із стрес-обмеженням протягом 6-21 тижнів

Взаємозв’язок вмісту НК у цитоплазми нейронів ПВЯ із дослідженими параметрами	Лінійний коефіцієнт кореляції Пірсона			
	Група контролю (6-12 тижнів, n=10)	Статистична значущість	Група щурів із restraint-стресом (6-21 тиждень, n=10)	Статистична значущість
Глюкоза, мМ/л	<b>0,47</b>	p>0,05	<b>-0,59</b>	p>0,05
Тригліцериди, мМ/л	<b>-0,35</b>	p>0,05	<b>-0,77</b>	<b>p&lt;0,05</b>
Холестерол, мМ/л	<b>0,47</b>	p>0,05	<b>-0,59</b>	p>0,05
Загальні ліпіди, г/л	<b>0,68</b>	<b>p&lt;0,05</b>	<b>-0,68</b>	<b>p&lt;0,05</b>
Інсулін, мМО/мл	<b>-0,44</b>	p>0,05	<b>-0,52</b>	p>0,05
АКТГ, пг/мл	-0,16	p>0,05	<b>-0,65</b>	<b>p&lt;0,05</b>
КС, мкг/мл	<b>0,63</b>	p>0,05	0,2	p>0,05
Маса тварин, г	<b>-0,47</b>	p>0,05	<b>0,54</b>	p>0,05
Рс, мм рт.ст.	<b>-0,38</b>	p>0,05	<b>-0,74</b>	<b>p&lt;0,05</b>
Рд, мм рт.ст.	0,15	p>0,05	<b>-0,69</b>	<b>p&lt;0,05</b>
НОМА-IR	0,15	p>0,05	<b>-0,69</b>	<b>p&lt;0,05</b>
КС/Інс індекс	0,08	p>0,05	0.015	p>0,05

Оцінка картини кореляцій вмісту нуклеїнових кислот у ядрах нейронів ПВЯ гіпоталамусу у щурів контрольної групи, що формується із досліджуваними параметрами, показала помірний позитивний зв’язок із рівнем кортикостерону та діастолічним тиском, та негативний із концентрацією інсуліну, систолічним тиском та індексом НОМА (табл. 4.7).





Таблиця 4.7 – Кореляційний взаємозв’язок вмісту нуклеїнових кислот у ядрах ( $UO_{or}/\mu\text{км}^2$ ) великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу із досліджуваними параметрами у щурів із стрес-обмеженням протягом 6-21 тижнів

Взаємозв’язок вмісту НК у ядрах нейронів ПВЯ із дослідженими параметрами	Лінійний коефіцієнт кореляції Пірсона			
	Група контролю (6-12 тижнів, n=10)	Статистична значущість	Група щурів із restraint-стресом (6-21 тижнів, n=10)	Статистична значущість
Глюкоза, мМ/л	-0,23	p>0,05	<b>-0,76</b>	<b>p&lt;0,05</b>
Тригліцериди, мМ/л	-0,25	p>0,05	<b>-0,7</b>	<b>p&lt;0,05</b>
Холестерол, мМ/л	0,006	p>0,05	<b>-0,63</b>	p>0,05
Загальні ліпіди, г/л	0,11	p>0,05	<b>-0,63</b>	p>0,05
Інсулін, мМО/мл	<b>-0,4</b>	p>0,05	<b>-0,43</b>	p>0,05
АКТГ, пг/мл	-0,16	p>0,05	<b>-0,67</b>	<b>p&lt;0,05</b>
КС, мкг/мл	<b>0,34</b>	p>0,05	-0,26	p>0,05
Маса тварин, г	-0,08	p>0,05	<b>-0,69</b>	<b>p&lt;0,05</b>
Рс, мм рт.ст.	<b>-0,39</b>	p>0,05	<b>-0,89</b>	<b>p&lt;0,05</b>
Рд, мм рт.ст.	<b>0,5</b>	p>0,05	<b>-0,69</b>	<b>p&lt;0,05</b>
НОМА-IR	<b>-0,62</b>	p>0,05	<b>-0,69</b>	<b>p&lt;0,05</b>
КС/Інс індекс	-0,2	p>0,05	<b>-0,41</b>	p>0,05

Вплив тривалого комбінованого стрес-обмеження призводив до суттєвої трансформації картини кореляційних взаємин які, в більшості, змінювали свій вектор на негативний, сила ставала більш значущою, а у випадках ле в контролі був зв’язок позитивним – він ставав негативним (див. табл. 4.7).

Характер кореляційних зв’язків вмісту нуклеїнових кислот у ядрах ( $UO_{or}/\mu\text{км}^2$ ) великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу щурів контрольної



групи із досліджуваними параметрами показав наявність як позитивних залежностей помірної сили (рівнем ліпідів та кортикостеролу, діастолічним тиском), так і негативних (концентраціями глюкози, холестеролу, масою тварин та діастолічним тиском) (табл. 4.8).

Таблиця 4.8 – Кореляційний взаємозв’язок вмісту нуклеїнових кислот у ядерцях ( $UO_{or}/\mu km^2$ ) великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу із досліджуваними параметрами у щурів із стрес-обмеженням протягом 6-21 тижнів

Взаємозв’язок вмісту НК у ядерцях нейронів ПВЯ із дослідженими параметрами	Лінійний коефіцієнт кореляції Пірсона			
	Група контролю (6-12 тижнів, n=10)	Статистична значущість	Група щурів із restraint-стресом (6-21 тижнів, n=10)	Статистична значущість
Глюкоза, мМ/л	<b>-0,68</b>	<b>p&lt;0,05</b>	<b>-0,78</b>	<b>p&lt;0,05</b>
Тригліцериди, мМ/л	-0,03	p>0,05	<b>-0,69</b>	<b>p&lt;0,05</b>
Холестерол, мМ/л	<b>-0,33</b>	p>0,05	<b>-0,64</b>	<b>p&lt;0,05</b>
Загальні ліпіди, г/л	<b>0,47</b>	p>0,05	<b>-0,7</b>	<b>p&lt;0,05</b>
Інсулін, мМО/мл	-0,2	p>0,05	<b>-0,31</b>	p>0,05
АКТГ, пг/мл	0,15	p>0,05	<b>-0,64</b>	<b>p&lt;0,05</b>
КС, мкг/мл	<b>0,62</b>	p>0,05	<b>-0,38</b>	p>0,05
Маса тварин, г	<b>-0,6</b>	p>0,05	<b>-0,75</b>	<b>p&lt;0,05</b>
Рс, мм рт.ст.	<b>-0,36</b>	p>0,05	<b>-0,84</b>	<b>p&lt;0,05</b>
Рд, мм рт.ст.	<b>0,36</b>	p>0,05	<b>-0,58</b>	p>0,05
НОМА-IR	0,18	p>0,05	<b>-0,71</b>	<b>p&lt;0,05</b>
КС/Інс. індекс	0,009	p>0,05	<b>-0,5</b>	p>0,05

Тривалий стрес через обмеження життєвого простору, що комбінувався із соціальними негараздами та малорухливістю, призвів до повної зміни картини кореляційних зв’язків, яка показала виключно негативну залежність



вмісту НК у ядрцях великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу із усіма досліджуваними параметрами. Сила зв'язків коливалася від середньої до високої сили (див. табл. 4.8).

### **Резюме:**

Результати проведеного дослідження морфоденситометричних показників великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу при тривалому комбінованому стрес-обмеженні та оцінки кореляційних взаємин морфофункціональних трансформацій нейронів із досліджуваними значеннями рівнів гормонів (інсуліну, кортикостерону, АКТГ, кортикостерон/інсулінового співвідношення), метаболічних констант (концентрації глюкози, тригліцеридів, загальних ліпідів та холестеролу) та функціональних показників (маси тіла щурів, систолічного та діастолічного АТ) показали патогенетичні особливості та характер їх змін, що залежали від тривалості стрес-навантаження та етапності реалізації адаптаційних програм. Важливим виявився факт майже синхронного зменшення розмірів цитоплазми нейрону та його ядра, які прогресували зі збільшенням строку стресу, на відміну – площа ядерець максимально збільшилась на 6 та 15 тижнях стресу із зниженням до контрольних показників на 21 тижні експерименту.

Гістохімічним методом в структурі ПВЯ гіпоталамусу у щурів із довготривалим комбінованим стресом-обмеження вперше визначено патогенетичні особливості та динаміку змін морфоденситометричних параметрів великоклітинних нейронів. Показано, що в них протягом впливу площі структур нейронів (цитоплазми, ядер та ядерець) та вміст у них нуклеїнових кислот стають достовірно меншими в порівнянні із контрольними тваринами.

Аналіз результатів морфометричного дослідження великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу вперше довів, що площа їх цитоплазми зменшувалась прямо пропорційне строку стрес-обмеженню та була достовірно



меншою порівняно до контролю (на 6 тижні на 18 %, на 15 тижні – на 23 %, при 21 тижнях на 40 %). В межах експериментальних груп на 6 та 15 тижнях площі цитоплазм нейронів достовірно не відрізнялися, на 21 тижні, порівняно до 6, було виявлено зменшення показника у останніх на 27 %, а різниця між 15-и та 21 тижнями склала 21 %. Середня площа ядер нейронів показала подібну закономірність щодо площі цитоплазми - ставала меншою порівняно до контролю від 9 % при 6-и тижнях і 25 % при 21-у тижні стресу. На відміну сумарна площа ядерців показала зворотну залежність. На тлі прямо пропорційного строкам стресу зменшення площі цитоплазми та ядер нейронів площі ядерців демонстрували осцилятивні коливання із збільшенням більш ніж на третину при 6-и та 15-и тижнях стресу, та на 15 % на 21 тижні. При порівнянні значень площ ядерців у межах експериментальних груп були доведені статистично значущі відмінності між показником групи 6-и тижнів з групою 21-о тижня, де виявлене зменшення на 12 % в останніх, в той час при порівнянні 15-и та 21-о тижневих впливів – на 14 %.

В роботі вперше було виявлено важливу закономірність системного зменшення вмісту НК в цитоплазмі, ядрах та ядерцях великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу із невеликим, в середньому на 5 %, міжгруповим коливанням, що стає вагомими свідченням повільного гальмуючого впливу тривалого стресу низької інтенсивності через обмеження життєвого простору, малорухливість та складні комунікаційні відносини у тварин на синтетичну та функціональну активність великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу.

При цьому результати проведеного цифрового аналізу довели, що через 6 місяців стресу вміст нуклеїнових кислот у цитоплазмі нейронів ставав меншим за контроль на 39 %, на 15-у тижні на 34 %, на 21-у тижні стрес-обмежені на 42 %. В їх ядрах вміст НК після 6-о та до 15-о тижня обмеження життєвого простору зменшувався приблизно однаково, а саме на 37 % і 35 % відповідно; довготривале обмеження протягом 21 тижня сприяло ще більш значнішому зменшенню на 41 %. Порівняння в межах експериментальних груп із стресом показали, що зниження вмісту НК на 6-у тижні залишалось



майже не змінним до 15-о, а до 21-о тижня відбулося подальше зменшення на 7 % та 10 % порівняно із попередніми термінами спостереження. В ядрах великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу при змодельованому стресі вміст нуклеїнових кислот, порівняно до контролю, змінювався аналогічно значенням цитоплазми та ядрах нейронів – відбувалося зниження в групі 6-и тижнів на 40 %, після 15-и тижнів – на 39 % і на 43 % після 21 тижня. В межах експериментальних груп з 6-о по 15-й тиждень значення вмісту НК було рівномірно меншим без значущих коливань, на 21-у тиждень відбулося подальше зменшення вмісту НК на 6 % та 8 % порівняно із попередніми термінами спостереження.

Встановлення характеру кореляційних взаємозв'язків морфоденситометричних показників нейронів ПВЯ гіпоталамусу та досліджуваних параметрів (концентрацій глюкози, тригліцеридів, рівнів гормонів, тощо) довело, що за нормальних умов у щурів групи контролю відмічалися помірні позитивні, рідше негативні, кореляційні взаємини. В ході формування стрес-реакції з 6 по 21 тиждень обмеження життєвого простору відбувалося суттєве перетворення кореляційних взаємин майже із всіма параметрами, що досліджувалися. Зв'язки набували високої сили та частіше змінювали вектор на негативні.

Матеріали розділу відображені в 1 статті та 4 наукових тезах [154-158].



## РОЗДІЛ 5

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

За результатами комплексного дослідження патогенетичних особливостей змін морфоденситометричних параметрів великоклітинних нейронів паравентрикулярного ядра гіпоталамусу та гормонально-метаболічних трансформацій при експериментальному стрес-обмеженні різної тривалості у щурів було встановлено, що комбінація тривалого впливу негараздів низької інтенсивності призводить до морфоструктурних перетворень нейронів ключового регуляторного центру гіпоталамусу та гормональному дисбалансу, що впливають на метаболічні процеси, призводять до стійких порушень констант вуглеводного та жирового обмінів, як наслідок – зміна ваги, стійке підвищення артеріального тиску із прогресуванням інсулінорезистентності.

Описані результати стали вагомим поясненням та підтвердженням мети дослідження, яка полягала у встановленні патогенетичних особливостей морфоденситометричних параметрів великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу та визначенні характеру гормонально-метаболічних змін у щурів при restraint-стресі різної тривалості (6-, 15- та 21 тиждень). Для її реалізації та виконання поставлених завдань було застосовано ряд методів: патофізіологічний – моделювання у щурів restraint-стресу (комбінована модель із тривалим обмеженням життєвого простору клітки (нормальний розмір – 350 см<sup>2</sup>) на 40 % (210 см<sup>2</sup>) при одномоментному знаходженні у клітці по 5 тварин та переміщенням кожного тижня двох щурів з групи у іншу клітку в межах групи, як соціальні негаразди) різної тривалості (6, 15 і 21 тижнів), масометричний – щомісячне зважування щурів, інструментальний – неінвазивне вимірювання АТ, біохімічні – дослідження глікемічного профілю натще, проведення тесту толерантності до глюкози, визначення концентрацій тригліцеридів, холестеролу та загальних ліпідів, імуноферментний – встановлення рівнів гормонів (інсуліну, кортикостерону та АКТГ),

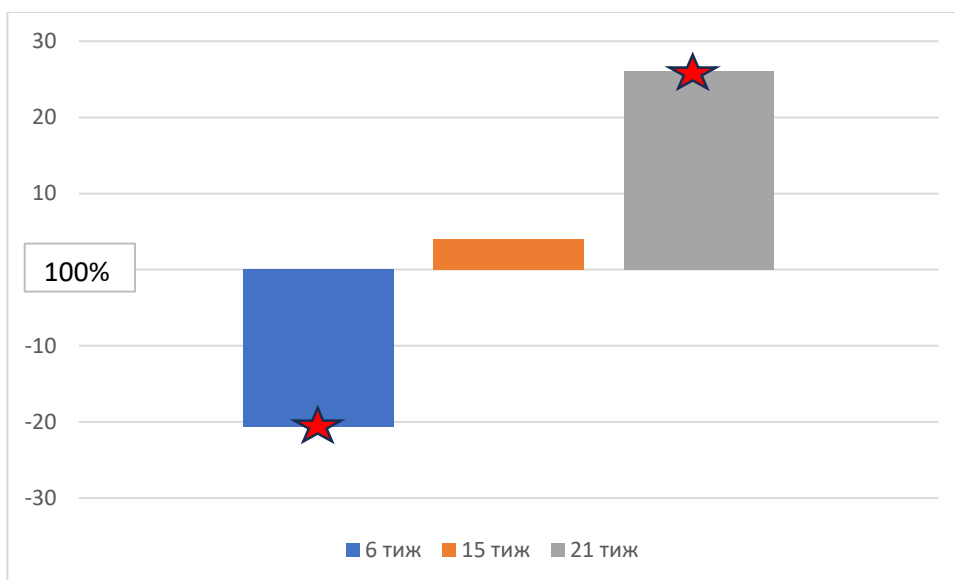


морфоденситометричний – визначення площі ядер, цитоплазм та ядерць великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу, встановлення вмісту та концентрації нуклеїнових кислот в них, методи математико-статистичного аналізу результатів із розрахуванням індексу чутливості до інсуліну (інсулінорезистентності НОМА-IR) та оцінці сили кореляційних взаємин досліджуваних гормонально-метаболічних показників із морфоденситометричними параметрами великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу.

Результати проведеного дослідження показали, що тривале обмеження життєвого простору та скупчення тварин, їх малорухливість та комунікативні негаразди, не зважаючи на свою не виразність та прихований вплив, з часом формують цілий комплекс метаболічних та гормональних змін, що складаються у класичні симптоми відповідної стадії стрес-реакції, які реалізуються через механізми загального адаптаційного синдрому [159, 160], але з часом стають вагомими патогенетичними ланками розвитку хвороб.

Протягом модельного експериментального комбінованого стресу були відмічені коливання вагових характеристик (рис. 5.1) та поступовий зростаючий тренд значень АТ (рис. 5.5).

Варто відмітити, що проведення досліджень змін при модельних стрес-реакціях потребує урахування їх характеру, тривалості, інтенсивності та комбінативності стресорів. В представленому дослідженні моделювався тривалий стрес низької інтенсивності, що не може бути подоланим, із постійною індукцією додатковими підпороговими стресорами, через це - постійні коливання процесів адаптації та дезадаптації із подальшим обов'язковим формуванням типових патогномонічних симптомів хвороб адаптації [160].



Примітка. ( ★ ) – достовірна різниця показників груп із стресом різної тривалості ( $p_{st} < 0,05$ ) відносно відповідних показників контрольної групи.

Рисунок 5.1 – Динаміка змін маси тіла щурів із стрес-обмеженням протягом спостереження з 6 по 21 тижні порівняно до значень контролю прийнятого за 100%.

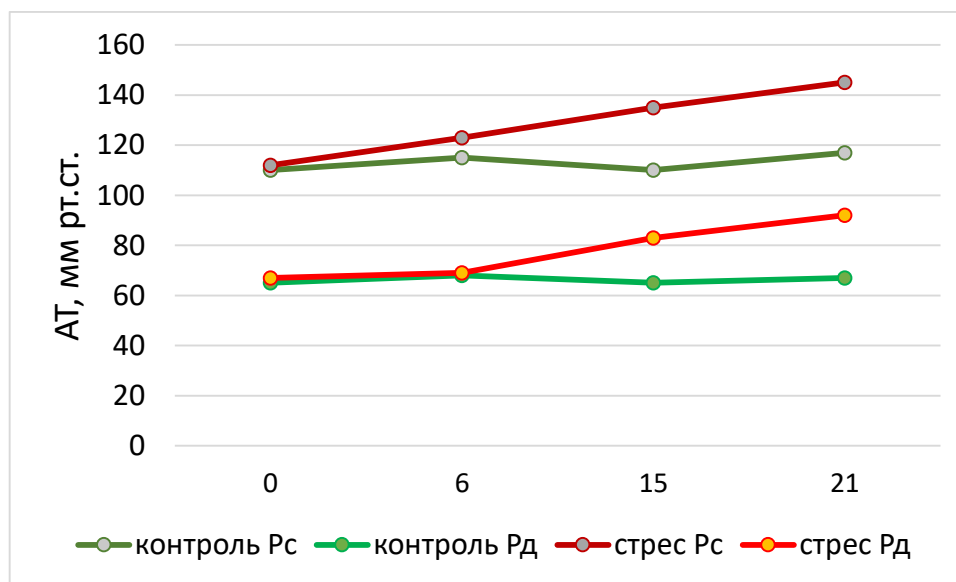


Рисунок 5.2 – Динаміка змін систолічного (Pc) та діастолічного (Pd) артеріального тиску у щурів із стрес-обмеженням протягом спостереження з 6 по 21 тижні.

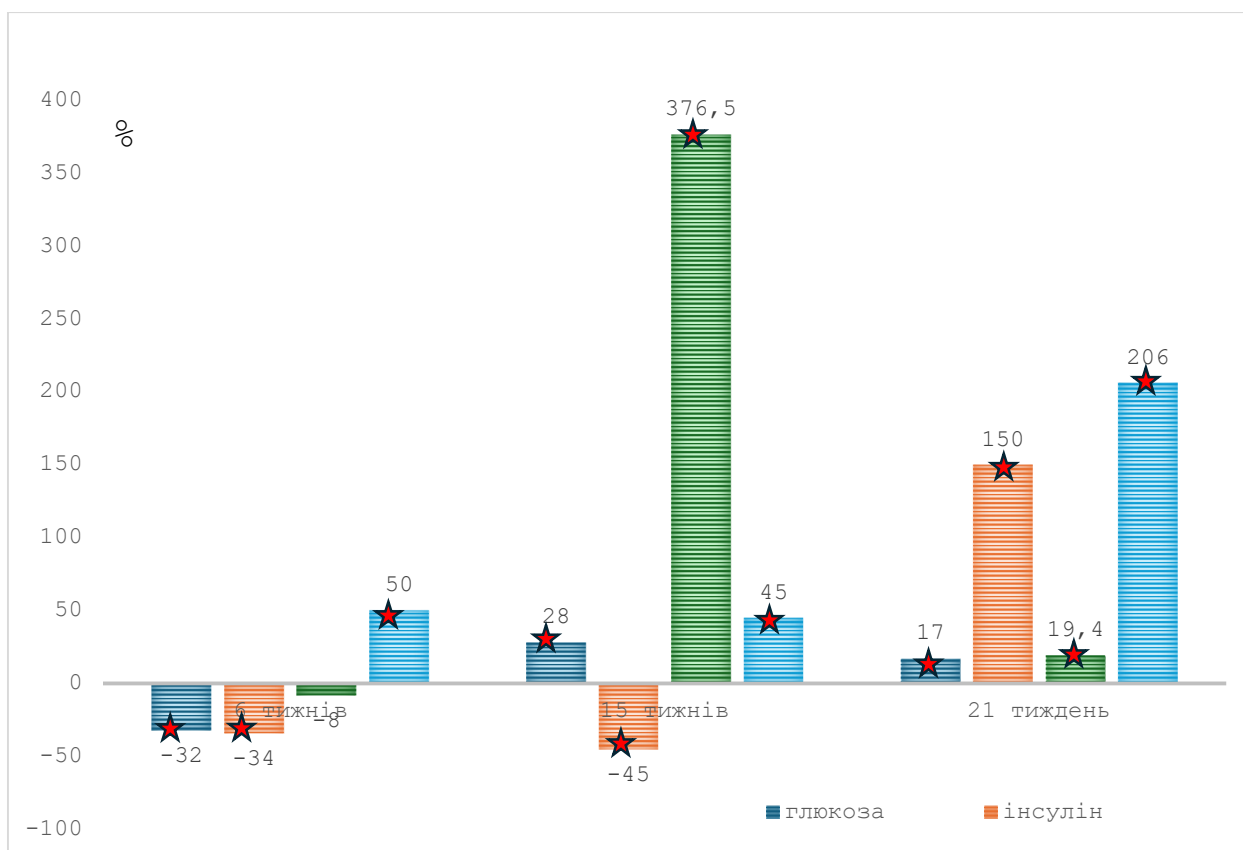




Звертає не себе увагу той факт, що через низьку ступінь виразності стресорного навантаження у використаній моделі та «розтягнутість» її у часі, спостерігалася розмитість симптомів та синдромів. Більш того, класична тріада Ханса Сельє не виходила на передній план: морфологічні зміни в шлунково-кишковому тракті (ШКТ), тимусі та корі наднирникових залоз були незначні, тоді як коливання рівнів стрес-гормонів показали чітку стадійність, що за традиційними уявленнями відповідає етапам формування стрес-реакції, адаптації та дезадаптації [161].

Сьогодні вже не викликає сумнівів, що коливання рівнів гормонів-регуляторів глюкозного балансу є запорукою ефективності реалізації стрес-реакції, невід'ємно залежить від достатності енергоресурсів та сталості відповідних систем, що регулюють їх надходження та використання. Саме глюкоза під час реалізації загального адаптаційного синдрому стає першим метаболічним субстратом, що активно використовується, як джерело енергії [162-164].

Не зважаючи на той факт, що протягом всього дослідження у щурів із змодельованим restraint-стресом концентрація глюкози знаходилась в межах еуглікемічного діапазону, відмічалися достовірно значущі її коливання, що залежали від тривалості стресу та мінливості рівнів гормонів-регуляторів (інсуліну, АКТГ та кортикостерону). При цьому на 6 тижні вона ставала менше значень контролю більш ніж на третину з подальшим збільшенням на 6 та 21 тижнях на 28% та 17 % (рис. 5.3).



Примітка. ( ★ ) – достовірна різниця показників груп із стресом різної тривалості ( $p_{st} < 0,05$ ) відносно відповідних показників контрольної групи.

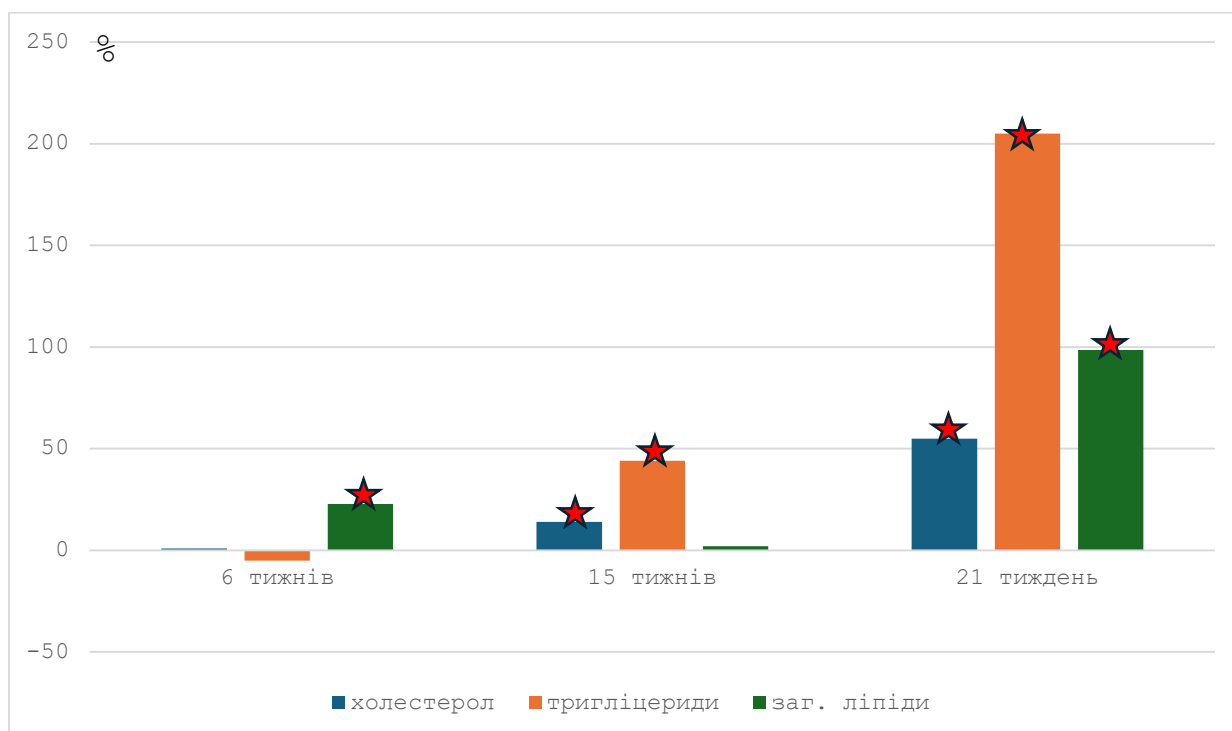
Рисунок 5.3 – Динаміка змін концентрації глюкози натще та рівнів гормонів регуляторів глюкозного гомеостазу у щурів із стрес-обмеженням протягом спостереження з 6 по 21 тижні порівняно до значень контролю прийнятого за 100%.

Виявлені глюкозні коливання, на нашу думку, необхідно розглядати як недостатньо ефективну та виразну адаптаційну реакцію, що показує неспроможність систем регуляції в реалізації складної багатокomпонентної програми для забезпечення гомеостазису в умовах небезпеки. Дещо подібні зміни були встановлені в експериментальному дослідженні команди [Ming-Jia Chen](#) (2020), які довели, що вже через 14 діб обмежувального стресу у тварин підвищувався систолічний артеріальний тиск та концентрація глюкози в плазмі, на тлі зниження експресії GLUT2 та збільшення експресії GR-бета в печінці, що автори безпосередньо розглядали як наслідок хронічного стресу



[165]. Тоді як клінічні спостереження ще раз підтвердили ключове значення гормонально-метаболічних змін та їх залежність від ступеня виразності та системності стрес-реакції [166].

Підтвердженням вищезначеного ствердження стали встановлені в представленому дослідженні зміни гормонального профілю, які показали різної інтенсивності та співвідношення коливання рівнів інсуліну, кортикостерону та АКТГ(див. рис. 5.3), що сприяли не тільки різноспрямованим змінам концентрації глюкози, відмічалися суттєві трансформації концентрацій показників жирового обміну (тригліцеридів, холестеролу та загальних ліпідів), які наприкінці експерименту на 21 тижні показали значуще збільшення (рис. 5.4).



Примітка. (★) – достовірна різниця показників груп із стресом різної тривалості ( $p_{st} < 0,05$ ) відносно відповідних показників контрольної групи.

Рисунок 5.4 – Динаміка змін показників жирового обміну у щурів із стрес-обмеженням протягом спостереження з 6 по 21 тижні порівняно до значень контролю прийнятого за 100%.

Вище при аналізі отриманих результатів вже було відмічене, що 6 тижнів обмеження життєвого простору тварин призводять до значного



зменшення їх маси тіла на тлі збільшення концентрації АКТГ та зниження інсуліну. Продовження обмеження до 15-о тижня сприяло збереженню високого рівня АКТГ, що призвело до суттєвого збільшення рівня кортикостерону, основного гормону адаптації у щурів та подальшого зниження рівня інсуліну, як результат – збільшення глюкози та маси тварин. Однак з'являється важливий симптом – стійке підвищення систолічного та діастолічного АТ. 21-а доба показала подальше зростання рівня АКТГ, на тлі стабілізації кортикостерону та значного підвищення концентрації інсуліну, що сприяло подальшому збільшенню ваги тварин, глюкози натще та стійкому підвищенню АТ більше цільових значень досягнувши діагностичних показників артеріальної гіпертензії I ступеня (див. рис. 5.1, 5.2 та 5.3).

На нашу думку саме ці гормональні зміни стали вагомим підґрунтям формування метаболічних порушень, зриву адаптації та, як наслідок, подальше зростання АТ та розвиток інсулінорезистентності [167-169].

Незаперечним підтвердженням стали результати та висновки після проведеного тесту толерантності до глюкози у щурів із стресом з обмеженням простору. Порівняння із результатами контрольної групи показало, що обмеження життєвого простору, малорухливість та складні комунікаційні відносини у щурів поступово формують комплекс порушень, що змінюють характер глікемічної реакції на глюкозне навантаження, порушують прандіальну секрецію інсуліну, підвищують гіперглікемізуючу дію контрінсулярного гормону кортикостерону та реалізують дисфункціональні прояви прандіальної/після прандіальної глікемії. При пролонгації негараздів динаміка змін прогресує з часом, так на 6 тижні при ГТТ формується гіпоглікемічно-гіпоінсулінемічний тип глікемічної кривої із високою чутливістю тканин до глюкози; 15 тижнів - показує гіпоінсулінемічну криву із збереженою чутливістю тканин до глюкози; 21 тиждень обмежень формує діабетичний тип глікемічної кривої із порушенням чутливості тканин до глюкози та розвитком інсулінорезистентності.



Формування інсулінорезистентності довели поступові зміни індексів інсулінорезистентності (НОМА-IR) та стресової адаптації/дезадаптації (кортикостерон/інсуліновий). Так у щурів з груп 6 та 15 тижнів стрес-обмеження були отримані нижчі чим в контролі значення індексу НОМА-IR та високий рівень кортикостерону через гіпоінсулінемію, що побічно підтверджують збережену чутливість тканин до інсуліну на тлі потужних гормональних змін. На 15 тижні кортикостерон/інсуліновий індекс значно збільшився саме через виразну гіперкортикостеронемію, що дає можливість припустити в цьому періоді перехід до дезадаптивних змін. При тривалому restraint-стресі протягом 21 тижня через складні гормонально-метаболичні порушення виявляються збільшені індекси, особливо НОМА-IR в 1,76 рази, що стало хоч і непрямим, але неперевершеним аргументом сформованої інсулінорезистентності.

Слід констатувати, що тривалий комбінований стрес низької інтенсивності сприяв формуванню постпрандіальної метаболічної дисрегуляції, яка, в свою чергу, виявилася одною з найважливіших патогенетичних ланок розладу вуглеводного та жирового обмінів. З наростанням тяжкості та з часом алоstaticне навантаження (підвищення глікемії) може мати патологічні наслідки, такі як розвиток цукрового діабету 2 типу та метаболічного синдрому X [170].

Аллостаз, або стабільність через зміну, забезпечує безперервну гомеостатичну реакцію на стрес з деякими сукупними витратами системи. Це пов'язане із тим, що основним завданням біологічної системи стає її виживання. Саме тому надпорогові зміни, включаючи гіперглікемію, інсулінорезистентність, дисліпідемію та гіпертонію, за зміненими умовами стають необхідними саме для виживання [170] Але для стійкої адаптації зі зміною гомеостазу, що є важливою умовою подолання стресу, необхідним є його вчасне завершення. Однак у реальному житті існують так звані безвихідні ситуації, коли вимоги середовища не можуть бути реалізовані за допомогою специфічних поведінкових або інших реакцій, при цьому формування



адекватної відповіді й системного структурного сліду виявляється неможливим, тому адаптація не реалізується, а постійні гормональні коливання формують стійкі метаболічні порушення [31, 120, 171].

Більш того, у результаті тривалої дії підвищених концентрацій гормонів стрес-групи і це, по-перше, катехоламінів та глюкокортикоїдів, виникають суттєві метаболічні зсуви, що становлять основну патогенетичну ланку формування так званих стресорних захворювань, які за сьогоденних реалій займають одне з основних місць у сучасній медицині. Як вже було відмічене раніше при певних складнощах стрес-синдром із загальної неспецифічної ланки адаптації організму до різних факторів середовища стає неспецифічною ланкою патогенезу захворювань [31].

Аналіз сучасної наукової літератури та клінічних спостережень дають можливість стверджувати, що виявлені гормонально-метаболічні зміни в динаміці багатокomпонентної стрес-реакції є результатом функціонування складного та багатостадійного процесу, що названий адаптаційний синдром. Саме мозок є ключовим органом реакції на стрес, оскільки він визначає, що є загрозовим і, отже, потенційно стресовим. Він оцінює фізіологічні та поведінкові реакції, які можуть бути адаптивними, так і руйнівними. Стрес передбачає двосторонній зв'язок між мозком і серцево-судинною, імунною та іншими системами через нервові та ендокринні механізми, що забезпечують максимально необхідні умови дії. Крім реакції «біжи або бійся» на гострий стрес, у повсякденному житті існують події, які викликають свого роду хронічний стрес і з часом призводять до зношування організму («алостатичне навантаження»). Проте гормони, пов'язані зі стресом, захищають організм у короткостроковій перспективі та сприяють адаптації, але через тривале підвищення стрес-гормонів мозок стає мішенню стресу. Саме гіпоталамус був першою визнаною мішенню глюкокортикоїдів, при цьому його клітини піддавалися структурному ремоделюванню, яке, в подальшому, змінювало поведінкові та фізіологічні реакції [173].



Підтвердженням вищезазначеного стали результати дослідження морфоденситометричних показників великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу при тривалому комбінованому стрес-обмеженні. Було досліджено показники морфологічних змін структур нейронів ПВЯ гіпоталамусу за площею ( $\text{мкм}^2$ ) цитоплазми, ядер та ядерць нейронів, проведена оцінка їх функціональної активності за синтезом нуклеїнових кислот, що вираховувалось за допомогою гістохімічного методу, котрим визначали вміст нуклеїнових кислот, про що свідчили кількісні зміни оптичної густини (в умовних одиницях оптичної густини –  $U_{\text{OF}}$ ) в ядрах, ядерцях і цитоплазмі клітин, які були обумовлені рівнем накопичення гетерогенних нуклеїнових кислот в площі досліджуваної структури ( $U_{\text{OF}}/\text{мкм}^2$ ).

На відміну від більшості науковців, що зосереджені на клінічних спостереженнях хворих із наслідками стресу, представлене експериментальне дослідження дозволило не тільки спостерігати та вивчати симптоми, що формуються, з'явилася можливість прослідити динаміку морфофункціональних змін ключового диригента та координатора нейрогуморальних змін при стресі – гіпоталамусу [174, 175]. Саме ці дослідження показали, що на 6 тижні обмеження життєвого простору через малорухливість та соціальні негаразди у щурів експериментальних груп спостерігаються коливання метричних характеристик нейронів та їх структур на тлі зниження вмісту нуклеїнових кислот. На сьогодні питання морфоструктурних змін нейрональних компартментів в регуляторних структурах мозку, особливо гіпоталамусі, залишаються суперечливими через те, що при різних модельних експериментах, різної тривалості та комбінативності, експериментатори отримували іноді майже протилежні результати.

Варто привести результати унікального експериментального дослідженні групи науковців Jeffrey G Tasker (2020) в якому авторами була відмічена яскрава особливість гіпоталамо-нейрогіпофізарної системи – вражаюча ступінь морфологічної та фізіологічної пластичності, що виявлялася в умовах



постійної потреби в гормонах у період лактації та хронічного зневоднення. Яку вони пов'язували із значенням в адаптації її властивостей до забезпечення ефективної секреції у міру поступового виснаження нейросекреторних резервів. Їх дослідження показало, що ці адаптації включають динамічні морфологічні зміни нейронально-гліальних відносин в великоклітинних ядрах гіпоталамуса і збігаються із синаптичними перебудовами. Висновками дослідників було ствердження, що пластичність гіпоталамо-нейрогіпофізарної системи у відповідь на хронічні проблеми є багатовимірною: від морфологічної реструктуризації до змін в експресії та функції іонних каналів, служить для формування електричної активності, необхідної для підтримки вивільнення гормонів в умовах мінливих фізіологічних потреб [176].

Майже протилежні результати в роботі з дослідженням наслідків хронічної психосоціальної ізоляції. Авторами було показано низку дезадаптивних змін у лімбічних структурах мозку, включаючи гіпоталамус, які регулюють активність висі ГГНЗ [177].

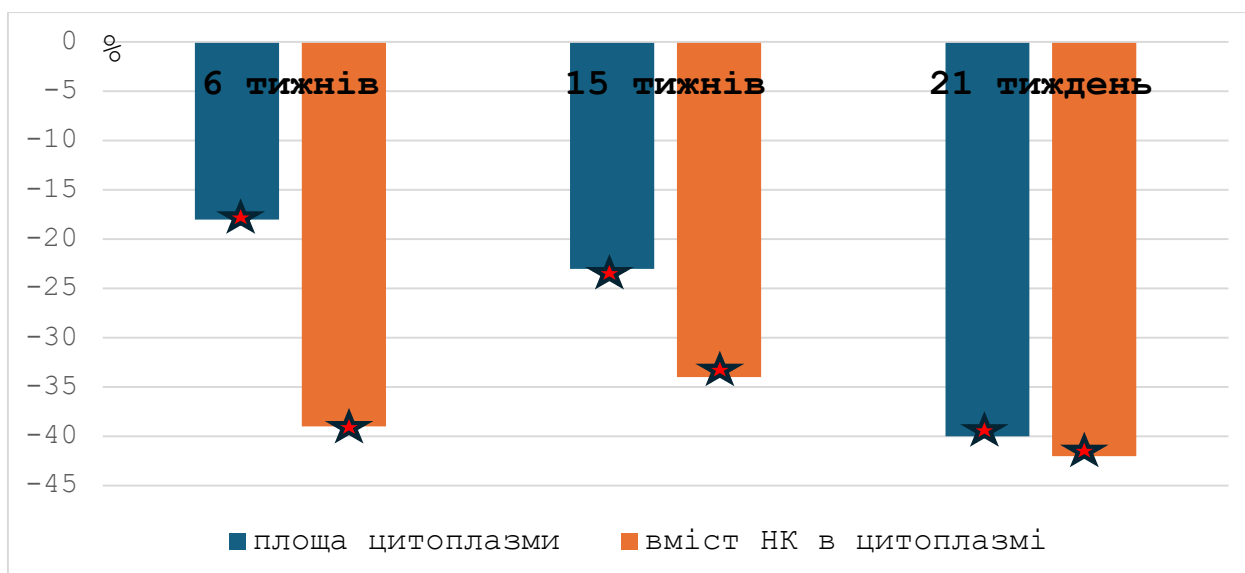
Відповідно, численні дослідження, в тому числі і представлене, показують, що вплив хронічного стресу на великоклітинні нейрони ПВЯ гіпоталамусу, в залежності від інтенсивності, тривалості, функціональності (гіпоксія, крововилив, сольове навантаження, переохолодження), або дисфункціональності (іммобілізація, соціальні конфлікти, вимушені стани) можуть посилювати продукцію нейрогіпофізарних пептидів великоклітинними нейронами, збільшувати їх розмір, покращувати синаптичну пластичність та ін., або викликати зворотні наслідки. Результат буде залежати від модальності, тривалості, інтенсивності та виду стресора. Більш того вже з'являються ствердження, що стресова активація великоклітинних нейронів ПВЯ відбувається в умовах гомеостатичних стимулів через їх природню націленість на гомеостатичну відповідь, тоді як дистреси через нефізіологічні напруження регулятора можуть призводити до невідповідності системи представленим неприроднім викликам та прогресуванню нейродегенерації [151, 178].





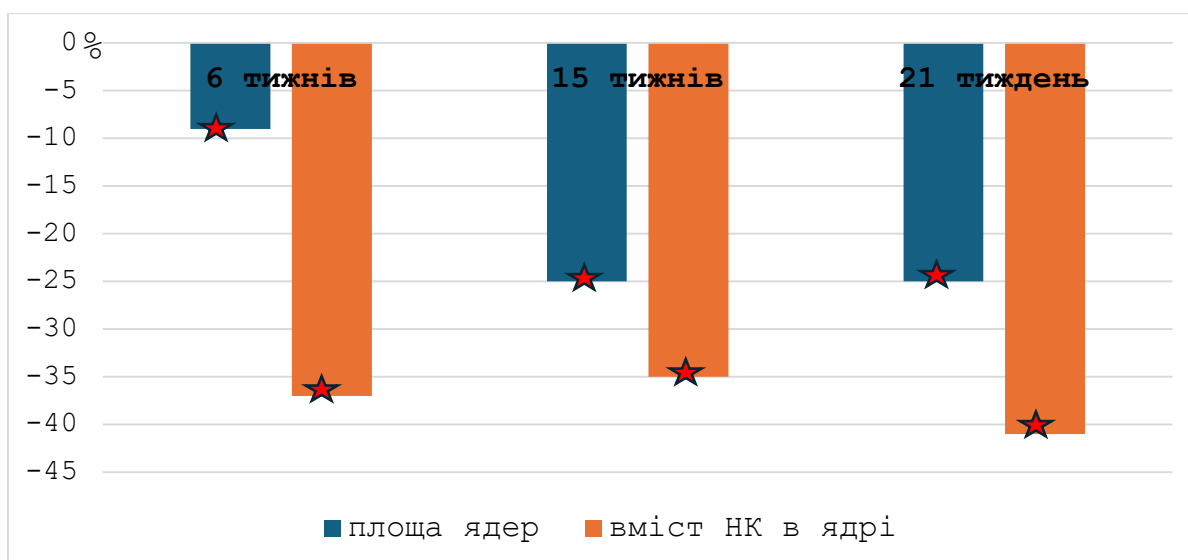
Враховуючи тривалість впливу та суттєві гормонально-метаболічні зміни, що прогресували з часом та призводили до формування порушень вуглеводного та жирового обмінів, стійкої артеріальної гіпертензії I ступеня та інсулінорезистентності було вперше визначено, що в структурі ПВЯ гіпоталамусу restraint-стрес призводить до прогресуючих з часом нейродегенеративних змін великоклітинних нейронів, які характеризувалися прогресивним зменшенням розмірів структурних компонентів та зниженням функціональної активності нейронів через зменшення вмісту нуклеїнових кислот у їх структурах (ядрі, цитоплазмі та ядерцях).

Описані ствердження були підтвержені статистичними даними при аналізі результатів морфометричного дослідження великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу, які вперше довели, що площа їх цитоплазми зменшувалась прямо пропорційно строку стрес-обмеження та була достовірно меншою порівняно до контролю (на 6 тижні на 18 %, на 15 тижні – на 23 %, при 21 тижнях на 40 %). Середня площа ядер нейронів показала подібну закономірність щодо площі цитоплазми - ставала меншою порівняно до контролю від 9 % при 6-и тижнях і 25 % при 21-у тижні стресу. На відміну сумарна площа ядерець виявила зворотну залежність. На тлі прямо пропорційного строкам стресу зменшення площі цитоплазми та ядер нейронів площі ядерець демонстрували осцилятивні коливання із збільшенням більш ніж на третину при 6-и та 15-и тижнях стресу, та на 15 % на 21 тижні (рис. 5.5, 5.6 та 5.7).



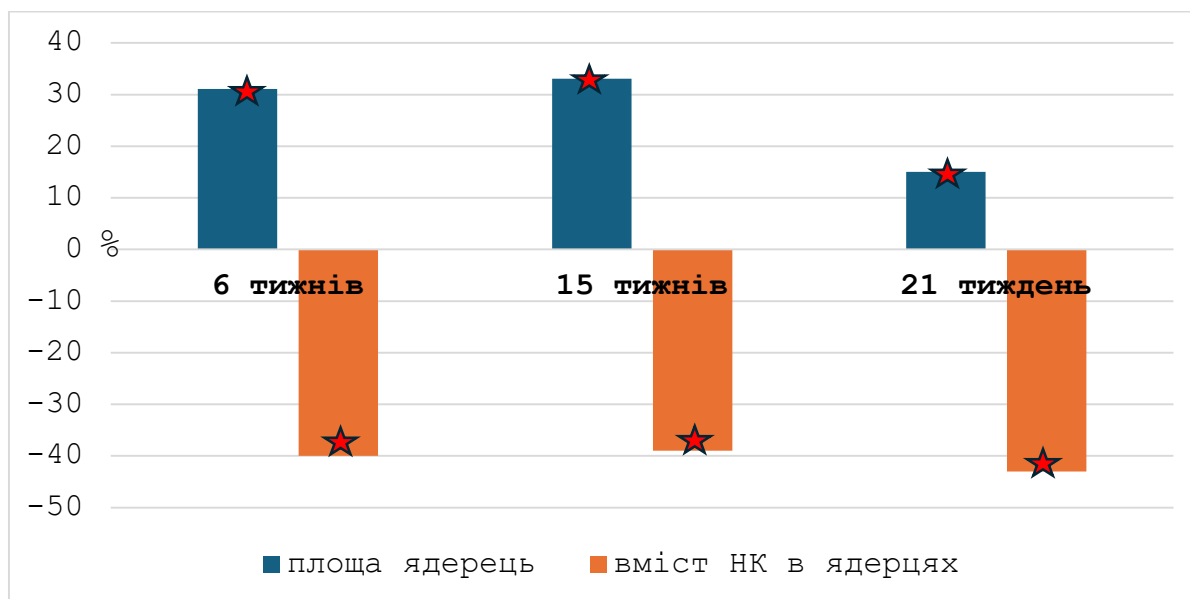
Примітка. ( ★ ) – достовірна різниця показників груп із стресом різної тривалості ( $p_{st} < 0,05$ ) відносно відповідних показників контрольної групи.

Рисунок 5.5 – Динаміка змін площі цитоплазми та вмісту у неї НК великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу у щурів із стрес-обмеженням протягом спостереження з 6 по 21 тижні порівняно до значень контролю прийнятого за 100%.



Примітка. ( ★ ) – достовірна різниця показників груп із стресом різної тривалості ( $p_{st} < 0,05$ ) відносно відповідних показників контрольної групи.

Рисунок 5.6 – Динаміка змін площі ядер та вмісту у них НК великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу у щурів із стрес-обмеженням протягом спостереження з 6 по 21 тижні порівняно до значень контролю прийнятого за 100%.



Примітка. ( ★ ) – достовірна різниця показників груп із стресом різної тривалості ( $p_{st} < 0,05$ ) відносно відповідних показників контрольної групи.

Рисунок 5.7 – Динаміка змін площі ядерць та вмісту НК великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу у щурів із стрес-обмеженням протягом спостереження з 6 по 21 тижні порівняно до значень контролю прийнятого за 100%.

В роботі вперше було виявлено важливу закономірність системного зменшення вмісту НК в цитоплазмі, ядрах та ядерцях великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу із невеликим, в середньому на 5 %, міжгруповим коливанням, що стає вагомими свідченням повільного гальмуючого впливу тривалого стресу низької інтенсивності через обмеження життєвого простору, малорухливість та складні комунікаційні відносини у тварин на синтетичну та функціональну активність великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу. Так результати проведеного цифрового аналізу довели, що через 6 місяців стресу вміст нуклеїнових кислот у цитоплазмі нейронів ставав меншим за контроль на 39 %, на 15-у тижні на 34 %, на 21-у тижні стрес-обмежені на 42 %. В ядрах нейронів вміст НК після 6-о та до 15-о тижня обмеження життєвого простору зменшувався приблизно однаково, а саме на 37 % і 35 % відповідно; довготривале обмеження протягом 21 тижня сприяло ще більш значнішому



зменшенню на 41 %. Порівняння в межах експериментальних груп із стресом показали, що зниження вмісту НК на 6-у тижні залишалося майже не змінним до 15-о, а до 21-о тижня відбулося подальше зменшення на 7 % та 10 % порівняно із попередніми термінами спостереження. В ядрах великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу при змодельованому стресі вміст нуклеїнових кислот, порівняно до контролю, змінювався аналогічно значенням цитоплазми та ядрах нейронів – відбувалося зниження в групі 6-и тижнів на 40 %, після 15-и тижнів – на 39 % і на 43 % після 21 тижня. В межах експериментальних груп з 6-о по 15-й тиждень значення вмісту НК було рівномірно меншим без значущих коливань, на 21-у тижні відбулося подальше зменшення вмісту НК на 6 % та 8 % порівняно із попередніми термінами спостереження (див. рис. 5.5, 5.6 та 5.7).

Вже неодноразове було відмічене, що стрес і стресові переживання давно залучені до етіології та патофізіології хронічних станів фізичного та психічного здоров'я, які в даний час становлять велику загрозу для здоров'я. При цьому мозок є центральним медіатором та метою процесів стресостійкості та вразливості, саме він визначає ступінь загрози і, отже, викликає стрес; регулює фізіологічні, поведінкові, когнітивні та емоційні реакції, які будуть використані, щоб упоратися з цим стресором; і зміни його пластичності як адаптивні, так і дезадаптивні в результаті подолання стресових переживань [179].

Слід звернути увагу, що мозок обробляє як зовнішні сенсорні сигнали з довкілля, так і внутрішні сигнали від тіла. Ця паралельна обробка даних дозволяє йому контролювати та координувати поведінкові та фізіологічні зміни, викликані зовнішніми або внутрішніми проблемами гомеостазу. Ці коригування можуть сприяти адаптації, такій як калібрування серцевого викиду та опору периферичних судин для забезпечення гемодинамічної та метаболічної підтримки великих груп м'язів, необхідних для негайних чи очікуваних дій (наприклад, втечі від хижака). Біологічні системи, які сприяють такій адаптації, включають вісь ГГНЗ, вегетативну нервову систему,



метаболическую систему, кишечник, почки и иммунную систему. Главные биомедиаторы этих систем (например, кортизол и кортикостерон, симпатичные и парасимпатичные медиаторы, цитокины, метаболические гормоны) действуют в рамках нелинейной, динамической и интерактивной сети, в которой медиаторы притупляют и усиливают друг друга, в зависимости от таких факторов, как их концентрация, местонахождение в теле и последовательное формирование временных паттернов. Таким образом, корректирование вышеназванных биологических систем обеспечивает защиту и адаптацию к конкретным проблемам, а системы, которые способствуют адаптации к стрессовым переживаниям и, как правило, наиболее полезны, становятся наиболее эффективными и результативными в условиях кратковременности воздействия, когда они быстро мобилизуются и прекращают действие стрессора. При продолжении или несвоевременном прекращении системы регуляции подрывают психическое и физическое здоровье — в первую очередь через их влияние на пластичность мозга, а высокие и несбалансированные уровни гормонов и медиаторов ремоделируют координационные центры мозга и через истощение способствуют прогрессирующей нейродегенерации [179-181].

Соответственно, логично было предположить, что продолжительные стрессорные воздействия и через это активация и комбинация воздействий на координационные центры стресс-реакции, особенно гипоталамус, изменяют картину регуляторных взаимодействий у экспериментальных животных, которую характеризуют корреляционные связи между исследуемыми параметрами крупных клеток нейронов и гормонально-метаболическими показателями. Корреляционный анализ показал, что в условиях длительного комбинированного стресса происходят нарушения формирования или изменение направленности корреляционных связей показателей метаболизма, гормонального статуса и показателей активности гипоталамических центров. Следствием таких изменений могут быть нарушенные поведенческие реакции, измененное пищевое поведение, нарушения гомеостаза.

Установление характера корреляционных взаимосвязей морфометрического показателя нейронов ПВЯ гипоталамуса метрических и денситометрических параметров клеток (площадь цитоплазмы, ядра, ядерный материал и содержание в них НК) и



досліджуваних параметрів (концентрацій глюкози, тригліцеридів, рівнів гормонів, тощо) показало, що за нормальних умов відмічалися переважно слабкі, або помірної сили позитивні та негативні кореляційні взаємини. В ході формування стрес-реакції з 6 по 21 тижні обмеження життєвого простору відмічалось суттєве перетворення кореляційних взаємин майже із всіма параметрами, що досліджувалися. Тривалий комбінований restraint-стрес призводив до трансформації картини кореляційних взаємин які частіше змінювали свій вектор на негативний, сила ставала більш значущою, а у випадках де в контролі був зв'язок позитивним – він ставав негативним.

Наступним завданням була візуалізація різниці сили зв'язків, що було виконано за допомогою кластерного аналізу. Вибір цього інструменту зумовлено відповідністю, на нашу думку, його методології цілям аналізу, а саме - формуванню єдиної міри, що об'єднує різнорідні признаки, чисельний підхід до групування, а також спроможність аналізу сполучення різних за природою ознак. В роботі вирішували задачу формально-кількісної кластеризації – представити у стислому вигляді масив інформації з його багатомірністю, але так, щоб втрати інформації були мінімальними. Кластерний аналіз — це групування елементів у кластери на основі подібності елементів один до одного. Кластеризація широко використовується в аналізі даних для пошуку груп із подібними профілями. Це допомагає ідентифікувати функціонально пов'язані показники [118, 153].

Критичним кроком у кластеризації є вибір мір відстані. Він визначає, як обчислюється подібність двох елементів  $(x, y)$ , і це впливатиме на форму кластерів. В кластерному аналізі признаки групування об'єднуються за допомогою наступних «метрик» - евклідової відстані, Квадрату відстані Евкліда, Косинус, Кореляція Пірсона, Чебишева, Блоку, Мінковського, тощо. Оскільки в роботі досліджували факт зміни кількості та сили зв'язків, то у якості міри відстані між кластерами було обрано відстань Пірсона та метод повного зв'язку. Чим більший коефіцієнт Пірсона, тим більше об'єкти корелюють один з одним, тим менш повинна бути відстань між ними. В



кластерному аналізі для визначення відстані використовується вираз 1-Коефіцієнт Пірсона [118, 153].

Враховуючи доведений факт, що за нормальних умов концентрації гормонів та нутрієнтів практично не впливають на морфоденситометричні показники нейронів, тоді як значущі зсуви констант метаболізму, особливо глюкози, через вплив на експресію нейротрофічного фактору головного мозку, що відіграє ключову роль у розвитку нейронів, синаптичної пластичності та центральному контролі енергетичного гомеостазу, стають одним з найважливіших з патогенетичних ланцюгів формування нейродегенеративних розладів [182]. Тобто, хронічна гіперглікемія надає згубний вплив на різні функції мозку, призводячи до нейродегенеративних змін, викликає окислювальний стрес на додаток до молекулярних змін у нейронах та гліальних клітинах. Передбачається, що високий рівень глюкози в крові підвищує рівень NO, індукують окислювальний стрес та можуть призвести до нейрозапалення, можливо через передачу сигналів NF- $\kappa$ B [183].

Візуалізація кореляційних взаємин у вигляді кластерів між морфометричними показниками великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу (площі цитоплазми, ядра та ядерця) та рівнів глюкози і холестеролу показала значущі трансформації взаємин та зміну графічних форм порівняно до контролю (рис. 5.8, рис. 5.9 та рис. 5.10).

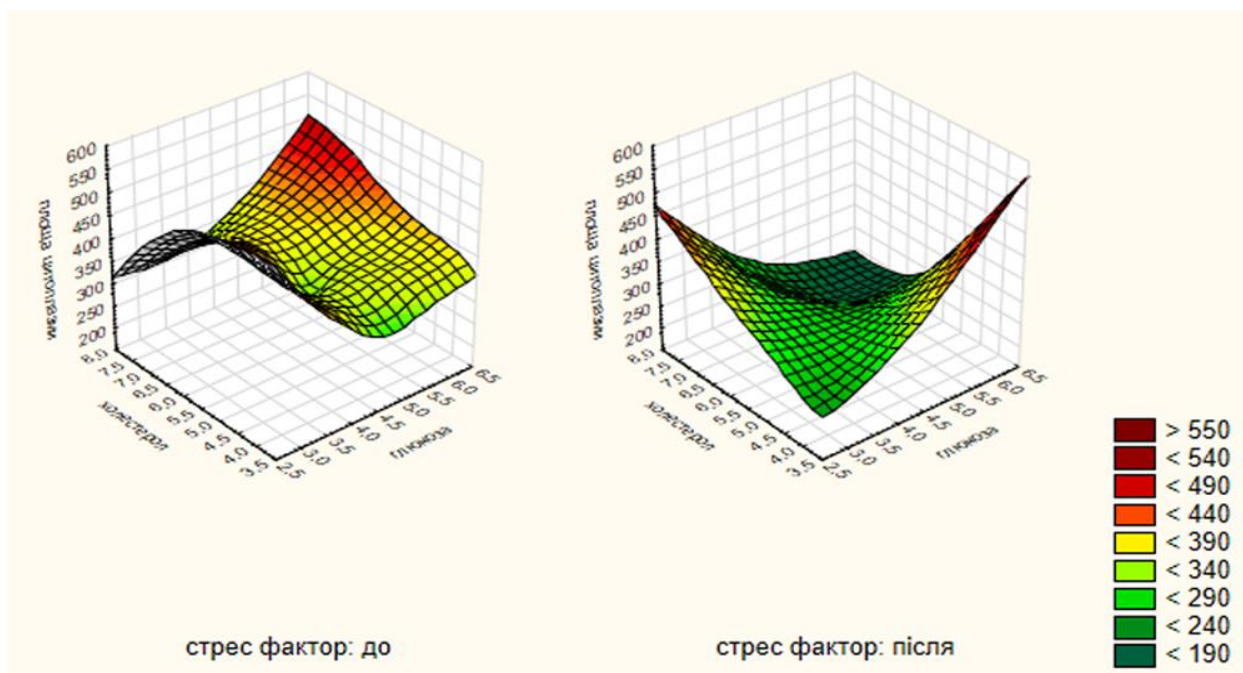


Рисунок 5.8 – Трансформація форми кластеру кореляційних взаємин площі цитоплазм великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу (Z) з концентраціями холестеролу (X) та глюкози (Y) після стрес-обмеження протягом спостереження з 6 по 21 тижні порівняно до контролю.

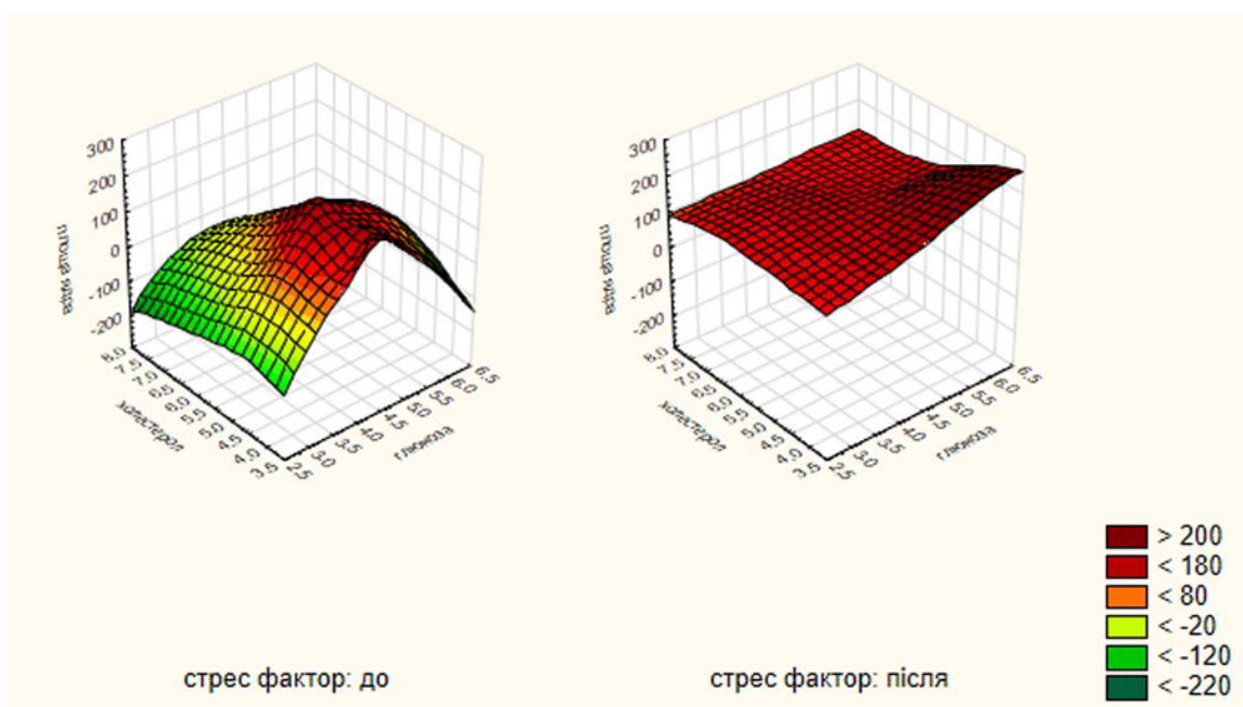


Рисунок 5.9 – Трансформація форми кластеру кореляційних взаємин площі ядер великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу (Z) з концентраціями холестеролу (X) та глюкози (Y) після стрес-обмеження протягом спостереження з 6 по 21 тижні порівняно до контролю.



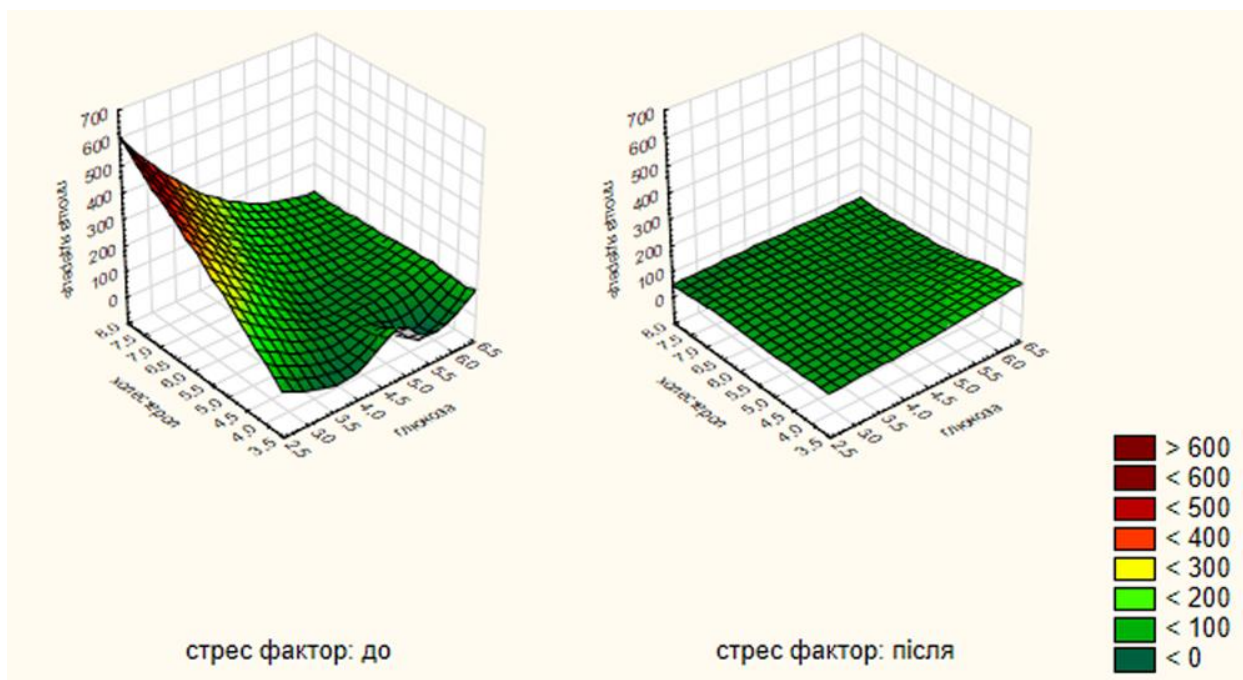


Рисунок 5.10 – Трансформація форми кластеру кореляційних взаємин площі ядерець великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу (Z) з концентраціями холестеролу (X) та глюкози (Y) після стрес-обмеження протягом спостереження з 6 по 21 тижні порівняно до контролю.

Другий кластер будувався з матриці кореляційних взаємин між метричними показниками великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу та концентраціями інсуліну та кортикостерону. Саме ці два гормони є ключовими у регуляції глюкозного гомеостазу. Балансуючи як гойдалки сприяють підтриманню рівня глюкози у межах глікемічного діапазону [184-187].

Необхідно зазначити, що вплив гормонів інсуліну та кортикостерону на структуру нейронів може бути пов'язаним із збільшенням, або, навпаки, зменшенням концентрації осмотично активної глюкози, залежати від прямої дії на клітину або через поведінкові та мотиваційні зміни [188, 189].

Підтвердженням стала очікувана зміна графічної форми кореляційних взаємин між площами цитоплазм великоклітинний нейронів ПВЯ, або їх ядер чи ядерець, із рівнями інсуліну та кортикостерону (рис. 5.11, рис. 5.12 та рис. 5.13).

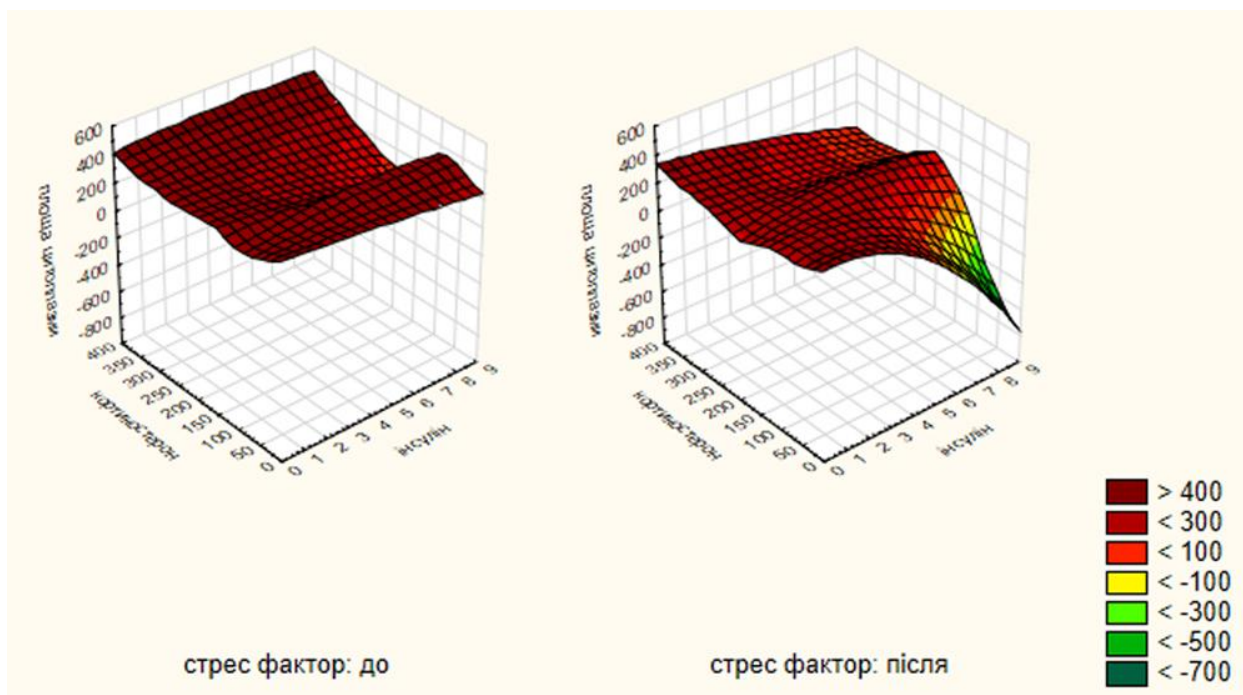


Рисунок 5.11 – Трансформація форми кластеру кореляційних взаємин площі цитоплазм великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу (Z) з рівнями інсуліну (X) та кортикостерону (Y) після стрес-обмеження протягом спостереження з 6 по 21 тижні порівняно до контролю.

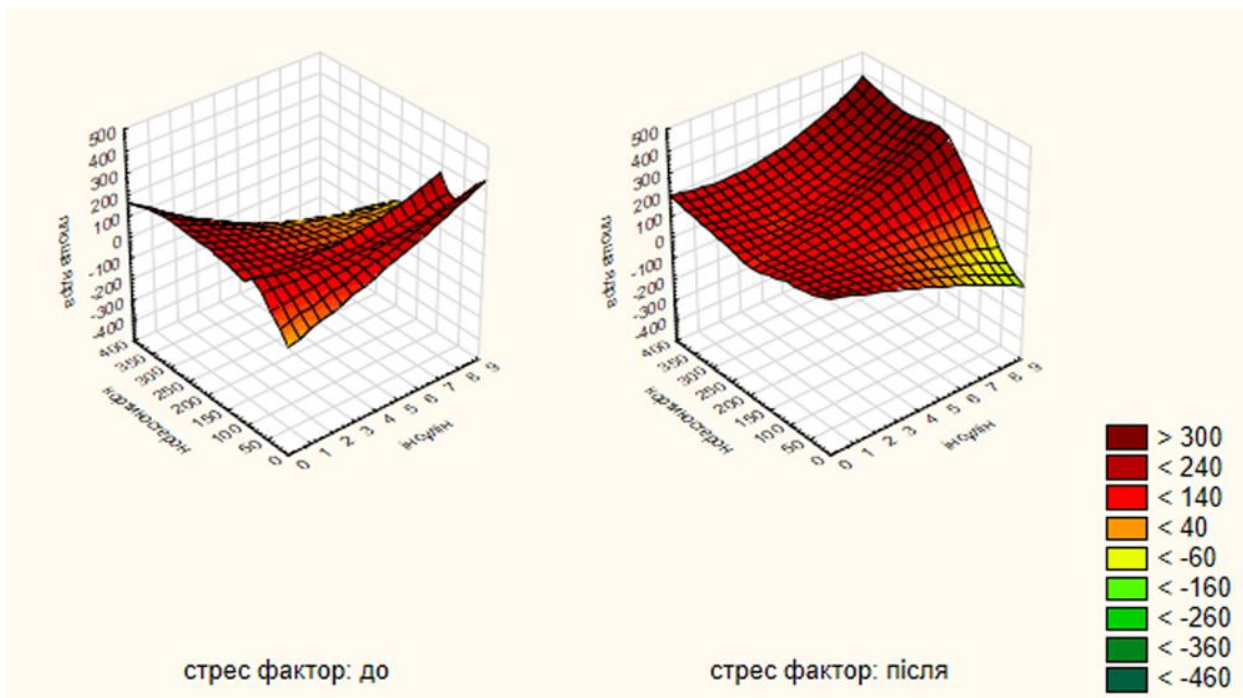


Рисунок 5.12 – Трансформація форми кластеру кореляційних взаємин площі ядер великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу (Z) з рівнями інсуліну (X) та кортикостерону (Y) після стрес-обмеження протягом спостереження з 6 по 21 тижні порівняно до контролю.

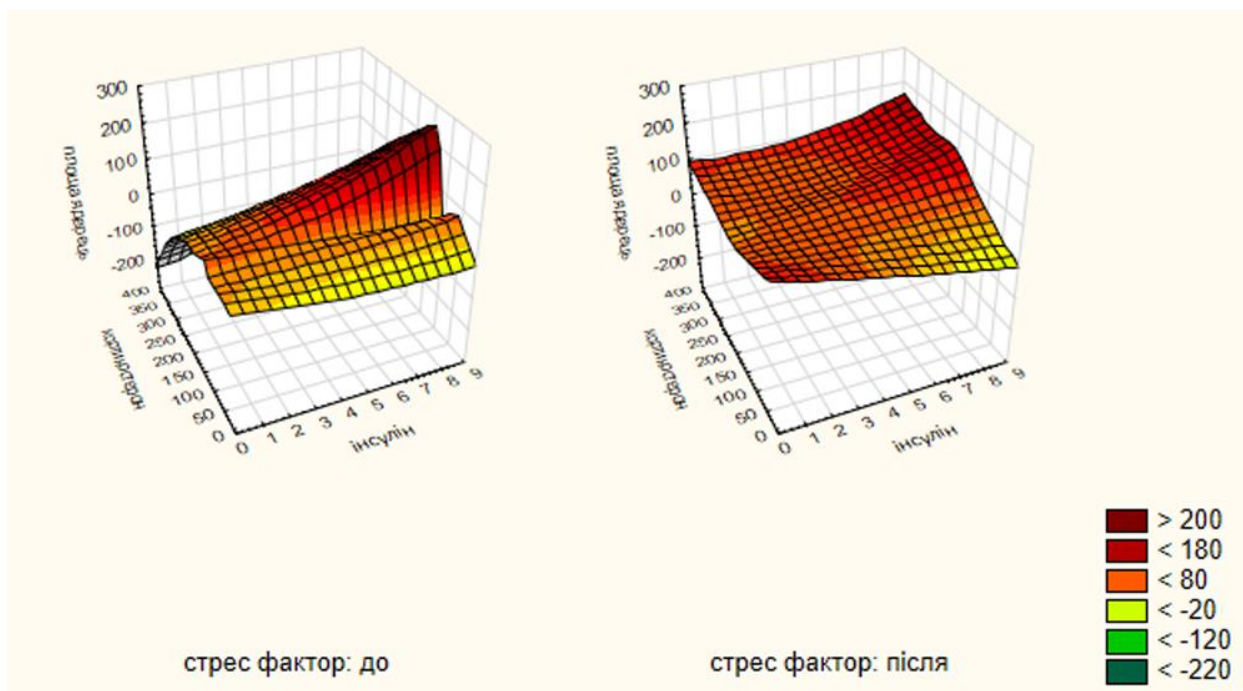


Рисунок 5.13 – Трансформація форми кластеру кореляційних взаємин площі ядерець великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу (Z) з рівнями інсуліну (X) та кортикостерону (Y) після стрес-обмеження протягом спостереження з 6 по 21 тижні порівняно до контролю.

Сьогодні вже без заперечливий факт, що хронічне підвищення концентрацій глюкокортикоїдів та інсуліну шкідливе здоров'ю, через вплив на споживання їжі, ожиріння та репродуктивну функцію. Проведене дослідження показало, що високі рівні кортикостерону та інсуліну стають важливими факторами зменшення розмірних показників нейронів гіпоталамусу. В роботі [Pamela J McMillan](#) та співавт. (2004) було доведене, що глюкокортикоїди регулюють пластичність і виживання нейронів гіпокампу, тоді як аберація його дія може призвести до нейродегенерації [190]. Інші дослідники впливу стресу довели, що базальний кортизол негативно корелює з обсягом та числом нейронів лівої, але не правої зубчастої звивини. Хоча очевидна нейропатологія була відсутня, але апоптоз був присутній у зубчастої звивини та альвеусі та меншою мірою в областях СА гіпокампу [191].



Гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникова дисрегуляція, що пов'язана із значним підвищенням рівня кортизолу, розглядається як фактор ризику хвороби Альцгеймера. В описаному дослідженні автори оцінювали перехресні зв'язки між кортизолом та біомаркерами нейровізуалізації структури мозку та метаболізму глюкози по всьому спектру хвороби Альцгеймера. Було доведено, що у всій групі вищі рівні кортизолу в плазмі були пов'язані з нижчим метаболізмом глюкози в латеральних і медіальних тім'яних областях та з меншим обсягом сірої речовини у скронево-тім'яно-потиличній ділянці та в гіпокампі [192]. Інша група науковців показала, що вищий рівень кортизолу передбачає більш високу атрофію гіпокампа, що, своєю чергою, є чинником ризику прогресування хвороби Альцгеймера [193].

Щодо розуміння впливу та наслідків на стан нейронів вищого інтегративного центру мозку гіпоталамусу гормонально-метаболічних порушень формування матриць кореляційних взаємин необхідно роботи не тільки за морфометричними показниками. Це пов'язане із складністю інтерпретації отриманих змін розмірів нейронів. Так збільшення площі клітин може бути пов'язаним як із підвищеною активністю через посилення синтетичних процесів, так і з нейродегенерацією через набухання та утворення вакуолей. Зменшення розмірних показників – частіше це зниження функції [194]. Тому більш повну картину можна отримати при побудові кореляційних кластерів обраних гормонально-метаболічних показників із вмістом нуклеїнових кислот, що представлені гетерогенною РНК в цитоплазмі, та гетерогенними РНК та ДНК в ядрах та ядерцях нейронів. Як і при попередньому аналізі були відібрані дві групи показників це концентрації метаболітів (глюкоза та холестерол) (рис. 5.14, рис. 5.15 та рис. 5.16) та гормонів (інсулін-кортикостерон) (рис. 5.17, рис. 5.18 та рис. 5.19), що формували кластери кореляційних взаємин із вмістом нуклеїнових кислот в структурах (цитоплазма, ядро та ядерця) великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу.



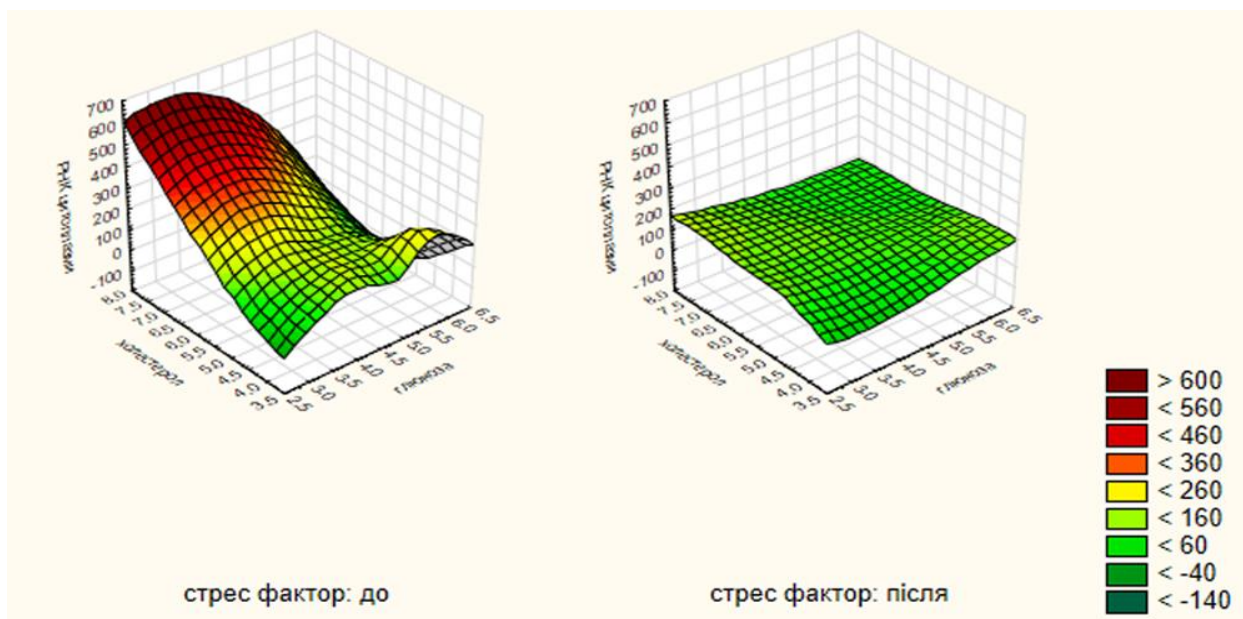


Рисунок 5.14 – Трансформація форми кластеру кореляційних взаємин вмісту нуклеїнових кислот в цитоплазмі великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу (Z) з концентраціями холестеролу (X) та глюкози (Y) після стрес-обмеження протягом спостереження з 6 по 21 тижні порівняно до контролю.

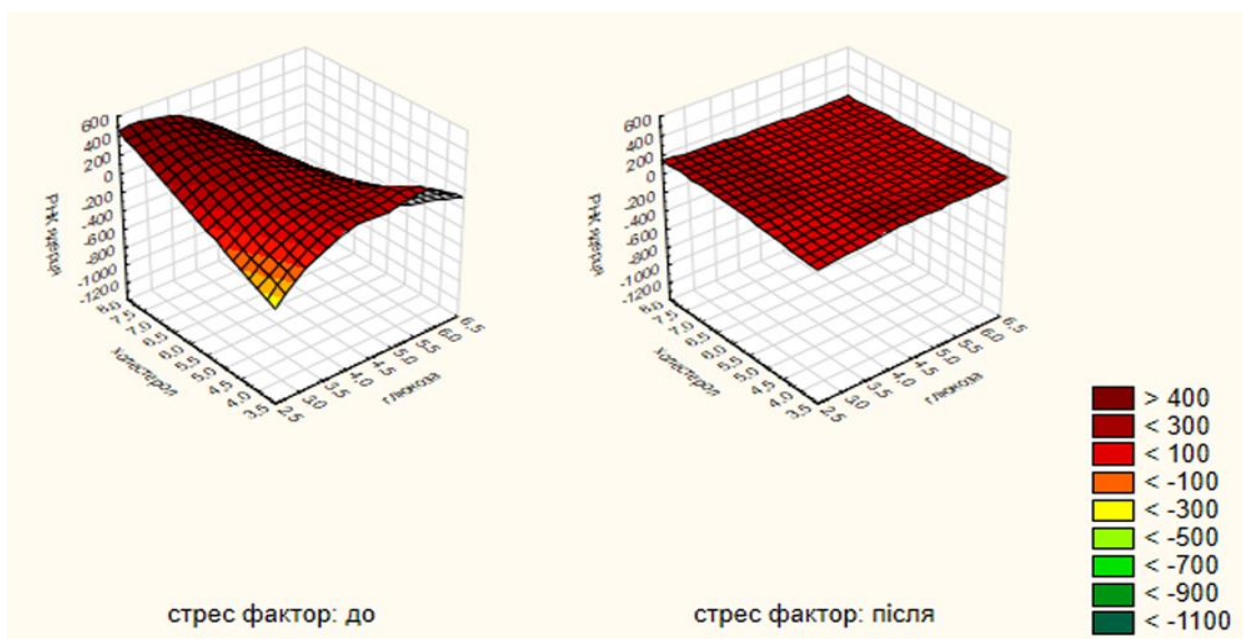


Рисунок 5.15 – Трансформація форми кластеру кореляційних взаємин вмісту нуклеїнових кислот в ядрах великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу (Z) з концентраціями холестеролу (X) та глюкози (Y) після стрес-обмеження протягом спостереження з 6 по 21 тижні порівняно до контролю.

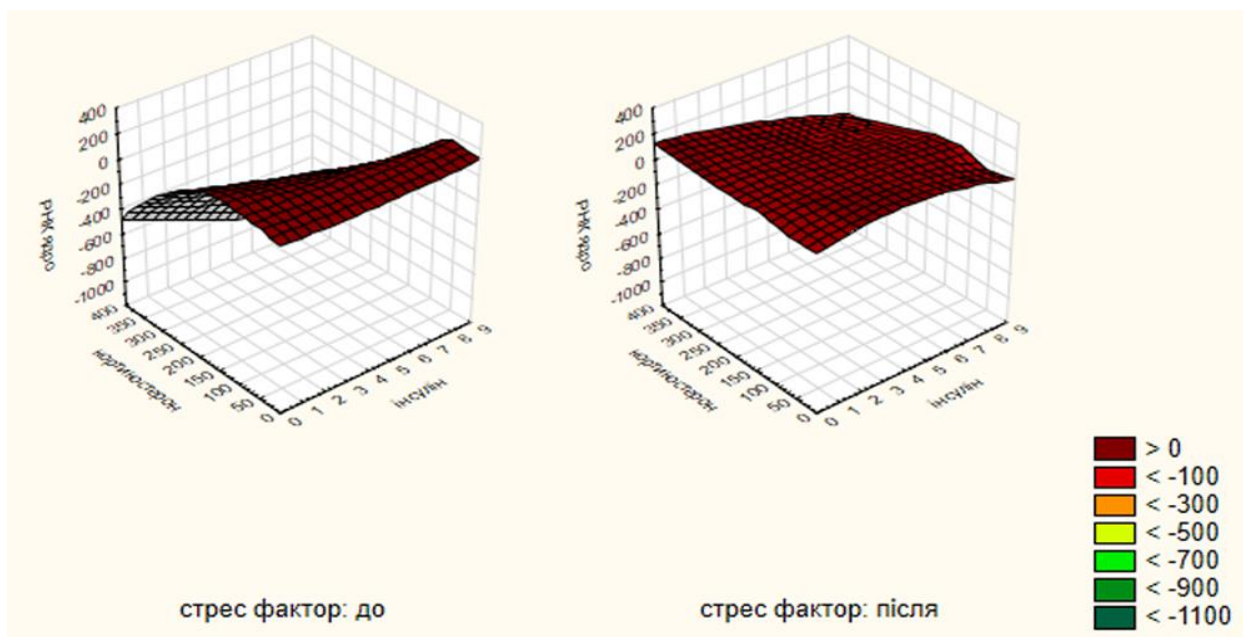


Рисунок 5.16 – Трансформація форми кластеру кореляційних взаємин вмісту нуклеїнових кислот в ядерцях великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу (Z) з концентраціями холестеролу (X) та глюкози (Y) після стрес-обмеження протягом спостереження з 6 по 21 тижні порівняно до контролю.

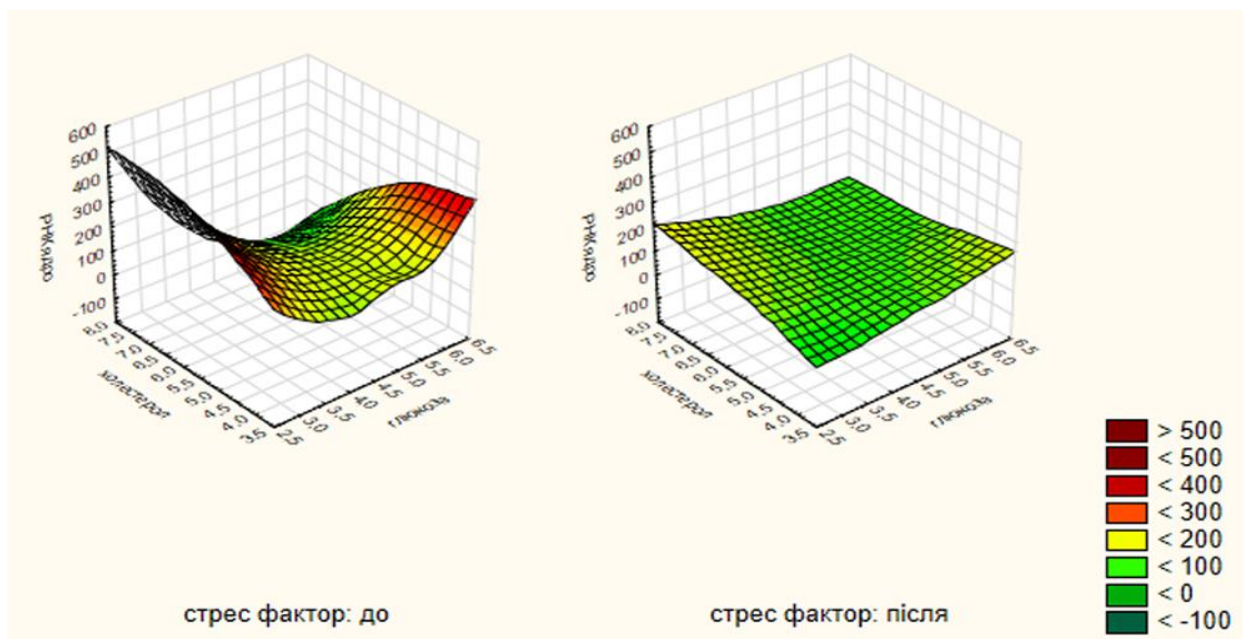


Рисунок 5.17 – Трансформація форми кластеру кореляційних взаємин вмісту нуклеїнових кислот в цитоплазмі великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу (Z) з рівнями інсуліну (X) та кортикостерону (Y) після стрес-обмеження протягом спостереження з 6 по 21 тижні порівняно до контролю.

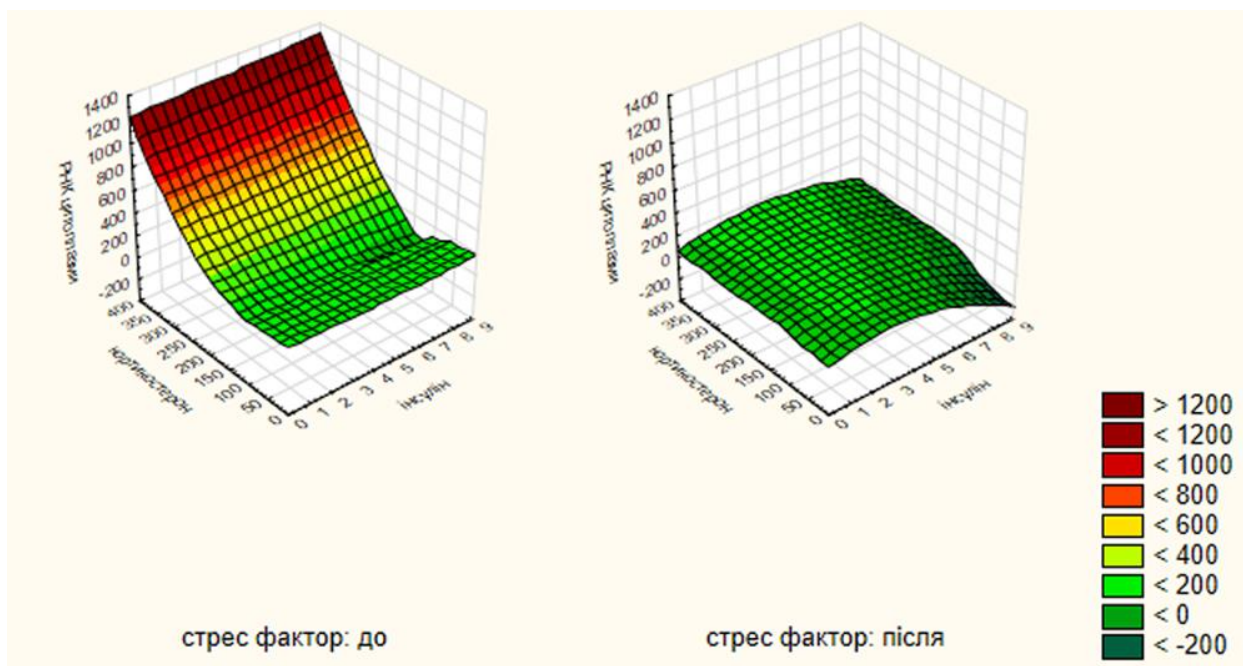


Рисунок 5.18 – Трансформація форми кластеру кореляційних взаємин вмісту нуклеїнових кислот в ядрах великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу (Z) з рівнями інсуліну (X) та кортикостерону (Y) після стрес-обмеження протягом спостереження з 6 по 21 тижні порівняно до контролю.

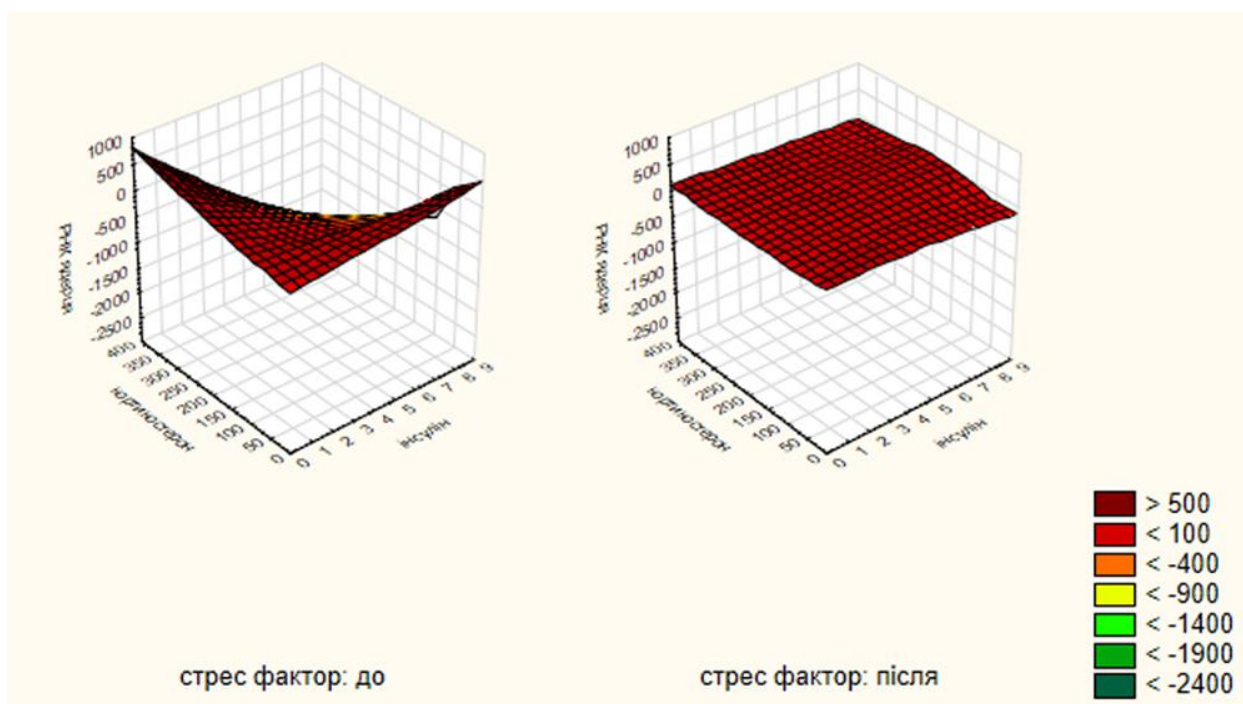


Рисунок 5.19 – Трансформація форми кластеру кореляційних взаємин вмісту нуклеїнових кислот в ядерцях великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу (Z) з рівнями інсуліну (X) та кортикостерону (Y) після стрес-обмеження протягом спостереження з 6 по 21 тижні порівняно до контролю.



На представлених вище графіках спостерігається чітка закономірність трансформації кластерів кореляційних взаємин вмісту нуклеїнових кислот в структурах великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу не тільки з концентраціями глюкози та холестеролу, спостерігаються високої сили негативні зв'язки із рівнями ключових гормонів регуляторів жирового та вуглеводного обмінів – інсуліну та кортикостерону (див. рис. 5.14-5.19).

Обидва відмічених гормони не тільки змінюють метаболічні вектори, описані впливи на рецепторний ландшафт нейронів. Відомо, що мозок постійно піддається впливу різних рівнів кортикостероїдних гормонів надниркових залоз, таких як кортикостерон у гризунів та кортизол у людей. Природні коливання відбуваються через ультрадіанні та циркадні варіації або викликані впливом стресових ситуацій. Клітини мозку експресують два типи кортикостероїдних рецепторів, мінералокортикоїдні та глюкокортикоїдні, які різняться за розподілом та спорідненістю. Ці рецептори можуть опосередковувати як швидкі негеномні, і повільні генно-опосередковані дії нейронів. Необхідно констатувати, що саме мозок є ключовим органом реагування на стрес, подолання стресу та процесів відновлення. У мозку розподілена нейронна мережа яка визначає, що безпосередньо загрожує життю. Інструментальні системи мозку, відповідальні за цю схему, включають в тому числі і гіпоталамус, який регулює фізіологічні та поведінкові стресові процеси, що можуть бути адаптивними у короткостроковій перспективі та дезадаптивними у довгостроковій перспективі [195, 196].

Значно підвищений рівень інсуліну на тлі сформованої інсулінорезистентності, гіперглікемії та гіперхолестеролемії, що було встановлено в дослідженні, показали наявність потужних кореляційних взаємин із денситометричними параметрами великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу. При цьому необхідно підкреслити життєво важливу роль, яку інсулін грає в нейротрансмітерах мозку, гомеостазі енергії, а також у ємності пам'яті. Існує достатньо робіт, які вказують на існування механістичної взаємодії між патогенезом хвороби Альцгеймера та цукровим діабетом 2 типу





і, особливо, порушенням передачі сигналів інсуліну [197]. Обидві патології взаємопов'язані з інсулінорезистентністю, нейрозапаленням, окислювальним стресом, кінцевими продуктами глікозилювання, мітохондріальною дисфункцією та метаболічним синдромом [198-200]. Саме стрес, його тривалість, комбінативність не природні впливи та неспроможність систем подолання стають підґрунтям суттєвих метаболічних порушень.

Важливо відзначити, що такі стресові процеси виникають через подвійно спрямований зв'язок між мозком і вегетативною, серцево-судинною та імунною системами через нервові та ендокринні механізми, що лежать в основі пізнання, досвіду та поведінки. З одного боку, ці подвійно спрямовані механізми стресу є захисними, оскільки сприяють короткостроковій адаптації. Однак з іншого боку, ці механізми стресу можуть призвести до довгострокового порушення регуляції, оскільки вони сприяють неадаптивному зносу тіла та мозку (із нейродегенеративними процесами) в умовах хронічного стресу, ставлячи під загрозу стійкість до стресів і здоров'я [92, 201].

Але це не кінець життєвого процесу, а його проміжний етап. Цим перетворенням справа не обмежується — більшість тварин і людей не вмирають від довготривалих та повторних стресорних ситуацій, однак в них формуються хронічні захворювання, які погіршують якість життя та скорочують його [202, 203]. Саме тому чітке розуміння первинності змін на рівні стрес-регуляторних центрів мозку, особливостей їх функціонування протягом стрес реакції, через тривалість впливів поступовою нейродегенерацією та гормонально-метаболічними порушеннями, що включаються у “хибне коло” пошкодження нейронів, надає обнадійливі можливості в розробці стрес-протективних програм, що підтримують стійкість та функціональність нейронів гіпоталамусу; формуванні діагностичного та прогностичного алгоритму стану нейронів, підходи до нейропротективної терапії з урахуванням стадії процесу та прогнозування адаптаційних можливостей.



## ВИСНОВКИ

Головним чинником неухильного зростанням долі порушення психічного та соматичного здоров'я у структурі хвороб людства є різного роду надмірні стресорні навантаження в комбінації з негативними соціальними факторами. Повномасштабна війна в Україні, що триває вже третій рік тільки загострила проблему – соціальна ізоляція, скупчення у сховищах, втрата близьких, невизначеність майбутнього, як наслідок – виснаження адаптаційних можливостей, зрив регуляторних систем організму та дезадаптація, незворотні патологічні зміни із розвитком різних соматичних захворювань. Розуміння патогенетичних механізмів формування адаптаційного синдрому при тривалих, низької інтенсивності комбінованих стресорних впливах, визначення ролі окремих гіпоталамічних ядер у інтеграції емоціонально-поведінкових реакцій та їх координації із гемодинамічними, кардіоваскулярними та метаболічними взаєминами, є актуальною проблемою сучасної патофізіології, що надасть можливість прогнозувати та попереджувати розвиток хвороб дезадаптації, запропонувати нові діагностичні алгоритми та фармакологічні мішені. У дисертаційній роботі вирішена важлива наукова проблема щодо з'ясування патогенетичних особливостей морфофункціонального стану великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу мозку та визначення специфіки гормонально-метаболічних змін у щурів при стресі-обмеженні різної тривалості.

1. У щурів, які піддавалися довготривалому стресу низької інтенсивності, що не може бути подоланим (обмеження життєвого простору) через постійну індукцію додатковими підпороговими стресорами (соціальні негаразди, заміна партнерів, малорухливість) після 6 тижнів відбувається достовірне зниження маси тіла на 20,72 %, на 15 тижні сталося її відновлення до вихідних, на 21 тижні – перевищення контрольних значень на 26,1 %. Артеріальний тиск показує зростаючий тренд: на 6 тижні підвищується систолічний тиск порівняно до контролю на 7 % без зміни значень



діастолічного, на 15 тижні збільшення систолічного тиску складає 17 %, діастолічного – 21,4 %; на 21 тижні через збільшення систолічного тиску на 26 %, діастолічного на 37 % він стає майже 145/95 мм рт.ст., що, за рекомендаціям Європейського товариства гіпертензії та Європейського товариства кардіології, розглядається як артеріальна гіпертензія I ступеня.

2. Обмеження життєвого простору, малорухливість та складні комунікаційні відносини у щурів поступово формують комплекс відхилень, що змінюють характер глікемічної реакції на глюкозне навантаження, порушують прандіальну секрецію інсуліну, підвищують гіперглікемізуючу дію контрінсулярного гормону кортикостерону та реалізують дисфункціональні прояви прандіальної/після прандіальної глікемії. Динаміка змін прогресує з часом, так аналіз результатів внутрішньочеревинного тесту толерантності до глюкози показав, що 6 тижнів обмежень та негарздів формують «гіпоглікемічно-гіпоінсулінемічний» тип глікемічної кривої із високою чутливістю тканин до глюкози; 15 тижнів показує «гіпоінсулінемічну» криву із збереженою чутливістю тканин до глюкози; 21 тиждень обмежень формує «діабетичний» тип глікемічної кривої із порушенням чутливості тканин до глюкози та розвитком інсулінорезистентності.

3. Тривалий комбінований стрес-обмеження низької інтенсивності сприяє гормональним змінам, які на початку свідчать про реалізацію «класичних» механізмів адаптаційного синдрому та проявляються гіпоінсулінемією (зниження на 34 %), збільшенням рівня АКТГ більш ніж на 50 % та сталістю концентрації кортикостерону. Пролонгація стресорних впливів призводить до дезадаптивних перебудов, сприяє на 15 тижні подальшому зниженню рівня інсуліну у два рази, на 45 % вищим значенням АКТГ та «піковому» у 3,76 рази зростанню концентрації кортикостерону. На 21 тижні через сформовану інсулінорезистентність (індекс НОМА-IR ставав в 1,76 рази вище значень контролю) відмічаються збільшення концентрації



інсуліну у 1,5 рази, більш ніж у два рази АКТГ та вищі на 19,4 % значення кортикостерону.

4. Динаміка змін показників вуглеводного (глюкоза натще) та жирового (рівні тригліцеридів, холестеролу та загальних ліпідів) обмінів в експериментальних групах із тривалим стресом по відношенню до контрольних тварин показує тимчасові особливості протягом формування стрес-реакції. На 6 тижні стресу рівень глюкози натще виявляється нижчим майже на третину, концентрації тригліцеридів та холестеролу достовірно не відрізняються, а рівень загальних ліпідів стає вищим контрольних на 22,8 %. 15 тиждень показує значні коливання досліджуваних параметрів: рівень глюкози переважає значення контролю на 28 %, тригліцеридів - на 43% на тлі стабільних концентрацій холестеролу та загальних ліпідів. Суттєві зміни досліджуваних параметрів проявляються на 21 тижні, які значуще перевищують як контрольні цифри, так і попередні терміни (окрім глюкози натще), що можна розглядати як свідчення виснаження адаптаційних резервів, порушення гомеостазу із формуванням дезадаптаційних змін.

5. Морфометричне дослідження великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу показує зменшення площі цитоплазми прямо пропорційне строку стрес-обмеженню, яка стає достовірно меншою порівняно до контролю (на 6 тижні на 18 %, на 15 тижні – на 23 %, при 21 тижнях на 40 %). Середня площа ядер нейронів показує подібну закономірність щодо площі цитоплазми - зменшується порівняно до контролю від 9 % при 6-и тижнях і 25 % при 21-у тижні стресу. Сумарна площа ядерець проявляє зворотну залежність. На тлі прямо пропорційного строкам стресу зменшення площі цитоплазми та ядер нейронів площі ядерець демонструють осцилятивні коливання із збільшенням більш ніж на третину при 6-и та 15-и тижнях стресу, та зменшенням на 21 тижні на 15 %.

6. Виявлено важливу закономірність системного зменшення вмісту нуклеїнових кислот в цитоплазмі, ядрах та ядерцях великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу із невеликим, в середньому на 5 %, міжгруповим



коливанням, що стає вагомими свідченням повільного гальмуючого впливу тривалого стресу низької інтенсивності через обмеження життєвого простору, малорухливість та складні комунікаційні відносини у тварин на синтетичну активність великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу. Через 6 місяців обмеження у цитоплазмі нейронів їх вміст стає меншим за контроль на 39 %, на 15-у тиждень на 34 %, на 21-у тиждень стрес-обмеженні на 42 %. В їх ядрах вміст НК після 6-о та до 15-о тижня обмеження життєвого простору зменшується приблизно однаково, а саме на 37 % і 35 % відповідно; довготривале обмеження протягом 21 тижня сприяє ще більш значнішому зменшенню на 41 %. В ядрах нейронів при змодельованому стресі вміст нуклеїнових кислот, порівняно до контролю, змінюється подібно значенням цитоплазми та ядер нейронів, в групі 6-и тижнів їх вміст стає меншим на 40 %, після 15-и тижнів – на 39 % і на 43 % після 21 тижня.

7. Кореляційний аналіз взаємозв'язків морфоденситометричних показників нейронів ПВЯ гіпоталамусу (площі цитоплазми, ядра, ядерець та вміст у них нуклеїнових кислот) із досліджуваними параметрами (концентрацій глюкози, тригліцеридів, холестеролу, рівнів гормонів, артеріального тиску, розрахункових індексів) показує у контрольних щурів переважно слабкі позитивні, рідше негативні, зв'язки. Тривалий комбінований стрес трансформує картину кореляційних взаємин, які частіше змінюють свій вектор на негативний, сила стає більш значущою, а у випадках де в контролі був зв'язок позитивним – він стає негативним.



## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. <https://geneva.mfa.gov.ua/posolstvo/2612-who>
2. Лук'янченко, М. (2010). Здоров'я людини через призму моделі салютогенезу: теорія та практика. *Молодь і ринок*, (12), 49-52. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Mir\\_2010\\_12\\_12](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Mir_2010_12_12)
3. Seidler, A., Schubert, M., Freiberg, A., Drössler, S., Hussenoeder, F. S., Conrad, I., Riedel-Heller, S., & Starke, K. R. (2022). Psychosocial Occupational Exposures and Mental Illness. *Deutsches Arzteblatt international*, 119(42), 709–715. <https://doi.org/10.3238/arztebl.m2022.0295>
4. Schreibauer, E. C., Hippler, M., Burgess, S., Rieger, M. A., & Rind, E. (2020). Work-Related Psychosocial Stress in Small and Medium-Sized Enterprises: An Integrative Review. *International journal of environmental research and public health*, 17(20), 7446. <https://doi.org/10.3390/ijerph17207446>
5. Johnson S. (2022). In Times of Adversity: A Neuroscience Perspective on Stress, Health, and Implications for Society Post-pandemic. *The Yale journal of biology and medicine*, 95(1), 165–170. PMID: 35370488 PMCID: [PMCID8961708](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35370488/)
6. Averous, P., Charbonnier, E., & Dany, L. (2020). Relationship Between Illness Representations, Psychosocial Adjustment, and Treatment Outcomes in Mental Disorders: A Mini Review. *Frontiers in psychology*, 11, 1167. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2020.01167>
7. Sonino, N., Fava, G. A., Lucente, M., & Guidi, J. (2023). Allostatic Load and Endocrine Disorders. *Psychotherapy and psychosomatics*, 92(3), 162–169. <https://doi.org/10.1159/000530691>
8. Krupa, V., & Maltseva, K. (2019). Соціальний стрес та превалюючі стресори серед студентів бакалаврату НаУКМА. *Наукові записки НаУКМА. Соціологія*, 2, 62–73. <https://doi.org/10.18523/2617-9067.2019.2.62-73>
9. Salihu, H. M., Salinas-Miranda, A. A., King, L. M., Dongarwar, D., Yusuf, K. K., Ibrahimi, S., Ikedionwu, C. A., & Berry, E. L. (2020). Racism, Psycho-



Social Stress, and Health-related Quality of Life. *International journal of MCH and AIDS*, 9(1), 73–76. <https://doi.org/10.21106/ijma.339>

10. Braddock, A. S., Phad, A., Tabak, R., Kumanyika, S., Johnston, S., Koopman, R., Prout, E., & McQueen, A. (2021). Assessing Racial and Ethnic Discrimination in Children: A Scoping Review of Available Measures for Child Health Disparities Research. *Health equity*, 5(1), 727–737. <https://doi.org/10.1089/heq.2021.0008>

11. Fruehwirth, J. C., Mazzolenis, M. E., Pepper, M. A., & Perreira, K. M. (2023). Perceived stress, mental health symptoms, and deleterious behaviors during the transition to college. *PloS one*, 18(6), e0287735. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0287735>

12. Bloomfield, M. A., McCutcheon, R. A., Kempton, M., Freeman, T. P., & Howes, O. (2019). The effects of psychosocial stress on dopaminergic function and the acute stress response. *eLife*, 8, e46797. <https://doi.org/10.7554/eLife.46797>

13. Schneiderman, J. U., Davis, J. P., & Negriff, S. (2021). Associations Between Psychosocial Functioning and Physical Health in Youth with Maltreatment Experiences. *Children and youth services review*, 127, 106080. <https://doi.org/10.1016/j.childyouth.2021.106080>

14. Trabsa, A., Lee, N., & Lee, J. H. (2022). Posttraumatic Stress Symptoms, Physical Illness, and Social Adjustment Among Disaster Victims. *Disaster medicine and public health preparedness*, 17, e195. <https://doi.org/10.1017/dmp.2022.89>

15. Lei, M. K., Berg, M. T., Simons, R. L., & Beach, S. R. H. (2023). Specifying the psychosocial pathways whereby child and adolescent adversity shape adult health outcomes. *Psychological medicine*, 53(13), 6027–6036. <https://doi.org/10.1017/S003329172200318X>

16. Johnson, R. J., Antonaccio, O., Botchkovar, E., & Hobfoll, S. E. (2022). War trauma and PTSD in Ukraine's civilian population: comparing urban-dwelling to internally displaced persons. *Social psychiatry and psychiatric epidemiology*, 57(9), 1807–1816. <https://doi.org/10.1007/s00127-021-02176-9>



17. Rikabi, S., Kumar, S., & Shah, G. (2023). Takotsubo Cardiomyopathy Triggered by Emotional Stress From the Russia-Ukraine War. *JACC. Case reports*, 16, 101895. <https://doi.org/10.1016/j.jaccas.2023.101895>
18. Serbeniuk, A., Kaminskiy, V., Kumpanenko, Y., Vash-Margita, A., & Malysheva, I. (2023). The impact of the war in Ukraine on the reproductive health of female military personnel. *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics*, 163(2), 409–415. <https://doi.org/10.1002/ijgo.14990>
19. Ho, G. W. K., Vang, M. L., Martsenkovskiy, D., Karatzias, T., Ben-Ezra, M., McElroy, E., Redican, E., Cloitre, M., Lorberg, B., Hyland, P., & Shevlin, M. (2023). Investigating the latent structure of the International Trauma Questionnaire to assess ICD-11 posttraumatic stress disorder (PTSD) and complex PTSD in an adult civilian sample during the Ukraine war. *Journal of traumatic stress*, 36(4), 820–829. <https://doi.org/10.1002/jts.22943>
20. Nikitina, I. M., Synkina, A. A., Yakymchuk, Y. B., Sukhostavets, N. P., Kopytsia, T. V., Herasymenko, S. F., & Babar, T. V. (2023). MENSTRUAL DISORDER IN ADOLESCENTS DURING WAR. *Wiadomosci lekarskie (Warsaw, Poland : 1960)*, 76(5 pt 1), 984–991. <https://doi.org/10.36740/WLek202305115>
21. Пилипака, Ю. І., & Романюк, В. Л. (2016). Стрес як загальний адаптаційний синдром та психічне здоров'я особистості. *Психологія: реальність і перспективи*, (6), 177-182. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/prp\\_2016\\_6\\_34](http://nbuv.gov.ua/UJRN/prp_2016_6_34)
22. Lu, S., Wei, F., & Li, G. (2021). The evolution of the concept of stress and the framework of the stress system. *Cell stress*, 5(6), 76–85. <https://doi.org/10.15698/cst2021.06.250>
23. Грицик, О. (2020). Дослідження впливу психосоматики на розвиток соматичних та онкологічних захворювань. *Вісник Львівського університету*, 7, 17-22. <https://doi.org/10.30970/PS.2020.7.3>
24. Wijaya, D., Suharjono, Matulatan, F., & Padolo, E. (2021). Analysis of stress ulcer prophylaxis drug regimentation in surgical patients. *Journal of basic and*





*clinical physiology and pharmacology*, 32(4), 645–649.

<https://doi.org/10.1515/jbcpp-2020-0428>

25. Rauch, J., Patrzyk, M., Heidecke, C. D., & Schulze, T. (2021). Current practice of stress ulcer prophylaxis in a surgical patient cohort in a German university hospital. *Langenbeck's archives of surgery*, 406(8), 2849–2859.

<https://doi.org/10.1007/s00423-021-02325-3>

26. Mekhail, A., Young, P., Mekhail, A. M., Tinawi, G., Haran, C., Clayton, N., & Galvin, S. (2023). Stress Ulcer Prophylaxis in Cardiac Surgery: A Retrospective Cohort Study to Analyze the Effects of SUP Cessation. *Journal of intensive care medicine*, 38(10), 917–921.

<https://doi.org/10.1177/08850666231171327>

27. Pelet S. (2024). Adapting to ever-changing conditions. *eLife*, 13, e91717. <https://doi.org/10.7554/eLife.91717>

28. Fontes, M. A. P., Marins, F. R., Patel, T. A., de Paula, C. A., Dos Santos Machado, L. R., de Sousa Lima, É. B., Ventris-Godoy, A. C., Viana, A. C. R., Linhares, I. C. S., Xavier, C. H., Filosa, J. A., & Patel, K. P. (2023). Neurogenic Background for Emotional Stress-Associated Hypertension. *Current hypertension reports*, 25(7), 107–116. <https://doi.org/10.1007/s11906-023-01235-7>

29. Liu, Y., Tian, S., Ning, B., Huang, T., Li, Y., & Wei, Y. (2022). Stress and cancer: The mechanisms of immune dysregulation and management. *Frontiers in immunology*, 13, 1032294. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1032294>

30. Collin, L. J., Veres, K., Gradus, J. L., Ahern, T. P., Lash, T. L., & Sørensen, H. T. (2022). Preexisting stress-related diagnoses and mortality: A Danish cancer cohort study. *Cancer*, 128(6), 1312–1320.

<https://doi.org/10.1002/cncr.34036>

31. Russell, G., & Lightman, S. (2019). The human stress response. *Nature reviews. Endocrinology*, 15(9), 525–534. [https://doi.org/10.1038/s41574-019-0228-](https://doi.org/10.1038/s41574-019-0228-0)

[0](https://doi.org/10.1038/s41574-019-0228-0)



32. O'Connor, D. B., Thayer, J. F., & Vedhara, K. (2021). Stress and Health: A Review of Psychobiological Processes. *Annual review of psychology*, 72, 663–688. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-062520-122331>
33. Juruena, M. F., Erer, F., Cleare, A. J., & Young, A. H. (2020). The Role of Early Life Stress in HPA Axis and Anxiety. *Advances in experimental medicine and biology*, 1191, 141–153. [https://doi.org/10.1007/978-981-32-9705-0\\_9](https://doi.org/10.1007/978-981-32-9705-0_9)
34. Brandt, L., Liu, S., Heim, C., & Heinz, A. (2022). The effects of social isolation stress and discrimination on mental health. *Translational psychiatry*, 12(1), 398. <https://doi.org/10.1038/s41398-022-02178-4>
35. Маракушин, Д. І., Чернобай, Л. В., Ісаєва, І. М., Кармазіна, І. С., Ващук, М. А., Алексеєнко, Р. В., ... & Зеленська, Г. М. (2020). Функціональні резерви організму як показник ефективності регуляторних процесів, що забезпечують адаптацію організму до дії факторів навколишнього середовища. *Український журнал медицини, біології та спорту*, 5, 1(23), 21-28. DOI: 10.26693/jmbs05.01.021
36. Berger, I., Werdermann, M., Bornstein, S. R., & Steenblock, C. (2019). The adrenal gland in stress - Adaptation on a cellular level. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 190, 198–206. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2019.04.006>
37. Steenblock, C., Rubin de Celis, M. F., Delgadillo Silva, L. F., Pawolski, V., Brennand, A., Werdermann, M., Berger, I., Santambrogio, A., Peitzsch, M., Andoniadou, C. L., Schally, A. V., & Bornstein, S. R. (2018). Isolation and characterization of adrenocortical progenitors involved in the adaptation to stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(51), 12997–13002. <https://doi.org/10.1073/pnas.1814072115>
38. Roberts, B. L., & Karatsoreos, I. N. (2021). Brain-body responses to chronic stress: a brief review. *Faculty reviews*, 10, 83. <https://doi.org/10.12703/r/10-83>



39. McEwen B. S. (2017). Neurobiological and Systemic Effects of Chronic Stress. *Chronic stress (Thousand Oaks, Calif.)*, 1, 2470547017692328. <https://doi.org/10.1177/2470547017692328>
40. Feng, L., Ye, Z., Du, Z., Pan, Y., Canida, T., Ke, H., ... & Ma, T. (2024). Causal association between allostatic load and accelerated white matter brain aging: findings from the UK Biobank. *medRxiv*, 2024-01. <https://doi.org/10.1101/2024.01.26.24301793>;
41. Agorastos, A., & Chrousos, G. P. (2022). The neuroendocrinology of stress: the stress-related continuum of chronic disease development. *Molecular psychiatry*, 27(1), 502–513. <https://doi.org/10.1038/s41380-021-01224-9>
42. Sharma, V. K., & Singh, T. G. (2020). Chronic Stress and Diabetes Mellitus: Interwoven Pathologies. *Current diabetes reviews*, 16(6), 546–556. <https://doi.org/10.2174/1573399815666191111152248>
43. Knezevic, E., Nenic, K., Milanovic, V., & Knezevic, N. N. (2023). The Role of Cortisol in Chronic Stress, Neurodegenerative Diseases, and Psychological Disorders. *Cells*, 12(23), 2726. <https://doi.org/10.3390/cells12232726>
44. Корнацький, В. М., Михальчук, В. М., & Дяченко, Л. О. (2017). Вплив стресу на розвиток і перебіг захворювань. *Світ медицини та біології*, 13(1 (59)), 194-202.
45. Кошій, В. Р. (2012). Специфіка зв'язку стресу і стрес-залежних захворювань. *Збірник наукових праць "Проблеми сучасної психології"*, (16), 596-605. <https://doi.org/10.32626/2227-6246.2012-16.%25p>;
46. Фрадинська, А. (2016). Стрес як чинник психосоматичних захворювань людини. *Збірник наукових праць Національної академії Державної прикордонної служби України. Серія: Психологічні науки*, (1), 229-239. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/znpnapv\\_pn\\_2016\\_1\\_21](http://nbuv.gov.ua/UJRN/znpnapv_pn_2016_1_21)
47. Powell-Wiley, T. M., Baumer, Y., Baah, F. O., Baez, A. S., Farmer, N., Mahlobo, C. T., Pita, M. A., Potharaju, K. A., Tamura, K., & Wallen, G. R. (2022). Social Determinants of Cardiovascular Disease. *Circulation research*, 130(5), 782–799. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.319811>



48. Levine G. N. (2022). Psychological Stress and Heart Disease: Fact or Folklore?. *The American journal of medicine*, 135(6), 688–696. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2022.01.053>
49. Соломка, Е. Т. (2018). Індивідуальні особливості особистості в подоланні стресових ситуацій. *Міжнародний науковий журнал «ОСВІТА І НАУКА»*. 2(25), 180-188. DOI: 10.31339/2617-0833-2018-2(25)-180-188
50. Korzan, W. J., & Summers, C. H. (2021). Evolution of stress responses refine mechanisms of social rank. *Neurobiology of stress*, 14, 100328. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2021.100328>
51. Díaz-Tamayo, A. M., Escobar-Morantes, J. R., & García-Perdomo, H. A. (2022). Coping Strategies for Exposure to Trauma Situations in First Responders: A Systematic Review. *Prehospital and disaster medicine*, 37(6), 810–818. <https://doi.org/10.1017/S1049023X22001479>
52. Cardile, D., Corallo, F., Ielo, A., Cappadona, I., Pagano, M., Bramanti, P., D'Aleo, G., Ciurleo, R., & De Cola, M. C. (2023). Coping and Quality of Life Differences between Emergency and Rehabilitation Healthcare Workers. *Healthcare (Basel, Switzerland)*, 11(16), 2235. <https://doi.org/10.3390/healthcare11162235>
53. Токман, А. А., & Немченко, Н. В. (2014). ПСИХОЛОГІЯ СПОСОБУ ЖИТТЯ.: навч. посіб. – Ч. 1. К.: «ДП «Вид. дім «Персонал», 344 с.
54. Padmanabhanunni, A., & Pretorius, T. B. (2023). Cognitive Adaptation to Stress and Trauma: The Role of Self-Appraised Problem-Solving in Posttraumatic Stress Disorder. *Chronic stress (Thousand Oaks, Calif.)*, 7, 24705470231189980. <https://doi.org/10.1177/24705470231189980>
55. Kent, J. N., & Kilby, C. J. (2023). Predictors of psychological distress during self-isolation. *Psychology and psychotherapy*, 96(1), 172–188. <https://doi.org/10.1111/papt.12432>
56. Федоренко, Ю. В. (2016). Біохімічні показники й адаптація у білих щурів з активним і пасивним типом поведінки за умов іммобілізаційного стресу. *Медичні перспективи*, 21(2), 13-19.



57. Nowakowski, K., & Wróbel, K. (2021). Psychopathic traits, psychological resilience and coping with stress in socially maladjusted youth. *Psychiatr Pol*, 55(5), 1157-1167. <https://doi.org/10.12740/PP/OnlineFirst/118139>
58. Дегтяренко, Т. В., & Щербанюк-Чокан, О. А. (2015). Психосоціальний стрес: чинники та особистісні детермінанти. *Наука і освіта*, (10), 22-27.
59. Peifer, C., Sauer, J., & Antoni, C. H. (2020). Effects of social stress on performance and strain in complex multiple task environments. *Ergonomics*, 63(9), 1088–1100. <https://doi.org/10.1080/00140139.2020.1765028>
60. Pellissier, S., & Bonaz, B. (2017). The Place of Stress and Emotions in the Irritable Bowel Syndrome. *Vitamins and hormones*, 103, 327–354. <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2016.09.005>
61. Muscatello, M. R., Bruno, A., Scimeca, G., Pandolfo, G., & Zoccali, R. A. (2014). Role of negative affects in pathophysiology and clinical expression of irritable bowel syndrome. *World journal of gastroenterology*, 20(24), 7570–7586. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i24.7570>
62. Aladio, J. M., Costa, D., Matsudo, M., Pérez de la Hoz, A., González, D., Brignoli, A., Swieszkowski, S. P., & Pérez de la Hoz, R. (2021). Cortisol-Mediated Stress Response and Mortality in Acute Coronary Syndrome. *Current problems in cardiology*, 46(3), 100623. <https://doi.org/10.1016/j.cpcardiol.2020.100623>
63. Carnevali, L., Montano, N., Tobaldini, E., Thayer, J. F., & Sgoifo, A. (2020). The contagion of social defeat stress: Insights from rodent studies. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 111, 12–18. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.01.011>
64. Lemos, C., Salti, A., Amaral, I. M., Fontebasso, V., Singewald, N., Dechant, G., Hofer, A., & El Rawas, R. (2021). Social interaction reward in rats has anti-stress effects. *Addiction biology*, 26(1), e12878. <https://doi.org/10.1111/adb.12878>



65. Yomogida, S., Sekiguchi, M., & Konno, S. I. (2020). Involvement between social defeat stress and pain-related behavior in a rat lumbar disk herniation model. *European spine journal : official publication of the European Spine Society, the European Spinal Deformity Society, and the European Section of the Cervical Spine Research Society*, 29(10), 2431–2440. <https://doi.org/10.1007/s00586-020-06533-1>
66. Gądek-Michalska, A., Bugajski, A., Tadeusz, J., Rachwalska, P., & Bugajski, J. (2017). Chronic social isolation in adaptation of HPA axis to heterotypic stress. *Pharmacological reports : PR*, 69(6), 1213–1223. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2017.08.011>
67. Elsaed, W. M., Alahmadi, A. M., Al-Ahmadi, B. T., Taha, J. A., & Tarabishi, R. M. (2018). Gastroprotective and antioxidant effects of fluvoxamine on stress-induced peptic ulcer in rats. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 13(5), 422–431. <https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2018.04.010>
68. Rahmadi, M., Su'aida, N., Yustisari, P., Agung Dewaandika, W., Oktavia Hanaratri, E., Andarsari, M. R., Sumarno, & Aryani, T. (2021). Gastroprotective effect of fluvoxamine and ondansetron on stress-induced gastric ulcers in mice. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology*, 32(4), 485–490. <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2020-0424>
69. Poppelaars, E. S., Klackl, J., Pletzer, B., Wilhelm, F. H., & Jonas, E. (2019). Social-evaluative threat: Stress response stages and influences of biological sex and neuroticism. *Psychoneuroendocrinology*, 109, 104378. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2019.104378>
70. Kupper, N., Jankovic, M., & Kop, W. J. (2021). Individual Differences in Cross-System Physiological Activity at Rest and in Response to Acute Social Stress. *Psychosomatic medicine*, 83(2), 138–148. <https://doi.org/10.1097/PSY.0000000000000901>
71. Spadari, R. C., Cavadas, C., de Carvalho, A. E. T. S., Ortolani, D., de Moura, A. L., & Vassalo, P. F. (2018). Role of Beta-adrenergic Receptors and Sirtuin Signaling in the Heart During Aging, Heart Failure, and Adaptation to Stress.





- Cellular and molecular neurobiology*, 38(1), 109–120.  
<https://doi.org/10.1007/s10571-017-0557-2>
72. Beis, D., von Känel, R., Heimgartner, N., Zuccarella-Hackl, C., Bürkle, A., Ehlert, U., & Wirtz, P. H. (2018). The Role of Norepinephrine and  $\alpha$ -Adrenergic Receptors in Acute Stress-Induced Changes in Granulocytes and Monocytes. *Psychosomatic medicine*, 80(7), 649–658.  
<https://doi.org/10.1097/PSY.0000000000000620>
73. Angelini, J., Vosolsobě, S., Skůpa, P., Ho, A. Y. Y., Bellinvia, E., Valentová, O., & Marc, J. (2018). Phospholipase D $\delta$  assists to cortical microtubule recovery after salt stress. *Protoplasma*, 255(4), 1195–1204.  
<https://doi.org/10.1007/s00709-018-1204-6>
74. Xu, X., Zheng, C., An, L., Wang, R., & Zhang, T. (2016). Effects of Dopamine and Serotonin Systems on Modulating Neural Oscillations in Hippocampus-Prefrontal Cortex Pathway in Rats. *Brain topography*, 29(4), 539–551. <https://doi.org/10.1007/s10548-016-0485-3>
75. Chaves, T., Fazekas, C. L., Horváth, K., Correia, P., Szabó, A., Török, B., Bánrévi, K., & Zelena, D. (2021). Stress Adaptation and the Brainstem with Focus on Corticotropin-Releasing Hormone. *International journal of molecular sciences*, 22(16), 9090. <https://doi.org/10.3390/ijms22169090>
76. Hodes, G. E., Bangasser, D., Sotiropoulos, I., Kokras, N., & Dalla, C. (2024). Sex Differences in Stress Response: Classical Mechanisms and Beyond. *Current neuropharmacology*, 22(3), 475–494.  
<https://doi.org/10.2174/1570159X22666231005090134>
77. Osório, C., Probert, T., Jones, E., Young, A. H., & Robbins, I. (2017). Adapting to Stress: Understanding the Neurobiology of Resilience. *Behavioral medicine (Washington, D.C.)*, 43(4), 307–322.  
<https://doi.org/10.1080/08964289.2016.1170661>
78. Kayashima, Y., Smithies, O., & Kakoki, M. (2012). The kallikrein-kinin system and oxidative stress. *Current opinion in nephrology and hypertension*, 21(1), 92–96. <https://doi.org/10.1097/MNH.0b013e32834d54b1>



79. Gądek-Michalska, A., Tadeusz, J., Rachwalska, P., & Bugajski, J. (2013). Cytokines, prostaglandins and nitric oxide in the regulation of stress-response systems. *Pharmacological reports : PR*, 65(6), 1655–1662. [https://doi.org/10.1016/s1734-1140\(13\)71527-5](https://doi.org/10.1016/s1734-1140(13)71527-5)

80. Wang, R., Zhao, F., Li, Y., Zhu, J., Liu, Y., Li, J., Yao, G., Liu, H., Guan, S., & Ma, S. (2023). The effects of chronic unpredicted mild stress on maternal negative emotions and gut microbiota and metabolites in pregnant rats. *PeerJ*, 11, e15113. <https://doi.org/10.7717/peerj.15113>

81. Marcolongo-Pereira, C., Castro, F. C. A. Q., Barcelos, R. M., Chiepe, K. C. M. B., Rossoni Junior, J. V., Ambrosio, R. P., Chiarelli-Neto, O., & Pesarico, A. P. (2022). Neurobiological mechanisms of mood disorders: Stress vulnerability and resilience. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 16, 1006836. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2022.1006836>

82. Horn, D. L., Bettcher, L. F., Navarro, S. L., Pascua, V., Neto, F. C., Cuschieri, J., Raftery, D., & O'Keefe, G. E. (2021). Persistent metabolomic alterations characterize chronic critical illness after severe trauma. *The journal of trauma and acute care surgery*, 90(1), 35–45. <https://doi.org/10.1097/TA.0000000000002952>

83. Lunkenheimer, F., Mutter, A., Vogelmann, P., & Baumeister, H. (2023). Posttraumatic stress symptoms in adolescents and young adults with a chronic somatic disease: a mixed-methods study. *Child and adolescent psychiatry and mental health*, 17(1), 80. <https://doi.org/10.1186/s13034-023-00630-x>

84. Edmondson, D., & von Känel, R. (2017). Post-traumatic stress disorder and cardiovascular disease. *The lancet. Psychiatry*, 4(4), 320–329. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(16\)30377-7](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(16)30377-7)

85. Armbrorst, D., Bitterlich, N., Altehheld, B., Rösler, D., Metzner, C., & Siener, R. (2021). Coping Strategies Influence Cardiometabolic Risk Factors in Chronic Psychological Stress: A Post Hoc Analysis of A Randomized Pilot Study. *Nutrients*, 14(1), 77. <https://doi.org/10.3390/nu14010077>





86. Robles-García, R., Fresán, A., & Yoldi, M. (2020). Posttraumatic stress disorder in urban women. *Current opinion in psychiatry*, 33(3), 245–249. <https://doi.org/10.1097/YCO.0000000000000585>
87. Wu, Q., Chen, Y., Zhang, W., Song, S., Xu, Z., Zhang, H., Liu, L., & Sun, J. (2020). Upregulation of Chemokines in the Paraventricular Nucleus of the Hypothalamus in Rats with Stress-Induced Hypertension. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*, 26, e926807. <https://doi.org/10.12659/MSM.926807>
88. Kataoka, N., Shima, Y., Nakajima, K., & Nakamura, K. (2020). A central master driver of psychosocial stress responses in the rat. *Science (New York, N.Y.)*, 367(6482), 1105–1112. <https://doi.org/10.1126/science.aaz4639>
89. Lopes-Azevedo, S., Fortaleza, E. A. T., Busnardo, C., Scopinho, A. A., Matthiesen, M., Antunes-Rodrigues, J., & Corrêa, F. M. A. (2020). The Supraoptic Nucleus of the Hypothalamus Modulates Autonomic, Neuroendocrine, and Behavioral Responses to Acute Restraint Stress in Rats. *Neuroendocrinology*, 110(1-2), 10–22. <https://doi.org/10.1159/000500160>
90. Busnardo, C., Crestani, C. C., Scopinho, A. A., Packard, B. A., Resstel, L. B. M., Correa, F. M. A., & Herman, J. P. (2019). Nitroergic neurotransmission in the paraventricular nucleus of the hypothalamus modulates autonomic, neuroendocrine and behavioral responses to acute restraint stress in rats. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 90, 16–27. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2018.11.001>
91. Li, H., & Xia, N. (2020). The role of oxidative stress in cardiovascular disease caused by social isolation and loneliness. *Redox biology*, 37, 101585. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101585>
92. Kinlein, S. A., Phillips, D. J., Keller, C. R., & Karatsoreos, I. N. (2019). Role of corticosterone in altered neurobehavioral responses to acute stress in a model of compromised hypothalamic-pituitary-adrenal axis function. *Psychoneuroendocrinology*, 102, 248–255. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2018.12.010>



93. Sunstrum, J. K., & Inoue, W. (2019). Heterosynaptic modulation in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Neuropharmacology*, *154*, 87–95. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.11.004>
94. Jiang, Z., Rajamanickam, S., & Justice, N. J. (2019). CRF signaling between neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVN) coordinates stress responses. *Neurobiology of stress*, *11*, 100192. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2019.100192>
95. Wang, J., Li, J., Yu, M., Wang, Y., & Ma, Y. (2019). An enhanced expression of hypothalamic neuronal nitric oxide synthase in a rat model of simulated transport stress. *BMC veterinary research*, *15*(1), 323. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2071-x>
96. Lourenço, C. F., & Laranjinha, J. (2021). Nitric Oxide Pathways in Neurovascular Coupling Under Normal and Stress Conditions in the Brain: Strategies to Rescue Aberrant Coupling and Improve Cerebral Blood Flow. *Frontiers in physiology*, *12*, 729201. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.729201>
97. Lewis, R. G., Florio, E., Punzo, D., & Borrelli, E. (2021). The Brain's Reward System in Health and Disease. *Advances in experimental medicine and biology*, *1344*, 57–69. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-81147-1\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-030-81147-1_4)
98. Kreier, F., & Swaab, D. F. (2021). History of hypothalamic research: "The spring of primitive existence". *Handbook of clinical neurology*, *179*, 7–43. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819975-6.00031-5>
99. Muzik, O., & Diwadkar, V. A. (2023). Depth and hierarchies in the predictive brain: From reaction to action. *Wiley interdisciplinary reviews. Cognitive science*, *14*(6), e1664. <https://doi.org/10.1002/wcs.1664>
100. Barretto-de-Souza, L., Benini, R., Reis-Silva, L. L., & Crestani, C. C. (2021). Corticotropin-releasing factor neurotransmission in the lateral hypothalamus modulates the tachycardiac response during acute emotional stress in rats. *Brain research bulletin*, *166*, 102–109. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2020.11.010>
101. Siemian, J. N., Arenivar, M. A., Sarsfield, S., Borja, C. B., Erbaugh, L. J., Eagle, A. L., Robison, A. J., Leininger, G., & Aponte, Y. (2021). An excitatory



lateral hypothalamic circuit orchestrating pain behaviors in mice. *eLife*, 10, e66446.

<https://doi.org/10.7554/eLife.66446>

102. Luo, F., & Kiss, Z. H. (2021). Cholinergics contribute to the cellular mechanisms of deep brain stimulation applied in rat infralimbic cortex but not white matter. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 45, 52–58.

<https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2021.02.019>

103. Henderson, L. A., & Macefield, V. G. (2021). The role of the dorsomedial and ventromedial hypothalamus in regulating behaviorally coupled and resting autonomic drive. *Handbook of clinical neurology*, 180, 187–200.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820107-7.00012-4>

104. Iovino, M., Iacoviello, M., De Pergola, G., Licchelli, B., Iovino, E., Guastamacchia, E., Giagulli, V. A., & Triggiani, V. (2018). Vasopressin in Heart Failure. *Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets*, 18(5), 458–465.

<https://doi.org/10.2174/1871530318666180212095235>

105. Grzęda, E., Ziarniak, K., & Sliwowska, J. H. (2023). The paraventricular nucleus of the hypothalamus - the concertmaster of autonomic control. Focus on blood pressure regulation. *Acta neurobiologiae experimentalis*, 83(1), 34–44.

<https://doi.org/10.55782/ane-2023-004>

106. Hancheva, O., & Romanova, K. (2021). Vision of the role of long-term social stress in the formation of "diseases of civilization". Mechanisms of adaptation to stressor situations and factors of its failure. *Journal of Education, Health and Sport*, 11(10), 325-331. <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2021.11.10.031>.

107. Romanova, K. B., & Hancheva O. V. (2022). Modern ideas about the role of the hypothalamus in the implementation of adaptation programs under stressor loads (references). *Journal of Education, Health and Sport*, 12(2), 302-312. <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2022.12.02.032>].

108. Council Directive 2010 / 63EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific



purposes.

[https://eur-](https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:0079:en:PDF)

[lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:0079:en:PDF](https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:0079:en:PDF)

109. України, З. (2006). Про захист тварин від жорстокого поводження. [Електронний ресурс]//Відомості Верховної Ради України (ВВР).–2006.– Режим доступу до ресурсу: <http://zakon1.rada.gov.ua/laws/show/3447-15>. 27, 230 <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text>

110. Cruces, J., Venero, C., Pereda-Pérez, I., & De la Fuente, M. (2014). The effect of psychological stress and social isolation on neuroimmunoendocrine communication. *Current pharmaceutical design*, 20(29), 4608–4628. <https://doi.org/10.2174/1381612820666140130205822>

111. Rohleder N. (2019). Stress and inflammation - The need to address the gap in the transition between acute and chronic stress effects. *Psychoneuroendocrinology*, 105, 164–171. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2019.02.021>

112. Franklin, B. A., Rusia, A., Haskin-Popp, C., & Tawney, A. (2021). Chronic Stress, Exercise and Cardiovascular Disease: Placing the Benefits and Risks of Physical Activity into Perspective. *International journal of environmental research and public health*, 18(18), 9922. <https://doi.org/10.3390/ijerph18189922>

113. Cao, L., Zhang, H., Li, N., Wang, X., Ri, W., & Feng, L. (2022). Category-Aware Chronic Stress Detection on Microblogs. *IEEE journal of biomedical and health informatics*, 26(2), 852–864. <https://doi.org/10.1109/JBHI.2021.3090467>

114. Lagraauw, H. M., Kuiper, J., & Bot, I. (2015). Acute and chronic psychological stress as risk factors for cardiovascular disease: Insights gained from epidemiological, clinical and experimental studies. *Brain, behavior, and immunity*, 50, 18–30. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.08.007>

115. Стефанов, О. В. (2001). Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації. 528 с.



116. Dobrowolski, J. C., & Ostrowski, S. (2023). HOMA Index Establishes Similarity to a Reference Molecule. *Journal of chemical information and modeling*, 63(24), 7744–7754. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.3c01551>
117. Paxinas, G. B., & Watson, C. C. (1986). The Rat Brainin Stereotaxis Coordinstes. *Academia Press second edit. Sydney*. 264 p.
118. Гур'янов, В. Г., Лях, Ю. Є., Парій, В. Д., Короткий, О. В., Чалий, О. В., Чалий, К. О., & Цехмістер, Я. В. (2018). Посібник з біостатистики. Аналіз результатів медичних досліджень у пакеті EZR (R–statistics). 208 с. ISBN 978-617-7157-67-9
119. Williams, B., Mancia, G., Spiering, W., Agabiti Rosei, E., Azizi, M., Burnier, M., ... & Desormais, I. (2018). 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of Hypertension (ESH). *European heart journal*, 39(33), 3021-3104. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehy339>
120. Romeo, R. D., & Sciortino, R. K. (2021). Age-dependent changes in hormonal stress reactivity following repeated restraint stress throughout adolescence in male rats. *Stress (Amsterdam, Netherlands)*, 24(5), 496–503. <https://doi.org/10.1080/10253890.2021.1873945>
121. American Diabetes Association (2017). 2. Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes care*, 40(Suppl 1), S11–S24. <https://doi.org/10.2337/dc17-S005>
122. Park, S. Y., Gautier, J. F., & Chon, S. (2021). Assessment of Insulin Secretion and Insulin Resistance in Human. *Diabetes & metabolism journal*, 45(5), 641–654. <https://doi.org/10.4093/dmj.2021.0220>
123. Khan, R. M. M., Chua, Z. J. Y., Tan, J. C., Yang, Y., Liao, Z., & Zhao, Y. (2019). From Pre-Diabetes to Diabetes: Diagnosis, Treatments and Translational Research. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 55(9), 546. <https://doi.org/10.3390/medicina55090546>



124. Lages, M., Barros, R., Moreira, P., & Guarino, M. P. (2022). Metabolic Effects of an Oral Glucose Tolerance Test Compared to the Mixed Meal Tolerance Tests: A Narrative Review. *Nutrients*, *14*(10), 2032. <https://doi.org/10.3390/nu14102032>
125. Gastaldelli A. (2022). Measuring and estimating insulin resistance in clinical and research settings. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, *30*(8), 1549–1563. <https://doi.org/10.1002/oby.23503>
126. Pedro, P. F., Tsakmaki, A., & Bewick, G. A. (2020). The Glucose Tolerance Test in Mice. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, *2128*, 207–216. [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0385-7\\_14](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0385-7_14)
127. Zhang, X. Y., Guo, C. C., Yu, Y. X., Xie, L., & Chang, C. Q. (2020). Establishment of high-fat diet-induced obesity and insulin resistance model in rats. *Beijing da xue xue bao. Yi xue ban= Journal of Peking University. Health Sciences*, *52*(3), 557-563. [doi: 10.19723/j.issn.1671-167X.2020.03.024](https://doi.org/10.19723/j.issn.1671-167X.2020.03.024).
128. Xilifu, D., Tuerxun, Z., Nuermaimaiti, B., Aili, A., Rehemu, N., Sun, H., & Zhang, X. (2022). Effects of rosuvastatin on serum glucose and insulin in hyperuricemic rats. *BMC pharmacology & toxicology*, *23*(1), 66. <https://doi.org/10.1186/s40360-022-00595-1>
129. de Andrade Mesquita, L., Pavan Antonioli, L., Cittolin-Santos, G. F., & Gerchman, F. (2018). Distinct metabolic profile according to the shape of the oral glucose tolerance test curve is related to whole glucose excursion: a cross-sectional study. *BMC endocrine disorders*, *18*(1), 56. <https://doi.org/10.1186/s12902-018-0286-7>
130. Jørgensen, M. S., Tornqvist, K. S., & Hvid, H. (2017). Calculation of Glucose Dose for Intraperitoneal Glucose Tolerance Tests in Lean and Obese Mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science : JAALAS*, *56*(1), 95–97. PMID: **28905722** PMCID: [PMC5250502](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC5250502/)
131. Borai, A., Livingstone, C., Kaddam, I., & Ferns, G. (2011). Selection of the appropriate method for the assessment of insulin resistance. *BMC medical research methodology*, *11*, 158. <https://doi.org/10.1186/1471-2288-11-158>





132. Lillioja, S., Mott, D. M., Howard, B. V., Bennett, P. H., Yki-Järvinen, H., Freymond, D., Nyomba, B. L., Zurlo, F., Swinburn, B., & Bogardus, C. (1988). Impaired glucose tolerance as a disorder of insulin action. Longitudinal and cross-sectional studies in Pima Indians. *The New England journal of medicine*, 318(19), 1217–1225. <https://doi.org/10.1056/NEJM198805123181901>

133. Hoffman R. P. (2008). Indices of insulin action calculated from fasting glucose and insulin reflect hepatic, not peripheral, insulin sensitivity in African-American and Caucasian adolescents. *Pediatric diabetes*, 9(3 Pt 2), 57–61. <https://doi.org/10.1111/j.1399-5448.2007.00350.x>

134. Rottenkolber, M., Gar, C., Then, C., Wanger, L., Sacco, V., Banning, F., Potzel, A. L., Kern-Matschilles, S., Nevinny-Stickel-Hinzpeter, C., Grallert, H., Hesse, N., Seissler, J., & Lechner, A. (2021). A Pathophysiology of Type 2 Diabetes Unrelated to Metabolic Syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 106(5), 1460–1471. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgab057>

135. Sacramento, J. F., Martins, F. O., Rodrigues, T., Matafome, P., Ribeiro, M. J., Olea, E., & Conde, S. V. (2020). A<sub>2</sub> Adenosine Receptors Mediate Whole-Body Insulin Sensitivity in a Prediabetes Animal Model: Primary Effects on Skeletal Muscle. *Frontiers in endocrinology*, 11, 262. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00262>

136. Романова, К.Б., Ганчева, О.В., & Колесник, Ю.М. (2023). Патогенетичні особливості гормонального профілю у щурів, що зазнали restraint-стресу різної тривалості. *Сучасні медичні технології*, 2(57), 12-15. DOI: 10.34287/MMT.2(57).2023.2.

137. Романова, К.Б., Ганчева, О.В., & Колесник, Ю.М. (2023). Тривалий restraint-стрес як предиктор формування інсулінорезистентності в експериментальних щурів. *Патологія*, 20, 2(58), 103-107. DOI: 10.14739/2310-1237.2023.2.285694.

138. Ганчева, О.В., & Романова, К.Б. (2019). Вплив довготривалого restraint-стресу на формування артеріальної гіпертензії із метаболічними порушеннями. *Проблеми ендокринної патології (спеціальний випуск)*. 100-



річний ювілей ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України»: тези доповідей ІХ з'їзду ендокринологів України, (19-22 листопада 2019 р., Харків) (с. 251-252)

139. Романова, К. Б., & Ганчева, О. В. (2023). Тривале обмеження життєвого простору формує у експериментальних щурів restraint-стрес та змінює функціональні показники. *Сучасні тенденції спрямовані на збереження здоров'я людини : збірник наукових праць ІV науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю, присвяченої пам'яті професора О.В. Пешкової* (20-21 квітня, 2023 р. м. Харків.). Вип. 3. (с. 144-146).

140. Романова, К. Б. (2023). Динаміка метаболічних змін при експериментальному стресі у щурів, що знаходилися в умовах обмеження життєвого простору. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2023 : збірник тез доповідей 83 Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю* (25-56 травня 2023 р., Запоріжжя,) (с. 70-71). Запоріжжя: ЗДМФУ.

141. Романова, К. Б. (2023). Тривале обмеження життєвого простору – вагомий фактор порушення гормонального балансу. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція: *Матеріали VI науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю*. (16 листопада 2023 р., Харків) (с. 399-400). Х. : НФаУ.

142. Joëls, M., & Baram, T. Z. (2009). The neuro-symphony of stress. *Nature reviews. Neuroscience*, 10(6), 459–466. <https://doi.org/10.1038/nrn2632>

143. Raise-Abdullahi, P., Meamar, M., Vafaei, A. A., Alizadeh, M., Dadkhah, M., Shafia, S., Ghalandari-Shamami, M., Naderian, R., Afshin Samaei, S., & Rashidy-Pour, A. (2023). Hypothalamus and Post-Traumatic Stress Disorder: A Review. *Brain sciences*, 13(7), 1010. <https://doi.org/10.3390/brainsci13071010>

144. Carter, C. S., & Kingsbury, M. A. (2022). Oxytocin and oxygen: the evolution of a solution to the 'stress of life'. *Philosophical transactions of the Royal*





*Society of London. Series B, Biological sciences*, 377(1858), 20210054.

<https://doi.org/10.1098/rstb.2021.0054>

145. Kawakami, N., Otubo, A., Maejima, S., Talukder, A. H., Satoh, K., Oti, T., Takanami, K., Ueda, Y., Itoi, K., Morris, J. F., Sakamoto, T., & Sakamoto, H. (2021). Variation of pro-vasopressin processing in parvocellular and magnocellular neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus: Evidence from the vasopressin-related glycopeptide copeptin. *The Journal of comparative neurology*, 529(7), 1372–1390. <https://doi.org/10.1002/cne.25026>

146. Moberg, K. U., Handlin, L., & Petersson, M. (2020). Neuroendocrine mechanisms involved in the physiological effects caused by skin-to-skin contact - With a particular focus on the oxytocinergic system. *Infant behavior & development*, 61, 101482. <https://doi.org/10.1016/j.infbeh.2020.101482>

147. Walker L. C. (2021). A balancing act: the role of pro- and anti-stress peptides within the central amygdala in anxiety and alcohol use disorders. *Journal of neurochemistry*, 157(5), 1615–1643. <https://doi.org/10.1111/jnc.15301>

148. Uvnäs Moberg, K., Handlin, L., Kendall-Tackett, K., & Petersson, M. (2019). Oxytocin is a principal hormone that exerts part of its effects by active fragments. *Medical hypotheses*, 133, 109394. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2019.109394>

149. Wang, P., Wang, S. C., Liu, X., Jia, S., Wang, X., Li, T., Yu, J., Parpura, V., & Wang, Y. F. (2022). Neural Functions of Hypothalamic Oxytocin and its Regulation. *ASN neuro*, 14, 17590914221100706. <https://doi.org/10.1177/17590914221100706>

150. Møller M. (2021). Vasopressin and oxytocin beyond the pituitary in the human brain. *Handbook of clinical neurology*, 180, 7–24. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820107-7.00002-1>

151. Herman, J. P., Flak, J., & Jankord, R. (2008). Chronic stress plasticity in the hypothalamic paraventricular nucleus. *Progress in brain research*, 170, 353–364. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(08\)00429-9](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)00429-9)



152. Linsley, J. W., Reisine, T., & Finkbeiner, S. (2019). Cell death assays for neurodegenerative disease drug discovery. *Expert opinion on drug discovery*, 14(9), 901–913. <https://doi.org/10.1080/17460441.2019.1623784>

153. Freeman, J.V., Walters, S.J., & Campbell, M.J. (2008). How to display data. BMJ Books, Blackwell Publishing, 118с.

154. Романова, К. Б., Ганчева, О. В., & Колесник, Ю. М. (2023). Характер змін морфоденситометричних параметрів великоклітинних нейронів паравентрикулярного ядра гіпоталамуса при restraint-стресі різної тривалості. *Запорізький медичний журнал*. 25, 6(141), 535-540. DOI: 10.14739/2310-1210.2023.6.291522

155. Ганчева, О.В., & Романова, К.Б. (2019). Морфо-денситометричні характеристики крупноклітинних нейронів паравентрикулярного та супраоптичного ядер гіпоталамуса щурів-самців лінії Вістар в умовах соціального стресу. *Сучасні питання молекулярно-біохімічних досліджень та лабораторного скринінгу у клінічній та експериментальній медицині : збірка тез Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (11-12 квітня 2019 р., Запоріжжя) (с. 14-15). Запоріжжя.*

156. Романова, К.Б. (2019). Вплив довготривалого обмеження життєвого простору на морфо-денситометричні характеристики нейронів ПВЯ та СОЯ гіпоталамуса у щурів. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації : тези доповідей І Науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (15 травня 2019 р., Харків) (с. 151-152). Х. : Вид-во НФаУ.*

157. Романова, К.Б. (2021). Характер ізоформного профілю синтази оксиду азоту в структурах гіпоталамусу в умовах соціального стресу в експерименті. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2021 : збірник тез доповідей науково-практичної конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів (15-16 квітня 2021 р., Запоріжжя) (с. 24-25). Запоріжжя: ЗДМУ.*



158. Maiorov, A. F., Romanova, K. B., & Hancheva, O. V. (2022). Influence of chronic restraint stress on the morphological heterogeneity of hypothalamic neurons of Wistar rats. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації* : тези доповідей IV науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (19 травня 2022 р., Харків) (370 с). Х. : Вид-во НФаУ.

159. Arakawa H. (2020). Restraint stress activates defensive behaviors in male rats depending on age and housing condition. *Physiology & behavior*, 224, 113073. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2020.113073>

160. Nagaraja, A. S., Sadaoui, N. C., Dorniak, P. L., Lutgendorf, S. K., & Sood, A. K. (2016). SnapShot: stress and disease. *Cell metabolism*, 23(2), 388-388. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.01.015>

161. Szabo, S., Yoshida, M., Filakovszky, J., & Juhasz, G. (2017). "Stress" is 80 Years Old: From Hans Selye Original Paper in 1936 to Recent Advances in GI Ulceration. *Current pharmaceutical design*, 23(27), 4029–4041. <https://doi.org/10.2174/1381612823666170622110046>

162. van der Kooij M. A. (2020). The impact of chronic stress on energy metabolism. *Molecular and cellular neurosciences*, 107, 103525. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2020.103525>

163. López-Gambero, A. J., Martínez, F., Salazar, K., Cifuentes, M., & Nualart, F. (2019). Brain Glucose-Sensing Mechanism and Energy Homeostasis. *Molecular neurobiology*, 56(2), 769–796. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1099-4>

164. Thorens B. (2011). Brain glucose sensing and neural regulation of insulin and glucagon secretion. *Diabetes, obesity & metabolism*, 13 Suppl 1, 82–88. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2011.01453.x>

165. Chen, M. J., Wei, Y. J., Dong, X. X., Liu, J. Y., Chen, Q. Y., & Zhang, G. X. (2020). The effect of candesartan on chronic stress induced imbalance of glucose homeostasis. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 128, 110300. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110300>



166. Nguyen, N. T., Goldman, C. D., Ho, H. S., Gosselin, R. C., Singh, A., & Wolfe, B. M. (2002). Systemic stress response after laparoscopic and open gastric bypass. *Journal of the American College of Surgeons*, *194*(5), 557–567. [https://doi.org/10.1016/s1072-7515\(02\)01132-8](https://doi.org/10.1016/s1072-7515(02)01132-8)
167. Kazakou, P., Nicolaides, N. C., & Chrousos, G. P. (2023). Basic Concepts and Hormonal Regulators of the Stress System. *Hormone research in paediatrics*, *96*(1), 8–16. <https://doi.org/10.1159/000523975>
168. Grippo, A. J., & Johnson, A. K. (2009). Stress, depression and cardiovascular dysregulation: a review of neurobiological mechanisms and the integration of research from preclinical disease models. *Stress (Amsterdam, Netherlands)*, *12*(1), 1–21. <https://doi.org/10.1080/10253890802046281>
169. Yaribeygi, H., Farrokhi, F. R., Butler, A. E., & Sahebkar, A. (2019). Insulin resistance: Review of the underlying molecular mechanisms. *Journal of cellular physiology*, *234*(6), 8152–8161. <https://doi.org/10.1002/jcp.27603>
170. Stumvoll, M., Tataranni, P. A., Stefan, N., Vozarova, B., & Bogardus, C. (2003). Glucose allostasis. *Diabetes*, *52*(4), 903–909. <https://doi.org/10.2337/diabetes.52.4.903>
171. Noushad, S., Ahmed, S., Ansari, B., Mustafa, U. H., Saleem, Y., & Hazrat, H. (2021). Physiological biomarkers of chronic stress: A systematic review. *International journal of health sciences*, *15*(5), 46–59.
172. Haas, A., Borsook, D., Adler, G., & Freeman, R. (2022). Stress, hypoglycemia, and the autonomic nervous system. *Autonomic neuroscience : basic & clinical*, *240*, 102983. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2022.102983>
173. McEwen, B. S. (2007). Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiological reviews*, *87*(3), 873–904. <https://doi.org/10.1152/physrev.00041.2006>
174. Yao, B. C., Meng, L. B., Hao, M. L., Zhang, Y. M., Gong, T., & Guo, Z. G. (2019). Chronic stress: a critical risk factor for atherosclerosis. *The Journal of international medical research*, *47*(4), 1429–1440. <https://doi.org/10.1177/0300060519826820>



175. Bergmann, N., Ballegaard, S., Krogh, J., Bech, P., Hjalmarsen, Å., Gyntelberg, F., & Faber, J. (2017). Chronic psychological stress seems associated with elements of the metabolic syndrome in patients with ischaemic heart disease. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*, 77(7), 513–519. <https://doi.org/10.1080/00365513.2017.1354254>

176. Tasker, J. G., Prager-Khoutorsky, M., Teruyama, R., Lemos, J. R., & Armstrong, W. E. (2020). Advances in the neurophysiology of magnocellular neuroendocrine cells. *Journal of neuroendocrinology*, 32(4), e12826. <https://doi.org/10.1111/jne.12826>

177. Simic, I., Mitic, M., Djordjevic, J., Radojicic, M., & Adzic, M. (2012). Chronic stress decreases availability of heat shock proteins to glucocorticoid receptor in response to novel acute stress in Wistar rat hypothalamus. *Cellular and molecular neurobiology*, 32(4), 625–632. <https://doi.org/10.1007/s10571-012-9811-9>

178. Borrow, A. P., Heck, A. L., Miller, A. M., Sheng, J. A., Stover, S. A., Daniels, R. M., Bales, N. J., Fleury, T. K., & Handa, R. J. (2019). Chronic variable stress alters hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in the female mouse. *Physiology & behavior*, 209, 112613. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2019.112613>

179. Dutcher, J. M., & Creswell, J. D. (2018). The role of brain reward pathways in stress resilience and health. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 95, 559–567. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.10.014>

180. Miller, M. W., & Sadeh, N. (2014). Traumatic stress, oxidative stress and post-traumatic stress disorder: neurodegeneration and the accelerated-aging hypothesis. *Molecular psychiatry*, 19(11), 1156–1162. <https://doi.org/10.1038/mp.2014.111>

181. Pavlin, M., Repič, M., Vianello, R., & Mavri, J. (2016). The Chemistry of Neurodegeneration: Kinetic Data and Their Implications. *Molecular neurobiology*, 53(5), 3400–3415. <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9284-1>



182. Negrón, A. L., Beymer, M., Yu, G., Warren, K. A., & Acosta-Martínez, M. (2015). Prolonged hyperglycemia & hyperinsulinemia increases BDNF mRNA expression in the posterior ventromedial hypothalamus and the dorsomedial hypothalamus of fed female rats. *Neuroscience*, 303, 422–432. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.07.018>

183. Richa, R., Yadawa, A. K., & Chaturvedi, C. M. (2017). Hyperglycemia and high nitric oxide level induced oxidative stress in the brain and molecular alteration in the neurons and glial cells of laboratory mouse, *Mus musculus*. *Neurochemistry international*, 104, 64–79. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2016.12.008>

184. McAnulty, S., McAnulty, L., Nieman, D., Morrow, J., Dumke, C., & Utter, A. (2007). Carbohydrate effect: hormone and oxidative changes. *International journal of sports medicine*, 28(11), 921–927. <https://doi.org/10.1055/s-2007-964987>

185. Burke, L. M., & Hawley, J. A. (2006). Fat and carbohydrate for exercise. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*, 9(4), 476–481. <https://doi.org/10.1097/01.mco.0000232911.69236.3b>

186. Koopmans, S. J., van der Meulen, J., Dekker, R., Corbijn, H., Mroz, Z., & Animal Sciences Group (2005). Diurnal rhythms in plasma cortisol, insulin, glucose, lactate and urea in pigs fed identical meals at 12-hourly intervals. *Physiology & behavior*, 84(3), 497–503. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.01.017>

187. Thorens B. (2022). Neuronal regulation of glucagon secretion and gluconeogenesis. *Journal of diabetes investigation*, 13(4), 599–607. <https://doi.org/10.1111/jdi.13745>

188. Alemany M. (2024). The Metabolic Syndrome, a Human Disease. *International journal of molecular sciences*, 25(4), 2251. <https://doi.org/10.3390/ijms25042251>

189. Csoma, B., & Bikov, A. (2023). The Role of the Circadian Rhythm in Dyslipidaemia and Vascular Inflammation Leading to Atherosclerosis. *International*





<https://doi.org/10.3390/ijms241814145>

190. McMillan, P. J., Wilkinson, C. W., Greenup, L., Raskind, M. A., Peskind, E. R., & Leverenz, J. B. (2004). Chronic cortisol exposure promotes the development of a GABAergic phenotype in the primate hippocampus. *Journal of neurochemistry*, 91(4), 843–851. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.02760.x>

191. van der Beek, E. M., Wiegant, V. M., Schouten, W. G., van Eerdenburg, F. J., Loijens, L. W., van der Plas, C., Benning, M. A., de Vries, H., de Kloet, E. R., & Lucassen, P. J. (2004). Neuronal number, volume, and apoptosis of the left dentate gyrus of chronically stressed pigs correlate negatively with basal saliva cortisol levels. *Hippocampus*, 14(6), 688–700. <https://doi.org/10.1002/hipo.10213>

192. Wirth, M., Lange, C., Huijbers, W., & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (2019). Plasma cortisol is associated with cerebral hypometabolism across the Alzheimer's disease spectrum. *Neurobiology of aging*, 84, 80–89. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2019.08.003>

193. White, S., Mauer, R., Lange, C., Klimecki, O., Huijbers, W., Wirth, M., & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (2023). The effect of plasma cortisol on hippocampal atrophy and clinical progression in mild cognitive impairment. *Alzheimer's & dementia (Amsterdam, Netherlands)*, 15(3), e12463. <https://doi.org/10.1002/dad2.12463>

194. Garman R. H. (2011). Histology of the central nervous system. *Toxicologic pathology*, 39(1), 22–35. <https://doi.org/10.1177/0192623310389621>

195. Joëls M. (2018). Corticosteroids and the brain. *The Journal of endocrinology*, 238(3), R121–R130. <https://doi.org/10.1530/JOE-18-0226>

196. Muscatell, K. A., Merritt, C. C., Cohen, J. R., Chang, L., & Lindquist, K. A. (2022). The Stressed Brain: Neural Underpinnings of Social Stress Processing in Humans. *Current topics in behavioral neurosciences*, 54, 373–392. [https://doi.org/10.1007/7854\\_2021\\_281](https://doi.org/10.1007/7854_2021_281)

197. Rebelos, E., Bucci, M., Karjalainen, T., Oikonen, V., Bertoldo, A., Hannukainen, J. C., Virtanen, K. A., Latva-Rasku, A., Hirvonen, J., Heinonen, I.,



Parkkola, R., Laakso, M., Ferrannini, E., Iozzo, P., Nummenmaa, L., & Nuutila, P. (2021). Insulin Resistance Is Associated With Enhanced Brain Glucose Uptake During Euglycemic Hyperinsulinemia: A Large-Scale PET Cohort. *Diabetes care*, 44(3), 788–794. <https://doi.org/10.2337/dc20-1549>

198. Michailidis, M., Moraitou, D., Tata, D. A., Kalinderi, K., Papamitsou, T., & Papaliagkas, V. (2022). Alzheimer's Disease as Type 3 Diabetes: Common Pathophysiological Mechanisms between Alzheimer's Disease and Type 2 Diabetes. *International journal of molecular sciences*, 23(5), 2687. <https://doi.org/10.3390/ijms23052687>

199. Gray, S. M., & Barrett, E. J. (2018). Insulin transport into the brain. *American journal of physiology. Cell physiology*, 315(2), C125–C136. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00240.2017>

200. Bolo, N. R., Jacobson, A. M., Musen, G., & Simonson, D. C. (2022). Hyperglycemia and hyperinsulinemia effects on anterior cingulate cortex myoinositol-relation to brain network functional connectivity in healthy adults. *Journal of neurophysiology*, 127(5), 1426–1437. <https://doi.org/10.1152/jn.00408.2021>

201. Lamotte, G., Shouman, K., & Benarroch, E. E. (2021). Stress and central autonomic network. *Autonomic neuroscience : basic & clinical*, 235, 102870. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2021.102870>

202. Mumtaz, F., Khan, M. I., Zubair, M., & Dehpour, A. R. (2018). Neurobiology and consequences of social isolation stress in animal model-A comprehensive review. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 105, 1205–1222. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.05.086>

203. Charmandari, E., Achermann, J. C., Carel, J. C., Soder, O., & Chrousos, G. P. (2012). Stress response and child health. *Science signaling*, 5(248), mr1. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2003595>





1483480597238750

## Додаток А1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи Дніпровського  
державного медичного університету, д.мед.н.,  
професор



Олександр ГУДАР'ЯН

» \_\_\_\_\_ 2023 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Назва пропозиції:** Патогенетичні особливості морфоденситометричних параметрів великоклітинних нейронів гіпоталамусу та гормонально-метаболічних змін при restraint-стресі різної тривалості у щурів.
  - 2. Установа, її адреса, виконавці:** Запорізький державний медико-фармацевтичний, 69035, м. Запоріжжя, проспект Маяковського, 26, Романова Катерина Борисівна.
  - 3. Джерело інформації:**
    1. Романова К.Б., Ганчева О.В., Колесник Ю.М. Патогенетичні особливості гормонального профілю у щурів, що зазнали restraint-стресу різної тривалості *Сучасні медичні технології*. 2023. № 2(57). С. 12-15.
    2. Романова К.Б., Ганчева О.В., Колесник Ю.М. Тривалий restraint-стрес як предиктор формування інсулінорезистентності в експериментальних щурів. *Патологія*. 2023. Том 20, № 2(58). С. 103-107.
  - 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології Дніпропетровського державного медичного університету.
  - 5. Форма впровадження:** використовується під час проведення лекцій та практичних занять на кафедрі при вивченні розділу «Загальний адаптаційний синдром, стрес, стадії та механізми його розвитку».
  - 6. Ефективність впровадження:** підвищення якості знань студентів з питань патофізіологічних механізмів формування загального адаптаційного синдрому та дистресу.
  - 7. Зауваження та пропозиції.** Не виносилися.
- Обговорено та затверджено на засіданні кафедри патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології Дніпропетровського державного медичного університету, протокол № 7 від «05» травня 2023 р.

#### Відповідальний за впровадження:

В.о. зав. кафедри патологічної анатомії, судової  
медицини та патологічної фізіології  
Дніпровського державного медичного  
університету,  
д.мед.н., доцент

Олександра ПОСЛАВСЬКА



1483480597238750

## Додаток А2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти з науково-педагогічної роботи  
Одеського національного медичного університету,  
к.мед.н., доц.

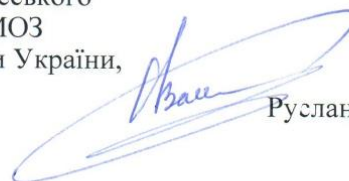
Едуард БУРЯЧКІВСЬКИЙ  
«24» листопада 2023 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Назва пропозиції:** Патогенетичні особливості морфоденситометричних параметрів великоклітинних нейронів гіпоталамусу та гормонально-метаболічних змін при restraint-стресі різної тривалості у щурів.
- 2. Установа, її адреса, виконавці:** Запорізький державний медико-фармацевтичний, 69035, м. Запоріжжя, проспект Маяковського, 26, Романова Катерина Борисівна.
- 3. Джерело інформації:**
  1. Романова К.Б., Ганчева О.В., Колесник Ю.М. Патогенетичні особливості гормонального профілю у щурів, що зазнали restraint-стресу різної тривалості *Сучасні медичні технології*. 2023. № 2(57). С. 12-15.
  2. Романова К.Б., Ганчева О.В., Колесник Ю.М. Тривалий restraint-стрес як предиктор формування інсулінорезистентності в експериментальних щурів. *Патологія*. 2023. Том 20, № 2(58). С. 103-107.
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра загальної та клінічної патологічної фізіології імені В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету.
- 5. Форма впровадження:** використовується під час проведення лекцій та практичних занять на кафедрі при вивченні розділу «Загальний адаптаційний синдром, стрес, стадії та механізми його розвитку».
- 6. Ефективність впровадження:** підвищення якості знань студентів з питань патофізіологічних механізмів формування загального адаптаційного синдрому та дистресу.
- 7. Зауваження та пропозиції.** Не виносилися.  
Обговорено та затверджено на засіданні кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології імені В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету, протокол №3 від 20.10.2023 р.

#### Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри загальної та клінічної патофізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету МОЗ України, Заслужений діяч науки і техніки України, д.мед.н., професор

  
Руслан ВАСТЬЯНОВ





1483480597238750

## Додаток АЗ

Перший проректор з науково-педагогічної роботи  
Полтавського державного медичного університету,  
професор Валентин Дворник

«» 2023 р.



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Назва пропозиції:** Патогенетичні особливості морфоденситометричних параметрів великоклітинних нейронів гіпоталамусу та гормонально-метаболических змін при restraint-стресі різної тривалості у щурів.
- 2. Установа, її адреса, виконавці:** Запорізький державний медико-фармацевтичний, 69035, м. Запоріжжя, проспект Маяковського, 26, Романова Катерина Борисівна.
- 3. Джерело інформації:**
  1. Романова К.Б., Ганчева О.В., Колесник Ю.М. Патогенетичні особливості гормонального профілю у щурів, що зазнали restraint-стресу різної тривалості *Сучасні медичні технології*. 2023. № 2(57). С. 12-15.
  2. Романова К.Б., Ганчева О.В., Колесник Ю.М. Тривалий restraint-стрес як предиктор формування інсулінорезистентності в експериментальних щурів. *Патологія*. 2023. Том 20, № 2(58). С. 103-107.
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра патофізіології Полтавського державного медичного університету. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри патофізіології, протокол № 5 від 24.10.2023 р.
- 5. Форма впровадження:** використовується під час проведення лекцій та практичних занять на кафедрі при вивченні розділу «Роль зміненої реактивності організму та конституції в розвитку патологічних процесів. Загальний адаптаційний синдром».
- 6. Ефективність впровадження:** підвищення якості знань студентів з питань патофізіологічних механізмів формування загального адаптаційного синдрому та дистресу.
- 7. Зауваження та пропозиції.** Не виносилися.

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувач кафедри патофізіології  
Полтавського державного медичного університету  
МОЗ України,  
д.мед.н., професор

Віталій КОСТЕНКО



1483480597238750

## Додаток А4

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Проректор закладу вищої освіти з науково-педагогічної роботи  
Запорізького державного медико-фармацевтичного  
університету, д.мед.н., проф.

Вадим ВІЗІР

« 19 » чудов 2023 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Назва пропозиції:** Патогенетичні особливості морфоденситометричних параметрів великоклітинних нейронів гіпоталамусу та гормонально-метаболічних змін при restraint-стресі різної тривалості у щурів.

**2. Установа, її адреса, виконавці:** Запорізький державний медико-фармацевтичний, 69035, м. Запоріжжя, проспект Маяковського, 26, Романова Катерина Борисівна.

**3. Джерело інформації:**

1. Романова К.Б., Ганчева О.В., Колесник Ю.М. Патогенетичні особливості гормонального профілю у щурів, що зазнали restraint-стресу різної тривалості *Сучасні медичні технології*. 2023. № 2(57). С. 12-15.

2. Романова К.Б., Ганчева О.В., Колесник Ю.М. Тривалий restraint-стрес як предиктор формування інсулінорезистентності в експериментальних щурів. *Патологія*. 2023. Том 20, № 2(58). С. 103-107.

**4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.

**5. Форма впровадження:** використовується під час проведення лекцій та практичних занять на кафедрі при вивченні розділу «Загальний адаптаційний синдром, стрес, стадії та механізми його розвитку».

**6. Ефективність впровадження:** підвищення якості знань студентів з питань патофізіологічних механізмів формування загального адаптаційного синдрому та дистресу.

**7. Зауваження та пропозиції.** Не виносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету, протокол № 6 від « 15 » чудов 2023 р.

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувач кафедри патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету МОЗ України, д.мед.н., професор

Ольга ГАНЧЕВА





1483480597238750

## Додаток А5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Проректор з наукової роботи Запорізького  
державного медико-фармацевтичного університету,  
д. мед. н., професор

Валерій ТУМАНСЬКИЙ

14 » \_\_\_\_\_ 2023 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Назва пропозиції:** критерії діагностики морфоденситометричних параметрів великоклітинних нейронів гіпоталамусу та гормонально-метаболических у щурів. Методика моделювання експериментального restraint-стресу різної тривалості у щурів.
- 2. Заклад, що розробив пропозицію, поштова адреса:** Запорізький державний медико-фармацевтичний, 69035, м. Запоріжжя, проспект Маяковського, 26, Ганчева Ольга Вікторівна, Колесник Михайло Юрійович.
- 3. Джерело інформації:**
  1. Романова К.Б., Ганчева О.В., Колесник Ю.М. Патогенетичні особливості гормонального профілю у щурів, що зазнали restraint-стресу різної тривалості *Сучасні медичні технології*. 2023. № 2(57). С. 12-15.
  2. Романова К.Б., Ганчева О.В., Колесник Ю.М. Тривалий restraint-стрес як предиктор формування інсулінорезистентності в експериментальних щурів. *Патологія*. 2023. Том 20, № 2(58). С. 103-107.
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** Навчально-науковий медико-лабораторний центр (ННМЛЦ) з віварієм Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.
- 5. Форма впровадження:** використовується під час роботи лабораторій морфометричних, гістохімічних і денсометричних вимірів та експериментальної патофізіології.
- 6. Ефективність впровадження:** підвищення якості експериментального моделювання restraint-стресу, діагностики морфоденситометричних параметрів великоклітинних нейронів гіпоталамусу та гормонально-метаболических у щурів.
- 7. Зауваження та пропозиції.** Не виносилися. Обговорено на науково-методичному засіданні співробітників ННМЛЦ Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.

Відповідальний за впровадження:

Керівник ННМЛЦ ЗДМФУ,  
д. фарм. н., професор

Роман ЩЕРБИНА



## Додаток Б

### Наукові праці, опубліковані за темою дисертації

### СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЙНОЇ РОБОТИ:

1. Hancheva, O., & Romanova, K. (2021). Vision of the role of long-term social stress in the formation of " diseases of civilization". Mechanisms of adaptation to stressor situations and factors of its failure. *Journal of Education, Health and Sport*, 11(10), 325-331. <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2021.11.10.031>. (Дисертантка виконала набір та аналіз літератури).
2. Romanova, K. B., & Hancheva O. V. (2022). Modern ideas about the role of the hypothalamus in the implementation of adaptation programs under stressor loads (references). *Journal of Education, Health and Sport*, 12(2), 302-312. <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2022.12.02.032>]. (Дисертантка виконала набір та аналіз літератури).
3. Романова, К.Б., Ганчева, О.В., & Колесник, Ю.М. (2023). Патогенетичні особливості гормонального профілю у щурів, що зазнали restraint-стресу різної тривалості. *Сучасні медичні технології*, 2(57), 12-15. DOI: 10.34287/ММТ.2(57).2023.2. (Дисертантка виконала набір матеріалу, імуноферментне дослідження та статистичну обробку результатів)
4. Романова, К.Б., Ганчева, О.В., & Колесник, Ю.М. (2023). Тривалий restraint-стрес як предиктор формування інсулінорезистентності в експериментальних щурів. *Патологія*, 20, 2(58), 103-107. DOI: 10.14739/2310-1237.2023.2.285694. (Дисертантка виконала набір матеріалу, виконала тест толерантності до глюкози у щурів, дослідила рівень гормонів та провела статистичну обробку результатів)
5. Романова, К. Б., Ганчева, О. В., & Колесник, Ю. М. (2023). Характер змін морфоденситометричних параметрів великоклітинних нейронів паравентрикулярного ядра гіпоталамуса при restraint-стресі різної тривалості. *Запорізький медичний журнал*. 25, 6(141), 535-540. DOI: 10.14739/2310-1210.2023.6.291522 (Дисертантка виконала набір матеріалу, виконала



*морфоденситометричні дослідження характеристик великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамусу та провела статистичну обробку результатів).*

6. Ганчева, О.В., & Романова, К.Б. (2019). Морфо-денситометричні характеристики крупноклітинних нейронів паравентрикулярного та супраоптичного ядер гіпоталамусу щурів-самців лінії Вістар в умовах соціального стресу. *Сучасні питання молекулярно-біохімічних досліджень та лабораторного скринінгу у клінічній та експериментальній медицині* : збірка тез Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (11-12 квітня 2019 р., Запоріжжя) (с. 14-15). Запоріжжя.

7. Романова, К.Б. (2019). Вплив довготривалого обмеження життєвого простору на морфоденситометричні характеристики нейронів ПВЯ та СОЯ гіпоталамусу у щурів. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації* : тези доповідей І Науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (15 травня 2019 р., Харків) (с. 151-152). Х. : Вид-во НФаУ.

8. Ганчева, О.В., & Романова, К.Б. (2019). Вплив довготривалого restraint-стресу на формування артеріальної гіпертензії із метаболічними порушеннями. *Проблеми ендокринної патології (спеціальний випуск). 100-річний ювілей ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України»*: тези доповідей ІХ з'їзду ендокринологів України, (19-22 листопада 2019 р., Харків) (с. 251-252) (*Дисертантка виконала набір матеріалу, біохімічні дослідження та статистичну обробку результатів*).

9. Романова, К.Б. (2021). Характер ізоформного профілю синтази оксиду азоту в структурах гіпоталамусу в умовах соціального стресу в експерименті. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2021* : збірник тез доповідей науково-практичної конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів (15-16 квітня 2021 р., Запоріжжя) (с. 24-25). Запоріжжя: ЗДМУ.



10. Maiorov, A. F., Romanova, K.B., & Hancheva, O. V. (2022). Influence of chronic restraint stress on the morphological heterogeneity of hypothalamic neurons of Wistar rats. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації* : тези доповідей IV науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (19 травня 2022 р., Харків) (370 с). Х. : Вид-во НФаУ. (Дисертантка виконала набір матеріалу, морфоденситометричне дослідження та статистичну обробку результатів).

11. Романова, К. Б., & Ганчева, О. В. (2023). Тривале обмеження життєвого простору формує у експериментальних щурів restraint-стрес та змінює функціональні показники. *Сучасні тенденції спрямовані на збереження здоров'я людини* : збірник наукових праць IV науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю, присвяченої пам'яті професора О.В. Пешкової (20-21 квітня, 2023 р. м. Харків.). Вип. 3. (с, 144-146). (Дисертантка виконала набір матеріалу, біохімічні дослідження та статистичну обробку результатів).

12. Романова, К. Б. (2023). Динаміка метаболічних змін при експериментальному стресі у щурів, що знаходилися в умовах обмеження життєвого простору. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2023* : збірник тез доповідей 83 Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю (25-56 травня 2023 р., Запоріжжя,) (с. 70-71). Запоріжжя: ЗДМФУ.

13. Романова, К. Б. (2023). Тривале обмеження життєвого простору – вагомий фактор порушення гормонального балансу. Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція: *Матеріали VI науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю*. (16 листопада 2023 р., Харків) (с. 399-400). Х. : НФаУ.





## Додаток В

### Відомості про апробацію результатів дисертації

1. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Сучасні питання молекулярно-біохімічних досліджень та лабораторного скринінгу у клінічній та експериментальній медицині» м. Запоріжжя, 11-12 квітня 2019 р. (публікація тез),
2. I Науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» м. Харків 15 травня 2019 р. (публікація тез),
3. IX з'їзд ендокринологів України, що присвячений 100-річному ювілею ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України» м. Харків, 19-22 листопада 2019 р. (публікація тез),
4. Науково-практична конференція з міжнародною участю молодих вчених та студентів «Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2021» м. Запоріжжя, 15-16 квітня 2021 р. (усна доповідь, публікація тез),
5. IV науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю. «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» м. Харків 19 травня 2022 р. (публікація тез),
6. IV науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю, що присвячена пам'яті професора О.В. Пешкової «Сучасні тенденції спрямовані на збереження здоров'я людини» м. Харків, 20-21 квітня, 2023 р. (публікація тез),
7. 83 Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2023» м. Запоріжжя, 25-26 травня 2023 р. (усна доповідь, публікація тез),



1483480597238750

8. VI науково-практична internet-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» м. Харків, 16 листопада 2023 р. (публікація тез).

На електронний документ накладено: 1 (Один) підписи чи печатки:  
На момент друку копії, підписи чи печатки перевірено:  
Програмний комплекс: eSign v. 2.3.0;  
Засіб кваліфікованого електронного підпису чи печатки: ПТ Користувач ЦСК-1  
Експертний висновок: №04/05/02-1277 від 09.04.2021;  
Цілісність даних: не порушена;



1483480597238750



Підпис № 1 (реквізити підписувача та дані сертифіката)  
Підписувач: Романова Катерина Борисівна 3248200344;  
Належність до Юридічної особи: ;  
Код юридичної особи в ЄДР: 3248200344;  
Серійний номер кваліфікованого сертифіката: 382367105294AF9704000000CC50FD00851B2602;  
Видавець кваліфікованого сертифіката: "Дія". Кваліфікований надавач електронних довірчих послуг;  
Тип носія особистого ключа: Захищений;  
Тип підпису: Кваліфікований;  
Сертифікат: Кваліфікований;  
Час та дата підпису (позначка часу для підпису): 15:10 25.03.2024;  
Чинний на момент підпису. Підтверджено позначкою часу для підпису від АЦСК (кваліфікованого надавача електронних довірчих послуг)  
Час та дата підпису (позначка часу для даних): 15:10 25.03.2024;  
Чинний на момент підпису. Підтверджено позначкою часу для даних від АЦСК (кваліфікованого надавача електронних довірчих послуг)