

Характер змін морфоденситометричних параметрів великоклітинних нейронів паравентрикулярного ядра гіпоталамуса при restraint-стресі різної тривалості

К. Б. Романова^{1B,C,D}, О. В. Ганчева^{1B}*A,E, Ю. М. Колесник^{1B}A,E,F

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Мета роботи – визначити характер змін морфоденситометричних параметрів великоклітинних нейронів паравентрикулярного ядра гіпоталамуса в щурів на 6, 15 та 21 тиждень обмеження життєвого простору.

Матеріали та методи. Дослідження здійснили на 55 статевозрілих щурах-самцях лінії Wistar, яких поділили на чотири групи: 1 (контрольна) – 10 інтактних тварин; 2, 3 і 4 – експериментальні групи по 15 щурів, що перебували в обмеженому просторі клітки протягом 6, 15 та 21 тижня відповідно. Після попередньої стандартної гістологічної обробки вилученого мозку щурів на 5 мкм зрізах і після 48-годинного забарвлення галоціанін-хромовими галунами за Ейнарсоном здійснили їх морфоденситометричний аналіз на мікроскопі AxioImager-M2 (Carl Zeiss, Німеччина). Зображення великоклітинних нейронів паравентрикулярного ядра (ПВЯ) гіпоталамуса, топографічну належність яких визначали з використанням стереотаксичного атласу мозку щура, отримували за допомогою високочутливої відеокамери AxioCam-ERc 5s (Carl Zeiss, Німеччина) та записували як комп'ютерний файл за допомогою програмного забезпечення AxioVision 40 V 4.8.2.0 (ліцензія № 3005339). Кількісні показники площі нейронів, їхніх ядер і ядерців, вмісту гетерогенних ДНК і РНК у цитоплазмі клітин, їхніх ядрах і ядерцях одержали в напівавтоматичному режимі за допомогою програмного забезпечення з відкритим кодом ImageJ (National Institutes of Health, США).

Результати. Результатом хронічного стресу через обмеження життєвого простору, малорухливість і складні комунікаційні відносини у щурів, які 6, 15 та 21 тиждень перебували в названих умовах, стало зменшення площі цитоплазми та ядер великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамуса прямо пропорційно строку restraint-стресу (цитоплазми та ядра – на 18 % та 9 % на 6 тиждень, на 40 % і 25 % на 15 тиждень; тільки цитоплазми – на 23 % на 15 тиждень). Площа ядерців нейронів порівняно з контролем збільшувалася на 31 % на 6 тиждень стресу, на 33 % – на 15, на 15 % на 21 тиждень. Вміст нуклеїнових кислот у цитоплазмах великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамуса щурів у групі з 6-тижневим обмеженням менший за контроль на 39 %, із 15-тижневим – на 34 %, на 21 тиждень restraint-стресу – на 42 %. У ядрах клітин після 6 і 15 тижнів обмеження цей показник зменшувався майже однаково (на 37 % і 35 % відповідно), тривале обмеження (21 тиждень) спричинило зменшення на 41 %. У ядерцях нейронів вміст нуклеїнових кислот змінювався аналогічно: в групі 6 тиждень зафіксовано зменшення на 40 %, після 15 тижнів – на 39 %, 21 тиждень – на 43 %.

Висновки. Зміни морфометричних параметрів великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамуса щурів із тривалим обмеженням життєвого простору різноспрямовані та залежать від його терміну. Це пов'язано з функціональними особливостями структурних компонентів нейрона (цитоплазми, ядра та ядерця). Зі збільшенням строку обмеження життєвого простору відбувається прогресивне зменшення площі цитоплазми нейронів ПВЯ і їхніх ядер, але збільшення площі ядерців. Вміст нуклеїнових кислот у структурах великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамуса, що дослідили, через тривалий стрес у всіх термінах (6, 15, 21 тиждень) стає меншим за значення контролю більш ніж на третину. Порівняння вмісту нуклеїнових кислот у цитоплазмі, ядрах і ядерцях нейронів у щурів груп зі стресом різної тривалості показало незначне коливання цього показника.

Ключові слова:
гіпоталамус,
нейрони, стрес,
щури.

Запорізький
медичний журнал.
2023. Т. 25, № 6(141).
С. 535-540

*E-mail:
gancheva_olga@i.ua

Pattern of changes in morpho-densitometric parameters of magnocellular neurons of the hypothalamic paraventricular nucleus under restraint stress of different duration

K. B. Romanova, O. V. Hancheva, Yu. M. Kolesnyk

The aim of the work was to define the nature of changes in morpho-densitometric parameters of magnocellular neurons of the hypothalamic paraventricular nucleus in rats at 6, 15 and 21 weeks of restricted living space.

Materials and methods. A total of 55 male Wistar rats aged 6-10 months were used and divided into 4 groups (1 – intact control, 10 rats; 2, 3 and 4 – experimental groups of 15 rats each, which were in conditions of restricted environmental space for 6, 15 and 21 weeks, respectively). Morpho-densitometric analysis of 5- μ m-thick rat brain sections was performed after preliminary standard histological processing and 48 hours of halocyanine-chrome staining by Einarsen using an AxioImager-M2 microscope (Carl Zeiss, Germany). Images of magnocellular neurons of the hypothalamic paraventricular nuclei (PVN), which were topographically identified according to the stereotaxic atlas of the rat brain, were captured using a highly sensitive AxioCam-ERc 5s video camera (Carl Zeiss, Germany) and recorded as a computer file using AxioVision 40 V 4.8.2.0 software (license number 3005339). Quantitative data on the area of neurons, their nuclei and nucleoli, the content of heterogeneous DNA and RNA in the cell cytoplasm, nuclei and nucleoli were obtained in a semi-automatic mode using the open source software ImageJ (National Institutes of Health, USA).

Results. Chronic stress condition modelled in rats for 6, 15, and 21 weeks (limited living space, inactivity, and complicated communications) resulted in a decrease in the area of cytoplasm and nuclei of magnocellular neurons of the hypothalamic PVN. The

Key words:
hypothalamus,
neurons, stress,
rats.

Запорізьке
медичне журналі,
2023. 25(6), 535-540

decrease was directly proportional to restraint stress duration: cytoplasm and nuclei by 18 % and 9 % at week 6 and by 40 % and 25 % at week 21, respectively, and only cytoplasm by 23 % at 15 weeks. On the contrary, the area of neuronal nuclei was increased by 31 % at 6 weeks of stress and 33 % at 15 weeks, and by 15 % at 21 weeks of stress compared to the control. The content of nucleic acids in the cytoplasm of magnocellular neurons of the hypothalamic PVN in the group of rats with 6-week restriction was 39 % less than in the control group, 34 % less than that in the group with 15-week restriction, and 42 % less than that in the group of 21-week restraint stress. In the nuclei of cells after 6 and 15 weeks of restriction, the content was decreased approximately equally by 37 % and 35 %, respectively, and long-term restriction (21 weeks) contributed to a 41 % decrease. In the neuron nucleoli, the content of nucleic acids was changed similarly: in the group of 6 weeks, a decrease of 40 % was characteristic, after 15 weeks – by 39 %, and after 21 weeks – by 43 %.

Conclusions. Changes in the morphometric parameters of magnocellular neurons of the hypothalamic PVN in rats with long-term limitation of living space are characterized by time dependence and multidirectionality, which is related to the functional features of the neuron structural components (cytoplasm, nucleus and nucleoli). There is a progressive decrease in the cytoplasmic area of PVN neurons and their nuclei, while the nucleolar area increases with increasing length of living space limitation. The content of nucleic acids in the studied structures of the hypothalamic PVN magnocellular neurons after prolonged stress at each time point (6, 15, 21 weeks) becomes less than the control values by more than a third. Comparison of nucleic acid content in the neuron cytoplasm, nuclei, and nucleoli shows a narrow range of variations in the parameters of the experimental group rats between different periods.

Гіпоталамус, займаючи дуже невеликий простір, є місцем концентрації низки утворень, кожне з яких відіграє істотну роль в інтеграції багатьох нейрогормональних і нейрогуморальних процесів в організмі тварин і людей. Нині доведено, що він є центром, який реалізує єдність нервового та гуморального пристосувальних механізмів, координує неспецифічну мобілізацію систем організму щодо пристосувальної діяльності при мінливих умовах зовнішнього та внутрішнього середовищ. Гіпоталамус – еволюційно консервативний ендокринний інтерфейс, який пов'язує центральний гомеостатичний контроль з адаптивними реакціями організму шляхом вивільнення гормонів і нейропептидів із численних підтипів нейронів [1].

Доведено, що гіпоталамус відіграє вирішальну роль в ініціюванні гормональних реакцій на стресові подразники через вісь гіпоталамус – гіпофіз – надниркові залози (ГГНЗ). Пов'язаний із префронтальною корою та лімбічними структурами, особливо з мигдалеподібним тілом і гіпокампом, він діє як центральний вузол, що інтегрує фізіологічні аспекти реакції на стрес, у яких беруть участь кілька медіаторів, включаючи гормони, нейропептиди та нейротрансмітери. Згідно з цією концепцією, після стресової ситуації гіпоталамус активує два шляхи: вегетативну нервову систему та вісь ГГНЗ. Перший діє швидше, вивільняючи адреналін і норадреналін з мозкового шару надниркових залоз, а другий шлях, що діє повільніше, призводить до вивільнення глюкокортикоїдів з кори надниркових залоз [2].

У реалізації програм стрес-реакції бере участь низка гіпоталамічних нейрогормонів, як-от дофамін, серотонін, орексин, грелін, динорфін, урокортин, окситоцин, нейропептид Y, галанін, речовина P. Втім, ключовими нейропептидами, що безпосередньо модулюють реакцію на стрес, є кортикотропін-релізинг-гормон (КРГ) та аргінін-вазопресин (АВП). Основна структура мозку, в якій вони синтезуються, – гіпоталамус із його паравентрикулярним (ПВЯ) та супраоптичним (СОЯ) ядрами. Обидва регулятори чинять і системний, і «місцевий» вплив. Діючи локально та потенціюючи ефект один одного, КРГ та АВП мають нейромодулювальний ефект на нейрони-мішені власне в гіпоталамусі та на центри мозку, що розташовані вище й нижче та залучені в реалізацію загального адаптаційного синдрому [3].

Кожен із гормонів-регуляторів стресу має власні переважні просторові та тимчасові ділянки вивільнен-

ня та дії. Це дає змогу мозкові впоратися зі спектром проблем, що спровоковані стресом: від негайної уваги, ухвалення стратегічних рішень і механізмів їх реалізації, важливих для виживання у найближчій перспективі, до зберігання інформації про стресову ситуацію на випадок виникнення подібних подій у житті, і це перспективно в віддалені строки. Однак дії різноманітних медіаторів стресу на різних рівнях мозкових центрів повинні бути організовані в скоординовану реакцію, що успішно реалізується тільки за умов ефективності та узгодженості роботи ключового диригента – гіпоталамуса, його різних за структурою та функцією магно- (велико-) та парвоцелюлярних (дрібноклітинних) нейронів ПВЯ [4].

Не менш важливою умовою ефективності реалізації стрес-реакції та її завершення є стан антистресорної системи. Її важливою частиною вважають окситоцинергічну систему гіпоталамуса. Окситоцин (ОТ) виробляється передусім в окситоцинсинтезуювальних нейронах СОЯ, ПВЯ і додаткових ядер між ними. Експериментально встановлено, що великоклітинні ОТ-нейрони в СОЯ і ПВЯ здебільшого іннервують ділянки гіпофіза та переднього мозку, а парвоцелюлярні ОТ-нейрони в ПВЯ іннервують стовбур головного мозку та спинний мозок. Ці дві популяції ОТ-нейронів мають щільні гістологічні й функціональні зв'язки [5]. Відомо, що система ОТ гальмує симпатичну активність шляхом зниження простресорного компонента й індукції осі ГГНЗ загалом. Є чимало даних, що дають змогу припустити: ОТ може вивільнятися у системний кровотік під впливом гострих стресорів [6].

Щодо окситоцину та вазопресину зауважимо: незважаючи на різноспрямованість їхніх ефектів (анти-, простресорний), у ПВЯ гіпоталамуса вони здебільшого синтезуються в великоклітинних нейронах, мають майже однакові морфологічні ознаки [7].

Отже, можна стверджувати, що магноцелюлярна нейросекреторна система гіпоталамуса залучена до реалізації стрес-реакції. Крім того, є докази хронічної стрес-індукованої морфологічної пластичності цих нейронів, а хронічне напруження спричиняє зміни розміру клітин і зміну ГАМК-ергічної, глутаматергічної іннервації. Реакція магноцелюлярної системи варіює залежно від різних парадигм хронічного впливу, при цьому зміни експресії генів нейрогіпофізарних пептидів, секреції пептидів і морфології визначають передусім після ін-

тенсивного стресового впливу, а тривале навантаження призводить до виражених змін експресії генів, рівнів пептидів і пулів пептидів, що вивільняються [8].

Активізацію великоклітинних нейронів визначають у деяких, але не в усіх парадигмах хронічного стресу. Хронічні стресори, що включають модуляцію балансу рідини й електролітів (наприклад, гіпертонічний сольовий розчин), достовірно збільшують експресію АВП і ОТ у великоклітинних нейронах, що супроводжується підвищеною секрецією пептиду в системний кровотік. Інші моделі, включаючи хронічний періодичний стрес або хронічний соціальний стрес, не призводять до збільшення експресії мРНК АВП, а навпаки спричиняють її зменшення [9].

Отже, вивчення механізмів впливу соціального стресу з обмеженням життєвого простору та малорухливості (як приклад складного хронічного соціального стресу) на стан і морфофункціональні особливості великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамуса є актуальним, зумовлює необхідність здійснення експериментального дослідження з моделюванням комплексу негативних впливів, оцінюванням динаміки змін від початку дії стресорів до формування типових ознак патології.

Мета роботи

Визначити характер змін морфоденситометричних параметрів великоклітинних нейронів паравентрикулярного ядра гіпоталамуса в щурів на 6, 15 та 21 тижні обмеження життєвого простору.

Матеріали і методи дослідження

Експериментальне дослідження здійснили на 55 статевозрілих щурах-самцях лінії Wistar віком 6–10 місяців. Тварин утримували у віварії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету за температури повітря 20–25 °С, світловий день – 7.00–19.00, з вільним доступом до їжі та води.

Щурів поділили на чотири групи: 1 – порівняльного контролю (10 інтактних щурів); 2, 3 та 4 групи – по 15 тварин, яким моделювали restraint-стрес обмеженням життєвого простору клітки (нормальний розмір – 350 см²) на 40 % (210 см²) протягом 6, 15 і 21 тижнів; одночасно в клітці перебували 5 особин. Для створення додаткових стресорних негарздів і для гальмування процесу адаптації кожного тижня двох щурів з групи переміщували в іншу клітку в межах групи.

У відповідні терміни (6, 15 та 21 тиждень) щурів виводили з експерименту шляхом одномоментної декапітації під наркозом (тіопентал натрію 120 мг/кг внутрішньоочеревинно). Головний мозок негайно виймали, промивали в холодному 0,9 % розчині NaCl та фіксували в розчині Буена протягом 1 доби. На другу добу після двогодинного відмивання фіксатора в проточній холодній воді мозок 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) ($t = +56\text{ }^{\circ}\text{C}$). Завершували фіксацією в парапластові блоки.

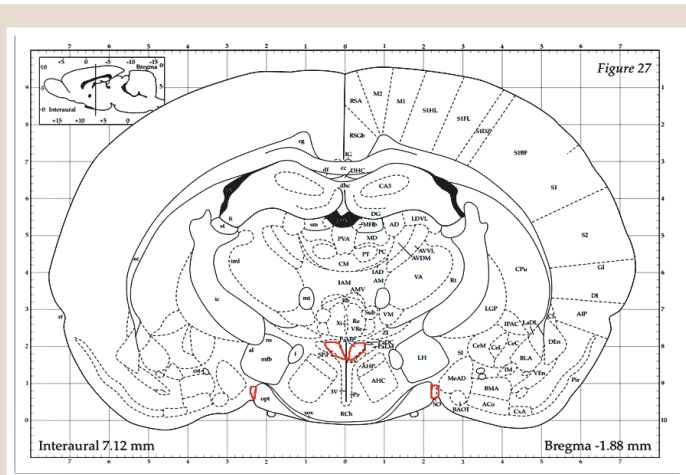


Рис. 1. Топографічне розташування магноцелюлярних нейронів ПВЯ та СОЯ в гіпоталамусі [9].

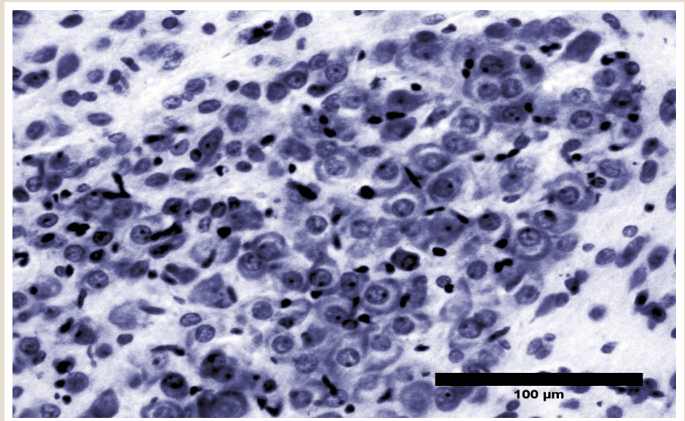


Рис. 2. Магноцелюлярні нейрони ПВЯ гіпоталамуса щурів контрольної групи. Забарвлення за Ейнарсеном, збільшення $\times 40$.

Для визначення характеру змін кількісних показників площі нейрона, його ядра та ядерця, вмісту в цитоплазмі нейрона, ядрі та ядерці нуклеїнових кислот (гетерогенних ДНК і РНК) на ротаційному мікромомі Microm-325 (Microm Corp., Німеччина) готували серійні фронтальні зрізи гіпоталамуса завтовшки 5–6 мкм. Здійснили стандартну гістологічну підготовку для забарвлення: депарафінізацію та регідратацію. Після цього скельця з серійними зрізами переднього гіпоталамуса протягом 48 годин забарвлювали галоціанін-хромовими галунами за Ейнарсеном. Забарвлені зрізи вивчали у видимому спектрі на мікроскопі AxioImager-M2 (Carl Zeiss, Німеччина). Топографічну ідентифікацію великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамуса здійснили за допомогою стереотаксичного атласу мозку щурів (рис. 1).

Дослідили не менше ніж 180–200 нейронів із кожної серії. Відеофайли, що одержали, опрацювали в інтерактивному режимі. Для цього в зоні, що топографічно відповідає розміщенню ПВЯ, визначали великоклітинні нейрони з чіткими межами цитоплазми, ядра і ядерця (рис. 2) та виділяли їх для автоматичного обрахунку в програмі цифрового аналізу Image J (National Institutes of Health, США). Обчислювали морфометричні параметри нейронів (мкм²) за попередньо заданим програмою скейлінгом, що дає змогу перерахувати пікселі в мкм². Так

Таблиця 1. Морфометричні параметри великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамуса щурів експериментальних груп, мкм², M ± m

Групи щурів	Площа цитоплазми	Площа ядра	Сумарна площа ядерця
1 група (контроль, n = 10)	339,20 ± 13,40	146,83 ± 3,24	54,22 ± 3,94
2 група (6 тижнів обмеження, n = 15)	279,51 ± 14,45 ¹	133,89 ± 3,81 ¹	71,09 ± 2,86 ¹
3 група (15 тижнів обмеження, n = 15)	260,31 ± 7,78 ¹	145,52 ± 2,65 ²	72,22 ± 2,21 ¹
4 група (21 тиждень обмеження, n = 15)	204,52 ± 5,68 ^{1,2,3}	110,80 ± 2,95 ^{1,2,3}	62,34 ± 2,26 ^{2,3}

¹: p_{st} < 0,05 – достовірна різниця показників експериментальних груп щодо відповідних параметрів контрольної групи; ²: p_{st} < 0,05 – вірогідна різниця показників груп 15 і 21 тижня щодо відповідних параметрів групи 6 тижнів; ³: p_{st} < 0,05 – достовірна різниця показників групи 21 тижня щодо відповідних параметрів групи 15 тижнів.

Таблиця 2. Денситометричні параметри великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамуса щурів з експериментальних груп, УО_{ор}/мкм², M ± m

Групи щурів	Вміст нуклеїнових кислот у цитоплазмі	Вміст нуклеїнових кислот у ядрі нейронів	Вміст нуклеїнових кислот у ядерцях
1 група (контроль, n = 10)	156,8 ± 0,7	146,8 ± 0,6	137,2 ± 0,6
2 група (6 тижнів обмеження, n = 15)	95,5 ± 0,9 ¹	92,0 ± 0,8 ¹	81,9 ± 0,5 ¹
3 група (15 тижнів обмеження, n = 15)	103,0 ± 0,7 ^{1,2}	95,4 ± 0,5 ^{1,2}	83,4 ± 0,4 ^{1,2}
4 група (21 тиждень обмеження, n = 15)	90,7 ± 0,8 ^{1,2,3}	86,0 ± 0,9 ^{1,2,3}	77,7 ± 0,5 ^{1,2,3}

¹: p_{st} < 0,05 – достовірна різниця показників експериментальних груп щодо відповідних параметрів контрольної групи; ²: p_{st} < 0,05 – вірогідна різниця показників групи 15 та 21 тижнів щодо відповідних параметрів групи 6 тижнів; ³: p_{st} < 0,05 – достовірна різниця показників групи 21 тижня щодо відповідних параметрів групи 15 тижнів.

визначили площу й еквівалентний діаметр клітин, їхніх ядер, ядерця і цитоплазми, а також денситометричні характеристики: оптичну густину (в умовних одиницях оптичної густини – УО_{ор}) ядер, ядерця і цитоплазми клітин, що зумовлені рівнем накопичення нуклеїнових кислот у площі структури (УО_{ор}/мкм²), яку дослідили. Її розраховували за формулою: C = ID / S, де ID – оптична густина нуклеїнових кислот, що характеризує їхню концентрацію в зрізі ядра клітини (УО_{ор}); S – площа ядра нейрона, мкм².

Результати, що одержали, опрацювали, застосували пакет прикладних і статистичних програм Excel 7.0 (Microsoft Corp., США) та програму Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., № JPZ804I382130ARCN10-J). Розраховували середнє арифметичне значення у вибірці (M), його дисперсію та помилку середнього (m). Для оцінювання достовірності відмінностей результатів досліджень в експериментальних і контрольній групі щурів визначили коефіцієнт Стюдента (t). Вірогідними вважали значення, для яких p_{st} ≤ 0,05.

Результати

Аналіз цифрових даних, що отримали під час статистичного опрацювання відеозображень великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамуса щурів експериментальних груп, показав: площа їхньої цитоплазми зменшувалася прямо пропорційно строку restraint-стресу, зокрема на 18 % на 6 тижні, на 23 % – на 15, на 40 % – на 21 тижні обмеження життєвого простору. Зауважимо, що показники площі нейронів у щурів усіх трьох експериментальних груп достовірно менші щодо контролю. Міжгрупове порівняння в межах експериментальних груп показало, що площі цитоплазм нейронів ПВЯ гіпоталамуса щурів групи 6 (2 група) та 15 (3 група) тижнів вірогідно не відрізнялися.

Однак визначили тенденцію до зменшення: порівняння з групою 21 тижня (4 група) показало зменшення у них показника на 27 %, а різниця між щурами із груп 15 і 21 тиждень становила 21 % (табл. 1).

Звернули увагу на зміни площі ядер великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамуса. Вони так само, як і площі їхніх цитоплазм, ставали меншими порівняно з контролем від 9 % на 6 тижні до 25 % на 21 тижні стресу через обмеження життєвого простору. Зазначимо, що на 15 тижні розміри ядер нейронів відповідали значенням контролю, але надалі обмеження ставало вагомим чинником зменшення площі ядер клітин майже на чверть (табл. 1).

Хоча площі цитоплазми та ядер зменшувалися прямо пропорційно строкам стресу, щодо площі ядерця нейронів ПВЯ щурів зафіксували іншу закономірність порівняно з контрольними даними: збільшення на 31 % при 6 тижнях стресу, на 33 % при 15 тижнях, а 21-тижневий стрес спричиняв достовірне збільшення площі ядерця на 15 %. Такі зміни мали статистичну значущість, зокрема під час зіставлення показників площі ядерця групи 6 тижнів із групою 21 тижня в останніх визначили зменшення на 12 %, а порівнявши 15- і 21-тижневий вплив, зафіксували зменшення на 14 % (табл. 1).

Отже, зміни морфометричних параметрів великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамуса в щурів із тривалим обмеженням життєвого простору показали чітку залежність від термінів і різноспрямованість, що пов'язана з функціональними особливостями структурних компонентів нейрона (цитоплазми, ядра та ядерця). Зауважимо: якщо розмір цитоплазми нейрона та його ядра змінювався в бік зменшення з подовженням строку стресу, то площа ядерця збільшувалася.

Важливий і достовірний показник функціональної активності нейрона – вміст і коливання в його компартментах нуклеїнових кислот, що представлені гетерогенними ДНК (в ядрі, ядерцях) і РНК (в ядрі, ядерцях і цитоплазмі). Денситометричні параметри, що характеризували ці кількісні показники (зокрема оптична густина в цитоплазмі, ядрах і ядерцях), мали односпрямовані зміни в бік вірогідного зменшення порівняно з контролем, і ці зміни майже однакові.

У великоклітинних нейронах ПВЯ гіпоталамуса щурів експериментальних груп цифровий аналіз показників вмісту нуклеїнових кислот показав: у групі з 6-тижневим обмеженням цей параметр у цитоплазмі клітин менший за контроль на 39 %, 15-тижневим – 34 %, на 2 тижні restraint-стресу – на 42 % (табл. 2).

Вміст нуклеїнових кислот у ядрах великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамуса щурів після 6 та 15 тижнів обмеження життєвого простору порівняно з контролем зменшувався майже однаково – на 37 % і 35 % відповідно, а тривале обмеження (21 тиждень) спричиняло істотніше зменшення – на 41 %. У ядерцях нейронів вміст нуклеїнових кислот щодо контрольних показників змінився аналогічно: в групі 6 тижнів зафіксували зменшення на 40 %, після 15 – на 39 %, після 21 тижня – на 43 %. Порівняння усіх трьох показників вмісту нуклеїнових кислот (у цитоплазмі, ядрах і ядерцях нейронів) у межах експериментальних груп із різними термінами показало незначне коливання, в середньому на 4 %. Це є вагомим свідченням гальмівного впливу тривалого

стресу низької інтенсивності (обмеження життєвого простору, малорухливість і складні комунікаційні відносини у тварин) на синтетичну активність великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамуса (табл. 2).

Обговорення

На перших етапах дослідження визначили: тривале стресорне навантаження, що складалося з комплексу низькоінтенсивних напружень, не викликало фатальних наслідків для тварини, але поступово формувало симптомокомплекс, характерний для багатьох «хвороб цивілізації», зокрема до стійкого підвищення артеріального тиску, коливання маси тіла, порушення гормонального балансу, метаболічних розладів [10,11].

Зазначимо, що більшість дослідників і науковців, які здійснюють експериментальні дослідження стресу або клінічні спостереження за хворими з наслідками стресу (різних нозологічних форм), визначають описаний симптомокомплекс, як той, що формується найчастіше [12,13,14].

Під час експериментального дослідження, що здійснили, ми не тільки фіксували й вивчали симптоми, що формуються, а простежили динаміку морфофункціональних змін головного реалізатора та координатора нейрогуморальних змін при стресі – гіпоталамуса. Надалі показали, що на 6 тижні обмеження життєвого простору через малорухливість і соціальні негаразди в щурів з експериментальних груп відбувається коливання метричних характеристик нейронів і їхніх структур на тлі зниження вмісту нуклеїнових кислот.

В унікальному експериментальному дослідженні групи науковців Jeffrey G. Tasker et al. визначили особливість гіпоталамо-нейрогіпофізарної системи – вражаючу морфологічну й фізіологічну пластичність, що виявляється в умовах постійної потреби в гормонах (у період лактації та хронічного зневоднення), імовірно, для адаптації її властивостей до забезпечення ефектної секреції відповідно до поступового виснаження нейросекреторних резервів. Автори довели, що ці адаптації включають динамічні морфологічні зміни нейронально-гліальних зв'язків у великоклітинних ядрах гіпоталамуса і збігаються з синаптичними перебудовами. Дослідники показали, 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, що необхідна для підтримки вивільнення гормонів в умовах мінливих фізіологічних потреб [15].

На відміну від цього, в роботі I. Simic et al., які дослідили наслідки хронічної психосоціальної ізоляції, показано низку дезадаптивних змін у лімбічних структурах мозку, включаючи гіпоталамус, що регулюють активність осі ГГНЗ [16].

Отже, у численних дослідженнях, зокрема і нашому, показано: вплив хронічного стресу на великоклітинні нейрони ПВЯ гіпоталамуса залежно від інтенсивності, тривалості, функціональності (гіпоксія, крововилив, сольове навантаження, переохолодження) або дисфункціональності (імобілізація, соціальні конфлікти, вимушені стани) можуть посилювати продукцію нейрогіпофізарних

пептидів великоклітинними нейронами, збільшувати їхній розмір, посилювати синаптичну пластичність тощо, а також спричиняти зворотні наслідки. Результат залежатиме від модальності, тривалості, інтенсивності та виду стресора. Ба більше, є окремі докази, що стресова активація великоклітинних нейронів відбувається в умовах гомеостатичних стимулів через їхню природну спрямованість на гомеостатичну відповідь, а дистреси через нефізіологічні напруження регулятора можуть призводити до невідповідності системи представленим неприродним викликам та прогресуванню нейродегенерації [17].

Висновки

1. Зміни морфометричних параметрів великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамуса в щурів із тривалим обмеженням життєвого простору різноспрямовані та залежать від його терміну. Це пов'язано з функціональними особливостями структурних компонентів нейрона (цитоплазми, ядра та ядерця).

2. Зі збільшенням строку обмеження життєвого простору відбувається прогресивне зменшення площі цитоплазми нейронів ПВЯ і їхніх ядер, але збільшення площі ядерця.

3. Вміст нуклеїнових кислот у структурах великоклітинних нейронів ПВЯ гіпоталамуса, що дослідили, через тривалий стрес у всіх термінах (6, 15, 21 тиждень) стає меншим за значення контролю більш ніж на третину.

4. Порівняння вмісту нуклеїнових кислот у цитоплазмі, ядрах і ядерцях нейронів у щурів груп зі стресом різної тривалості показало незначне коливання цього показника.

Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР Запорізького державного медичного університету: «Роль пептидергічних структур гіпоталамуса та стовбура мозку в патогенезі артеріальної гіпертензії» за програмою наукових досліджень і розробок, що фінансується з державного бюджету, держреєстрація № 0117U002579 (2017–2019).

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 29.09.2023

Після доопрацювання / Revised: 16.10.2023

Схвалено до друку / Accepted: 25.10.2023

Відомості про авторів:

Романова К. Б., асистент каф. патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.
ORCID ID: 0009-0000-1096-5314

Ганчева О. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.
ORCID ID: 0000-0001-7339-7078

Колесник Ю. М., д-р мед. наук, професор каф. патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології, ректор Запорізького державного медико-фармацевтичного університету, заслужений діяч науки і техніки України.
ORCID ID: 0000-0002-1556-5085

Information about the authors:

Romanova K. B., MD, Assistant of the Department of Pathological Physiology with the Course of Normal Physiology, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Hancheva O. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pathological Physiology with the Course of Normal Physiology, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Kolesnyk Yu. M., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathological Physiology with the Course of Normal Physiology, Rector of Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Honored Science and Technology Figure of Ukraine.

References

- Benevento, M., Hökfelt, T., & Harkany, T. (2022). Ontogenetic rules for the molecular diversification of hypothalamic neurons. *Nature reviews. Neuroscience*, 23(10), 611-627. <https://doi.org/10.1038/s41583-022-00615-3>
- 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>
- Joëls, M., & Baram, T. Z. (2009). The neuro-symphony of stress. *Nature reviews. Neuroscience*, 10(6), 459-466. <https://doi.org/10.1038/nrn2632>
- 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>
- Wang, P., Wang, S. C., Liu, X., Jia, S., Wang, X., Li, T., Yu, J., Parapura, V., & Wang, Y. F. (2022). Neural Functions of Hypothalamic Oxytocin and its Regulation. *ASN neuro*, 14, 17590914221100706. <https://doi.org/10.1177/17590914221100706>
- 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>
- 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>
- 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)
- Paxinas, G. B., & Watson, C. C. (1986). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press second edit. Sydney.
- Romanova, K. B., Hancheva, O. V., & Kolesnyk, Yu. M. (2023). Tryvalyi restraint-stres yak predyktor formuvannia insulinorezystentnosti v eksperymentalnykh shchuriv [Long-term restraint stress as a predictor of insulin resistance development in experimental rats]. *Pathologia*, 20(2), 103-107. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2023.2.285694>
- Romanova, K. B., Hancheva, O. V., & Kolesnyk, Yu. M. (2023). Patohenetychni osoblyvosti hormonalnoho profilu u shchuriv, shcho zaznaly restraint-stresu riznoi tryvalosti [Pathogenetic characteristics of the hormonal profile in rats subjected to restraint stress of different duration]. *Modern medical technologies*, (2), 12-15. [in Ukrainian]. [https://doi.org/10.34287/MMT.2\(57\).2023.2](https://doi.org/10.34287/MMT.2(57).2023.2)
- Herman, J. P., Tasker, J. G., Ziegler, D. R., & Cullinan, W. E. (2002). Local circuit regulation of paraventricular nucleus stress integration: glutamate-GABA connections. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 71(3), 457-468. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(01\)00681-5](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(01)00681-5)
- 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>
- Bergmann, N., Ballegaard, S., Krogh, J., Bech, P., Hjalmarson, A., 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>
- 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>
- Simic, I., Mitic, M., Djordjevic, J., Radojic, 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>
- 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)