

ДЕРЖАВНА УСТАНОВА
«ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ ЕНДОКРИННОЇ ПАТОЛОГІЇ ім. В. Я. ДАНИЛЕВСЬКОГО
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ»

ПЕРЕЦЬ ОЛЕНА ВІКТОРІВНА

УДК 616.45-001.1/.3-056.27:616-056.52:577.812:612.65

ВПЛИВ СОЦІАЛЬНО-ЕМОЦІЙНОГО СТРЕСУ МАТЕРІВ ПІД ЧАС
ВАГІТНОСТІ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЖИРОВОЇ
ТКАНИНИ В НАЩАДКІВ ЖІНОЧОЇ СТАТІ
(експериментальне дослідження)

14.01.14 – ендокринологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата біологічних наук

Харків – 2020

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Державній установі «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського Національної академії медичних наук України».

Науковий керівник доктор медичних наук, професор **Сергієнко Лоріана Юріївна**, Державна установа «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», завідувач лабораторії патогістології.

Офіційні опоненти:

доктор біологічних наук, професор **Ковзун Олена Ігорівна**, Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка НАМН України», заступник директора з наукової роботи, головний науковий співробітник відділу фундаментальних та прикладних проблем ендокринології.

кандидат медичних наук **Косовцова Ганна Василівна**, Державна установа «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків НАМН України», старший науковий співробітник відділення ендокринології.

Захист відбудеться « 22 » грудня 2020 р. о 13.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.564.01 при Державній установі «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» (61002, м. Харків, вул. Алчевських, 10).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Державної установи «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» (61002, м. Харків, вул. Алчевських, 10).

Автореферат розісланий « 18 » листопада 2020 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради

Ж. А. Лещенко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Однією з найважливіших медико-соціальних проблем у країнах, що розвинені або розвиваються, є ожиріння (ОЖ) (Newton S. et al., 2017; Abdelaal M., 2017), на що вказується в численних документах Всесвітньої організації охорони здоров'я (Tsigos C. et al., 2010; WHO, 2020). За цими даними на початок 21-го сторіччя більше ніж 1,5 млрд чоловік на Землі страждають від надлишкової маси тіла (надМТ) та ОЖ. До них долучаються дані, отримані при дослідженнях української популяції (Місюра К. В та співавт., 2014; Кравчун Н. О. та співавт., 2015). При цьому складний комплекс гормонально-метаболічних порушень, притаманних ОЖ, обумовлює його патогенетичний зв'язок з розвитком важких хронічних хвороб (Zaidi M. et al., 2012; Thomsen M. et al., 2013; Фадеєнко Г. Д. та співавт., 2014; Караченцев Ю. І. та співавт., 2015).

Особливої уваги заслуговує проблема повсюдного стрімкого зростання ОЖ серед дітей та підлітків. В Україні тільки за останнє десятиліття кількість пацієнтів віком до 15 років з діагнозом ОЖ в деяких регіонах зросла на 30 % (Леженко Г. А., 2014).

Оскільки встановлено, що надМТ та ОЖ в дитячо-підлітковому віці сприяє ранній появі усього комплексу хвороб, притаманного ОЖ у дорослих і, тим самим, обтяжує перебіг та значно погіршує якість та скорочує тривалість життя даного контингенту (Хижняк О. О. та співавт., 2008, 2010), існує нагальна потреба в розширенні клінічних та експериментальних досліджень, спрямованих на визначення першопричин та механізмів розвитку ОЖ.

За останні 25-30 років значно змінилися уявлення про етіопатогенез ОЖ та сформувалося сприйняття ОЖ як хвороби (Blüher M. et al., 2015). Останньому сприяло те, що за вказаний період було остаточно доведено, що жирова тканина (ЖТ) – це дифузний ендокринний орган, який продукує більше сотні адипоцитокінів, котрі впливають на різні функціональні системи людини (Siiteri P. K., 1987; Kershaw E. E., 2004). Серед адипоцитокінів особливе місце належить лептину (Л), котрий здатен впливати на харчову активність. Було визначено, що основним джерелом Л є ЖТ (Atanassova P., 2000; Lepercq J. et al., 2001). У дорослих за наявності ОЖ Л в сироватці крові завжди більше, ніж при нормальній масі тіла (МТ). При цьому, при однаковій МТ у жінок, його рівень в крові вищий, ніж у чоловіків (Saad M. F., 1997). Серед численних ефектів Л найбільш важливим вважається його участь у підтримці балансу між процесами енергозабезпечення та енерговитрат організму. У разі порушень будь-якої з ланок процесінгу Л на рівні центральної нервової системи анорексигенна дія Л знижується, а розвиток гіперфагії призводить до накопичення енергетичних запасів у вигляді жиру в ЖТ, тобто до появи надМТ та ОЖ. Стан зниження реакції утворень центральної нервової системи (ЦНС) на Л отримав назву лептинорезистентності (ЛР). ЛР розглядається як провідний патогенетичний механізм формування центрального ОЖ, характерного для багатьох захворювань і, перш за все, для ЦД 2 типу, за наявності якого у дорослих гіперлептинемія корелює з інсулінорезистентністю та індексом МТ (Mantzoros C. S., 1999; Kalra S., 2008; Myers M. G. et al., 2008;

Полторак В. В. та співавт., 2014). Доведено, що секреція Л адипоцитами (А) контролюється широким спектром гормонів, серед яких чільне місце належить глюкокортикоїдам (ГК). Фізіологічна підпорядкованість ЖТ ГК підтверджена результатами клінічних та експериментальних досліджень. Зокрема, показано, що високий рівень ГК в організмі матері, спричинений стрес-ситуацією, призводить до насичення організму плода цими гормонами та стимулює катаболічні процеси в підшкірній ЖТ. Наслідком стресу вагітності є зниження МТ та гіполептинемія у новонароджених. Пов'язаність низької МТ при народженні з формуванням метаболічного синдрому та супутніх хвороб широко вивчається українськими вченими (Черевко І. Г. 2013; Хижняк О. О. та співавт., 2016). При цьому рядом дослідників відмічена кореляція між низьким рівнем Л з надшвидким зростанням маси тіла та ЖТ у таких дітей в післянатальному періоді та з формуванням у них вже в ранньому віці надМТ та ОЖ (Vickers M. H et al., 2009; Valleau J. C. et al., 2014; Hopkins M. et al., 2016).

Обсяг наукової інформації відносно антенатальних витоків ОЖ з кожним роком зростає. Але натепер не описані особливості харчової активності у нащадків матерів, стресованих під час вагітності, не досліджена динаміка формування ОЖ та особливості регіонального розподілу ЖТ у таких нащадків; залишається невизначеним характер впливу соціально-емоційного стресу на матір в різні періоди вагітності на забезпеченість плода/новонародженого певним рівнем Л; відсутні дані відносно наявності або відсутності ЛР у таких нащадків. Вбачається також важливим уточнення характеру впливу на вираженість ОЖ та формування ЛР у дорослих нащадків матерів, стресованих під час вагітності, дії всіляких додаткових стрес-ситуацій в післянатальному житті та надлишкового надходження в організм таких нащадків енергоємних речовин (таких як широко вживаний продукт фруктоза (Фр)). Отримання відповідей на зазначені питання не тільки сприятиме розширенню наукових знань з даної проблеми, а й створить фундамент для розробки нових підходів до профілактики та лікування надМТ та ОЖ як у дітей, так і дорослих.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами темами. Дисертаційну роботу виконано в Державній установі «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» за планами науково-дослідних робіт «Дослідження впливу гестаційного стресу матерів на перебіг лептин-асоційованих процесів у нащадків різного віку (експериментальне дослідження)» (№ держреєстрації: 109U000307) та «Визначення впливу стресу матерів на зміну чутливості до лептину як патогенетичної ланки розвитку ожиріння та остеопатій у їх нащадків» (№ держреєстрації: 0111U010491).

Мета і завдання дослідження. Мета роботи – встановити наявність причинно-наслідкового зв'язку між соціально-емоційним стресом щурів самиць на різних етапах вагітності та формуванням патологічного морфофункціонального стану вісцеральної жирової тканини в нащадків жіночої статі, а також довести можливість впливу на тип та вираженість ожиріння у таких нащадків дії чинників навколишнього середовища.

Реалізацію поставленої мети здійснено шляхом вирішення наступних завдань:

1. Визначити вплив соціально-емоційного стресування самиць щурів в різні терміни гестації на показники їх маси тіла, кількість спожитої ними їжі за добу; маси жирової тканини в таких нащадків в дорослому віці до та після дії додаткових стрес-чинників.

2. Дослідити регіональний розподіл, вагові показники різних фракцій жирової тканини у дорослих нащадків самиць, стресованих під час гестації, за умов фізіологічного спокою, харчової депривації та стресу гіпокінезією.

3. Охарактеризувати мікроструктуру мезентеріальної жирової тканини, її морфометричні параметри та встановити характер змін в жировій тканині, характерні для нащадків, матері яких були піддані дії соціально-емоційного стресу, як за умов фізіологічного спокою, так і після дії додаткових стресорів.

4. Оцінити лептинсинтезуючу активність жирової тканини за рівнями лептину та наявності/відсутності лептинорезистентності у нащадків самиць, стресованих в різні періоди вагітності, за різних умов їх існування в післянатальному житті.

5. Встановити характер впливу штучного надлишкового споживання фруктози на жирову тканину, харчову активність, прояви лептинорезистентності та на гістофункціональні характеристики органів, причетних до енергетичного метаболізму та розвитку ожиріння.

Об'єкт дослідження – структурно-функціональний стан ЖТ у нащадків щурів жіночої статі, отриманих від самиць, стресованих на різних етапах вагітності.

Предмет дослідження – соматичний розвиток самиць – нащадків матерів, стресованих під час вагітності, харчова активність та особливості формування та регіонального розподілу ЖТ в залежності від умов існування, лептинсинтезуюча активність ЖТ у співставленні з показниками чутливості до Л; фруктозоіндуковані зміни в ЖТ та метаболічно активних органах антенатально стресованих нащадків.

Методи дослідження: 1) фізіологічні – для дослідження маси тіла до та після дії стрес-чинників; оцінка харчової поведінки за виміром середньодобової кількості спожитої їжі до та після стрес-навантажень; 2) препаративні – визначення маси жирової тканини та стану внутрішніх органів; 3) гістологічні – для визначення кількісних характеристик жирової тканини за допомогою морфометричної оцінки стану жирових клітин та подальшим світлооптичним дослідженням зразків жирової тканини, печінки та підшлункової залози самиць щурів за стандартними методами; 4) імуноферментні – для дослідження гормонального стану у піддослідних тварин за визначенням рівнів гормонів Л та КС у сироватці крові; 5) статистичні – для визначення оцінки нормальності, розрахунку основних статистичних параметрів (середнє значення та його похибка) використовували пакет програм Excel 2010 та Statistica 6.0., нормальність розподілу у вибірках перевіряли з використанням критерію Шапіро-Уїлка, перевірку нульової гіпотези про відсутність різниці між групами проводили із застосуванням параметричних та непараметричних методів, а саме: при порівнянні двох груп

використовували критерій Манна-Уїтні, а кількох груп – критерій Дана. Кількість тварин або спостережень представлено як (n).

Наукова новизна одержаних результатів. Експериментальним шляхом на моделі соціально-емоційного стресу, відтвореного у вагітних самиць щурів на різних етапах гестації, доведена наявність прямого зв'язку між гіполептинемією та зниженою масою тіла в нащадків у перинатальному періоді, а також за умов гіперлептинемії асоційованою зі збільшеним відкладенням вісцеральної жирової тканини (всЖТ) та доведеним лептинорезистентності в дорослому віці. Показано, що стрес матері під час гестації формує патологічний морфоструктурний патерн жирової тканини, потенціює його виразність та обумовлює появу ознак неспецифічного запалення жирової тканини за умов додаткового стресування нащадків в дорослому віці. Визначені особливості клітинного складу мезентеріальної жирової тканини (мЖТ) у нащадків матерів, стресованих під час гестації та його зміни після дії екзогенних стресорів. Доведена залежність типу морфоструктурних особливостей мезентеріальної жирової тканини (гіпертрофія, гіперплазія) у нащадків від періоду гестації, на якому вагітна самиця була піддана дії стрес-чинника, та показана інверсія морфологічних типів ожиріння у таких нащадків за умов додаткового їх стресування. Встановлено, що стрес матері під час вагітності призводить до патологічної реакції в нащадків на фізичні (харчова депривація, гіпокінезія) та харчові подразники (фруктоза), визначені за динамікою фенотипічних параметрів (середньодобова кількість спожитої їжі, маса тіла, маса вісцеральної жирової тканини, рівень лептину).

В експерименті з навантаженням фруктозою доповнено наукові дані та доведена її полікомпонентна обезогенна дія на нащадків матерів, стресованих під час гестації. Отримані дані розширюють уявлення про спектр ефектів підвищеного рівня глюкокортикоїдів в організмі матері під час вагітності на фенотип плодів, дозволяють віднести ОЖ до переліку хвороб антенатального походження. Результати проведених досліджень доповнюють та розширюють уявлення про соціально-емоційний стрес під час вагітності як чинник модулюючого впливу на плід, ефекти якого реалізуються в післянатальному онтогенезі нащадків у вигляді надлишкової маси тіла та вісцерального ОЖ.

Практичне значення одержаних результатів. Робота має значення при проведенні фундаментальних досліджень ушкоджуючого впливу соціально-емоційного стресу вагітних на процеси, пов'язані з енергообміном та формуванням жирової тканини на етапах раннього післянатального онтогенезу. Визначені додаткові стрес-чинники (харчова депривація та гіпокінезія), дія яких у дорослому віці може призвести до розвитку метаболічних порушень. Розроблено та впроваджено в практику спосіб моделювання неонатально індукованого ожиріння різних типів у нащадків, матері яких були стресовані під час вагітності. Така модель може бути використана в експериментальній ендокринології при дослідженні механізмів формування ожиріння, його патогенетичного зв'язку з розвитком широкого кола патологій та оцінці біологічних ефектів нових лікарських засобів для лікування як первинного, так і вторинного ожиріння.

Результати дисертаційної роботи впроваджено у відділі ендокринології і адаптації ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», включено у лекційні курси Чорноморського національного університету імені Петра Могили та в Харківській медичній академії післядипломної освіти.

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно проведено аналіз наукової літератури за даною проблемою. Спільно з науковим керівником – д.м.н., професором Л. Ю. Сергієнко – проведено визначення теми дисертаційної роботи, мети та завдань, вибір об'єкту, методів дослідження, аналіз та інтерпретація отриманих даних. Весь фактичний матеріал отримано дисертантом самостійно на базі лабораторії патогістології ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України». Самостійно проведено систематизацію даних. Гістологічні дослідження проводилися за участі м.н.с. Г. М. Черевко та ст. лаборанта Л. М. Толмачової, визначення рівнів гормонів у сироватці крові проведено спільно із к.б.н. Л. А. Сиротенко, статистичний аналіз даних виконано спільно із с.н.с. Т. Н. Сулімою.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертації доповідалися та обговорювалися на науково-практичних конференціях з міжнародною участю: Ендокринна патологія у віковому аспекті (Харків, 2007; 2010; 2014); Досягнення та перспективи експериментальної і клінічної ендокринології (Данилевські читання) (Харків, 2010; 2011; 2012; 2013; 2015; 2016); European Congress of Endocrinology (Prague, 2010); конференція молодих вчених «Медицина XXI століття» (Харків, 2011); Актуальні питання клінічної ендокринології, імунології та алергології (Чернівці, 2013); Прикладні аспекти морфології (Вінниця, 2017); Нове та традиційне у дослідженнях сучасних представників медичної науки (Львів, 2018); Рівень ефективності та необхідність впливу медичної науки на розвиток медичної практики (Київ, 2018); ІХ з'їзд Асоціації ендокринологів України (Харків, 2019).

Публікації матеріалів дисертації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 24 наукові праці, у тому числі 6 статей (1 – самостійна та 5 у співавторстві) у фахових наукових виданнях України (рекомендованих ДАК МОН України) та включених до міжнародних наукометричних баз. Матеріали дисертації відображено також у 2 патентах України на корисну модель та 16 тезах.

Обсяг та структура дисертації. Дисертаційну роботу викладено на 172 сторінках друкованого тексту. Робота складається із анотації, списку публікацій здобувача, основні частини (вступу, огляду літератури, розділу матеріалів та методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків), списку використаних джерел, що містить 334 посилання та складає 35 сторінок, 3 додатки. Дисертацію проілюстровано 9 таблицями та 28 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Дослідження проведено відповідно до національних «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), які узгоджені з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та

інших наукових цілей» (Страсбург, 1985). Експериментальних тварин утримували в стандартних умовах віварію ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» при природному освітленні та стандартному раціоні, рекомендованому для даного виду тварин, та питному режимі *ad libitum* (Западнюк І. П., 1983).

Опис експерименту. Роботу виконано на щурах популяції Вістар різного віку, а саме 183 нащадках-самицях першого покоління, отриманих від інтактних самиць та самиць, стресованих під час вагітності. Вибірку щурів, які були потрібні для одержання нащадків, формували методом випадкового відбору самиць з загальної сукупності; розподіл на групи проведено рандомним методом (Лакин Г, 1980).

Соціально-емоційний стрес у вагітних самиць щурів відтворювали за методикою (Pratt N., Lisk R., 1989). Із щурят-нащадків самиць, стресованих з другої по восьму добу вагітності (перший триместр вагітності), була сформована гр. С1; нащадки самиць, підданих дії стресу з 15 по 21 добу гестації (третій триместр вагітності), склали гр. С3. Нащадки інтактних самиць стали групою контролю (гр. К). Усіх самиць з їх нащадками утримували в стандартних умовах віварію, кожна тварина знаходилася в окремій клітці протягом всієї вагітності та підсосного періоду. В новонароджених щурят усіх груп була визначена МТ; 54 самиць-нащадків з різних груп було виведено з експерименту для отримання сироватки крові з метою визначення рівнів гормонів (Л, кортикостерон (КС)).

Після досягнення самицями-нащадками всіх груп 100-добового віку, деяку кількість із них було взято для вирішення питання про вплив штучного надлишкового вживання Фр на фізіологічні та гормональні показники у таких тварин. Кожну групу нащадків (гр. К, гр. С1, гр. С3) було поділено на три підгрупи:

1. Тварини, які вживали звичайну воду (шість голів), підгрупа (а).
2. Тварини, які вживали 10 % розчин Фр (шість голів), підгрупа (б).
3. Тварини, котрі вживали 10 % розчин Фр, яким потім уводили екзогенний Л (шість голів), підгрупа (в).

В усіх підгрупах визначали кількість спожитої їжі за добу, МТ, а наприкінці експерименту після знеживлення тварин вилучали печінку, підшлункову залозу та всЖТ для встановлення її маси і гістоструктури та кров для визначення рівня Л.

Навантаження Фр проводили шляхом забезпечення вільного доступу до поїлок з 10 % розчином Фр на тлі повної відсутності звичайної питної води протягом 30 діб (Sanchez-Lozada L. G., 2007). Навантаження екзогенним Л проводили шляхом уведення цього цитокіну у дозі 2,5 мкг/г двічі на добу підшкірно 15 діб поспіль (Krechowec S. O., 2006).

Після досягнення іншими самицями-нащадками 11-місячного віку, вони були взяті в експеримент для визначення впливу особливостей у них харчової поведінки, МТ та морфофункціональних характеристик ЖТ у стані фізіологічного спокою та після дії додаткових стрес-чинників. В якості стрес-чинників були використані дводенна харчова депривація та гіпокінезія. Дослідження було проведено в декілька етапів (блоків) (I, II, III, IV, V, VI), для

чого 11-місячні тварини з усіх груп були поділені на підгрупи:

1. I етап. Частина тварин без будь-яких навантажень, у яких була визначена середньодобова кількість спожитої їжі та МТ, були знеживлені (п'ять голів).

2. II етап. Частина тварин, які були піддані дводобовій харчовій депривації. Визначали МТ до та після голодування. Знеживлення (п'ять голів).

3. III етап. У всіх тварин, які залишилися після голодування визначали кількість спожитої їжі після харчової депривації (5 діб поспіль) та МТ перед гіпокінезією

4. IV етап. У всіх тварин безпосередньо після триденної гіпокінезії визначали МТ.

5. V етап. Частина тварин, які були піддані дводобовій харчовій депривації, а потім ще тридодобовому стресу гіпокінезією. Визначали кількість спожитої їжі (5 діб поспіль) до та після харчової депривації, а потім під час та після гіпокінезії (5 діб поспіль). Вимірювали МТ до та після харчової депривації/гіпокінезії, після чого тварин знеживлювали (п'ять голів).

6. VI етап. Той самий алгоритм, що на V етапі, але знеживлення відбувалося через місяць після останнього виміру спожитої їжі (п'ять голів).

Після закінчення кожного етапу експерименту частину тварин знеживлювали, дотримуючись умов евтаназії. По виведенню тварин з експерименту в них вилучали всЖТ (три фракції: епігонадальна, епінефральна, мезентеріальна) для визначення її маси та подальшого гістологічного дослідження. Збирали зразки крові з метою встановлення рівнів Л та КС.

Чутливість тварин до Л в 11-місячному віці оцінювали шляхом вимірювання середньодобової кількості спожитої їжі шурами з гр.К та гр.С1 до та після навантаження екзогенним Л за методикою (Krechowec S. O., 2006).

Методи дослідження та розрахунку. Кількість спожитої їжі визначали шляхом внесення в кожен клітку 100 г корму на одну тварину щодобово (така кількість є надлишковою) та зважували наступної доби (через 24 години) масу корму, що залишився (Lesage J., 2004). Стресування гіпокінезією проводили шляхом утримання тварин протягом 1 години в пеналі для знерухомилення 3 доби поспіль (Аршавський І., 1982).

Рівні КС та Л було визначено шляхом імуноферментного аналізу з використанням видоспецифічних наборів («Corticosteron ELISA» (Німеччина), «Rat Leptin ELISA» (США), «Rat/Mouse Leptin ELISA (США)»). Для оцінки чутливості тварин до Л використовували екзогенний Л Leptin Rat Recombinant (ProSpec, США) (Krechowec S. O., 2006).

Для проведення гістологічних досліджень всЖТ, печінку та підшлункову залозу фіксували в 10 % формаліні та доводили до фарбування зрізів (Ліллі Р., 1969; Волкова О. В., 1982). Серійні зрізи цих об'єктів фарбували гематоксиліном та еозином за загальноприйнятими методиками (Елисеєва В. Г., 1968). Морфометричні параметри мЖТ (кількість клітин в полі зору ($2,5 \times 10^{-3} \text{ м}^2$) та діаметр адипоцитів) досліджували на світловому мікроскопі Primo Star (Zeiss С., Німеччина), обладнаного цифровою фотокамерою Canon G10 та комп'ютерною програмою для фотометрії Photoshop CS5.

Отримані дані проаналізовано статистично з використанням пакету прикладних програм Excel 2010 та Statistica 6.0. та за допомогою критеріїв: Шапіро-Уїлка, Стьюдента, Фішера, Манна-Уїтні, Краскела-Уолліса, Данна і поправки Бонферроні. Дані в таблицях представлені як середнє арифметичне та його статистична похибка ($\bar{x} \pm S_x$) (Лакин Г. Ф., 1990; Гланц С. А., 1998). Відмінності показників вважали статистично значущими при $p < 0,05$, але у випадку порівняння трьох або чотирьох груп між собою з нормальним розподілом дат при $p < 0,01$.

Результати досліджень та їх обговорення. Вплив соціально-емоційного стресу на показники маси тіла, маси вісцеральної жирової тканини, її регіональний розподіл, харчову активність та гормональний стан у самиць-нащадків інтактних та стресованих під час вагітності матерів в залежності від умов їх утримання. Встановлено, що соціально-емоційний стрес під час вагітності негативно впливає на показник МТ досліджуваних тварин. Так МТ новонароджених щурят інтактних матерів (гр. К) була більшою, ніж у нащадків матерів, стресованих під час вагітності (гр. С1, та гр. С3) ($p < 0,05$) (рис. 1).

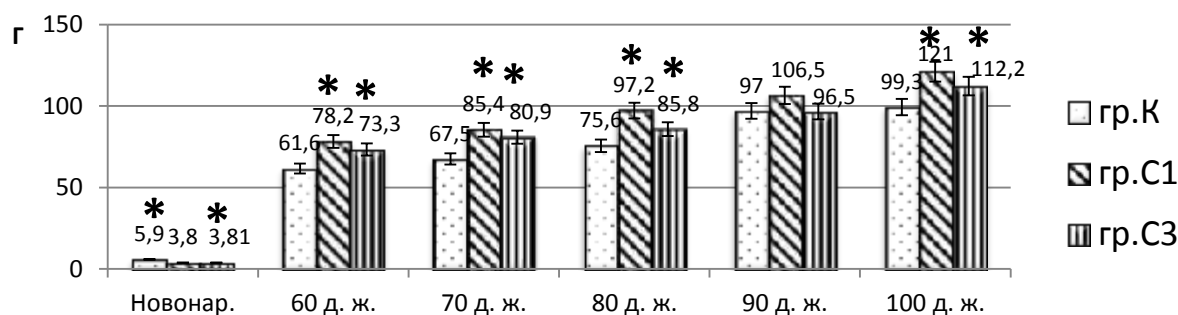


Рис. 1. Показники маси тіла в різні терміни життя піддослідних тварин:

* - статистично значущі відмінності відносно гр.К ($p < 0,02$).

Але при дослідженні МТ щурів у терміні з 60 по 100 добу життя було виявлено збільшення МТ у нащадків стресованих матерів відносно нащадків контролю того ж віку ($p < 0,02$) (див. рис. 1). Рівні Л та КС в периферичній крові у новонароджених самиць щурів-нащадків представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

Рівні гормонів в плазмі крові новонароджених самиць щурів, ($\bar{x} \pm S_x$)

Рівні гормонів	Група, кількість тварин		
	гр.К, n=18	гр.С1, n=18	гр.С3, n=18
лептин, нг/мл	10,71±0,12	5,07±0,24*	5,89±1,01*
кортикостерон, нмоль/л	84,80±4,30	64,60±5,80*	55,40±4,50*

Примітка. * – рівень значущості відмінностей до гр.К ($p < 0,05$).

Отримані результати можуть бути пояснені тим, що Л знижується за рахунок втрати ЖТ плодами стресованих перед пологами матерів, а падіння рівня КС у

3-добових плодів при стресі у матері, як показали (Lesage J. et al., 2001), пов'язане з інгібуючим впливом високих рівнів ГК матері під час пологів на гіпоталамо-гіпофізарно-адреналову систему плоду.

Після досягнення щурами 11-місячного віку в них досліджували МТ, масу трьох типів ЖТ та харчову активність на різних етапах експерименту, суть яких описана в «Матеріалах і методах», а результати графічно відтворені на рисунку 2.

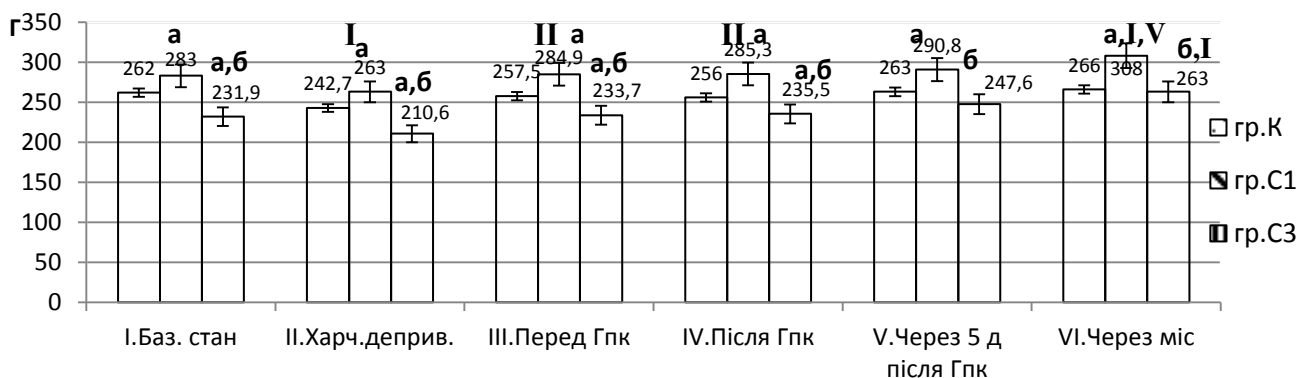


Рис. 2. Динаміка маси тіла щурів впродовж експерименту:

а - статистично значущі відмінності відносно гр. К ($p < 0,01$);

б - статистично значущі відмінності відносно гр. С1 ($p < 0,05$);

I, II, V - рівень значущості відмінностей між вказаними етапами в межах груп ($p < 0,05$).

Як видно з представлених даних, в базальному стані (етап I) МТ самиць гр. С1 (на всіх етапах) істотно перевищує показники двох інших - гр. К та гр. С3 ($p < 0,01$).

Харчова депривація (етап II) викликала зниження МТ у всіх тварин приблизно на 20 г ($p < 0,01$ у всіх випадках). Повернення до нормального режиму харчування перед гіпокінезією (етап III) сприяло швидкому (протягом п'яти діб) відновленню МТ у самиць усіх груп, яка майже досягла показників на початку експерименту ($p < 0,01$). Наступний стрес внаслідок гіпокінезії суттєво не вплинув на МТ у всіх тварин, а через 5 діб після гіпокінезії МТ у всіх щурів досягла показників початку дослідження (етап IV) (при цьому МТ у самиць гр. С1 була найбільшою ($p < 0,01$)). Визначення МТ щурів-нащадків через один місяць після закінчення експерименту (етап VI) показало, що у самиць-нащадків піддослідних груп було відмічено зростання МТ: в гр. С1 на 15-20 г, в гр. С3 – на 20-23 г у порівнянні з показниками початку експерименту ($p < 0,05$). Показник МТ контрольних тварин внаслідок дії гіпокінезії та її відміни не змінився (див. рис. 2).

При дослідженні харчової активності виявили, що самиці гр.С3 до дії стресорів споживали їжі дещо більше, ніж гр. К та гр. С1 ((15,2±0,4) г - гр. К та (15,3±0,4) г гр. С1 проти (16,6±0,3) г гр. С3, $p < 0,05$). Статистично значущим збільшенням споживання їжі після голодування зреагували тільки самиці в гр. С1 ((15,3±0,4) г у вихідному стані проти (17,3±0,4) г після харчової депривації, $p < 0,01$). Звертає на себе увагу той факт, що реакція на гіпокінезію,

а саме зменшення обсягу споживання їжі, виявилася тільки в самиць гр. С1 та гр. С3 (гр. С1 мала показник $(17,3 \pm 0,4)$ г після харчової депривації проти $(14,4 \pm 0,5)$ г під час гіпокінезії ($p < 0,01$), а гр. С3 $(17,0 \pm 0,3)$ г після харчової депривації проти $(15,2 \pm 0,3)$ г під час гіпокінезії ($p < 0,05$).

Через 30 діб після закінчення експерименту в гр. К та гр. С1 об'єм споживання їжі практично дорівнював вихідним показникам, а нащадки гр. С3 стали споживати їжі менше, ніж до початку дії стресорів ($p < 0,05$).

Показано, що харчова депривація суттєво зменшила масу всЖТ тільки у самиць гр. С3 ($p < 0,01$), у інших тварин подібних змін не відбулося (рис. 3).

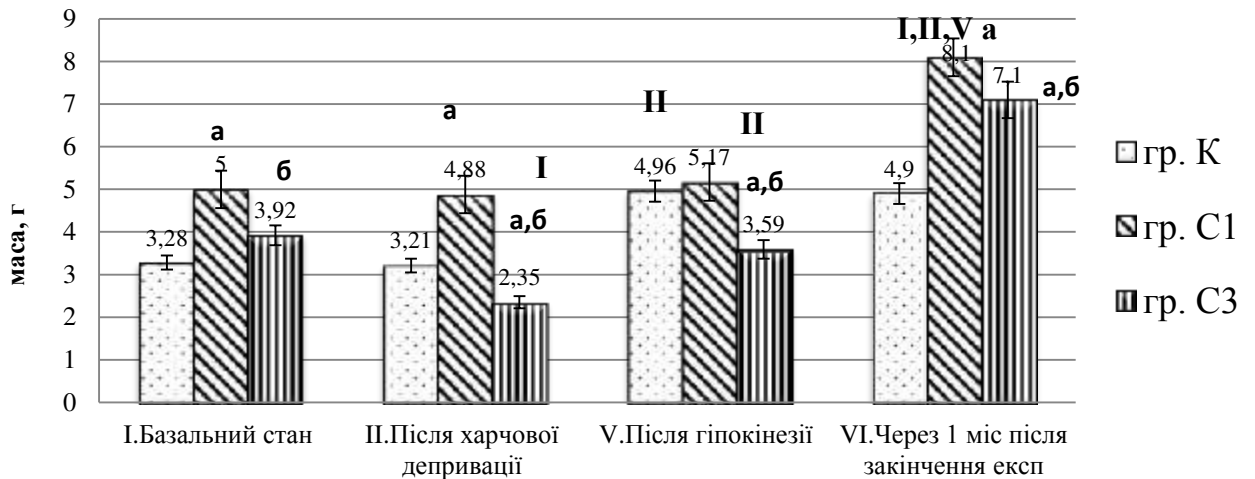


Рис. 3. Відносна маса жирової тканини щурів нащадків інтактної та експериментальних груп в залежності від умов експерименту: а - відмінності значущі по відношенню до гр. К ($p < 0,01$); б - відмінності значущі по відношенню до гр. С1 ($p < 0,05$); I, II, V - відмінності значущі до вказаних етапів в межах групи, ($p < 0,01$).

Гіпокінезія не виявила змін в масі всЖТ у тварин гр. С1, а в гр. С3 та гр. К цей фактор, навпаки, дав змогу відновитися всЖТ ($p < 0,05$), хоча найменшою вона залишилася в гр. С3 ($p < 0,01$). Через один місяць після стрес-навантажень у самиць у всіх групах було показано перевищення показників маси всЖТ у порівнянні з усіма попередніми етапами ($p < 0,01$) (див. рис. 3).

Так, після закінчення дії стресорів було відмічено зменшення об'єму їжі, спожитої нащадками гр. С1 та гр. С3 за добу у порівнянні з початком експерименту та збільшення МТ та маси всЖТ, що вказує на формування у них так званого «економного типу» енергетичного обміну – визнаного патогенетичного механізму розвитку ОЖ на тлі відсутності надлишкового споживання їжі (Hill J. O. et al., 2012).

Аналізуючи дані стосовно представленості окремих фракцій всЖТ у досліджуваних тварин за різних умов, можна відмітити, що в базальному стані за своєю масою в цих групах переважає епігонадальна фракція (та складає майже 50 % від загальної маси) (табл. 2).

Розподіл різних типів вісцеральної жирової тканини від загальної маси видаленого жиру у самиць-нашадків на різних етапах експерименту, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$), %

Фракція всЖТ	Група, кількість тварин		
	гр. К, n=5	гр. С1, n=5	гр. С3, n=6
I. Базальний стан			
Епігонадальна	55±2	50±1	42±2 $p_{K-C3} < 0,01$ $p_{C1-C3} < 0,01$
Епінефральна	23±2	24±2	22±2
Мезентеріальна	22±2	26±2	36±2 $p_{K-C3} < 0,01$ $p_{C1-C3} < 0,05$
II. Після харчової депривації			
Епігонадальна	50±2	49±2	51±2 $p_{I-II} < 0,05$
Епінефральна	19±2	25±1	16±2 $p_{C1-C3} < 0,02$
Мезентеріальна	31±1 $p_{I-II} < 0,02$	26±2	33±2
V. Після харчової депривації та гіпокінезії			
Епігонадальна	45±2 $p_{I-V} < 0,05$	48±2	41±2 $p_{II-V} < 0,05$
Епінефральна	20±1	20±1 $p_{II-V} < 0,05$	19±1
Мезентеріальна	35±2 $p_{I-V} < 0,01$	32±3	40±1 $p_{II-V} < 0,05$
VI. Через місяць після закінчення експерименту			
Епігонадальна	44±3 $p_{I-VI} < 0,05$	42±2 $p_{I-VI} < 0,02$	39±2 $p_{II-VI} < 0,05$
Епінефральна	23±3	24±3	24±2 $p_{II-IV} < 0,05$
Мезентеріальна	33±2 $p_{I-VI} < 0,02$	34±2 $p_{I-VI} < 0,05$ $p_{II-VI} < 0,05$	37±2

Примітка. p – рівень значущості відмінностей між показниками вказаних груп та етапів.

Епінефральна фракція всЖТ є найменшою як взагалі, так і на всіх етапах експерименту (20-23 %). МЖТ має 30-36 % від всього загалу, але найбільше її в гр. С3 (див. табл. 2).

Таким чином, стреси харчової депривації та гіпокінезії мали виразний вплив на окремі фракції ЖТ. Звертає увагу на себе те, що через місяць після закінчення експерименту в гр. К та гр. С1 маса епігонадальної ЖТ знизилася, епінефральна фракція не змінилася, а маса мЖТ зросла (див. табл. 2). В гр. С3 розподіл фракцій всЖТ через місяць після закінчення експерименту не відрізнявся від початкових даних. Дані, наведені в таблиці 2, свідчать про відтермінованість процесу перерозподілу мас між фракціями всЖТ після дії стресорів і про превалювання у складі ЖТ у стресованих нащадків епігонадальної та мезентеріальної фракцій. У стресованих нащадків, безумовно, це пов'язано зі змінами функціонально-метаболічних процесів в цих фракціях, викликаних дією додаткових стресів.

Морфофункціональний стан мезентеріальної жирової тканини у інтактних та стресованих самиць-нащадків в залежності від умов існування. Гістологічне дослідження зрізів мЖТ показало, що за розмірами в базальному стані у тварин гр. К адипоцити різні – від дрібних до великих (анізоцитоз), що пов'язано зі здатністю всіх А накопичувати або втрачати жир, за рахунок чого їх розміри можуть змінюватися. З літературних джерел відомо, що найбільш значущим при ОЖ морфометричним показником є кількість А та їх діаметр (Müller G., 2011), оскільки ОЖ, яке розвивається у дорослих, виникає за рахунок гіперплазії або гіпертрофії жирових клітин (DiGirolamo M. et al., 1998).

При підрахунку кількості А в полі зору в мЖТ встановлено, що в гр. К (без дії стрес-чинників, I) кількість клітин статистично значуще більша, ніж у нащадків матерів, стресованих під час гестації (гр. С1 та гр. С3, ($p < 0,01$)) (рис. 4).

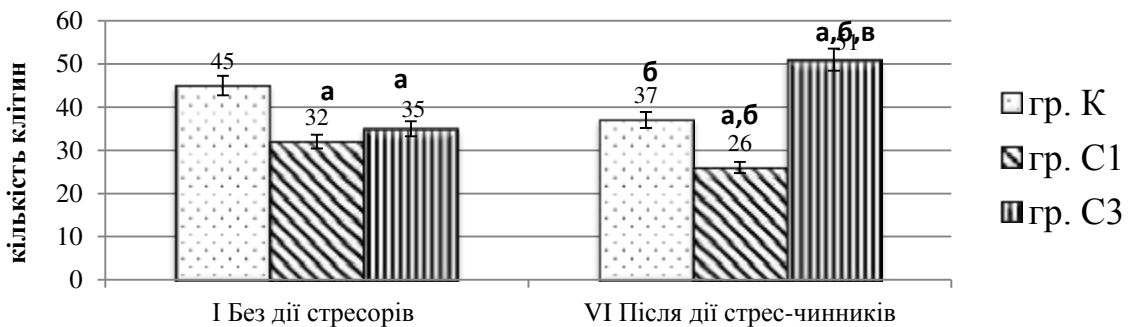


Рис. 4. Кількість клітин в полі зору без та після дії стрес-чинників:

а - відмінності значущі по відношенню до гр. К в межах одного стану ($p < 0,001$);

б - відмінності значущі по відношенню до стану I в межах групи ($p < 0,001$);

в - відмінності значущі по відношенню до гр. С1 в межах одного стану ($p < 0,001$).

Через один місяць після закінчення експерименту (VI) в гр. К та гр. С1 кількість А в полі зору зменшилася, але значно збільшилася в гр. С3 у порівнянні зі станом I. Середній розмір (діаметр) А в мЖТ без дії стресорів був найбільшим в гр. С1, а найменшим в гр. К (рис. 5).

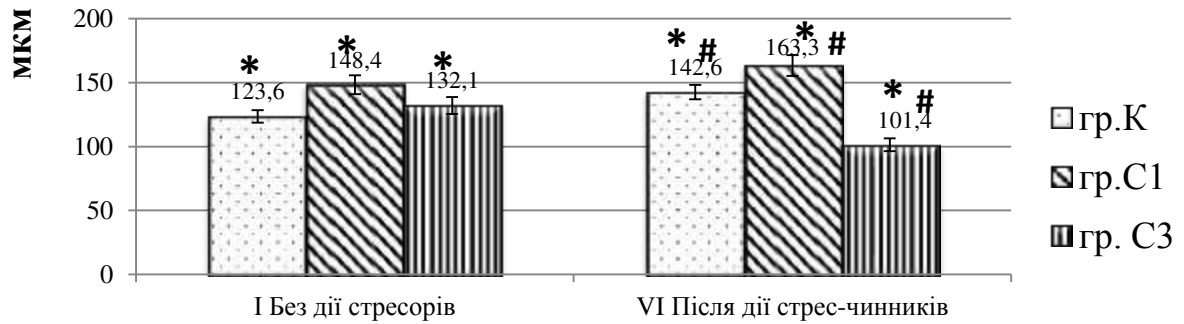


Рис. 5. Середній розмір адипоцитів мЖТ тварин піддослідних груп:
 * - відмінність між групами в межах одного стану ($p < 0,001$);
 # - відмінність між станами в межах однієї групи ($p < 0,001$).

Після закінчення експерименту середній розмір А в гр. К та гр. С1 статистично значуще збільшився, а в гр. С3, навпаки, суттєво знизився і став найменшим серед даних показників стану (див. рис. 5). За розміром А в межах одного жирового депо можуть бути розділені на малі (50-100 мкм), середні (100-150 мкм), великі (150-200 мкм), дуже великі (більше 200 мкм). На рисунку 6 відображені дані розподілу жирових клітин за розміром у відсотках.

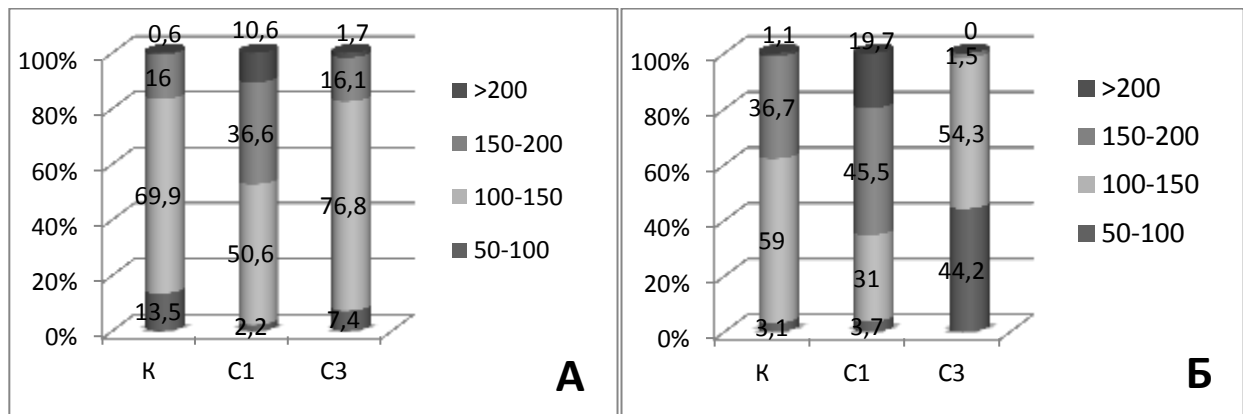


Рис. 6. Відсотковий розподіл адипоцитів в мезентеріальній жировій тканині експериментальних тварин без (А) та після дії стрес-чинників (Б).

У стані фізіологічного спокою (рис. 6, А) проявляються кількісні та якісні відмінності між клітинним складом мЖТ інтактних (контрольних) та піддослідних самиць-нащадків, котрі полягають у превалюванні середніх, великих та наявності дуже великих А у нащадків гр. С1 та середніх А в гр. С3 у порівнянні з гр. К, що дозволяє віднести тип ОЖ в гр. С1 до гіпертрофічного, а в гр. С3 до гіперпластичного. Додаткове стресування у дорослому віці особливо виразно вплинуло на клітинний склад та його характеристики у нащадків стресованих самиць (рис. 6, Б). Відмічене одночасне зростання кількості середніх, великих і дуже великих за розміром А в гр. С1 та зменшення кількості малих А, що свідчить про посилення розвитку гіпертрофічного ОЖ у тварин цієї групи. В той же час превалювання відсотка малих та середніх А в гр. С3 після дії стрес-чинників вказує на активні гіперпластичні процеси в мЖТ цих щурів. У нащадків гр. С1 ще в стані спокою

розмір А наближається до розміру А, як у гр. К після стресу голодуванням та гіпокінезією, а наприкінці експерименту накопичення жиру в клітинах гр. С1 зростає і середній розмір жирових клітин стає надзвичайно великим. Поряд з цим, серед функціонально зрілих клітин нащадків гр. С1 з'являються вогнища новоутворення ЖТ, що виглядають як скупчення макрофагів та молодих клітин з еозинофільною цитоплазмою та центрально розташованими ядрами. У тварин гр. С1 таких вогнищ тканинної гіперплазії відносно невелика кількість (один-два на 20 серійних зрізів), що дає підставу розцінювати тип ЖТ, притаманний цим нащадкам, як гіпертрофічно-гіперпластичний. Основна маса мЖТ у нащадків гр. С3 в базальному стані представлена середніми (як і в гр. К) А. Але, якщо після дії стрес-чинників в гр. К середній розмір А був більшим, то в гр. С3, навпаки, гіпертрофованих А значно менше. Разом з тим, у мЖТ щурів гр.С3, які були піддані додатковій дії стресорів, часто (один-два вогнища на п'ять-сім серійних зрізів) зустрічаються місця загибелі та новоутворення А de novo на тлі скупчення макрофагальних елементів. Такі осередки ЖТ отримали назву «crown-like» («вінець-подібні») (Murano I. et al., 2008), поява яких свідчить про наявність виразних процесів асептичного запалення ЖТ.

Лептин та лептинорезистентність у самиць щурів нащадків матерів, стресованих під час вагітності. Як було показано вище, нащадки всіх груп, які досягли 11-місячного віку споживали приблизно однакову кількість їжі, хоча МТ та маса всЖТ у них були різними. Найбільші показники у порівнянні з гр. К були в гр. С1 (див. рис. 2, рис. 3). Так після дії стресорів самиці гр. С1 мали найбільший рівень КС та вищий рівень Л, джерелом якого є збільшення маси всЖТ у цих тварин (табл. 3).

Таблиця 3

Рівні гормонів в плазмі крові 11-місячних щурів-нащадків, ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)

Рівні гормонів	Група, кількість тварин		
	гр. К, n=8	гр. С1, n=8	гр. С3, n=8
I. Базальний стан			
лептин, нг/мл	9,1±1,2	13,7±1,1*	12,9±1,1*
кортикостерон, нмоль/л	184,6±6,1	174,3±3,9	152,1±3,9*#
V. Через 5 діб після гіпокінезії			
лептин, нг/мл	10,1±1,0	16,5±1,3* $p_{I-V} < 0,05$	10,0±0,1 $p_{I-V} < 0,05$
кортикостерон, нмоль/л	148,5±10,9 $p_{I-V} < 0,05$	191,8±3,2* $p_{I-V} < 0,01$	113,9±7,8*# $p_{I-V} < 0,01$

Примітки:

* – рівень значущості відмінностей до гр. К ($p < 0,02$);

– рівень значущості відмінностей до гр. С1 ($p < 0,01$).

При цьому відсутність змін у обсязі спожитої їжі на тлі зростання маси всЖТ, яка продукує більшу кількість Л, свідчить про наявність ЛР у тварин з

гр. С1 в стані фізіологічного спокою (базальний стан). Аналогічна ситуація спостерігається після дії додаткових стрес-чинників (харчова депривація та наступна гіпокінезія) в цій же групі. Стрес-ситуації статистично значуще збільшують масу всЖТ у самиць гр. С3, але рівні Л та КС при цьому знижуються. Також дещо зменшується об'єм спожитої їжі. В даному випадку падіння рівня Л можна пов'язати зі зміною морфофункціонального стану всЖТ у нащадків гр. С3, а саме зі зміною клітинного складу та асоційованою з цим менш виразною ЛР у цих тварин (див. рис. 6).

Лептинорезистентність при ожирінні у самиць щурів-нащадків матерів, стресованих під час вагітності, та чинники її поглиблення. У нащадків стресованих матерів, для яких характерним є низький рівень Л при народженні та його підвищення в післянатальному житті (див. табл. 3), розвивається, як було відмічено вище, гіпертрофічний тип ОЖ, а дія повторних стресорів у дорослому житті на організм антенатально стресованих нащадків відіграє роль пускового механізму активаторів не тільки накопичення жиру, а й гіперпластичних реакцій в всЖТ з утворенням осередків неспецифічного запалення. Як свідчать дані, підвищення маси всЖТ у 11-місячних нащадків стресованих матерів співпадає зі статистично значущим зростанням рівня Л в плазмі цих нащадків у порівнянні з показниками рівня цього цитокіну у їх однолітків. Тобто дія додаткового стресування в післянатальному житті сприяє формуванню ОЖ у нащадків стресованих матерів, патогенетичною основою якого є ЛР. Наявність ЛР у нащадків матерів, стресованих під час гестації, підтверджують результати, отримані при дослідженні кількості їжі, спожитої за добу щурами гр. К та гр. С1, яким вводили екзогенний Л, створюючи надлишкову концентрацію цитокіну в крові. Дані, наведені в таблиці 4 та відтворені на рисунку 7, показують, що після ін'єкції екзогенного Л підвищення його рівня призводить до достовірного зниження маси їжі, котру споживають тварини гр. К за добу та виразного зниження маси всЖТ у таких тварин (див. табл. 4, див. рис. 7).

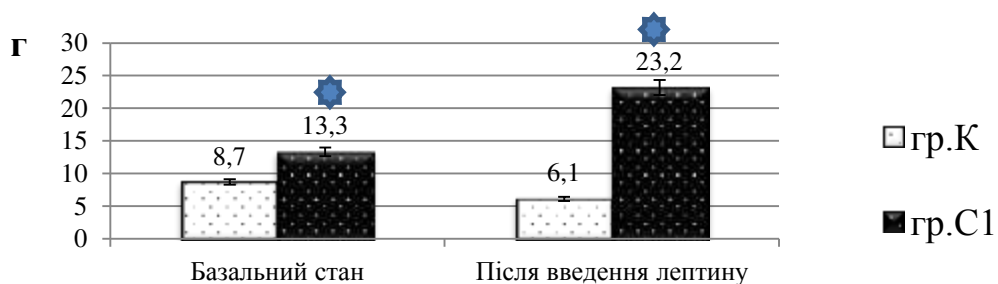


Рис. 7. Маса вісцеральної жирової тканини у 11-місячних самиць нащадків інтактних та експериментальної групи:

★-рівень значущості відмінностей відносно інтактної групи ($p < 0,01$).

Саме такий характер змін даних показників має місце при нормальній реалізації центральної ланки процесінгу дії гормону при гіперлептинемії.

Рівні лептину в плазмі крові та кількість їжі, спожитої за добу самицями щурів –нащадками інтактних матерів та стресованих під час гестації до та після введення екзогенного гормону ($\bar{X} \pm S_x$)

Показник	Група, кількість тварин			
	гр. К до введення Л (Кд), n=5	гр. К після введення Л (Кп), n=5	гр. С1 до введення Л (С1д), n=5	Гр. С1 після введення Л (С1п), n=5
кількість їжі, г	15,21±0,80	8,92±1,05 $p_{\text{кд-кп}} < 0,05$	15,15±0,82	14,85±0,98
рівень лептину, нг/мл	12,64±1,40	17,50±2,41	18,82±3,40 $p_{\text{кд-с1д}} < 0,05$	26,98±3,34 $p_{\text{кп-с1п}} < 0,05$ $p_{\text{с1д-с1п}} < 0,05$

Примітка. p – рівень значущості відмінностей між вказаними групами.

В той же, час виразне зростання рівня Л в крові тварин гр. С1 після навантаження їх екзогенним Л не вплинуло на вагові показники їжі, котру споживали ці тварини за добу, а маса всЖТ у них зросла (див. рис.7). Таким чином, якщо характер змін харчової активності та маси всЖТ у самиць гр.К після навантаження Л свідчить про чутливість гіпоталамічних центрів у цих тварин до рівня Л (нормальний перебіг процесінгу реалізації дії цього гормону), то дані, отримані на щурах гр. С1, вказує на відсутність/зниження чутливості центрів регуляції енергозабезпечення до Л, тобто про наявність у самиць гр.С1 виразної ЛР центрального характеру. Результати дослідження дають підставу розглядати ЛР як патогенетичний чинник ОЖ, притаманний нащадкам матерів, котрі підлягали дії стресу під час вагітності, та породжують питання про можливість поглиблення ЛР у таких нащадків розвитку ОЖ, завдяки дії на них всіляких стрес-індукованих чинників навколишнього середовища.

Дані, отримані при вивченні впливу надлишкового надходження фруктози на МТ, масу всЖТ, рівень Л в плазмі крові та масу спожитої їжі після введення Л представлені в таблиці 5.

Досліджувані показники в нащадків інтактних та стресованих під час гестації самиць-щурів із вживанням фруктози та лептину, ($\bar{X} \pm S_x$)

Група, кількість тварин	Вживали воду (а)	Вживали розчин Фр (б)	Вживали Фр+Л (в)
1	2	3	4
Маса тіла, г			
гр. К, n=6	103,5±3,7	115,4±1,6 $p_{\text{а-б}} < 0,05$	90,6±2,4 $p_{\text{а-в}} < 0,02$ $p_{\text{б-в}} < 0,02$
гр. С1, n=6	114,2±2,7 $p_{\text{к-с1}} < 0,05$	126,4±2,5 $p_{\text{а-б}} < 0,05$ $p_{\text{к-с1}} < 0,02$	132,2±4,3 $p_{\text{а-в}} < 0,02$ $p_{\text{к-с1}} < 0,001$

1	2	3	4
гр. С3, n=6	107,7±1,3	121,1±1,4 $p_{a-b} < 0,01$ $p_{к-с3} < 0,05$	128,8±4,0 $p_{a-b} < 0,01$ $p_{к-с3} < 0,001$
Маса вісцеральної жирової тканини, г			
гр. К, n=6	1,41±0,17	2,16±0,30	2,00±0,40
гр. С1, n=6	3,10±0,30 $p_{к-с1} < 0,01$	5,21±0,24 $p_{a-b} < 0,01$ $p_{к-с1} < 0,01$	5,03±0,10 $p_{a-b} < 0,01$ $p_{к-с1} < 0,01$
гр. С3, n=6	2,21±0,30	3,32±0,22 $p_{a-b} < 0,05$ $p_{к-с3} < 0,02$ $p_{с1-с3} < 0,02$	3,50±0,23 $p_{a-b} < 0,02$ $p_{к-с3} < 0,02$ $p_{с1-с3} < 0,02$
Рівень лептину в плазмі крові, нг/мл			
гр. К, n=6	10,8±1,0	12,6±1,8	19,1±1,4 $p_{a-b} < 0,05$ $p_{б-в} < 0,05$
гр. С1, n=6	14,6±1,2 $p_{к-с1} < 0,05$	17,9±0,8 $p_{a-b} < 0,05$ $p_{к-с1} < 0,05$	31,4±3,2 $p_{a-b} < 0,01$ $p_{б-в} < 0,01$ $p_{к-с1} < 0,02$
гр. С3, n=6	13,1±1,1	15,4±1,0	21,7±2,2 $p_{a-b} < 0,05$ $p_{б-в} < 0,05$
Маса спожитої їжі за добу, г			
гр. К, n=6	10,0±0,1	10,1±0,2	7,3±0,9 $p_{a-b} < 0,05$ $p_{б-в} < 0,05$
гр. С1, n=6	12,1±0,2 $p_{к-с1} < 0,01$	11,1±0,2 $p_{a-b} < 0,05$ $p_{к-с1} < 0,02$	13,0±0,2 $p_{a-b} < 0,02$ $p_{б-в} < 0,02$ $p_{к-с1} < 0,01$
гр. С3, n=6	10,8±0,1 $p_{к-с3} < 0,01$ $p_{с1-с3} < 0,01$	9,3±0,2 $p_{a-b} < 0,01$ $p_{к-с3} < 0,05$ $p_{с1-с3} < 0,05$	11,2±0,2 $p_{б-в} < 0,01$ $p_{к-с3} < 0,01$ $p_{с1-с3} < 0,01$

Примітка. p – рівень значущості відмінностей між вказаними групами.

В групах з вживанням Фр показники МТ та маси всЖТ були більші, ніж в групах з водою, але Фр не вплинула на кількість споживання їжі за добу в гр. К, а рівень Л в плазмі крові в гр. К суттєво не збільшився. На створення ситуації екзогенної гіперлептинемії групи відреагували по-різному: МТ, маса всЖТ та маса спожитої їжі в гр. К були нижчими, а рівень Л більшим. Оскільки

досліджені показники в групах нащадків стресованих матерів, котрим вводили Л на тлі споживання надлишку Фр, навпаки, зросли, можна зробити висновок про наявність ЛР у нащадків гр. С1.

Дані підрахунку кількості А у полі зору представлені на рисунку 8, а середній розмір А на рисунку 9.

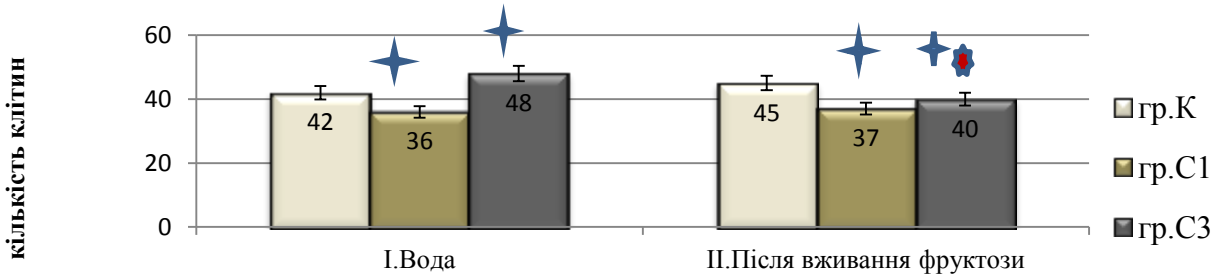


Рис. 8. Кількість клітин після вживання води або фруктози:

- ★ - відмінності значущі по відношенню до гр.К в межах одного стану ($p < 0,05$);
- ★ (червоний) - відмінності значущі по відношенню до стану I в межах групи ($p < 0,001$).

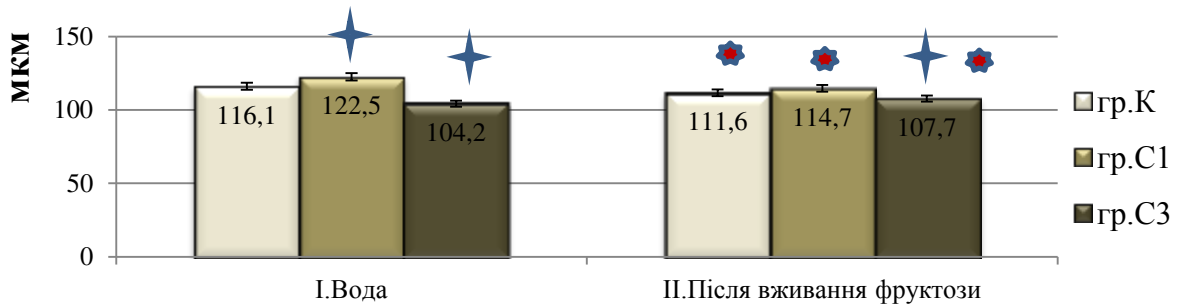


Рис. 9. Середній розмір адипоцитів мЖТ тварин піддослідних груп:

- ★ - відмінність по відношенню до гр.К ($p < 0,001$);
- ★ (червоний) - відмінність між станами в межах однієї групи ($p < 0,001$).

Тривале вживання Фр молодими статевозрілими щурами-нащадками контрольних та стресованих на різних етапах вагітності матерів мало неоднозначний вплив на морфометричні показники мЖТ. В цілому, можна сказати, що у нащадків, матері яких були стресовані під час гестації, на тлі вживання Фр з'являються перші ознаки гіперпластичного ОЖ в гр. С1 та гіпертрофічного ОЖ в гр. С3.

При цьому гістологічні дослідження підшлункової залози самиць щурів, котрі отримували надлишок Фр, показали ознаки функціонального напруження острівців Лянгерганса, а в печінці цих тварин спостерігаються вогнищева ліпоїдна дистрофія та неспецифічне запалення (особливо це характерно для стресованих нащадків). Таким чином, надлишок Фр сприяє структурно-функціональним змінам в печінці. Оскільки саме в печінці синтезується фракція розчинних рецепторів Л, котра забезпечує його перехід через гематоенцефалічний бар'єр до гіпоталамічних центрів регуляції апетиту, правомірним

здається припущення, що саме таким шляхом формується зниження/поглиблення чутливості до Л під впливом надлишку Фр (особливо у нащадків стресованих матерів). Таким чином, надлишкове надходження Фр в організм нащадків матерів, стресованих під час гестації, підсилює ознаки ЛР, що проявляються в зростанні МТ за рахунок накопичення всЖТ внаслідок активації споживання нутрієнтів. Тим самим отримані дані свідчать про негативний вплив Фр на розвиток ОЖ (особливо у нащадків стресованих матерів) та вказують на необхідність її виключення або зниження вмісту у раціоні таких особин.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі експериментальним шляхом доведені гестаційні витоки ожиріння, охарактеризовані морфофункціональні особливості жирової тканини та тип ожиріння, притаманний нащадкам матерів, стресованих на різних етапах гестації, показана провідна роль розвитку лептинорезистентності у формуванні ожиріння у таких нащадків, доведена потенціуюча роль екзогенних стресів та такої харчової речовини, як фруктоза на вираженість ожиріння гестаційного походження.

1. Соціально-емоційний стрес в самиць щурів під час вагітності (у першій та третій третині гестації) призводить до народження нащадків з малою масою тіла та низьким рівнем лептину. Динаміка вікового збільшення маси тіла та маси вісцеральної жирової тканини у нащадків матерів, стресованих у першому триместрі вагітності, значно перевищує відповідні показники у нащадків інтактних матерів, а рівень лептину в плазмі 11-місячних нащадків, стресованих під час вагітності, вище, ніж у їх однолітків з контрольної групи.

2. Серед фракцій жирової тканини в стані функціонального спокою у всіх нащадків превалює маса епігонадальної фракції, котра найбільш розвинута в гр. С1. За цих же умов маса мезентеріальної фракції в гр. С1 більша, ніж в гр. С3, в нащадків гр. К вона найменша, а маса епінефральної фракції у всіх групах однакова. Соціально-емоційний стрес на різних етапах вагітності призводить до розвитку ожиріння шляхом інтенсифікації формування мезентеріальної складової вісцеральної жирової тканини в самиць-нащадків матерів, стресованих під час вагітності.

3. Реакція мезентеріальної жирової тканини на повторні стреси в дорослому житті пов'язана з періодом стресування вагітної під час гестації. У нащадків інтактних матерів та матерів, стресованих на початку вагітності, післянатальні стреси призводять до розвитку гіпертрофічного типу ожиріння. А у нащадків матерів, стресованих наприкінці вагітності, за умов додаткового стресування розвивається гіперплазія жирової тканини з появою осередків розвитку неспецифічного запалення.

4. В репродуктивному віці у нащадків матерів, стресованих під час вагітності, формується комплекс гормонально-метаболічних змін, який обумовлює виразне зростання маси тіла та вісцеральної жирової тканини (особливо після додаткового стресування) на тлі зниження добового об'єму споживання їжі.

5. У нащадків матерів, стресованих під час вагітності, встановлена наявність лептинорезистентності з боку гіпоталамічних центрів регуляції енергозабезпеченості організму, що проявляється у відсутності анорексигенних ефектів при гіперлептинемії екзогенного походження.

6. Надлишкове надходження фруктози в організм нащадків молодого віку, отриманих від матерів, стресованих під час вагітності, поглиблює антенатально обумовлену лептинорезистентність центральної ланки регуляції енергообміну та сприяє розвитку у таких щурів-нащадків ожиріння в перипубертатному віці.

7. Наявність гіпертрофії, гіперплазії та запалення жирової тканини в тварин-нащадків матерів, стресованих під час гестації, обґрунтовують віднесення таких нащадків до груп ризику розвитку метаболічних порушень.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Перець О. В. Морфометричні параметри мезентеріальної жирової тканини та їх зміни під впливом стрес-чинників у щурів-нащадків гестаційно стресованих матерів. *Проблеми ендокринної патології*. 2020. № 1. С. 111-118.

2. Особливості харчової поведінки та формування жирової тканини у самиць щурів-нащадків гестаційно стресованих матерів / Л. Ю. Сергієнко, О. В. Перець, О. В. Картавцева, Т. В. Бондаренко. *Проблеми ендокринної патології*. 2010. № 2. С. 87-93. (Дисертант брав участь у постановці експерименту, роботі з експериментальними тваринами, статистичному аналізі даних).

3. Гістофункціональні особливості вісцеральної жирової тканини у нащадків гестаційно стресованих матерів / Л. Ю. Сергієнко, О. В. Перець, О. В. Картавцева, Г. М. Черевко, Л. М. Толмачова, Т. В. Бондаренко. *Проблеми ендокринної патології*. 2010. № 3. С. 83-89. (Дисертант брав участь у постановці експерименту, статистичному аналізі даних).

4. Лептинорезистентність як причина відсутності змін харчової поведінки при гіперлептинемії та ожирінні у самиць щурів-нащадків гестаційно стресованих матерів / Л. Ю. Сергієнко, О. В. Перець, Н. Ю. Селюкова, Т. В. Бондаренко, Г. М. Черевко, Л. М. Толмачова, Г. В. Маракіна. *Проблеми ендокринної патології*. 2014. № 3. С. 73-80. (Дисертанту належить проведення досліджень та часткова інтерпретація результатів).

5. Потенцюючий вплив надлишкового споживання фруктози на розвиток ожиріння у нащадків гестаційно стресованих матерів / О. В. Перець, Л. Ю. Сергієнко, Н. Ю. Селюкова, Г. М. Черевко, Т. В. Бондаренко, Л. А. Сиротенко. *Проблеми ендокринної патології*. 2016. № 4. С. 82-90. (Дисертант брав участь у постановці експерименту, роботі з експериментальними тваринами, статистичному аналізі даних).

6. Перець О. В., Сергієнко Л. Ю. Стрес індукована гіперкортикостеронемія у вагітних самиць щурів – причина гіполептинемії у новонароджених нащадків та їх схильності до ожиріння. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017. Vol. 7, № 5. С. 690-702. (Дисертанту належить проведення досліджень,

збір матеріалу, статистичний аналіз, оформлення статті).

7. Пат. 53260 UA, МПК G09B 23/28. Спосіб моделювання гіпертрофічно-гіперпластичного типу ожиріння з ознаками запалення / Л. Ю Сергієнко, О. В. Перець, О. В. Картавцева, Г. М. Черевко, Л. М. Толмачова, Т. В. Бондаренко (UA); заявник і патентовласник ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» (UA). - № u201005303; заявл. 30.04.2010; опубл. 27.09.2010, Бюл. №18. 7 с. *(Дисертант брав участь у постановці експерименту, здійснював збір матеріалу, проводив статистичний аналіз даних).*

8. Пат. 97628 UA, МПК G09B 23/28. Спосіб моделювання гіпертрофічного ожиріння гіпоталамічного генезу з ознаками лептинорезистентності / Л. Ю Сергієнко, Н. Ю. Селюкова, Т. В. Бондаренко, Г. М. Черевко, О. В. Перець, Л. М. Толмачова, (UA); заявник і патентовласник ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» (UA). - № u2011410878; заявл. 6.10.2014; опубл. 23.03.2015, Бюл. №6. 5 с. *(Дисертант брав участь у постановці експерименту, здійснював збір матеріалу, проводив статистичний аналіз даних).*

За матеріалами дисертації опубліковано також 16 тез доповідей у збірниках і матеріалах вітчизняних та міжнародних конференцій.

АНОТАЦІЯ

Перець О. В. Вплив соціально-емоційного стресу матерів під час вагітності на морфофункціональний стан жирової тканини в нащадків жіночої статі (експериментальне дослідження). – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.01.14 – ендокринологія. – Державна установа «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського Національної академії медичних наук України», Харків, 2020.

Робота присвячена дослідженню впливу соціально-емоційного стресу матерів на різних етапах вагітності на харчову поведінку, формування жирової тканини та розвиток ожиріння в нащадків жіночої статі в дорослому віці, виявленню наявності лептинорезистентності центрального генезу та характеру впливу додаткових стрес-чинників на морфофункційні характеристики жирової тканини у цих тварин. Окрему серію дослідження склало вивчення схильності молодих репродуктивно зрілих нащадків гестаційно стресованих самиць до ожиріння та зрушень у лептин-асоційованій системі під впливом тривалого вживання фруктози.

Встановлено, що антенатальний стрес призводить до народження нащадків зі зниженою масою тіла та низьким рівнем лептину, а період раннього післянатального життя характеризується швидким зростанням маси тіла та гіперлептинемією.

Експериментально доведено, що у нащадків матерів, стресованих під час вагітності, в дорослому віці формується «економний тип» енерговитрат, оскільки при однаковій кількості спожитої їжі маса тіла та маса вісцеральної жирової тканини у них перевищують відповідні показники у нащадків

інтактних матерів.

У антенатально стресованих нащадків встановлена наявність лептинорезистентності, що проявляється в відсутності анорексогенних ефектів як при гіперлептинемії, що в них розвивається, так і при навантаженні екзогенним видоспецифічним лептином.

Знайдено, що жирова тканина є стрес-чутливим утворенням, формування якої індукується стресовими ситуаціями. При цьому тип ожиріння та клітинний склад жирової тканини залежить як від періоду дії стресу під час антенатального розвитку, так і від впливу стресів в дорослому житті.

Показано, що надлишкове надходження фруктози в організм нащадків, матері яких були стресовані під час гестації, посилює гестаційно обумовлену лептинорезистентність та сприяє розвитку у таких нащадків ожиріння в перипубертатному віці.

Ключові слова: гестаційний стрес, нащадки, жирова тканина, ожиріння, лептин, фруктоза.

АННОТАЦІЯ

Перец Е. В. Влияние социально-эмоционального стресса матерей во время беременности на морфофункциональное состояние жировой ткани у потомков женского пола (экспериментальное исследование). – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.01.14 – эндокринология. – Государственное учреждение «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского Национальной академии медицинских наук Украины», Харьков, 2020.

Работа посвящена исследованию влияния социально-эмоционального стресса матерей на разных этапах беременности на пищевое поведение, формирование жировой ткани и развитие ожирения у потомков женского пола во взрослом состоянии, выявлению наличия лептинорезистентности центрального генеза и характера влияния дополнительных стресс-факторов на морфофункциональные характеристики жировой ткани у этих животных. Отдельную серию исследования составило изучение склонности молодых репродуктивно зрелых потомков гестационно стрессированных самок к ожирению и сдвигам в лептин-ассоциированной системе под влиянием длительного употребления фруктозы.

Установлено, что антенатальный стресс приводит к рождению потомства со сниженной массой тела и низким уровнем лептина, а период ранней посленатальной жизни характеризуется быстрым приростом массы тела и гиперлептинемией.

Экспериментально доказано, что у потомков матерей, стрессированных во время гестации, во взрослом состоянии формируется «экономный тип» энергозатрат, поскольку при одинаковом количестве потребляемой пищи масса тела и масса висцеральной жировой ткани у них превышают соответствующие показатели у потомков интактных матерей.

У антенатально стрессированных потомков установлено наличие

лептинорезистентности, что проявляется в отсутствии анорексогенных эффектов как при развивающейся у них гиперлептинемии, так и при нагрузке экзогенным видоспецифичным лептином. Установлено, что жировая ткань является стресс-чувствительным образованием, формирование типа которой индуцируется стрессовыми ситуациями. При этом тип ожирения и клеточный состав жировой ткани зависит как от периода действия стресса во время антенатального развития, так и от воздействия стрессов во взрослой жизни.

Показано, что избыточное поступление фруктозы в организм потомков, матери которых были стрессированы во время гестации усугубляет гестационно обусловленную лептинорезистентность и способствует развитию у таких потомков ожирения в перипубертатном возрасте.

Ключевые слова: гестационный стресс, потомки, жировая ткань, ожирение, лептин, фруктоза.

ANNOTATION

Perets O. The effect of social-emotional stress of mothers during pregnancy on the morphofunctional state of adipose tissue in female offspring (experimental research). – Manuscript.

Thesis for candidate degree of biological sciences by specialty 14.01.14 – endocrinology. – State institution «V. Danilevsky Institution for Endocrine Pathology Problems National Academy of Medical Science of Ukraine», Kharkiv, 2020.

The work is devoted to the study of the influence of socio-emotional stress of mothers at different stages of pregnancy on eating behavior, formation of adipose tissue and development of obesity in female descendants in adult state, detection of the presence of leptin resistance of central genesis and the nature of influence of additional stress factors on morphofunctional characteristics of adipose tissue in these animals. A separate series of research was to study the tendency in early reproductive age of gestational stressed females to obesity and shifts in the leptin-associated system under the influence of long-term fructose consumption.

It was found that antenatal stress leads to the birth of offspring with reduced body weight and low leptin level, and the period of early postnatal life is characterized by rapid weight gain and hyperleptinemia.

Social-emotional stress during pregnancy has a significant effect on changes in body weight in offspring under the influence of external additional stress factors such as two-day food deprivation and three-day hypokinesia.

It has been experimentally proved that in the descendants of gestational stressed mothers in the adult state, an "economical type" of energy consumption is formed, because with the same amount of food taken, the body weight and visceral fat tissue mass of them exceed the corresponding values in the descendants of intact mothers.

The growth rate of visceral fat and the nature of the histostructure of adipose tissue in intact offspring, which underwent food deprivation and hypokinesia stress, indicates the development of a hypertrophic type of obesity in these animals.

The results obtained give grounds to conclude that the severity of obesity and the type of reaction of mesenteric adipose tissue to repeated stresses in adulthood are associated with the conditions of development of an individual in the embryonic period: in the offspring of intact mothers, postnatal stresses induce the formation of a hypertrophic type of obesity; in the offspring of mothers stressed in the first trimester of pregnancy, such stresses are the cause of the hypertrophic-hyperplastic type of obesity; in the offspring of mothers stressed at the end of pregnancy and exposed to stress in adulthood, hypertrophic-hyperplastic obesity and is accompanied by inflammation of adipose tissue.

It was found that adipose tissue is a stress-sensitive formation. At the same time, the type of obesity and the cellular composition of adipose tissue depend both on the period of stress during antenatal development and on the influence of stress in adulthood.

When studying the morphometric features of mesenteric adipose tissue in experimental rats, the offspring was found: already in a state of physiological rest, quantitative and qualitative differences appear between the cellular composition of the mesenteric adipose tissue of intact (control) and experimental female offspring.

Additional stress in adulthood especially affected the cellular composition of adipose tissue and its characteristics in the offspring of gestational stressed females. There was a decrease in the number of medium adipocytes in group C1, a simultaneous increase in the number of large and very large adipocytes. This indicates the development of hypertrophic obesity in animals of this group. At the same time, the prevalence of the percentage of small and medium adipocytes in the C3 group after exposure to stress factors indicates active hyperplastic processes in the mesenteric adipose tissue of these rats.

The severity of obesity and the type of reaction of mesenteric adipose tissue to repeated stresses in adulthood are associated with the conditions for the development of an individual in the embryonic period. This leads to the formation of low levels of leptin at birth.

The offspring of mothers stressed in the first trimester of pregnancy are characterized by a low level of leptin at birth and a significant increase in postnatal life, and a hypertrophic type of obesity develops.

In descendants of gestational stressed mothers, the presence of leptin resistance was found, which has been manifested in absence of anorexogenic effects in hyperleptinemia. When loaded with exogenous leptin, the absence of a regulatory effect of leptin on the feeding behavior of offspring from stressed females was established, which indicates the formation of leptin resistance of central genesis in them.

Excessive ingestion of fructose into the body of descendants of gestational stressed mothers is shown to deepen gestationally conditioned leptin resistance that exchange and promotes development of obesity in such descendants in peripuberty age.

Studies with fructose and exogenous leptin loading in stressed offspring have shown a tendency to gain excess weight and an insensitivity to leptin at a young age. Excessive fructose intake into the body of the offspring of mothers stressed during

pregnancy enhances the signs of leptin resistance: a significant increase in body weight due to the accumulation of visceral adipose tissue and in the activation of nutrient consumption against the background of an increase in the level of leptin in blood plasma.

Fructose-induced leptin resistance caused the negative effect of fructose on the structural and functional processes in the liver and pancreas. The results obtained substantiate the need to develop measures to limit the use of fructose in food for children and adolescents, especially among those who belong to risk groups, namely, those born with low birth weight and low leptin levels.

Key words: gestational stress, offspring, adipose tissue, obesity, leptin, fructose.

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ ТА УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

А	– адипоцити
всЖТ	– вісцеральна жирова тканина
ГК	– глюкокортикоїди
ЖТ	– жирова тканина
КС	– кортикостерон
Л	– лептин
ЛР	– лептинорезистентність
МТ	– маса тіла
мЖТ	– мезентеріальна жирова тканина
надМТ	– надлишкова маса тіла
ОЖ	– ожиріння
Фр	– фруктоза
ЦНС	– центральна нервова система