

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ДАНУКАЛО МАКСИМ ВІКТОРОВИЧ

УДК : 616.12-008.331.1:[611.818.7+611.818.2/.3]-092-092.9

ДИСЕРТАЦІЯ

**ПАТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНОГО
СТАНУ СТРУКТУР ДОРСАЛЬНОГО КОМПЛЕКСУ N. VAGUS ТА
LOCUS COERULEUS ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ АРТЕРІАЛЬНІЙ
ГІПЕРТЕНЗІЇ РІЗНОГО ГЕНЕЗУ**

222 Медицина
22 Охорона здоров'я

Подається на здобуття ступеня доктора філософії.
Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело
_____ М.В. Данукало

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

Запоріжжя – 2020

АНОТАЦІЯ

Данукало М.В. Патогенетичні особливості морфо-функціонального стану структур дорсального комплексу n. vagus та locus coeruleus при експериментальній артеріальній гіпертензії різного генезу. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина» (22 – Охорона здоров'я). – Запорізький державний медичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2020.

Запорізький державний медичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2020.

За результатами комплексного дослідження патогенетичних особливостей морфо-функціонального стану структур дорсального комплексу n. vagus (ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра) та locus coeruleus (блакитної плями) стовбуру мозку при етіопатогенетично відмінних формах артеріальної гіпертензії було встановлено, що підвищення артеріального тиску незалежно від причини призводить до морфоструктурної перебудови цих регуляторних центрів, що проявлялося збільшенням кількості нейронів із дрібними ядрами, дизбалансом експресії ізоформ NOS, порушення співвідношення пресорного нейропептида ангіотензину II та депресорного – мозкового натрійуретичного пептида. Проте направленість та характер як морфоденситометричних, так і імуогістохімічних параметрів різнилися в залежності від етіопатогенезу артеріальної гіпертензії.

Проведене гістохімічне дослідження дозволило вперше у тварин з експериментальними моделями артеріальної гіпертензії різного генезу надати комплексну та порівняльну характеристику змін морфо- і денситометричних параметрів ядер нейронів блакитної плями (locus coeruleus), дорсального моторного ядра n. vagus та ядра солітарного тракта, описати характер розподілення популяцій нейронів за площею їх ядра в цих структурах. Такий

підхід дозволив встановити ряд особливостей вивчаємих параметрів при досліджуваній патології в залежності від етіопатогенетичних механізмів її виникнення та, опосередковане, визначити функціональну активність нейронів досліджуваних структур.

В результаті проведеного дослідження було встановлено, що у щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією у всіх досліджуваних структурах спостерігалися вірогідні зміни морфоденситометричних параметрів ядер нейронів. Проте їх характер залежав від фізіологічної ролі структури. Так у ядрах нейронів блакитної плями та дорсального моторного ядра встановлено вірогідно більший вміст та концентрація нуклеїнових кислот, по відношенню до контрольних тварин вміст був більшим на 21,6 % та 25,9 %, а концентрація на 33,3 % та 47,3 %, відповідно. На фоні цього каріометричний показник (площа ядер) нейронів блакитної плями залишався на рівні контролю, у дорсальному моторному ядрі він був вірогідно меншим на 17,3 %. В той же час у ядрах нейронів ядра солітарного тракту у щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією денситометричні показники не показали вірогідної різниці з контрольною групою, тоді як площа ядра вірогідно була меншою на 8,2 %.

Проведене морфоденситометричне дослідження каріометричних показників нейронів блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра у щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією показало етіозалежні особливості змін досліджуваних параметрів. Так відмічалися односпрямовані зміни вмісту нуклеїнових кислот в ядрах нейронів блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра стовбуру мозку - цей показник був вірогідно меншим на 14,2 %, 17,7 % та 15,4 %, відповідно за значення контрольної групи. На фоні цього показник площі ядра у нейронах ядра солітарного тракту залишався на рівні контролю, тоді як у нейронах блакитної плями та дорсального моторного ядра був вірогідно меншим на 12,6 % та 5,2 %, відповідно, за значення контролю. В той же час концентрація нуклеїнових кислот, порівняно з контролем, в ядрах

нейронів блакитної плями була без вірогідних змін, а в структурі ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра була меншою на 15,9 % та 13,1 %, відповідно.

При міжмодельному порівнянні показників морфоденситометричних параметрів ядер нейронів блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку щурів із патогенетично різними видами артеріальної гіпертензії було встановлено, що у тварин з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією по відношенню до тварин із есенціальною артеріальною гіпертензією у всіх трьох структурах, що досліджувалися, в ядрах нейронів спостерігалися вірогідно менші показники вмісту (у блакитній плямі – на 29,5 %, у ядрі солітарного тракта – на 13,6 %, у дорсальному моторному ядрі – на 32,8 %) та концентрації (у блакитній плямі – на 20,5 %, у ядрі солітарного тракта – на 19,6 %, у дорсальному моторному ядрі – на 41,1 %) нуклеїнових кислот. Тоді як показник площі ядер нейронів у тварин із ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією, порівняно із тваринами з есенціальною артеріальною гіпертензією, вірогідно був більшим лише в ядрі солітарного тракта (на 9,8 %) та в дорсальному моторному ядрі (на 14,6 %).

Результати проведеного аналізу розподілення нейронів блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра за площею ядра у експериментальних тварин дозволили встановити структурні характеристики нейрональної популяції у інтактних щурів та морфоструктурні зміни в них при артеріальній гіпертензії залежно від етіопатогенетичних особливостей сформованої патології. Так було встановлено, що у контрольних щурів в структурі блакитної плями нейрони із середніми ядрами становили 54,6 %, з дрібними та великими – відповідно 22,2 % та 23,1 %. В структурі ядра солітарного тракта відсоток нейронів із середньою площею ядра складав 54,4 %, з дрібними ядрами – 22,3 %, з великими – 23,3 %. В дорсальному моторному ядрі встановлено, що нейронів із середньою площею ядра було 53,7 %, тоді як з дрібною та великою – 25 % та 21,3 %, відповідно.

Порівняльний аналіз морфоденситометричних показників в групах щурів із сформованою артеріальною гіпертензією вперше показав, що у щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією в структурі блакитної плями переважають нейрони із дрібними ядрами (42,4 %), нейрони із середньою та великою площею ядра займали 30,6 % та 27 %, відповідно. Подібна тенденція спостерігалася у них і у структурі ядра солітарного тракта, де нейрони із малою площею ядра становили 53,2 %, із середньою площею – 30,9 %, а із великою – 15,9 %. В дорсальному моторному ядрі щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією найбільш представленими були нейрони також із дрібною площею ядра (62,5 %), нейрони із середньою та великою площею становили 26,3 % та 11,2 %, відповідно.

В дослідженні вперше встановлено, що розподіл популяції нейронів блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра за площею ядер нейронів у щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією залежить від функціональної ролі структури та патогенетичних особливостей сформованої патології. Визначено, що в блакитній плямі відсоток нейронів із дрібною та середньою площею ядер був майже однаковим: 40 % та 41,2 % відповідно, тоді як чисельність нейронів із великою площею ядра складало лише 18,8%. Нейрони ядра солітарного тракта із дрібною, середньою та великою площею ядер у тварин із ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією розподілились майже порівну: 32,7 %, 31,8 % та 35,5 %, відповідно. Тоді як в структурі дорсального моторного ядра відмічено найбільшу кількість нейронів із середньою площею ядра (57,3 %), в той час як кількість нейронів із дрібною та великою становила 30,1 % та 12,6 %, відповідно.

При міжмодельному порівнянні характеру розподілу популяцій нейронів блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра за площею їх ядер у тварин із експериментальними типами артеріальної гіпертензії встановлено залежність змін від етіопатогенезу досліджуваної патології та функціональної ролі структури у регуляції артеріального тиску.

Так у щурів із ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією по відношенню до щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією в структурі блакитної плями відмічалася більша кількість нейронів із середньою площею ядра (41,2 % проти 30,6 %) та менша з великою площею ядра (18,8 % проти 27 %). В свою чергу в структурі ядра солітарного тракта встановлено менше нейронів із дрібною площею ядра (32,7 % проти 53,2 %) та майже вдвічі більше нейронів із великими ядрами (35,5 % проти 15,9 %), тоді як кількість нейронів із середнім розміром ядер лишалася приблизно на однаковому рівні (31,8 % проти 30,9 %). В дорсальному моторному ядрі тварин з артеріальною гіпертензією розподіл нейронів за площею їх ядер залежав від етіопатогенетичного виду патології. Так, у щурів із ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією по відношенню до щурів з есенціальною моделлю відсоток нейронів із дрібною площею ядра був майже вдвічі меншим (30,1 % проти 62,5 %), тоді як кількість нейронів із середнім розміром ядра була майже вдвічі більшою (57,3 % проти 26,3 %), а кількість нейронів із великою площею ядра характеризувалася незначною різницею (12,6 % проти 11,2 %).

Наступним етапом роботи було проведення імуногістохімічного дослідження експресії ізоформ NOS в структурах блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку контрольних та гіпертензивних щурів. Результати проведеного дослідження та порівняльного аналізу показників експресії ізоформного профілю NOS в цих структурах стовбуру мозку показали патогенетичні особливості розподілу ферменту в них при артеріальних гіпертензіях різного генезу. Вперше в роботі було визначено, що в структурі блакитної плями артеріальна гіпертензія призводить до різних змін в експресії всіх 3-х ізоформ, що залежать від головної етіопатогенетичної ланки її формування.

Вперше імунофлюоресцентним методом визначено патогенетичні особливості ізоформного профілю ферменту NOS в структурі блакитної плями у щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією. Показано, що в них спостерігаються вірогідно більші вміст, концентрація та питома площа

імунореактивного матеріалу до nNOS, iNOS та eNOS в порівнянні із контрольними тваринами.

У щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією встановлені неоднозначні відмінності показників експресії ізоформ досліджуваного ферменту. Дослідження показало, що експресія nNOS в структурі блакитної плями у щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією в порівнянні з тваринами групи контролю характеризується вірогідно меншим вмістом імунореактивного матеріалу до ензиму та вірогідно більшою питомою площею на фоні не зміненої концентрації. Водночас із тим для експресії iNOS визначено вірогідно нижчі значення вмісту та концентрації імунореактивного матеріалу до iNOS, на фоні більших показників питомої площі. Стосовно параметрів експресії eNOS визначені вірогідно більші показники питомої площі та концентрації імунореактивного матеріалу одночасно з незміненими показниками його вмісту.

Проведений порівняльний аналіз показників експресії ізоформ NOS в структурі блакитної плями між групами з есенціальною та ендокринно-сольовою моделями артеріальної гіпертензії довів етіозалежні відмінності. Так, експресія всіх трьох ізоформ NOS у блакитній плямі стовбуру мозку у щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією по відношенню до щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією відрізнялася вірогідно меншими значеннями вмісту, концентрації та питомої площі імунореактивного матеріалу до відповідного ензиму.

В структурі ядра солітарного тракта були встановлені етіопатогенетичні особливості експресії ізоформ NOS у щурів із експериментальними артеріальними гіпертензіями. Так, у щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією визначалися вірогідно більший вміст, концентрація та питома площа до імунореактивного матеріалу всіх трьох ізоформ ензиму по відношенню до групи контролю.

В той же час у щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією при дослідженні експресії nNOS спостерігали вірогідно більші показники

вмісту та концентрації на тлі невірогідних змін питомої площі по відношенню до контрольних тварин. При цьому всі показники експресії iNOS та eNOS у щурів групи ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією показали вірогідно більші значення відносно контролю.

Міжмодельне порівняння ізоформного профілю NOS в структурі ядра солітарного тракта у щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією відносно значень щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією показало вірогідно менші концентрації імунореактивного матеріалу та питомої площі до всіх трьох ізоформ NOS. Одночасно з цим вміст імунореактивного матеріалу до nNOS у тварин з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією у порівнянні з щурами з есенціальною артеріальною гіпертензією був вірогідно більшим, проте цей же показник експресії iNOS та eNOS вірогідно не відрізнявся.

В дорсальному моторному ядрі показники експресії всіх ізоформ NOS у тварин з есенціальною артеріальною гіпертензією продемонстрували вірогідно більші значення, ніж у щурів контрольної групи. У щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією порівняно з контролем у досліджуваній структурі було встановлено вірогідно більші значення вмісту та концентрації до nNOS на тлі вірогідно незміненої питомої площі. При цьому експресія iNOS у щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією відрізнялася від значень контрольних щурів вірогідно більшими показниками вмісту, концентрації та питомої площі імунореактивного матеріалу до ензиму. При дослідженні експресії eNOS в структурі дорсального моторного ядра у щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією порівняно із контролем визначені вірогідно більші значення вмісту та концентрації при вірогідно незмінній площі імунореактивного матеріалу до цієї ізоформи ферменту.

Порівняння результатів дослідження показників експресії ізоформ NOS між групами із експериментальною артеріальною гіпертензією у тварин з ендокринно-сольовою моделлю відносно тварин з есенціальною показало, що

експресія nNOS характеризується вірогідно меншими питомою площею та концентрацією імунореактивного матеріалу і одночасно більшим рівнем його вмісту. В той же час вміст та концентрація iNOS у тварин з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією були вірогідно вище, але питома площа – вірогідно нижче, порівняно з тваринами з есенціальною артеріальною гіпертензією. Необхідно відмітити, що показники експресії eNOS в структурі дорсального моторного ядра щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією були вірогідно менші, ніж у щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією.

За результатами паралельно проведеного дослідження особливостей експресії нейропептидів BNP та ангіотензину II в структурах блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку при різних етіопатогенетичних формах артеріальної гіпертензії вперше було встановлено, що в структурі блакитної плями щурів із есенціальною артеріальною гіпертензією по відношенню до контрольних тварин експресія BNP характеризується лише вірогідно більшою питомою площею імунореактивного матеріалу до нейропептиду, тоді як у випадку ангіотензину II – вірогідно більшими були показники вмісту та концентрації імунореактивного матеріалу. Характер експресії BNP та ангіотензину II в тій же структурі щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією показав вірогідно більші показники вмісту та питомої площі імунореактивного матеріалу до нейропептиду. В свою чергу експресія ангіотензину II характеризується більшими показниками вмісту, концентрації та питомої площі імунореактивного матеріалу. Міжмодельне порівняння показників експресії BNP та ангіотензину II у блакитній плямі тварин із есенціальною та ендокринно-сольовою артеріальними гіпертензіями показало що в останніх, порівняно із щурами з есенціальною артеріальною гіпертензією спостерігається вірогідно більший вміст імунореактивного матеріалу до BNP. Тоді як експресія ангіотензину II у щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією в порівнянні із щурами з есенціальною

характеризується вірогідно нижчим показником концентрації імунореактивного матеріалу на фоні вірогідно більшої його питомої площі.

Імунофлюоресцентне дослідження показало в структурі ядра солітарного тракта щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією певні особливості експресії досліджуваних нейропептидів. Встановлено, що експресія BNP характеризується вірогідно більшим значенням концентрації але нижчим показником питомої площі. Тоді як експресія ангіотензину II характеризується вірогідно більшими вмістом, концентрацією та питомою площею імунореактивного матеріалу.

При ендокринно-сольовій артеріальній гіпертензії в ядрі солітарного тракта визначено, що відносно контролю експресія BNP характеризується вірогідно більшими показниками вмісту та питомої площі імунореактивного матеріалу. На відміну, від показників експресії ангіотензину II, де було відмічено вірогідно менші значення вмісту та концентрації нейропептиду на фоні вірогідно більшої питомої площі.

Проведений порівняльний аналіз показників експресії BNP та ангіотензину II у структурі ядра солітарного тракта тварин із есенціальною та ендокринно-сольовою артеріальними гіпертензіями показав, що у тварин із ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією відмічаються вірогідно більші показники вмісту та питомої площі імунореактивного матеріалу до BNP на фоні вірогідно меншої його концентрації. Параметри експресії ангіотензину II у структурі ядра солітарного тракта тварин з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією по відношенню до тварин з есенціальною демонструють вірогідно менші показники вмісту та концентрації імунореактивного до нейропептиду одночасно з більшими показниками його питомої площі.

В структурі дорсального моторного ядра щурів із есенціальною артеріальною гіпертензією по відношенню до групи контролю експресія BNP характеризується вірогідно більшою концентрацією та вірогідно меншою питомою площею імунореактивного матеріалу. Експресія ангіотензину II

характеризується вірогідно більшим вмістом, концентрацією та питомою площею імунореактивного матеріалу до нейропептиду.

Доведено, що у щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією порівняно із контролем, в дорсальному моторному ядрі визначаються вірогідно більші вміст, концентрація та питома площа імунореактивного матеріалу до обох нейропептидів – BNP та ангіотензину II.

Міжмодельне порівняння показників експресії BNP та ангіотензину II в структурі дорсального моторного ядра щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією із щурами з есенціальною моделлю, довело в перших вірогідно більшу питому площу імунореактивного матеріалу до BNP та вірогідно більші вміст та питому площу ІРМ до ангіотензину II але меншу концентрацію нейропептиду.

В дисертаційній роботі вперше на тваринних (щури) експериментальних моделях артеріальної гіпертензії (есенціальній та ендокринно-сольовій), що відповідають первинній артеріальній гіпертензії (гіпертонічна хвороба) та вторинній ендокринно-асоційованій артеріальній гіпертензії людини надана комплексна характеристика морфо-функціональних особливостей структур блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра.

Доповнено уявлення про морфоденситометричні та популяційні особливості нейронів блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра при есенціальній та ендокринно-сольовій моделях артеріальної гіпертензії щурів. Продемонстровані особливості вмісту нуклеїнових кислот в дрібних, середніх та великих ядрах нейронів вищезазначених структур гіпертензивних тварин. Вказано, що стійке підвищення артеріального тиску призводить до збільшення кількості нейронів із дрібними ядрами у досліджуваних структурах, що знижує показники середньої площі ядра в них при есенціальній та ендокринно-сольовій артеріальній гіпертензіях, але внаслідок структурно-популяційної перебудови та зміни кількості нейронів із середнім та великим ядром, середній показник вмісту нуклеїнових кислот може як збільшуватись так і зменшуватись.

Поглиблено сучасні знання про особливості експресії ізоформ синтази оксиду азоту в структурах блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів із етіопатогенетично відмінними формами артеріальної гіпертензії, а також вперше надана їх комплексна оцінка в цих структурах. Показано, що у щурів із артеріальною гіпертензією, порівняно із контролем змінюється експресія ізоформ синтази монооксиду азоту як в сторону збільшення (у всіх досліджуваних структурах щурів із есенціальною артеріальною гіпертензією, та в структурах ядра солітарного тракта і дорсального моторного ядра щурів із ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією) так і в сторону зменшення (в структурі блакитної плями щурів із ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією). Встановлено формування дисбалансу ізоформ синтази монооксиду азоту при сформованій артеріальній гіпертензії в структурі ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра

Розширено уявлення про експресію депресорного (BNP) та пресорного (ангіотензин II) нейропептидів у вищезазначених структурах а також про зміни співвідношення показників їх експресії у структурах блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку при артеріальній гіпертензії різного генезу. Показано, що найбільш виражені зміни експресії у зазначених структурах гіпертензивних тварин відносно контролю притаманні ангіотензину II ніж BNP, проте направленість експресії, їх характер та зміна співвідношення нейропептидів у гіпертензивних тварин є етіозалежними.

Робота є науковим дослідженням результати якого розширюють наукові уявлення про патогенетичні особливості морфо-функціонального стану структур дорсального комплексу n. vagus та locus coeruleus при експериментальній артеріальній гіпертензії різного генезу. Отримані результати характеризують морфоденситометричні, структурно-популяційні зміни їх нейронів, описують особливості експресії ізоформного профілю синтази монооксиду азоту, пресорного (BNP) та депресорного (ангіотензин II)

нейропептидів на фоні стійкого підвищення артеріального тиску. Крім того на фундаментальному рівні встановлені відмінності морфо-функціонального стану структур дорсального комплексу n. vagus та locus coeruleus від етіопатогенезу артеріальної гіпертензії, що демонструє патогенетичні особливості стану регуляторних систем при різних за походженням формах артеріальної гіпертензії. Так середній вміст нуклеїнових кислот в ядрах нейронів всіх досліджуваних структур менший, проте середній показник площі нейронів в ядрі солітарного тракта та дорсальному моторному ядрі більший у щурів із ендокрино-сольовою моделлю артеріальної гіпертензії порівняно із щурами з есенціальною артеріальною гіпертензією, що обумовлено особливостями морфоструктурної перебудови нейронів цих регуляторних центрів у тварин із вторинною артеріальною гіпертензією. Разом із тим показано, що ізоформний профіль синтази монооксиду азоту характеризується меншими показниками експресії в структурі блакитної плями, більшим вмістом nNOS та eNOS в структурі ядра слітарного тракта та більшим вмістом nNOS та eNOS в структурі дорсального моторного ядра щурів із ендокрино-сольовою моделлю артеріальної гіпертензії порівняно із щурами з есенціальною моделлю. Порівняльна оцінка експресії BNP та ангіотензину II у гіпертензивних тварин показала різнонаправлені зміни їх експресії (більші показники експресії BNP та менші – ангіотензину II) у структурах блакитної плями та ядра солітарного тракта та збільшення експресії як BNP так і ангіотензину II в структурі дорсального моторного ядра щурів із ендокрино-сольовою моделлю артеріальної гіпертензії порівняно із щурами з есенціальною артеріальною гіпертензією

Нові теоретичні положення дисертації використовуються в навчальному процесі на кафедрі загальної патофізіології ДВНЗ «Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», кафедрі патофізіології Української медичної стоматологічної академії МОЗ України, кафедрі патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету МОЗ України, кафедрі патологічної фізіології ДЗ

«Дніпропетровська медична академія МОЗ України», кафедри патологічної фізіології імені Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету МОЗ України, кафедри загальної та клінічної патофізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету МОЗ України.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 14 наукових праць: 5 статей у наукових фахових виданнях України, серед яких 3 статті у журналах, які індексуються міжнародними наукометричними базами; 1 стаття у зарубіжному журналі; 8 тез в матеріалах міжнародних і Всеукраїнських науково-практичних конференцій.

Ключові слова: експериментальна артеріальна гіпертензія, блакитна пляма, ядро солітарного тракту, дорсальне моторне ядро, морфоденситометричні характеристики, ізоформи синтази оксиду азоту, нейропептиди, нейрони, щури.

SUMMARY

Danukalo M. V. Pathogenetic features of the morpho-functional state of the dorsal vagal complex and locus coeruleus structures in experimental arterial hypertension of different genesis. - Qualifying scientific work on the rights of manuscript.

Thesis for the degree of a Doctor of Philosophy: Specialty 222 – Medicine). – Zaporizhzhia State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2020.

Zaporizhzhia State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2020.

Based on the complex study results on the pathogenetic features of the morpho-functional state of the dorsal vagal complex (the nucleus of the solitary tract

and the dorsal motor nucleus) and the locus coeruleus (the blue spot) of the brainstem in etiopathogenetically distinct forms of hypertension, it has been first found that blood pressure elevation, regardless of the cause, results in morphological remodeling of these regulatory centers manifested by increased number of neurons with small nuclei, imbalance between NOS isoform and pressor and depressor neuropeptide expression. However, the direction and character of morpho-densitometric and immunohistochemical parameters were different depending on the etiopathogenesis of hypertension.

A histochemical study has first allowed a detailed characteristics of changes in morpho- and densitometric parameters of the blue spot (the locus coeruleus) neuronal nuclei, the dorsal motor nucleus of the vagus and the nuclei of the solitary tract, to determine the pattern of the neuronal population distribution by the nuclear area in these structures in animals with experimental arterial hypertension of different genesis. This approach has enabled to ascertain a number of specific features characterizing the examined parameters in the studied pathology depending on the etiopathogenetic mechanisms of its occurrence and indirectly determine the functional activity of neurons in the studied structures.

As a result of the study, significant changes in the morpho-densitometric parameters of neuronal nuclei have been found in rats with essential hypertension in all the examined structures. However, the physiological role of the structure influenced their nature. Thus, in the nuclei of the blue spot neurons and the dorsal motor nucleus, a significantly higher content and concentration of nucleic acids were found compared to the control animals by 21.6 % and 25.9 %, by 33.3 % and 47.3 %, respectively. In the midst of these, the kariometric index (nuclear area) of blue spot neurons remained at the level of control; in the dorsal motor nucleus it was significantly lower by 17.3 %. Meanwhile, in the neuronal nuclei of the nucleus of the solitary tract in the rats with essential arterial hypertension, densitometric parameters did not show a significant difference compared to the control group, while the nuclear area was significantly 8.2 % smaller.

A morpho-densitometric study of kariometric parameters of the blue spot neurons, the nucleus of the solitary tract and the dorsal motor nucleus in the rats with endocrine-salt hypertension has shown etiology-associated features of changes in the studied parameters. Thus, unidirectional changes in the nucleic acid content in the neuronal nuclei in the blue spot, the nucleus of the solitary tract and the dorsal motor nucleus of the brainstem were observed as this indicator was significantly lower (by 14.2 %, 17.7 % and 15.4 %, respectively) than that in the control group. Alongside this, the neuronal nuclear area in the nucleus of the solitary tract remained at the control level, while in the neurons of the blue spot and the dorsal motor nucleus, it was significantly lower by 12.6 % and 5.2 %, respectively, than the control value. Concurrently, the nucleic acids concentration in the neuronal nuclei of the blue spot was not significantly changed compared to the control, but in the nucleus of the solitary tract and the dorsal motor nucleus structures, it was significantly lower by 15.9 % and 13.1 %, respectively.

An intermodel comparison between morpho-densitometric parameters of neuronal nuclei of the blue spot, the nucleus of the solitary tract and the dorsal motor nucleus of the brainstem in the rats with pathogenetically distinct types of hypertension has found significantly lower indicators of content (in the blue spot - by 29.5 %, in the nucleus of the solitary tract - by 13.6 %, in the dorsal motor nucleus - by 32.8 %) and the nucleic acids concentration in the neuronal nuclei (in the blue spot - by 20.5 %, in the nucleus of the solitary tract - by 19.6 %, in the dorsal motor nucleus - by 41.1 %) in the animals with endocrine-salt hypertension compared to the animals with essential hypertension. But for all that, the area of neuronal nuclei was significantly higher only in the nucleus of the solitary tract (by 9.8 %) and in the dorsal motor nucleus (by 14.6 %).

The results of the distribution analysis based on the nuclear area of the neurons in the blue spot, the solitary tract and the dorsal motor nucleus in the experimental animals have revealed the structural characteristics of the neuronal population in the intact rats and etiopathogenetically-specific morpho-structural changes in hypertension. It has been first found that in the control rats, the medium-sized

neuronal nuclei in the blue spot structure amounted to 54.6 %, small- and large-sized - 22.2 % and 23.1 %, respectively. In the nucleus of the solitary tract structure, the percentage of neurons with medium nuclear area accounted for 54.4 %, with small nuclei - 22.3 %, with large - 23.3 %. In the dorsal motor nucleus structure, the percentage of neurons with medium nuclear area was 53.7 %, while with small and large - 25 % and 21.3 %, respectively.

A comparative analysis of morpho-densitometric parameters between the groups of rats with hypertension has first shown the predominance of neurons with small nuclei (42.4 %) in the rats with the model of essential hypertension in the blue spot structure, while neurons with medium and large nuclei constituted 30.6 % and 27 %, respectively. In the nucleus of the solitary tract structure, neurons with small nuclear area accounted for 53.2 %, with medium - 30.9 %, and large - 15.9 %. The dorsal motor nucleus structure also was mostly represented by neurons with small nuclear area (62.5 %), neurons with medium and large nucleus amounted to 26.3 % and 11.2 %, respectively.

The study has first found that the neuronal population distribution of the blue spot, the nucleus of the solitary tract and the dorsal motor nucleus by nuclear area in rats with endocrine-salt hypertension depends on the functional role of the structure and pathogenetic features of the pathology. It has been determined that in the blue spot structure, the percentage of neurons with small and medium nuclei was almost the same: 40 % and 41.2 %, respectively, while the neurons with large nuclei amounted to only 18.8 %. The neurons of the nucleus of the solitary tract with small, medium and large nuclear area were almost equally represented: 32.7%, 31.8 % and 35.5 %, respectively. In the dorsal motor nucleus structure, the largest number of neurons with medium-sized nucleus (57.3 %) was observed, while the number of neurons with small- and large-sized nucleus was 30.1 % and 12.6 %, respectively.

An intermodel comparison between the distributional pattern of the neuronal populations by nuclear area in the blue spot, the nucleus of the solitary tract and the dorsal motor nucleus in the animals with experimental types of hypertension has shown a relationship between etiopathogenesis of the studied disease and the

functional role of the structure in blood pressure regulation. Thus, in the rats with endocrine-salt hypertension, in contrast to the rats with essential arterial hypertension, a greater number of neurons with medium-sized nucleus (41.2 % vs. 30.6 %) and a lower number with large-sized nucleus (18.8% vs. 27 %) was found in the blue spot structure. In turn, there was smaller number of neurons with small-sized nucleus (32.7 % vs. 53.2 %) and almost twice as many neurons with large nucleus (35.5 % vs. 15.9 %) in the nucleus of the solitary tract structure, while the number of neurons with medium-sized nucleus remained at about the same level (31.8 % vs. 30.9 %). In the dorsal motor nucleus structure, the percentage of neurons with small-sized nucleus was almost half as large (30.1 % vs. 62.5 %), while the number of neurons with medium-sized nucleus was almost twice as much (57.3 % vs. 26.3 %), but the number of neurons with large-sized nucleus was characterized by a minor difference (12.6 % vs. 11.2 %).

For the first time, the study results and a comparative analysis of the expression profile of NOS isoforms have revealed that arterial hypertension causes various changes in the expression of all three isoforms in the blue spot structure depending on its main etiopatogenetic link.

For the first time, the pathogenetic features of the NOS enzyme isoform profile in the blue spot structure in the rats with essential arterial hypertension have been determined by an immunofluorescence method since a significantly higher content, concentration and specific area of the immunoreactive material to nNOS, iNOS and eNOS have been shown as compared to the control animals.

In rats with endocrine-salt hypertension, mixed differences in the studied enzyme isoform expression were detected. The study has found that nNOS expression in the blue spot structure, unlike the control, was characterized by a significantly lower content of the immunoreactive material to the enzyme and a significantly higher specific area alongside an unchanged concentration. Meanwhile, the iNOS expression has been found to have significantly lower content and concentration values with higher specific area indicators. Regarding the eNOS expression parameters in the blue spot structure, significantly higher indicators of

specific area and concentration have been determined with unchanged indicators of its content.

A comparative analysis of the NOS isoform expression in the blue spot structure between groups with essential and endocrine-salt hypertension has proved etiology-associated differences. In particular, the expression of all three NOS isoforms in the blue spot of the brainstem in the rats with endocrine-salt hypertension, unlike the rats with essential hypertension, was significantly lower in terms of content, concentration and specific area of the immunoreactive material to the corresponding enzyme.

In the nucleus of the solitary tract structure in the rats with essential arterial hypertension, the indicators of content, concentration and specific area of all three enzyme isoform immunoreactive material were significantly higher than those in the control group.

At the same time, significantly higher nNOS content and concentration with insignificant changes in the specific area were observed in the rats with endocrine-salt hypertension as compared to the control animals. Moreover, all the indicators of iNOS and eNOS expression showed significantly higher values than those in the control.

An intermodel comparison of the NOS isoform profile in the nucleus of the solitary tract structure between the rats with endocrine-salt hypertension and the rats with essential hypertension has shown significantly lower values of immunoreactive material concentration and specific area for all three NOS isoforms; the content of nNOS immunoreactive material was significantly higher, while its value in terms of iNOS and eNOS expression did not differ significantly.

In the dorsal motor nucleus structure, the expression of all NOS isoforms in the animals with essential arterial hypertension was significantly higher than in the control rats. In the studied structure of the rats with endocrine-salt hypertension, in contrast to the control, significantly higher values of nNOS content and concentration were found without significant changes in the specific area; the iNOS expression differs from that in the control rats by significantly higher content,

concentration and specific area of the enzyme immunoreactive material; eNOS expression was characterized by significantly higher values of content and concentration without significant changes in the immunoreactive material area.

A comparative analysis of the study results on the NOS isoform expression between the animals with endocrine-salt hypertension and essential hypertension has shown that nNOS expression was characterized by significantly lower specific area and concentration of the immunoreactive material while its content was higher in the former. Both the iNOS content and concentration were significantly higher, but the specific area was significantly lower. The eNOS expression was significantly decreased. The concurrent study results on the features of the neuropeptides BNP and angiotensin II expression in the blue spot, the nucleus of the solitary tract and the dorsal motor nucleus of the brainstem structure in different etiopathogenetic forms of hypertension have first revealed that in the blue spot, the BNP expression was characterized only by a significantly higher specific area of the immunoreactive material to the neuropeptide, whereas in terms of angiotensin II, the content and concentration were significantly higher in the rats with essential hypertension as compared to the control.

The pattern of both BNP and angiotensin II expression in the same structure of the rats with endocrine-salt hypertension has reflected significantly higher indicators of the immunoreactive material content and specific area. The angiotensin II expression, in its turn, has shown greater values of the immunoreactive material content, concentration and specific area. An intermodel comparison of the BNP and angiotensin II expression in the blue spot structure between the animals with essential and endocrine-salt hypertension has shown a significantly higher content of BNP immunoreactive material in the latter, while the angiotensin II expression was characterized by significantly lower concentration and higher specific area values.

An immunofluorescence study of the nucleus of the solitary tract structure in the rats with essential hypertension, in contrast to the control rats, has demonstrated certain expression pattern of the studied neuropeptides. The BNP expression has

been found to have significantly higher concentration values but lower specific area, whereas the angiotensin II expression - significantly greater content, concentration and specific area of the immunoreactive material.

The BNP expression was characterized by significantly higher values of the immunoreactive material content and specific area in the nucleus of the solitary tract structure in endocrine-salt arterial hypertension as compared to the control, unlike the angiotensin II expression, as its content and concentration values were significantly lower with a significantly higher specific area.

A comparative analysis of the BNP and angiotensin II expression in the nucleus of the solitary tract structure in the animals with essential and endocrine-salt hypertension has identified a significantly higher content and specific area values of BNP immunoreactive material with a significantly lower concentration in the former. Angiotensin II expression parameters demonstrated significantly lower content and concentration of the neuropeptide immunoreactivity with higher indicators of its specific area.

In the dorsal motor nucleus structure in the rats with essential arterial hypertension, in contrast to the control group, the BNP expression was characterized by a significantly higher concentration and a significantly smaller specific area of the immunoreactive material, while the angiotensin II expression was significantly higher in terms of content, concentration and specific area.

It has been proved that in rats with endocrine-salt hypertension, unlike the control, the content, concentration and specific area of the immunoreactive material to both BNP and angiotensin II neuropeptides were significantly higher in the dorsal motor nucleus structure.

An intermodel comparison of the BNP and angiotensin II expression in the dorsal motor nucleus structure between the rats with endocrine-salt hypertension and essential hypertension has proved that the former had a significantly higher value of the BNP immunoreactive material specific area and a significantly higher values of the angiotensin II immunoreactive material content and specific area, but lower concentration.

The morphological features of the blue spot, the nucleus of the solitary tract and the dorsal motor nucleus structures have been first comprehensively characterized using experimental animal (rat) models of hypertension (essential and endocrine-salt hypertension) corresponding to primary hypertension (essential hypertension) and secondary (endocrine-associated hypertension) in humans; the typical shared changes and etiopathogenetic distinctions between the two models have been identified.

The idea of morpho-densitometric and population features of the blue spot neurons, the nucleus of the solitary tract and the dorsal motor nucleus in essential and endocrine-salt models of arterial hypertension in rats has been updated. The specificities of the nucleic acid content in the small, medium and large neuronal nuclei of the above-mentioned structures in hypertensive animals have been demonstrated. It has been found that persistently elevated blood pressure results in an increase in the number of neurons with small nuclei in the studied structures that reduces the mean nuclear area, giving rise to structural-population remodeling and changes in the number of neurons with medium- and large-sized nucleus.

The modern insight into the expression profiles of nitric oxide synthase isoforms in the blue spot, the solitary tract nucleus and the dorsal motor nucleus of the brainstem structures in rats with etiopathogenetically distinct forms of arterial hypertension has been increased, and all isoforms have been first comprehensively assessed in these structures. In the rats with arterial hypertension, in contrast to the controls, both upward changes in the nitric oxide synthase isoform expression (in all the studied structures of the rats with essential arterial hypertension, and in the solitary tract nucleus and the dorsal motor nucleus structures in endocrine-salt hypertension) and downward (in the blue spot structure of the rats with endocrine-salt hypertension) have been shown. An imbalance of nitric oxide synthase isoform expression has been detected in the solitary tract nucleus and the dorsal motor nucleus structure in hypertension.

The concept of the depressor (BNP) and pressor (angiotensin II) neuropeptide pattern of expression in the studied structures as well as its changing balance in the

blue spot, the nucleus of the solitary tract and the dorsal motor nucleus of the brainstem structures in hypertension of distinctive origin in rats has been broadened. The greatest changes in angiotensin II expression rather than BNP, as well as etiology-associated expression trend, character and changing balance between pressor and depressor neuropeptides in hypertensive animals have been shown.

The work is the fundamental study. Its results expand scientific ideas about the pathogenetic features of the morpho-functional state of the dorsal vagal complex and the locus coeruleus structures in experimental arterial hypertension of heterogenous origin. The obtained results characterize morpho-densitometric and structural-population neuronal changes, describe the expression pattern of the nitric oxide synthase isoform profile, angiotensin II and BNP content in steady elevated blood pressure. The etiology-associated differences in morpho-functional state of the dorsal vagal complex and the locus coeruleus structures have been revealed at the fundamental level demonstrating the pathogenetic specifics of the regulatory system state in distinct forms of arterial hypertension.

New theoretical foundations of the thesis are used in the educational process at the Department of General Pathophysiology of I. Horbachevsky, Ternopil National Medical University; the Department of Pathophysiology of the Ukrainian Medical Stomatological Academy, Ministry of Health of Ukraine; the Department of Pathophysiology of Zaporizhzhia State Medical University, Ministry of Health of Ukraine and in the Training Medical and Laboratory Center of Zaporizhzhia State Medical University; the Department of Pathological Physiology of Dnipropetrovsk Medical Academy, Ministry of Health of Ukraine; Department of Physiological Pathology of Kharkiv National Medical University named after D. O. Alpern, Ministry of Health of Ukraine; Department of General and Clinical Pathophysiology named after V. V. Pydvysotsky of Odessa National Medical University, Ministry of Health of Ukraine;.

Publications. Based on the thesis materials, 14 scientific works were published: 5 articles in the Scientific Professional Publications of Ukraine, including 3 articles in journals indexed by International Scientometric databases (Web of

Science); 1 article in a foreign journal; 8 abstracts in the materials of International and All-Ukrainian scientific-practical conferences.

Key words: experimental arterial hypertension, blue spot, solitary tract nucleus, dorsal motor nucleus , morpho-densitometric characteristics of nitric oxide synthase isoform, neuropeptides, neurons , rats.

Наукові праці, опубліковані за темою дисертації:

1. Ганчева О.В., Колесник Ю.М., Данукало М.В. Лінійні відмінності експресії нейрональної NO-синтази у структурі блакитної плями стовбура мозку щурів. *Запорозький медичний журнал*. 2016. № 2(95). С. 89–92. DOI: 10.14739/2310-1210.2016.2.69325. (Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічне дослідження та статистичну обробку результатів).

2. Features of nitric oxide synthase isoforms expression in rat locus coeruleus neurons in experimental hypertension of various origins / O.V. Gancheva, M.V. Danukalo, O.V. Melnikova et al. *Вісник Української медичної стоматологічної академії "Актуальні проблеми сучасної медицини"*. 2017. Т. 17, № 4 (60). Ч.2. С. 33–36. (Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічне дослідження та статистичну обробку результатів).

3. Hancheva O. V., Danukalo M. V., Melnikova O. V. Morphometric and densitometric characteristics of the brainstem locus coeruleus neurons nuclei in rats with experimental arterial hypertension. *Патологія*. 2019. Т. 16, № 1(45). С. 4–8. DOI: 10.14739/2310-1237.2019.1.166145. (Дисертант виконав набір матеріалу, морфоденситометричне дослідження та статистичну обробку результатів).

4. Danukalo M.V., Gancheva O.V. Kadzharyan Y.V. Comparative characteristic of the brain natriuretic peptide and angiotensin II expression index in the brain stem locus coeruleus structure of rats with arterial hypertension of various origins *Патологія* 2019. Т. 16, № 2(46). С. 182–187. DOI: 10.14739/2310-1237.2019.2.177117. (Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічне дослідження та статистичну обробку результатів).

5. Danukalo M. V. Melnikova O. V. Arterial hypertension as a predictor of morpho- densitometric changes development in rats` solitary-vagal complex. *Journal of Education, Health and Sport*. 2019. Vol. 9(10). P. 132–142. DOI: 10.5281/zenodo.3497436. (Дисертант виконав набір матеріалу,

морфоденситометричне дослідження та статистичну обробку результатів).

6. Danukalo M. V., Hancheva O. V. Isoform profile of NOS enzyme in structure of rats' solitary-vagal complex in arterial hypertension of various origin. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т. 13, №1(32). С. 78–83. DOI: 10.14739/2409-2932.2020.1.198141. *(Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічне дослідження та статистичну обробку результатів).*

7. Данукало М.В., Мироненко. С.Є., Ганчева О.В. Порівняльна характеристика експресії нейрональної NO-синтази у нейронах блакитної плями стовбуру мозку щурів-самців лінії Wistar та SHR *Здобутки теоретичної медицини – в практику охорони здоров'я-2016: тези доповідей всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів (м. Запоріжжя, 24-25 березня 2016 р.)* Запоріжжя, 2016. С. 24–26. *(Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічне дослідження та статистичну обробку результатів).*

8. Danukalo M.V. Gancheva O.V. Inducible nitric oxide synthase in neurons of locus coeruleus: normal expression and under experimental arterial hypertension. *LVI научная конференция студентов и молодых учёных с международным участием, посвященной 25-летию независимости Республики Казахстан: материалы конференции LVI научной конференция студентов и молодых учёных с международным участием (м. Актобе, 27 апреля 2016 г)* Актобе, 2016 С. 50–51. *(Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічне дослідження та статистичну обробку результатів).*

9. Данукало М.В. Ганчева О.В. Характеристика экспрессии мозгового натрийуретического пептида в голубом пятне ствола мозга крыс со спонтанной артериальной гипертензией. *Сучасні аспекти медицини і фармації-2016: тези доповідей всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю (м. Запоріжжя, 12-13 травня 2016 р.)*. Запоріжжя, 2016. С. 17. *(Дисертант виконав*

набір матеріалу, імуногістохімічне дослідження та статистичну обробку результатів).

10. Данукало М.В. Ганчева О.В. Особенности экспрессии нейрональной NO-синтазы в нейронах голубого пятна ствола мозга крыс с экспериментальной артериальной гипертензией. *Інновації в медицині: тези доповідей 85-ої науково-практичної конференції студентів і молодих вчених із міжнародною участю* (м. Івано-Франківськ, 24-25 березня 2016 р.) Івано-Франківськ, 2016. С. 226. *(Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічне дослідження та статистичну обробку результатів).*

11. Данукало М.В. Ганчева О.В. Морфо-функциональные характеристики нейронов дорсального комплекса N. Vagus при разных видах артериальной гипертензии. *Сучасні аспекти медицини і фармації-2017: тези доповідей всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю* (м. Запоріжжя, 11-12 травня 2017 р). Запоріжжя, 2017. С. 18. *(Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічне та морфоденситометричне дослідження та статистичну обробку результатів).*

12. Ганчева О.В. Данукало М.В. Ангиотензин II в Locus coeruleus: характеристика показателей экспрессии у крыс при артериальной гипертензии различного генеза *Актуальні питання сучасної медицини і фармації: матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів* (м. Запоріжжя, 18-25 квітня 2018 р). Запоріжжя, 2018. С. 9–10. *(Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічне дослідження та статистичну обробку результатів).*

13. Shiryayeva A., Danukalo M. Pathogenic features of angiotensin II and BNP content in the nucleus of the solitary tract with etiological different arterial hypertension. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації 2019: тези доповідей науково-практичної конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів* (м. Запоріжжя, 13-17 травня 2019 р). Запоріжжя, 2019. С.

29. *(Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічне дослідження та статистичну обробку результатів).*

14. Ширяєва А. О., Данукало М. В. Патогенетичні особливості вмісту ангіотензинуII та BNP в ядрі солітарного тракту при артеріальній гіпертензії різної етіології. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації: матеріали збірника тез I науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (м. Харків, 15 травня 2019 р). Харків, 2019. С. 204–205. (Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічне дослідження та статистичну обробку результатів).*

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, символів, скорочень і термінів	33
Вступ	36
Розділ 1 Сучасні уявлення про роль блакитної плями, ядра солітарного тракта і дорсального моторного ядра n. vagus в регуляції артеріального тиску та особливості їх морфофункціонального стану при артеріальній гіпертензії (огляд літератури)	44
1.1 Сучасні уявлення про будову та функції блакитної плями, її участь в регуляції артеріального тиску	44
1.1.1 Структура блакитної плями	44
1.1.2 Роль блакитної плями в нормі та при патології, її участь у регуляції артеріального тиску	45
1.1.3 Пептидергічна система блакитної плями	50
1.1.4 Порухення морфо-функціонального стану та особливості пептидергічної системи блакитної плями при артеріальній гіпертензії	51
1.2 Сучасні уявлення про будову та функції ядра солітарного тракта, його участь в регуляції артеріального тиску	55
1.2.1 Структура ядра солітарного тракта щурів	55
1.2.2 Роль ядра солітарного тракта в нормі та при патології та його участь в регуляції артеріального тиску	59
1.2.3 Пептидергічна система ядра солітарного тракта	61
1.2.4 Порухення морфо-функціонального стану та особливості пептидергічної системи ядра солітарного тракта при артеріальній гіпертензії	62
1.3 Сучасні уявлення про будову та функції дорсального моторного ядра n. vagus, його участь в регуляції артеріального тиску	65
1.3.1 Структура дорсального моторного ядра n. vagus щурів	65
1.3.2 Роль дорсального моторного ядра n. vagus в нормі та патології та його участь в регуляції артеріального тиску	66

1.3.3 Пептидергічна система дорсального моторного ядра n. vagus	67
1.3.4 Порушення морфо-функціонального стану та особливості пептидергічної системи дорсального моторного ядра n. vagus при артеріальній гіпертензії	69
Розділ 2 Матеріали та методи дослідження	71
2.1 Матеріал дослідження	71
2.1.1 Експериментальні групи щурів	72
2.2 Методи дослідження	75
2.2.1 Моделювання артеріальних гіпертензій	76
2.2.1.1 Модель есенціальної артеріальної гіпертензії	76
2.2.1.2 Модель вторинної ендокринно асоційованої артеріальної гіпертензії (ендокринно-сольова)	78
2.2.2 Методика вимірювання артеріального тиску	79
2.2.3 Методика морфоденситометричних досліджень ядер нейронів блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра	81
2.2.3.1 Аналіз розподілу нейронів блакитної плями, дорсального моторного ядра, ядра солітарного тракта у щурів експериментальних груп за площею їх ядер	86
2.2.4 Методика імуногістохімічного дослідження ізоформного профілю ферменту NOS у досліджуваних структурах довгастого мозку	87
2.2.5 Методика детекції ангіотензину II та мозкового натрійуретичного пептиду в досліджуваних структурах довгастого мозку	88
2.3 Методи статистичного аналізу	92
Розділ 3 Морфоденситометричні характеристики нейронів блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра експериментальних щурів при артеріальній гіпертензії різного генезу	94
3.1 Морфоденситометричні показники нейронів блакитної плями стовбуру мозку щурів при артеріальній гіпертензії різного генезу	94

3.2 Морфоденситометричні показники нейронів ядра солітарного тракту стовбуру мозку щурів при артеріальній гіпертензії різного генезу	99
3.3 Морфоденситометричні показники нейронів дорсального моторного ядра n. vagus у щурів при артеріальній гіпертензії різного генезу	102
3.4 Характер розподілення популяцій нейронів блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра за площею ядра у щурів при артеріальній гіпертензії різного генезу	105
Розділ 4 Особливості експресії ізоформ NOS в структурах блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра при артеріальній гіпертензії у щурів	112
4.1 Показники експресії ізоформ NOS в структурі блакитної плями стовбуру мозку щурів з АГ різного генезу	113
4.2 Показники експресії ізоформ NOS в структурі ядра солітарного тракту щурів з АГ різного генезу	122
4.3. Показники експресії ізоформ NOS в структурі дорсального моторного ядра щурів з АГ різного генезу	131
Розділ 5 Особливості експресії регуляторних нейропептидів (BNP та ангіотензину II) в структурах блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра стовбуру мозку щурів з експериментальною артеріальною гіпертензією	144
5.1 Показники експресії BNP в структурі блакитної плями стовбуру мозку щурів з АГ різного генезу	145
5.2 Показники експресії ангіотензину II в структурі блакитної плями стовбуру мозку щурів з АГ різного генезу	148
5.3 Показники експресії BNP в структурі ядра солітарного тракту стовбуру мозку щурів з АГ різного генезу	151
5.4 Показники експресії ангіотензину II в структурі ядра солітарного тракту стовбуру мозку щурів з АГ різного генезу	155

5.5 Показники експресії BNP в структурі дорсального моторного ядра стовбуру мозку щурів з АГ різного генезу	159
5.6 Показники експресії ангіотензину II в структурі дорсального моторного ядра стовбуру мозку щурів з АГ різного генезу	162
Розділ 6 Аналіз та узагальнення результатів дослідження	168
Висновки	196
Список використаних джерел	200
Додаток А Акти впровадження	225
Додаток Б Наукові праці, опубліковані за темою дисертації	232
Додаток В Відомості про апробацію результатів дисертації	236

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АГ – артеріальна гіпертензія

АКТГ - адренокортикотропний гормон

α -МСГ - меланоцитстимулюючий гормон

АСЛ – аргінілсукцинатліаза

АТ – артеріальний тиск

Ат II – ангіотензин II

БП – блакитна пляма

ВНС – вегетативна нервова система

ГАМК – гамма-аміномасляна кислота

ДКВ – дорсальний комплекс n vagus

ДМЯ – дорсальне моторне ядро

ЕАГ - есенціальна артеріальна гіпертензія

ЕСАГ ендокринно-сольова артеріальна гіпертензія

ЗПОС - загальний периферичний опір судин

ІМЛ – інтермедіолатеральна група клітин спинного мозку

ІРМ – імунореактивний матеріал

КВЛО – каудальна вентролатеральна область

НА – норадреналін

НАДФН – нікотинамідаденіндинуклеотид фосфат

НК – нуклеїнові кислоти

МКБ – міжнародна класифікація хвороб

ПВЯ – паравентрикулярне ядро гіпоталамусу

ПО – постремна область

РААС - ренін-ангіотензин-альдостеронова система

РВЛД – ростральна вентролатеральна ділянка стовбуру мозку

СІГ - стрес-індукована гіпертонія

СНС - симпатичної нервової системи

ТГ – тирозингідроксилаза

ФНО- α – фактор некрозу пухлини α

цАМФ – циклічний аденозинмонофосфат

цГМФ – циклічний гуанозинмонофосфат

ЯСТ – ядро солітарного тракта

Ach – ацетилхолін

AT-R1 – ангіотензиновий рецептор першого типу

AT-R2 – ангіотензиновий рецептор другого типу

A9, A10 – області головного мозку

BHR - borderline hypertensive rat

BNP – brain natriuretic peptide (мозговий натрійуретичний пептид)

CO – монооксид вуглецю

CU – n. cuneatus

CUL, n. cuneatus lateralis

DOCA – дезоксикортикостерону ацетат

DS - Dahl salt-sensitive rat

DVN – dorsal vagal nucleus (дорсальне моторне ядро)

eNOS – endothelial nitric oxide synthase (ендотеліальна синтаза оксиду азоту)

EW – ядро Едінгера-Вестфалія

G – n. gracillis

GSK-3 β - глікогенсинтаз-кіназа-3 β

HIF-1 α – hypoxia inducible factor 1 α (гіпоксією індукцйбельний фактор 1 α)

iNOS – inducible nitric oxide synthase (індуцйбельна синтаза оксиду азоту)

IL-1 – інтерлейкін 1

IL-10 – інтерлейкін 10

MH – моторне ядро n. hypoglossus

NA – норадреналін

NF κ B – ядерний фактор κ B

NMDA – N-метил-D-аспаратат

NO - оксид азоту

NOS – nitric oxide synthase (синтаза оксиду азоту)

nNOS – neuronal nitric oxide synthase (нейрональна синтаза оксиду азоту)

NPY – нейропептид Y

Para ggl – парасимпатичний вузол

PDE2A – фосфодіестераза 2A

PDE3 - фосфодіестераза 3

PH – n hypoglossus

PR – мілко клітинна частин n. reticularis

Pre ggl Para – прегангліонарні парасимпатичні нейрони

Pre ggl Symp – прегангліонарні симпатичні нейрони

PVN – paraventricular nucleus (паравентрикулярне ядро)

Saliv – саліваційні ядра

SHR – spontaneous hypertensive rats (спонтанно гіпертензивні щури)

Symp ggl – симпатичний вузол

TGR – transgenic rats (трансгенні щури)

TS – солітарний тракт

VM – медіальне вестибулярне ядро

WKY – Wistar-Kyoto

5-HT_{1A} – серотонінергічний рецептор 1A типу

5-HT₂ – серотонінергічний рецептор 2 типу

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. За статистичними даними підвищений артеріальний тиск (АТ) в 2015 році слугував головним фактором виникнення передчасної смерті. Так артеріальна гіпертензія (АГ) призвела майже до 10 млн смертей та більш ніж до 200 млн випадків інвалідності [1]. Сьогодні вже доведена безперервна лінійна асоціація між рівнем АТ та ризиком серцево-судинних катастроф для всіх вікових та етнічних груп [2-4]. На підставі вимірювань офісних значень АТ встановлено, що число хворих на АГ в світі становило в 2015 р 1,13 млрд, при цьому більш 150 млн проживають в Центральній і Східній Європі [5]. Поширеність артеріальної гіпертензії серед дорослого населення складає 30-45%. Така висока поширеність демонструє незалежність від рівня доходу і однакова в країнах з низьким, середнім і високим рівнями життя. [6]. На сьогодні спостерігаються процеси старіння населення, широка поширеність сидячого способу життя і збільшення маси тіла, тому поширеність гіпертензії буде продовжувати зростати в усьому світі. Встановлено, що до 2025 року число хворих на АГ збільшиться на 15-20%, досягнувши майже 1,5 млрд [7].

Поширеність вторинних артеріальних гіпертензій становить 5-15% серед пацієнтів з АГ [8]. При чому у людей середнього віку (40-65 років), за даними Європейської асоціації кардіологів, найчастішими причинами їх виникнення вважаються альдостеронізм та синдром Кушинга [9]

Незважаючи на велику кількість етіопатогенетичних форм АГ, всіх їх об'єднують ключовий клінічний прояв – стійке підвищення АТ, діагностичні підходи та ускладнення. Проте, враховуючи різницю в етіології та патогенезі різних форм АГ відкритим залишається питання, чи є однотипними механізми формування підвищення артеріального тиску при різних за етіопатогенезом видах АГ.

В основі сучасного розуміння патогенезу такої актуальної патології, як артеріальна гіпертензія (АГ) лежить концепція дисбалансу між пресорними та

депресорними факторами регуляції АТ. Сьогодні прийнято розрізняти гуморальні, гормональні та нейрогенні механізми, котрі беруть участь у регуляції АТ. Мабуть, одним із найбільш суперечливих з точки зору наукових даних і від цього цікавішим для дослідників є нейрогенний контроль АТ. Як відомо, нервова система реалізує контроль артеріального тиску через центри вегетативної нервової системи (ВНС). Основні регуляторні центри, що є ключовими в моніторингу АТ знаходяться в стовбурі мозку. Серед них слід виділити найбільшу норадренергічну структуру стовбуру мозку – locus coeruleus, або блакитну пляму (БП), та дорсальний комплекс n. vagus, що включає дорсальне моторне ядро (ДМЯ), ядро солітарного тракту (ЯСТ) (з норадренергічною А2 областю) та area postrema. Роль цих структур в патогенезі АГ і сьогодні широко досліджується, але залишається дискутабельною [10-14]

Проте, незважаючи на велику кількість досліджень, деякі особливості морфо- функціонального стану структур БП, ДМЯ та ЯСТ при АГ і досі залишаються не з'ясованими. Так, не встановлені морфометричні особливості нейронів цих структур та їх структурно-популяційні зміни, залишаються недостатньо описаними особливості експресії та балансу ізоформ синтази монооксиду азоту, крім того не визначеними є особливості балансу VNP та ангіотензину II у вказаних структурах при етіопатогенетично різних моделях артеріальної гіпертензії – есенціальної та ендокринно-сольової, що є прототипами відповідно гіпертонічної хвороби та вторинної ендокринно-асоційованої АГ людини.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету МОЗ України: «Роль пептидергічних структур гіпоталамусу та стовбуру мозку в патогенезі артеріальної гіпертензії», 2017–2019 рр. (№ державної реєстрації 0117U002579).

Мета і завдання дослідження. Мета – встановити патогенетичні особливості морфо-функціонального стану структур дорсального комплексу n. vagus (дорсального моторного ядра та ядра солітарного тракту) та locus coeruleus при патогенетично різних моделях артеріальної гіпертензії (есенціальної та ендокринно-сольової).

Для досягнення поставленої мети були поставлені наступні завдання

1. Дослідити особливості морфоденситометричних показників ядер нейронів блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра n. vagus (площа ядра, вміст та концентрація нуклеїнових кислот в ядрі) при генетично-детермінованій (есенціальній – щури лінії SHR) та експериментально індукованій ендокринно-сольовій моделях артеріальної гіпертензії.

2. Оцінити особливості ізоформного профілю ферменту NOS (за показниками вмісту, концентрації та питомої площі імунореактивного матеріалу до нейрональної, ендотеліальної та ідуцибельної ізоформ NOS в структурах блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра n. vagus при генетично-детермінованій (щури лінії SHR) та експериментально індукованій ендокринно-сольовій моделях артеріальної гіпертензії.

3. Вивчити особливості експресії регуляторних нейропептидів: мозкового натрійуретичного пептиду та ангіотензину II (вміст, концентрація та питома площа) та їх балансу в структурах блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра n. vagus при генетично-детермінованій (щури лінії SHR) та експериментально індукованій ендокринно-сольовій моделях артеріальної гіпертензії.

4. З'ясувати відмінності та встановити взаємозв'язок змін морфоденситометричних параметрів нейронів та їх структурно-популяційної перебудови, особливостей ізоформного профілю ферменту NOS та експресії регуляторних нейропептидів, в структурах блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра n. vagus при генетично-детермінованій

(щурі лінії SHR) та експериментально індукованій ендокринно-сольовій моделях артеріальної гіпертензії.

Об'єкт дослідження: морфо-функціональний стан структур дорсального комплексу n. vagus (дорсального моторного ядра та ядра солітарного тракту) та locus coeruleus при генетично-детермінованій (щурі лінії SHR) та експериментально індукованій ендокринно-сольовій моделях артеріальної гіпертензії.

Предмет дослідження: морфоденситометричні характеристики ядер нейронів (за площею, вмістом та концентрацією нуклеїнових кислот), показники експресії ізоформ NOS (за показниками вмісту, концентрації та питомої площі імунореактивного матеріалу до нейрональної, ідуцибельної та ендотеліальної ізоформ), вміст, концентрація та питома площа розподілу імунореактивного матеріалу до ангіотензину II та мозкового натрійуретичного пептиду в блакитній плямі, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра n. vagus при різних за етіологією артеріальних гіпертензіях (есенціальній та ендокринно-сольовій моделях).

Методи дослідження: патофізіологічні, інструментальні, імуногістохімічні, морфоденситометричні дослідження структур блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра, n. vagus статистичний аналіз результатів.

Наукова новизна. Вперше на тваринних (щурі) експериментальних моделях артеріальної гіпертензії (есенціальній та ендокринно-сольовій), що відповідають первинній артеріальній гіпертензії (гіпертонічна хвороба) та вторинній ендокринно-асоційованій артеріальній гіпертензії людини надана комплексна характеристика морфофункціональних особливостей структур блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра.

Доповнено уявлення про морфоденситометричні та популяційні особливості нейронів блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра при есенціальній та ендокринно-сольовій моделях артеріальної гіпертензії. Продемонстровані особливості вмісту

нуклеїнових кислот в дрібних, середніх та великих ядрах нейронів вищезазначених структур гіпертензивних тварин. Визначено, що стійке підвищення артеріального тиску призводить до збільшення кількості нейронів із дрібними ядрами у досліджуваних структурах, що знижує показники середньої площі ядра в них при есенціальній та ендокринно-сольовій артеріальній гіпертензії, але внаслідок структурно-популяційної перебудови та зміни кількості нейронів із середніми та великими ядрами, середній показник вмісту нуклеїнових кислот може як збільшуватись так і зменшуватись.

Поглиблено сучасні знання про особливості експресії ізоформ синтази оксиду азоту в структурах блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів із етіопатогенетично відмінними формами артеріальної гіпертензії, а також вперше надана їх комплексна оцінка в цих структурах. Показано у щурів із артеріальною гіпертензією, порівняно із контролем змінюється експресія ізоформ синтази монооксиду азоту як в сторону збільшення (у всіх досліджуваних структурах щурів із есенціальною артеріальною гіпертензією, та в структурах ядра солітарного тракта і дорсального моторного ядра щурів із ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією) так і в бік зменшення (в структурі блакитної плями щурів із ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією). Встановлено формування дисбалансу ізоформ синтази монооксиду азоту при сформованій артеріальній гіпертензії в структурі ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра

Розширено уявлення про експресію депресорного (BNP) та пресорного (ангіотензин II) нейропептидів у вищезазначених структурах, а також про зміни співвідношення їх експресії у структурах блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку при артеріальній гіпертензії різного генезу. Показано, що найбільш виражені зміни експресії у зазначених структурах гіпертензивних тварин відносно контролю

притаманні ангіотензину II ніж BNP, проте направленість експресії, їх характер та зміна їх співвідношення у гіпертензивних тварин є етіозалежними.

Практичне значення отриманих результатів. Робота є фундаментальним дослідженням. Її результати розширюють наукові уявлення про патогенетичні особливості морфо-функціонального стану структур дорсального комплексу n. vagus та locus coeruleus при експериментальній артеріальній гіпертензії різного генезу. Отримані результати характеризують морфоденситометричні, структурно-популяційні зміни їх нейронів, описують особливості експресії ізоформного профілю синтази монооксиду азоту, пресорних та депресорних нейропептидів на фоні стійкого підвищення артеріального тиску. Крім того на фундаментальному рівні встановлені відмінності морфо-функціонального стану структур дорсального комплексу n. vagus та locus coeruleus від етіопатогенезу артеріальної гіпертензії, що демонструє патогенетичні особливості стану регуляторних систем при різних за походженням формах артеріальної гіпертензії. Так середній вміст нуклеїнових кислот в ядрах нейронів всіх досліджуваних структур менший, проте середній показник площі нейронів в ядрі солітарного тракта та дорсальному моторному ядрі більший у щурів із ендокрино-сольовою моделлю артеріальної гіпертензії порівняно із щурами з есенціальною артеріальною гіпертензією, що обумовлено особливостями морфоструктурної перебудови нейронів цих регуляторних центрів у тварин із вторинною артеріальною гіпертензією. Разом із тим показано, що ізоформний профіль синтази монооксиду азоту характеризується меншими показниками експресії в структурі блакитної плями, більшим вмістом nNOS та eNOS в структурі ядра солітарного тракта та більшим вмістом nNOS та eNOS в структурі дорсального моторного ядра щурів із ендокрино-сольовою моделлю артеріальної гіпертензії порівняно із щурами з есенціальною артеріальною гіпертензією. Порівняльна оцінка експресії BNP та ангіотензину II у гіпертензивних тварин показала різнонаправлені зміни їх експресії (більші показники експресії BNP та менші – ангіотензину II) у структурах блакитної плями та ядра солітарного

тракта та збільшення експресії як BNP так і ангіотензину II в структурі дорсального моторного ядра щурів із ендокрино-сольовою моделлю артеріальної гіпертензії порівняно із щурами з есенціальною артеріальною гіпертензією

Нові теоретичні положення дисертації використовуються в навчальному процесі на кафедрі загальної патофізіології ДВНЗ «Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», кафедрі патофізіології Української медичної стоматологічної академії МОЗ України, кафедрі патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету МОЗ України, в навчальному медико-лабораторному центрі Запорізького державного медичного університету МОЗ України, кафедрі патологічної фізіології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», кафедрі патологічної фізіології імені Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету МОЗ України, кафедрі загальної та клінічної патофізіології ім. В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету МОЗ України.

Особистий внесок дисертанта. Дисертаційна робота є самостійно виконаним дослідженням автора, науковим керівником визначені тема і складена програма дослідження. Дисертант особисто виконав патентно-інформаційний пошук і аналіз літератури, а також патофізіологічні, інструментальні, імуногістохімічні, та морфоденситометричні дослідження матеріалу всіх щурів; провів статистичний аналіз отриманих даних, систематизував та інтерпретував отримані результати; написав всі розділи дисертації; сформулював висновки.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на всеукраїнських наукових форумах: Здобутки теоретичної медицини – в практику охорони здоров'я-2016 всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів (м. Запоріжжя, 24-25 березня 2016 р.), Сучасні аспекти медицини і фармації-2016 всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та

студентів (м. Запоріжжя, 12-13 травня 2016 р), Інновації в медицині : 85-а науково-практична конференція студентів і молодих вчених із міжнародною участю (м. Івано-Франківськ, 24-25 березня 2016 р.); LVI науковій конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю, присвяченій 25-річчю незалежності Республіки Казахстан (м. Актобе, 27 квітня 2016 р); Сучасні аспекти медицини і фармації-2017 всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів (м. Запоріжжя, 11-12 травня 2017 р), Актуальні питання сучасної медицини і фармації : Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів (м. Запоріжжя, 18-25 квітня 2018 р); Актуальні питання сучасної медицини і фармації 2019 – науково-практичній конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів (м. Запоріжжя, 13-17 травня 2019 р); Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації – I науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю (м. Харків, 15 травня 2019 р)

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 14 наукових праць: 5 статей у наукових фахових виданнях України, серед яких 3 статті у журналах, які індексуються міжнародними наукометричними базами; 1 стаття у зарубіжному журналі; 8 тез в матеріалах міжнародних і Всеукраїнських науково-практичних конференцій.

Структура то обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 236 сторінках машинопису і складається з вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 3 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел, додатків. Робота ілюстрована 84 рисунками та 19 таблицями. Список літератури містить 198 джерела (12 кирилицею та 186 латиницею).

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО РОЛЬ БЛАКИТНОЇ ПЛЯМИ, ЯДРА СОЛІТАРНОГО ТРАКТА І ДОРСАЛЬНОГО МОТОРНОГО ЯДРА N. VAGUS В РЕГУЛЯЦІЇ АРТЕРІАЛЬНОГО ТИСКУ ТА ОСОБЛИВОСТІ ЇХ МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ПРИ АРТЕРІАЛЬНІЙ ГІПЕРТЕНЗІЇ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Сучасні уявлення про будову та функції блакитної плями, її участь в регуляції артеріального тиску

1.1.1 Структура блакитної плями

Блакитна пляма (БП) вперше була описана ще в 1809 році Reil як темно-синя смужка в оральній частині дна 4-го шлуночка мозку людини. Майже століття по тому у 1911 році цю структуру було названо *locus coeruleus*. У тварин БП вдалося ідентифікувати не відразу. Річ в тому, що пігмент, за допомогою якого була візуалізована ця структура у людини та приматів, у нижчих ссавців виявлявся далеко не в тій мірі, яка треба була дослідникам. З часом застосування гістофлюоресцентного методу Фалька-Хіларпа дозволило більш детально вивчити морфологію БП у ряда інших тварин, включаючи мишей та щурів [15].

На сьогоднішній день прийнято розглядати цю структуру як основне джерело норадренергічної (НА) іннервації в головному мозку. Завдяки цієї особливості власне і ідентифікують БП за імунореактивністю нейронів до тирозингідроксилази та дофамін-бета-гідроксилази, ключових ферментів синтезу норадреналіну [15].

Багатьма гістологічними дослідженнями було визначено, що нейрони БП мають різноманітну морфологію та нейрохімічні характеристики. Морфологія структури була описана ще в 70-х роках минулого століття, тоді було показано сильно розгалужені аксональні відростки нейронів, котрі проєктуються на багато відділів головного мозку, слугуючи основним джерелом НА в центральній нервовій системі. Більшість нейронів БП являють собою переважно клітини середнього розміру з веретеноподібною формою і трьома-чотирма дендритними відростками. Крім того каудальні і вентролатеральні регіони БП, включаючи *n. subcoeruleus* змішані з більш дрібними веретеновидними пігментованими нейронами. Ці каудальні норадренергічні клітини в *n. subcoeruleus* мають різні проєкції в стовбурі та спинному мозку, ніж великі за розміром нейрони БП, що розміщені більш рострально [16].

1.1.2 Роль блакитної плями в нормі та при патології, її участь у регуляції артеріального тиску

Реалізація функцій БП відбувається шляхом впливу НА, що в ньому синтезується, на адренорецептори різних типів (α_1 , α_2 , β -адренорецептори), які широко представлені в структурах головного мозку. У певних ситуаціях значну роль відіграє активація ГАМК-ергічних (гамма-аміномасляна кислота) нейронів БП. Цікавим є той факт, що різний підтип адренергічних рецепторів призводить до зовсім протилежної реакції подразненого нейрона. Так, показано, що α_1 -адренорецептори і β -адренорецептори є збудливими, а α_2 -адренорецептори - гальмівними, тому реалізація фізіологічних ефектів безпосередньо залежить від структури, в якій стимулюються ці нейрони [17].

Інша особливість БП полягає в тому, що її нейрони володіють так званою самостимуляцією [15, 17]. Цей феномен полягає в спонтанному викиді НА нейронами БП. Причини такого явища в науковій літературі описуються неоднозначно. За одними даними самостимуляція регулюється

серотонінергічними нейронами, головним чином дорсального шва і періцерулярною ділянкою шляхом активації 5-HT_{1A} і 5-HT₂ рецепторів [17]. За даними інших авторів, самостимуляція викликається при активації двох груп катехоламінергічних нейронів: дофаміновмісних, розташованих у вентральній покривці середнього мозку, безпосередньо в області A9 і A10; та НА-нейронів БП [15]. Але яка б не була природа самостимуляції нейронів БП, наявність цього явища також вносить свій внесок у реалізацію нею фізіологічних ефектів.

Сьогодні більша частина досліджень БП сконцентрована навколо участі цієї структури в регуляції вищих мозкових функцій та поведінки. Так показано, що БП приймає активну участь в процесах запам'ятовування [18], її активація пришвидшує процеси сприйняття [19], а активація проєкцій БП на окремі структури мозку нагадує тривожну поведінку та опосередковує гіперреактивність при посттравматичному стресовому розладі [20, 21]. Крім цього активно дискутується роль блакитної плями в патогенезі когнітивних розладів при нейродегенеративних захворюваннях – хворобах Паркінсона та Альцгеймера [22]. Також великий інтерес дослідників викликає можлива участь БП в регуляції больової чутливості [23] та розвитку мігрені [24, 25].

Вищеописана багатогранна участь БП в цілому ряді процесів вищої мозкової діяльності та їх порушеннях обумовлена широким колом міжструктурних зв'язків із різними центрами головного мозку та функціональною гетерогенністю нейронів цієї структури. Так, Chandler et al продемонстрували, що у щурів є різноманітні субпопуляції нейронів БП, що проєктуються до префронтальної, лобної орбітальної кори, до передньої поясної звивини, первинної моторної кори. Ці підгрупи відрізняються рівнями експресії мРНК глутаматних рецепторів, спонтанною швидкістю розряду нейронів та іншими електрофізіологічними властивостями [26].

Досліджена також участь БП у регуляції активності вегетативної нервової системи, та підтриманні гомеостатичних констант організму, в тому числі і АТ. Для того, щоб описати вплив БП на регуляцію АТ треба відмітити,

що ця функція реалізується за допомогою наявності широкої сітки нейрональних зв'язків із ключовим регуляторним центром вегетативної нервової системи – гіпоталамусом, а також із ядрами парасимпатичної нервової системи в стовбурі мозку [27].

При вивченні впливу БП на гіпоталамічну регуляцію гемодинаміки було висловлено припущення, що участь у цьому беруть адренергічні волокна, які ідуть від БП до заднього гіпоталамусу [27]. Сьогодні цей зв'язок уточнений і приписується паравентрикулярному ядру (ПВЯ) гіпоталамусу. Це ядро, що має зв'язки з відділами симпатичної (інтермедіолатеральна група клітин спинного мозку) і парасимпатичної нервової систем (через парасимпатичні ядра стовбура мозку). У ПВЯ були виявлені $\alpha 1$ -адренорецептори, з активацією яких пов'язують автономну відповідь на стрес. На додаток до цього були виявлені гальмівні $\alpha 2$ -адренорецептори на інгібіторних ГАМК-ергічних нейронах, що забезпечують зв'язок ПВЯ з симпатичною нервовою системою через інтермедіолатеральну групу клітин спинного мозку, забезпечуючи, таким чином, додаткову активацію автономної нервової системи, через норадреналін, який вивільняється з БП [17].

Нейрональні проєкції БП на парасимпатичні ядра блукаючого нерву стовбуру мозку (ядра дорсального комплексу вагусу (ДКВ) та *n. ambiguus*) відіграють провідну роль у регуляції гемодинаміки. Ще в роботах [28] було показано явище різкого підйому артеріального тиску і почастішання дихання при електричному подразненні БП. Тоді як руйнування вентрального пучка стовбуру мозку не призводило до підйому артеріального тиску після подразнення БП. Звідси дослідники зробили висновок, що передача вазомоторного ефекту реалізується через вентролатеральні пучки довгастого мозку [15].

Відомий зв'язок між БП і дорсальним моторним ядром *n. vagus* (ДМЯ). Ця взаємодія реалізується за допомогою $\alpha 2$ -адренорецепторів. Було показано, що НА пригнічує активність нейронів ДМЯ, що в свою чергу призводить до збільшення ЧСС і АТ. У той же час мікроін'єкції глутамату в область БП

приводили до зниження ЧСС і АТ за рахунок превалюючої активності парасипатичних ядер стовбуру мозку. Також не варто забувати і про *n. ambiguus*. Хімічна стимуляція його нейронів приводить до зменшення ЧСС і зниження артеріального тиску. Відомо, що це ядро реалізує свій ефект опосередковано через інгібіторні зв'язки з ростральною вентролатеральною ділянкою (РВЛД) стовбуру мозку. На відміну від нейронів ДМЯ, в нейронах *n. ambiguus* були виявлені α_1 -адренорецептори. І ось тут, на перший погляд, спостерігаємо парадокс. Адже α_1 -адренорецептори, як правило, збуджуючі. Тоді збудження *n. ambiguus* повинно було приводити до зниження ЧСС і АТ, але спостерігався абсолютно протилежний ефект. Тому цілком імовірно, що ці рецептори розташовані на інгібіторних нейронах, а не на еферентних холінергічних нейронах [17].

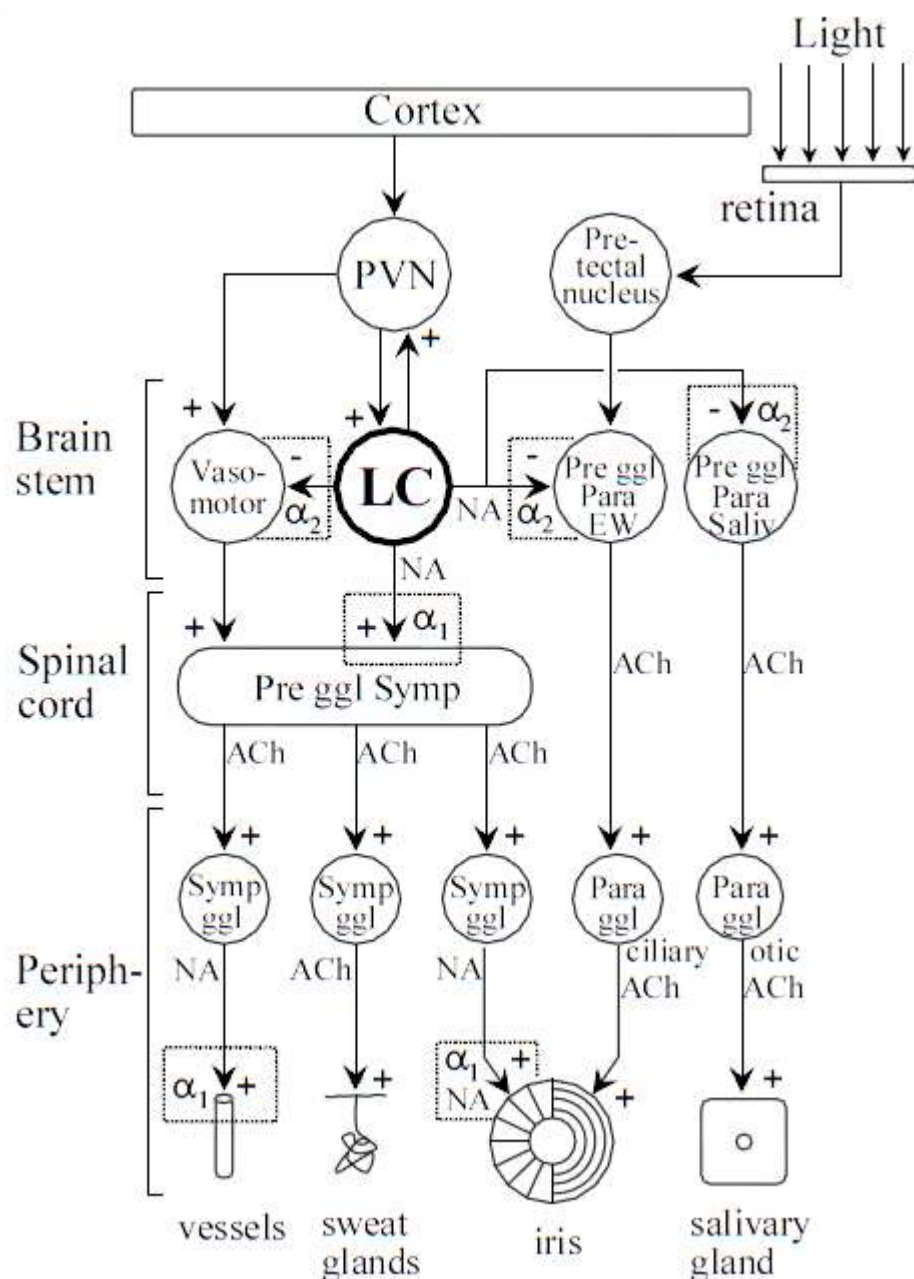
Зв'язок БП із РВЛД слід описати докладніше. Ця структура стовбура мозку пов'язана зі згаданою раніше інтермедіолатеральною групою клітин спинного мозку (ІМЛ), яка є частиною симпатичної нервової системи. Вивільнення глутамату в РВЛД збуджує нейрони ІМЛ і провокує вазоконстрикцію [17]. Також зазначено, що деякі клітини РВЛД володіють пейсмейкерною активністю і таким чином забезпечують стабільність рівня АТ і ЧСС. Є дані про те, що РВЛД також регулює серцеву діяльність за участю барорефлексу з дуги аорти і нейрональних зв'язків з ядром солітарного тракту (ЯСТ). При цьому підвищення активності нейронів ЯСТ незмінно призводить до зниження активності нейронів РВЛД шляхом активації ГАМК-ергічних нейронів каудальної вентролатеральної області, яка пригнічує РВЛД. Зв'язки між РВЛД і БП теж носять інгібіторний характер, тільки реалізується цей ефект вже шляхом активації α_2 -адренорецепторів та призводить до збільшення артеріального тиску і ЧСС. Також подібний ефект можливий в результаті безпосереднього стимулюючого впливу БП на ІМЛ [17, 29].

Відомо, що в стовбурі мозку розташовані структури, що регулюють не тільки серцево-судинну, але і дихальну систему. Тому при дослідженні блакитної плями велися пошуки її ролі в цій функції. Деякі дослідники

вважали, що всі вищезгадані властивості БП (участь у циклі сон-неспаннн, процесах навчання, регуляції стресу і антиноцицепції) філо- і онтогенетично є похідними від його первісної ролі – участі в регуляції газового гомеостазу. Ними було висловлено припущення, що БП і розташоване поруч з ним мезенцефалічне ядро трійчастого нерва є ключовими центральними компонентами функціональної системи газового гомеостазу. Не приділяючи особливої уваги ядру трійчастого нерва, слід сказати лише те, що його вважали ядром з підвищеною хемочутливістю, а пов'язану з ним як структурно, так і функціонально БП, завдяки своїй нейрохімічній специфікації та зв'язків з багатьма структурами мозку, важливим учасником реакції «боротьби за повітря» [15]. Разом з тим, у наукових посиланнях показано, що навіть при короткочасній асфіксії змінюється інтенсивність світіння нейронів БП. Застосування експериментальної гіпоксії показало, що в клітинах БП посилюється синтез НА. Крім того, були виявлені ультраструктурні особливості підвищення транспорту через гематоенцефалічний бар'єр в районі БП при гіпоксії. На підставі цього було висловлено припущення, що НА, який синтезується в умовах гіпоксії в БП, через гематоенцефалічний бар'єр надходить у кров і реалізує свої ефекти [15].

На сьогоднішній день БП розглядається також як хемосенситивна структура. Так більш 80% його нейронів відповідають на гіперкапнію шляхом збільшення своєї спонтанної активності. Тоді як локальна ацидифікація БП призводить до збільшення частоти дихання і підвищення кількості розрядів діафрагмального нерва. У свою чергу руйнування великої кількості (близько 80%) норадренергічних нейронів БП призводить до значного зниження відповіді на вуглекислий газ [17].

Зв'язок блакитної плями і автономної нервової системи представлений на рисунку 1.1 [30].



Примітка 1. PVN – ПВЯ, Pre ggl Para – прегангліонарні парасимпатичні нейрони, EW – ядро Едінгера-Вестфала, Saliv – салівавторні ядра, Pre ggl Symp – прегангліонарні симпатичні нейрони, Symp ggl – симпатичний вузол, Para ggl – парасимпатичний вузол, ACh – ацетилхолін, NA – норадреналін.

Примітка 2. «+» – збудження, «-» – гальмування.

Рисунок 1.1 – Центральна роль БП в регуляції автономних функцій (Samuels E. R., Szabadi E., 2008) [30]

1.1.3 Пептидергічна система блакитної плями

Норадреналін (НА) був одним із перших нейротрансмітерів, що ідентифікований в структурі БП, проте в подальших дослідженнях було

відмічене, що хоча всі нейрони БП і містять НА, проте вони також можуть продукувати і ряд інших нейротрансмітерів, що забезпечує їх мультифункціональність. Так, було показано, що біля 80 % нейронів БП коекспресують НА та галанін. Такі клітини розміщуються всією територією БП, проте найбільш щільно локалізовані в дорсальній і центральній областях структури [31].

Також дослідниками встановлено, що кожен 5-й нейрон БП синтезує нейропептид Y [31].

На сьогоднішній день доведений вплив багатьох нейропептидів та медіаторів ЦНС на активність нейронів БП. Так було показано, що такі нейропептиди як кортикотропін-релізінг-фактор, орексин, субстанція Р здатні збільшувати активність нейронів БП, призводити до викиду норадреналіну, модулюючи таким чином реакцію структури на стрес, сприйняття болю, регуляцію циклу «сон-бадьорість». В той же час, як ендогенні опіоїди, меланін-концентруючий гормон, соматостатин, нейропептид Y зменшують активність нейронів БП [32]. Для допаміну в БП показана роль в консолідації повсякденної пам'яті [18]. Крім указаних нейропептидів, важливу роль у функціонуванні структури та біосинтезі НА відіграють ангіотензинова система головного мозку [33] та родина натріуретичних пептидів [34, 35]

Відмічено також, що в структурі БП знайдено ключові ферменти синтезу відомих газотрансмітерів СО-гемоксигеназу та NO-синтазу оксиду азоту, що мають мультівариабельний вплив на нейрони, включаючи нейротрансмісію, метаболізм та функціональну активності [36, 37].

1.1.4 Порушення морфо-функціонального стану та особливості пептидергічної системи блакитної плями при артеріальній гіпертензії

Раніше було відмічено важливу роль БП в регуляції роботи вегетативної нервової системи (ВНС) та, відповідно, і підтриманню гомеостатичних функцій організму. Напевно, однією із найбільш важливих

таких функцій є підтримка сталості АТ. Тому, логічно припустити, що АГ, котра супроводжується порушенням гомеостазу АТ, буде супроводжуватися різноманітними морфо-функціональними змінами в структурі БП.

Дійсно, рядом дослідників ще в 70-х – 80-х роках встановлено ряд відхилень як структурної, так і функціональної природи в БП при АГ. Деякі з наявних даних носять неоднозначний характер. Так, Н.Р. Олре та співавт. було показано, що у тварин із спонтанною гіпертензією та у тварин, що піддавались хронічному введенню дезоксикортикостерону ацетату (ДОСА-сольова модель АГ) відповідно на 19 % та 25 % знижувалась спонтанна активність нейронів БП порівняно з контролем [38]. Тоді як інша група дослідників встановила посилення метаболізму катехоламінів у щурів зі спонтанною гіпертензією [39]. Крім цього, в окремих дослідках на щурах лінії SHR було встановлено знижену чутливість інгібуючих α_2 -адренорецепторів в БП та знижену базальну активність нейронів цієї структури. Автори дослідження припустили, що на фоні цих явищ нейрони БП щурів із спонтанною гіпертензією можуть демонструвати підвищену чутливість до сенсорних стимулів [40].

Також були описані зміни синтезу і виділення таких пептидів, як галанін та серотонін, а також відмічена знижена активність дофамін-бета-гідроксилази в нейронах БП [41- 43] . Рядом інших досліджень були описані зміни в глутамат- та ГАМК-ергічній модуляції нейрональної активності БП у щурів із підвищеним АТ [44, 45] Song T Yao з колегами за допомогою мікроін'єкцій АТФ та α - , β - метилен-АТФ в область БП показали вплив пуринергічної системи мозку на регуляцію АТ та ЧСС цією структурою [46].

З подальшим технічним вдосконаленням лабораторій та можливістю застосовувати молекулярно-генетичні методи досліджень, було показано, що у щурів SHR, при додатковому впливі холодowego стресу збільшується рівень мРНК тирозингідроксилази (ТГ) в нейронах БП. Більш того в цьому дослідженні був продемонстрований зв'язок з ангіотензиною системою мозку. Так введення таким щурам блокатора рецепторів до ангіотензину типу 1 (АТ-R1), селективно підвищувало експресію рецепторів до ангіотензину

типу 2 (AT-R2) та нівелювало указане підвищення концентрації мРНК до досліджуваного ферменту [47] Цей вплив системи ангіотензину на експресію тирозингідроксилази в НА-ергічних нейронах БП був деякою мірою пояснений в дослідженні Michael Ogier та співав., котрі на трансгенних щурах лінії TGR, що мають генетично детерміновану дисфункцію синтезу ангіотензиногену в головному мозку, показали підвищення експресії ТГ в нейронах БП, порівняно із контролем. На основі чого дослідники зробили висновок, що білки системи ангіотензину являються одними із ключових регуляторів експресії генів ТГ [48].

Подальші дослідження ангіотензинергічної системи БП при АГ продовжують відкривати нові аспекти в патогенезі даної хвороби. Так Wan-kun Gong і співавт. показали, що селективна блокада Ат-R2 призводить до збільшення виділення НА нейронами БП щурів із стрес-індукованою гіпертонією (СІГ), тоді як введення агоністів цього виду рецепторів до ангіотензину II навпаки – зменшує виділення НА нейронами БП. Відповідно до результатів своїх досліджень вчені роблять припущення, що послаблення постсинаптичної дії Ат-R2 може відігравати роль в патогенезі СІГ [49]

Окрему участь у патогенезі АГ дослідники приписують запальним процесам в центрах регуляції АТ головного мозку (в тому числі і в БП), що виникає під дією Ат II. Так J Zubcevic та співавт. було показано, що внутрішньобрюшинне введення АТ II нормотензивним щурам призводить до підвищення АТ через активацію нейронів таких кардіорегуляторних центрів як РВЛД, паравентрикулярне ядро (ПВЯ) гіпоталамусу. Крім цього у експериментальних тварин було відмічено підвищення CD4+/IL17 + Т-клітин та активація мікроглії в ПВЯ [50]. Ці данні в деякій мірі узгоджуються з результатами досліджень інших вчених, котрі показали, що в культурі гібридних клітин, отриманих із БП миші вплив АТ II призводить до збільшення вмісту прозапальних цитокінів (ФНО- α та IL-1) та зменшення вмісту протизапальних цитокінів (IL-10), а також активації фактора транскрипції NF κ B. Дослідники це пов'язують із тим, що АТ II має здатність

впливати на GSK-3 β (глікогенсинтаз-кіназа-3 β) – специфічну для нейронів ізоформу ферменту, що модулює виділення запальних цитокінів NF κ B-залежним чином [51].

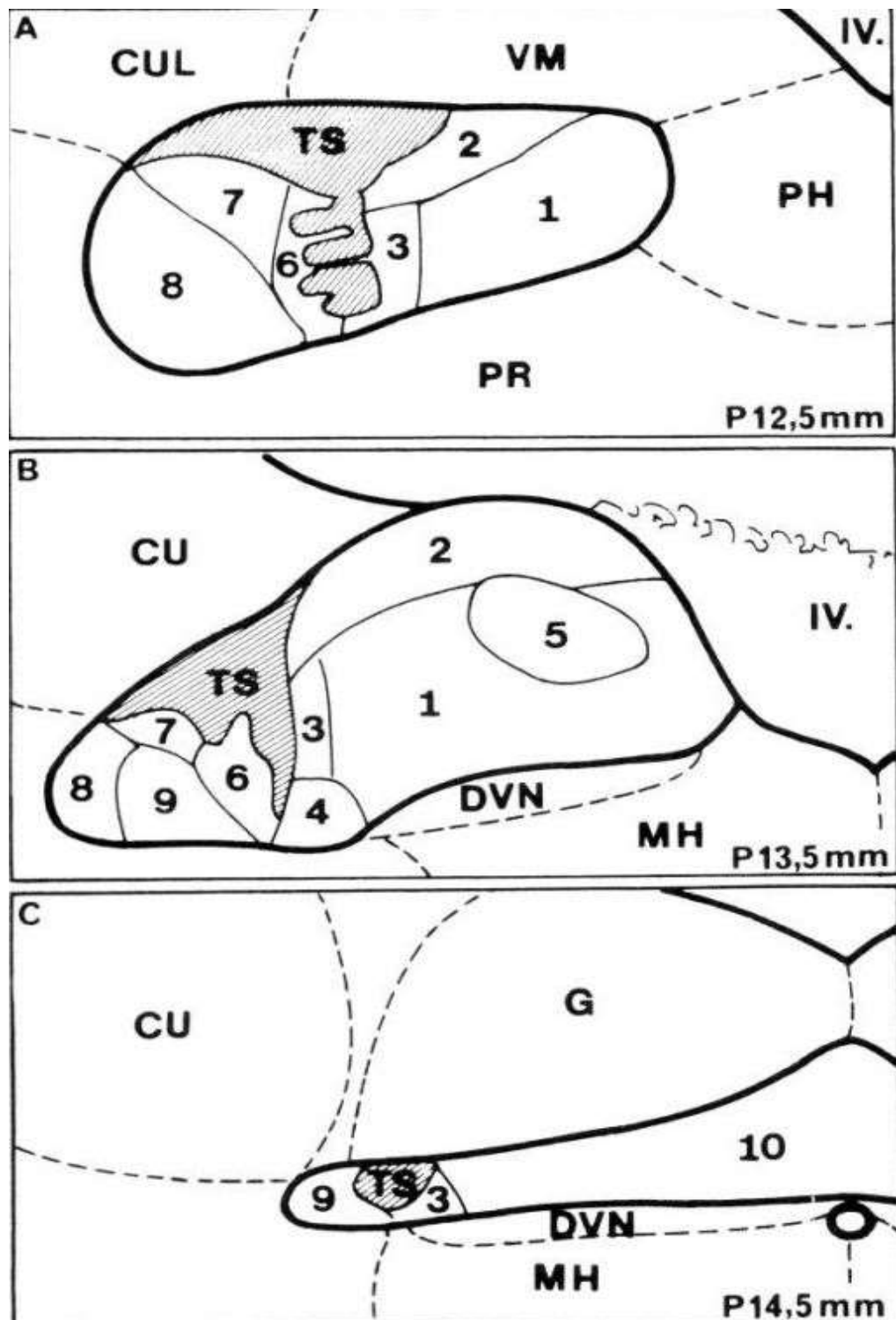
Окрему участь у зміні функціонального стану БП при АГ відіграє система оксиду азоту (NO). Хоча роль цієї системи в наукових роботах описана далеко неоднозначно. Так у своїх роботах Sh. Lenner та співавт. показали, що у тварин з дефектним ферментом аргінілсукцинатліаза (АСЛ), що приймає участь в утворенні ключового донатора оксиду азоту – аргініну, крім поведінкових розладів та дефіциту уваги, спостерігалася і артеріальна гіпертензія. Дослідники пов'язують це із тим, що NO є важливим регулятором активності тирозингідроксилази, ензиму що регулює синтез норадреналіну нейронами БП. Тому автори прийшли до думки, що дефіцит АСЛ опосередковано через порушення синтезу NO та тирозингідроксилази призводить до дисфункції нейронів БП. В експерименті такі тварини мали більший підйом цифр АТ у відповідь на дію стресорного фактору, а також більш тривалий час нормалізації АТ в порівнянні з контрольними тваринами. В той час як донатори NO приводять до підвищення рівня тирозингідроксилази та зменшують таку аномальну реакцію на стрес [52]. Тоді як раніше опубліковані дані інших дослідників наводять на протилежні висновки. Так було показано, що внутрішньомозкове введення блокатора ключового ферменту синтезу NO – синтази оксиду азоту (NOS) призводить зменшення підвищеної активності нейронів БП та зниження АТ. В даному дослідженні автори підвищували активність нейронів структури фармакологічно, за допомогою введення в бокові шлуночки мозку NMDA (N-метил-D-аспартат) [53].

Виходячи з вищесказаного, можна з впевненістю говорити про важливість функціонального стану нейронів БП в підтриманні гомеостазу АТ а також про те ще, що морфо-функціональні зміни в структурі БП відіграють важливу роль в патогенезі АГ. Але суперечливість та неоднозначність деяких даних свідчить про актуальність продовження досліджень в даному напрямку.

1.2 Сучасні уявлення про будову та функції ядра солітарного тракта, його участь в регуляції артеріального тиску

1.2.1 Структура ядра солітарного тракта щурів

Анатомія ЯСТ щурів на сьогодні досить детально описана в огляді Paul L. M. та співавт. що базується на цілому ряді нейроанатомічних досліджень [54]. У щурів загальна кількість клітин в ЯСТ становить 42500. Топографічно в структурі ЯСТ виділяють чотири основні суб'ядра: ростральне, медіальне, латеральне та комісуральне; та три частини: ростральну, серединну та каудальну (рис. 1.2).



Примітка. Ростральна (А), срединна (В), каудальна (С) частини ядра. CU – n. cuneatus; CUL, n. cuneatus lateralis; DVN – dorsal vagal nucleus; G – n. gracillis; IV – 4-й шлуночок; MH, моторне ядро n. hypoglossus; PH – n. hypoglossus; PR – мілко клітинна частин n. reticularis; TS – tractus solitarius; VM – медіальне вестибулярне ядро. Субчастини ЯСТ: 1 – медіальна; 2 – дорсальна; 3 – срединна; 4 – вентральна; 5 – желатинозна; 6 – інтрестиціальна; 7 – дорсолатеральна; 8 – латеральна; 9 – вентролатеральна; 10 – комісуральне суб'ядро.

Рисунок 1.2 – Відділи та субчастини ядра солітарного тракту за Paul L. M. [54]

За даними Paul L. M. [54] ростральне суб'ядро займає 1,5 мм у однойменній частині ЯСТ у дорослих щурів. Дана його частина межує

дорсально з вестибулярними ядрами і вентрально з парвоцелюлярним ретикулярним ядром. Каудальна половина рострального відділу ЯСТ простягається від *n. hypoglossus* до *n. trigeminalis* в медіолатеральному напрямку. Ростральна частина ділиться на два відділи медіальний та латеральний, кожен з яких розподіляється ще на три менших. Медіальний відділ більший за площею, в ньому виділяють медіальну, дорсальну та серединну субчастини. Латеральний, в свою чергу, займає меншу площу та також включає три субчастини: латеральну, дорсолатеральну та інтерстиціальну (див. рис 1.2 А) [54].

Серединна частина ЯСТ довжиною біля 1 мм. На цьому рівні ядро досягає вентролатеральної поверхні четвертого шлуночка між *n. cuneatus* та дорсальним моторним ядром *n. vagus*. Ця частина ЯСТ за аналогією з ростральною, ділиться на медіальний та латеральний відділи. Медіальний містить п'ять субчастин: медіальну, дорсальну, вентральну, проміжну та желатинозну. Латеральний відділ серединної частини ЯСТ менший за площею. Він складається з проміжної, дорсолатеральної, вентролатеральної та латеральної субчастин (див. рис. 1.2 В) [54].

Каудальна третина ЯСТ розміщена між *n. gracillis*, *canalis centralis* та дорсальним моторним ядром *n. vagus* і являє собою, головним чином (90%), нейрони комісурального суб'ядра ЯСТ та дві невеликі субчастини: проміжну та вентролатерну, що є каудальними продовженнями відповідних субчастин медіального і латерального відділів серединної частини ЯСТ (див. рис. 1.2 С) [54].

Медіальна субчастина ЯСТ є найбільшою групою клітин у ядрі і займає площу як в ростральній, так і в серединній його частинах. Вона обмежена латеральною та проміжною субчастинами солітарного тракту. Ця субчастина складається з клітин середніх розмірів, овальної форми із помірною щільністю пакування (див. рис. 1.2 А та 1.2 В) [54].

Латеральна субчастина ЯСТ порівняно велика в ростральній його частині, де вона займає майже весь його латеральний відділ. Більш каудально

вона представляється невеликою групою клітин уздовж бічної межі ядра і закінчується каудально на рівні постремної області (ПО). Тут зустрічаються два типи нейронів: великі, пірамідальної форми та малі, овальні, темно забарвлені клітини (див. рис. 1.2 А та 1.2 В) [54].

Дорсальна субчастина ЯСТ характеризується відносно низькою щільністю упаковки нейронів. Проміжна субчастина ядра складається з невеликої компактної групи відносно великих клітин розміщених латеральніше від медільної субчастини солітарного тракту. Ця субчастина виступає у вигляді рострокаудально направленої довгої смуги нейронів як в медіальному відділі, так каудальному відділах ЯСТ (див. рис. 1.2 В) [54].

Вентральна субчастина ЯСТ розташована вентролатерально від медіальної субчастини. Ця, порівняно невелика ділянка ЯСТ, складається з середніх за розміром багатополярних клітин розміщених дорсолатеральніше до дорсального моторного ядра n. vagus (див. рис. 1.2 В та 1.2 С) [54].

Желатиозна субчастини ЯСТ – це «острів» клітин всередині медіальної його субчастини. Більш каудально розташована постремна область медіальної сторони. Це специфічна частина ядра, де глибоко проникаючі дендрити холінергічних нейронів дорсального моторного ядра n. vagus утворюють скупчення і здійснюють синаптичні контакти з аферентами шлункових нейронів та йдуть блукаючим нервом (див. рис. 1.2 А) [54].

Інтерстиціальна субчастина належить до латерального відділу ростральної та серединної частин ЯСТ. Її утворюють нейрони середнього розміру (див. рис. 1.2 А та 1.2 В) [54].

Дорсолатеральна субчастина ЯСТ займає дорсальну половину латерального відділу ростральної та серединної його частин рівня обех. Тут розміщуються нейрони малого та середнього розміру, овальної форми з великою щільністю упаковки (див. рис. 1.2 А та 1.2 В) [54].

Вентролатеральна субчастина ЯСТ складається з великих мультиполярних нейронів (див. рис. 1.2 В) [54].

Коммісуральне суб'ядро ЯСТ займає основну частину каудального відділу ЯСТ. Воно простягається між каудальним кінцем четвертого шлуночка і каудальним полюсом ЯСТ. Воно дорсально межує з постремною областю і *n. gracillis*, а вентрально – з дорсальним моторним ядром *n. vagus tasanalis centralis* (див. рис. 1.2 С) [54].

1.2.2 Роль ядра солітарного тракта в нормі та при патології та його участь в регуляції артеріального тиску

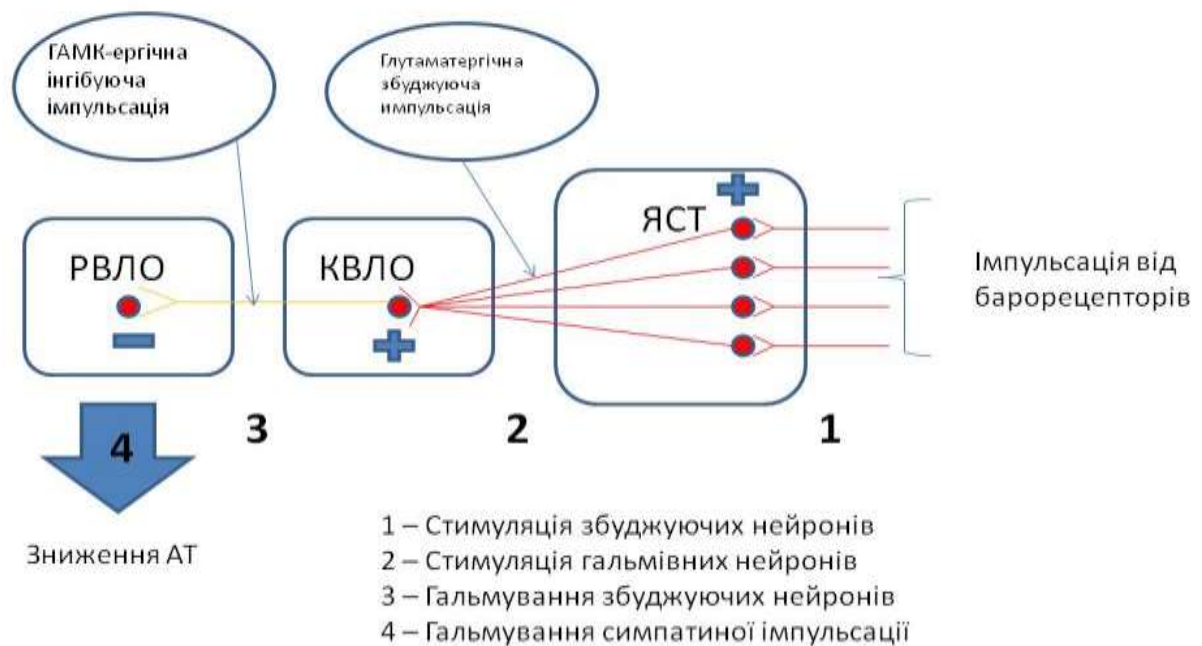
Сьогодні ЯСТ прийнято розглядати як первинний акцептор вхідної інформації з гастро-інтестинального тракту, респіраторної та серцево-судинної систем. Цілий ряд досліджень показує важливу роль ЯСТ в контролі прийому їжі, контролі енергетичного балансу і, відповідно, можливу патогенетичну роль дисфункції цієї структури в розвитку анорексії [55–58].

Не менш актуальними є дослідження ролі ЯСТ в регуляції системи зовнішнього дихання, що є можливим, завдяки наявності в ньому хемочутливих нейронів [59]. Більш того, Esteban A., Moya E. та співавт. показали, що нейрони ЯСТ здатні експресувати HIF-1 α , і це робить цю структуру важливою патогенетичною ланкою в розвитку пристосувальних реакцій дихальної системи до гіпоксії [60]. Ряд дослідників приписують порушенню синаптичної передачі та мієлінізації в ЯСТ недоношених дітей ключову роль у виникненні в них у подальшому синдрому раптової дитячої смерті [61].

Крім описаних функцій, сьогодні активно вивчається роль ЯСТ в терморегуляції [62, 63.] та регуляції больової чутливості [64].

Властивість ЯСТ підтримувати гомеостаз АТ зацікавила дослідників ще у 80-х роках [65–67]. Завдяки наявності чисельних міжструктурних зв'язків виявилася можливою, як термінова, так і довготривала регуляція АТ за участю ЯСТ. На сьогодні схема термінової регуляції АТ за участю ЯСТ виглядає таким чином: при збільшенні АТ відбувається активація барорецепторів дуги аорти та каротидного синусу. Збуджуюча імпульсація від останніх надходить

до ЯСТ. Звідти активуючі сигнали прямують до каудальної вентролатеральної області (КВЛО). Там збуджуються у свою чергу гальмівні ГАМК-ергічні нейрони, які посилають гальмівну імпульсацію до нейронів ростральної вентролатеральної області (РВЛО), що в результаті і призводить до зниження тону симпатичного відділу ВНС. При чому, чим сильніше збуджуючий сигнал від барорецепторів до ЯСТ, тим інтенсивніше зниження тону симпатичної нервової системи. Слід зазначити, що ГАМК-ергічні нейрони в межах ЯСТ можуть модифікувати дію барорефлексу шляхом гальмування збуджуючих імпульсів від ЯСТ до КВЛО, що відповідно призведе до послаблення гальмування симпатичної нервової системи (рис. 1.3) [68].



Примітка. РВЛО – ростральна вентролатеральна область, КВЛО – каудальна вентролатеральна область, ЯСТ – ядро солітарного тракту.

Рисунок 1.3 – Схема участі ЯСТ в регуляції АТ (за U. Steckelings) [68]

Механізми довготривалої регуляції АТ при участі ЯСТ включають в себе зв'язки із такими важливими структурами головного мозку як префронтальна кора та амігдала, що підключає емоційний компонент до контролю АТ [69, 70]. Крім цього, за даними електрофізіологічних досліджень, сюди можна віднести і зв'язок ЯСТ із гіпоталамусом (точніше із його

дозсомедіальним та паравентрикулярним ядрами) [71]. Слід зауважити, що механізми довготривалої регуляції АТ відбуваються завдяки описаним вище механізмам термінової регуляції, з тією різницею, що їх активація відбувається не шляхом збудження барорецепторів, а за рахунок активації нейронів медіальної префронтальної кори, амигдали та вказаних ядер гіпоталамусу [72].

1.2.3 Пептидергічна система ядра солітарного тракта

ЯСТ сьогодні вважається однією із найбагатших на нейропептиди та різноманітні нейротрансмітери областей стовбуру мозку. Одними із найперших медіаторів, що були знайдені в ЯСТ, та чия роль в патогенезі ряду патологічних процесів вивчається і по сьогоднішній день – це є ГАМК та глутамат [73, 74]. Велика група нейронів ЯСТ (A2-область) експресує тирозин-гідроксилазу, що означає наявність НА-ергічної активності в цих клітинах [75, 76]. Серед біогенних амінів крім НА в нейронах ЯСТ експресується дофамін [77], серотонін [78], гістамін [79]. Велика кількість дослідників вказують на важливу роль холінергічної активності нейронів ЯСТ в ряді патологічних станів [80, 81].

Крім описаних вище медіаторів в нейронах ЯСТ знайдено сумарно близько 20 нейропептидів. Найбільш важливими та представленими серед них є: NPY (нейропептид Y) [82], нейротензин, соматостатин [83] холецистокінін [84] енкефаліни [85], дінорфіни [86], вазоінтестинальний пептид [87], галанін [88], бомбезин [89], АКТГ (адренкортикотропний гормон) [85.], β-ендорфін [90.], α-МСГ (меланоцитстимулюючий гормон) [91], ангіотензин II [92] Крім вказаних нейропептидів зростає кількість повідомлень про важливу роль вазопресин- та оситоцин-ергічної інервації в ЯСТ [93, 62]. Також в ряді досліджень вивчається експресія в нейронах ЯСТ натрійуретичних пептидів та субстанції Р при цілому ряді патологій [94, 95].

1.2.4 Порухення морфо-функціонального стану та особливості пептидергічної системи ядра солітраного тракта при артеріальній гіпертензії

Питання вивчення морфо-функціонального стану ЯСТ при АГ завжди гостро стояло перед дослідниками. Вже у 80-х роках минулого століття дослідження в цьому напрямку проводилися досить інтенсивно. Не зважаючи на це, вчені і по сьогодні проводять ряд досліджень відкриваючи все нові і нові аспекти патогенетичної участі ЯСТ в механізмах розвитку АГ [65, 96-115]. Проведений аналіз літератури дозволяє виділити три основних напрямки, в контексті яких вивчається ЯСТ при АГ. Перший – порушення нейромедіаторної активності в ЯСТ при АГ [65, 96-113]; другий – порушення кровозабезпечення структури [114]; третій – нейрозапальні процеси в структурі ЯСТ [110, 115].

80-і роки минулого сторіччя були досить плідними на цілий ряд наукових даних, що описали вплив різного роду нейропептидів на стан структури ЯСТ при АГ. Основним методом таких досліджень було проведення прямої мікроін'єкції нейропептиду, що цікавив дослідника або його блокаторів в область ЯСТ, з подальшою реєстрацією реакції серцево-судинної системи (вимірювання АТ та ЧСС). Так, рядом досліджень було показано що мікроін'єкції вазопресину в область ЯСТ призводять до дозозалежного підвищення рівня АТ та ЧСС у нормотензивних щурів [65, 96]. Уже в ті роки дослідники виділили ГАМК, як важливий компонент, за допомогою якого ЯСТ контролює АТ. В роботах було показано, що введення інгібітору ГАМК в ЯСТ нормотензивних щурів приводить до підвищення АТ, більш того, проведені дослідження встановили, що саме рецептори до ГАМК типу В, а не А, реалізують здатність цієї амінокислоти в ЯСТ контролювати системний АТ [97]. Необхідно відмітити, що пізніше було показано порушення ГАМК-ергічної регуляції в ЯСТ у гіпертензивних щурів, що в цілому підтверджує важливість цього амінокислотного медіатору у патогенезі функціональних

порушень в ЯСТ при АГ [98]. Цим же методом мікроінекцій Robin A., Barraco R. та співавт. показали, що аденозин, введений безпосередньо в ЯСТ, призводить до дозозалежного зниження АТ у нормотензивних щурів [99].

Одночасно з цим переконливо були показані дофамін-ергічні та глутамат-ергічні механізми впливу функціональної активності ЯСТ на АТ [66, 100]. Віднедавна була продемонстрована роль опіодів і блокади опіодних рецепторів в ЯСТ в модуляції нервово-опосередкованої гіпотонії та брадикардії [101].

Досить значну увагу вчені приділяють стану ангіотензин II-ергічної системи та її рецепторної складової в ЯСТ при АГ. Так було показано, що гіпертензивний ефект Ат II в ЯСТ опосередковується через ангіотензинові рецептори першого типу (АТ-1R) [102], тоді як роль АТ-2R в підвищенні рівня АТ у нормотензивних щурів встановлена поки що не так однозначно. Так L. Légat та співавт відмічають, що стимуляція цього типу рецепторів в ЯСТ не приводить до підвищення рівня АТ у нормотензивних щурів, тоді як U. M. Steckelings та співавтори в своїх дослідженнях показали, що стимуляція центральних АТ-2R призводить до зниження активності симпатичної нервової системи, відповідно, до зниження АТ і автори це пов'язали із модифікацією ГАМК-ергічної модуляції серцево-судинного контролю [68, 103].

Враховуючи той важливий факт, що ЯСТ традиційно вважається першою аферентною ланкою, яка сприймає імпульсацію про підвищення АТ від барорецепторів дуги аорти, то ряд вчених припускають, що зниження чутливості барорефлексу, котре спостерігається при АГ, є результатом порушення функціональної активності нейронів саме цієї структури. Так був показаний вплив ГАМК [104], ангіотензину II [105] мозкового нейротрофічного фактору [106] аденозину [107] на чутливість барорецепторів у гіпертензивних і нормотензивних тварин.

В нових дослідженнях демонструється, що не тільки класичні нейромедіатори здатні впливати на контроль АТ при участі ЯСТ, вважають, що спектр таких речовин може бути значно ширшим. Так Hong-Bao Li та

співавт. показали вплив салусіну- β (нещодавно ідентифікованого біоактивного пептиду з периферичною гіпотензивною, мітогенною і антиатеросклеротичною дією), ін'єкція якого в ЯСТ спонтанно-гіпертензивних щурів приводила до зниження АТ та ЧСС та підвищувала чутливість барорефлексу у них [108]. Також був показаний інгібіторний ефект на АТ та ЧСС при введенні діоксиду сірки (що за сучасними даними може слугувати новою сигнальною молекулою в центральній нервовій системі) в структуру ЯСТ нормотензивних щурів [109].

Не менш важливою, з точки зору багатьох вчених, є роль системи монооксиду азоту в ЯСТ гіпертензивних тварин. Цій сигнальній молекулі приписують роль в деструкції нейронів ЯСТ [110]. Доведені дані, що свідчать про те, що оксид азоту опосередковує виділення цілого ряду інших нейромедіаторів в ЯСТ (ГАМК, ангіотензин II), чим змінює функціональну активність структури в цілому [111–113].

Крім порушень нейромедіаторної складової у функціонуванні ЯСТ при АГ дослідниками встановлений факт порушення кровопостачання в цьому ядрі. Це призводило до зменшення рівня тканинного кисню в ньому, що реєструвалося за допомогою швидкої циклічної вольтамперометрії [114].

Важливою складовою сучасних досліджень змін в ЯСТ при АГ є вивчення ролі нейрозапалення. Так нещодавні дані демонструють, що речовина фракталкін та його рецептор CX3CR1 пов'язані із запальною реакцією в ЯСТ тварин з гіпертензією. Вчені пов'язують стимуляцію цих рецепторів із активацією мікроглії та надмірну продукцію оксиду азоту, що сприяє хронічному запаленню в структурі при АГ [110]. Також сьогодні переконливо показана роль активації періваскулярних макрофагів і, відповідно, цитокінів, що ними виділяються у вегетативних центрах мозку (в т.ч. і в ЯСТ) при АГ у експериментальних тварин [115].

Аналізуючи вищесказані факти можна з впевненістю припустити, що морфо-функціональні зміни в ЯСТ при АГ безумовно є важливим патогенетичним механізмом розвитку даної патології. Проте, враховуючи

неоднозначність наукових донних можна зауважити, що дослідження ролі цієї структури і надалі буде актуальним питанням у вивченні патогенезу АГ.

1.3 Сучасні уявлення про будову та функції дорсального моторного ядра *n. vagus*, його участь в регуляції артеріального тиску

1.3.1 Структура дорсального моторного ядра *n. vagus* щурів

ДМЯ є головною ефекторною ланкою блукаючого нерву. Сьогодні завдяки дослідженням ряду вчених накопичена певна кількість інформації про його морфологію і структурну організацію [116, 117].

Дослідження Е. А. Fox та співавторів демонструють, що клітинна організація ДМЯ відповідає гілкам піддіафрагмального *n. vagus*. Так, автори відмічають, що 5 основних гілок, що віддає блукаючий нерв проходячи через діафрагму, відходять від чіткого стовпчику клітин у межах ДМЯ. Даний експеримент дозволив припустити, що ДМЯ щура організовано у чотири основні колони нейронів, що дають аксони на чотири черевні блукаючі гілки з найбільшою кількістю еферентів, та п'ятий стовпчик, який є спільним з одним із перших чотирьох. Указані основні чотири колони утворюють два поздовжні симетричні скупчення нейронів по обидва боки від центрального каналу довгастого мозку. З кожної сторони ДМЯ містить поздовжній веретеноподібний стовпчик, що відповідає одній із шлункових гілок (лівий ДМЯ – передня шлункова; правий ДМЯ – задня шлункова). У каудальних двох третинах ДМЯ тіла нейронів, чиї аксони йдуть до шлунку, займають медіальну частину ядра, тоді як у ростральній третині ядра, ці нейрони надходять та займають повну площу ядра. З кожної сторони латеральний полюс ДМЯ складається з когерентного стовпчика, що дає відростки до відповідної гілки сліпої кишки. Ці два стовпчики в значній мірі залишаються з латеральної сторони відповідних «шлункових» стовпців. П'ятий стовпчик клітин являє собою печінкову гілку, яка відокремлюється від лівого ДМЯ, і цей стовпчик

клітин простягається в росто-каудальному напрямку протягом всього ядра [116].

В той час участь ДМЯ в інервації серці і, відповідно, в регуляції серцевої діяльності активно дискутувалась, проте Z. Cheng та співавт. використовуючи методику ретроградного трейсингу показали наявність кардіальних гілок *n. vagus*, що беруть свій початок від нейронів ДМЯ стовбуру мозку [117].

1.3.2 Роль дорсального моторного ядра *n. vagus* в нормі та патології та його участь в регуляції артеріального тиску

Аксони нейронів ДМЯ дають початок прегангліонарним моторним гілкам блукаючого нерву, що направляються до відповідних гангліїв в грудній та черевній порожнині. Як було сказано вище, основна маса нейронів ДМЯ іннервує органи шлунково-кишкового тракту, тому не дивно, що більша частина досліджень сконцентрована навколо ролі цього ядра в патогенезі гастро-інтестинальної патології. Проте аналіз сучасної літератури показує, що порушення функціональної активності даної структури спостерігається при цілому ряді патологічних станів та процесів [118–130].

Слід відмітити, що функціональні зміни ДМЯ можуть відбуватися під впливом екзогенних факторів. Найбільш активно з них сьогодні вивчається дієта із високим вмістом ліпідів, що обумовлено її соціальним значенням. Так, було описано, що перинатальна дієта із високим вмістом жиру пригнічує активність нейронів ДМЯ, котрі іннервують шлунок, що на думку авторів дослідження сприяє дизрегуляції вагусного контролю моторики шлунку [118]. Одночасно із цим рядом вчених було відзначено, що така дієта сприяє порушенню активності ряду нейромедіаторів, таких як глутамат [119], ГАМК [120], сприяє активації NMDA-рецепторів [121].

В наукових публікаціях відмічалось, що функція ДМЯ порушується і при ряді патологічних станів. Так, були описані електрофізіологічні зміни в активності нейронів ДМЯ у щурів із модельованим паркінсонізмом. Саме із

ними автори пов'язують появу гастроінтестинальних розладів у таких хворих [122, 123].

В окремих дослідженнях було показано зміни функціональної активності ДМЯ щурів при цукровому діабеті [124]. В свою чергу Li Zhao та співавтори показують, що порушення роботи ДМЯ при експериментальному езофагіті призводить до обтяження перебігу захворювання і погіршує прогноз до повного видужання у експериментальних тварин [125]. Більш широко на можливу участь ДМЯ в регуляції запалення поглянув Adam M. Kressel з колегами, які в своєму дослідженні показали що, онтогенетична стимуляція холінергічних нейронів ДМЯ значно знижувала ендотоксин-індуковане підвищення рівня ФНО- α (фактору некрозу пухлини- α) в сироватці крові експериментальних тварин, що вчені пов'язують із участю блукаючого нерву у регуляції селезінки, котра як орган імунної системи реагує на системне запалення [126].

Окремої уваги заслуговують дослідни, котрі демонструють протекторну роль штучної активації ДМЯ у відповідь на інфаркт міокарду, що на думку дослідників може мати вирішальне значення у попередженні розвитку серцевої недостатності у таких хворих [127, 128].

Вплив на АТ при участі ДМЯ переконливо показаний в дослідженні Moreira, Thiago S, де показано, що тривала стимуляція прегангліонарних нейронів ДМЯ за допомогою лентівірусів у щурів зі спонтанною гіпертензією показало вірогідне зменшення АТ [129]. На думку дослідників один із механізмів цього реалізується завдяки тонічній, або інгібіторній імпульсації з ЯСТ, в залежності від вхідної імпульсації з барорецепторів: якщо остання свідчить про низький АТ, то вплив ЯСТ на ДМЯ буде інгібуючий, якщо про високий – навпаки [11, 130].

1.3.3 Пептидергічна система дорсального моторного ядра n. vagus

Пептидергічна система ДМЯ представлена досить широкою гамою нейропептидів, що експресують нейрони ядра, та великою кількістю рецепторів до нейропептидів, що не експресуються безпосередньо в ДМЯ, проте так чи інакше впливають на його функціонування [131-143]. Ці два факти свідчать про вплив ДМЯ на регуляцію вегетативних функцій в організмі, що має багатогранний характер і залежить, як від нейропептидного різноманіття всередині самої структури ДМЯ, так і від того спектру нейропептидів, що надходять із інших регуляторних структур головного мозку та чинять свій вплив на нейрони ДМЯ [131-143].

Сьогодні чітко показана наявність дофамін-ергічних нейронів в ДМЯ, а також рецепторів до дофаміну. Крім того добре описаний їх вплив на скорочення шлунку, кишківнику, та описані порушення в цій системі в ДМЯ, що виникають при експериментальній хворобі Паркінсона у щурів [131-133]. Також широко розповсюджена медіаторна система в ДМЯ – холінергічна. Рядом досліджень продемонстровано що холінергічний шлях відіграє велику роль в регуляції моторики шлунку, в підтриманні кишкового бар'єру, а також в деякій мірі активується при кишкових запальних захворюваннях, що має протекторну роль в перебігу цих хвороб [134-136]. Досить детально на сьогоднішній день описана також ГАМК-ергічна система, Y Jiang із колегами описали і статеві відмінності у ГАМК-ергічній імпульсації в ДМЯ [137-138].

Ряд дослідників відмітили важливу роль у функціонуванні структури так званих не адренергічних, нехолінергічних волокон, чий нейротрансміттери включають оксид азоту, вазоінтестинальний пептид, білок, що пов'язаний з геном катхитоніну [139].

Також в структурі ДМЯ були описані рецептори до цілого ряду медіаторів та нейропептидів, опосередковано через які реалізують свої ефекти на нейрони ДМЯ інші мозкові структури, що мають нейрон альні проєкції до нього. Так, описані адренергічні та серотонінергічні проєкції на ДМЯ від блакитної плями [140]. Встановлені рецептори до окситоцину та вазопресину на нейронах ДМЯ, відповідні проєкції до якого надходять від гіпоталамусу

[141-143]. Крім вказаних нейропептидів описані на нейронах ДМЯ рецептори до лептину, греліну, холецистокініну [139].

1.3.4 Порухення морфо-функціонального стану та особливості пептидергічної системи дорсального моторного ядра n. vagus при артеріальній гіпертензії

Досліджень, в котрих детально описані морфо-функціональні зміни, що відбуваються в ДМЯ на сьогоднішній день обмаль. Так, ще в далеких 90-х роках К Shigematsu з колегами описали підвищену щільність зв'язуючих сайтів до субстанції Р в структурі ДМЯ у щурів із спонтанною гіпертензією [144]. Одночасно з цим було відмічене порушення експресії аденозинових рецепторів в ДМЯ гіпертензивних щурів [145]. Інша група вчених показала в своїх дослідженнях гіперекспресію ангіотензинових рецепторів 2 типу в ДМЯ у щурів з АГ [10]. Також було встановлено, що у щурів із АГ спостерігається залежна від віку втрата кардіальних вагальних прегангліонарних нейронів [146].

Резюмуючи все вищезазначене, можна сказати, що, незважаючи на доведену роль ДМЯ в регуляції АГ, на сьогоднішній день свідчень про морфо-функціональні зміни в ньому при АГ обмаль. Тому актуальним залишається продовження досліджень патогенетичної ролі ДМЯ, як головної ефекторної ланки блукаючого нерву в розвитку серцево-судинної патології.

Резюме: Таким чином, проведений аналіз літературних джерел свідчить про безсумнівну роль БП, ЯСТ та в ДМЯ в регуляції судинного тонуусу та наявність в них морфофункціональних змін, асоційованих із АГ. Аналіз наукових джерел визначив, що на сучасному етапі досліджень досить широко показані зміни нейромедіаторного спектру в цих структурах при різного роду патологіях, включаючи і АГ. Проте, незважаючи на багаторічні

вивчення патогенетичної участі БП, ЯСТ та ДМЯ в розвитку АГ на сьогодні залишається ряд недостатньо висвітлених питань.

Перш за все недостатньо описаний патогенетичний зв'язок морфологічних змін певної структури із змінами експресії ключових нейротрансмітерів, що відіграють роль в регуляторному впливі тієї чи іншої структури на АТ. По-друге, відкритим залишається питання балансу експресії пресорних і депресорних нейропептидів при АГ у структурах БП, ЯСТ та ДМЯ. По-третє, погано висвітленим в літературних джерелах залишається питання взаємозв'язку морфо-функціональних змін в регуляторних структурах АТ при різних за етіопатогенетичним походженням АГ. Саме тому ці недостатньо з'ясовані питання потребують більш детального вивчення.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дисертаційна робота виконана на базі кафедри патологічної фізіології та навчального медико-лабораторного центру Запорізького державного медичного університету МОЗ України протягом 2017-2020 років.

Для встановлення патогенетичних особливостей морфо-функціонального стану структур дорсального комплексу n. vagus та locus coeruleus (дорсального моторного ядра та ядра солітарного тракту) при патогенетично різних моделях артеріальної гіпертензії (есенціальної та ендокринно-сольової) було проведено комплекс досліджень, який включав моделювання експериментальної патології, паралельних інструментальних, імуногістохімічних та морфо-денситометричних методів, статистичний аналіз отриманих результатів.

2.1 Матеріал дослідження

Виходячи з поставленої мети з 30 щурів-самців лінії Wistar та 15 самців лінії SHR (Spontaneous Hypertensive Rats) були сформовані три експериментальні групи. Важливою умовою включення тварин до експериментальних груп був їх вік, який на момент введення до експерименту складав 13-14 місяців. Вікові особливості тварин були пов'язані із статистичними особливостями розвитку артеріальної гіпертензії у людської популяції [147, 148].

Щури, які використовувалися в дослідженні, були отримані із розплідника «Біомодельсервіс» м. Київ, середня вага становила 270-340 г.

У віварії Запорізького державного медичного університету умови утримання тварин були стандартні та відповідали вимогам European Convention for the protection of Vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (ETS №123).

У відповідності із вимогами тварини цілодобово знаходились при температурі 20-25⁰С, світовому режимі 7-00 – 19-00 із вільним доступом до їжі та води. Всі експериментальні дослідження були проведені в осіннє-зимовий період.

Експериментальну частину дослідження було виконано в суровій відповідності до національних «Загальних етичних принципів проведення експериментів на тваринах» (Україна 2001), що узгоджені з Директивою 2010/63 ЄС Європейського парламенту та Ради від 22 вересня 2010 року «Про захист прав тварин, що використовуються в наукових цілях». Комісією з питань біоетики Запорізького державного медичного університету МОЗ України (протокол № 11 від 29.10.2020) порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено. Усі прилади, які використовувались для дослідження сертифіковані та проходять щорічну метрологічну експертизу (протокол № 334 від 23.10.2020 р.).

Об'єктом дослідження у щурів були структури довгастого мозку (компоненти дорсального комплексу блукаючого нерву та блакитна пляма).

2.1.1 Експериментальні групи щурів

Піддослідні тварини були розподілені на три експериментальні групи в яких передбачалося сформувати нормотензивний контроль та дві групи із етіологічно різними артеріальними гіпертензіями. Відповідно нормотензивним контролем стали інтактні щури лінії Wistar. Відібрані за рівнем артеріального тиску (АТ) щури лінії SHR, які є загальноприйнятою моделлю первинної артеріальної гіпертензії людини (МКБ 10 - I 10), склали групу есенціальної артеріальної гіпертензії (ЕАГ). Щури лінії Wistar із змодельованою вторинною ендокринно асоційованою артеріальною гіпертензією (у людини за МКБ 10 - I 15.2), склали групу з ендокринно-сольовою гіпертензією (ЕСАГ).

Розподілення тварин за експериментальними групами представлено в таблиці 2.1.

Таблиця 2.1 - Розподілення щурів в експериментальних групах

№ п/п	Експериментальні групи	Кількість тварин
Щури-самці лінії Wistar (нормотензивний контроль) <i>складається з двох підгруп 1а та 1б</i>		
1а	Щури-самці лінії Wistar (інтактні)	10
1б	Щури-самці лінії Wistar <i>із введенням колхіцину</i>	5
Щури-самці лінії SHR складається з двох підгруп 2а та 2б		
2а	Щури-самці лінії SHR	10
2б	Щури-самці лінії SHR <i>із введенням колхіцину</i>	5
Щури-самці лінії Wistar із ендокринно-сольовою моделлю артеріальної гіпертензії - складається з двох підгруп 3а та 3б		
3а	Щури-самці лінії Wistar із ендокринно-сольовою моделлю артеріальної гіпертензії	10
3б	Щури-самці лінії Wistar із ендокринно-сольовою моделлю артеріальної гіпертензії <i>із введенням колхіцину</i>	5

В основних групах 1а, 2а та 3а було проведено 5-и разове вимірювання АТ, морфоденситометричний аналіз ядер нейронів блакитної плями (БП) стовбуру мозку та структур дорсального комплексу n.vagus (ядра солітарного тракту (ЯСТ) та дорсального моторного ядра (ДМЯ); було виконано імуногістохімічне дослідження експресії трьох ізоформ синтази оксиду азоту (nNOS, iNOS, eNOS).

В кожній групі окремо були сформовані додаткові підгрупи по 5 тварин у кожній – 1б, 2 б та 3б, яким для підвищення детекції вмісту досліджуваних нейропептидів (ангіотензину II та мозкового натрійуретичного пептиду) проводилося попереднє інтрацеребровентрикулярне введення колхіцину в

бокові шлуночки головного мозку. Ця процедура завдяки здатності колхіцину до пошкодження елементів цитоскелету клітини сприяла гальмуванню аксоплазматичного транспорту нейропептидів в нейронах та внутрішньоклітинному їх накопиченню. В результаті такої маніпуляції підвищується ступінь детекції ангіотензину II та мозкового натрійуретичного пептиду в досліджуваних структурах.

В усіх експериментальних групах тварин, як на етапі їх формування так і протягом дослідження проводилося п'ятиразове вимірювання артеріального тиску, при цьому щури групи 1а та 1б показали стабільні показники протягом усіх вимірювань $110/75 \pm 5$ мм.рт.ст. Це дозволило віднести їх до групи нормотензивних тварин.

В групах 2а, 2б, 3а та 3б показники артеріального тиску мали відмінності та залежали від етіопатогенетичних особливостей моделі та терміну моделювання.

Групи 2а та 2б формувалися з самців-щурів лінії SHR, які, як відомо, характеризуються віковим підвищенням артеріального тиску вже з 2-3 місяців життя, що досягає критичних значень після статевого періоду 8-10 місяців [147, 148]. Віковий період 13-14 місяців відповідає у щурів зрілому віку людини та характеризується не тільки стабільним підвищенням артеріального тиску, багато дослідників відмічають у них численні ураження органів-мішеней (серця, нирок, мозку) [147]. 5-и разове вимірювання артеріального тиску у них показало стабільно високі значення $165/110 \pm 10$ мм.рт.ст, що стало підтвердженням адекватності та відповідності моделі есенціальній артеріальній гіпертензії людини, яка розвивається спонтанно, прогресує з віком та завжди призводить до пошкоджень органів-мішеней [147].

В групах 3а та 3б, які складала щури, котрим на протязі 30 діб моделювали ендокринно-сольову артеріальну гіпертензію через порушення добового рівня кортикостероїдів та тривалого сольового навантаження [149] при першому вимірюванні на етапі формування груп артеріальний тиск дорівнював $110/75 \pm 5$ мм.рт.ст., при другому та третьому – на 5-у та 10-у доби

моделювання АТ коливався у межах $130/85 \pm 5$ – $145/90 \pm 5$ мм.рт.ст., на 14-у добу спостерігалось стабільне його підвищення до $160/100 \pm 10$ мм.рт.ст., яке залишалось у цих високих значеннях до завершення моделювання – 28-ї доби.

На 30-у добу експерименту тварин усіх груп з 18-00 позбавляли їжі і наступної доби з 10-00 години виводили з експерименту методом одномоментної декапітації під наркозом (тіопентал натрію 40 мг/кг внутрішньочеревно).

Для ефективності видалення об'єкту дослідження (довгастого мозку) негайно, після декапітації тварин, відбирали мозок та розміщували його у охолоджену 0,9 % розчині NaCl, відмивали залишки крові, переносили на лід та гострим скальпелем відсікали лобні та тім'яні долі. Після цього розміщували у фіксуєчій суміші Буена.

2.2 Методи дослідження

В експериментальних групах щурів було проведено комплекс паралельних інструментальних, імуногістохімічних та морфоденситометричних досліджень, який включав:

1. 5-и разове вимірювань рівня АТ.
2. Визначення морфоденситометричних характеристик ядер нейронів блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра та проведення структурно-популяційного аналізу їх нейронів за площею ядер.
3. Дослідження ізоформного профілю ферменту NOS (eNOS, iNOS, nNOS) у структурах блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра довгастого мозку.
4. Встановлення вмісту, концентрації та розповсюдженості у структурах блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра довгастого мозку нейропептидів: ангіотензину II та мозкового натрійуретичного пептиду.

2.2.1 Моделювання артеріальних гіпертензій

Пошук експериментальних моделей артеріальної гіпертензії обумовлений високою розповсюдженістю цієї патології, складністю та багатогранністю її патогенезу. Слід сказати, що підібрана адекватна експериментальна тваринна модель АГ є ключем до отримання достовірних даних про патогенез цього захворювання, що в перспективі подальших досліджень відкриває нові горизонти пошуку молекулярних мішеней для фармакологічного впливу та нові підходи до лікування цієї хвороби. На сьогодні існує значна кількість моделей різних патогенетичних видів АГ на щурах.

В представленому дослідженні були відібрані моделі есенціальної та вторинної ендокринно асоційованій АГ, як найбільш розповсюджених типів цієї патології [150].

2.2.1.1 Модель есенціальної артеріальної гіпертензії

На сьогодні в світі існує декілька загальноприйнятих моделей есенціальної АГ. Серед них можна відділити наступні:

1. Dahl salt-sensitive rat (DS), щури котрі чутливі до сольового навантаження і, при відповідній сольовій дієті (8 % NaCl), демонструють підвищений АТ. Недоліком цієї моделі є саме це додаткове зовнішнє втручання, котре не відображає всю багатокomпонентність ланок патогенезу есенціальної АГ [147].

2. Трансгенні гіпертензивні щури, в яких підвищення АТ виникає як наслідок збільшеної експресії заданого гену. Ця модель найкраще підходить для досліджень ролі конкретного гену в розвитку артеріальної гіпертензії. Яскравим прикладом є трансгенний щур TGR (mREN2). Проте ця модель, як заявляють дослідники, не може бути екстрапольована на людську гіпертонічну хворобу внаслідок обмеження кількості залучених ланок патогенезу в її

розвитку. Але вчені сходяться в тому, що така модель допомагає більш детально в природних умовах дослідити наслідки надмірної моногенної активації ренін-ангіотензин-альдостеронової системи (РААС) [147].

3. Щури, що на межі гіпертензії (Borderline hypertensive rat (BHR)). Являють собою перше синівське потомство спонтанно-гіпертензивних щурів (SHR) та нормотензивних Wistar-Kyoto (WKY), що володіють генетичною інформацією обох батьків. Ця лінія добре підходить для дослідження впливу факторів оточуючого середовища на розвиток артеріальної гіпертензії у генетично схильних до неї щурів [147].

4. Необхідно відмітити, що і до сьогодні найбільш поширеною і загальноприйнятою моделлю есенціальної АГ людини є щури лінії SHR (Spontaneously hypertensive rats). Тварини саме цієї лінії були використані в представленому дослідженні. Вони вперше були описані К. Окамото та К. Аокі у 1963 році в медичній школі м. Кіото. SHR були виведені інбредно з щурів лінії Wistar та Wistar-Kyoto. Доведено, що гіпертензія у них виникає на 4-6 тижні постнатального розвитку спонтанно, без жодних хірургічних та медикаментозних втручань. На сьогоднішній день достеменно не відомі всі патогенетичні механізми розвитку АГ у цих щурів. Встановлено, що SHR мають спадкові дефекти натрієвих та кальцієвих каналів на мембрані гладких міоцитів стінки резистивних артерій. Це призводить до збільшення загального периферичного опору судин (ЗПОС) та підвищує їх чутливість до різних за характером пресорних впливів [147, 148]. Більше того, показано, що у цієї лінії щурів спостерігається виражена ендотеліальна дисфункція, присутне порушення механізму пресорного натрійурезу та зменшення кількості функціонуючих клубочків у нирках [147, 148]. Багато вчених виділяють як основну патогенетичну ланку артеріальної гіпертензії у SHR підвищення тонузу симпатичної нервової системи (СНС) [147, 148]. Підсумовуючи вищезгадане, можна сказати, що у щурів SHR в розвитку артеріальної гіпертензії відіграють важливу роль порушені основні компоненти підтримання сталості АТ: судинний, нирковий, нервовий. Не вслід виключати

також можливість залучення в загальну схему патогенезу АГ у SHR і ендокринного компоненту. Саме ця багатогранність ланок патогенезу АГ у спонтанно гіпертензивних щурів дозволила вченим справедливо застосовувати їх в якості найбільш відповідної моделі есенціальної гіпертензії людини [147, 148].

Саме тому серед можливих експериментальних моделей первинної есенціальної артеріальної гіпертензії було обрано саме щурів лінії SHR з яких сформовано групи 2а та 2б (див. табл. 2.1).

2.2.1.2 Модель вторинної ендокринно асоційованої артеріальної гіпертензії (ендокринно-сольова)

Найбільш розповсюдженими причинами симптоматичної (вторинної) артеріальної гіпертензії людини середнього віку є ендокринні захворювання, і частіше за все, це хвороби наднирникових залоз (феохромочитома, гіперальдостеронізм, гіперкортицизм). Використана в дослідженні модель ендокринно-сольової артеріальної гіпертензії (ЕСАГ) найбільшою мірою відтворює основні ланки патогенезу саме цього виду вторинних АГ.

У науковій літературі зустрічається подібна розробленій моделі АГ з введенням дезоксикортикостерону ацетату (20-150 мг/кг), видаленням однієї нирки та паралельним сольовим навантаженням (0,6-1 % NaCl) (DOCA-salt hypertension). Проте дослідники вказують на ряд обмежень в застосуванні цієї моделі: це великі дози лікарського засобу, що використовується, вимога до хірургічного видалення однієї нирки та сумарний добовий прийом великої кількості солі [149]. Ці недоліки у моделі, що використана в даному дослідженні відсутні.

Принцип моделювання ЕСАГ. Ендокринно-сольову артеріальну гіпертензію моделювали у щурів віком 13–14 місяців шляхом багаторазового внутрішньочеревинного введення преднізолону за наступною схемою: протягом 30 днів, двічі на добу, о 7-00 – 2 мг/кг, о 20-00 – 4 мг/кг, з примусовим

випоюванням 5 мл 2,3 % розчину NaCl). Як вже було відмічене раніше обраний вік щурів обумовлений тим, що він відповідає середньому віку людини, а саме в цьому віці найчастіше спостерігається розвиток вторинної артеріальної гіпертензії [9].

Моделювання вторинної ендокринно асоційованій артеріальної гіпертензії вищевказаним способом призводило до стійкого підвищення рівня артеріального тиску вже на 21-у добу. У піддослідних щурів з цим типом артеріальної гіпертензії він склав $160/90 \pm 5$ мм. рт. ст., тоді як в контролі становив $110/75 \pm 5$ мм. рт. ст. Очікуваний ефект досягався завдяки судинно-звужувальному ефекту преднізолону, через його мінералокортикоїдну активності (підвищення – реабсорбції натрію, та зменшення реабсорбції калію) та здатності до збудження симпатичних центрів нервової системи [149].

Таким чином, одномоментний вплив відразу на такі важливі фактори регуляції системного артеріального тиску як об'єм циркулюючої крові, загальний периферичний судинний опір та функціональна активність центрів симпатичної нервової системи сприяло формуванню стійкого підвищення артеріального тиску.

2.2.2 Методика вимірювання артеріального тиску

Наявність стабільно підвищеного артеріального тиску, що притаманно для сформованої артеріальної гіпертензії, у експериментальних тварин підтверджували шляхом неінвазивного його вимірювання за допомогою апарату Blood Pressure Analysis Systems TM BP-2000 Series II (Visitech Systems, USA) з автоматичним контролем температури в іммобілізаційному тунелі (рис. 2.1).



Рисунок 2.1 - Вимірювання артеріального тиску експериментальним щурам на апараті BP-2000 (Blood Pressure Analysis Systems™ BP-2000 Series II (Visitech Systems, USA))

Методика вимірювання артеріального тиску на ньому має свої особливості. Тиск вимірюється на хвостовій артерії з використанням манжетки. Це дає змогу багаторазово серіями вимірювати тиск розраховуючи середні значення та досліджувати його в динаміці. Важливою умовою для ефективного вимірювання артеріального тиску у щурів є підготовка тварин.

Підготовка тварин до дослідження та вимірювання АТ. Тварину розміщували в спеціальних іммобілізаційних боксах, що розташовані на платформі, котра підігрівається та постійно підтримує сталу температуру на рівні 37-39 °С. Особливість боксів полягала в тому що вони світлонепроникні. Завдяки цьому досягається мінімізація додаткового подразнення та стресування тварини. Процедура вимірювання тиску проводиться в абсолютній тиші. Середній час реєстрації артеріального тиску складає 3-7 хвилин. За цей час можливо провести 3-5 попередніх та 3-5 контрольних вимірювань. Апарат автоматично розраховує систолічний, діастолічний тиски та ЧСС [150].

Після попереднього тренування протягом 3-5 днів та комплектації груп вимірювання артеріального тиску проводилося 5-и разове: на момент

комплектації груп (1-а доба експерименту), на 5-у, 10-у, 14-у та 28-у доби експерименту.

2.2.3 Методика морфоденситометричних досліджень ядер нейронів блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра

Для проведення морфоденситометричних досліджень тварин декапітували під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг внутрішньобрюшинно). Після чого негайно, протягом 2-3 хвилин видаляли мозок, відмивали у холодному фізіологічному розчині NaCl та розміщували на 20 годин у фіксуєчій суміші Буена. Цей фіксатор готувався *ex tempore* з насиченого водного розчину пікринової кислоти (1,2 %), концентрованого формальдегіду (35-40 %) та льодяної оцтової кислоти у співвідношенні 15:5:1 відповідно. Серед усього різноманіття фіксаторів і складних фіксуєчих сумішей була надана перевага саме рідині Буена, так як вона добре фіксує всі тканини, не призводить до значного стискання та деформації тканин та органів, що в ній фіксовані, підходить для використання як в морфометричних (без втрати якості фарбування зрізів), так і в імуногістохімічних дослідженнях.

По закінченню 20-и годинної фіксації біологічний матеріал (фрагмент мозку щура) піддавали 2-о годинному промиванню під холодною проточною водою з метою вимивання пікринової кислоти. Далі слідувала процедура зневоднення органу у висхідних концентраціях етанолу, а саме: 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 96 %, 100 %-1, 100 %-2, потім в розчинах: етанол 100 % + хлороформ (2:1), етанол 100 % + хлороформ (1:1), етанол 100 % + хлороформ (1:2), чистий хлороформ, хлороформ + парапласт (MkCormick, США) (1:3) (T = +37 °C), на 1 годину поміщали в рідкий парапласт (MkCormick, США) (T = +56 °C) і потім укладали в парапластові блоки.

На ротаційному мікротомі Microm-325 (Microm Corp., Німеччина) готували серійні фронтальні зрізи стовбуру мозку товщиною 7 мкм для морфоденситометричного дослідження.

Для визначення морфоденситометричних характеристик ядер досліджуваних нейронів 7 мкм серійні зрізи довгастого мозку після 10 денного просушування зрізів в термостаті при ($t=+37^{\circ}\text{C}$) їх депарафінізували в ксилолі (5 хв), ксилол+спирт 100 % (1:1), з подальшою, по 5 хв, регідрацією в низхідних концентраціях етанолу (100 %, 96 %, 80 %, 70 %, 60 %, 50 %) і тричі по 5 хв відмивали в дистильованій воді. Після чого скельця з серійними зрізами довгастого мозку протягом 48 годин фарбували галоціанін-хромовими галунами за Ейнарсоном [151]. По закінченні терміну фарбування скельця знов промивали двічі у дистильованій воді по 5 хв, проводили висхідну дегідратації у спиртах (від 50 % до 100 %), розміщували на 5 хв у розчині ксилол+спирт 100 % (1:1), чистому ксилолі на 5 хв та закріплювали в полімерному середовищі EUKITT (O.Kindler Gmb H, Німеччина).

Метод фарбування на нуклеїнові кислоти (НК) за Ейнарсоном, що дозволяє кількісно визначити їх вміст в клітині та її ядрі, має ряд переваг перед аналогічними методами (фарбування метиленовим синім та крезіловим фіолетовим). Це, по-перше, пов'язано із тим, що барвник зв'язується з нуклеїновими кислотами настільки міцно, що при наступному промиванні препарату втрат барвника не відбувається, тобто зберігаються незмінними денситометричні характеристики. По-друге, барвник надає нуклеїновим кислотам ортохроматичне фарбування, що має високу специфічність для обох нуклеїнових кислот в зоні рН від 1,50 до 1,75 з оптимумом фарбування 1,54 [151].

Результат забарвлення зрізу довгастого мозку в області блакитної плями представлено на рисунку 2.2. Вивчення зрізів, пофарбованих за Ейнарсоном (див. рис 2.2) проводили у видимому спектрі на мікроскопі AXIOSCOP (CarlZeiss, Німеччина).

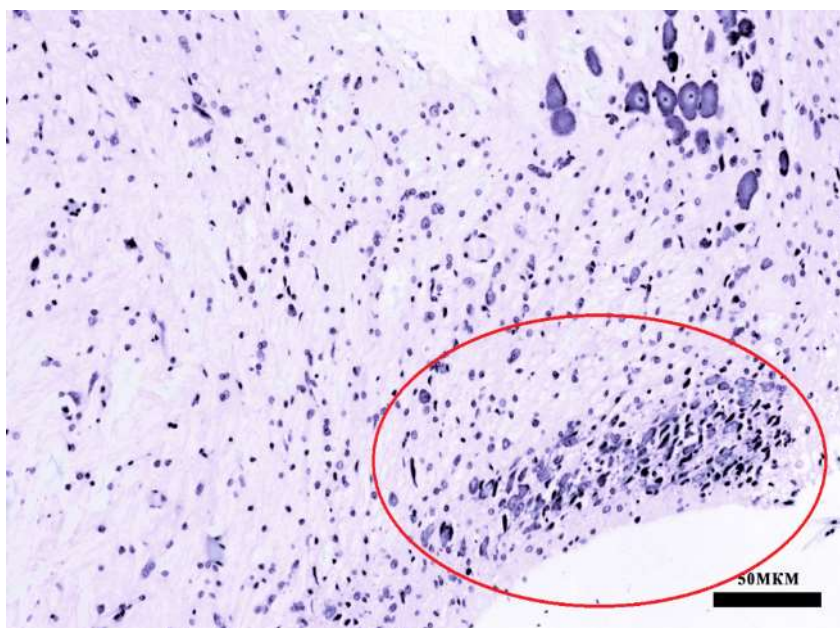
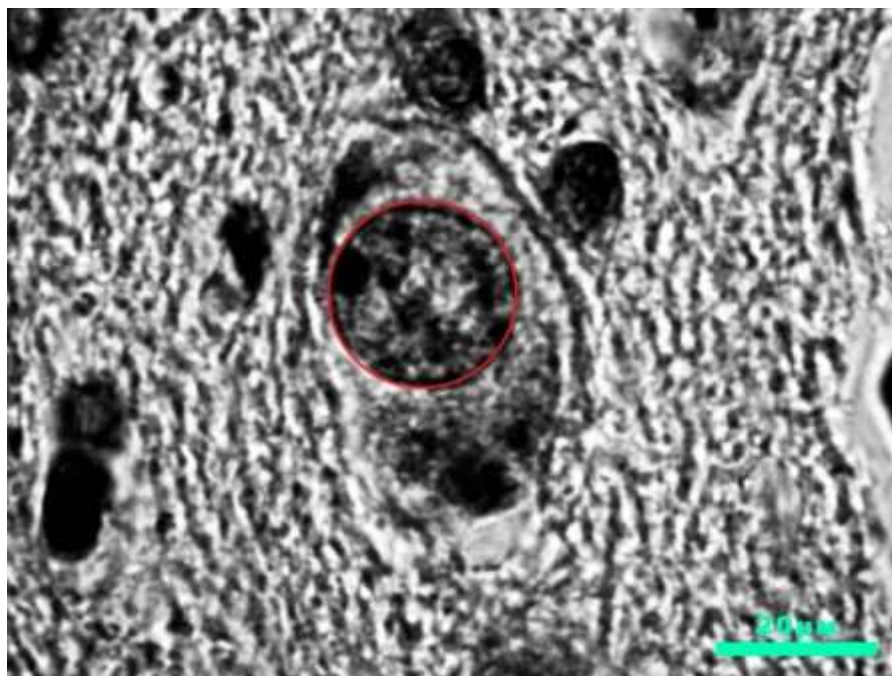


Рисунок 2.2 - Нейрони блакитної плями довгастого мозку щура контрольної групи, забарвлення галоціанін-хромовими галунами за Ейнарсоном

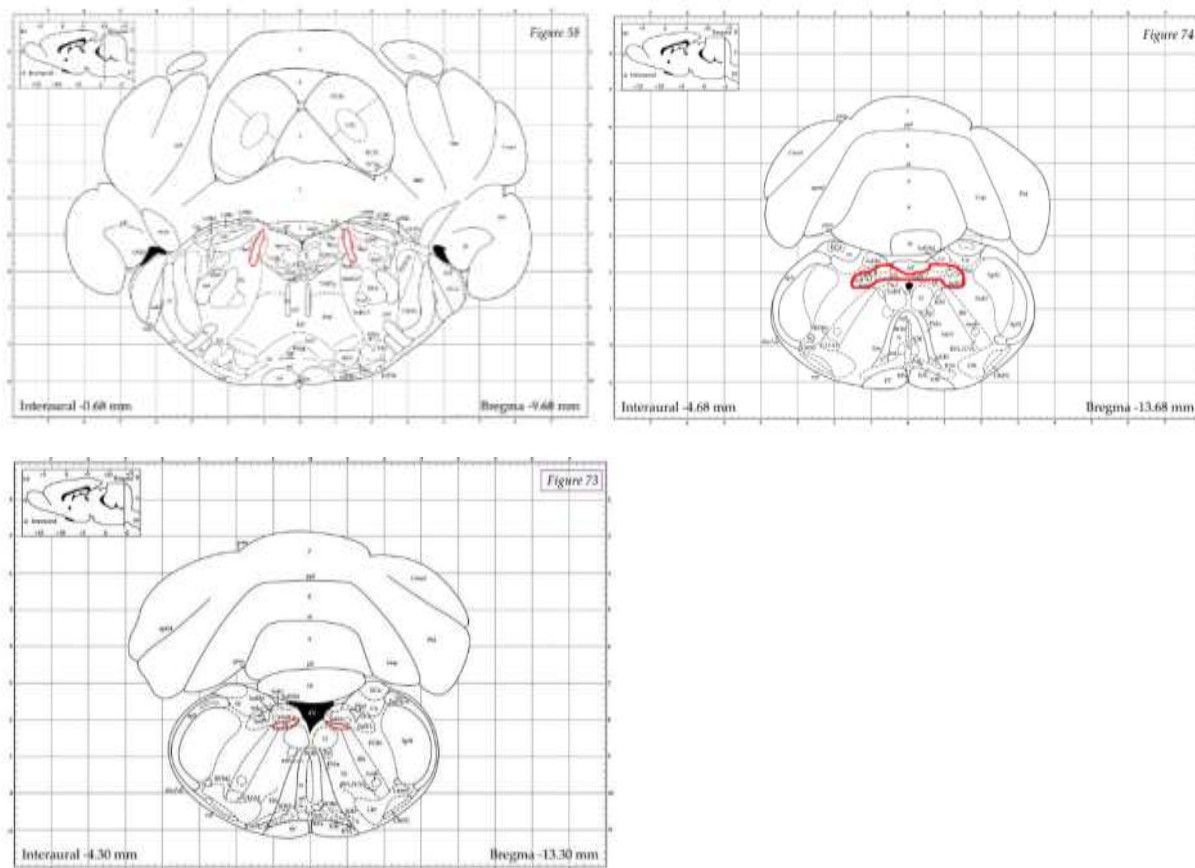
Зображення, що отримували за допомогою чутливої камери СОНУ 4922 (СОНУ Inc., США), записували у вигляді комп'ютерного файлу (рис. 2.3).



Примітка. Червона лінія відокремлює область ядра нейрону та відповідає області «зони інтересу» для автоматичного аналізу зображення.

Рисунок 2.3 - Мікрозображення нейронів ДМЯ довгастого мозку щура контрольної групи, забарвлення галоціанін-хромовими галунами за Ейнарсоном

Топографічну ідентифікацію нейронів досліджуваних структур довгастого мозку – блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра n. vagus проводили за допомогою стереотаксичного атласу мозку щурів (рис. 2.4).



Примітка. Червоною лінією виділено структури, що досліджувалися.

Рисунок 2.4 – Топографія блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра довгастого мозку у щурів лінії Wistar за Paxinos G., Watson C, 2006 [152]

Далі в інтерактивному режимі в зоні що топографічне відповідає розміщенню ядер, що досліджуються, визначали нейрони, які містять ядро з чіткими межами, присутній дрібно дисперсний хроматин та ядерце (див. рис. 2.3). Всі інші клітини, які менші за розмір, мали не однорідну структуру ядра та не чіткі його межі, або надмірно забарвлене ядро на фоні інших, в дослідження включені не були.

Кількість досліджених нейронів склала не менше 100-150 клітин у кожному досліджуваному ядрі в кожній експериментальній групі тварин.

Для автоматичного аналізу зображення використовували програму цифрового аналізу Image J [153]. Для цього на попередньому етапі у інтерактивному режимі на мікрозображеннях виділяли в нейронах область ядра, що у подальшому розглядали як зону «інтересу». Завдяки цьому програмно обчислювалися наступні морфоденситометричні параметри:

Площа ядра нейрону (S , мкм²), що розраховувалася в автоматичному режимі завдяки попередньо заданому програмі скейлінгу, що дозволяв перерахувати пікселі в мкм² (рис. 2.5).

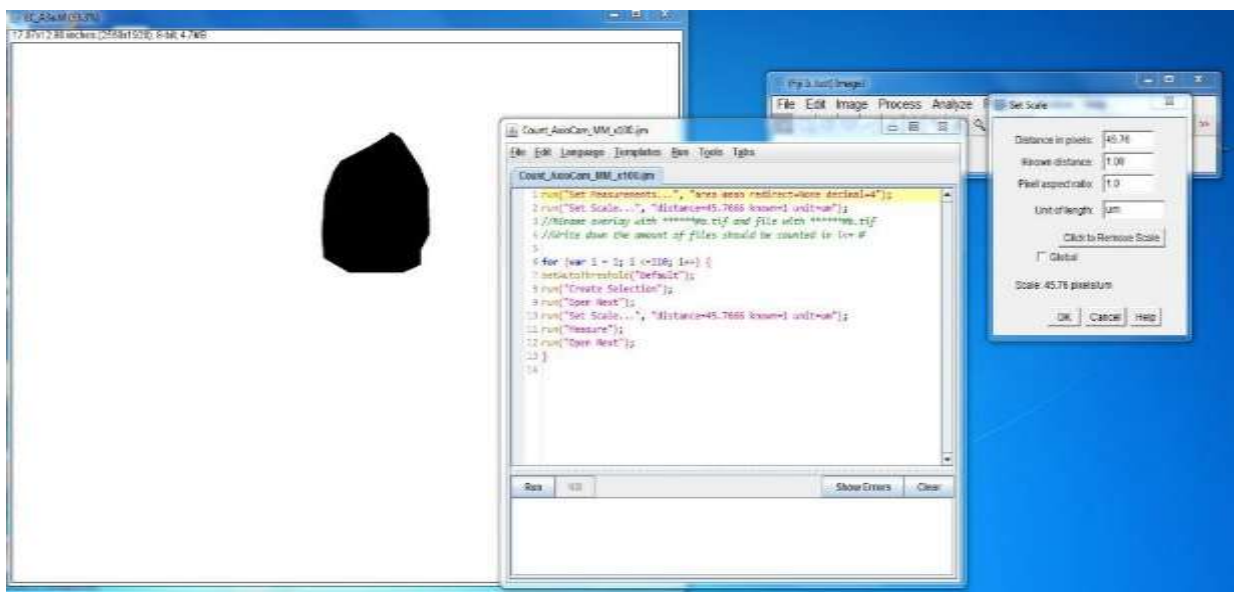


Рисунок 2.5 – Прин-скрін скейлінгу заданого програмному забезпеченню Image J для розрахунку площі ядра нейрону

Вміст НК в зрізі ядра нейрону (*Integrated density, ID*) – оптична густина НК, що вимірювалася в умовних одиницях оптичної густини (U_{OD}) та розраховувався за формулою:

$$ID = U_{OD} * S \quad (2.1),$$

де U_{OD} - некалібрована оптична щільність;

S – площа ядра нейрону, мкм².

В свою чергу U_{OD} розраховувалася за наступною формулою:

$$U_{OD} = \log_{10}(255 / MG\bar{V}) \quad (2.2),$$

де MGV (Mean Gray Value) - показник, що відображає середнє значення градацій сірого в межах зони «інтересу». Являє собою суму значень градацій сірого всіх пікселів в цій зоні, поділеної на загальну кількість пікселів.

Концентрація НК в ядрі нейрону (Concentration, C) ($\text{yO}_{\text{Дог}}/\text{мкм}^2$), що опосередковано відображає функціональну активність нейрону. Цей показник розраховували за формулою:

$$C = ID / S \quad (2.3),$$

де ID - оптична густина НК, яка характеризує їх вміст в зрізі ядра клітини ($\text{yO}_{\text{Дог}}$);

S - площа ядра нейрону, мкм^2 .

2.2.3.1 Аналіз розподілу нейронів блакитної плями, дорсального моторного ядра, ядра солітарного тракту у щурів експериментальних груп за площею їх ядер

Для більш повного розуміння отриманих даних морфоденситометричних характеристик досліджуваних ядер нейронів довгастого мозку, визначення популяційних особливостей нейронів у структурі в цілому, був проведений аналіз розподілу нейронів за площею їх ядер з поділом всіх нейронів на 3 групи за площею їх ядер. Відповідно виділяли нейрони із малим, середнім та великим ядром. Підґрунтям до такого поділу слугував проведений статистичний аналіз міжквартильного інтервалу з визначенням показників нижнього та верхнього квартилів в популяції нейронів відповідного ядра стовбуру мозку. Таким чином, нейрони з площею ядра меншою за показник нижнього квартилю відносились до нейронів із малою площею ядра, нейрони із площею ядра більшою за показник верхнього квартилю відносились до нейронів із великою площею ядра, а нейрони, що мали діапазон площі ядер між показниками нижнього та верхнього квартилів відносились до нейронів із ядрами середніх розмірів.

2.2.4 Методика імуногістохімічного дослідження ізоформного профілю ферменту NOS у досліджуваних структурах довгастого мозку

Попередня гістохімічна обробка серійних зрізів довгастого мозку для імуногістохімічного дослідження подібна тій, яка використовувалась для морфоденситометричних досліджень (див. п.п. 2.2.3), з тією різницею, що зрізи стовбуру мозку були товщиною 10 мкм, а після регідrataції в низхідних концентраціях етанолу препарати стовбуру мозку тричі по 10 хв. відмивали 0,1 М фосфатним буфером (рН 7,2).

Для подальшого дослідження експресії ізоформ NOS на серійні зрізи довгастого мозку наносили первинні кролячі IgG до nNOS (Santa Cruz Biotechnology, USA) (розведення 1:200), первинні кролячі IgG до eNOS (Santa Cruz Biotechnology, USA) (розведення 1:200), та залишали у полімерних фіксаторах при ($t = +4^{\circ}\text{C}$, 24 години). Потім тричі по 10 хв. відмивали фосфатним буфером 0,1 М (рН 7,2). та наносили вторинні мишачі антитіла до IgG кроля, кон'юговані з FITC (Santa Cruz Biotechnology, USA) (1:200) і тримали при ($T = +37^{\circ}\text{C}$, 45 хв.), промивали три рази по 10 хв. фосфатним буфером (рН 7,2) та укладали в суміш гліцерин/фосфатний буфер (9:1).

На окремі скельця зі зрізами стовбуру мозку наносили мишачі IgG до iNOS, кон'юговані з FITC (Santa Cruz Biotechnology, USA) (1:200), тримали у полімерних фіксаторах при ($t = +4^{\circ}\text{C}$, 24 години). Після чого промивали три рази по 10 хв. фосфатним буфером (рН 7,2) та укладали в суміш гліцерин/фосфатний буфер (9:1).

Контроль специфічності зв'язування антитіл проводили аналогічним чином, за винятком інкубації з первинними антитілами до пептидів.

Дослідження зрізів стовбуру мозку для імуногістохімічного дослідження проводили в ультрафіолетовому спектрі збудження за допомогою світлофільтра 38HE з високою емісією на мікроскопі AxioImager-M2. Імунофлюоресцентні зображення кожної ізоформи NOS в середньої кількості 100-120 мікрофотографій по структурно (блакитної плями, ядра солітарного

тракту, дорсального моторного ядра) з відеокамери AxioCam-5HRm записували у вигляді комп'ютерного файлу з наступною обробкою системою цифрового аналізу Image J.

При аналізі мікрофотографій з імунною детекцією досліджуваних пептидів в інтерактивному режимі виділялися зони, що відповідали досліджуваним структурам, згідно стереотаксичному атласу мозку щура [152]. В них обчислювалися питома площа імунореактивного матеріалу (IPM) (%), вміст IPM в $O_{D_{i\phi}}$ та концентрація IPM ($O_{D_{i\phi}}/мкм^2$) до відповідної ізоформи.

Показник, відповідний **питомій площі** імунореактивного матеріалу (S_{IPM} , %) розраховувався в зоні інтересу в автоматичному режимі програмою Image J і являв собою відсоток ненульових пікселів.

Вміст IPM, $O_{D_{i\phi}}$ (за який приймався показник *corrected total cell fluorescence, CTCF*) розраховувався за формулою:

$$CTCF = (ID - (S * (M - SD))) / 1000 \quad (2.4),$$

де ID - показник інтегрованої щільності;

S - площа зони «інтересу»;

M (Median) – середнє значення пікселів в зоні «інтересу»;

SD – стандартне відхилення (*Standard deviation*) значень сірого, що розраховувалися в зоні «інтересу».

Концентрація (C) IPM, $O_{D_{i\phi}}/мкм^2$ розраховувалася за наступною формулою:

$$C = CTCF / S \quad (2.5)$$

де CTCF (*corrected total cell fluorescence*) – вміст IPM;

S - площа зони «інтересу».

2.2.5 Методика детекції ангіотензину II та мозкового натрійуретичного пептиду в досліджуваних структурах довгастого мозку

Визначення вмісту досліджуваних нейропептидів, а саме ангіотензину II та мозкового натрійуретичного пептиду в структурах довгастого мозку

потребує етапності, що складається з підготовки *in vivo* та проведення безпосередньої детекції *in vitro*.

Етап *in vivo* в групах щурів 1б, 2б, 3б складався з введення колхіцину в латеральний шлуночок мозку.

Методика здійснювалась наступним чином: за 48 годин до декапітації в останній день дослідження щурам інтрацеребровентрикулярно вводили 120 мкг колхіцину (SIGMA Chemical, США), що був розведений у 20 мкл 0,9 % розчину NaCl. Введення приготовленого таким чином розчину відповідним групам наркотизованих тіопенталом (40 мг/кг внутрішньочеревинно) тварин проводили за допомогою стереотаксичного цифрового апарату World Precision Instruments (США) (рис 2.2) та стереотаксичного атласу мозку щура [152]. Координатні показники були наступними:

- 9,5 мм від міжвушної лінії до переду;
- 1,5 мм праворуч від серединної лінії та 6 мм у глибину.

Безпосередньо позиціонування місця введення тваринам колхіцину здійснювали за стереотаксичною координатною системою, яка базується на зовнішньочерепних орієнтирах та їх співставленням із зображеннями стереотаксичного атласу мозку щура (рис. 2.6) [152].

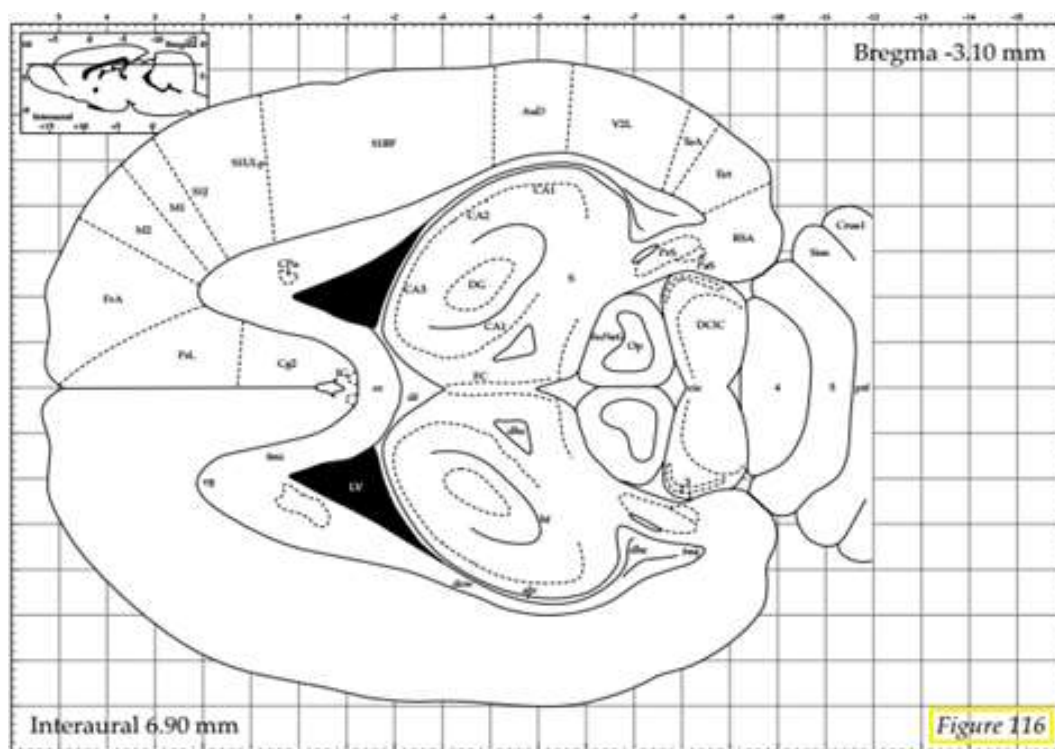


Рисунок 2.6 – Схема бокових шлуночків мозку щура для інтрацеребровентрикулярного введення колхіцину за Paxinos G., Watson C, 2006 [152]

Необхідність проведення попереднього етапу *in vivo*, який складався із введення колхіцину, пов'язаний із тим, що вміст нейрогормонів у несекреторних нейронах, або нейронах із слабкою синтетичною активністю, дуже низький. Більш того, постійне переміщення нейрогормонів, як у систему кровообігу так і аксонального транспорту, призводить до значних коливань показників їх вмісту [154]. Тоді як введення колхіцину в шлуночки головного мозку призводить до пошкодження мікротрубочок нейрону, що перешкоджає виходу нейросекрету із перікаріона пептид синтезуючих нейронів до аксону. При цьому відбувається блокада аксоплазматичного транспорту в нервових волокнах і виділення нейрогормонів в кровообіг порушується. В результаті вищесказаного нейросекрет накопичується в нейронах, що підвищує кількісну детекцію досліджуваних нейропептидів.

Для виключення небажаних ефектів внутрішньошлуночкових ін'єкцій додатковим 6 тваринам водили у боковий шлуночок мозку 20 мкл 0,9 %

розчину NaCl. Достовірних змін досліджуваних параметрів, у порівнянні з контрольною групою щурів, відзначено не було.

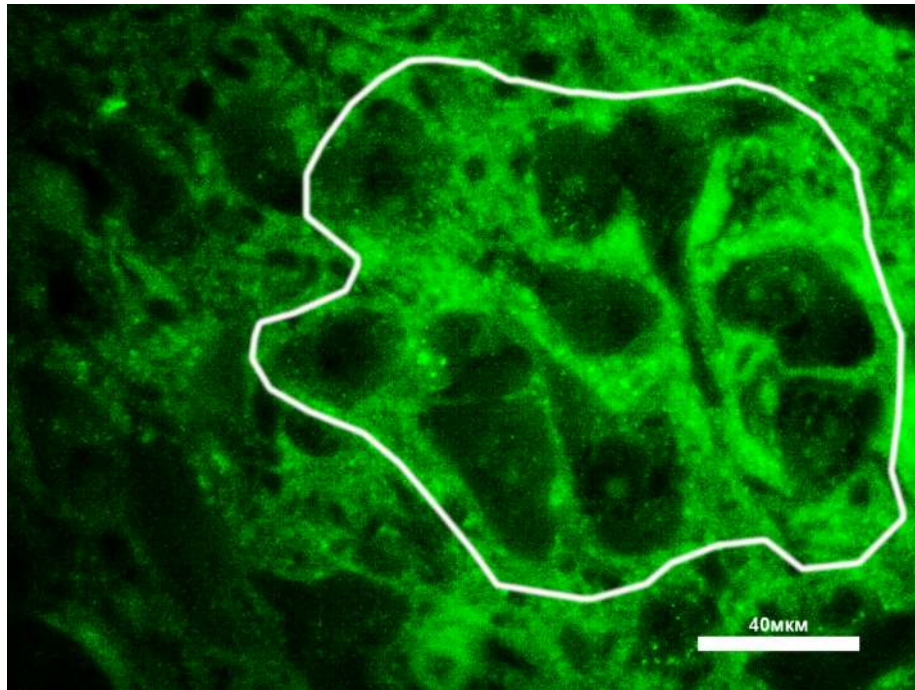
У подальшому проведення детекції проводилося *in vitro*, що включало в себе демаскування епітопів нейропептидів та, безпосередньо, імуногістохімічне визначення їх вмісту.

Для демаскування епітопів попередньо гістологічно підготовлені зрізи довгастого мозку, що були зроблені із мозку щурів груп 1б, 2б та 3б, за стандартною гістологічною методикою (див. п.п. 2.2.3) та після проведення регідратації у спиртах низхідних концентраціях скельця зі зрізами розміщували у скляних контейнерах об'ємом 50-70 мл із фосфатним буфером рН 6,0. Розміщували в мікрохвильовій печі де проводили демаскування епітопів нейропептидів шляхом 3-и разової інкубації по 3 хв. (ПВЧ 800 Ватт). По завершенні процедури контейнери вилучали, охолоджували до температури 20-25 °С та промивали фосфатним буфером рН 7,4 два рази по 5 хв. Після завершення етапу демаскування проводилось імуногістохімічне визначення експресії нейропептидів за стандартним протоколом фірми виробника Santa Cruz Biotechnology (USA).

Для цього гістологічні зрізи стовбуру мозку з прижиттєво введеним колхіцином інкубували з кролячим IgG до ангіотензину II щура (Santa Cruz Biotechnology, США) у розведенні 1:200 та козячі IgG до BNP (Santa Cruz Biotechnology, США) у розведенні 1:200. Скельця з нанесеними антитілами тримали в полімерних фіксаторах при (T= +4 °С, 24 години), потім наносили мишачі IgG до повної молекули IgG кроля, та мишачі IgG до повної молекули IgG кози кон'юговані з FITC (Santa Cruz Biotechnology, США), у розведенні 1:200 і тримали при (T=+37 °С, 45 хв.) й укладали в суміш гліцерин/фосфатний буфер (9:1).

Дослідження зрізів стовбуру мозку для імуногістохімічного дослідження кожного окремого нейропепетиду у відповідній структурі проводили в ультрафіолетовому спектрі збудження за допомогою світлофільтра 38HE з високою емісією на мікроскопі AxioImager-M2. Імунофлюоресцентні

зображення в середньої кількості 100-120 мікрофотографій (рис. 2.7) по структурно з відеокамери AxioCam-5HRm записували у вигляді комп'ютерного файлу з наступною обробкою системою цифрового аналізу Image J.



Примітка. Біла лінія відокремлює область значущої флуоресценції та відповідає області «зони інтересу» для автоматичного аналізу зображення.

Рисунок 2.7 - Імуногістохімічне дослідження експресії VNP в структурі БП стовбуру мозку щура групи 1б (контрольна). Інтерактивна «маска» для виділення зони значущої флуоресценції

Топографічну ідентифікацію досліджуваних структур довгастого мозку – блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра п. vagus проводили за допомогою стереотаксичного атласу мозку щурів (див. рис. 2.4).

Аналіз зображень та формули для розрахунку досліджуваних показників експресії нейрогормонів (питома площа імунореактивного матеріалу (ІРМ) (%), вміст ІРМ в $O_{диф}$ та концентрація ІРМ ($O_{диф}/мкм^2$) здійснювались за методикою описаною у пп. 2.2.4.

2.3 Методи статистичного аналізу

Усі отримані експериментальні дані обробляли пакетом прикладних та статистичних програм STATISTIKA ліцензія №JPZ804I382130ARCN10-J і EXCEL 7.0 (Microsoft Corp., США). Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m). Для виявлення достовірності відмінностей результатів досліджень у експериментальних і контрольних групах щурів визначали коефіцієнт Стюдента (t) для вибірки з нормальним законом розподілення даних, та визначали критерій Манна-Уїтні (U) для вибірки, дані якої не розподіляються за нормальним законом. Після чого визначали ймовірність відмінності вибірок (p). Достовірними вважали значення, для яких $p < 0,05$ [155].

РОЗДІЛ 3

МОРФОДЕНСИТОМЕТРИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ НЕЙРОНІВ БЛАКИТНОЇ ПЛЯМИ, ЯДРА СОЛІТАРНОГО ТРАКТА ТА ДОРСАЛЬНОГО МОТОРНОГО ЯДРА ЕКСЕРИМЕНТАЛЬНИХ ЩУРІВ ПРИ АРТЕРІАЛЬНІЙ ГІПЕРТЕНЗІЇ РІЗНОГО ГЕНЕЗУ

В представленому розділі наведені результати морфоденситометричного дослідження ядер нейронів блакитної плями, дорсального моторного ядра n. vagus, та ядра солітарного тракту у щурів контрольної групи та щурів із сформованою артеріальною гіпертензією (ЕАГ і ЕСАГ), а також представлений розподіл нейронів за площею їх ядер в кожній із структур, що досліджувалися. Для цього було вивчено каріометричні (площа ядра нейрона) та денситометричні (вміст та концентрація НК) показники ядер нейронів.

Ще в дослідженнях М. Lafarga, М. Т. Vergiano та співавт. [156] було показано, що розмір ядра нейронів тісно пов'язаний з вмістом нуклеїнових кислот та з рівнем функціональної активності клітини. Цей факт робить можливим опосередковане визначення рівня функціональної активності нейронів не вдаючись до прямих електрофізіологічних методик. Тому на основі комплексного аналізу вищевказаних показників в контрольній та експериментальних групах щурів була дана оцінка морфофункціональному стану нейронів в структурах, що досліджувалися, та характер відмінностей при артеріальній гіпертензії. Аналіз розподілу ядер популяції нейронів за площею в кожній із структур надавав додаткову інформацію про дисперсію площі ядер нейронів досліджуваних структур та, опосередковано, їх функціональну активність при АГ різного генезу.

3.1 Морфоденситометричні показники нейронів блакитної плями стовбуру мозку щурів при артеріальній гіпертензії різного генезу

БП розміщена поверхнево у латеральній частині дна 4-о шлуночку. Її дорсальна частина відділена від порожнини шлуночка лише епендимною глією та тонким шаром нейропілю. Латерально від БП лежить скупчення клітин – це мезенцефалічне ядро трійчастого нерву, медіально – центральна сіра речовина мосту, вентрально – *n. subcoeruleus*, що досить добре відмежовується від БП у безпородних щурів лінії Wistar. За літературними даними, морфологічно в БП виділяють 2 частини – оральну та каудальну. Каудальна частина складається з відносно щільно розміщених клітин середньої величини. Саме ці клітини і характеризуються специфічною для всіх катехоламінвмісних нейронів флюоресценцією при проведенні реакції за методом Фалька. Друга частина представлена дрібними та відносно рідко розміщеними клітинами. Вони простягаються у вигляді вузької полоси в медіолатеральному напрямлені в вентральному відділі центральної сірої речовини стовбуру мозку і безпосередньо медіальніше мезенцефалічного ядра трійчастого нерву, починаючи з каудального відділу середнього мозку [157].

При морфоцитометричних дослідженнях в структурі БП Shimizu and Imamoto виділяють переважаючий тип нейронів середнього розміру веретеновидної форми (20x15 мкм), крім цього ними були описані середнього розміру мультиполярні та дрібні овальні клітини [158]. В більш пізніших дослідженнях Shimizu et al. показано наявність 2-х основних типів клітин: нейронів веретеновидної форми середнього розміру (20x35 мкм), що частіше знаходилися в дорсокаудальній частині ядра, в той час, як клітини середнього розміру пірамідальної та мультиполярної форми розміщувалися в вентральній частині ядра. Окремо ці вчені виділяли клітин малого розміру (10x15 мкм). Ядра нейронів першої групи, як найбільш численних, були досліджені більш детально та описувалися, як великі з відносно гомогенною каріоплазмою. В них спостерігалось одне, або декілька ядерць [157]. Саме ця важлива інформація про анатомічні та морфоструктурні особливості нейронів БП дозволила провести ідентифікацію та визначити морфоденситометричні характеристики клітин в залежності від їх розміру та розташування.

Опираючись на приведені літературні дані в представлене дослідження включалися нейрони, що розміщувалися щільно в структурі БП, знаходилися близько до 4-о шлуночку та були однорідними за розмірами. Такий підхід забезпечував морфологічну гомологічність вибірки (рис. 3.1).

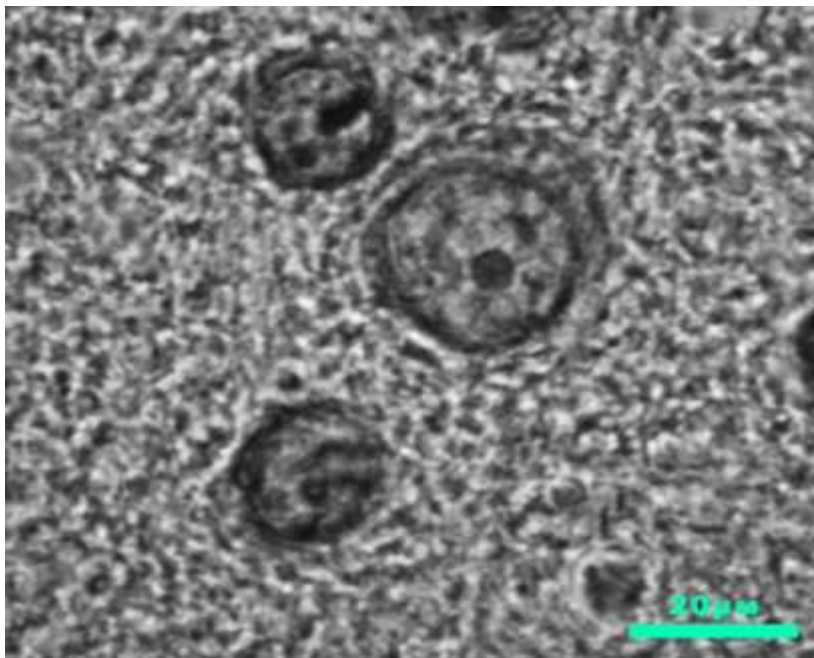


Рисунок 3.1 – Зображення нейрону блакитної плями у щурів контрольної групи

При дослідженні морфоденситометричних характеристик ядер нейронів БП були встановлені деякі особливості в показниках експериментальних груп у порівнянні з групою контролю та відмінності між самими експериментальними групами щурів з АГ (табл. 3.1, рис. 3.2).

Таблиця 3.1 - Морфоденситометричні показники нейронів БП стовбуру мозку щурів експериментальних груп ($M \pm m$)

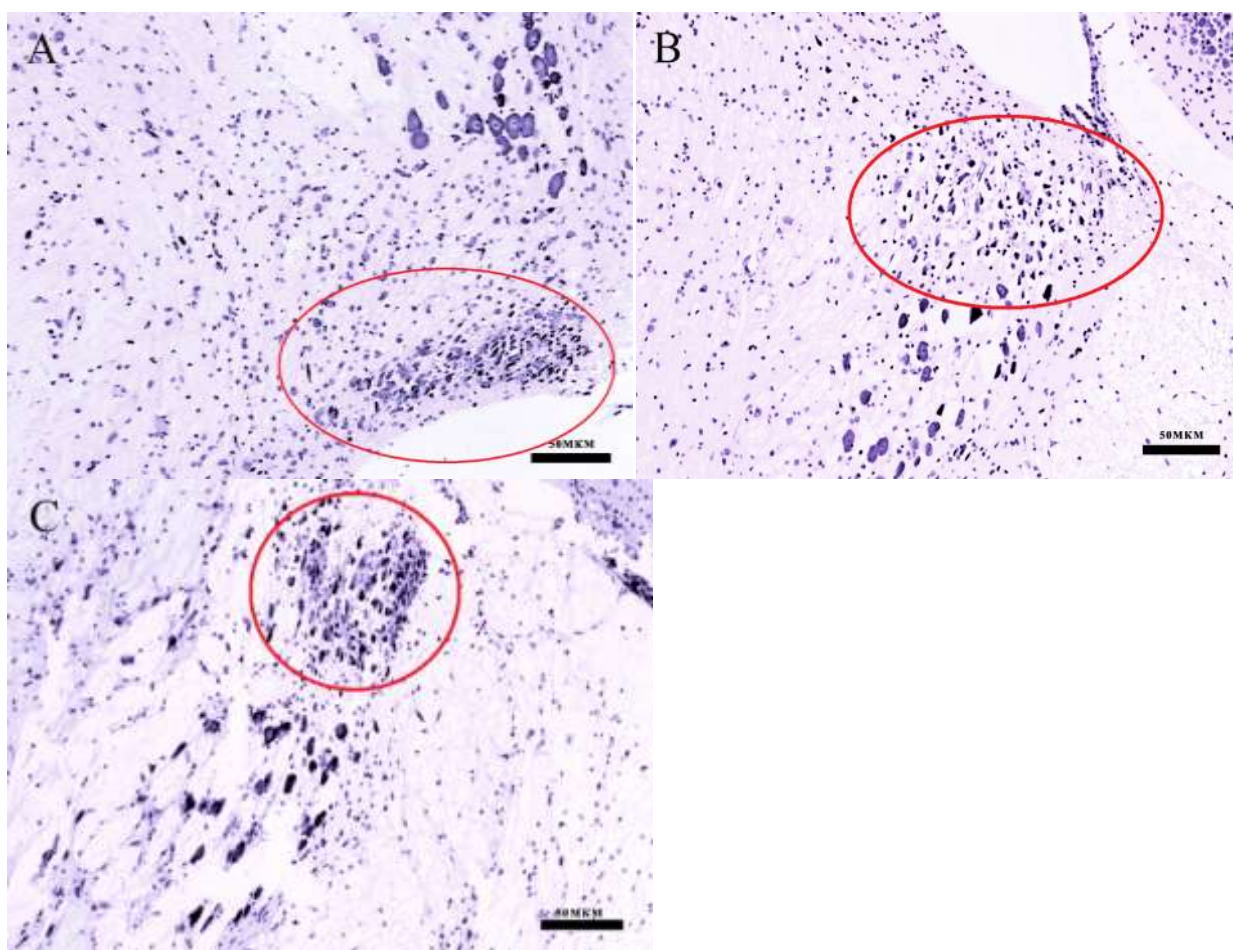
Досліджувані параметри	Контроль	ЕАГ	ЕСАГ
1	2	3	4
Вміст НК в ядрі, O_{Dor}	$21,36 \pm 0,59$	$25,99 \pm 1,16^*$	$18,32 \pm 0,79^{*#}$

Продовження таблиці 3.1

1	2	3	4
Концентрація НК в ядрі, Од/мкм ²	0,33±0,03	0,44±0,04*	0,35±0,11#
Площа ядра, мкм ²	70,14±1,87	65,92±2,62	61,27±2,46*

Примітка 1. (*) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів експериментальних груп по відношенню до контролю;

Примітка 2. (#) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів між групами з експериментальною артеріальною гіпертензією.



Примітка. А – у щурів контрольної групи; В – у щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією, С – у щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією.

Рисунок 3.2 – Нейрони блакитної плями у щурів експериментальних груп (фарбування галоціанін-хромовими галунами за Ейнарсоном)

Так, вміст НК в ядрах нейронів БП щурів з ЕАГ був вірогідно вищим на 21,68 % у порівнянні із показником контролю. В той же час як у щурів з ЕСАГ в порівнянні з нормотензивними тваринами була встановлена зворотна динаміка: вірогідно нижчі показники вмісту НК в ядрах на 14,23 %. Між самими експериментальними групами різниця в показниках вмісту НК характеризувалася у щурів з ЕСАГ на 29,51 % меншим показником, ніж в групі щурів з ЕАГ (див. табл.3.1).

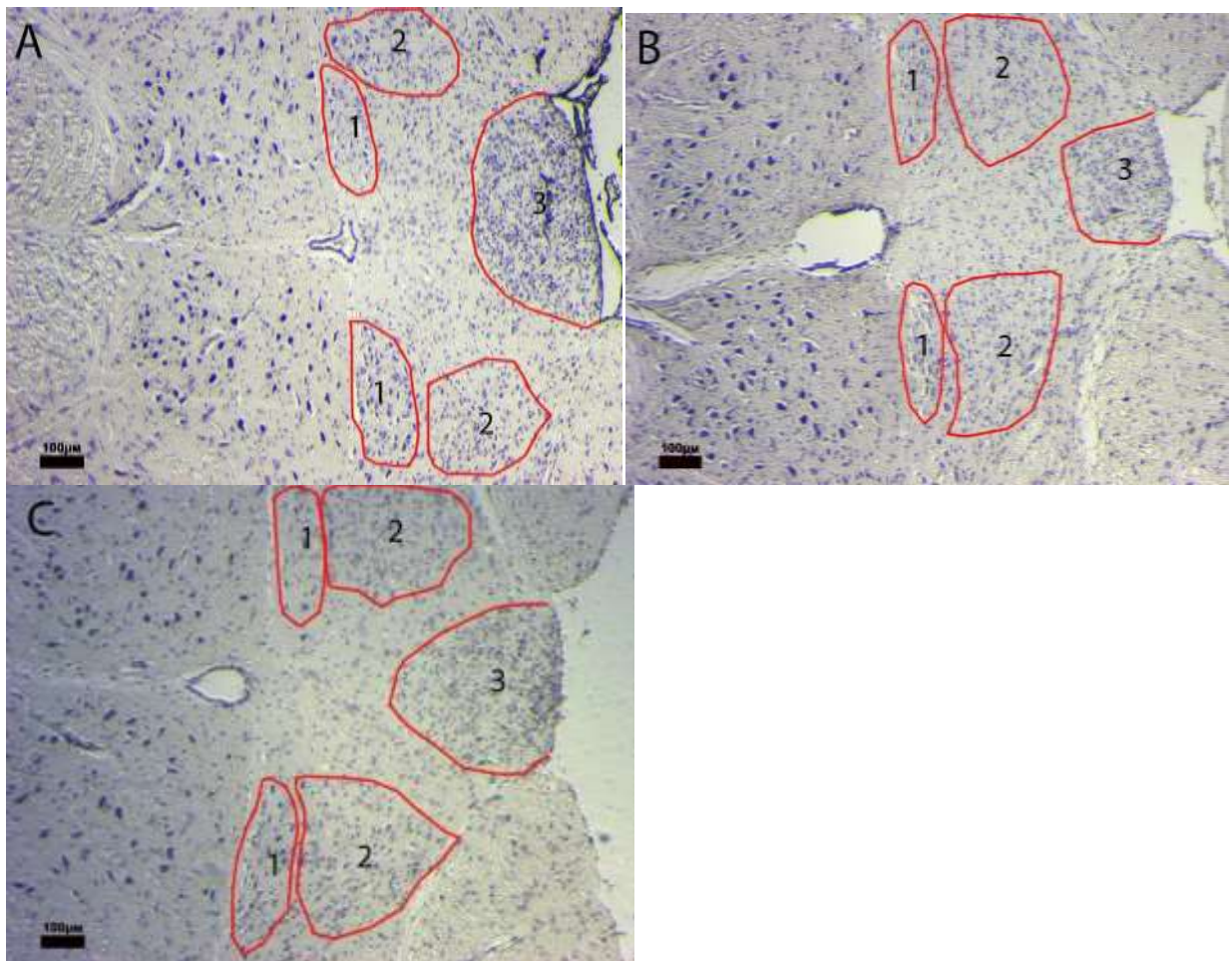
Концентрація НК в ядрі нейронів БП вірогідно була більшою тільки у щурів з ЕАГ на 33,38 % по відношенню до показника контролю. В той час як у щурів з ЕСАГ вірогідної різниці з показниками контрольних тварин встановлено не було. Між показниками груп з АГ спостерігалась вірогідна відмінність. У щурів з ЕАГ достовірно на 20,5 % концентрація НК в ядрі БП була вище по відношенню до щурів з ЕСАГ (див. табл. 3.1).

При оцінці показників площі ядра нейронів БП було встановлено, що у щурів з ЕАГ вона вірогідно не відрізнялась по відношенню до групи контролю, проте, у щурів з експериментальною ЕСАГ спостерігались вірогідно менші значення площі ядра на 12,65 %. Між самими експериментальними групами не спостерігалось вірогідної різниці (див. табл.3.1).

Беручи до уваги вищесказане, можна зауважити, що у щурів з АГ відбуваються зміни морфоденситометричного профілю ядер нейронів БП, при чому їх характер відрізняється у тварин з АГ різною за патогенезом. Так у щурів з ЕАГ по відношенню до контрольних тварин вірогідно були більшими денситометричні показники (вміст та концентрація НК в ядрах нейронів). У щурів з ЕСАГ у ядрах нейронів БП відносно групи порівняння вірогідно були меншими вміст НК та площа ядра, в той час, як концентрація НК в ядрах залишалася на рівні контрольних тварин. Аналіз досліджуваних параметрів ядер нейронів БП між патогенетично відмінними моделями АГ показав, що у щурів ЕСАГ по відношенню до щурів з ЕАГ вірогідно були меншими денситометричні показники, в той час як площа нейронів вірогідно не відрізнялася.

3.2 Морфоденситометричні показники нейронів ядра солітарного тракта стовбуру мозку щурів при артеріальній гіпертензії різного генезу

Наступним етапом дослідження було вивчення морфоденситометричних показників нейронів компонентів дорсального комплексу *n. vagus*, а саме ЯСТ та ДМЯ (рис. 3.3).



Примітка. А – у щурів контрольної групи; В – у щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією, С – у щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією. 1- дорсальне моторне ядро, 2 – ядро солітарного тракта, 3 – постремна область

Рисунок 3.3 – Нейрони дорсального комплексу *n. vagus* у щурів експериментальних груп (фарбування галоціанін-хромовими галунами за Ейнарсоном)

ЯСТ, за даними багатьох досліджень має складне анатомічне розташування та досить гетерогенний в морфологічному плані набір нейронів [159].

Топографічно ЯСТ розміщене в дорсомедіальному відділі стовбуру мозку. Його структура нагадує літеру V, розділяючись на дві окремі колони з однієї суцільної в каудоростральному напрямку паралельно 4-у шлуночку та простягається між каудальною частиною п. *facialis* і до пірамідного перехрестя. З дорсальної сторони ЯСТ межує з вестибулярними ядрами в ростральному відділі та п. *gracillis* й п. *cuneatus* дорсально. З вентральної та латеральної сторін воно оточене дрібноклітинною ретикулярною формацією. Крім того, з вентромедіальної частини ЯСТ межує з ДМЯ, а з дорсомедіальної – із постромною областю. Нейроанатомічні аспекти цього ядра в інтактних щурів описувалися ще в 80-х-2000-х роках. На сьогоднішній день достеменно відомо, що ЯСТ складається з клітин різноманітної форми та розмірів (зіркоподібної, веретеновидної, овоїдної, трикутної). Основна маса таких нейронів зосереджена в вентролатеральній частині ядра [54]. В представлене дослідження були включені нейрони з різних частин ЯСТ, округлої та овоїдної форми з гомогенною цитоплазмою та окресленим ядром. Необхідно відмітити, що до аналізу відбиралися тільки ті нейрони на зрізі яких було чітко видно ядро та ядерця (рис. 3.4).

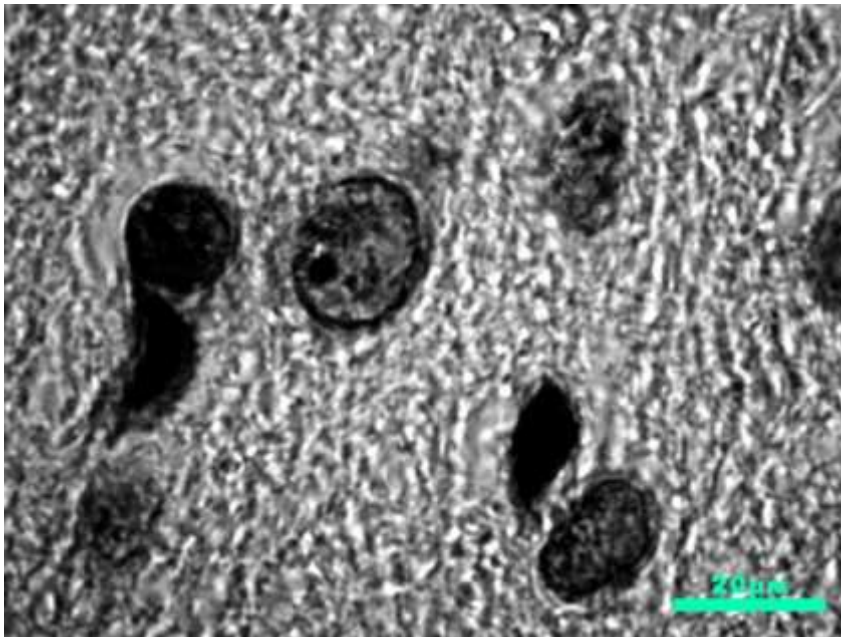


Рисунок 3.4 – Зображення нейрону ядра солітарного тракту у щурів контрольної групи

В таблиці 3.2 представлені морфоденситометричні показники ядер нейронів ЯСТ при АГ в різних експериментальних групах.

Таблиця 3.2 – Морфоденситометричні показники нейронів ЯСТ при АГ різного генезу у щурів експериментальних груп ($M \pm m$)

Досліджувані параметри	Контроль	ЕАГ	ЕСАГ
Вміст НК в ядрі, Од _{Ог}	30,71±0,86	29,25±1,07	25,26±0,46*#
Концентрація НК в ядрі, Од/мкм ²	0,44±0,01	0,46±0,01	0,37±0,07*#
Площа ядра, мкм ²	69,38±1,08	62,52±1,12*	68,69±1,18#

Примітка 1. (*) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів експериментальних груп по відношенню до контролю;

Примітка 2. (#) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів між групами з експериментальною артеріальною гіпертензією.

Вміст НК в ядрах нейронів ЯСТ у тварин з ЕАГ вірогідно не відрізнявся від групи контролю, тоді як у тварин з ЕСАГ як по відношенню до групи нормотензивних тварин, так і по відношенню до групи з ЕАГ був вірогідно нижчим. У першому випадку значення були нижче на 17,74 %, у другому - на 13,64 %. Подібна картина спостерігалася і з показником концентрації НК в ядрах нейронів ЯСТ. У тварин з ЕАГ він не відрізнявся від показників контролю, тоді як у тварин з ЕСАГ по відношенню до контрольної групи був нижче на 15,9 %, а по відношенню до групи тварин з ЕАГ - на 19,56 %. Аналіз отриманих результатів показав, що у тварин з ЕАГ площа ядра нейронів ЯСТ була вірогідно меншою на 9,88 %, в порівнянні з групою контролю. У щурів з ЕСАГ цей показник вірогідно не відрізнявся від контрольної групи. Слід зазначити, що різниця досліджуваного показника між групами з експериментальною АГ була також вірогідною - у щурів з ЕСАГ площа ядра

нейронів була більшою на 9,86 % в порівнянні з такою у тварин з ЕАГ (див. табл. 3.2.).

Таким чином, можна стверджувати, що морфоденситометричні зміни ядер нейронів ЯСТ мають зв'язок із патогенетичним видом АГ. Так, у щурів з ЕАГ вірогідно відбувається зменшення лише площі ядра, в той час, як у щурів з ЕСАГ – вмісту та концентрації НК в ядрі (див. табл. 3.2).

3.3 Морфоденситометричні показники нейронів дорсального моторного ядра n. vagus у щурів при артеріальній гіпертензії різного генезу

ДМЯ розташовується по обидва боки від центрального каналу в стовбурі мозку. Медіально та вентрально від нього знаходиться ядро під'язикового нерву, а дорсальніше знаходиться ЯСТ. Нейрони цієї структури топографічно організовані в повздовжні стовбчасті суб'ядра, що відповідають різноманітним гілкам блукаючого нерву через які відходять проекції їх аксонів. Моторні нейрони ДМЯ здебільшого великих розмірів, мультиполярні. Проте відмічалось, що розмір нейронів ДМЯ у щурів неоднорідний. Так найбільші нейрони розміщені в латеральній частині ДМЯ, найменші за розміром – в медіальній [160, 161].

В приведені дослідження включалися нейрони великі за розміром із добре оформленим ядром, що мали візуально однорідний та гомогенний вміст у цитоплазмі (рис. 3.5).

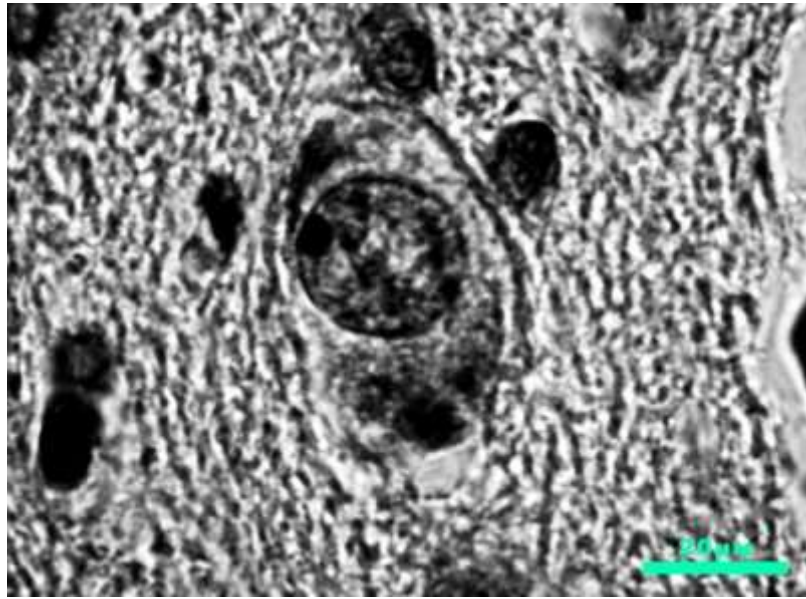


Рисунок 3.5 – Зображення нейрону дорсального моторного ядра у щурів контрольної групи

Результати проведеного дослідження показали, що артеріальна гіпертензія у експериментальних тварин супроводжувалася вираженими змінами морфоденситометричних характеристик ядер нейронів ДМЯ (табл. 3.3).

Таблиця 3.3 – Морфоденситометричні показники нейронів ДМЯ при АГ різного генезу у щурів експериментальних груп ($M \pm m$)

Досліджувані параметри	Контроль	ЕАГ	ЕСАГ
Вміст НК в ядрі, OD_{Or}	$35,70 \pm 1,21$	$44,97 \pm 2,25^*$	$30,20 \pm 0,70^{*#}$
Концентрація НК в ядрі, Od/mkm^2	$0,38 \pm 0,01$	$0,56 \pm 0,02^*$	$0,33 \pm 0,05^{*#}$
Площа ядра, mkm^2	$95,03 \pm 1,69$	$78,58 \pm 2,48^*$	$90,07 \pm 1,64^{*#}$

Примітка 1. (*) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів експериментальних груп по відношенню до контролю;

Примітка 2. (#) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів між групами з експериментальною артеріальною гіпертензією.

Аналіз отриманих денситометричних параметрів, а саме вміст і концентрація НК в ядрах нейронів ДМЯ у тварин з артеріальною гіпертензією, показав залежність їх змін від етіопатогенетичних особливостей патології. Було встановлено, що по відношенню до групи контролю, у тварин з ЕАГ вміст НК в ядрах нейронів був вірогідно більшим на 25,96 %, в той же час як у щурів з ЕСАГ цей показник був меншим на 15,4 %. Різниця у вмістові НК в ядрах нейронів була вірогідною і між групами з АГ. Так, у щурів з ЕСАГ цей показник був нижчим на 32,84 % в порівнянні з групою з ЕАГ. Зміни подібного характеру спостерігались в параметрах концентрації НК в ядрах нейронів ДМЯ. Так у тварин з ЕАГ концентрація НК була більшою на 47,36 %, а у щурів з ЕСАГ, навпаки, нижче значень контролю на 13,15 %. Різниця концентрацій НК між групами тварин з АГ була вірогідною і показала менші значення на 41,1 % в групі щурів з ЕСАГ від значень щурів з ЕАГ (див табл. 3.3).

З таблиці 3.3 видно, що у щурів обох груп при АГ спостерігались вірогідно нижчі показники площі ядер нейронів ДМЯ в порівнянні з контрольними тваринами. Так, в групі щурів з ЕАГ цей показник був нижчим на 17,31 %, а в групі з ЕСАГ – на 5,21 %. При цьому, площі ядер нейронів в групі щурів з ЕСАГ були вірогідно більшими, ніж в групі ЕАГ на 14,62 % (див. табл. 3.3).

Резюмуючи вищеописане можна відмітити деякі особливості встановлених змін показників ядер нейронів ДМЯ експериментальних груп по відношенню до контрольних тварин та міжмодельні особливості. Так, у щурів з ЕАГ спостерігалися вірогідно більші денситометричні показники та показники площі ядер нейронів ДМЯ, в той час як їх площа вірогідно була меншою по відношенню до контролю. Разом з тим, у щурів з ЕСАГ було відмічене вірогідне зменшення всіх показників, що досліджувалися, по відношенню до контрольних тварин. Міжмодельне порівняння показників тварин з АГ показало, що у щурів із ЕСАГ по відношенню до тварин з ЕАГ денситометричні показники (вміст та концентрація НК в ядрі) були вірогідно

меншими, натомість каріометричний показник (площа ядра) - вірогідно був більшим.

3.4 Характер розподілення популяцій нейронів блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра за площею ядра у щурів при артеріальній гіпертензії різного генезу

Для встановлення особливостей морфофункціональної перебудови досліджуваних структур під впливом АГ додатково був проведений каріометричний аналіз популяцій нейронів БП, ДМЯ та ЯСТ. Адже в класичному розумінні тривалий вплив різноманітних факторів так чи інакше призведе до структурних змін, як в органах-мішенях, так і в виконавчих системах та регуляторних центрах. Необхідно відмітити, що до таких факторів можна віднести як екзогенні, так і ендогенні впливи, що призводять до зрушень в гомеостазі організму. Результатом стають морфофункціональні перебудови серед нейрональної популяції у регуляторних структурах. Ці перебудови спрямовані на зміни функціональної спроможності нейронів в структурах до існування в умовах наявних зрушень гомеостазу. Тому для більш повного розуміння особливостей морфофункціональної перебудови нейронів БП, ЯСТ та ДМЯ в умовах АГ було проведено аналіз характеру розподілу популяції нейронів досліджуваних структур за площею ядер в експериментальних групах (табл. 3.4).

Таблиця 3.4 – Показники розподілення нейронів БП, ЯСТ та ДМЯ за площею ядра

Групи щурів	% нейронів за площею ядра		
	% нейронів з дрібними ядрами	% нейронів з середніми ядрами	% нейронів з великими ядрами
1	2	3	4

Продовження таблиці 3.4

1	2	3	4
Контрольна група	Блакитна пляма		
	22,2%	54,6%	23,1%
	Ядро солітарного тракту		
	22,3%	54,4%	23,3%
	Дорсальне моторне ядро		
	25%	53,7%	21,3%
ЕАГ	Блакитна пляма		
	42,4%	30,6%	27%
	Ядро солітарного тракту		
	53,2%	30,9%	15,9%
	Дорсальне моторне ядро		
	62,5%	26,3%	11,2%
ЕСАГ	Блакитна пляма		
	40%	41,2%	18,8%
	Ядро солітарного тракту		
	32,7%	31,8%	35,5%
	Дорсальне моторне ядро		
	30,1%	57,3%	12,6%

З наведеної таблиці 3.4 видно, що в контрольній групі розподіл ядер нейронів БП, ЯСТ та ДМЯ за площею має спільні риси: так ядра нейронів досліджуваних структур за їх площею можна розділити на три групи – із дрібними середніми та великими ядрами. Крім цього відсоток дрібних ядер в БП становив 22,2 %, в ЯСТ – 22,3 %, в ДМЯ – 25%; із середньою площею – в БП – 54,6 %, в ЯСТ – 54,4 %, в ДМЯ – 53,7 %; із великою площею – БП – 23,1 %, ЯСТ – 23,3 %, ДМЯ – 21,3 % (див. табл. 3.4).

У щурів із ЕАГ були відмічені свої особливості розподілу нейронів за площею ядра в досліджуваних структурах стовбуру мозку. Так, відсоток

нейронів дрібними ядрами в структурах БП, ЯСТ та ДМЯ був значно більшим за показники контролю на 20,2 %, 30,9 % та 37,5 % відповідно. На фоні цього в порівнянні із показниками контрольних тварин у щурів із ЕАГ спостерігалось значно нижчі показники кількості нейронів із середнім розміром ядра в структурах БП, ДМЯ та ЯСТ. Так в БП їх відсоток був менше на 24 %, в ЯСТ – на 23,6 %, в ДМЯ – 27,4 %. В той же час, у тварин із ЕАГ в порівнянні із контрольними щурами відсоток нейронів із великими ядрами в досліджуваних структурах мав свої особливості. Так в БП він був більшим на 3,9 %, а в ЯСТ та ДМЯ – меншим на 7,4 % та 10,1 % відповідно (див. табл. 3.4).

Результати дослідження розподілення нейронів БП, ЯСТ та ДМЯ за площею ядра у тварин із ЕСАГ в порівнянні із інтактними щурами продемонстрували залежність змін від функціональної направленості структури. Так, кількість нейронів із дрібними ядрами у всіх структурах щурів із ЕСАГ порівняно з контролем була більшою. Так в БП їх відсоток був більше на 17,8 %, в ЯСТ – на 10,4 %, в ДМЯ – на 5,1 %. Стосовно нейронів із середнім розміром ядра, то їх кількість в порівнянні з контролем у цієї групи експериментальних щурів в БП та ЯСТ була меншою відповідно на 13,4 % та 22,6 %, тоді як в ДМЯ – навпаки була більшою на 3,6 %. В той же час, у тварин із ЕСАГ в порівнянні із контрольними щурами відсоток нейронів із великою площею ядра в досліджуваних структурах мав свої особливості. Так в БП він був меншим на 4,3 %, в ЯСТ – більшим на 12,2 %, в ДМЯ – меншим на 8,7 % (див. табл. 3.4).

Міжмодельний порівняльний аналіз розподілу нейронів БП, ЯСТ та ДМЯ за площею їх ядра у тварин із ЕСАГ порівняно із щурами із ЕАГ показав, що нейронів із дрібними ядрами у структурах БП, ЯСТ та ДМЯ менше відповідно на 2,4 %, 20,5 % та 32,4 %. Тоді як в нейронів із середньою площею у БП тварин з ЕСАГ, порівняно із тваринами із ЕАГ було більше на 10,6 %, в ЯСТ – майже на 0,9 %, а в ДМЯ – на 31 %. Нейронів із великою площею у досліджуваних структурах тварин із ЕСАГ порівняно із тваринами з ЕАГ в БП було менше на 8,2 %, в ЯСТ та ДМЯ більше на 19,6 % та 1,4 % відповідно.

Таким чином, каріометричний аналіз популяцій нейронів у кожній із досліджуваних структур дозволив виявити цілий комплекс важливих особливостей та закономірностей, що залежали від етіології артеріальної гіпертензії та механізмів її розвитку.

Резюме. Проведене гістохімічне дослідження дозволило вперше у тварин з експериментальними артеріальними гіпертензіями різного генезу надати комплексну характеристику змін морфо- та денситометричних параметрів ядер нейронів блакитної плями (*locus coeruleus*), дорсального моторного ядра *n. vagus* та ядра солітарного тракту, та характер розподілення популяцій нейронів за площею їх ядра в цих структурах. Такий підхід дозволив встановити ряд особливостей вивчаємих параметрів при досліджуваній патології в залежності від етіопатогенетичних механізмів її виникнення та, опосередковане, визначити функціональну активність нейронів досліджуваних структур.

В результаті проведеного дослідження було встановлено, що у щурів з ЕАГ у всіх досліджуваних структурах спостерігалися вірогідні зміни морфоденситометричних параметрів ядер нейронів. Проте їх характер залежав від фізіологічної ролі структури. Так у ядрах нейронів БП та ДМЯ встановлено вірогідно більший вміст та концентрація НК, по відношенню до контрольних тварин вміст був більшим на 21,6 % та 25,9 %, а концентрація на 33,3 % та 47,3 %, відповідно. На фоні цього каріометричний показник (площа ядер) нейронів БП залишався на рівні контролю, у ДМЯ він був вірогідно меншим на 17,3 %. В той же час у ядрах нейронів ЯСТ у щурів з ЕАГ денситометричні показники не показали вірогідної різниці з контрольною групою, тоді як площа ядра вірогідно була меншою на 8,2 %.

Проведене морфоденситометричне дослідження каріометричних показників нейронів БП, ЯСТ та ДМЯ у щурів з ЕСАГ показало етіозалежні особливості змін досліджуваних параметрів. Так відмічалися односпрямовані зміни вмісту НК в ядрах нейронів БП, ЯСТ та ДМЯ - цей показник був вірогідно меншим (на 14,2 %, 17,7 % та 15,4 % відповідно) за значення

контрольної групи. На фоні цього показник площі ядра у нейронах ЯСТ залишався на рівні контролю, тоді як у нейронах БП та ДМЯ був вірогідно меншим на 12,6 % та 5,2 % за значення контролю. В той же час концентрація НК, порівняно з контролем, в ядрах нейронів БП була без вірогідних змін, а в структурі ЯСТ та ДМЯ була меншою на 15,9 % та 13,1 % відповідно.

При міжмодельному порівнянні показників морфоденситометричних параметрів ядер нейронів БП, ЯСТ та ДМЯ щурів із патогенетично різними видами АГ було встановлено, що у тварин з ЕСАГ по відношенню до тварин із ЕАГ у всіх трьох структурах, що досліджувалися, спостерігалися вірогідно менші показники вмісту (у БП – на 29,5 %, у ЯСТ – на 13,6 %, у ДМЯ – на 32,8 %) та концентрації (у БП – на 20,5 %, у ЯСТ – на 19,6 %, у ДМЯ – на 41,1 %) НК в ядрах нейронів. Тоді як показник площі ядер нейронів у тварин із ЕСАГ, порівняно із тваринами з ЕАГ вірогідно був більшим лише в ЯСТ (на 9,8 %) та в ДМЯ (на 14,6 %).

Результати проведеного аналізу розподілення нейронів БП, ЯСТ та ДМЯ за площею ядра у експериментальних тварин дозволили встановити структурні характеристики нейрональної популяції у інтактних щурів та морфоструктурні зміни в них при АГ залежно від етіопатогенетичних особливостей сформованої патології. Так було встановлено, що у контрольних щурів в структурі БП нейрони із середніми ядрами становили 54,6 %, з дрібними та великими – відповідно 22,2 % та 23,1 %. В структурі ЯСТ відсоток нейронів із середньою площею ядра складав 54,4 %, з дрібними ядрами – 22,3 %, з великими – 23,3 %. В структурі ДМЯ встановлено, що нейронів із середньою площею ядра було 53,7 %, тоді як з малою та великою – 25 % та 21,3 % відповідно.

Порівняльний аналіз морфоденситометричних показників в групах щурів із сформованою АГ вперше показав, що у щурів з ЕАГ в структурі БП переважають нейрони із дрібними ядрами (42,4 %), нейрони із середньою та великою площею ядра займали відповідно 30,6 % та 27 %. Подібна тенденція спостерігалася і у структурі ЯСТ щурів з ЕАГ, де нейрони із малою площею

ядра становили 53,2 %, із середньою площею – 30,9 %, а із великою – 15,9 %. В структурі ДМЯ щурів з ЕАГ найбільш представленими були нейрони також із малою площею ядра (62,5 %), нейрони із середньою та великою площами становили відповідно 26,3 % та 11,2 %.

В дослідженні вперше встановлено, що розподіл популяції нейронів БП, ЯСТ та ДМЯ за площею ядра у щурів з ЕСАГ залежить від функціональної ролі структури та патогенетичних особливостей сформованої АГ. Визначено, що в структурі БП відсоток нейронів із малою та середньою площами ядер був майже однаковим: 40 % та 41,2 % відповідно, тоді як нейронів із великою площею ядра було лише 18,8 %. Нейрони ЯСТ із малою, середньою та великою площами ядер у тварин із ЕСАГ розподілились майже порівну: 32,7 %, 31,8 % та 35,5 % відповідно. Тоді як в структурі ДМЯ щурів із ЕСАГ відмічено найбільшу кількість нейронів із середньою площею ядра (57,3 %), в той час як кількість нейронів із малою та великою площами становила 30,1 % та 12,6 % відповідно.

При міжмодельному порівнянні характеру розподілу популяції нейронів БП, ЯСТ та ДМЯ за площею їх ядер у тварин із експериментальними типами АГ встановлено залежність змін від етіопатогенезу досліджуваної патології та функціональної ролі структури у регуляції артеріального тиску. Так у щурів із ЕСАГ по відношенню до щурів з ЕАГ в структурі БП відмічалася більша кількість нейронів із середньою площею ядра (41,2 % проти 30,6 %) та менша з великою площею ядра (18,8 % проти 27 %). В свою чергу в структурі ЯСТ у щурів із ЕСАГ в порівнянні із групою з ЕАГ менше нейронів із малою площею ядра (32,7 % проти 53,2 %) та майже вдвічі більше нейронів із великими ядрами (35,5 % проти 15,9 %), тоді як кількість нейронів із середнім розміром ядер лишалася приблизно на однаковому рівні (31,8 % проти 30,9 %). В структурі ДМЯ тварин з артеріальною гіпертензією розподіл нейронів за площею їх ядер залежав від етіопатогенетичного виду патології. Так, у щурів із ЕСАГ по відношенню до щурів з ЕАГ відсоток нейронів із малою площею ядра був майже вдвічі меншим (30,1 % проти 62,5 %), тоді як

кількість нейронів із середнім розміром ядра була майже вдвічі більшою (57,3 % проти 26,3 %), а кількість нейронів із великою площею ядра у цих експериментальних характеризувалася незначною різницею (12,6 % проти 11,2 %).

Матеріали розділу відображені в 2 статтях та 1 наукових тезах [162-164].

РОЗДІЛ 4

ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ ІЗОФОРМ NOS В СТРУКТУРАХ БЛАКИТНОЇ ПЛЯМИ, ЯДРА СОЛІТАРНОГО ТРАКТА ТА ДОРСАЛЬНОГО МОТОРНОГО ЯДРА ПРИ АРТЕРІЛЬНІЙ ГІПЕРТЕНЗІЇ У ЩУРІВ

В даному розділі представлені результати дослідження експресії ізоформ синтази монооксиду азоту (NOS): nNOS, iNOS, eNOS в структурах БП, ЯСТ та ДМЯ при різних за етіопатогенезом артеріальних гіпертензіях: первинної (щури лінії SHR) та змодельованої ендокринно-сольової (ЕСАГ). Показники експресії вираховувались за допомогою імунофлюоресцентного методу, котрим отримували наступні параметри: вміст (O_{dif}), концентрацію ($O_{dif}/\mu\text{км}^2$) та питому площу імуореактивного матеріалу (%) до відповідної ізоформи.

Сьогодні складно переоцінити об'єм наукових досліджень, котрі присвячені вивченню ролі оксиду азоту (NO) в регуляторних центрах мозку. Вже достеменно встановлена здатність цього газотрансміттеру впливати на функціональну активність нейронів завдяки своїй участі у процесах нейродиференціювання, нейротрансмісії (на етапі виділення та захвату нейротрансмітерів), синаптичної пластичності та регуляції експресії генів в нейронах [165]. Проте безпосередня оцінка рівня NO в окремих структурах головного мозку є складною технічно. Тому, опосередковано рівень оксиду азоту в конкретному регіоні мозку можна оцінити за рівнем експресії ізоформ ключового ферменту, що бере участь в його синтезі – NOS.

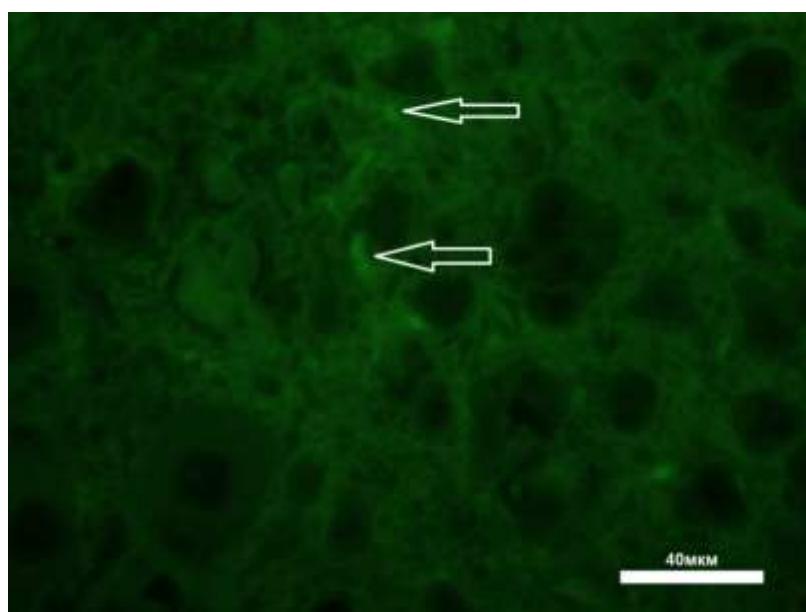
На сьогодні виділяють три ізоформи цього NOS – нейрональну, (nNOS, NOS-1), індукцибельну (iNOS, NOS-2) та ендотеліальну (eNOS, NOS-3) [166]. Беручи до уваги їх функціональну гетерогенність, яка проявляється в кількості утвореного NO та його кінцевому метаболізмі, логічно припустити, що при порушенні балансу та співвідношенні цих ізоформ будуть спостерігатися NO-

залежні локальні позитивні або негативні ефекти. Проте в літературі питання балансу співвідношення ізоформ NOS та особливості їх експресії при артеріальній гіпертензії в структурах регуляторних центрів артеріального тиску стовбуру мозку недостатньо освітлене. Саме для встановлення цього факту в наведеному дослідженні імуногістохімічним методом було вивчено особливості ізоформного профілю NOS в структурах БП, ЯСТ та ДМЯ.

4.1 Показники експресії ізоформ NOS в структурі блакитної плями стовбуру мозку щурів з АГ різного генезу

В ході проведеного дослідження було встановлено, що в структурі БП параметри експресії, які досліджувалися у експериментальних тварин з АГ мали вірогідні відмінності порівняно із відповідними параметрами щурів контрольної групи, а також мали вірогідні відмінності між групами з АГ.

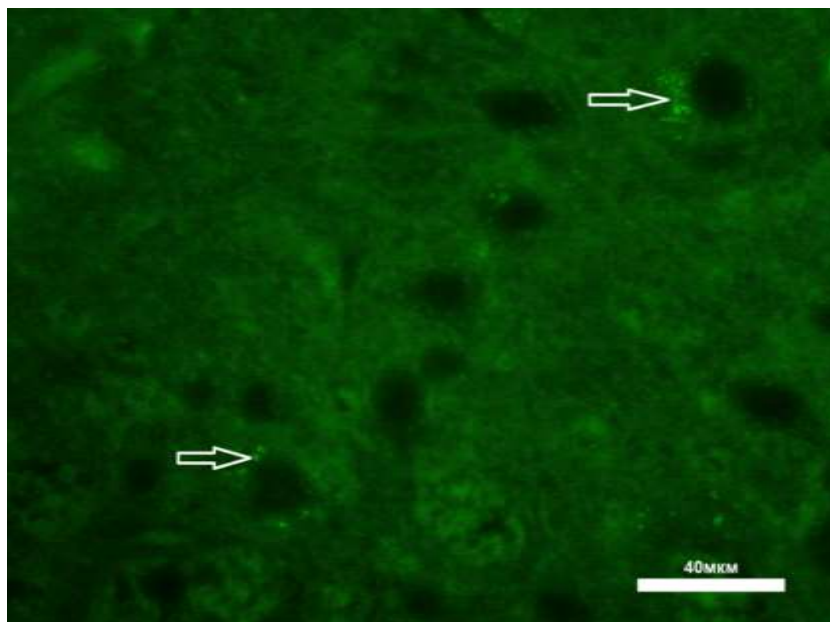
Вивчення показників експресії nNOS у тварин експериментальних груп в структурі БП показало, що характер їх змін у щурів з ЕАГ та ЕСАГ в порівнянні з контрольними тваринами мав свої особливості (рис. 4.1, 4.2, 4.3 та табл. 4.1).



Примітка. Стрілками вказано IPM до nNOS.

Рисунок 4.1 – Експресія nNOS в структурі блакитної плями стовбуру мозку у щурів контрольної групи. Реакція непрямої імунофлюоресценції

Так, у щурів контрольної групи значуща флюоресценція відзначалася в більшості нейронів по периферії цитоплазми і ніколи не спостерігалася в їх ядрах. Також відмічалася наявність IPM до ензиму у перинейрональному просторі, по периферії цитоплазми нейронів та їх аксонах (див. рис. 4.1).



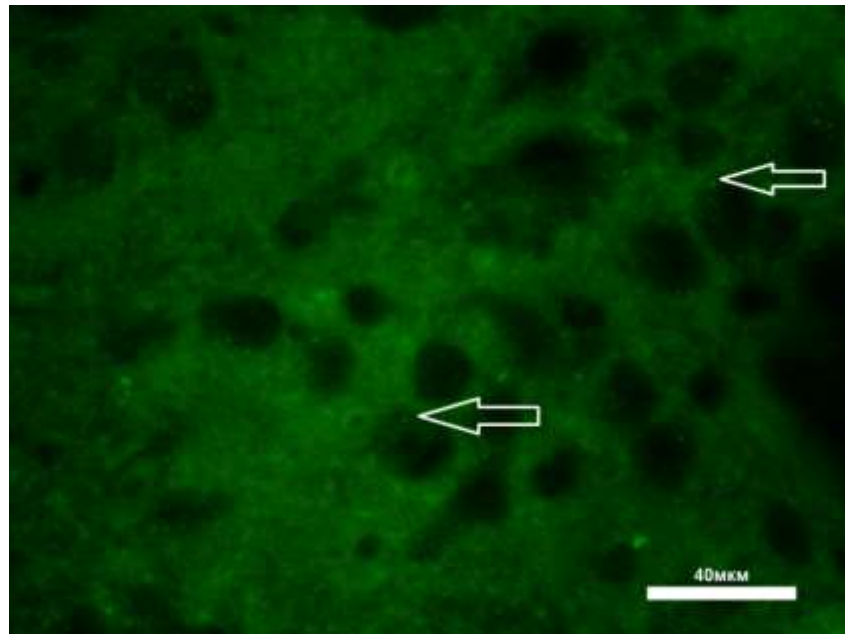
Примітка. Стрілками вказано IPM до nNOS.

Рисунок 4.2 – Експресія nNOS в структурі блакитної плями стовбуру мозку у щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією. Реакція непрямой імунофлюоресценції

В той час, як у щурів з ЕАГ в структурі БП IPM до nNOS розташовувався у вигляді гранул внутрішньоклітинно. Невелика частка імунного матеріалу розташовувалася перинейронально (див. рис. 4.2).

На рисунку 4.3 наочно представлено розподілення IPM до nNOS у щурів із ЕСАГ. Слід відмітити, що у тварин цієї групи, подібно до щурів з ЕАГ, відмічалася внутрішньоклітинне скупчення IPM у вигляді гранул і не спостерігалася флюоресценція в ядрі. Також імунний матеріал розподілявся диффузно в перинуклеарному просторі та в аксонах нейронів (див. рис. 4.3)

Результати проведеного статистичного аналізу експресії IPM до nNOS у структурі БП експериментальних тварин представлений у таблиці 4.1.



Примітка. Стрілками вказано IPM до nNOS.

Рисунок 4.3 – Експресія nNOS в структурі блакитної плями стовбуру мозку у щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією. Реакція непрямой імунофлюоресценції

Таблиця 4.1 – Показники експресії nNOS в структурі блакитної плями щурів експериментальних груп ($M \pm m$)

Параметри, що досліджуються	Контроль	ЕАГ	ЕСАГ
Вміст IPM ($O_{D_{if}}$)	$33,05 \pm 1,48$	$41,55 \pm 1,82^*$	$25,18 \pm 1,21^{*#}$
Концентрація IPM ($O_{D_{if}} / \mu\text{км}^2$)	$6,48 \pm 0,12$	$9,31 \pm 0,18^*$	$6,42 \pm 0,15^{\#}$
Питома площа (%)	$42,30 \pm 0,81$	$59,65 \pm 0,56^*$	$50,37 \pm 0,72^{*#}$

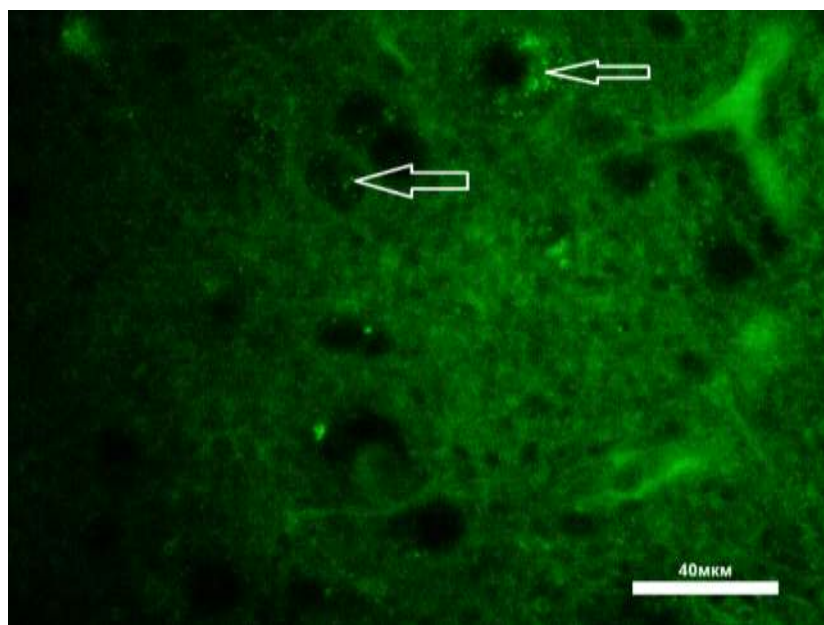
Примітка 1. (*) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів експериментальних груп по відношенню до контролю.

Примітка 2. (#) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів між групами з експериментальною артеріальною гіпертензією.

Аналіз цифрових значень показників експресії nNOS показав, що у щурів з ЕАГ в порівнянні з контролем в структурі БП були вірогідно більшими значення вмісту, концентрації та питомої площі IPM до nNOS на 25,72 %,

43,67 % і 40,89 % відповідно. В той час, як у щурів з ЕСАГ, по відношенню до контрольних тварин, вміст ІРМ до досліджуваної ізоформи ферменту був вірогідно меншим на 23,81 %, показники концентрації залишалися на рівні контролю, а питома площа ІРМ до nNOS вірогідно була більшою на 19,07 % в порівнянні з нормотензивними контролем. Що стосується відмінностей між експериментальними групами з АГ, то всі досліджувані показники експресії nNOS в структурі БП щурів ЕСАГ були вірогідно нижчими за відповідні показники щурів з ЕАГ. Так, вміст ІРМ до nNOS був нижчим на 39,39 %, концентрація на 31,04 %, а питома площа на 15,55 % (див. табл. 4.1).

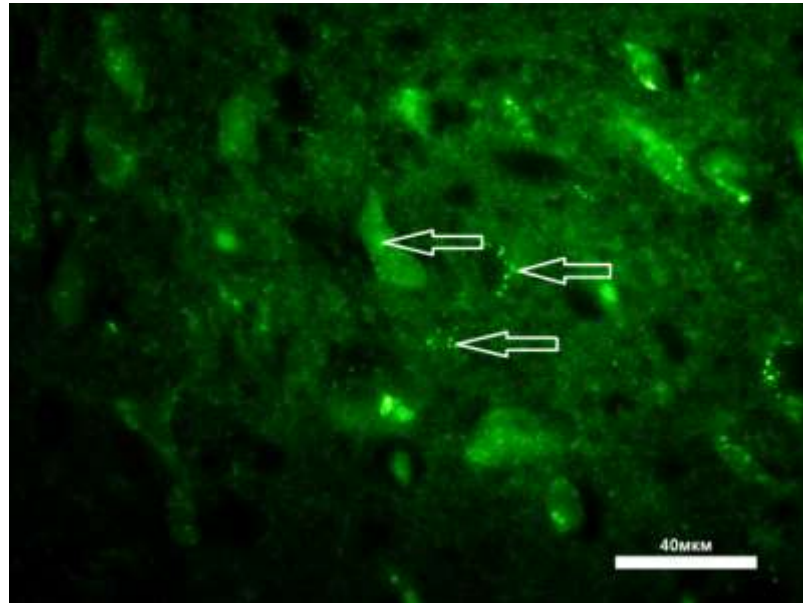
Експресія iNOS в структурі БП також суттєво відрізнялася у щурів з АГ від контрольних тварин (рис. 4.4, 4.5, 4.6 та табл. 4.2).



Примітка. Стрілками вказано ІРМ до iNOS.

Рисунок 4.4 – Експресія iNOS в структурі блакитної плями стовбуру мозку у контрольних щурів. Реакція прямої імунофлуоресценції

З рисунку 4.4 видно, що ІРМ до iNOS в структурі БП контрольних тварин розміщувався дифузно у вигляді гранул в сомі нейронів та їх аксонах. Крім того спостерігалася позаклітинна специфічна флуоресценція у вигляді гранул. Наявності флуоресценції в ядрах клітин не відмічалось (див. рис. 4.4).

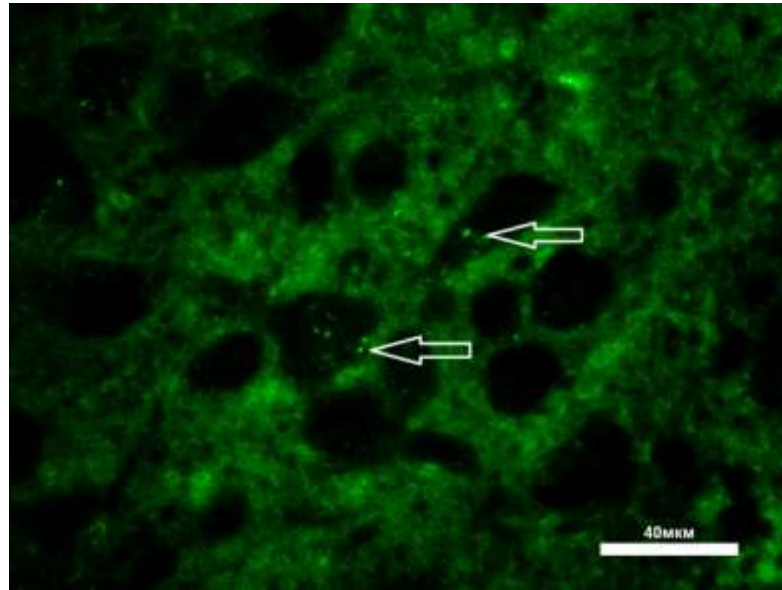


Примітка. Стрілками вказано IPM до iNOS.

Рисунок 4.5 – Експресія iNOS в структурі блакитної плями стовбуру мозку у щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією. Реакція прямої імунофлюоресценції

Встановленою особливістю експресії iNOS в БП при ЕАГ було наявність клітин, що повністю заповнені IPM до неї, котрий в ультрафіолетовому спектрі мав як вигляд гранул, так і спостерігався у вигляді дифузного рівномірного світіння. Крім цього, всередині окремих клітин імунний матеріал розміщувався у вигляді гранул перінуклеарно. Була виявлена позаклітинна дифузна флюоресценція (рис. 4.5).

У групі щурів із ЕСАГ IPM до iNOS характеризувався локалізацією у поодиноких клітинах, що містили його скупчення у вигляді гранул та незначним дифузним позаклітинним світінням в структурі (рис. 4.6).



Примітка. Стрілками вказано IPM до iNOS.

Рисунок 4.6 – Експресія iNOS в структурі блакитної плями стовбуру мозку у щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією. Реакція прямої імунофлюоресценції

Статистичний аналіз показників експресії iNOS у структурі БП щурів експериментальних груп показав, що в групі з ЕАГ в порівнянні з контролем вміст, концентрація та відносна площа IPM до iNOS були вірогідно більшими на 13,60 %, 35,80 % та 49,82 % відповідно. В той час, як у щурів з ЕСАГ відмічався вірогідно нижчий показник вмісту IPM до iNOS на 35,60 %, показник концентрації вірогідно не відрізнявся, а відносна площа IPM до ізоформи ферменту була вірогідно вищою на 22,69 % по відношенню до контрольних тварин. При порівнянні між собою показників експресії iNOS в групах тварин з експериментальною АГ було встановлено, що всі показники щурів з ЕСАГ були вірогідно нижчими за відповідні показники тварин з ЕАГ: вміст – на 43,31 %, концентрація – на 30,44%, а відносна площа – на 18,10 % (табл. 4.2).

Таблиця 4.2 – Показники експресії iNOS в структурі блакитної плями щурів експериментальних груп ($M \pm m$)

Досліджувані параметри	Контроль	ЕАГ	ЕСАГ
1	2	3	4

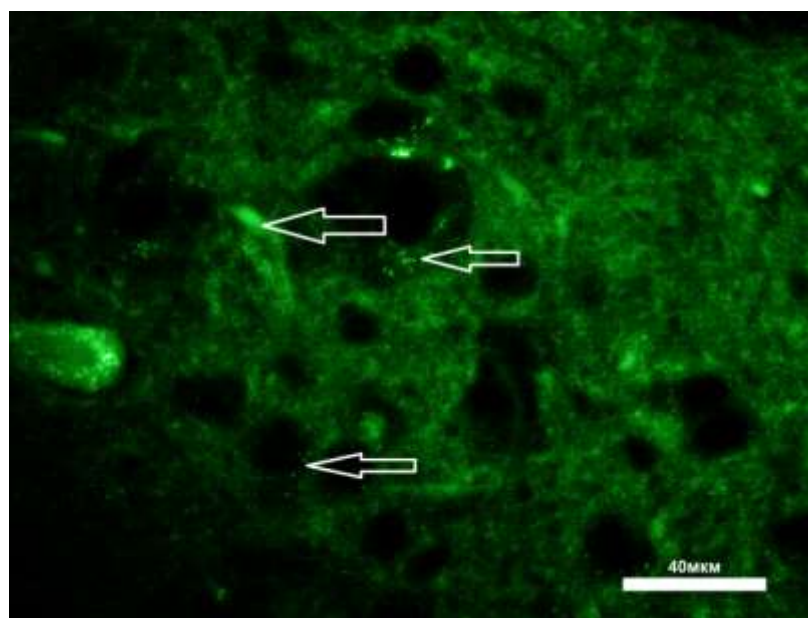
Продовження таблиці 4.2

1	2	3	4
Вміст ІРМ (Од _{іф})	41,03±1,30	46,61±2,39*	26,42±1,01*#
Концентрація ІРМ (Од _{іф} /мкм ²)	7,04±0,1	9,56±0,19*	6,65±0,15*#
Питома площа (%)	40,80±0,71	61,13±0,71*	50,06±0,68*#

Примітка 1. (*) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів експериментальних груп по відношенню до контролю.

Примітка 2. (#) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів між групами з експериментальною артеріальною гіпертензією.

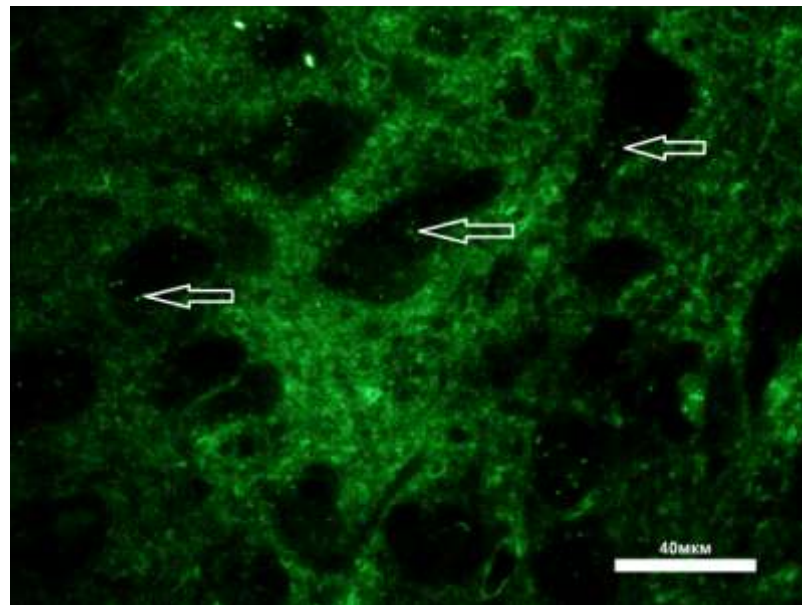
Після проведеного імунофлюоресцентного дослідження експресії eNOS в структурі БП було встановлено, що у щурів контрольної групи ІРМ розміщувався рівномірно із скупченням імунного матеріалу у вигляді гранул в середині соми нейрону та аксонах. Поодинокі відмічалися клітини із дуже інтенсивною флюоресценцією внаслідок великого накопичення ІРМ у них (рис. 4.7).



Примітка. Стрілками вказано ІРМ до eNOS.

Рисунок 4.7 – Експресія eNOS в структурі блакитної плями стовбуру мозку у контрольних щурів. Реакція непрямой імунофлюоресценції

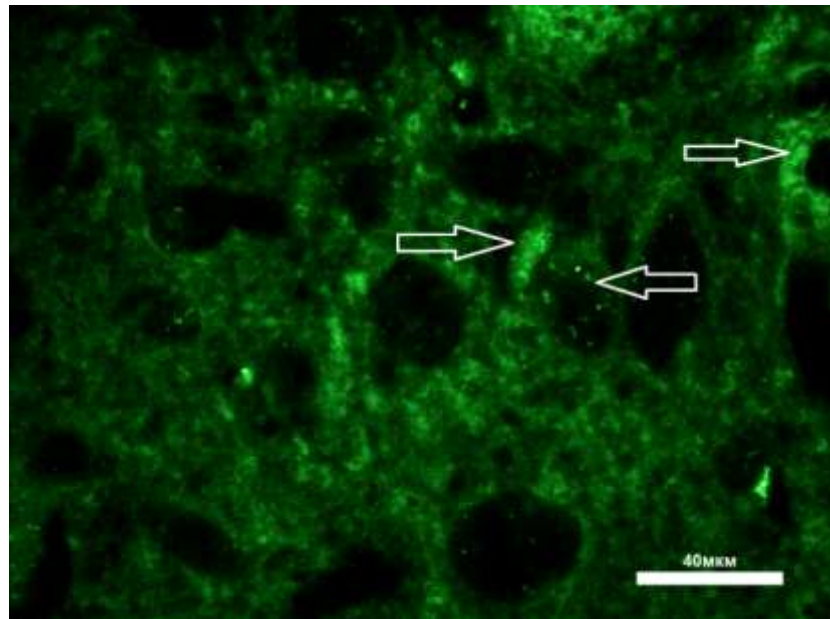
Проведений візуальний аналіз мікрофотографій довів, що у групі щурів із ЕАГ розподіл ІРМ до eNOS в структурі БП характеризувався нерівномірним дифузним розподіленням із виділенням зон із більшою скупченістю ІРМ та наявністю локацій де імунного матеріалу до eNOS візуально було значно менше. Внутрішньоклітинний компармент eNOS у щурів із ЕАГ характеризувався накопиченням у вигляді гранул ближче до клітинної мембрани. Світіння у зоні ядра та перинуклеарному просторі відмічено не було (рис. 4.8).



Примітка. Стрілками вказано ІРМ до eNOS.

Рисунок 4.8 – Експресія eNOS в структурі блакитної плями стовбуру мозку у щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією. Реакція непрямой імунофлюоресценції

Розподіл ІРМ до eNOS у структурі БП тварин із ЕСАГ характеризувався нерівномірною дифузністю, що було подібно до візуальної характеристики особливостей розміщення ІРМ до eNOS у щурів із ЕАГ. Необхідно зазначити, що внутрішньоклітинне скупчення імунного матеріалу до досліджуваного пептиду у БП тварин із ЕСАГ спостерігалось у вигляді гранул (рис. 4.9).



Примітка. Стрілками вказано IPM до eNOS.

Рисунок 4.9 – Експресія eNOS в структурі блакитної плями стовбуру мозку у щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією. Реакція непрямой імуофлюоресценції

Показники експресії eNOS в структурі БП щурів експериментальних груп відображені в таблиці 4.3. З наведеного в неї випливає, що у щурів з ЕАГ, в порівнянні з контрольними тваринами, всі показники експресії eNOS в структурі БП були вірогідно більшими.

Таблиця 4.3 - Показники експресії eNOS в структурі блакитної плями щурів експериментальних груп (M±m)

Досліджувані параметри	Контроль	ЕАГ	ЕСАГ
Вміст IPM (Од _{іф})	34,13±1,50	46,12±2,06*	30,51±1,20 [#]
Концентрація IPM (Од _{іф} /мкм ²)	5,97±0,13	9,25±0,14*	6,87±0,16 ^{*#}
Питома площа (%)	42,42±0,88	57,35±0,98*	49,80±0,58 ^{*#}

Примітка 1. (*) – вірогідна різниця показників (p<0,05) щурів експериментальних груп по відношенню до контролю.

Примітка 2. (#) – вірогідна різниця показників (p<0,05) щурів між групами з експериментальною артеріальною гіпертензією.

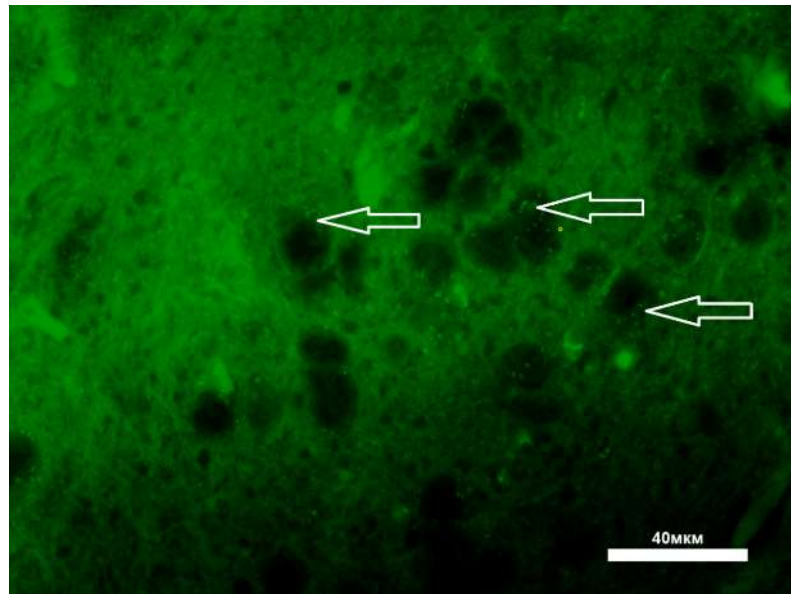
Цифровий аналіз показав, що вміст IPM до eNOS був більшим на 35,13 %, концентрація – на 54,94 %, а відносна площа – на 35,19 %. Тоді як щури з ЕСАГ, порівняно з контролем, показали вірогідне збільшення лише показників концентрації (на 15,07 %) та відносної площі (на 17,39 %) на фоні незміненого показника вмісту IPM до eNOS. Порівняння вмісту, концентрації та відносної площі IPM до eNOS показало вірогідно менші значення усіх показників у щурів з ЕСАГ в порівнянні з тваринами з ЕАГ. Так, показники вмісту були меншими на 33,84 %, концентрації – на 25,73 %, а відносної площі – на 13,16 % (див. табл. 4.3).

Таким чином, було встановлено, що досліджувані показники ізоформного профілю NOS в структурі БП мають свої особливості в залежності від етіопатогенезу АГ в експериментальних групах. Так у щурів з ЕАГ вірогідно більшими були всі досліджувані параметри експресії ізоформ NOS в порівнянні з контрольними тваринами. В той же час, як у щурів із ЕСАГ вірогідно були більшими лише показники питомої площі IPM до nNOS, iNOS та eNOS. При цьому вміст та концентрація IPM до кожної з ізоформ мали свої особливості. Так, в випадку із nNOS вміст IPM в порівнянні з контролем був меншим, а концентрація була на рівні групи порівняння. Стосовно iNOS було встановлено, що у щурів з ЕСАГ в порівнянні з контрольними тваринами показники вмісту та концентрації IPM до неї вірогідно були меншими, концентрація IPM до eNOS була вірогідно більшою а вміст IPM до ензиму не відрізнявся від значення групи порівняння.

4.2 Показники експресії ізоформ NOS в структурі ядра солітарного тракта щурів з АГ різного генезу

Наступним етапом дослідження було вивчення експресії ізоформ NOS в структурі ЯСТ експериментальних тварин. В результаті дослідження було встановлено ряд особливостей ізоформного профілю NOS в неї.

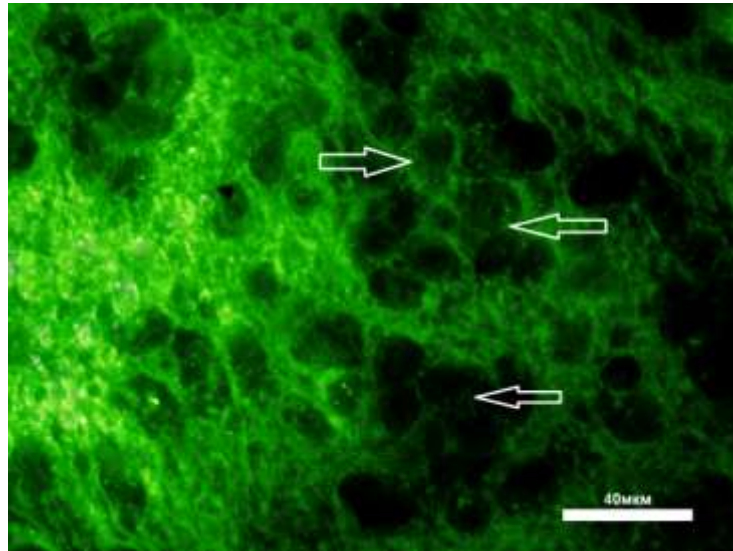
Візуальна картина розподілу імунореактивного матеріалу до nNOS у тварин контрольної групи характеризувалася дифузністю розподілу, відмічалася флюоресценція у вигляді гранул всередині соми нейрону на периферії цитоплазм. При цьому слід зауважити, що в середині деяких нейронів не спостерігалось реактивності до nNOS (рис 4.10).



Примітка. Стрілками вказано IPM до nNOS.

Рисунок 4.10 – Експресія nNOS в структурі ядра солітарного тракта стовбуру мозку у щурів контрольної групи. Реакція непрямой імунофлюоресценції

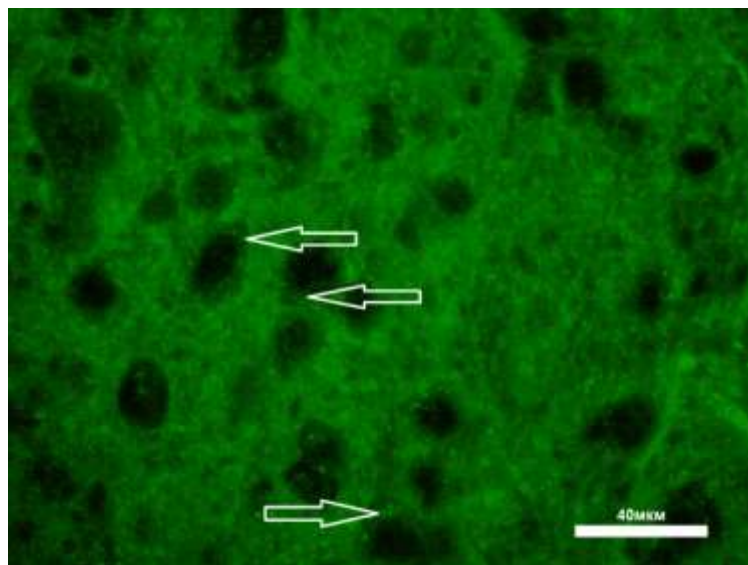
У щурів з ЕАГ також відмічався дифузний розподіл IPM до nNOS в структурі ЯСТ. Візуальний аналіз показав досить добре виділення окремих зон із більш інтенсивним світінням. Частина нейронів із вмістом IPM до ізоформи досліджуваного ензиму містила його у вигляді гранул, розміщених по периметру клітини, але не в ядрі (рис. 4.11).



Примітка. Стрілками вказано IPM до pNOS.

Рисунок 4.11 – Експресія pNOS в структурі ядра солітарного тракта стовбуру мозку у щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією. Реакція непрямой імунофлюоресценції

Розподіл IPM до pNOS у щурів з ЕСАГ мав рівномірно дифузний характер, розташовувався як в аксонах нейронів, так і у вигляді гранул в їх тілах. Гранули були розміщені по периметру клітини рівномірно без скупчень. Також відмічалися нейрони ЯСТ, що не мали реактивності до досліджуваної ізоформи пептиду (рис. 4.12).



Примітка. Стрілками вказано IPM до pNOS.

Рисунок 4.12 – Експресія pNOS в структурі ядра солітарного тракта стовбуру мозку у щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією. Реакція непрямой імунофлюоресценції

Середні цифрові значення експресії IPM до nNOS в структурі ЯСТ, отримані в результаті статистичної обробки та відображені в таблиці 4.4.

Таблиця 4.4 - Показники експресії nNOS в структурі ядра солітарного тракта щурів експериментальних груп ($M \pm m$)

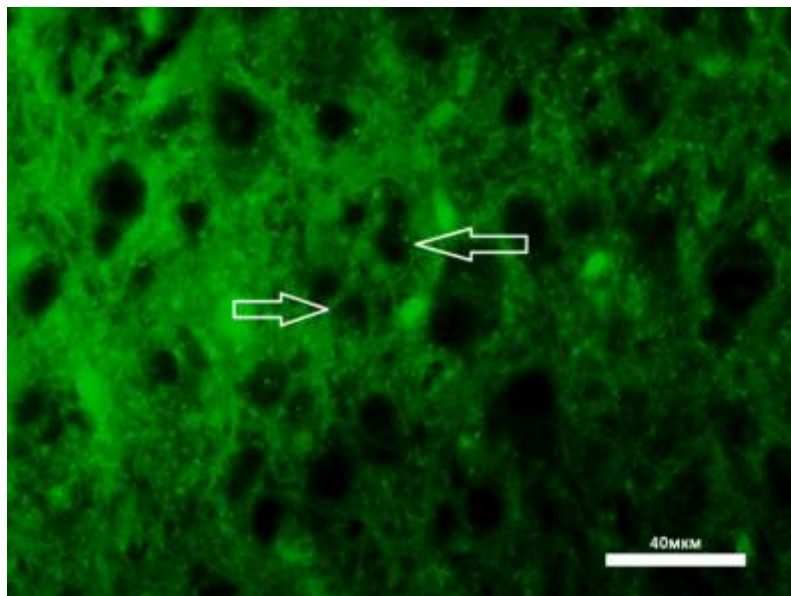
Досліджувані параметри	Контроль	ЕАГ	ЕСАГ
Вміст IPM (О _{дiф})	282,30±10,47	399,76±13,82*	480,31±13,74*#
Концентрація IPM (О _{дiф} /мкм ²)	64,17±1,31	77,55±1,80*	67,60±0,60*#
Питома площа (%)	44,52±1,08	53,47±0,56*	45,52±0,47#

Примітка 1. (*) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів експериментальних груп по відношенню до контролю.

Примітка 2. (#) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів між групами з експериментальною артеріальною гіпертензією.

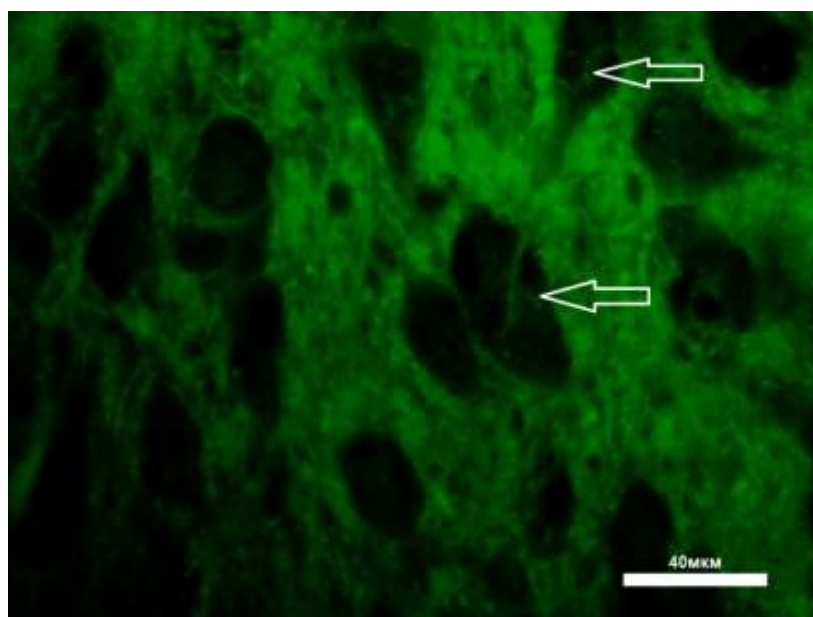
З наведеної таблиці видно, що всі показники експресії nNOS в групі щурів з ЕАГ були вірогідно більшими за показники контрольних щурів. Так вміст IPM до цієї ізоформи ферменту був більшим на 41,6 %, концентрація – на 20,9 %, а питома площа – на 20,1 %. В той же час, у щурів з ЕСАГ вірогідно відрізнялися лише вміст та концентрація IPM до nNOS. Вони були більшими на 70,1 % та 5,3 % відповідно. Цікавими виявилися міжгрупові розбіжності в показниках експресії nNOS в структурі ЯСТ при етіологічно різних видах АГ. Тварини з ЕСАГ в порівнянні з тваринами з ЕАГ продемонстрували вірогідно нижчі показники концентрації та питомої площі IPM до досліджуваного ензиму на 12,8 % та 14,9 % відповідно. При тому, що вміст nNOS в структурі ЯСТ у щурів з ЕСАГ вірогідно був більшим на 20,1 % в порівнянні з показниками щурів з ЕАГ (див. табл. 4.4).

Візуальний розподіл IPM до iNOS та його особливості в структурі ЯСТ експериментальних тварин представлені на рисунках 4.13 – 4.15.



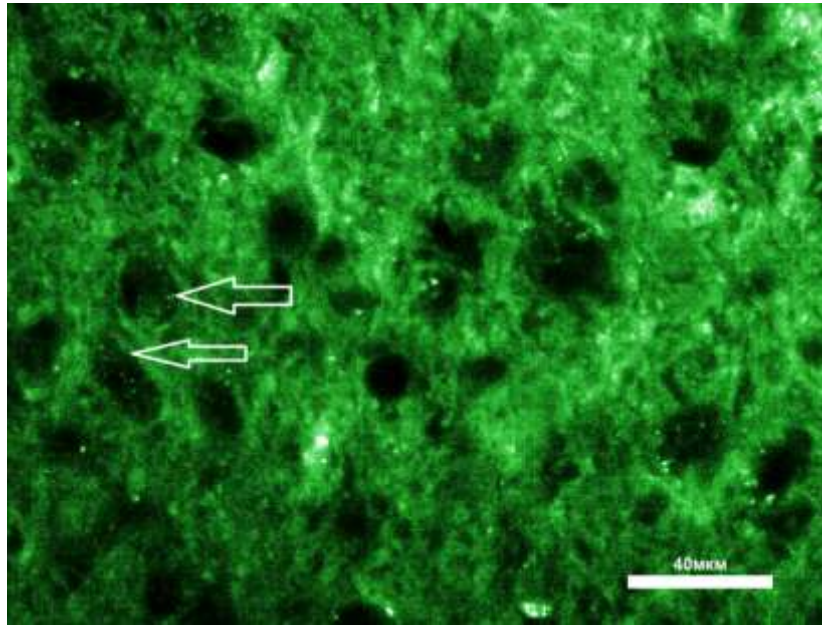
Примітка. Стрілками вказано IPM до iNOS.

Рисунок 4.13 – Експресія iNOS в структурі ядра солітарного тракта стовбуру мозку у контрольних щурів. Реакція прямої імуофлюоресценції



Примітка. Стрілками вказано IPM до iNOS.

Рисунок 4.14 – Експресія iNOS в структурі ядра солітарного тракта стовбуру мозку у щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією. Реакція прямої імуофлюоресценції



Примітка. Стрілками вказано IPM до iNOS.

Рисунок 4.15 – Експресія iNOS в структурі ядра солітарного тракта стовбуру мозку у щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією.

Реакція прямої імунофлюоресценції

Так з рисунку 4.13 видно, що у групі контрольних тварин IPM до iNOS розподілявся дифузно, але нерівномірно по структурі. В середині нейронів, реактивних, до iNOS IPM матеріал був представлений у вигляді гранул. При цьому флюоресценція спостерігалася не лише в сомі нейронів ЯСТ, а і в їх аксонах (див. рис. 4.13).

Дещо інша картина спостерігалася у тварин із ЕАГ. У них IPM до індукцибельної ізоформи NOS був також представлений дифузним розповсюдженням, як і в контрольній групі внутрішньоклітинний компармент спостерігався у вигляді гранул, але, на відмінну від групи порівняння, гранулярність IPM до iNOS відмічалася і в позаклітинному компарменті в структурі ЯСТ. У свою чергу для тварин із ЕСАГ візуально IPM був розподілений дифузно та рівномірно, розміщувався як внутрішньо- так і позаклітинно. В обох випадках скупчення IPM носило вигляд гранул. Внутрішньоклітинний компармент характеризувався відсутністю світіння в області ядра нейронів. Відмічалось також, що не всі клітини мали імунореактивний матеріал до iNOS – в деяких нейронах не відмічалось флюоресценції (див. рис. 4.14 та рис. 4.15).

Статистична обробка даних показала, що в структурі ЯСТ в обох експериментальних групах з АГ по відношенню до групи контролю показники експресії iNOS були вірогідно більшими. Так, у щурів з ЕАГ вміст, концентрація та питома площа IPM до iNOS були більшими на 53,3 %, 26,6 % та 16,5 % відповідно. У тварин в групі з ЕСАГ превалювання показників експресії по відношенню до показників контрольних тварин складало 51,2 %, 10,1 % та 11,6 % відповідно. При міжмодельному порівнянні показників груп із АГ було встановлено, що у тварин з ЕСАГ по відношенню до групи з ЕАГ вірогідно меншими були лише концентрація та площа IPM до iNOS на 13,1 % та 4,2 % відповідно (табл. 4.5)

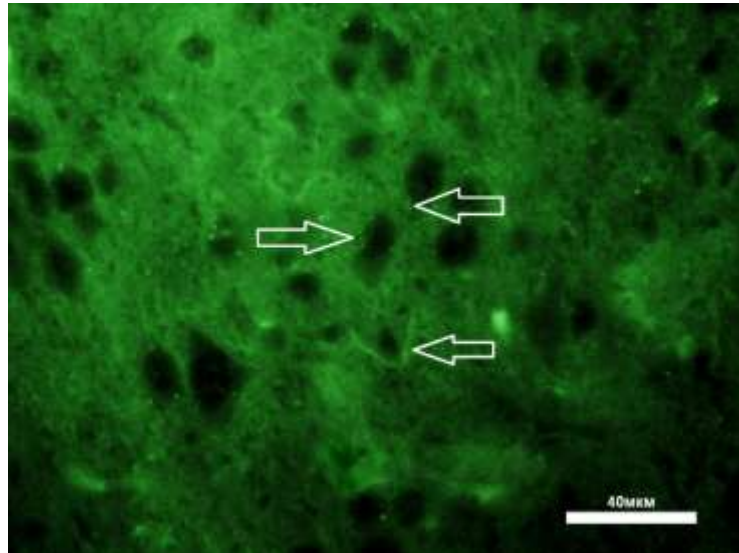
Таблиця 4.5 - Показники експресії iNOS в структурі ядра солітарного тракта щурів експериментальних груп (M±m)

Досліджувані параметри	Контроль	ЕАГ	ЕСАГ
Вміст IPM (O _{Діф})	308,95±12,84	473,81±11,25*	467,31±12,06*
Концентрація IPM (O _{Діф} /мкм ²)	58,11±1,23	73,60±0,90*	63,97±0,75*#
Питома площа (%)	45,03±1,10	52,48±0,58*	50,25±0,67*#

Примітка 1. (*) – вірогідна різниця показників (p<0,05) щурів експериментальних груп по відношенню до контролю.

Примітка 2. (#) – вірогідна різниця показників (p<0,05) щурів між групами з експериментальною артеріальною гіпертензією.

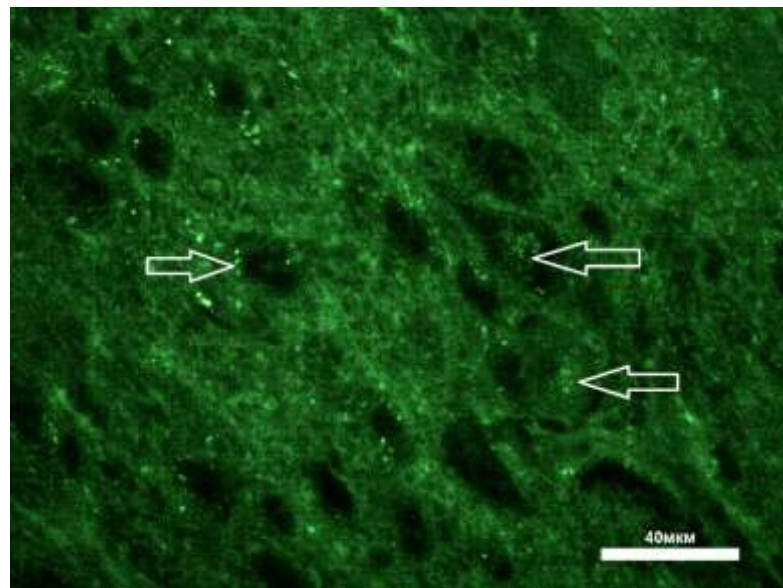
Після проведеного імунофлюоресцентного дослідження експресії eNOS в структурі ЯСТ щурів з експериментальною АГ були також встановлені деякі особливості. Так у щурів контрольної групи у структурі, що досліджувалась, було виявлено неоднорідність розподілу IPM до ензиму. При цьому виявлялися його скупчення як у сомі нейронів ЯСТ у вигляді гранул, так і в їх відростках. Також у цієї групи експериментальних тварин відмічалось дифузне нерівномірне позаклітинне світіння у відростках, але гранули майже не виявлялися (рис. 4.16).



Примітка. Стрілками вказано IPM до eNOS.

Рисунок 4.16 – Експресія eNOS в структурі ядра солітарного тракта стовбуру мозку у контрольних щурів. Реакція непрямой імунофлюоресценції

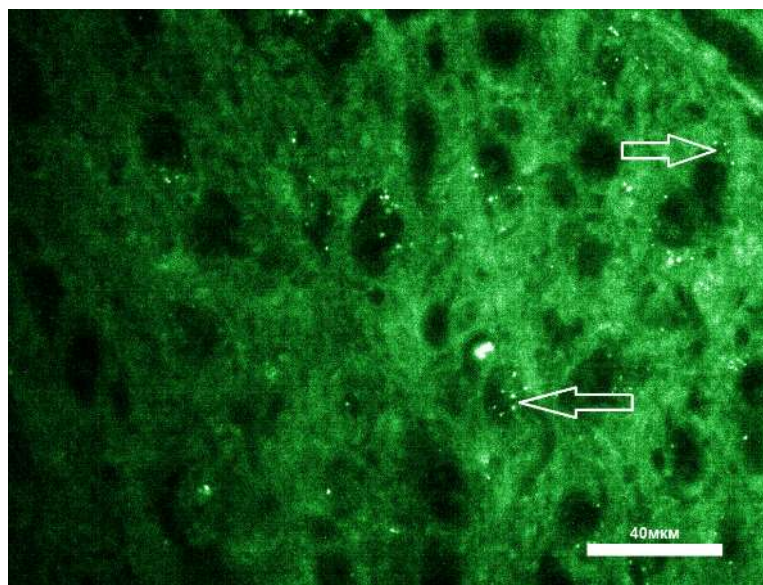
У щурів із ЕАГ спостерігалися наступні особливості розподілення IPM до eNOS: відмічалось дифузне накопичення імунного матеріалу у вигляді гранул, як внутрішньоклітинно, так і позаклітинно. При чому, слід зауважити, що у цих тварин на відміну від групи порівняння, позаклітинна фракція IPM до eNOS була представлена у вигляді гранул (рис. 4.17).



Примітка. Стрілками вказано IPM до eNOS.

Рисунок 4.17 – Експресія eNOS в структурі ядра солітарного тракта стовбуру мозку у щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією. Реакція непрямой імунофлюоресценції

Що стосується щурів із ЕСАГ, то у них візуальне розподілення ІРМ до eNOS нагадувало таке у контрольних тварин: імунопозитивний матеріал накопичувався у клітинах у вигляді гранул, позаклітинна його фракція була розподілена нерівномірно та дифузно. Внутрішньоклітинно ІРМ до eNOS розміщувався по периметру соми нейрону не торкаючись області ядра та перинуклеарного простору (рис. 4.18).



Примітка. Стрілками вказано ІРМ до eNOS.

Рисунок 4.18 – Експресія eNOS в структурі ядра солітарного тракту стовбуру мозку у щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією. Реакція непрямой імунофлюоресценції

Показники експресії eNOS у щурів з ЕАГ продемонстрували вірогідно більші цифрові значення порівняно з контролем. Так її вміст в структурі ЯСТ був більшим на 22 %, концентрація – на 28 %, а питома площа – на 23 %. Аналогічні показники у щурів з ЕСАГ продемонстрували відмінності від показників контролю, було відмічено на 35 % більше вмісту, концентрації – на 4,9 %, а питомої площі – на 8 %. Також були отримані дані міжгрупові відмінності в показниках експресії eNOS. Доведено, що концентрація та питома площа ІРМ до eNOS у тварин з ЕСАГ в порівнянні з тваринами з ЕАГ були вірогідно нижчими на 18 % та 12,2 %, а вміст більше на 10,7 % (табл. 4.6).

Таблиця 4.6 - Показники експресії eNOS в структурі ядра солітарного тракта щурів експериментальних груп ($M \pm m$)

Досліджувані параметри	Контроль	ЕАГ	ЕСАГ
Вміст IPM ($O_{Di\phi}$)	398,32 \pm 10,75	486,00 \pm 12,26*	537,98 \pm 14,27*
Концентрація IPM ($O_{Di\phi}$ /мкм ²)	61,82 \pm 1,04	79,13 \pm 0,95*	64,86 \pm 0,85*#
Питома площа (%)	42,21 \pm 1,07	51,93 \pm 0,60*	45,62 \pm 0,61*#

Примітка 1. (*) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів експериментальних груп по відношенню до контролю.

Примітка 2. (#) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів між групами з експериментальною артеріальною гіпертензією.

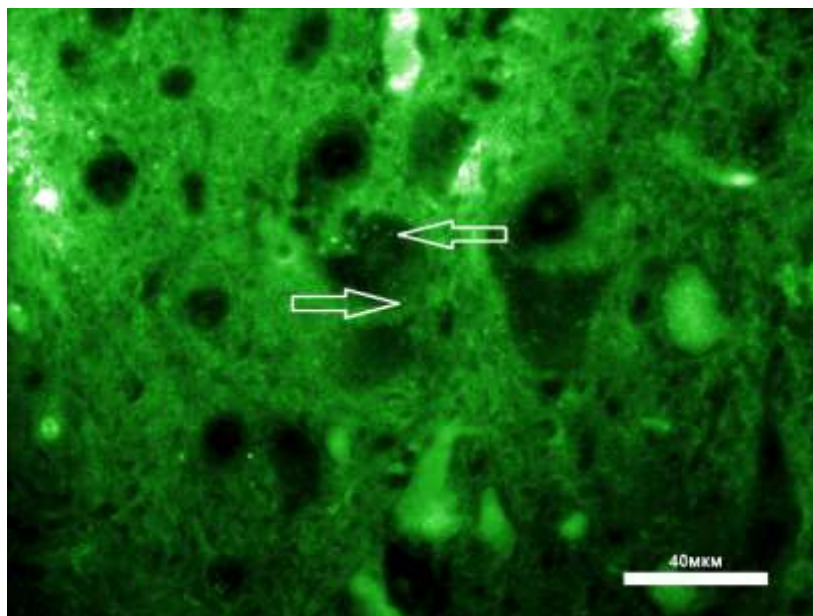
Тому, беручи до уваги вищесказане можна стверджувати, що в структурі ЯСТ при АГ незалежно від етіології формування стійкого підвищення АТ спостерігаються вірогідно вищі показники експресії (вміст, концентрація та питома площа) IPM до iNOS та eNOS відносно групи порівняння. Що стосується nNOS, то у щурів з ЕАГ всі досліджувані показники експресії вірогідно були вищими по відношенню до значень контрольних тварин. На відміну у щурів з ЕСАГ спостерігали вірогідно вищі лише вміст та концентрацію IPM до nNOS в порівнянні з групою контролю.

4.3. Показники експресії ізоформ NOS в структурі дорсального моторного ядра щурів з АГ різного генезу

В ході проведеного дослідженого ізоформного профілю ферменту NOS в структурі ДМЯ були встановлені значущі відмінності між показниками експресії IPM ензимів контрольної та експериментальних груп.

Так, на рисунку 4.19 показано розподілення імунного матеріалу до нейрональної ізоформи NOS в структурі ДМЯ стовбуру мозку у контрольних тварин. Візуальний аналіз розподілення в структурі ядра імунореактивного матеріалу показав його як дифузне, так і гранулярне накопичення всередині

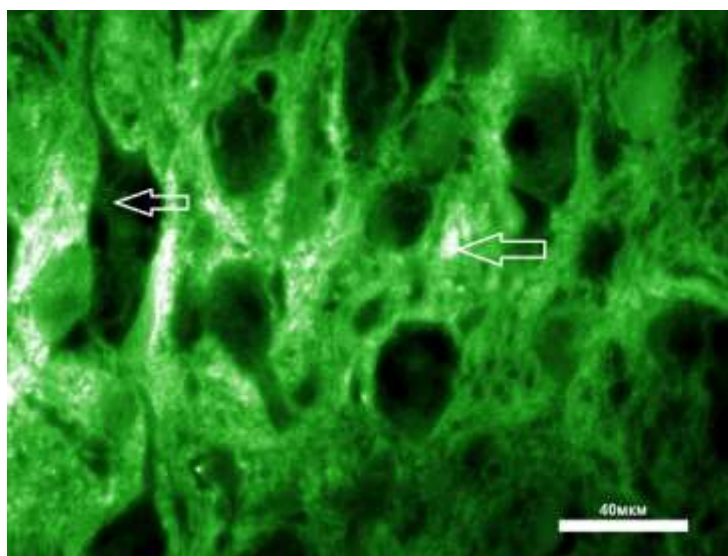
клітин ДМЯ. Також треба відмітити наявність клітин, що мали дифузну інтенсивну флюоресценцію. Крім цього не всі нейрони ДМЯ мали реактивність до nNOS, виявлялися клітини які взагалі не мали IPM (рис 4.19).



Примітка. Стрілками вказано IPM до nNOS

Рисунок 4.19 – Експресія nNOS в структурі дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів контрольної групи. Реакція непрямой імунофлюоресценції

У щурів із ЕАГ при візуалізації IPM до nNOS в структурі ДМЯ було відмічено, що досить інтенсивна флюоресценція спостерігається у позаклітинному просторі. При цьому незначна частка імунного матеріалу всередині клітин представлена гранулами, що розкидані по всьому периметру соми нейрону, оминаючи область ядра (рис. 4.20).

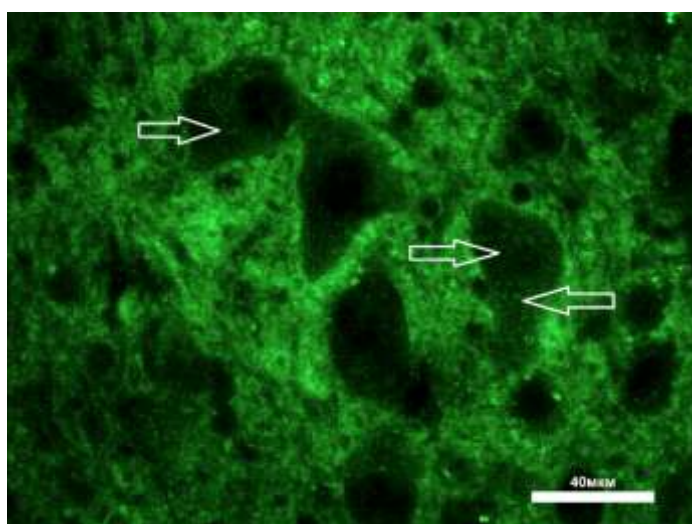


Примітка. Стрілками вказано IPM до nNOS.

Рисунок 4.20 – Експресія nNOS в структурі дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією.

Реакція непрямой імунофлюоресценції

Візуальний розподіл імунного матеріалу до nNOS у тварин з ЕСАГ нагадував розподіл IPM у тварин контрольної групи: гранулярне накопичення IPM всередині тіла нейрону та дифузний нерівномірний розподіл позаклітинного компарменту IPM. Особливістю було те, що у щурів з ЕСАГ відмічалася наявність гранул також у позаклітинному просторі (рис. 4.21).



Примітка. Стрілками вказано IPM до nNOS.

Рисунок 4.21 – Експресія nNOS в структурі дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією. Реакція непрямой імунофлюоресценції

Статистичні показники експресії nNOS показали, що у щурів з ЕАГ вірогідно були більшими вміст, концентрація та відносна площа ІРМ до неї в порівнянні з відповідними показниками контрольних тварин на 34,46 %, 30,57 % та 18,05 % відповідно. В той час як у щурів з ЕСАГ по відношенню до контролю вірогідно збільшилися лише вміст та концентрація ІРМ до nNOS на 70,96 % і 13 % відповідно. Порівняння показників експресії nNOS у ДМЯ щурів з АГ встановило, що у тварин з ЕСАГ в порівнянні з тваринами з ЕАГ спостерігалось вірогідне збільшення вмісту ІРМ до даної ізоформи ферменту на 27,1 %, але його концентрація та відносна площа зменшувалися на 13,5 % та 16,8 % відповідно (табл. 4.7).

Таблиця 4.7 - Показники експресії nNOS в структурі дорсального моторного ядра щурів експериментальних груп (M±m)

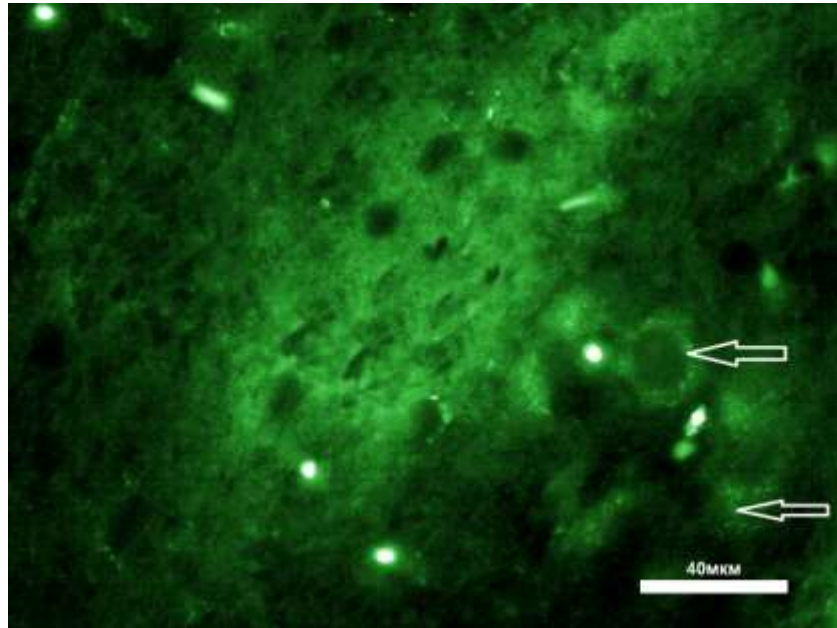
Досліджувані параметри	Контроль	ЕАГ	ЕСАГ
Вміст ІРМ (О _{диф})	244,24±10,65	328,41±17,36*	417,56±14,03*#
Концентрація ІРМ (О _{диф} /мкм ²)	59,88±1,38	78,19±2,34*	67,67±1,06*#
Питома площа (%)	45,74±1,30	54,00±0,63*	44,94±0,56#

Примітка 1. (*) – вірогідна різниця показників (p<0,05) щурів експериментальних груп по відношенню до контролю.

Примітка 2. (#) – вірогідна різниця показників (p<0,05) щурів між групами з експериментальною артеріальною гіпертензією.

Візуальний розподіл ІРМ до iNOS в структурі ДМЯ у щурів експериментальних груп характеризувався певними особливостями. Так у щурів контрольної групи була відмічена наявність клітин із рівномірним дифузним накопиченням флюоресцентного матеріалу по всьому периметру клітини виключаючи область ядра. На противагу таким клітинам у цієї ж групи

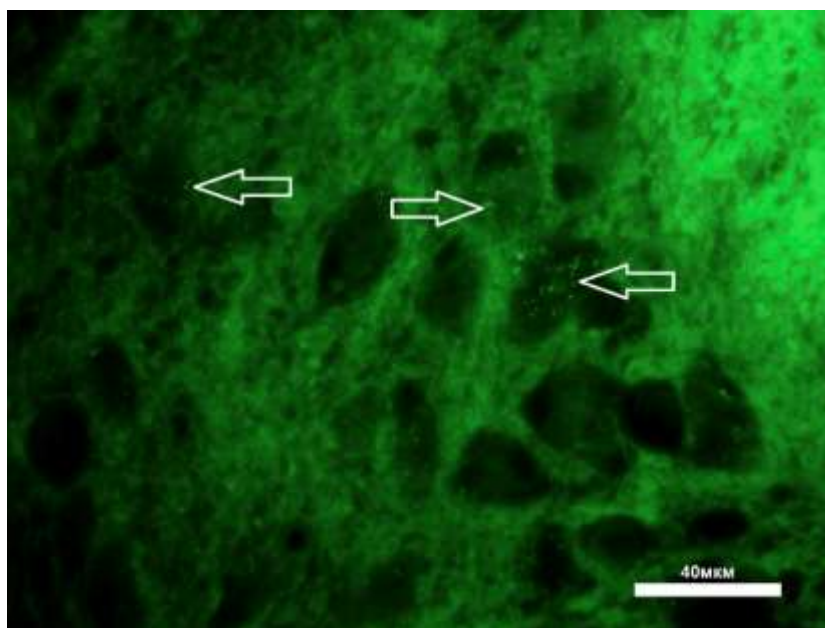
тварин спостерігалися клітини зі значно зменшеним та нерівномірним накопиченням IPM до iNOS. Позаклітинно імунний матеріал розміщувався дифузно і нерівномірно (рис. 4.22).



Примітка. Стрілками вказано IPM до iNOS.

Рисунок 4.22 – Експресія iNOS в структурі дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів контрольної групи. Реакція прямої імунофлюоресценції

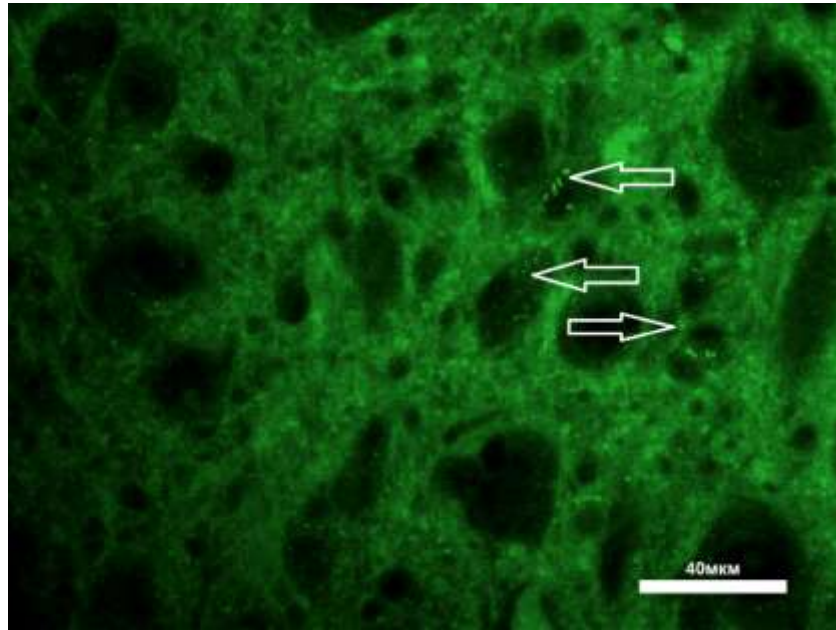
В той же час у щурів із ЕАГ спостерігалось накопичення флюоресцентного матеріалу дифузно у реактивних до iNOS клітинах у вигляді гранул. Слід зауважити, що серед нейронів в структурі ДМЯ у щурів із ЕАГ зустрічалися нейрони без вмісту IPM З іншого боку позаклітинне дифузне нерівномірне світіння, подібне до особливостей експресії iNOS в ДМЯ контрольних тварин, також спостерігалось і у щурів з ЕАГ (рис. 4.23).



Примітка. Стрілками вказано IPM до iNOS.

Рисунок 4.23 – Експресія iNOS в структурі дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів з есенціальною атеріальною гіпертензією. Реакція прямої імунофлюоресценції

Накопичення IPM до iNOS в ДМЯ у тварин с ЕСАГ характеризувалося наявністю специфічного світіння у вигляді гранул в середині клітин, реактивних до iNOS. Імунний матеріал в сомі нейронів ДМЯ розподілявся не рівномірно. Позаклітинний компармент розподілення IPM характеризувався дифузним нерівномірним світінням. Слід сказати, що не всі нейрони ДМЯ були реактивні до iNOS (рис. 4.24).



Примітка. Стрілками вказано IPM до iNOS.

Рисунок 4.24 – Експресія iNOS в структурі дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією.

Реакція прямої імунофлюоресценції

Дослідження показників експресії iNOS в ДМЯ показало, що в групах з АГ вони вірогідно були більшими в порівнянні з групою контрольних тварин. Так у щурів з ЕАГ вміст, концентрація та відносна площа IPM були вище на 40,96 %, 29,08 % та 21,41 %, в той час як у тварин з ЕСАГ відповідні показники перевищували значення контролю на 67,87 %, 12,47 % та 8,90 % відповідно. Порівняльний аналіз даних між групами з АГ продемонстрував, що у щурів з ЕСАГ в порівнянні з ЕАГ на фоні вірогідно більшого вмісту IPM до iNOS на 19,1 % спостерігалися більш низька концентрація на 12,87 % та відносна площа IPM на 10,7 % (табл. 4.8).

Таблиця 4.8 - Показники експресії iNOS в структурі дорсального моторного ядра щурів експериментальних груп (M±m)

Досліджувані параметри	Контроль	ЕАГ	ЕСАГ
Вміст IPM (Одіф)	266,43±11,78	375,57±12,69*	447,28±13,86*#
1	2	3	4

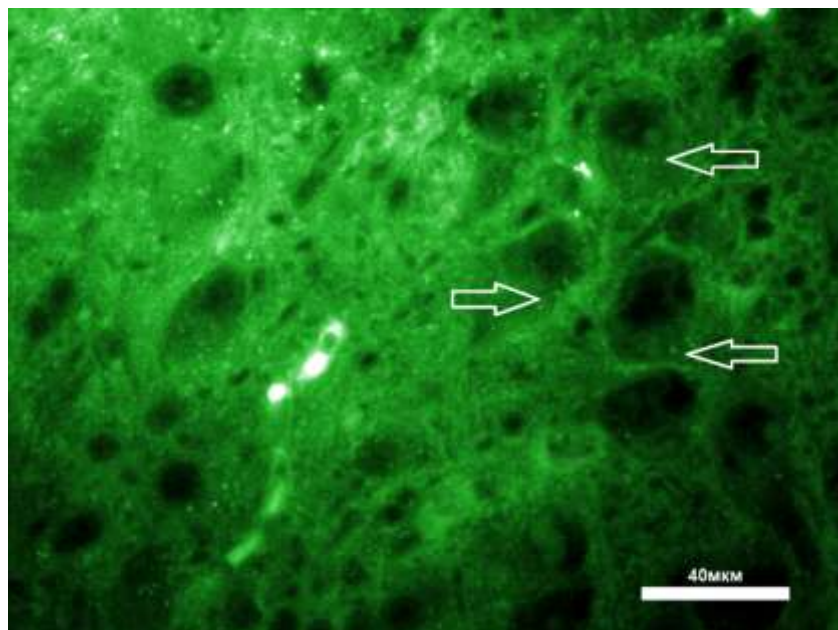
Продовження таблиці 4.8

1	2	3	4
Концентрація IPM (ОД _{іф} /мкм ²)	57,24±1,21	73,89±1,08*	64,38±0,62*#
Питома площа (%)	44,64±1,11	54,20±0,75*	48,42±0,56*#

Примітка 1. (*) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів експериментальних груп по відношенню до контролю.

Примітка 2. (#) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів між групами з експериментальною артеріальною гіпертензією.

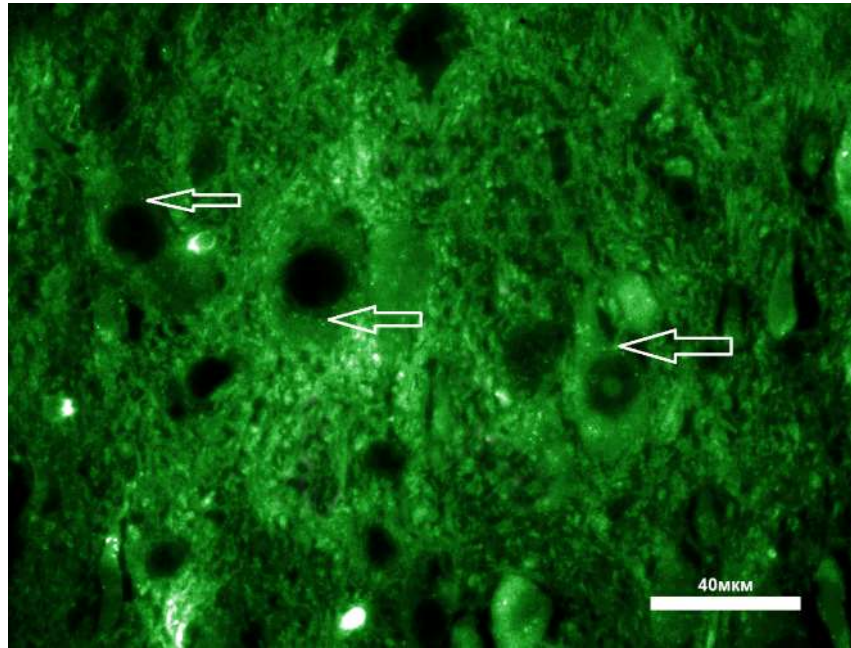
Проведене імунофлуоресцентне дослідження експресії eNOS в ДМЯ щурів контрольної групи показало, що IPM до цієї ізоформи ферменту мав як внутрішньо- так і позаклітинне розміщення. Внутрішньоклітинно імунний матеріал знаходився у вигляді гранул в сомі імунопозитивних нейронів та їх аксонах. Позаклітинна частка розповсюджувалася нерівномірно та дифузно із поодинокими гранулами (рис. 4.25).



Примітка. Стрілками вказано IPM до eNOS.

Рисунок 4.25 – Експресія eNOS в структурі дорсального моторного ядра стовбуру мозку у контрольних щурів тварин. Реакція непрямой імунофлуоресценції

Стосовно щурів із ЕАГ, то візуально розподіл ІРМ до eNOS в порівнянні із щурами контрольної групи мав наступні особливості: відмічалися клітини з дифузним рівномірним світінням імунного матеріалу в цитоплазмі нейронів, гранулярність ІРМ в їх середині була незначна. Позаклітинний компармент мав менш виражену інтенсивність світіння і більшу нерівномірність розподілу в порівнянні з групою контролю (рис 4.26).

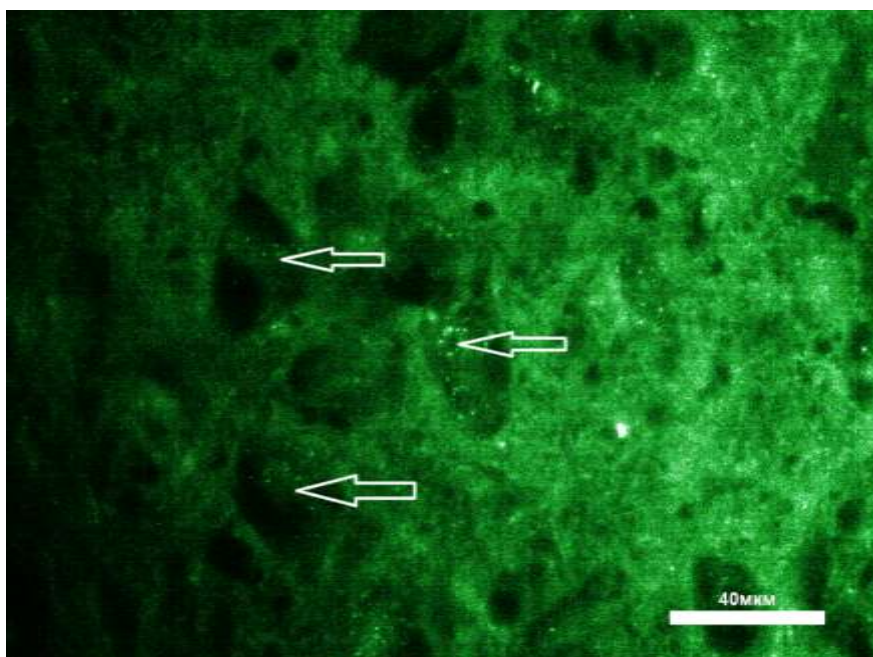


Примітка. Стрілками вказано ІРМ до eNOS.

Рисунок 4.26 – Експресія eNOS в структурі дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією.

Реакція непрямой імунофлюоресценції

В свою чергу візуальний розподіл ІРМ до eNOS у щурів із ЕСАГ мав картину схожу до такої у щурів контрольної групи. Так імунний матеріал всередині нейронів розміщувався у вигляді гранул, нерівномірно по периметру клітини, позаклітинний компармент характеризувався нерівномірним дифузним розповсюдженням із наявністю поодиноких гранул (рис. 4.27).



Примітка. Стрілками вказано IPM до eNOS.

Рисунок 4.27 – Експресія eNOS в структурі дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією. Реакція непрямой імунофлюоресценції

Після статистичної обробки параметрів експресії eNOS в структурі ДМЯ експериментальних тварин було встановлено, що у щурів з ЕАГ всі досліджувані показники були вірогідно більше значень нормотензивного контролю: вміст IPM до eNOS був вище на 92,2 %, концентрація IPM - на 31,69 %, відносна площа IPM - на 11,93 %. У групі щурів з ЕСАГ вміст IPM до eNOS в структурі ДМЯ був більше на 74,6 %, концентрація - на 16,77 %, а відносна площа достовірно не відрізнялася від значень контролю. При порівнянні показників експериментальних груп з АГ було встановлено, що абсолютно всі параметри експресії досліджуваної ізоформи ензиму у тварин з ЕСАГ були вірогідно нижче по відношенню до значень щурів з ЕАГ. При цьому вміст IPM був менше на 9,19 %, концентрація на - 11,32 %, а відносна площа - на 19,20 % (табл. 4.9)

Таблиця 4.9 - Показники експресії eNOS в структурі дорсального моторного ядра щурів експериментальних груп (M±m)

Досліджувані параметри	Контроль	ЕАГ	ЕСАГ
Вміст IPM (O _{Діф})	269,38±10,92	517,99±14,45*	470,36±14,09*#
Концентрація IPM (O _{Діф} /мкм ²)	57,45±1,33	75,66±0,96*	67,09±0,99*#
Питома площа (%)	45,27±1,02	54,99±0,61*	44,43±0,73#

Примітка 1. (*) – вірогідна різниця показників (p<0,05) щурів експериментальних груп по відношенню до контролю.

Примітка 2. (#) – вірогідна різниця показників (p<0,05) щурів між групами з експериментальною артеріальною гіпертензією.

Опираючись на наведені дані можна резюмувати, що в структурі ДМЯ експериментальних тварин ізоформний профіль NOS мав свої особливості в порівнянні з групою контролю. Так, у щурів із ЕАГ відносно нормотензивних тварин експресія всіх показників досліджуваних ізоформ NOS була вірогідно вище. В той же час, щури із ЕСАГ відносно контролю продемонстрували збільшення вмісту та концентрації IPM до конститутивних ізоформ NOS (nNOS та eNOS) на фоні не зміненої питомої площі. Також слід відмітити, що досліджувані параметри експресії iNOS вірогідно мали більші значення за такі у групі порівняння (див. табл. 4.9).

Резюме:

Результати проведеного дослідження та порівняльного аналізу показників експресії ізоформного профілю NOS в структурах БП, ЯСТ та ДМЯ стовбуру мозку показали патогенетичні особливості розподілу ферменту в них при АГ різного генезу. Вперше в роботі було визначено, що в структурі БП

артеріальна гіпертензія призводить до різних змін в експресії всіх 3-х ізоформ, що залежать від головної етіопатогенетичної ланки її розвитку.

Вперше імунофлюоресцентним методом визначено патогенетичні особливості ізоформного профілю ферменту NOS в структурі БП у щурів ЕАГ. Показано, що в них вірогідно більші вміст, концентрація та питома площа ІРМ до nNOS, iNOS та eNOS в порівнянні із контрольними тваринами.

У щурів з ЕСАГ встановлені неоднозначні відмінності показників експресії ізоформ досліджуваного ферменту. Дослідження показало, що експресія nNOS в структурі БП у щурів з ЕСАГ в порівнянні з тваринами групи контролю характеризується вірогідно меншим вмістом ІРМ до ензиму та вірогідно більшою питомою площею на фоні не зміненої концентрації. Водночас із тим для експресії iNOS у структурі БП тварин із ЕСАГ в порівнянні з групою контролю визначено вірогідно нижчі значення вмісту та концентрації ІРМ до iNOS, на фоні більших показників питомої площі. Стосовно параметрів експресії eNOS у структурі БП щурів з ЕСАГ по відношенню до групи контролю визначені вірогідно більші показники питомої площі та концентрації ІРМ одночасно з незміненими показниками його вмісту.

Проведений порівняльний аналіз показників експресії ізоформ NOS в структурі БП між групами ЕАГ та ЕСАГ довів етіозалежні відмінності. Так, експресія всіх трьох ізоформ NOS у БП стовбуру мозку у щурів з ЕСАГ по відношенню до щурів з ЕАГ відрізнялася вірогідно меншими показниками вмісту, концентрації та питомої площі ІРМ до відповідного ензиму.

В структурі ЯСТ були встановлені етіопатогенетичні особливості експресії ізоформ NOS у щурів із експериментальними артеріальними гіпертензіями. Так, у щурів з ЕАГ визначалися вірогідно більші показники вмісту, концентрації та питомої площі до ІРМ всіх трьох ізоформ ензиму по відношенню до групи контролю.

В той же час у щурів з ЕСАГ при дослідженні експресії nNOS спостерігали вірогідно більші показники вмісту та концентрації на тлі невірогідних змін питомої площі по відношенню до контрольних тварин. При

цьому всі показники експресії iNOS та eNOS у щурів групи ЕСАГ показали вірогідно більші значення відносно контролю.

Міжмодельне порівняння ізоформного профілю NOS в структурі ЯСТ у щурів з ЕСАГ відносно значень щурів з ЕАГ показало вірогідно менші концентрації ІРМ та питомої площі до всіх трьох ізоформ NOS. Одночасно з цим вміст ІРМ до nNOS у тварин з ЕСАГ у порівнянні з щурами з ЕАГ був вірогідно більшим, проте цей же показник експресії iNOS та eNOS вірогідно не відрізнявся.

В структурі ДМЯ показники експресії всіх ізоформ NOS у тварин з ЕАГ продемонстрували вірогідно більші значення, ніж у щурів контрольної групи. У щурів з ЕСАГ порівняно з контролем у досліджуваній структурі було встановлено вірогідно більші значення вмісту та концентрації до nNOS на тлі вірогідно незміненої питомої площі. При цьому експресія iNOS у щурів з ЕСАГ відрізнялася від значень контрольних щурів вірогідно більшими показниками вмісту, концентрації та питомої площі ІРМ до ензиму. При дослідженні експресії eNOS в структурі ДМЯ у щурів з ЕСАГ порівняно із контролем визначені вірогідно більші значення вмісту та концентрації при вірогідно незміненій площі ІРМ до цієї ізоформи ферменту.

Порівняння результатів дослідження показників експресії ізоформ NOS між групами із експериментальною АГ у тварин з ЕСАГ відносно тварин з ЕАГ показало, що експресія nNOS характеризується вірогідно меншими питомою площею та концентрацією ІРМ і одночасно більшим рівнем вмісту ІРМ. В той же час вміст та концентрація ІРМ до iNOS у тварин з ЕСАГ були вірогідно вище, але питома площа – вірогідно нижче, порівняно з тваринами з ЕАГ. Необхідно відмітити, що показники експресії eNOS в структурі ДМЯ щурів з ЕСАГ були вірогідно менше, ніж у щурів з ЕАГ.

Матеріали розділу відображені в 3 статтях та 3 наукових тезах [167-172].

РОЗДІЛ 5
ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ РЕГУЛЯТОРНИХ
НЕЙРОПЕПТИДІВ (BNP ТА АНГІОТЕНЗИНУ II) В СТРУКТУРАХ
БЛАКИТНОЇ ПЛЯМИ, ЯДРА СОЛІТАРНОГО ТРАКТА ТА
ДОРСАЛЬНОГО МОТОРНОГО ЯДРА СТОВБУРУ МОЗКУ ЩУРІВ З
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЮ АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ

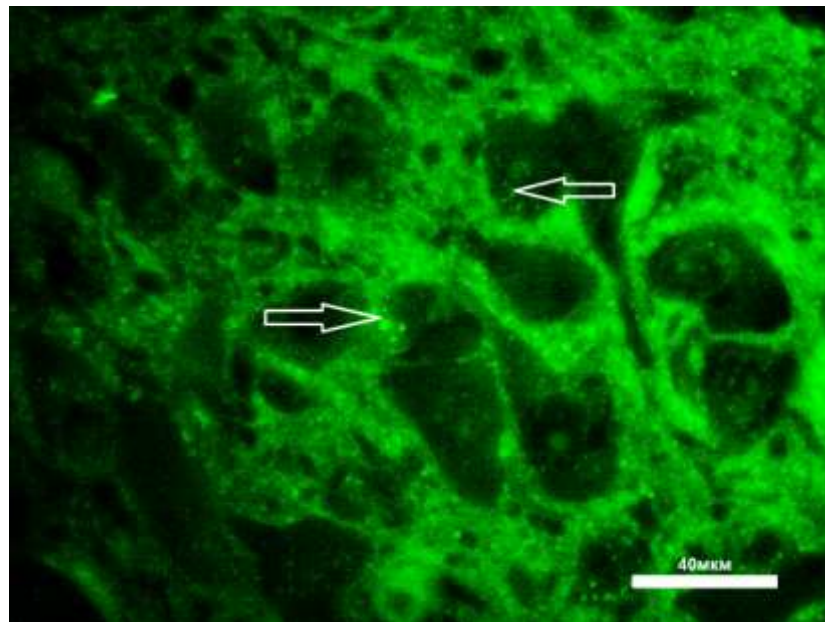
В даному розділі представлені результати дослідження експресії мозкового натрійуретичного пептиду та ангіотензину II в структурах БП, ЯСТ та ДМЯ при різних за етіопатогенезом артеріальних гіпертензіях: первинної (щурі лінії SHR) та змодельованої ендокринно-сольової артеріальної гіпертензії (ЕСАГ). Патогенетичні особливості експресії нейропептидів визначали за допомогою імунофлюоресцентного методу, котрим отримували наступні параметри: вміст (O_{dif}), концентрацію ($O_{dif}/\mu\text{км}^2$) та питому площу імуореактивного матеріалу (%) до відповідного нейропептиду, що досліджувалися. Для підвищення детекції нейропептидів в досліджуваних структурах, експериментальним щурам інтрацеребровентрикулярно *in vivo* вводився колхіцин.

Сьогодні переконливо доведена роль цілої низки нейромедіаторів в регуляції функціональної активності нейронів регуляторних центрів головного мозку [173]. В той час, коли вплив «класичних» нейротрансмітерів (ацетилхолін, глутамат, ГАМК, норадреналін) на нейрони вже достеменно відомий [174, 175], то ефекти «некласичних» нейротрансмітерів, котрі мають як локальний так і системний вплив, зараз активно вивчаються [176, 177]. Яскравими прикладами описаних «некласичних» нейропептидів є мозковий натрійуретичний пептид (BNP) та ангіотензин II (Ат II). Крім давно відомих їх системних впливів на регуляцію АТ визначена здібність локально регулювати активність нейронів центрів регуляції АТ, в тому числі і БП, ЯСТ, та ДМЯ стовбуру мозку [178, 179]. Проте відсутні дані щодо особливості балансу

експресії цих нейропептидів в досліджуваних структурах, недостатньо інформації про кількісний вміст цих нейропептидів в структурах БП, ЯСТ та ДМЯ при різній за етіологією АГ.

5.1 Показники експресії BNP в структурі блакитної плями стовбуру мозку щурів з АГ різного генезу

З рисунку 5.1 видно, що у щурів контрольної групи ІРМ до BNP в структурі БП характеризувався дифузним розміщенням. Так специфічне до BNP світіння визначалося у вигляді гранул розміщених як внутрішньо- так і поза-клітинно. В середині нейронів гранули ІРМ відмічалися як у сомі, так і у відростках.

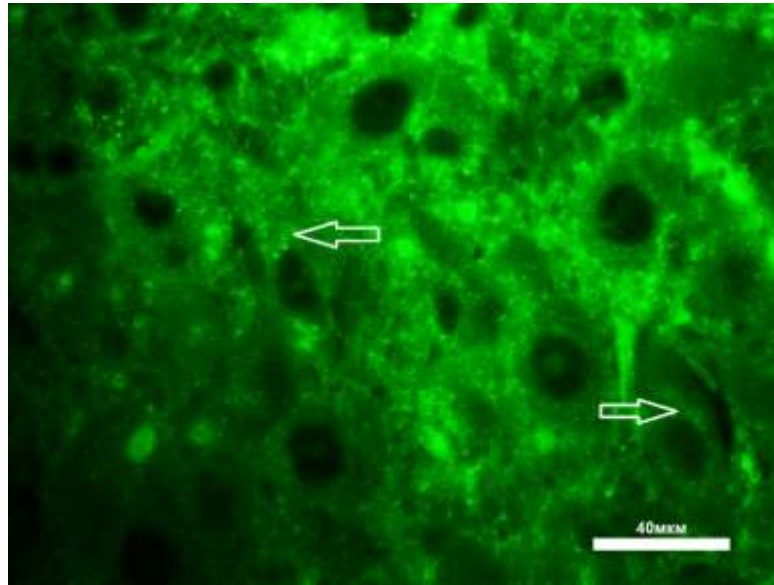


Примітка. Стрілками вказано ІРМ до BNP.

Рисунок 5.1 – Експресія BNP в структурі блакитної плями стовбуру мозку щурів контрольної групи. Реакція непрямой імуофлюоресценції

Експресія BNP у тварин із ЕАГ візуально мала подібну характеристику експресії ІРМ до цього нейропептиду контрольних щурів (дифузність світіння, розміщення ІРМ у вигляді гранул), проте виявлялась особливість у вигляді

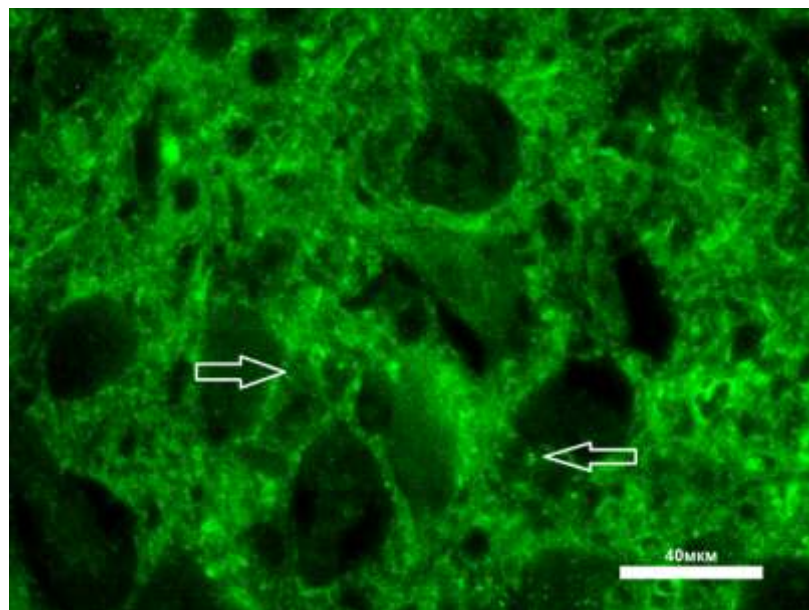
більш представленого зовнішньо клітинного компарменту IPM до BNP (рис. 5.2).



Примітка. Стрілками вказано IPM до BNP.

Рисунок 5.2 – Експресія BNP в структурі блакитної плями стовбуру мозку у щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією. Реакція непрямой імунофлюоресценції

В той же час у тварин з ЕСАГ практично весь IPM до BNP розміщувався дифузно позаклітинно і майже не відмічався у нейронах БП (рис. 5.3).



Примітка. Стрілками вказано IPM до BNP

Рисунок 5.3 – Експресія BNP в структурі блакитної плями стовбуру мозку у щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією. Реакція непрямой імунофлюоресценції

Проведений статистичний аналіз цифрових значень показників експресії BNP в структурі БП у щурів з експериментальними артеріальними гіпертензіями виявив ряд особливостей та відмінностей, як при есенціальній, так і при ендокринно-сольовій АГ (табл. 5.1).

Таблиця 5.1 - Показники експресії BNP в структурі блакитної плями стовбуру мозку щурів експериментальних груп ($M \pm m$)

Досліджувані параметри	Контроль	ЕАГ	ЕСАГ
Вміст IPM ($O_{D_{if}}$)	30,55±1,40	29,35±1,16	37,63±1,17*#
Концентрація IPM ($O_{D_{if}} / \text{мкм}^2$)	6,43±0,09	6,26±0,12	6,29±0,11
Питома площа (%)	44,95±0,57	47,88±0,82*	48,07±0,52*

Примітка 1. (*) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів експериментальних груп по відношенню до контролю.

Примітка 2. (#) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів між групами з експериментальною артеріальною гіпертензією.

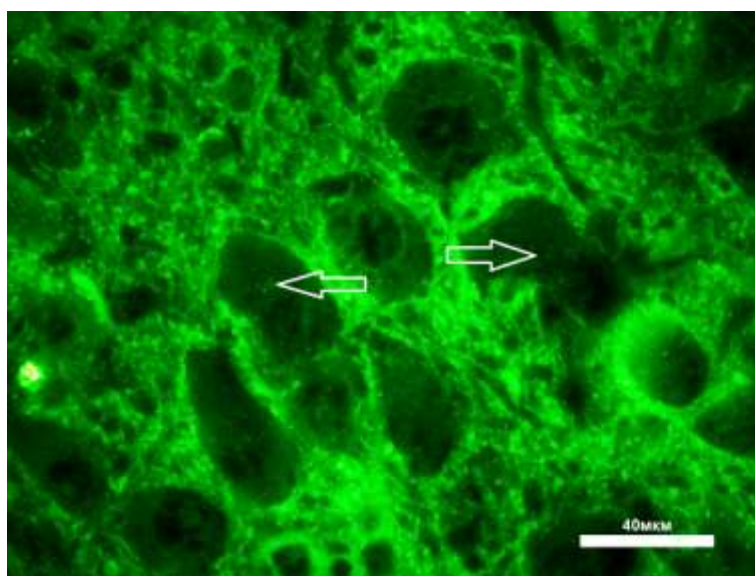
З таблиці 5.1 видно, що показник вмісту IPM до BNP в структурі БП порівняно із контролем був вірогідно більшим на 23,17 % тільки в групі щурів з ЕСАГ, тоді як у щурів з ЕАГ не мав достовірних відмінностей. Міжгрупове порівняння показало, що у щурів з ЕСАГ вміст IPM до BNP був вище на 28,21 % значення групи з ЕАГ. Концентрація IPM до BNP у БП, як в порівнянні з контролем, так і при міжгруповому аналізі у щурів обох моделей АГ вірогідних відмінностей не показала. Важливо відмітити в обох групах з експериментальною АГ вірогідні зміни показника питомої площі IPM до BNP. Так в групі з ЕАГ, в порівнянні з контролем, вона була вище на 6,51 %, а у тварин з ЕСАГ - на 6,94 %. Однак, при порівнянні показника питомої площі IPM до BNP між групами з експериментальними АГ вірогідних відмінностей встановлено не було (див. табл. 5.1).

Отримані в дослідженні дані демонструють, що в структурі БП у тварин з ЕАГ, порівняно із контролем вірогідно більшою є лише площа IPM до BNP, тоді як у щурів із ЕСАГ в порівнянні із нормотензивними щурами вірогідно

більшими були і вміст і питома площа ІРМ до ВНР. Проте міжгрупове порівняння показників експресії ВНР у тварин із різними за патогенезом АГ показало лише вірогідно більший показник вмісту ІРМ до ВНР у тварин з ЕСАГ по відношенню до тварин з ЕАГ (див. табл. 5.1).

5.2 Показники експресії ангіотензину II в структурі блакитної плями стовбуру мозку щурів з АГ різного генезу

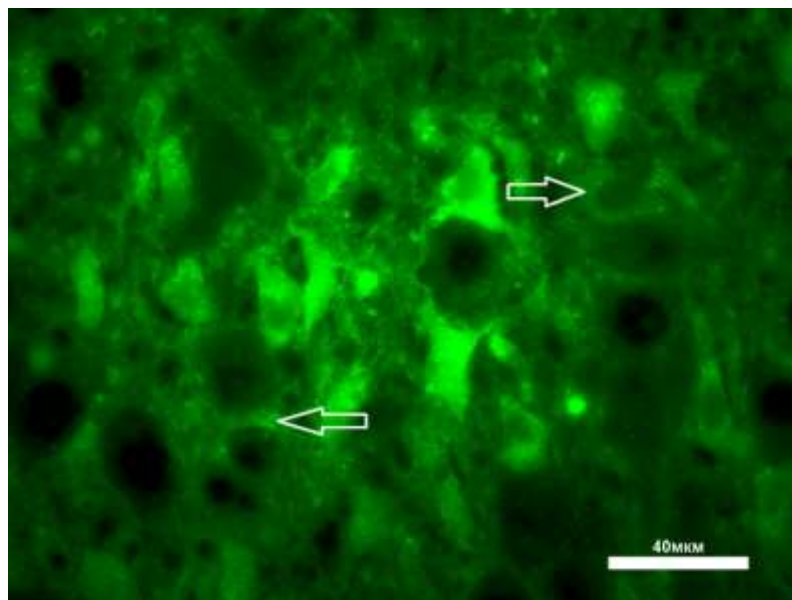
У нормотензивних контрольних тварин експресія Ат II в структурі блакитної плями стовбуру мозку візуально характеризувалася дифузним розповсюдженням ІРМ з наявністю як внутрішньоклітинного, так і позаклітинного компарментів. Патерн розподілення внутрішньоклітинного компарменту Ат II характеризувався наявністю гранул в сомі нейронів БП та був відносно мало виражений, тоді як позаклітинний компонент досліджуваного нейропептиду характеризувався значною вираженістю специфічного світіння з дифузним розподіленням ІРМ до Ат II в позаклітинному просторі (рис. 5.4).



Примітка. Стрілками вказано ІРМ до ангіотензину II.

Рисунок. 5.4 – Експресія ангіотензину II в структурі блакитної плями стовбуру мозку щурів контрольної групи. Реакція непрямой імунофлюоресценції

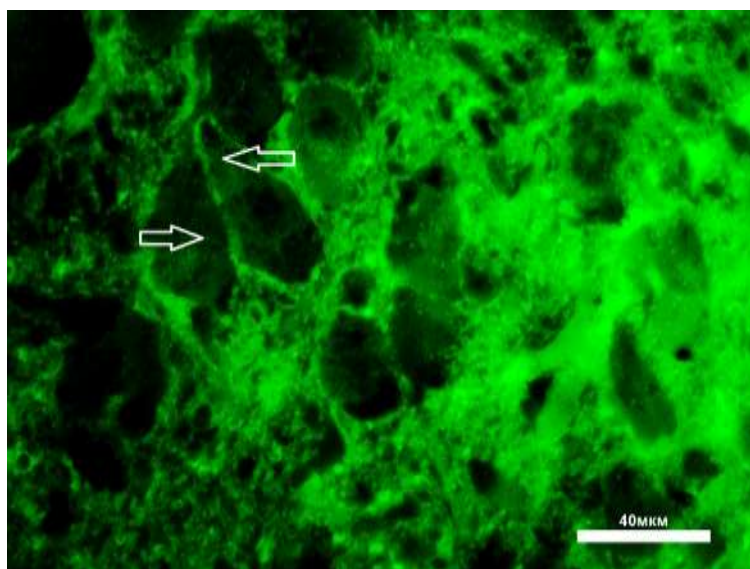
У тварин із ЕАГ також виділялися внутрішньоклітинний і позаклітинний компарменти, проте, порівняно із контролем, був досить чітко представлений перший з них (рис. 5.5).



Примітка. Стрілками вказано ІРМ до ангіотензину ІІ.

Рисунок 5.5 – Експресія ангіотензину ІІ в структурі блакитної плями стовбуру мозку у щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією. Реакція непрямой імунофлюоресценції

У тварин із ЕСАГ в структурі блакитної плями специфічне світіння до Ат ІІ було дифузне та досить добре виражене в позаклітинному просторі. Необхідно відмітити наявність поодиноких гранул з ІРМ до Ат ІІ в нейронах БП у цієї групи експериментальних тварин (рис. 5.6).



Примітка. Стрілками вказано IPM до ангіотензину II.

Рисунок 5.6 – Експресія ангіотензину II в структурі блакитної плями стовбуру мозку у щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією.
Реакція непрямой імунофлюоресценції

Статистична обробка показників експресії Ат II в структурі БП експериментальних тварин представлена в таблиці 5.2.

Таблиця 5.2. - Показники експресії ангіотензину II в структурі блакитної плями щурів експериментальних груп ($M \pm m$)

Досліджувані параметри	Контроль	ЕАГ	ЕСАГ
Вміст IPM ($O_{диф}$)	70,94±2,83	134,48±12,43 *	98,20±2,99*
Концентрація IPM ($O_{диф} / \mu\text{км}^2$)	14,09±0,28	22,46±1,68*	17,84±0,35*#
Питома площа (%)	55,77±0,65	54,63±0,91	59,1±0,65*#

Примітка 1. (*) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів експериментальних груп по відношенню до контролю.

Примітка 2. (#) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів між групами з експериментальною артеріальною гіпертензією.

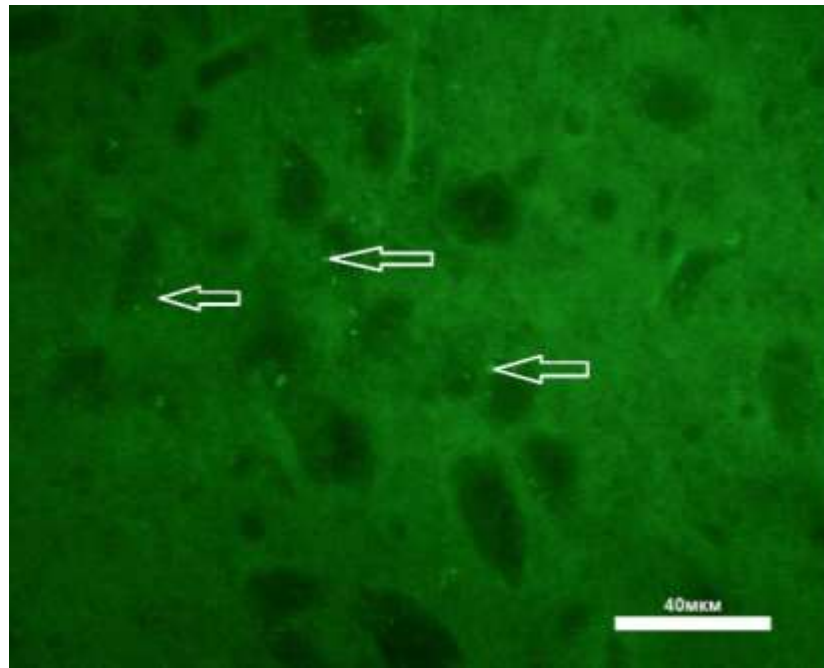
З наведеної таблиці 5.2 видно, що показники вмісту IPM. в групі з ЕАГ були більше на 89,56 %, ніж в контролі, а у тварин з ЕСАГ на 38,42 %. При цьому вірогідної різниці між експериментальними групами з АГ не спостерігалось. В той час як концентрація IPM до Ат II в структурі БП обох

експериментальних груп була вірогідно більшою, ніж в групі контролю. Встановлено її перевищення як у тварин з ЕАГ на 59,4 %, так і у щурів з ЕСАГ на 26,61 % в порівнянні із нормотензивним контролем. Так само були виявлені вірогідні відмінності в показнику концентрації ІРМ до Ат II і між експериментальними групами. У тварин з ЕСАГ вона була нижче на 20,66 % ніж у щурів з ЕАГ. Аналізуючи питому площу розподілу ІРМ до нейропептиду було встановлено її вірогідне збільшення лише у тварин з ЕСАГ, яке становило 5,97 % в порівнянні з групою контролю. Слід зазначити і відмінності цього показника між експериментальними групами, яке так само було вірогідним. При цьому в групі з ЕСАГ питома площа ІРМ до Ат II була вище на 8,18 % в порівнянні зі значеннями в групі щурів з ЕАГ (див. табл. 5.2).

Таким чином у щурів з патогенетично різними артеріальними гіпертензіями в структурі блакитної плями спостерігається вірогідно більші показники вмісту та концентрації ІРМ до Ат II порівняно із контролем, тоді як питома площа вірогідно більша відмічається виключно у тварин із ЕСАГ, порівняно із нормотензивними тваринами. Міжмодельне порівняння показників експресії ІРМ до Ат II у щурів із ЕАГ та ЕСАГ показує у останніх вірогідно меншу концентрацію ІРМ до Ат II, проте вірогідно більшу питому площу в порівнянні із тваринами з ЕАГ (див. табл. 5.2).

5.3 Показники експресії BNP в структурі ядра солітарного тракта стовбуру мозку щурів з АГ різного генезу

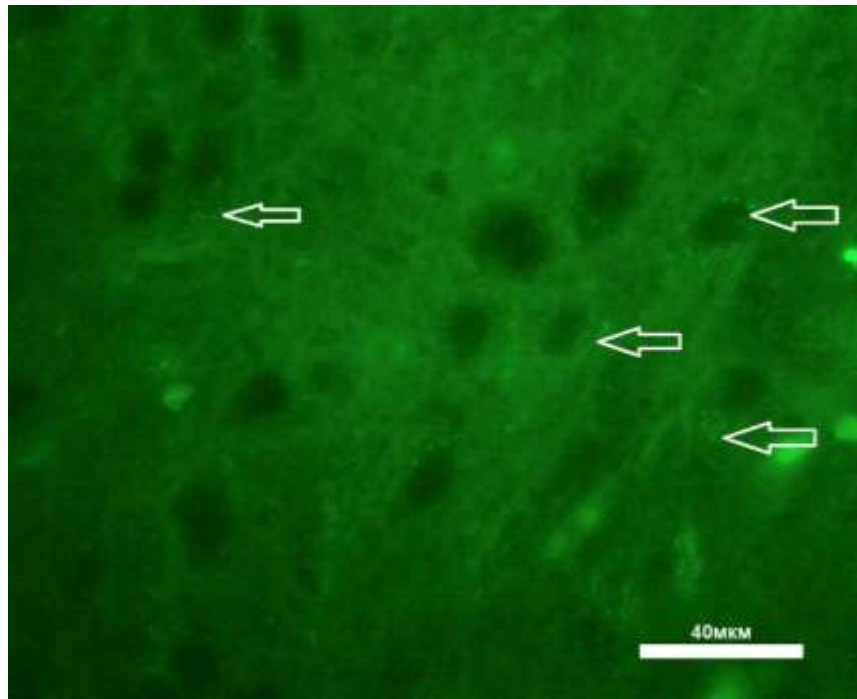
При візуальній оцінці експресії BNP в структурі ЯСТ у тварин контрольної групи було встановлено, що специфічне світіння ІРМ до досліджуваного нейропептиду більше локалізовано в середині нейронального компоненту структури. ІРМ в клітинах розміщувався у вигляді гранул периметром нейрона (рис. 5.7).



Примітка. Стрілками вказано IPM до BNP.

Рисунок 5.7 – Експресія BNP в структурі ядра солітарного тракта стовбуру мозку щурів контрольної групи.

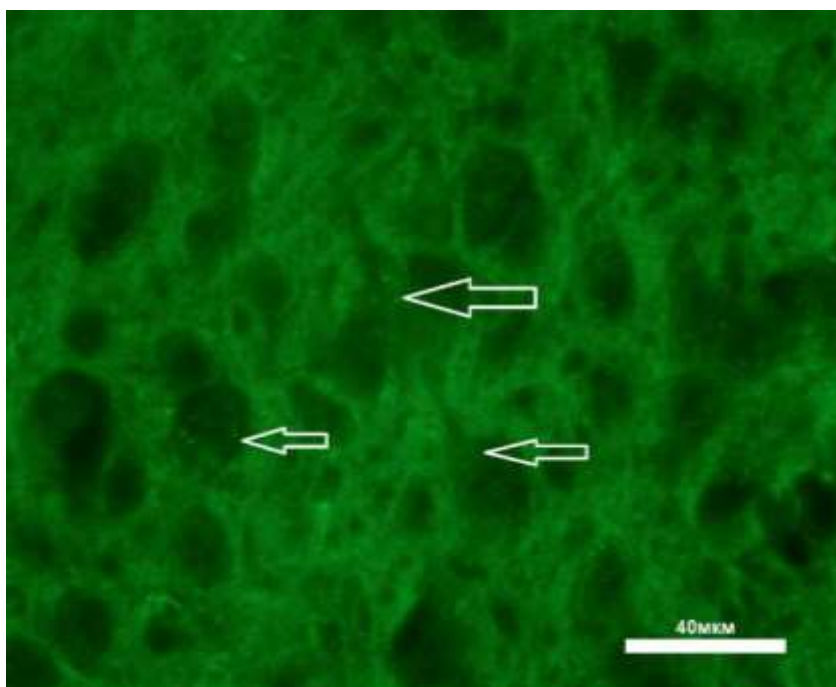
Візуальна оцінка світіння IPM до BNP в структурі ЯСТ у тварин з ЕАГ показала, що у них в досліджуваній структурі також спостерігалася більша інтенсивність специфічного світіння всередині клітинного компоненту. Проте чітко простежувалася наявність позаклітинних локусів скупчення імунопозитивного до BNP матеріалу, чого майже не відмічалось у тварин контрольної групи (рис. 5.8)



Примітка. Стрілками вказано IPM до BNP.

Рисунок 5.8 – Експресія BNP в структурі ядра солітарного тракта стовбуру мозку щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією. Реакція непрямой імунофлюоресценції

BNP в структурі ЯСТ у тварин з ЕСАГ показана на рисунку 5.9. На ньому видно, що IPM до мозкового натрійуретичного пептиду у цієї групи експериментальних тварин присутній як у внутрішньоклітинному так і позаклітинному компарментах структури. IPM візуалізувався у вигляді гранул розміщених дифузно (див. рис. 5.9).



Примітка. Стрілками вказано ІРМ до ВНР.

Рисунок 5.9 – Експресія ВНР в структурі ядра солітарного тракта стовбуру мозку щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією.
Реакція непрямой імунофлюоресценції

При статистичному аналізі показників експресії ВНР в ЯСТ було встановлено, що сформована АГ призводить до кількісних змін його експресії в цій структурі експериментальних тварин.(табл. 5.3).

Таблиця 5.3. – Показники експресії ВНР в структурі ядра солітарного тракта щурів експериментальних груп (М±m)

Досліджувані параметри	Контроль	ЕАГ	ЕСАГ
Вміст ІРМ (О _{диф})	34,40±0,85	33,98±1,01	46,90±1,90*#
Концентрація ІРМ (О _{диф} /мкм ²)	6,15±0,06	6,63±0,11*	6,04±0,17#
Питома площа (%)	51,37±0,56	40,73±0,86*	55,73±1,05*#

Примітка 1. (*) – вірогідна різниця показників (p<0,05) щурів експериментальних груп по відношенню до контролю.

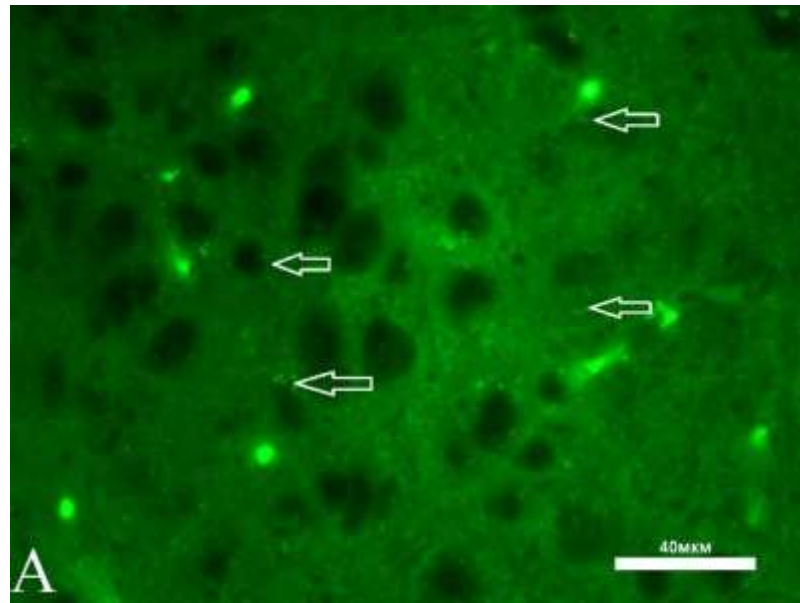
Примітка 2. (#) – вірогідна різниця показників (p<0,05) щурів між групами з експериментальною артеріальною гіпертензією.

Аналіз цифрових даних показав, що у щурів з ЕАГ порівняно із контролем вірогідно відрізнялися показники концентрації і площі ІРМ до ВНР (більше на 7,8 % і менше на 20,71 % відповідно). У той же час у щурів з ЕСАГ були вірогідно більші вміст на 36,33 % і питома площа ІРМ до ВНР на 8,48 %, а концентрація залишалася на рівні значень контролю. У щурів з ЕАГ в порівнянні з тваринами з ЕСАГ концентрація ІРМ до ВНР була вірогідно більшою на 8,89 %, тоді як вміст і його площа показали менші значення на 38,02% і 36,82 % відповідно (див. табл. 5.3).

Таким чином, можна стверджувати, що на тлі АГ у тварин в структурі ЯСТ відбуваються зміни експресії ВНР, що залежать від етіопатогенезу сформованої патології. Так, у тварин із ЕАГ спостерігаються вірогідно більші значення концентрації та вірогідно менші показники питомої площі ІРМ до ВНР, порівняно із контрольними тваринами. Тоді як у щурів із ЕСАГ відмічаються вірогідно більші показники вмісту та питомої ІРМ до ВНР, порівняно із контролем. Міжгрупове порівняння між собою тварин із ЕАГ та ЕСАГ демонструє, що у тварин з ЕСАГ порівняно із тваринами з ЕАГ відмічаються вірогідно більші значення вмісту та питомої площі ІРМ до ВНР на тлі вірогідно менших показників концентрації (див. табл. 5.3).

5.4 Показники експресії ангіотензину II в структурі ядра солітарного тракту стовбуру мозку щурів з АГ різного генезу

Візуальна картина експресії Ат II в структурі ЯСТ контрольних тварин зображена на рис. 5.10.

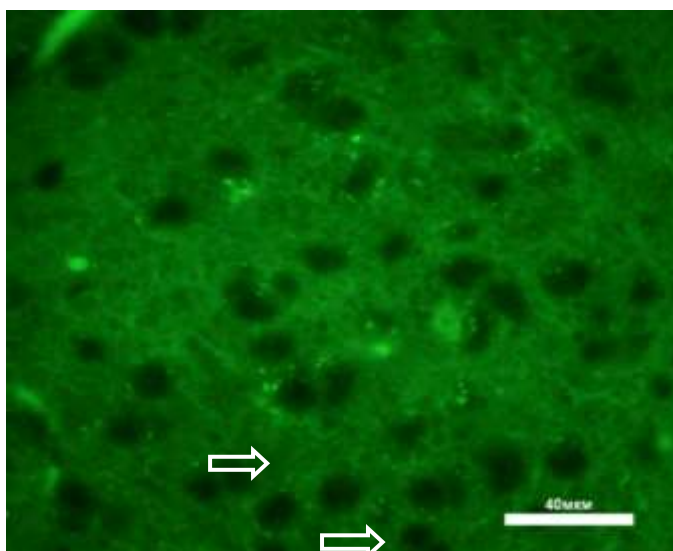


Примітка. Стрілками вказано ІРМ до ангіотензину ІІ.

Рисунок. 5.10 – Експресія ангіотензину ІІ в структурі ядра солітарного тракта стовбуру мозку щурів контрольної групи. Реакція непрямой імунофлюоресценції

На представленій мікрофотографії видно, що ІРМ до нейропептиду знаходиться переважно в сомі нейрону у вигляді дифузно розміщених гранул. Рідко можна спостерігати позаклітинне специфічне світіння імунопозитивного матеріалу до Ат ІІ у ЯСТ контрольних щурів (див. рис. 5.10).

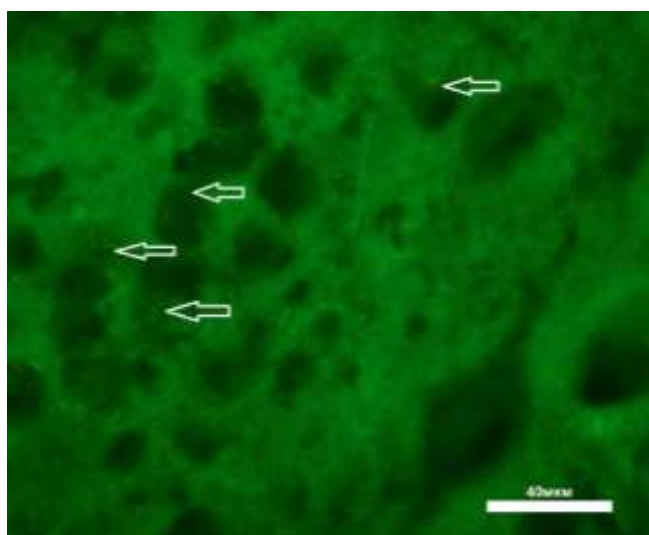
У щурів з ЕАГ розташування в структурі ЯСТ ІРМ до Ат ІІ подібно до контрольних тварин, характеризується розміщенням переважно у внутрішньоклітинному компарменті. Імунопозитивний матеріал представлений у вигляді гранул, що дифузно розміщувалися по всій сомі нейрона (рис 5.11).



Примітка. Стрілками вказано ІРМ до ангіотензину II.

Рисунок. 5.11 – Експресія ангіотензину II в структурі ядра солітарного тракта стовбуру мозку щурів з есенціальної артеріальної гіпертензії. Реакція непрямой імунофлюоресценції

Подібно до вищеописаних груп, візуальний розподіл ІРМ до Ат II у щурів з ЕСАГ також характеризувався переважним внутрішньоклітинним розміщенням. Зовнішньо імунопозитивний матеріал у структурі ЯСТ стовбуру мозку цій групі експериментальних тварин виглядав як скупчення гранул, що світяться (рис. 5.12).



Примітка. Стрілками вказано ІРМ до ангіотензину II.

Рисунок. 5.12 – Експресія Ат II в структурі ядра солітарного тракта стовбуру мозку щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією. Реакція непрямой імунофлюоресценції

Цифрові результати дослідження експресії Ат II в структурі ЯСТ показали, що при АГ формуються певні особливості, котрі залежать від етіопатогенетичної складової АГ (табл. 5.4).

Таблиця 5.4. – Показники експресії ангіотензину II в структурі ядра солітарного тракта щурів експериментальних груп (M±m)

Досліджувані параметри	Контроль	ЕАГ	ЕСАГ
Вміст ІРМ (Одіф)	111,69±3,06	126,25±3,93*	91,79±2,84*#
Концентрація ІРМ (Одіф /мкм ²)	12,76±0,18	16,97±0,22*	12,06±0,15*#
Питома площа (%)	42,36±1,69	48,70±1,47*	60,31±0,91*#

Примітка 1. (*) – вірогідна різниця показників (p<0,05) щурів експериментальних груп по відношенню до контролю.

Примітка 2. (#) – вірогідна різниця показників (p<0,05) щурів між групами з експериментальною артеріальною гіпертензією.

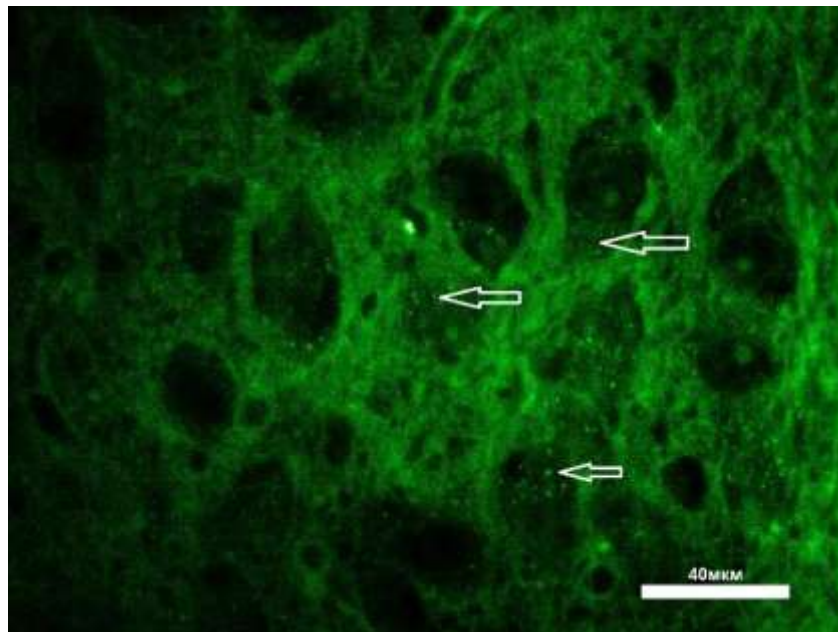
З наведеної таблиці видно, що вміст, концентрація і питома площа ІРМ до ангіотензину II в структурі ЯСТ у щурів з ЕАГ були вірогідно більше по відношенню до контрольних тварин на 13,03 %, 32,99 % і 14,96 % відповідно. У той час як у щурів з ЕСАГ зміни були не такі однотипні: у них на тлі вірогідно більшої питомої площі на 42,37 % відзначалися менші вміст і концентрація ІРМ до Ат II на 17,81 % і 5,48 % відповідно по відношенню до нормотензивних щурів. Також були виявлені відмінності між групами тварин з АГ. У щурів з ЕСАГ в порівнянні з ЕАГ спостерігалися вірогідно менші вміст і концентрації ІРМ до Ат II на 27,29 % і 28,93 %, але більша питома площа на 23,83 % (див. табл. 5.3).

Отже, з вищенаведеного випливає, що етіопатогенетичне походження АГ змінює характер експресії Ат II в структурі ЯСТ. Так у щурів із ЕАГ по відношенню до контролю відмічались вірогідно більші вміст, концентрація та питома площа ІРМ до нейропептиду. На відміну у щурів з ЕСАГ, порівняно з контролем, були вірогідно меншими показники вмісту та концентрації ІРМ до

Ат II на тлі вірогідно більшої його питомої площі. В свою чергу міжмодельне порівняння експресії нейропептиду в структурі ЯСТ у щурів із АГ показало, що у тварин з ЕСАГ порівняно з тваринами з ЕАГ, вірогідно менші показники вмісту та концентрації нейропептиду при вірогідно більшій питомій площі (див. табл. 5.3).

5.5 Показники експресії BNP в структурі дорсального моторного ядра стовбуру мозку щурів з АГ різного генезу

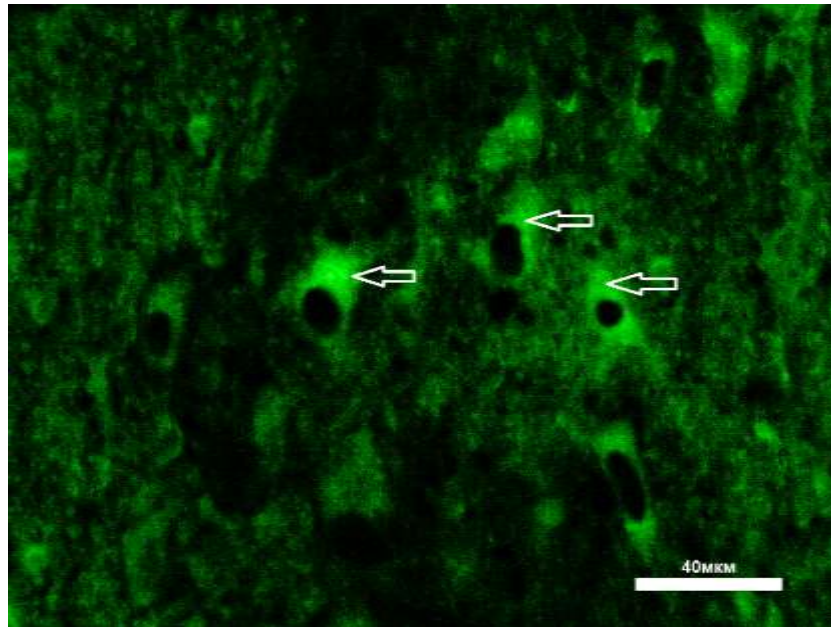
Візуально експресія BNP в структурі ДМЯ контрольних тварин характеризувалася локалізацією імунопозитивного матеріалу переважно у внутрішньоклітинному компарменті структури у вигляді гранул розміщених дифузно (рис 5.13).



Примітка. Стрілками вказано IPM до BNP.

Рисунок 5.13 – Експресія BNP в структурі дорсального моторного ядра n. vagus стовбуру мозку щурів контрольної групи. Реакція непрямой імунофлюоресценції

У тварин з ЕАГ імунопозитивний матеріал до ВНР також знаходився переважно в сомі нейронів ДМЯ, проте, на відміну від контрольних тварин світіння було представлене не у вигляді поодиноких гранул, а повністю заповняло всю площу окремих нейронів (рис 5.14).

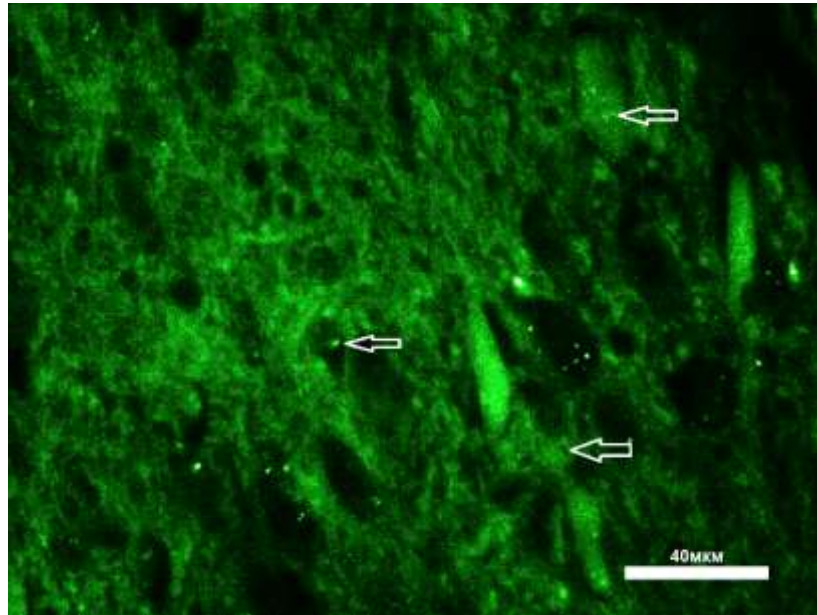


Примітка. Стрілками вказано ІРМ до ВНР.

Рисунок 5.14 – Експресія ВНР в структурі дорсального моторного ядра п. vagus стовбуру мозку щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією.

Реакція непрямой імунофлюоресценції

Стосовно тварин з ЕСАГ, то у них при візуальній оцінці розподілу ІРМ до ВНР в структурі ДМЯ відмічалися дифузно розміщені гранули з переважною локалізацією всередині клітин, що нагадувало картину світіння у ДМЯ контрольних щурів (рис 5.15, див. рис. 5.13).



Примітка. Стрілками вказано IPM до BNP.

Рисунок 5.15 – Експресія BNP в структурі дорсального моторного ядра п. vagus стовбуру мозку щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією. Реакція непрямой імунофлюоресценції

Показники експресії BNP в структурі ДМЯ також кількісно відрізнялися у гіпертензивних тварин обох експериментальних груп від значень контролю. При цьому у щурів з ЕАГ були відзначені вірогідно більша концентрація BNP на 26,6 % на тлі меншої його питомої площі на 27,8 %. У тварин з ЕСАГ всі показники експресії BNP були вірогідно вище значень контролю: вміст IPM до пептиду перевищував на 21,4 %, концентрація - на 18,9 %, питома площа - на 6,1 %. Стосовно відмінностей показників експресії BNP між самими експериментальними групами, то вони були виявлені тільки в значеннях питомої площі IPM: у тварин з ЕСАГ вона була більше на 47,1 % в порівнянні із значенням тварин з ЕАГ (табл. 5.5).

Таблиця 5.5 – Показники експресії BNP в структурі дорсального моторного ядра щурів експериментальних груп (M±m)

Досліджувані параметри	Контроль	ЕАГ	ЕСАГ
1	2	3	4

Продовження таблиці 5.5

1	2	3	4
Вміст ІРМ (О _{Діф})	31,12±0,91	33,12±1,28	37,78±1,85*
Концентрація ІРМ (О _{Діф} /мкм ²)	5,64±0,07	7,14±0,11*	6,71±0,23*
Питома площа (%)	49,98±0,58	36,07±0,78*	53,07±0,77*#

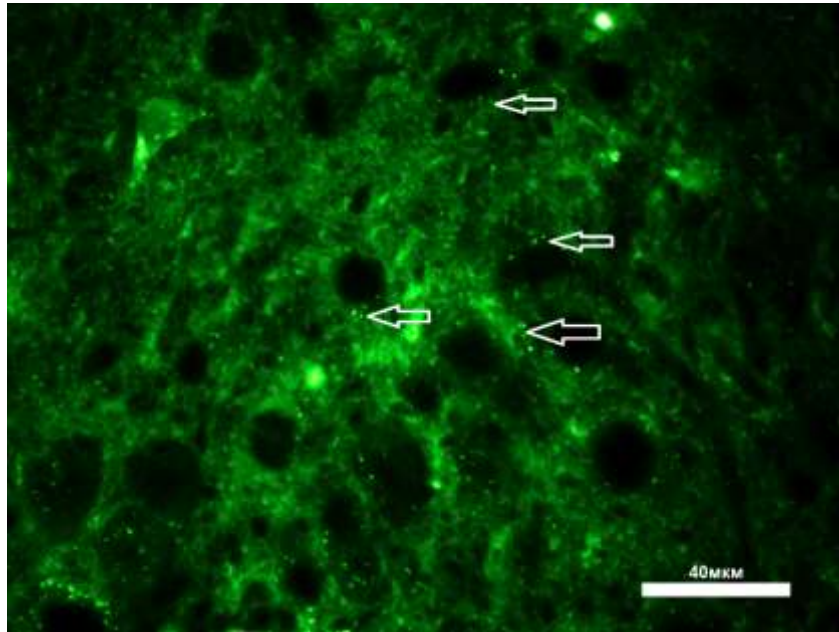
Примітка 1. (*) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів експериментальних груп по відношенню до контролю.

Примітка 2. (#) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів між групами з експериментальною артеріальною гіпертензією.

Таким чином, базуючись на результатах дослідження експресії VNP в структурі ДМЯ експериментальних тварин можна стверджувати, що її особливості перебувають в залежності від патогенетичного виду АГ. Так, у щурів з ЕАГ в порівнянні з контролем відмічено вірогідно більший показник концентрації на фоні вірогідно меншої питомої площі ІРМ до нейропептиду. Тоді як у щурів з ЕСАГ, порівняно з нормотензивними тваринами було встановлено вірогідно більші всі параметри експресії VNP – вміст, концентрацію та питому площу ІРМ. Міжмодельне порівняння щурів із експериментальною АГ показало вірогідно більшу питому площу ІРМ до VNP у тварин з ЕСАГ в порівнянні з щурами з ЕАГ (табл.. 5.5).

5.6 Показники експресії ангіотензину II в структурі дорсального моторного ядра стовбуру мозку щурів з АГ різного генезу

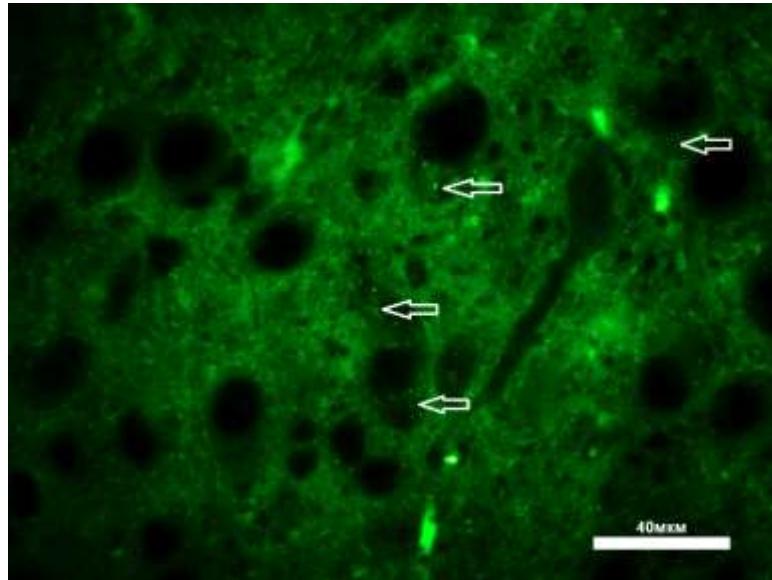
У контрольних тварин експресія Ат II в структурі ДМЯ характеризувалася значним світінням імунопозитивного матеріалу всередині клітинного компоненту структури. ІРМ виглядав як гранули, що світяться. Слід зауважити, що не всі клітини в структурі характеризувалися наявністю специфічного світіння до Ат II (рис 5.16).



Примітка. Стрілками вказано ІРМ до ангіотензину II.

Рисунок 5.16 – Експресія ангіотензину II в структурі дорсального моторного ядра п. *vagus* стовбуру мозку щурів контрольної групи. Реакція непрямой імунофлюоресценції

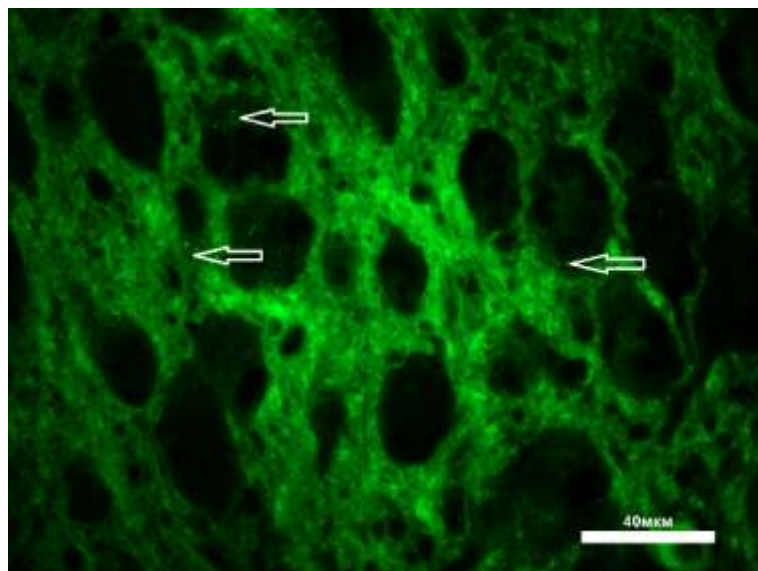
Візуальний розподіл ІРМ до Ат II в структурі ДМЯ тварин із ЕАГ зображений на рисунку 5.17. На ньому видно, що імунопозитивний матеріал у вигляді гранул розміщений переважно в середині нейронів. Особливістю в цій експериментальній групі було те, що візуально світіння імуного матеріалу відмічалось у невеликій кількості клітин, проте в тих клітинах в яких воно спостерігалось гранули ІРМ розміщувались досить концентровано (див. рис. 5.17).



Примітка. Стрілками вказано ІРМ до ангіотензину ІІ.

Рисунок 5.17 – Експресія ангіотензину ІІ в структурі дорсального моторного ядра п. vagus стовбуру мозку щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією. Реакція непрямой імунофлюоресценції

У щурів з ЕСАГ, в свою чергу, можна було спостерігати наявність ІРМ до АТ ІІ в окремих нейронах ДМЯ у вигляді гранул, що візуально нагадувало характер експресії Ат ІІ у структурі ДМЯ тварин контрольної групи (рис. 5.18).



Примітка. Стрілками вказано ІРМ до ангіотензину ІІ.

Рисунок 5.18 – Експресія ангіотензину ІІ в структурі дорсального моторного ядра п. vagus стовбуру мозку щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією. Реакція непрямой імунофлюоресценції

Що до параметрів експресії Ат II в структурі ДМЯ, то при аналізі цифрових даних, отриманих при комп'ютерній обробці зображень указаної структури експериментальних тварин, було встановлено, що в обох групах з АГ показники експресії Ат II характеризувалися більш високими значеннями, ніж в контролі (табл. 5.6).

Таблиця 5.6 – Показники експресії ангіотензину II в структурі дорсального моторного ядра щурів експериментальних груп (M±m)

Досліджувані параметри	Контроль	ЕАГ	ЕСАГ
Вміст ІРМ (Одіф)	88,89±2,59	98,40±2,82*	122,16±3,83*#
Концентрація ІРМ (Одіф /мкм ²)	12,05±0,14	17,79±0,24*	16,11±0,27*#
Питома площа (%)	46,83±1,54	52,44±1,67*	61,89±0,76*#

Примітка 1. (*) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів експериментальних груп по відношенню до контролю.

Примітка 2. (#) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів між групами з експериментальною артеріальною гіпертензією.

Так у тварин з ЕАГ спостерігалися вірогідно більші показники вмісту, концентрації та питомої площі ІРМ до пептиду на 10,7 %, 47,6 % і 11,9 %, в порівнянні з групою контролю. У групі щурів з ЕСАГ так само відзначалися вірогідно більш високі значення всіх трьох показників - вмісту, концентрації і питомої площі ІРМ до Ат II в порівнянні з контролем, відповідно на 37,4 %, 33,7 % і 32,1 %. Так само були виявлені і міжгрупові відмінності отриманих значень. При цьому показники вмісту ІРМ до Ат II були вище в моделі з ЕСАГ за відповідні показники щурів з ЕАГ на 24,1 %, концентрації нижче на 9,4 %, а питомої площі вище на 18 % (див. табл. 5.6).

Отже, базуючись, на приведених результатах дослідження можна сказати, що експериментальна АГ приводить до однотипних змін параметрів експресії Ат II в структурі ДМЯ. Так у тварин з ЕАГ, рівно як і у тварин з ЕСАГ в порівнянні з контролем були встановлені вірогідно більші показники вмісту, концентрації та площі ІРМ до нейропептиду. Тоді як міжмодельний

аналіз гіпертензивних експериментальних груп продемонстрував, що у щурів з ЕСАГ, порівняно із щурами з ЕАГ вірогідно більші показники вмісту та питомої площі на фоні вірогідно меншого показника концентрації ІРМ до Ат II

Резюме: Отримані результати проведеного дослідження дозволили встановити патогенетичні особливості експресії нейропептидів VNP та Ат II в структурах БП, ЯСТ та ДМЯ стовбуру мозку при різних етіопатогенетичних формах АГ.

В дослідженні вперше було встановлено, що в структурі БП щурів із ЕАГ по відношенню до контрольних тварин експресія VNP характеризується лише вірогідно більшою питомою площею ІРМ до нейропептиду, тоді як у випадку Ат II - вірогідно більшими були показники вмісту та концентрації ІРМ.

Характер експресії VNP та Ат II в тій же структурі щурів ЕСАГ показав вірогідно більші показники вмісту та питомої площі ІРМ до нейропептиду. В свою чергу експресія Ат II характеризується більшими показниками вмісту, концентрації та питомої площі ІРМ.

Міжмодельне порівняння показників експресії VNP та Ат II у структурі БП тварин із ЕАГ та ЕСАГ показало, що у щурів із ЕСАГ, порівняно із щурами з ЕАГ спостерігається вірогідно більший вміст ІРМ до VNP. Тоді як експресія Ат II у щурів з ЕСАГ в порівнянні із щурами з ЕАГ характеризується вірогідно нижчим показником концентрації ІРМ на фоні вірогідно більшої питомої площі.

Імунофлюоресцентне дослідження показало в структурі ЯСТ щурів з ЕАГ певні особливості експресії досліджуваних нейропептидів. Встановлено, що експресія VNP в структурі ЯСТ в порівнянні із контрольними щурами характеризується вірогідно більшим значенням концентрації але нижчим показником питомої площі. Тоді як експресія Ат II характеризується вірогідно більшими вмістом, концентрацією та питомою площею ІРМ.

При ендокринно-сольовій АГ в структурі ЯСТ визначено, що відносно контролю експресія VNP характеризується вірогідно більшими показниками

вмісту та питомої площі ІРМ. На відміну, від показників експресії Ат II, де було відмічено вірогідно менші значення вмісту та концентрації ІРМ до нейропептиду на фоні вірогідно більшої питомої площі.

Проведений порівняльний аналіз показників експресії BNP та Ат II у структурі ЯСТ тварин із ЕАГ та ЕСАГ показав, що у тварин із ЕСАГ відмічаються вірогідно більші показники вмісту та питомої площі ІРМ до BNP на фоні вірогідно меншої питомої площі до нейропептиду. Параметри експресії Ат II у структурі ЯСТ тварин з ЕСАГ по відношенню до тварин з ЕАГ демонструють вірогідно менші показники вмісту та концентрації ІРМ до нейропептиду одночасно з більшими показниками його питомої площі.

В структурі ДМЯ щурів із ЕАГ по відношенню до групи контролю експресія BNP характеризується вірогідно більшою концентрацією та вірогідно меншою питомою площею ІРМ. Експресія Ат II характеризується вірогідно більшим вмістом, концентрацією та питомою площею ІРМ до нейропептиду.

Доведено, що у щурів з ЕСАГ порівняно із контролем, в структурі ДМЯ визначаються вірогідно більші вміст, концентрація та питома площа ІРМ до обох нейропептидів – BNP та Ат II.

Міжмодельне порівняння показників експресії BNP та Ат II в структурі ДМЯ щурів ЕСАГ із щурами з ЕАГ, довело в перших вірогідно більшу питому площу ІРМ до BNP та вірогідно більші вміст та питому площу ІРМ до Ат II але меншу концентрацію нейропептиду.

Матеріали розділу відображені в 1 статі та 4 наукових тезах [180-184]

РОЗДІЛ 6

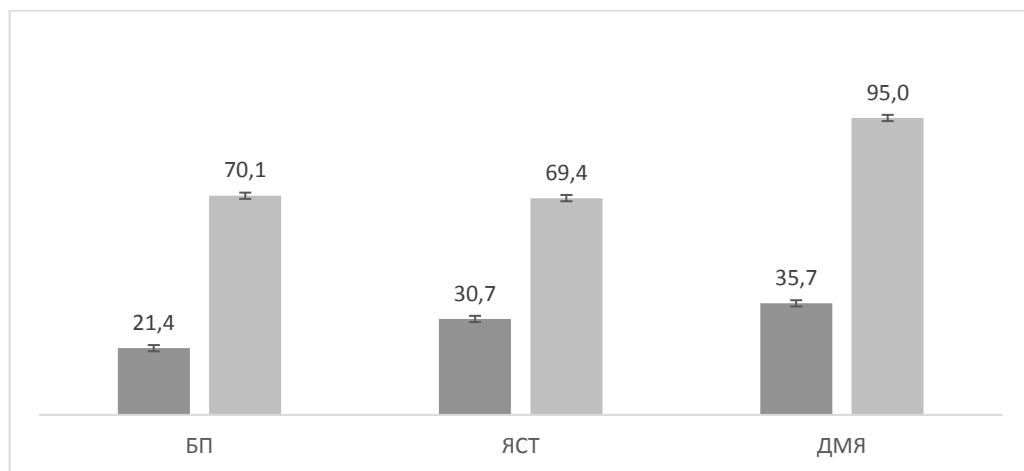
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

За результатами комплексного дослідження патогенетичних особливостей морфо-функціонального стану структур дорсального комплексу n. vagus (ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра) та locus coeruleus (блакитної плями) стовбуру мозку при етіопатогенетично відмінних формах артеріальної гіпертензії було встановлено, що підвищення артеріального тиску незалежно від причини призводить до морфоструктурної перебудови цих регуляторних центрів, що проявлялося в збільшенні кількості нейронів із дрібними ядрами, сформованим дизбалансом ізоформ NOS, нейропептидів, що впливають на судинний тонус – ангіотензину II та мозкового натрійуретичного пептиду. Встановлено, що направленість та характер як морфоденситометричних, так і імуногістохімічних параметрів морфо-функціонального стану кожної досліджуваної структури окремо різняться в залежності від етіопатогенезу артеріальної гіпертензії.

Для реалізації поставленої мети та виконання завдань було застосовано ряд методів: патофізіологічні – моделювання АГ (ессенціальної та ендокринно-сольової), що патогенетично відповідають первинній та вторинній ендокринно-асоційованим АГ людини, інструментальні – неінвазивне вимірювання АГ у експериментальних тварин, морфоденситометричні – визначення площі ядра нейронів БП, ЯСТ та ДМЯ, а також вміст та концентрація НК в них, імуногістохімічний – визначення вмісту та питомої площі ІРМ до досліджуваних ізоформ NOS, ангіотензину II та BNP, методи статистичного аналізу.

Робота була виконана на моделях есенціальної гіпертензії людини (щури з ЕАГ, лінії SHR) та вторинної ендокринно-асоційованої гіпертензії людини (щури ЕСАГ із модельованою ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією).

Результати проведеного морфоденситометричного дослідження ядер нейронів БП, ЯСТ та ДМЯ контрольних тварин показали що серед досліджуваних структур найменша площа ядра спостерігалася в нейронах БП та ЯСТ. На фоні цього нейрони БП мали вірогідно найменший вміст НК в ядрі, тоді як нейрони ЯСТ за цим показником займали проміжну позицію між нейронами БП та ДМЯ. В свою чергу нейрони ДМЯ в контрольних тварин характеризувалися статистично найбільшою площею ядра та вмістом НК в ньому порівняно із нейронами БП та ЯСТ (рис. 6.1). В цілому це узгоджується із опублікованими морфологічними дослідженнями цих структур іншими дослідниками [159, 185].





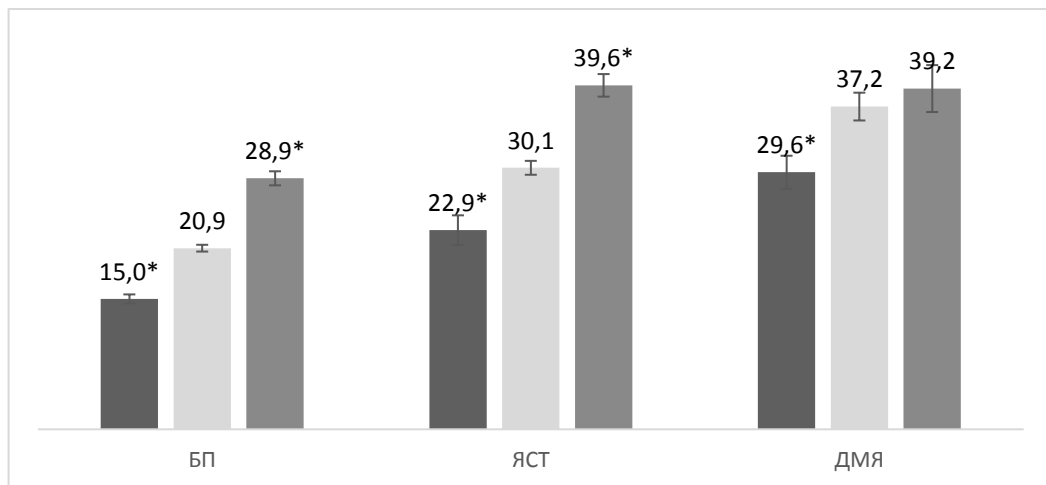
Примітка.  – вміст НК, Одог;  – площа ядра, мкм²

Рисунок 6.1 – Морфоденситометричні показники ядер нейронів блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку у контрольних щурів

Розподіл нейронів БП, ЯСТ та ДМЯ за площею їх ядер у контрольних тварин на групи із дрібними, середніми та великими ядрами показав наявність чіткої закономірності у всіх трьох структурах: нейрони із дрібними ядрами займали від 22,2 % до 25 %, із середньою площею – від 53,7 % до 54,6 %, із великою площею – від 21,3 % до 23,3 % від загальної кількості вивчених нейронів.

Проведений порівняльний аналіз середнього вмісту НК в ядрах нейронів БП, ЯСТ та ДМЯ контрольних тварин між групами нейронів із різною площею

ядра показав, що вміст НК в ядрах нейронів БП та ЯСТ із дрібними та великими ядрами вірогідно відрізнявся від відповідного показника ядер нейронів із середньою площею. В той час як вміст НК в дрібних ядрах нейронів ДМЯ статистично був меншим відповідного показника ядер нейронів із середньою площею на фоні відсутності статистичної різниці між показником вмісту НК в ядрах нейронів із середньою та великою площею (рис. 6.2).



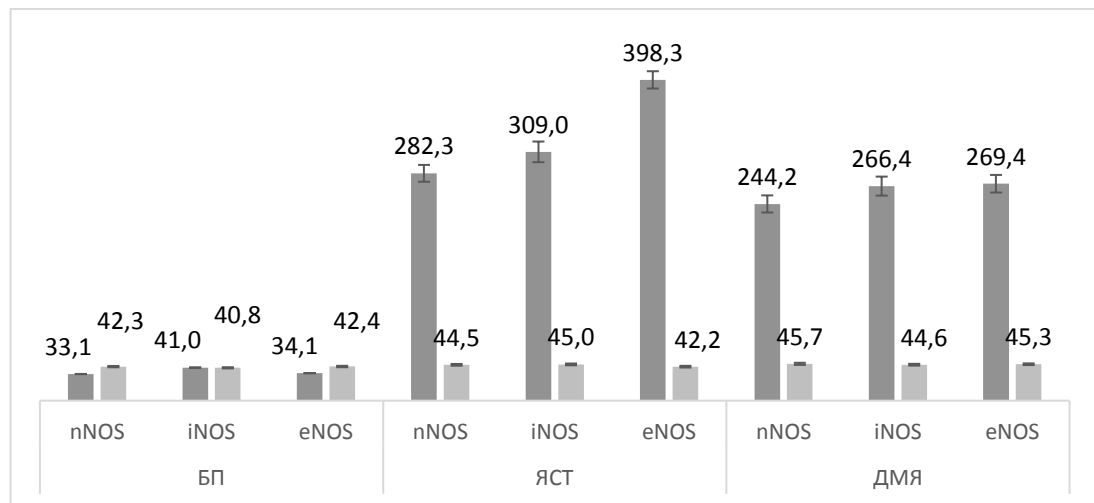
Примітка 1. ■ – дрібні ядра; □ – середні ядра; ■ – великі ядра.

Примітка 2. (*) – вірогідна різниця ($p < 0,05$) з показниками середніх ядер.

Рисунок 6.2 – Вміст НК, $O_{\text{дог}}$ в ядрах із різною площею в нейронах блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку у контрольних щурів

Дослідження ізоформного профілю NOS в структурах БП, ЯСТ та ДМЯ стовбуру мозку контрольних тварин дозволило встановити наступні особливості: в структурі БП контрольних тварин показники вмісту та питомої площі всіх трьох ізоформ були представлені приблизно на одному рівні. В той час як в структурі ЯСТ контрольних тварин найбільш представленою за вмістом була ендотеліальна ізоформа NOS, а найменш представленою – нейрональна, відповідно показники вмісту iNOS займали проміжне положення. Стосовно питомої площі експресії трьох ізоформ NOS слід зауважити, що цей показник в структурі ЯСТ контрольних щурів був приблизно однаковим та варіювався в межах 42 % – 45 %. В структурі ДМЯ ізоформний профіль NOS характеризувався переважанням eNOS та iNOS за

показником вмісту ІРМ, тоді як питома площа всіх трьох ізоформ ферменту була представлена на рівні 44 % – 45 % (рис 6.3).

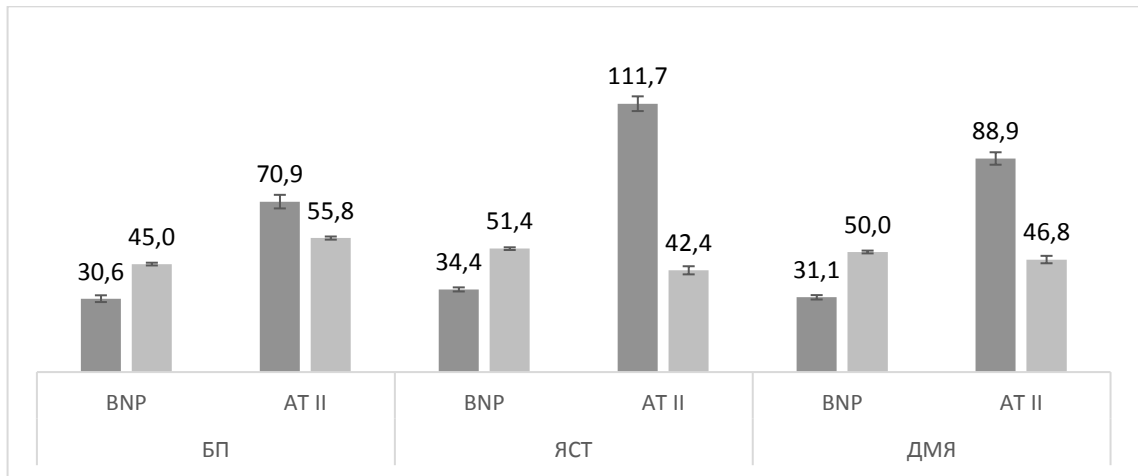


Примітка. - вміст ІРМ, О_{диф}, - питома площа ІРМ, %.

Рисунок 6.3 – Показники експресії ізоформ NOS в структурах блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку у контрольних щурів

Наступним етапом дослідження було вивчення особливостей експресії депресорного (BNP) та пресорного (Ат II) нейропептидів в структурах БП, ЯСТ та ДМЯ контрольних тварин. Аналіз отриманих даних дозволив встановити, що в інтактних щурів в усіх трьох структурах за показником вмісту ІРМ переважав Ат II. Слід зауважити, що найбільш представлений цей нейропептид був в структурі ЯСТ, а найменший його вміст – в БП. Стосовно питомої площі імунопозитивного матеріалу до Ат II, то тут спостерігалася зворотна динаміка: найменшим цей показник був в структурі ЯСТ, а найбільшим – в структурі БП. Це може свідчити про те, що в ЯСТ контрольних тварин синтез Ат II відбувається в доволі невеликій кількості клітин, проте досить інтенсивно, а в БП – навпаки, відносно велика кількість клітин експресує Ат II менш інтенсивно. В дослідженні було встановлено, що структура ДМЯ в плані особливостей показників експресії Ат II займає проміжне положення. Що стосується експресії BNP в структурах БП, ЯСТ та ДМЯ контрольних тварин, то визначалося наступне: в усіх трьох структурах показники питомої площі та показники вмісту були приблизно на одному

рівні. Це свідчить про те, що у структурах БП, ЯСТ та ДМЯ експресують цей нейропептид приблизно однакова кількість клітин на однаковому рівні (рис. 6.4).

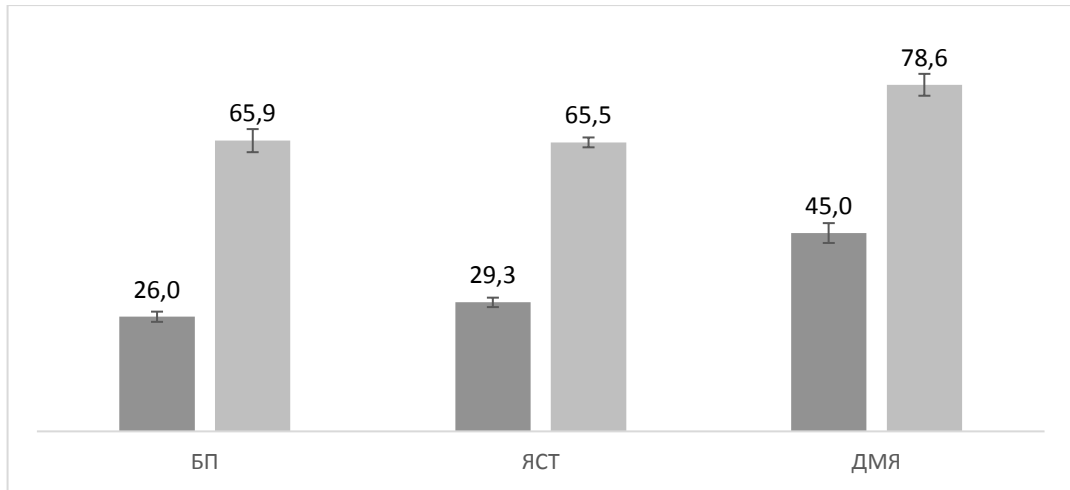


Примітка - вміст ІРМ, Одиф, - питома площа ІРМ, %.

Рисунок 6.4 – Показники експресії BNP та ангіотензину II в структурах блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку у контрольних щурів

Таким чином, встановлені особливості дозволяють припустити, що в умовах нормального АТ у щурів найменш функціонально активною структурою є БП, тоді як ЯСТ за показниками експресії досліджуваних пептидів – найбільш активне.

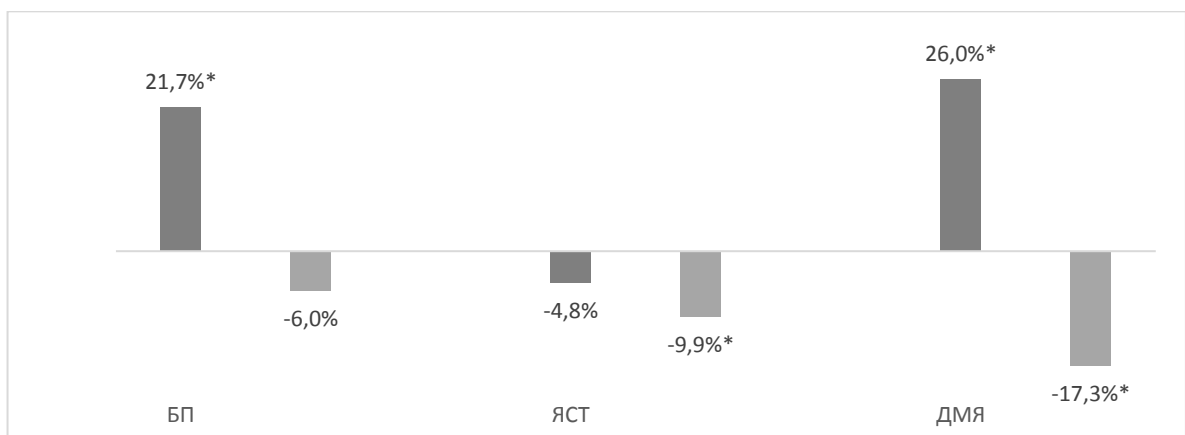
При аналізі морфо-функціонального стану структур БП, ЯСТ та ДМЯ у щурів з ЕАГ в порівнянні з контрольними тваринами було виявлено ряд особливостей. Перш ніж перейти до їх описання слід зауважити, що у щурів із генетично-детермінованою АГ зберігалася закономірність морфоденситометричних параметрів ядер нейронів БП, ЯСТ та ДМЯ, що була встановлена у щурів контрольної групи: найменша площа ядра спостерігалася в нейронах БП та ЯСТ. На фоні цього нейрони БП мали вірогідно найменший вміст НК в ядрах нейронів, тоді як нейрони ЯСТ за цим показником займали проміжну позицію між нейронами БП та ДМЯ. В свою чергу ДМЯ в тварин характеризувалося статистично найбільшою площею ядра та вмістом НК в ньому порівняно із нейронами БП та ЯСТ (рис. 6.5).



Примітка. – вміст НК, Одог; – площа ядра, мкм².

Рисунок 6.5 – Морфоденситометричні показники ядер нейронів блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією

Формування ЕАГ у щурів лінії SHR супроводжувалося більшим вмістом НК в ядрах нейронів БП та ДМЯ, тоді як в ядрах нейронів ЯСТ вміст НК статистично не відрізнявся від показників контролю. Слід зауважити, що показник площі ядер у нейронах БП, ЯСТ та ДМЯ у щурів із ЕАГ вірогідно був менше, або мав тенденцію до зменшення, порівняно із нормотензивними щурами (рис. 6.6).

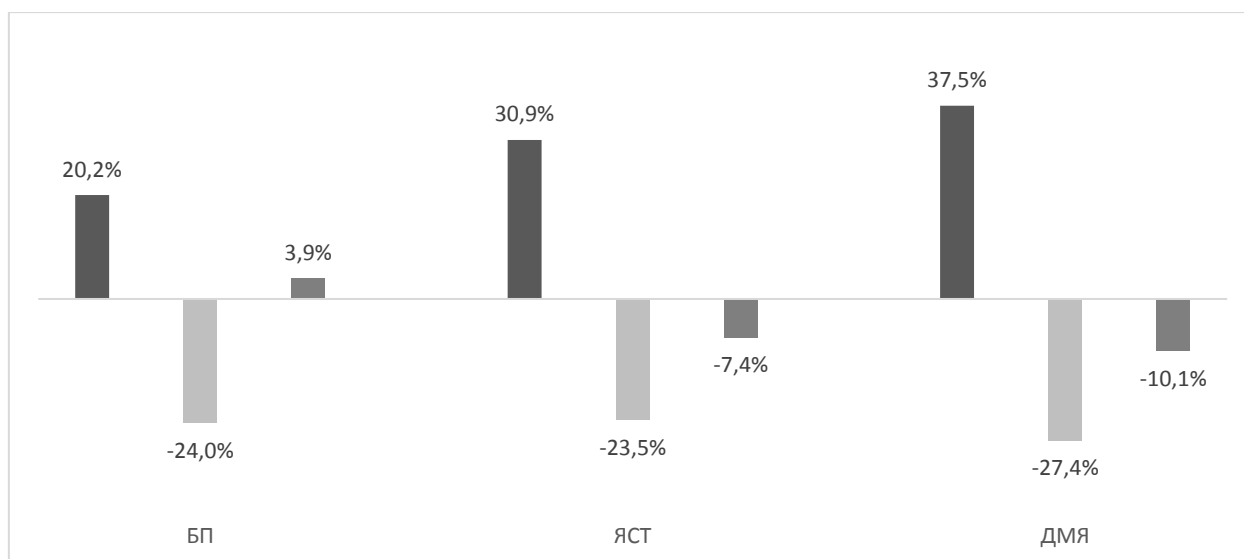


Примітка 1. – вміст НК, Одог; – площа ядра, мкм².

Примітка 2. (*) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів експериментальної групи по відношенню до контролю.

Рисунок 6.6 – Зміни морфоденситометричних показників ядер нейронів блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією від рівня контролю, %

Подальше вивчення особливостей розподілу за площею ядра нейронів БП, ЯСТ та ДМЯ стовбуру мозку у щурів з ЕАГ показало, що артеріальна гіпертензія призводить до морфологічної перебудови в популяціях нейронів цих структур. Так, в БП більшою була чисельність нейронів із дрібними та великими ядрами, тоді як кількість нейронів з ядрами середніх розмірів була на 24 % менше контролю. В ЯСТ в свою чергу на 30,9 % стало більше нейронів із дрібними ядрами, а нейронів із середнім та великими розмірами ядер – менше на 23,5 % та 7,4 % відповідно порівняно із нормотензивними щурами. Стосовно ДМЯ, то морфоструктурні перебудови в ньому були подібні до таких в ЯСТ: чисельність нейронів із дрібними ядрами більше на 37,5 %, із середнім та великими розмірами ядер – менше на 27,5 % та 10,10 % відповідно за показники контрольних тварин (рис. 6.7).

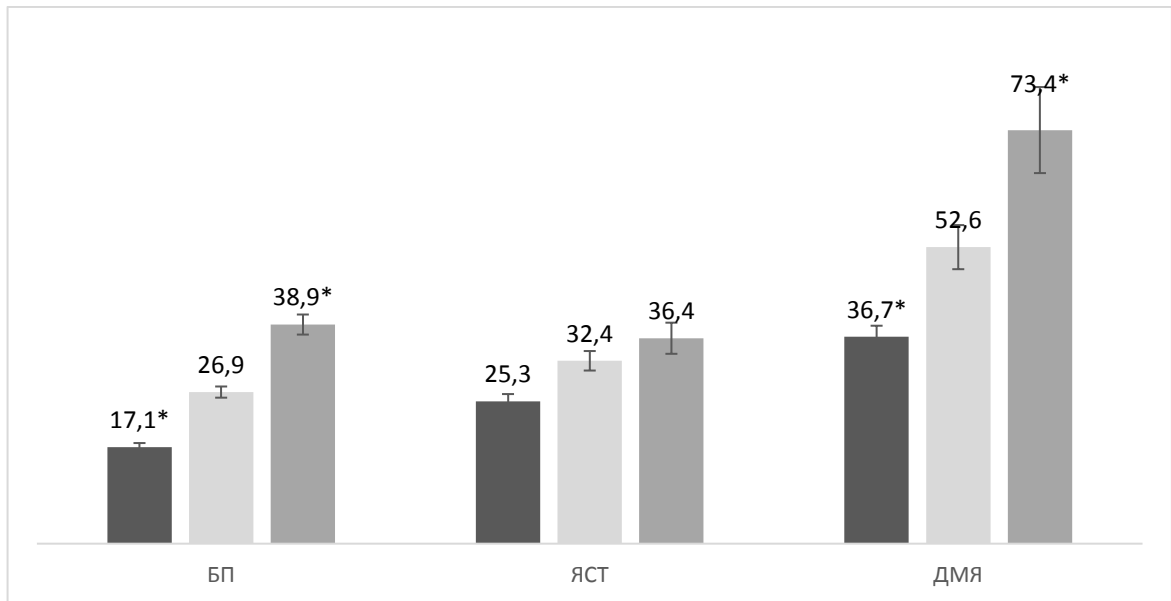


Примітка. ■ – дрібні ядра; □ – середні ядра; ■ – великі ядра

Рисунок 6.7 – Зміни розподілу за площею ядра нейронів блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією від рівня контролю, %

Аналіз вмісту НК в ядрах нейронів БП, ЯСТ та ДМЯ стовбуру мозку щурів із ЕАГ показав певні відмінності від аналогічних даних контрольних тварин. По-перше, змінилась установлена в нормотензивних щурів закономірність розподілу вмісту НК в ядрах з різною площею в нейронах

досліджуваних структур у тварин з ЕАГ. Ці зміни стосувалися ЯСТ та ДМЯ. Так в ЯСТ тварин цієї експериментальної групи, на відміну від контрольних тварин, у нейронах з ядрами середнього та великого розмірів не спостерігалось вірогідного збільшення вмісту НК при зростанні розмірів ядра. В той же час в ДМЯ тварин із ЕАГ спостерігалася зворотня картина – пряма залежність вмісту НК від розмірів ядра нейрону, чого не відмічалось в контролі (рис. 6.8).



Примітка 1. ■ – дрібні ядра; □ – середні ядра; ■ – великі ядра.

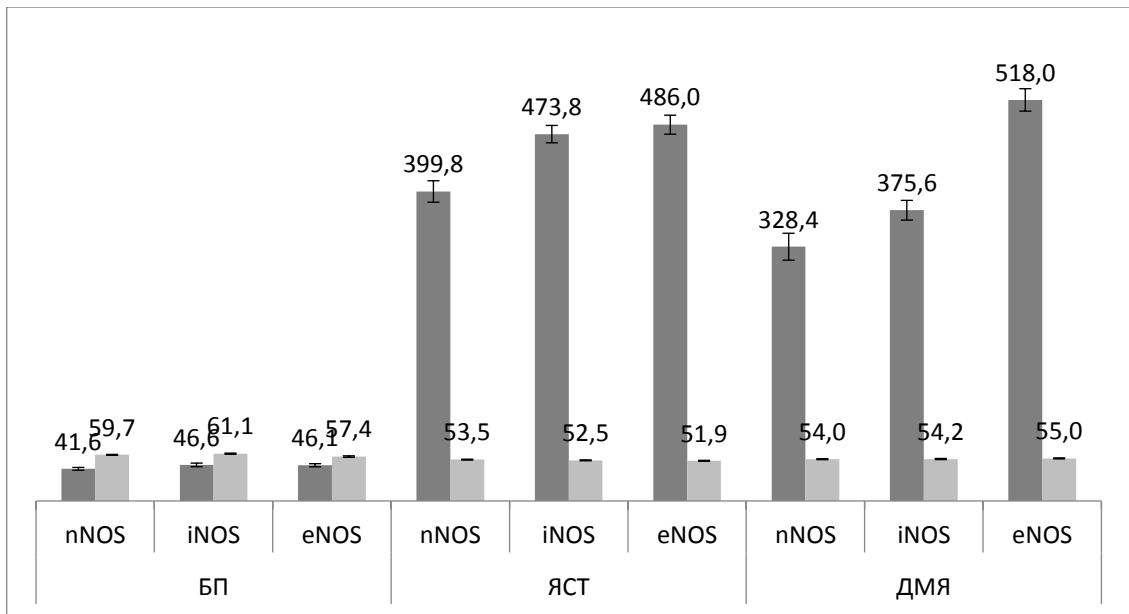
Примітка 2. (*) – вірогідна різниця ($p < 0,05$) з показниками середніх ядер.

Рисунок 6.8 – Вміст нуклеїнових кислот в ядрах із різною площею в нейронах блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією

Аналізуючи наведений матеріал, треба прийняти до уваги, що ще в 80-х роках минулого століття, коли морфометричні дослідження були досить популярними, було встановлено, що в нейронах та інших клітин, не здатних до реплікації, розмір ядра тісно пов'язаний із вмістом ДНК та рівнем клітинної активності. Слід зауважити, що вміст дезоксирибонуклеотиду в клітині постійний, корелює із розміром ядра, хоча і залежить від великої кількості додаткових факторів [156]. Виходячи з цього, можна логічно припустити, що при ЕАГ певна група нейронів регуляторних структур, що вивчалися переходить в функціонально неактивний стан. На користь цього слугує той

факт, що кількість нейронів із дрібними ядрами в усіх структурах щурів із ЕАГ більша за показник контролю, а більший середній вміст НК в БП та ДМЯ можна пояснити двома факторами: по-перше у функціонально неактивному нейроні збільшення оптичної густини НК (що розцінювалося як їх вміст) могло відбуватися за рахунок переходу генетичного матеріалу у функціонально неактивний стан (гетерохроматин); а по-друге деяке збільшення середнього вмісту НК в БП та ДМЯ могло відбуватися за рахунок більшої кількості нейронів із великими ядрами. Крім того, рядом вчених було показано, що у щурів лінії SHR віком 12 тижнів відбувається зменшення кількості та функціональної активності нейронів, що проєктуються на серце [186]. Крім того треба брати до уваги, що між БП, ЯСТ та ДМЯ існує тісна сітка нейрональних взаємозв'язків через яку вони можуть змінювати функціональну активність один одного [187].

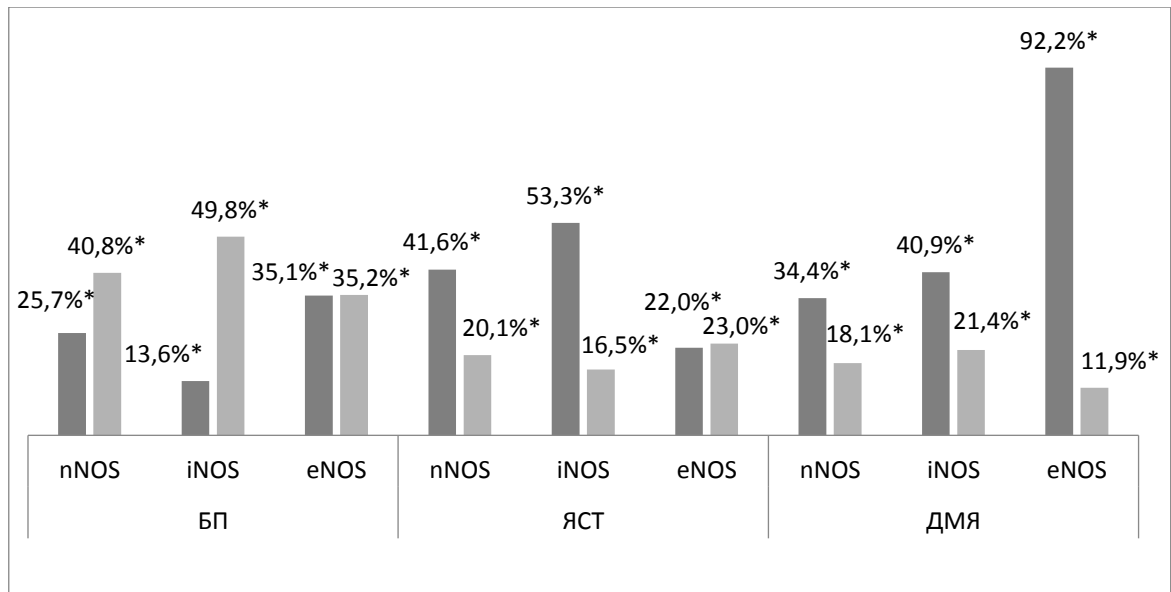
Окрім описаних морфоденситометричних змін в структурах БП, ЯСТ та ДМЯ тварин із ЕАГ в порівнянні із контрольними щурами були встановлені певні особливості показників експресії ізоформного профілю синтази оксиду азоту в указаних структурах. Цікавим є той факт, що як і в контролі, у щурів із ЕАГ найменша експресія ізоформ NOS спостерігається в структурі БП стовбуру мозку. В той же час, при майже однаковій питомій площі ІРМ до ізоформ NOS в структурах БП, ЯСТ та ДМЯ, в структурі ЯСТ найбільш представленими за вмістом були іNOS та eNOS, а в ДМЯ – eNOS (рис 6.9).



Примітка. - вміст ІРМ, Од_{іф}, - питома площа ІРМ, %

Рисунок 6.9 – Показники експресії ізоформ NOS в структурах блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією

Слід зауважити, що у щурів із ЕАГ в порівнянні із контролем показники вмісту та питомої площі ІРМ до трьох досліджуваних ізоформ NOS у структурах стовбуру мозку, що вивчалися, були вірогідно більшими. Так, в БП найбільших значень набув показник питомої площі до iNOS, а вмісту – до eNOS, тоді як в ЯСТ – навпаки: найбільші показники питомої площі були характерні для eNOS, а вмісту – для iNOS. В той же час, структура ДМЯ тварин із ЕАГ характеризувалася значним переважанням за вмістом eNOS, а за питомою площею – iNOS (рис 6.10).



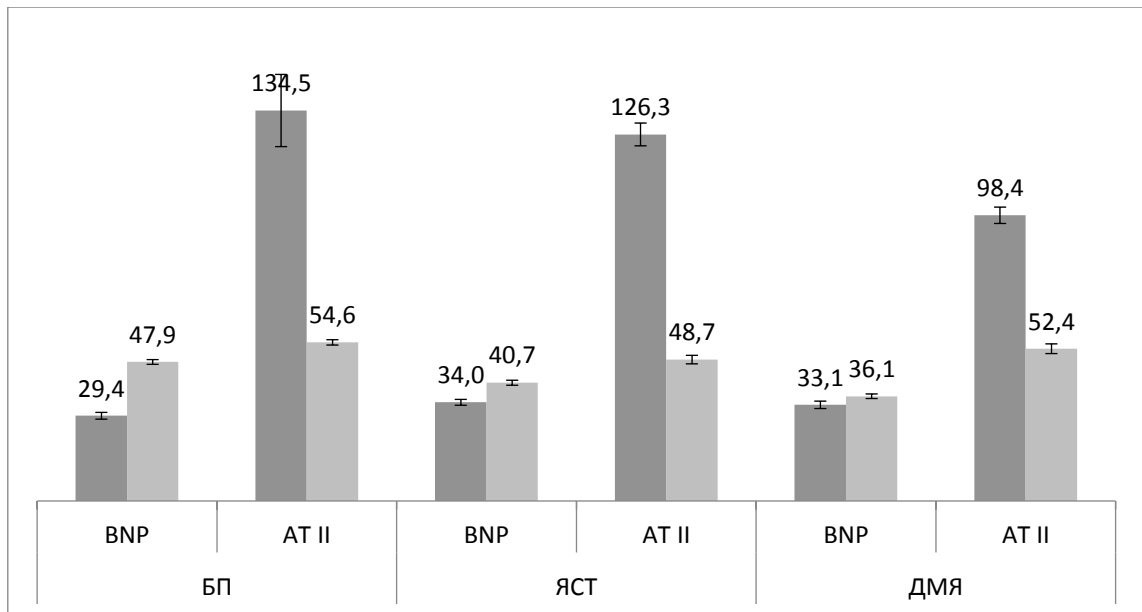
Примітка 1. - вміст IPM, Од_{іф}, - питома площа IPM, %.

Примітка 2. (*) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів експериментальної групи по відношенню до контролю.

Рисунок 6.10 – Зміни вмісту та питомої площі імунореактивного матеріалу до ізоформ NOS в структурах блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією від рівня контролю, %

Логічним поясненням факту підвищення експресії ізоформ NOS може слугувати певний дефект генів, що регулюють їх експресію у щурів лінії SHR [188].

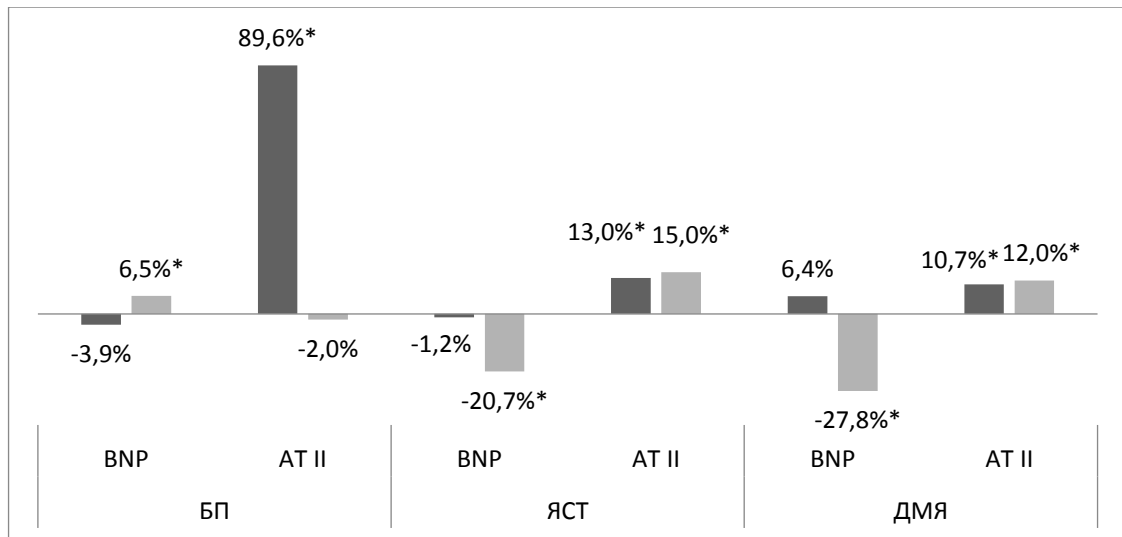
Наступним етапом дослідження був аналіз експресії депресорного (BNP) та пресорного (Ат II) нейропептидів в структурах БП, ЯСТ та ДМЯ стовбуру мозку щурів із ЕАГ, та порівняння їх із показниками контролю. Так, аналізуючи показники експресії вказаних нейропептидів у досліджуваних структурах щурів із ЕАГ, було встановлено, що в БП, ЯСТ та ДМЯ за показником вмісту превалює експресія Ат II над експресією BNP. Слід зауважити, що така ж тенденція спостерігалася і в контролі. Проте, у щурів із ЕАГ серед трьох структур найбільший вміст Ат II спостерігався в БП, найменший – в ДМЯ, тоді, тоді як питома площа IPM серед структур БП, ЯСТ та ДМЯ варіювалася в незначному діапазоні (рис. 6.11).



Примітка. - вміст ІРМ, Од_{іф}, - питома площа ІРМ, %

Рисунок 6.11 – Показники експресії BNP та ангіотензину II в структурах блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів із есенціальною артеріальною гіпертензією

Порівняння показників експресії BNP та Ат II в структурах БП, ЯСТ та ДМЯ щурів із ЕАГ з відповідними показниками контрольних тварин свідчить про те, що вміст BNP у тварин із ЕАГ залишається на рівні контролю, але змінюється питома площа ІРМ до нього, при чому в БП вона більша за показник контролю, а в структурах ЯСТ та ДМЯ – менша. Вірогідні зміни експресії в досліджуваних центрах регуляції АТ щурів із ЕАГ по відношенню до контролю стосуються більше Ат II. Так, в структурі БП показник його вмісту виявився найбільшим, при чому питома площа ІРМ до Ат II не відрізнялась від показників контролю. Стосовно структур ЯСТ та ДМЯ щурів із ЕАГ, то порівняно із контрольними тваринами в них вірогідно збільшились як вміст, так і питома площа до Ат II (рис 6.12).



Примітка 1. ■ - вміст ІРМ, Од_{іф}, □ - питома площа ІРМ, %.

Примітка 2. (*) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів експериментальної групи по відношенню до контролю.

Рисунок 6.12 – Зміни вмісту та питомої площі імунореактивного матеріалу до BNP та ангіотензину II в структурах блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією від рівня контролю, %

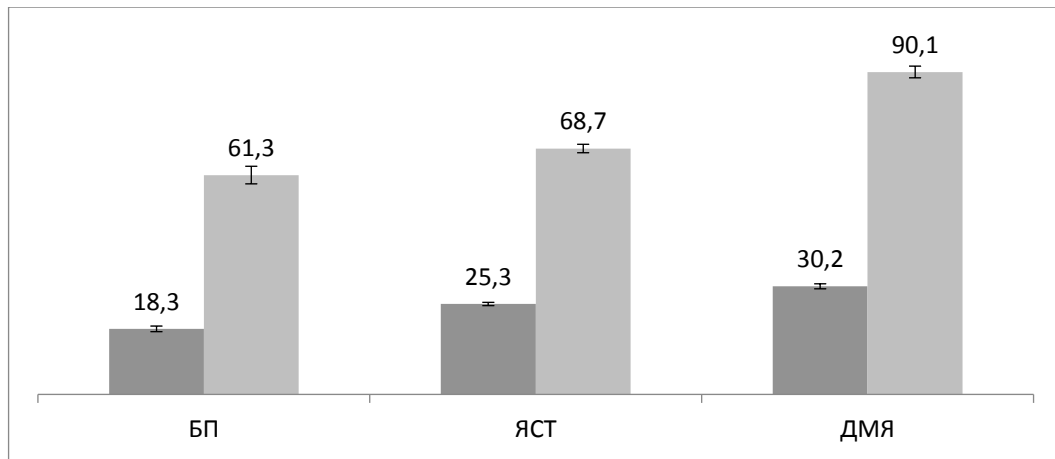
Наведені дані змушують звернути увагу на значне превалювання рівня Ат II в БП щурів із ЕАГ. Як відомо Ат II має збуджуючий ефект на симпатичну нервову систему, який реалізується через активацію Ат1 рецепторів у відповідних центрах мозку [176, 11]. Дослідження показали, що у щурів лінії SHR у мозку спостерігається висока активність місцевої ренін-ангіотензинової системи, підвищений вміст Ат II із підвищеною експресією його рецепторів [11, 189]. Це підтверджує результати наших досліджень, де встановлений значний вміст Ат II у структурі БП у щурів цієї лінії. Враховуючи патогенетичну роль високого рівня Ат II в БП стовбура мозку при розвитку артеріальної гіпертензії, звертає на себе увагу дослідження G. Huber та співав, де було продемонстровано, що Ат II веде до вивільнення катехоламінів з периферичних симпатичних нейронів шляхом посилення залежного від деполяризації екзоцитозу, зменшення одночасно зворотного захоплення нейронами цього нейротрансміттеру [178]. Беручи до уваги той факт, що БП є найбільшим скупченням норадренергічних нейронів в мозку підвищений вміст Ат II в ньому призведе до зростаючої активності цієї структури. Як

наслідок, збільшиться секреція норадреналіну, що спричинить симпатоексікацію.

Таким чином, аналізуючи описані морфофункціональні зміни в структурах БП, ЯСТ та ДМЯ стовбуру мозку у щурів із ЕАГ слід зауважити, що сформована АГ у тварин цієї експериментальної групи привела до морфоструктурної перебудови популяцій нейронів БП, ЯСТ та ДМЯ, що виражалося в збільшенні кількості нейронів із дрібними ядрами та зменшенні кількості нейронів із середнім розміром ядра.

Наступною встановленою особливістю стало те, що вміст НК в великих ядрах нейронів ЯСТ статистично не відрізнявся від такого в ядрах середнього розміру. Натомість в ДМЯ тварин з ЕАГ з'явилася закономірність вірогідного збільшення вмісту НК в ядрі зі збільшенням його площі, що не спостерігалось в контрольних тварин. Показники експресії ізоформ NOS в структурах БП, ЯСТ та ДМЯ тварин із ЕАГ хоча і вірогідно перевищували відповідні показники контрольних щурів, проте певний дисбаланс відмічався лише в експресії іNOS та eNOS в структурах ЯСТ та ДМЯ. Так в ЯСТ тварин із ЕАГ вміст іNOS та eNOS практично вирівнювався, а в ДМЯ рівень eNOS значно переважав над і іNOS, чого не спостерігалось в контролі. Натомість показники експресії BNP та Ат II в структурах БП, ЯСТ та ДМЯ тварин із ЕАГ демонструють переважання вмісту IPM до Ат II в структурі БП над вмістом в ЯСТ та ДМЯ, чого не спостерігалось в контролі.

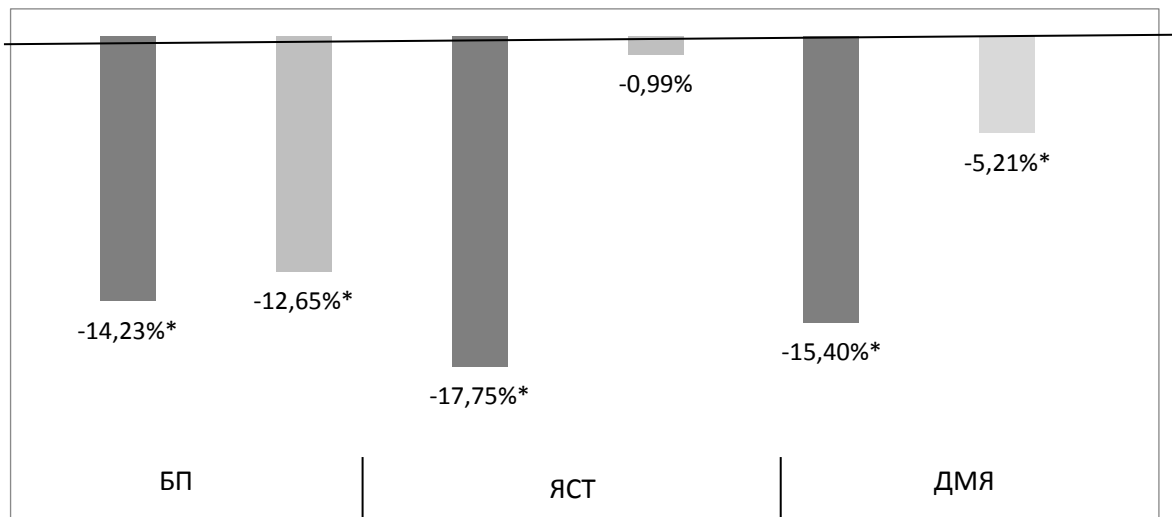
Аналіз морфоденситометричних та імуногістохімічних параметрів морфофункціонального стану структур БП, ДМЯ та ЯСТ щурів із ЕСАГ показав їх особливості як відносно контролю, так і відносно щурів із ЕАГ. Так, встановлено, що при вторинній ЕСАГ щурів морфоденситометричні параметри ядер нейронів БП, ЯСТ та ДМЯ наступні: статистично найменший вміст НК та площа ядра – в нейронах БП, вірогідно найбільші ці показники в ядрах нейронів ДМЯ, тоді як ядра нейронів ЯСТ за морфоденситометричними даними займають проміжну позицію (рис. 6.13).



Примітка. – вміст НК, Одор; – площа ядра, мкм².

Рисунок 6.13 – Морфоденситометричні показники ядер нейронів блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів із вторинною ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією

Дослідження показали, що формування вторинної ЕСАГ супроводжується вірогідним по відношенню до контролю зменшенням вмісту НК в ядрах нейронів БП, ЯСТ та ДМЯ, а також статистично нижчими показниками площі ядер нейронів БП та ДМЯ (рис. 6.14).

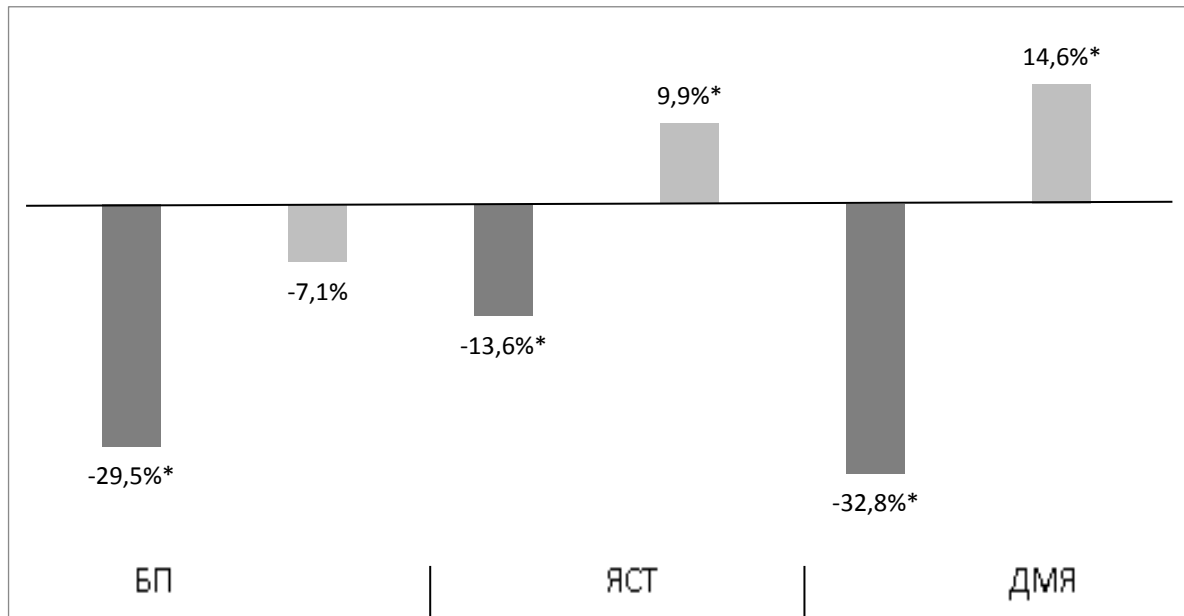


Примітка 1. – вміст НК, Одор; – площа ядра, мкм².

Примітка 2. (*) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів експериментальної групи по відношенню до контролю.

Рисунок 6.14 – Зміни морфоденситометричних показників ядер нейронів блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів із вторинною ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією від рівня контролю, %

По відношенню до тварин із моделлю ЕАГ, у щурів із вторинною ЕСАГ вірогідно менший вміст НК в ядрах нейронів БП, ЯСТ та ДМЯ, тоді як площа ядер нейронів статистично більша в ЯСТ та ДМЯ (рис. 6.15).

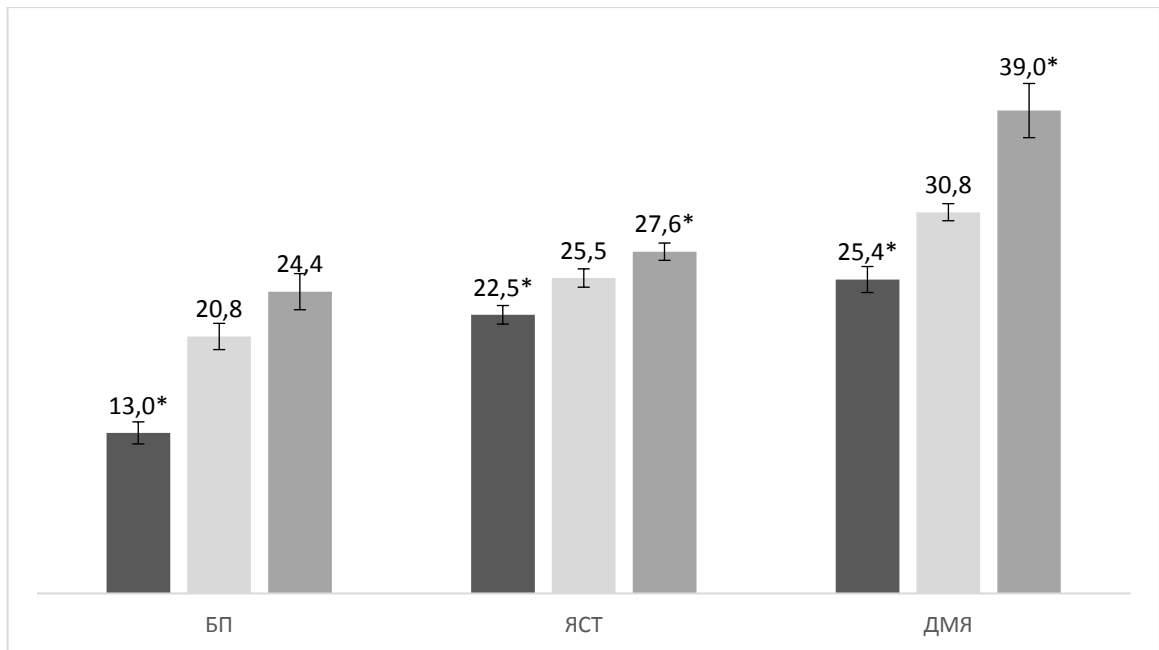


Примітка 1. ■ – вміст НК, $O_{\text{дог}}$; □ – площа ядра, μm^2 .

Примітка 2. (*) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією по відношенню до щурів із есенціальною артеріальною гіпертензією.

Рисунок 6.15 – Зміни морфоденситометричних показників ядер нейронів блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів з ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією від рівня щурів із есенціальною артеріальною гіпертензією, %

Мофроструктурні зміни в БП, ЯСТ та ДМЯ стовбуру мозку у щурів із ЕСАГ характеризувалися закономірним збільшенням вмісту НК в ядрах нейронів ЯСТ та ДМЯ із збільшенням їх площі, тоді як в нейронах БП із великою та середніми площами така закономірність порушувалася, і вміст НК в них статистично не відрізнявся (рис. 6.16).

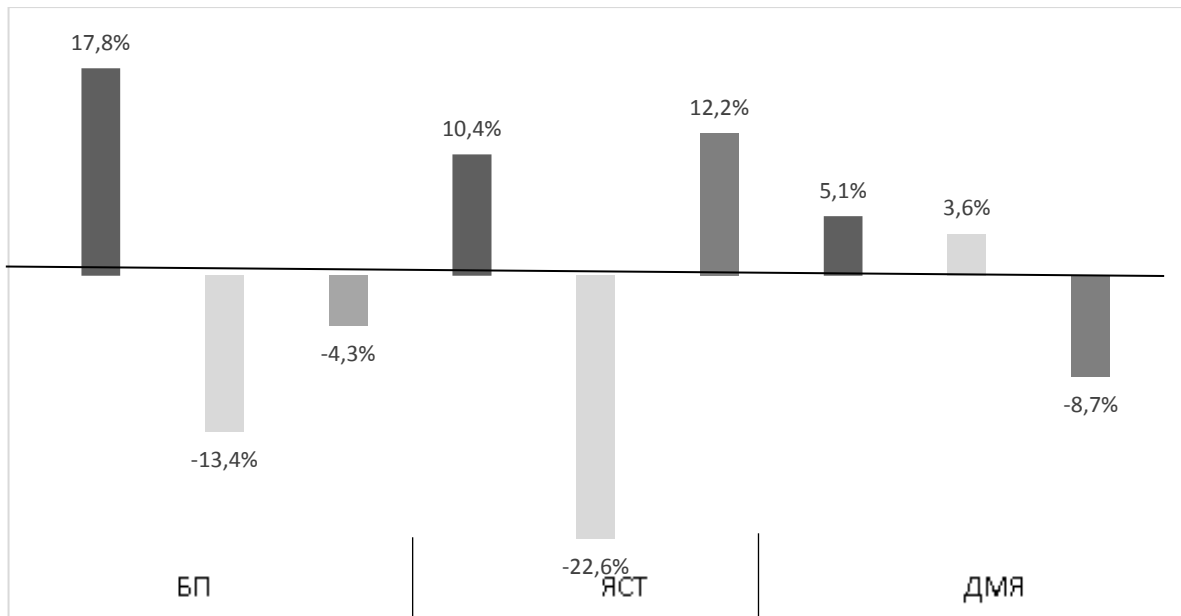


Примітка 1 ■ – дрібні ядра; □ – середні ядра; ■ – великі ядра.

Примітка 2 (*) – вірогідна різниця ($p < 0,05$) з показниками середніх ядер.

Рисунок 6.16 – Вміст нуклеїнових кислот в ядрах із різною площею в нейронах блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів із вторинною ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією.

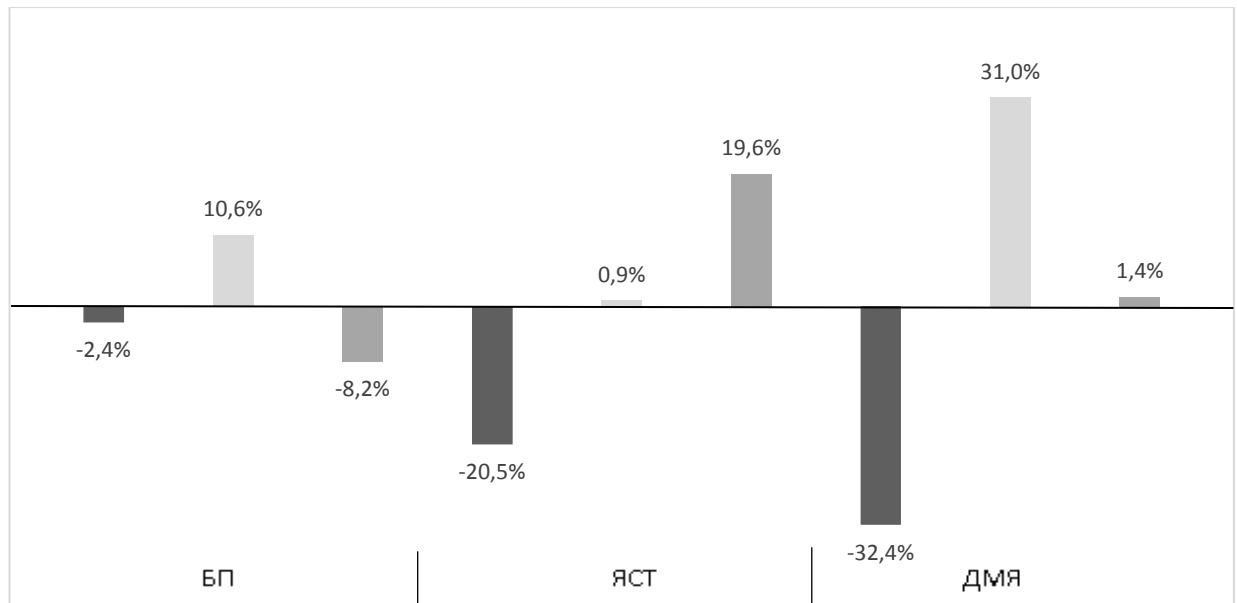
Аналіз розподілу нейронів БП, ЯСТ та ДМЯ стовбуру мозку щурів із ЕСАГ вказує на певні відмінності від контрольних тварин. Так, встановлено, що при вторинній ЕСАГ, на відміну від контролю у щурів в БП, ЯСТ та ДМЯ є більшою кількістю нейронів із дрібними ядрами, водночас кількість нейронів із середніми ядрами менша лише в БП та ЯСТ, на фоні цього кількість нейронів із великими ядрами у БП менша, в ЯСТ – більша, в ДМЯ менша (рис 6.17).



Примітка. ■ – дрібні ядра; □ – середні ядра; ■ – великі ядра.

Рисунок 6.17 – Зміни розподілу за площею ядра нейронів блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів із вторинною ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією від рівня контролю, %

Міжмодельне порівняння розподілу нейронів БП, ЯСТ та ДМЯ стовбуру мозку за площею ядра у щурів із ЕСАГ із відповідними показниками щурів із ЕАГ показало, що у перших більша кількість нейронів із середніми та великими ядрами у БП, менша кількість нейронів із дрібними та більша – із великими ядрами у структурі ЯСТ, а також менша кількість нейронів із дрібними ядрами та більша кількість із середніми у структурі ДМЯ (рис. 6.18).



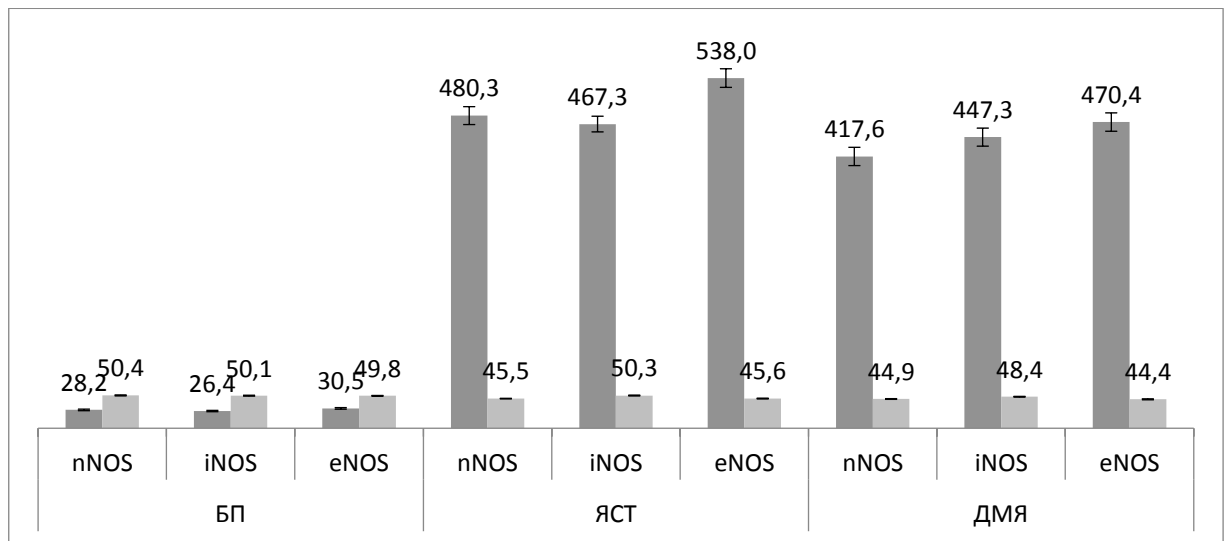
Примітка. ■ – дрібні ядра; □ – середні ядра; ■ – великі ядра.

Рисунок 6.18 – Зміни розподілу за площею ядра нейронів блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів із вторинною ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією від рівня тварин із есенціальною артеріальною гіпертензією, %

З наведених морфоденситометричних даних можна чітко виділити зміни в ДМЯ у щурів із ЕСАГ, як відносно контролю, так і відносно щурів із ЕАГ. Не дивлячись на те, що сформована вторинна АГ в деякій мірі призводить до збільшення кількості нейронів із дрібними ядрами, проте за час, поки сформується стійке підвищення тиску, структура має можливість перебудувати популяційно свої нейрони сприяючи, таким чином кращій адаптації до хронічного впливу основних патогенних факторів виникнення АГ у випадку ЕСАГ – гіперволемія, синдром гіперкортицизму та медикаментозний гіперальдостеронізм [149]. З іншого боку, ДМЯ тісно пов'язане із структурами мозку що досить чутливі до порушень водно-електролітного та ендокринного обмінів (гіпоталамус, пост ремна область). Не можна також виключати і їх вплив на виникнення адаптаційних перебудов в ДМЯ [190].

Аналіз імуногістохімічного дослідження ізоформного профілю NOS в структурах БП, ЯСТ та ДМЯ щурів ЕСАГ показав, що найменші показники експресії всіх ізоформ NOS спостерігався в структурі БП. При чому як вміст,

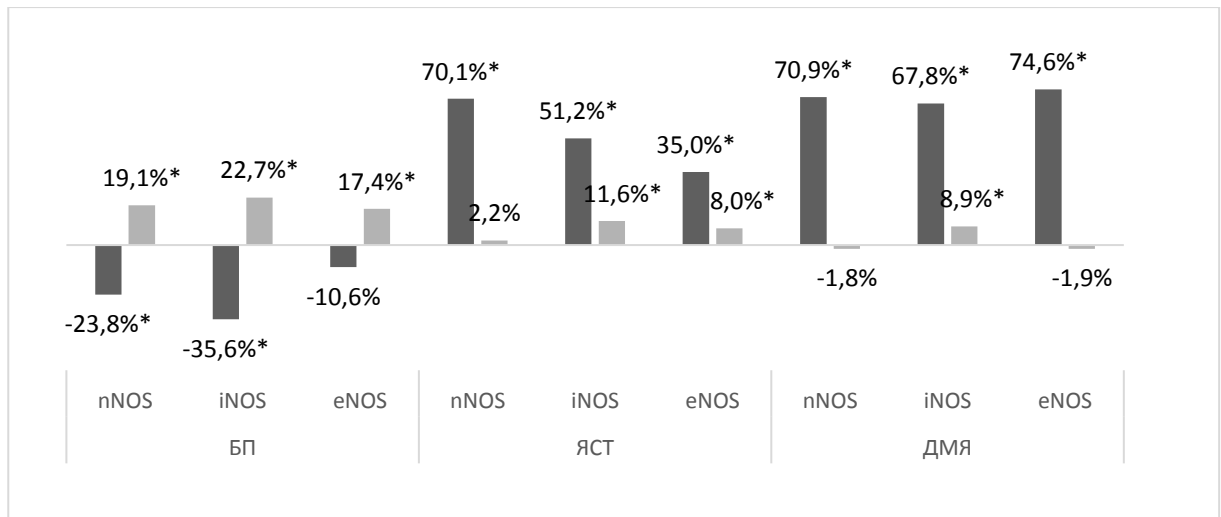
так і питома площа ІРМ до досліджуваного ензиму були на одному рівні. Одночасно з цим, в структурі ЯСТ було встановлено найбільші показники експресії всіх ізоформ NOS. Домінувала експресія eNOS. Особливістю ізоформного профілю NOS в структурі ЯСТ щурів із ЕСАГ серед інших експериментальних груп був більший показник вмісту nNOS над iNOS. В той же час в структурі ДМЯ рівень експресії ізоформ NOS був нижче ніж в ЯСТ і також домінувала експресія eNOS (рис 6.19).



Примітка. - вміст ІРМ, Одиф, - питома площа ІРМ, %

Рисунок 6.19 – Показники експресії ізоформ NOS в структурах блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів із вторинною ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією

Порівняння експресії ізоформ NOS у досліджуваних структурах щурів із ЕСАГ із контролем показало наступні зміни в структурі БП менший вміст та більшу площу всіх ізоформ ферменту, тоді як в ЯСТ та ДМЯ при мінімальних змінах питомої площі ІРМ до ензиму, показник вмісту до nNOS, iNOS та eNOS значною мірою перевищував відповідний показник контролю (рис 6.20).

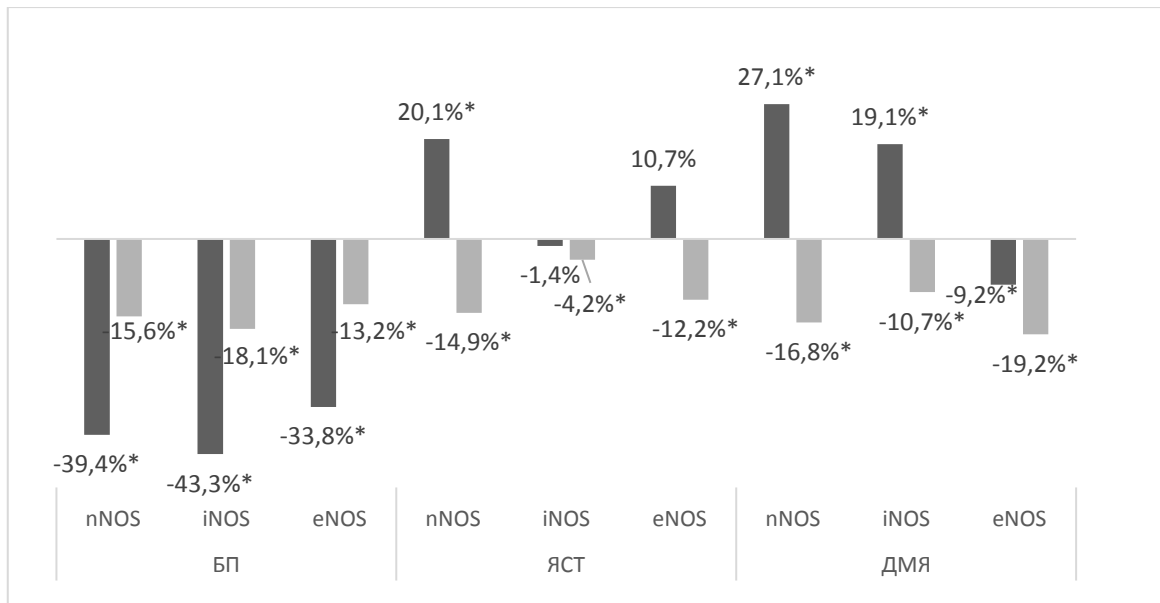


Примітка 1. - вміст ІРМ, Одіф, - питома площа ІРМ, %.

Примітка 2. (*) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів експериментальної групи по відношенню до контролю.

Рисунок 6.20 – Зміни вмісту та питомої площі імунореактивного матеріалу до ізоформ NOS в структурах блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів із вторинною ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією від рівня контролю, %

Міжмодельне порівняння експресії ізоформ NOS в структурах БП, ЯСТ та ДМЯ у тварин з ЕСАГ відносно тварин з ЕАГ показало, що в БП вірогідно менші показники експресії всіх ізоформ до ферменту, в структурі ЯСТ – більший вміст до nNOS та eNOS на фоні меншої їх питомої площі. Тоді як в структурі ДМЯ менші показники питомої площі до всіх ізоформ NOS при тому що вміст ІРМ більший до nNOS та iNOS та менший до eNOS (рис. 6.21).



Примітка 1. - вміст IPM, Од_{іф}, - питома площа IPM, %.

Примітка 2. (*) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів із вторинною ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією по відношенню до рівня щурів із есенціальною артеріальною гіпертензією.

Рисунок 6.21 – Зміни вмісту та питомої площі імунореактивного матеріалу до ізоформ NOS в структурах блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів із вторинною ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією від рівня щурів із есенціальною артеріальною гіпертензією, %

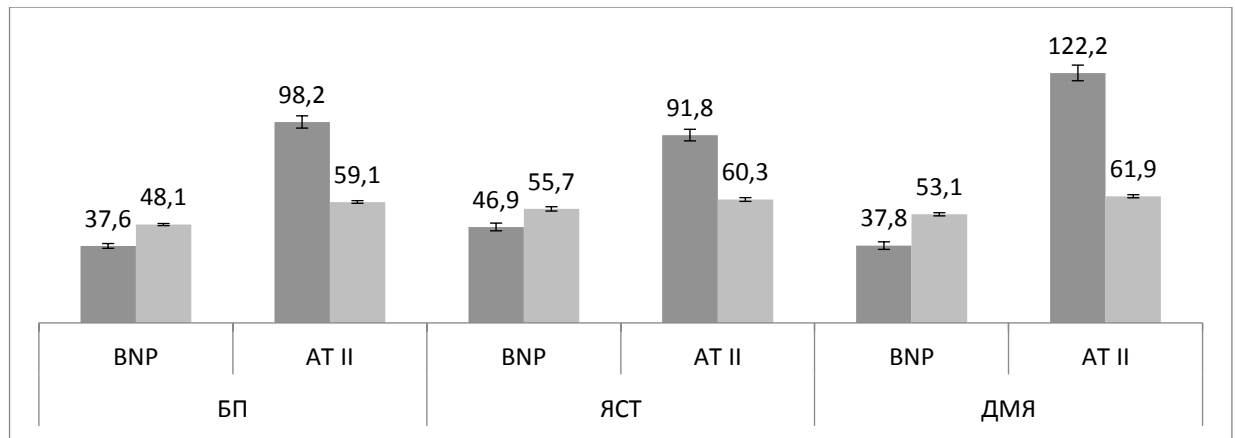
Отримані дані свідчать про те, що зміни ізоформного профілю NOS при різних за патогенезом формах АГ в БП є етіозалежними, тоді як в ЯСТ та ДМЯ вони не залежали від етіопатогенезу АГ. Так зниження експресії ізоформ NOS в структурі БП щурів із ЕСАГ характеризує зниження функціональної активності структури та направлене на компенсацію до підвищеного АТ, тоді як встановлені високі значення показників експресії ізоформ NOS свідчить про можливу компенсаторну спробу підвищення функціональної активності структур шляхом підсилення васкуляризації та нейротрансмісії клітинних елементів ЯСТ та ДМЯ. Реалізацією збільшеної активності нейронів ДМЯ стане посилення вагусного впливу, тоді як ЯСТ – покращення барорефлекторної відповіді на системне підвищення АТ, що в цілому буде направлене на його зниження.

На сьогодні механізми за допомогою яких NO реалізує свої ефекти в центрі регуляції АГ достеменно відомі. Так, встановлено, що його ефект залежить від місця утворення, функціональної активності та біодоступності. В симпатичних нейронах під впливом NO цГМФ інгібує цАМФ через підвищення його гідролізу фосфодіестеразою PDE2A. Це викликає зниження цАМФ-залежного фосфорилування кальцієвих каналів і гальмування нейротрансмісії. Тоді як в парасинаптичних нейронах NO, опосередковано через цГМФ інгібує фосфодіестеразу PDE3 в результаті гідролізу цАМФ, навпаки, зменшується. Як наслідок цАМФ залежне фосфорилування кальцієвих каналів підвищується і сприяє виділенню ацетилхоліну.[165, 191].

Докази залежності ефекту NO від функціональної активності структури були показані роботах Ogawa et al, де встановлено, що в ЯСТ NO потенціює виділення глутамата нейронами, підсилюючи, таким чином барорефлекторну відповідь на підвищений АТ [192].

Стосовно біодоступності NO, то в ряді досліджень було показано, що в умовах АГ вона знижується через збільшену генерацію супероксид-радикалів, утворення яких може посилюватися як за рахунок підвищеної кількості Ат II, що сприяє як активації НАДФН-оксидази, так і надмірної активності iNOS з утворенням пероксинітриа [193, 194]. Цим може пояснюватися встановлена в роботі підвищена експресія iNOS в структурах ЯСТ та ДМЯ. iNOS є кальційнезалежною ізоформою ферменту NOS для повноцінного функціонування нейронів в умовах АГ стає основним джерелом NO, проте через низьку біодоступність але велику кількість NO реалізація фізіологічних ефектів порушується, а його метаболіти стають факторами ушкодження.

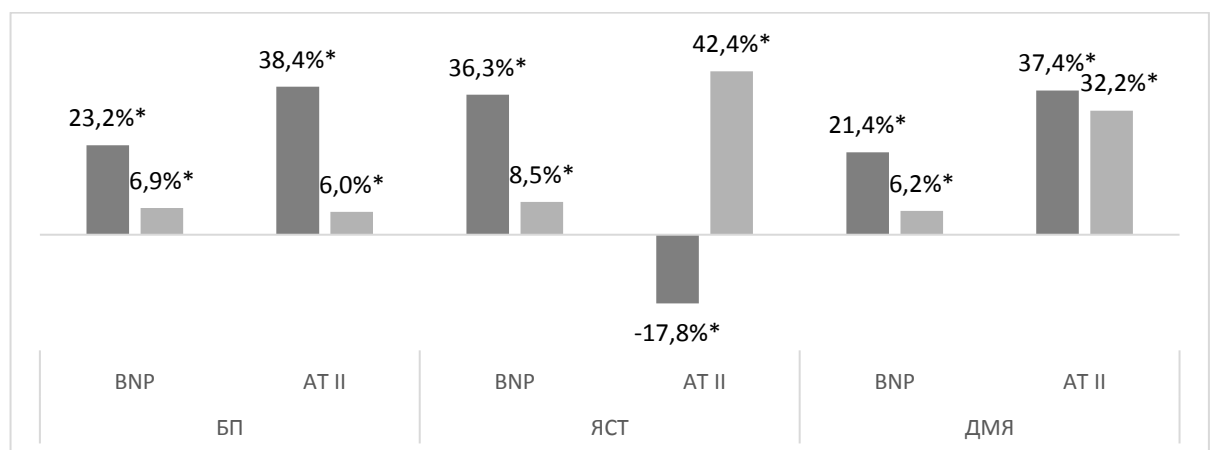
Показники експресії BNP та Ат II в БП, ЯСТ та ДМЯ шурів із ЕСАГ характеризуються більшою експресією Ат II ніж BNP в усіх трьох досліджуваних структурах, при чому найбільший його вміст був в ДМЯ. Особливістю цієї експериментальної групи було те, що вміст депресорного BNP в структурі ЯСТ був найбільший, а пресорного Ат II – найменший (рис 6.22).



Примітка. - вміст ІРМ, Од_{іф}, - питома площа ІРМ, %

Рисунок 6.22 – Показники експресії BNP та ангіотензину II в структурах блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів із вторинною ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією

Порівняння експресії BNP та Ат II в БП, ЯСТ та ДМЯ щурів із ЕСАГ із контрольними тваринами показало більші значення вмісту нейропептидів в БП, тоді як в ЯСТ – більшим був вміст лише BNP, а Ат II – менше на фоні більшої питомої площі ІРМ до нього. В структурі ДМЯ щурів із ЕСАГ більші показники експресії як BNP так і Ат II (рис 6.23).

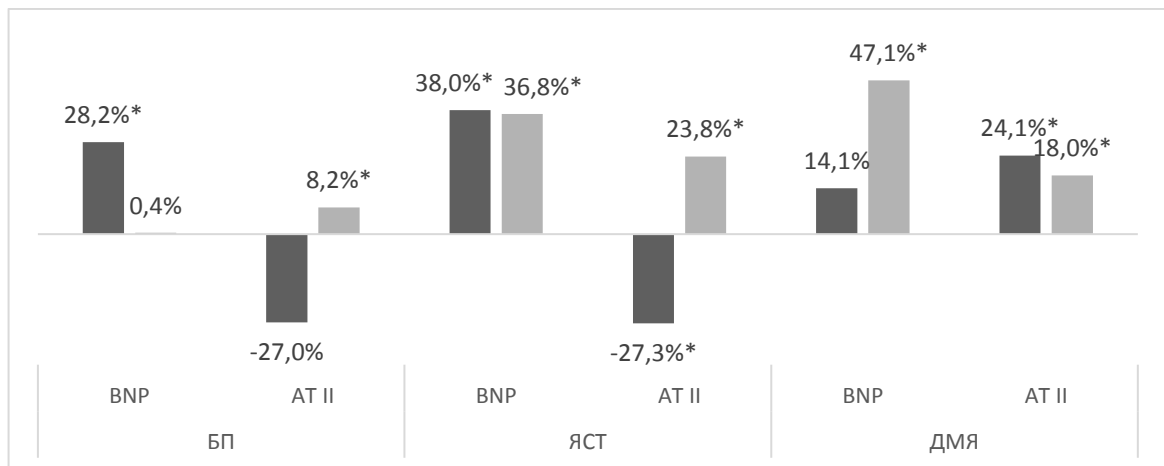


Примітка 1. - вміст ІРМ, Од_{іф}, - питома площа ІРМ, %.

Примітка 2. (*) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів експериментальної групи по відношенню до контролю.

Рисунок 6.23 – Зміни вмісту та питомої площі імунореактивного матеріалу до BNP та ангіотензину II в структурах блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра у щурів із вторинною ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією від рівня контролю, %

Порівняння експресії нейропептидів у досліджуваних структурах щурів із ЕСАГ із щурами з ЕАГ показало, що в БП та ЯСТ вміст BNP у них більший, а Ат II – менший, тоді як в ДМЯ більший вміст як BNP так і Ат II. Стосовно показнику питомої площі вона залишалася сталою лише в БП до BNP, в інших випадках цей показник щурів із ЕСАГ перевищував відповідний у щурів із ЕАГ (рис. 6.24).



Примітка 1. - вміст ІРМ, Одіф, - питома площа ІРМ, %.

Примітка 2. (*) – вірогідна різниця показників ($p < 0,05$) щурів із вторинною ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією по відношенню до рівня щурів із есенціальною артеріальною гіпертензією.

Рисунок 6.24 – Зміни вмісту та питомої площі імунореактивного матеріалу до BNP та ангіотензину II в структурах блакитної плями, ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра стовбуру мозку у щурів із вторинною ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією від рівня щурів із есенціальною артеріальною гіпертензією, %

Таким чином слід відмітити, перш за все зміни експресії нейропептидів у щурів із ЕСАГ як відносно контролю, так і відносно щурів із ЕАГ, направлені на компенсацію підвищення АТ через підвищення рівня Ат II в ДМЯ, та зниженні його в ЯСТ, що направлене на зменшення тонуусу симпатичної нервової системи та підвищення тонуусу парасимпатичної. Доказом цієї думки може слугувати дослідження, що показує гіпотензивний ефект від введення Ат II в ДМЯ [195], а також ряд робіт, що показують гіпертензивний ефект Ат II в ЯСТ [196, 197]. Вищезазначений компенсаторний ефект доповнює високий рівень депресорного BNP а ЯСТ. Так Herring et al. показали, що BNP разом із

іншими натрійуретичними пептидами приймає участь в серцевій вагусній інервації, обумовлює брадикардію, більш того, показано, що їх під впливом підвищується зворотній захват норадреналіну в ряді мозкових структур, що приймають участь в регуляції АТ (гіпоталамус, БП, ЯСТ та ін) [191, 198].

Таким чином, аналізуючи морфофункціональні показники структур БП, ЯСТ та ДМЯ слід відмітити в них менші показники середнього вмісту НК та площі ядра в нейронах усіх досліджуваних структур у щурів із ЕСАГ відносно контролю, мофроструктурну перебудову популяцій нейронів у БП, ЯСТ та ДМЯ, що виражалася в збільшенні кількості нейронів із дрібними ядрами, проте кількість нейронів із середнім ядрами зменшилась лише у БП та ЯСТ, а в ДМЯ – збільшилась. Тоді як кількість нейронів із великими ядрами в ЯСТ збільшилась, а в БП та ДМЯ – була меншою. Наступною особливістю була відсутність статистичної різниці в показникові вмісту НК у середніх та великих ядрах нейронів БП у щурів із ЕСАГ. Експресія ізоформ NOS у щурів із ЕСАГ відносно контролю була більшою лише в структурах ЯСТ та ДМЯ, тоді як в БП вміст всіх ізоформ був нижчий. Та ізоформний дисбаланс відмічається лише в експресії nNOS та iNOS (показник nNOS перевищує відповідний показник iNOS) в структурі ЯСТ та iNOS (її частка стає меншою) в структурі ДМЯ. Натомість показники експресії BNP та АТ II в структурах БП, ЯСТ та ДМЯ тварин із ЕАГ демонструють переважання вмісту ІРМ до АТ II в ДМЯ. Особливо цікавим було те, у щурів із ЕСАГ вміст депресорного BNP в структурі ЯСТ був найбільший, а пресорного АТ II – найменший.

Також показані міжмодельні відмінності морфо-функціонального стану структур дорсального комплексу *n. vagus* та *locus coeruleus* від етіопатогенезу артеріальної гіпертензії, що демонструє патогенетичні особливості стану регуляторних систем при різних за походженням формах артеріальної гіпертензії. Так середній вміст нуклеїнових кислот в ядрах нейронів всіх досліджуваних структур менший, проте середній показник площі нейронів в ядрі солітарного тракта та дорсальному моторному ядрі більший у щурів із ендокрино-сольовою моделлю артеріальної гіпертензії порівняно із щурами з

есенціальною артеріальною гіпертензією, що обумовлено особливостями морфоструктурної перебудови нейронів цих регуляторних центрів у тварин із вторинною артеріальною гіпертензією. Разом із тим показано, що ізоформний профіль синтази монооксиду азоту характеризується меншими показниками експресії в структурі блакитної плями, більшим вмістом nNOS та eNOS в структурі ядра солітарного тракта та більшим вмістом nNOS та eNOS в структурі дорсального моторного ядра щурів із ендокрино-сольовою моделлю артеріальної гіпертензії порівняно із щурами з есенціальною артеріальною гіпертензією. Порівняльна оцінка експресії BNP та ангіотензину II у гіпертензивних тварин показала різнонаправлені зміни їх експресії (більші показники експресії BNP та менші – ангіотензину II) у структурах блакитної плями та ядра солітарного тракта та збільшення експресії як BNP так і ангіотензину II в структурі дорсального моторного ядра щурів із ендокрино-сольовою моделлю артеріальної гіпертензії порівняно із щурами з есенціальною артеріальною гіпертензією.

Аналізуючи отримані зміни в структурах БП, ЯСТ та ДМЯ необхідно коротко охарактеризувати їх функціональну роль в регуляції АТ. Так, БП позиціонується як головне джерело НА-ергічної інервації та регулятор симпатичної активності, ЯСТ служить релейною ланкою, що змінює тонус відділів вегетативної нервової системи в залежності від зміни АТ, а ДМЯ – головне еферентне джерело парасимпатичної регуляції АТ. Отже, в досліджуваних структурах стовбуру мозку артеріальна гіпертензія незалежно від етіопатогенезу призводить до морфоструктурної перебудови популяцій нейронів БП, ЯСТ та ДМЯ, що проявлялося збільшенням кількості нейронів із дрібними ядрами. Разом з тим зміни експресії ізоформного профілю NOS, пресорного (Ат II) та депресорного (BNP) нейропептидів у цих структурах носили етіозалежний характер, а також залежали від функціональності самої структури. Так, в щурів із ЕАГ разом із підвищеною експресією всіх ізоформ NOS в структурах БП, ЯСТ та ДМЯ в двох останніх ще формувалася дисбаланс їх експресії із переважанням eNOS та iNOS в ЯСТ та eNOS - в ДМЯ. В той же

час, у щурів із ЕСАГ в БП експресія ізоформ NOS зменшувалася на фоні більшої експресії в ЯСТ та ДМЯ із формуванням дисбалансу експресії ізоформ ферменту (в ЯСТ переважали eNOS та nNOS, а в ДМЯ - eNOS та iNOS). Цікавими були виявлені особливості експресії BNP та Ат II у гіпертензивних щурів. Так, незалежно від етіопатогенезу АГ, рівень Ат II в структурі БП зростає, що . В той же час як зміни в ЯСТ та ДМЯ були етіозалежними. При ЕАГ, порівняно з контролем, в цих структурах баланс нейропептидів суттєво не змінювався. Тоді як при ЕСАГ в структурі ЯСТ збільшувався рівень депресорного BNP збільшувався, а пресорного Ат II зменшувався, в той же час як в ДМЯ вторинно-гіпертензивних щурів превалювала експресія Ат II. Таким чином, встановлені закономірності морфофункціонального стану БП, ЯСТ та ДМЯ щурів із ЕАГ та ЕСАГ описують патогенетичні аспекти підвищення тону симпатичного відділу вегетативної нервової системи при обох досліджуваних видах АГ, та, можливо як елемент компенсації підвищеного АТ, патогенетичні аспекти підвищення модуляції барорефлекторної відповіді на підвищений артеріальний тиск, та збільшення тону парасимпатичної нервової системи у щурів із ЕСАГ

ВИСНОВКИ

Останніми роками підвищений артеріальний тиск у населення, за статистичними даними, став одним з головних факторів виникнення передчасної смерті. Захворюваність на артеріальну гіпертензію призвела майже до 10 млн смертей та більш ніж до 200 млн випадків інвалідності. Своєчасна діагностика, лікування та, що більш важливе, попередження її виникнення, значно зменшують встановлені ризики. Саме тому дослідження особливостей морфофункціонального стану центрів стовбуру мозку, що безпосередньо регулюють судинний тонус, при етіологічно різних артеріальних гіпертензіях, є актуальною проблемою сучасної патофізіології, що надасть можливість прогнозувати та попереджувати розвиток артеріальної гіпертензії, запропонувати нові фармакологічні мішені для лікування хвороби та підвищити його ефективності. У дисертаційній роботі вирішена важлива наукова проблема щодо з'ясування патогенетичних особливостей морфофункціонального стану структур дорсального комплексу n. vagus (дорсального моторного ядра та ядра солітарного тракта) та locus coeruleus (блакитної плями) при патогенетично різних моделях артеріальної гіпертензії (есенціальної та ендокринно-сольової).

1. Морфофункціональний стан структур дорсального комплексу n. vagus (ядра солітарного тракта, дорсального моторного ядра) та locus coeruleus (блакитної плями) у щурів контрольної групи з нормальним артеріальним тиском характеризується найменшим показником площі ядер та вмісту нуклеїнових кислот у нейронах блакитної плями та ядра солітарного тракта, найбільшим – в нейронах дорсального моторного ядра. За показником площі ядра нейрони досліджуваних структур характеризуються чітким та рівномірним розподілом: від загальної кількості клітин нейрони із дрібними ядрами складають 22,2 %-25 %, із середніми – 53,7 %-54,6 %, з великими – 21,3 %-23,3 %. В нейронах блакитної плями та ядра солітарного тракта із зростанням площі ядра збільшується у ньому вміст нуклеїнових кислот; в

ядрах нейронів дорсального моторного ядра із середнім розміром ядер вміст у них нуклеїнових кислот статистично не відрізняється від такого в ядрах великого розміру. Показники експресії ізоформ NOS найменші в структурі блакитної плями, найбільші – в ядрі солітарного тракта. Представленість ізоформ NOS має топографічну залежність: в блакитній плямі вміст nNOS, iNOS та eNOS однаково рівномірний, в ядрі солітарного тракта домінує eNOS, в дорсальному моторному ядрі – iNOS та eNOS. Експресія нейропептидів характеризується переважанням рівня пресорного ангіотензину II над депресорним BNP. Ангіотензин II найбільш представлений в структурі ядра солітарно готракта, найменше його – в блакитній плямі. BNP експресується в досліджуваних структурах приблизно на одному рівні.

2. Патогенетичними особливостями морфо-функціонального стану структур дорсального комплексу n. vagus (дорсального моторного ядра та ядра солітарноготракта) та locuscoeruleus (блакитної плями) у щурів лінії SHR із есенціальною артеріальною гіпертензією є морфоструктурна перебудова популяцій нейронів, що виражається в збільшенні чисельності нейронів із дрібними ядрами (в блакитній плямі їх 42,4 %, в ядрі солітарного тракта – 53,2 %, в дорсальному моторному ядрі – 53,2 %) та зменшенні серед них кількості клітин із середнім розміром ядра (в блакитній плямі їх 30,6 %, в ядрі солітарного тракта – 30,9 %, в дорсальному моторному ядрі – 26,3 %). Вміст нуклеїнових кислот у великих ядрах нейронів ядра солітарного тракта статистично не відрізняється від такого в ядрах середнього розміру. На відміну від контролю в нейронах дорсального моторного ядра виявляються клітини, що мають більшу площу ядер та вміст у них нуклеїнових кислот. Показники експресії ізоформ NOS в досліджуваних структурах вірогідно перевищують відповідні показники контролю, певний дисбаланс відмічається лише в експресії iNOS і eNOS в структурах ядра солітарноготракта та дорсального моторного ядра. Порівняно до контролю спостерігається зворотна ситуація: в ядрі солітарного тракта вміст iNOS та eNOS практично вирівнюється, а в дорсальному моторному ядрі рівень eNOS значно переважає над iNOS.

Показники експресії нейропептидів показують майже однаковий рівень BNP в усіх досліджуваних структурах, натомість вміст ангіотензину II найбільший в блакитній плямі, найменший – в дорсальному моторному ядрі.

3. У щурів із вторинною ендокринно-асоційованою артеріальною гіпертензією групи з ендокринно-сольовою моделлю морфо-функціональний стан структур дорсального комплексу *n. vagus* (дорсального моторного ядра та ядра солітарного тракта) та *locus coeruleus* (блакитної плями) характеризується морфоструктурною перебудовою. В блакитній плямі спостерігаються більша кількість нейронів із дрібними ядрами (40 %), менша із середніми та великими (41,2 % та 18,8 % відповідно); в ядрі солітарного тракта більше нейронів із дрібними (32,7 %) та великими ядрами (35,5 %), менше – із середніми (31,8 %); в дорсальному моторному ядрі більша чисельність нейронів із дрібними та середніми ядрами (30,1 % та 57,3 % відповідно), менша – з великими (12,6 %). Наступна особливість – відсутність в нейронах блакитної плями вірогідної різниці вмісту нуклеїнових кислот у ядрах із великими та середніми площами. В нейронах ядра солітарного тракта та дорсальному моторному ядрі закономірність зростання вмісту нуклеїнових кислот зі збільшенням площі ядра відповідає контролю. Показник вмісту імунореактивного матеріалу до ізоформ NOS (nNOS, iNOS та eNOS) в структурах ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра вірогідно перевищує значення контролю, в структурі блакитної плями вміст nNOS та iNOS вірогідно менші порівняно із контрольними щурами. Ізоформний дисбаланс яскраво виражений в ядрі солітарного тракту, що пов'язано із значним підвищенням вмісту nNOS. Рівень BNP в структурі блакитної плями та в дорсальному моторному ядрі найнижчий, в ядрі солітарного тракта – найвищий. Ангіотензин II найбільш представлений в дорсальному моторному ядрі, найменший його вміст – в ядрі солітарного тракта.

4. Спільні зміни морфо-функціональних параметрів структур дорсального комплексу *n. vagus* (дорсального моторного ядра та ядра солітарного тракту) та *locus coeruleus* (блакитної плями) при артеріальній

гіпертензії у щурів із ендокринно-сольовою та із есенціальною моделями характеризуються більшою кількістю нейронів із дрібними ядрами, в структурах ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра вірогідно більшими показниками експресії всіх 3-х ізоформ NOS із переважанням eNOS, в усіх досліджуваних структурах більша експресія ангіотензину II ніж BNP, експресія BNP в блакитній плямі та дорсальному моторному ядрі статистично більша за контроль.

5. Відмінними рисами морфо-функціональних показників нейронів дорсального комплексу n. vagus (дорсального моторного ядра та ядра солітарного тракта) та locus coeruleus (блакитної плями) у щурів із вторинною ендокринно-сольовою артеріальною гіпертензією порівняно із моделлю есенціальної артеріальної гіпертензії є вірогідно менший вміст нуклеїнових кислот в ядрах нейронів, більша середня площа ядер нейронів ядра солітарного тракта та дорсального моторного ядра, в структурі блакитної плями більша кількість нейронів із середньою площею та менша із великою, в ядрі солітарного тракта більше нейронів із великою площею, а в дорсальному моторному ядрі – із середньою. Експресія ізоформ NOS в структурі блакитної плями характеризується меншими вмістом та питомою площею всіх трьох ізоформ, в ядрі солітарного тракта менша питома площа nNOS, iNOS та eNOS та вірогідно більший вміст nNOS, в структурі дорсального моторного ядра експресія nNOS та iNOS характеризується вірогідно більшими показниками вмісту та меншими – питомої площі, меншими за вмістом та площею eNOS. BNP характеризується більшим вмістом та питомою площею в ядрі солітарного тракта, тоді як в структурах блакитної плями та дорсального моторного ядра вірогідно більшими є лише показники вмісту та питомої площі відповідно. Експресія ангіотензину II показує більший вміст та питому площу імунореактивного матеріалу в дорсальному моторному ядрі, в ядрі солітарного тракта вміст вірогідно менше, а питома площа – більше; в блакитній плямі вище лише питома площа імунореактивного матеріалу до ангіотензину II.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Global burden of hypertension and systolic blood pressure of at least 110 to 115 mm Hg, 1990-2015 / M. H. Forouzanfar, P. Liu, G. A. Roth et al. *Jama*. 2017. Vol. 317. № 2. P. 165-182. DOI: 10.1001/jama.2016.19043.
2. Impact of age on the importance of systolic and diastolic blood pressures for stroke risk: the MONica, Risk, Genetics, Archiving, and Monograph (MORGAM) Project / J. K. K. Vishram, A. Borglykke, A. H. Andreasen et al. *Hypertension*. 2012. Vol. 60. № 5. P. 1117-1123. DOI : 10.1161/HYPERTENSIONAHA.112.201400.
3. Brown D. W., Giles W. H., Greenlund K. J. Blood pressure parameters and risk of fatal stroke, NHANES II mortality study. *American journal of hypertension*. 2007. Vol. 20. № 3. P. 338-341. DOI: 10.1016/j.amjhyper.2006.08.004.
4. Asia Pacific Cohort Studies Collaboration et al. Blood pressure and cardiovascular disease in the Asia Pacific region. *Journal of hypertension*. 2003. Vol. 21. № 4. P. 707-716.
5. Worldwide trends in blood pressure from 1975 to 2015: a pooled analysis of 1479 population-based measurement studies with 191 million participants / B. Zhou, J. Bentham, M. D. Cesare et al. *The Lancet*. 2017. Vol. 389. № 10064. P. 37-55. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)31919-5.
6. Prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in rural and urban communities in high-, middle-, and low-income countries / C. K. Chow, K. K. Teo, S. Rangarajan et al. *Jama*. 2013. Vol. 310. № 9. P. 959-968. DOI: 10.1001/jama.2013.184182.
7. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data / P. M. Kearney, M. Whelton, K. Reynolds et al. *The Lancet*. 2005. Vol. 365. № 9455. P. 217-223. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)17741-1.
8. Rimoldi S. F., Scherrer U., Messerli F. H. Secondary arterial hypertension: when, who, and how to screen? *European heart journal*. 2014. Vol. 35. № 19. P. 1245-1254. DOI: 10.1093/eurheartj/ehs534.

9. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of Hypertension (ESH) / B. Williams G. Mancia, W. Spiering et al. *European heart journal*. 2018. Vol. 39. № 33. P. 3021-3104. DOI: 10.1093/eurheartj/ehy339.

10. Overexpression of AT2R in the solitary-vagal complex improves baroreflex in the spontaneously hypertensive rat / P. J. Ruchaya, G.F. Speretta, G.T. Blanch et al. *Neuropeptides*. 2016. Vol. 60. P. 29-36. DOI: 10.1016/j.npep.2016.06.006.

11. Nassar N. N., Abdel-Rahman A. A. Brain stem adenosine receptors modulate centrally mediated hypotensive responses in conscious rats: A review *Journal of advanced research*. 2015. Vol. 6. № 3. P. 331-340. DOI: 10.1016/j.jare.2014.12.005.

12. Cardiac vagal preganglionic neurones: An update / A. V. Gourine, A. Machhada, S. Trapp et al. *Autonomic Neuroscience*. 2016. Vol. 199. P. 24-28. DOI: 10.1016/j.autneu.2016.06.003.

13. Wood C. S., Valentino R. J., Wood S. K. Individual differences in the locus coeruleus-norepinephrine system: relevance to stress-induced cardiovascular vulnerability. *Physiology & behavior*. 2017. Vol. 172. P. 40-48. DOI: 10.1016/j.physbeh.2016.07.008.

14. Grassi G., Mark A., Esler M. The sympathetic nervous system alterations in human hypertension. *Circulation research*. 2015. Vol. 116. № 6. P. 976-990. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.303604.

15. Белова Т.И., Голубева Е.Л., Судаков К.В. Гомеостатические функции locus ceruleus (голубого пятна). Москва: Наука, 1980. 117 с

16. Lindvall O. The organization of the ascending catecholamine neuron systems in the rat brain. As revealed by the glyoxylic acid fluorescence method. 1974.

17. Samuels E. R., Szabadi E. Functional neuroanatomy of the noradrenergic locus coeruleus: its roles in the regulation of arousal and autonomic

function part I: principles of functional organisation. *Current neuropharmacology*. 2008. Vol. 6. № 3. P. 235-253.

18. Locus coeruleus and dopaminergic consolidation of everyday memory / T. Takeuchi, A.J. Duzskiewicz, A. Sonneborn et al. *Nature*. 2016. Vol. 537. № 7620. P. 357-362. DOI: 10.1038/nature19325.

19. Locus coeruleus activation accelerates perceptual learning / E. Glennon, I. Carcea, A.R. Martins et al. *Brain research*. 2019. Vol. 1709. P. 39-49. DOI: 0.1016/j.brainres.2018.05.048.

20. Locus coeruleus to basolateral amygdala noradrenergic projections promote anxiety-like behavior / J. G. McCall, E.R. Siuda, D.L. Bhatti et al. *Elife*. 2017. Vol. 6. P. e18247. DOI: 10.7554/eLife.18247.001.

21. Locus coeruleus activity mediates hyperresponsiveness in posttraumatic stress disorder / C. Naegeli, T. Zeffiro, M. Piccirelli et al. *Biological psychiatry*. 2018. Vol. 83. № 3. P. 254-262. DOI: 10.1016/j.biopsych.2017.08.021.

22. Locus coeruleus imaging as a biomarker for noradrenergic dysfunction in neurodegenerative diseases / M. J. Betts, E. Kirilina, M. C. G. Otaduy et al. *Brain*. 2019. Vol. 142, № 9, P. 2558–2571. DOI: 10.1093/brain/awz193.

23. Noradrenergic locus coeruleus pathways in pain modulation / M. Llorca-Torrallba, G. Borges, F. Neto et al. *Neuroscience*. 2016. Vol. 338. P. 93-113. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2016.05.057.

24. Divergent influences of the locus coeruleus on migraine pathophysiology / M. Vila-Pueyo, L.C. Strother, M. Kefel et al. *Pain*. 2019. Vol. 160. № 2. P. 385. DOI: 10.1097/j.pain.0000000000001421.

25. Neuromelanin Locus Coeruleus MRI Contrast in Migraine With Aura / C. Gollion, G. Arribarat, J.B. Ruidavets et al. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*. 2020. Vol. 60. № 4. P. 752-760. DOI: 10.1111/head.13771.

26. Chandler D. J., Gao W. J., Waterhouse B. D. Heterogeneous organization of the locus coeruleus projections to prefrontal and motor cortices. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2014. Vol. 111. № 18. P. 6816-6821. DOI: 10.1073/pnas.1320827111.

27. Костюк П. Г. Частная физиология нервной системы. Ленинград. Наука. 1983. 733 с.
28. Ward D. G., Gunn C. G. Locus coeruleus complex: differential modulation of depressor mechanisms. *Brain Research*. 1976. Vol. 107. № 2. P. 407-411. DOI: 10.1016/0006-8993(76)90237-7.
29. Role of the locus ceruleus in baroreceptor regulation of supraoptic vasopressin neurons in the rat / R. J. Grindstaff, R. R. Grindstaff, M. J. Sullivan et al. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2000. Vol. 279. № 1. P. R306-R319. DOI: 10.1152/ajpregu.2000.279.1.R306.
30. Samuels E. R., Szabadi E. Functional neuroanatomy of the noradrenergic locus coeruleus: its roles in the regulation of arousal and autonomic function part II: physiological and pharmacological manipulations and pathological alterations of locus coeruleus activity in humans. *Current neuropharmacology*. 2008. Vol. 6. № 3. P. 254-285.
31. Locus coeruleus neurons in the rat containing neuropeptide Y, tyrosine hydroxylase or galanin and their efferent projections to the spinal cord, cerebral cortex and hypothalamus / V. R. Holets, T. Hökfelt, Å. Rökaeus et al. *Neuroscience*. 1988. Vol. 24. № 3. P. 893-906.
32. Zitnik G. A. Control of arousal through neuropeptide afferents of the locus coeruleus. *Brain Research*. 2016. Vol. 1641. P. 338-350. DOI: 10.1016/j.brainres.2015.12.010.
33. Bali A., Jaggi A. S. Angiotensin as stress mediator: role of its receptor and interrelationships among other stress mediators and receptors. *Pharmacological research*. 2013. Vol. 76. P. 49-57. DOI: 10.1016/j.phrs.2013.07.004.
34. Immunohistochemical mapping of natriuretic peptide receptor-A in the brainstem of *Macaca fascicularis* / E. M. Abdelalim, A.H.K. Osman, T. Takada et al. *Neuroscience*. 2007. Vol. 145. № 3. P. 1087-1096. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2006.12.062.

35. Distribution of natriuretic peptide receptor-C immunoreactivity in the rat brainstem and its relationship to cholinergic and catecholaminergic neurons / E. M. Abdelalim, C. Masuda, J.P. Bellier et al. *Neuroscience*. 2008. Vol. 155. № 1. P. 192-202. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2008.05.020.
36. Ravanelli M. I. B., Almeida M. C., Branco L. G. S. Role of the locus coeruleus carbon monoxide pathway in endotoxin fever in rats. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*. 2007. Vol. 453. №. 4. P. 471-476. DOI: 10.1007/s00424-006-0136-8.
37. Mitochondrial oxidant stress in locus coeruleus is regulated by activity and nitric oxide synthase / J. Sanchez-Padilla, N. Guzman, E. Ilijic et al. *Nature neuroscience*. 2014. Vol. 17. №. 6. P. 832-840. DOI: 10.1038/nn.3717.
38. Reduced activity of locus coeruleus neurons in hypertensive rats / H. R. Olpe, K. Berecek, R.S.G. Jones et al. *Neuroscience letters*. 1985. Vol. 61. № 1-2. P. 25-29. DOI: 10.1016/0304-3940(85)90395-7.
39. Increased catecholamine metabolism in the locus coeruleus of young spontaneously hypertensive rats / M. Koulu, J.M. Saavedra, M. Niwa et al. *Brain research*. 1986. Vol. 369. № 1-2. P. 361-364. DOI: 10.1016/0006-8993(86)90551-2.
40. Locus coeruleus neurons show reduced alpha 2-receptor responsiveness and decreased basal activity in spontaneously hypertensive rats / G. Engberg, L. Oreland, P. Thoren et al. *Journal of neural transmission*. 1987. Vol. 69. № 1-2. P. 71-83. DOI: 10.1007/BF01244098.
41. Kunkler P. E., Wang G. M., Hwang B. H. Galanin-containing neurons in the solitary nucleus and locus coeruleus of spontaneously hypertensive rats are associated with genetic hypertension. *Brain research*. 1994. Vol. 651. № 1-2. P. 349-352. DOI: 10.1016/0006-8993(94)90718-8.
42. Kaehler S. T., Singewald N., Philippu A. Release of serotonin in the locus coeruleus of normotensive and spontaneously hypertensive rats (SHR). *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*. 1999. Vol. 359. № 6. P. 460-465. DOI: 10.1007/PL00005376.

43. Vascular and brain dopamine beta-hydroxylase activity in young spontaneously hypertensive rats / T. Nagatsu, K. Ikuta, Y. Numata et al. *Science*. 1976. Vol. 191. № 4224. P. 290-291. DOI: 10.1126/science.1858.
44. Sinoaortic denervation abolishes blood pressure-induced GABA release in the locus coeruleus of conscious rats / D. Kouvelas, N. Singewald, S.T. Kaehler et al. *Neuroscience letters*. 2006. Vol. 393. № 2-3. P. 194-199. DOI: 10.1016/j.neulet.2005.09.063.
45. Sterley T. L., Howells F. M., Russell V. A. Maternal separation increases GABAA receptor-mediated modulation of norepinephrine release in the hippocampus of a rat model of ADHD, the spontaneously hypertensive rat. *Brain Research*. 2013. Vol. 1497. P. 23-31. DOI: 10.1016/j.brainres.2012.12.029.
46. Yao S. T., Lawrence A. J. Purinergic modulation of cardiovascular function in the rat locus coeruleus. *British journal of pharmacology*. 2005. Vol. 145. № 3. P. 342-352. DOI: 10.1038/sj.bjp.0706179.
47. Angiotensin II AT1 receptor blockade selectively enhances brain AT2 receptor expression, and abolishes the cold-restraint stress-induced increase in tyrosine hydroxylase mRNA in the locus coeruleus of spontaneously hypertensive rats: ORIGINAL RESEARCH PAPER / C. Bregonzio, A. Seltzer, I. Armando et al. *Stress*. 2008. Vol. 11. № 6. P. 457-466. DOI: 10.1080/10253890801892040.
48. Locus coeruleus dysfunction in transgenic rats with low brain angiotensinogen / M. Ogier, G. Bricca, M. Bader et al. *CNS Neuroscience & Therapeutics*. 2016. Vol. 22. № 3. P. 230-237. DOI: 10.1111/cns.12488.
49. Effects of α 2A adrenoceptors on norepinephrine secretion from the locus coeruleus during chronic stress-induced depression / B.Wang, Y. Wang, Q. Wu et al. *Frontiers in neuroscience*. 2017. Vol. 11. P. 243. DOI: 10.3389/fnins.2017.00243.
50. A single angiotensin II hypertensive stimulus is associated with prolonged neuronal and immune system activation in Wistar-Kyoto rats / J. Zubcevic, M.M. Santisteban, P.D. Perez et al. *Frontiers in physiology*. 2017. Vol. 8. P. 592. DOI: 10.3389/fphys.2017.00592.

51. Angiotensin II causes imbalance between pro-and anti-inflammatory cytokines by modulating GSK-3 β in neuronal culture / D. Agarwal, R.B. Dange, M.K. Raizada et al. *British journal of pharmacology*. 2013. Vol. 169. № 4 P. 860-874. DOI: 10.1111/bph.12177.
52. ASL metabolically regulates tyrosine hydroxylase in the nucleus locus coeruleus / S. Lerner, E. Anderzhanova, S. Verbitsky et al. *Cell reports*. 2019. Vol. 29. № 8. P. 2144-2153. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.10.043.
53. Hall S., Milne B., Jhamandas K. Excitatory action of N-methyl-D-aspartate on the rat locus coeruleus is mediated by nitric oxide: an in vivo voltammetric study. *Brain research*. 1998. Vol. 796. № 1-2. P. 176-186. DOI: 10.1016/S0006-8993(98)00345-X.
54. Van Giersbergen P. L., Palkovits M., De Jong W. Involvement of neurotransmitters in the nucleus tractus solitarii in cardiovascular regulation. *Physiological reviews*. 1992. Vol. 72. № 3. P. 789-824. DOI: 10.1152/physrev.1992.72.3.789.
55. Endogenous glucagon-like peptide-1 receptor signaling in the nucleus tractus solitarius is required for food intake control / A. L. Alhadeff, B.D. Mergler, D.J. Zimmer et al. *Neuropsychopharmacology*. 2017. Vol. 42. № 7. P. 1471-1479. DOI: 10.1038/npp.2016.246.
56. GABA neurons in the nucleus tractus solitarius express GLP-1 receptors and mediate anorectic effects of liraglutide in rats / S. M. Fortin, R.K. Lipsky, R. Lhamo et al. *Science Translational Medicine*. 2020. Vol. 12. № 533. DOI: 10.1126/scitranslmed.aay8071.
57. BDNF/TrkB signaling mediates the anorectic action of estradiol in the nucleus tractus solitarius / L. Shen, D.Q.H. Wang, M. Xu et al. *Oncotarget*. 2017. Vol. 8. № 48. P. 84028. DOI: 10.18632/oncotarget.21062.
58. Calcitonin receptor neurons in the mouse nucleus tractus solitarius control energy balance via the non-aversive suppression of feeding / W. Cheng, I. Gonzalez, W. Pan et al. *Cell metabolism*. 2020. Vol. 31. № 2. P. 301-312. DOI: 10.1016/j.cmet.2019.12.012.

59. Chemosensitive Phox2b-expressing neurons are crucial for hypercapnic ventilatory response in the nucleus tractus solitarius C. Fu, J. Xue, R. Wang et al. *The Journal of physiology*. 2017. Vol. 595. № 14. P. 4973-4989. DOI: 10.1113/JP274437.
60. Neuronal HIF-1 α in the nucleus tractus solitarius contributes to ventilatory acclimatization to hypoxia / E. A. Moya, A. Go, C.B. Kim et al. *The Journal of physiology*. 2020. Vol. 58. № 10. P. 2021-2034. DOI: 10.1113/JP279643.
61. Sarnat H. B., Flores-Sarnat L. Synaptogenesis and myelination in the nucleus/tractus solitarius: potential role in apnea of prematurity, congenital central hypoventilation, and sudden infant death syndrome. *Journal of child neurology*. 2016. Vol. 31. № 6. P. 722-732. DOI: 10.1177/0883073815615227.
62. Effects of endogenous oxytocin receptor signaling in nucleus tractus solitarius on satiation-mediated feeding and thermogenic control in male rats / Z. Y. Ong, D.M. Bongiorno, M.A. Hernando et al. *Endocrinology*. 2017. Vol. 158. № 9. P. 2826-2836. DOI: 10.1210/en.2017-00200.
63. Activation of TRPV1 in nucleus tractus solitarius reduces brown adipose tissue thermogenesis, arterial pressure, and heart rate / M. Mohammed, C. J. Madden, M. C. Andresenet al. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2018. Vol. 315. № 1. P. R134-R143. DOI: 10.1152/ajpregu.00049.2018.
64. Nucleus tractus solitarius mediates hyperalgesia induced by chronic pancreatitis in rats / Y. Bai, Y.B. Chen, X.T. Qiu et al. *World journal of gastroenterology*. 2019. Vol. 25. № 40. P. 6077. 10.3748/wjg.v25.i40.6077.
65. Blood pressure and heart rate responses to microinjection of vasopressin into the nucleus tractus solitarius region of the rat / H. Matsuguchi, F.M. Sharabi, F.J. Gordon et al. *Neuropharmacology*. 1982. Vol. 21. № 7. P. 687-693. DOI: 10.1016/0028-3908(82)90012-0.
66. Talman W. T., Granata A. R., Reis D. J. Glutamatergic mechanisms in the nucleus tractus solitarius in blood pressure control. *Federation proceedings*. 1984. Vol. 43. № 1. P. 39-44.

67. Catelli J. M., Giakas W. J., Sved A. F. GABAergic mechanisms in nucleus tractus solitarius alter blood pressure and vasopressin release. *Brain research*. 1987. Vol. 403. № 2. P. 279-289. DOI: 10.1016/0006-8993(87)90065-5.
68. Steckelings U. M., de Kloet A., Sumners C. Centrally mediated cardiovascular actions of the angiotensin II type 2 receptor. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2017. Vol. 28. № 9. P. 684-693. DOI: 10.1016/j.tem.2017.06.002.
69. Carmichael S. T., Price J. L. Connectional networks within the orbital and medial prefrontal cortex of macaque monkeys. *Journal of Comparative Neurology*. 1996. Vol. 371. № 2. P. 179-207. DOI: 10.1002/(SICI)1096-9861(19960722)371:2<179::AID-CNE1>3.0.CO;2-%23.
70. Anterior cingulate cortex in rodents: connections, visceral control functions, and implications for emotion / E. J. Neafsey, R.R.Terreberry, K.M. Hurley et al. *Neurobiology of cingulate cortex and limbic thalamus*. Birkhäuser, Boston, MA, 1993. P. 206-223.
71. Dampney R. A. Functional organization of central pathways regulating the cardiovascular system. *Physiological reviews*. 1994. Vol. 74. № 2. P. 323-364. DOI: 10.1152/physrev.1994.74.2.323.
72. Zanutto B. S., Valentinuzzi M. E., Segura E. T. Neural set point for the control of arterial pressure: role of the nucleus tractus solitarius. *Biomedical engineering online*. 2010. Vol. 9. № 1. P. 4. DOI: 10.1186/1475-925X-9-4.
73. GABA-ergic neurotransmission in the nucleus of the solitary tract modulates cough in the cat / Z. Kotmanova, M. Simera, M. Veternik et al. *Respiratory physiology & neurobiology*. 2018. Vol. 257. P. 100-106. DOI: 10.1016/j.resp.2018.02.009.
74. Lung-injury depresses glutamatergic synaptic transmission in the nucleus tractus solitarii via discrete age-dependent mechanisms in neonatal rats / D. G. Litvin, T.E. Dick, C.B. Smith et al. *Brain, behavior, and immunity*. 2018. Vol. 70. P. 398-422. DOI: 10.1016/j.bbi.2018.03.031.

75. Nam H., Kerman I. A. Distribution of catecholaminergic presympathetic-premotor neurons in the rat lower brainstem. *Neuroscience*. 2016. Vol. 324. P. 430-445. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2016.02.066.
76. Glutamatergic activation of A1 and A2 noradrenergic neurons in the rat brain stem / D. Gok-Yurtseven, I.M. Kafa, Z. Minbay et al. *Croatian medical journal*. 2019. Vol. 60. № 4. P. 352. DOI: 10.3325/cmj.2019.60.352.
77. Ohi Y., Kodama D., Haji A. L-DOPA inhibits excitatory synaptic transmission in the rat nucleus tractus solitarius through release of dopamine. *Neuroscience*. 2017. Vol. 360. P. 18-27. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2017.07.043.
78. Bunag R. D., Itoh H. Serotonergic and Catecholaminergic Mechanisms for Baroreflex Regulation in the NTS. *Nucleus of the Solitary Tract*. CRC Press, 2019. P. 255-266.
79. Sergeeva O. A., Haas H. L. Histamine function in nervous systems. *Histamine receptors*. Humana Press, Cham. 2016. Vol. 28. P. 231-249. DOI: 10.1007/978-3-319-40308-3_9.
80. Histamine restores hemorrhage induced hypotension by activating cholinergic neurons in nucleus tractus solitarius / B. Altinbas, G. Guvenc, L.G. Erkan et al. *Brain research*. 2016. Vol. 1649. P. 132-140. DOI: 10.1016/j.brainres.2016.06.047.
81. Brainstem cholinergic pathways diminish cardiovascular and neuroinflammatory actions of endotoxemia in rats: role of NF κ B/ α 7/ α 4 β 2AChRs signaling / M. Y. Sallam, S.M. El-Gowilly, M.A. Fouda et al. *Neuropharmacology*. 2019. Vol. 157. P. 107683. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2019.107683.
82. Contribution of baroreflex afferent pathway to NPY-mediated regulation of blood pressure in rats / Y. Liu, S.Y.Zhao, Y. Feng et al. *Neuroscience bulletin*. 2020. Vol. 36. № 4. P. 396-406. DOI: 10.1007/s12264-019-00438-w.
83. Sánchez M. L., Vecino E., Coveñas R. Distribution of Neurotensin and Somatostatin-28 (1–12) in the Minipig Brainstem. *Anatomia, histologia, embryologia*. 2016. Vol. 45. № 4. P. 260-276. DOI: 10.1111/ahe.12194.

84. Okonkwo O., Adeyinka A. Biochemistry, Cholecystokinin (CCK). *StatPearls*. StatPearls Publishing, 2019. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534204/>
85. Mapping of enkephalins and adrenocorticotrophic hormone in the squirrel monkey brainstem / E. Duque-Díaz, Z. Díaz-Cabiale, J.A. Narváez et al. *Anatomical science international*. 2017. Vol. 92. № 2. P. 275-292. DOI: 10.1007/s12565-016-0333-2.
86. Takahashi A. Dynorphin/ α -neo-endorphin. *Handbook of Hormones*. Academic Press, 2016. P. 58-e7B-2. DOI:10.1016/B978-0-12-801028-0.00118-5.
87. Effects of vasoactive intestinal polypeptide microinjected into the nucleus tractus solitarius on jejunal electrolytes absorption in rats / Á. D. C. V. Machado, A.S Haibara, A. Petroianu et al. *Neuropeptides*. 2005. Vol. 39. № 1. P. 15-19. DOI: 10.1016/j.npep.2004.10.001.
88. Inhibitory control of the cough reflex by galanin receptors in the caudal nucleus tractus solitarii of the rabbit / D. Mutolo, E. Cinelli, F. Bongianini et al. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2014. Vol. 307. № 11. P. R1358-R1367. DOI: 10.1152/ajpregu.00237.2014.
89. Bombesin receptor regulation of emotional memory / R. Roesler, P. Kent, N. Schröder et al. *Reviews in the Neurosciences*. 2012. Vol. 23. № 5-6. P. 571-586. DOI: 10.1515/revneuro-2012-0046.
90. Evidence that β -endorphin is synthesized in cells in the nucleus tractus solitarius: detection of POMC mRNA / D. M. Bronstein, M.K.H. Schafer, S.J. Watson et al. *Brain research*. 1992. Vol. 587. № 2. P. 269-275. DOI: 10.1016/0006-8993(92)91007-2.
91. Carter D. A., Lightman S. L. α -MSH exhibits opioid antagonist-like effects in the brainstem of rats. *Peptides*. 1987. Vol. 8. № 6. P. 1173-1175. DOI: 10.1016/0196-9781(87)90150-1.

92. The renin angiotensin system and the brain: new developments / E. Farag, D.I. Sessler, Z. Ebrahim et al. *Journal of Clinical Neuroscience*. 2017. Vol. 46. P. 1-8. DOI: 10.1016/j.jocn.2017.08.055.
93. Vasopressin, central autonomic control and blood pressure regulation / M. Lozić, O. Šarenac, D. Murphy et al. *Current hypertension reports*. 2018. Vol. 20. № 2. P. 11. DOI: 10.1007/s11906-018-0811-0.
94. Pressor effect of blocking atrial natriuretic peptide in nucleus tractus solitarius / R. H. Yang, H.K. Jin, J.M. Wyss et al. *Hypertension*. 1992. Vol. 19. № 2. P. 198-205. DOI: 10.1161/01.HYP.19.2.198.
95. Jacquin T., Denavit-Saubié M., Champagnat J. Substance P and serotonin mutually reverse their excitatory effects in the rat nucleus tractus solitarius. *Brain research*. 1989. Vol. 502. № 2. P. 214-222. DOI: 10.1016/0006-8993(89)90616-1.
96. Vasopressin contributes to hypertension caused by nucleus tractus solitarius lesions / A. F. Sved, T. Imaizumi, W.T. Talman et al. *Hypertension*. 1985. Vol. 7. № 2. P. 262-267. 10.1161/01.HYP.7.2.262.
97. Sved A. F., Sved J. C. Endogenous GABA acts on GABAB receptors in nucleus tractus solitarius to increase blood pressure. *Brain research*. 1990. Vol. 526. № 2 P. 235-240. 10.1016/0006-8993(90)91227-8.
98. Tsukamoto K., Sved A. F. Enhanced gamma-aminobutyric acid-mediated responses in nucleus tractus solitarius of hypertensive rats. *Hypertension*. 1993. Vol. 22. № 6. P. 819-825. DOI: 10.1161/01.HYP.22.6.819.
99. Cardiovascular effects of microinjection of adenosine into the nucleus tractus solitarius / R. A. Barraco, C.J. Janusz, P.M. Polasek et al. *Brain research bulletin*. 1988. Vol. 20. № 1. P. 129-132. DOI: 10.1016/0361-9230(88)90016-0.
100. Granata A. R., Woodruff G. N. Dopaminergic mechanisms in the nucleus tractus solitarius and effects on blood pressure. *Brain Research Bulletin*. 1982. Vol. 8. № 5. P. 483-488. DOI: 10.1016/0361-9230(82)90005-3.
101. Modulation of neurally mediated vasodepression and bradycardia by electroacupuncture through opioids in nucleus tractus solitarius / S. C. Tjen-A-Looi

L.W. Fu, Z.L. Guo et al. *Scientific reports*. 2018. Vol. 8. № 1. P. 1-12. DOI: 10.1038/s41598-018-19672-9.

102. Lé gat L., Smolders I., Dupont A. G. AT1 receptor mediated hypertensive response to Ang II in the nucleus tractus solitarii of normotensive rats involves no dependent local GABA release. *Frontiers in pharmacology*. 2019. Vol. 10. P. 460. DOI: 10.3389/fphar.2019.00460.

103. Lé gat L., Smolders I., Dupont A. G. Investigation of the role of AT2 receptors in the nucleus tractus solitarii of normotensive rats in blood pressure control. *Frontiers in Neuroscience*. 2019. Vol. 13. P. 589. DOI: 10.3389/fnins.2019.00589.

104. Moreira T. S., Takakura A. C., Colombari E. Important GABAergic mechanism within the NTS and the control of sympathetic baroreflex in SHR. *Autonomic Neuroscience*. 2011. Vol. 159. № 1-2. P. 62-70. DOI: 10.1016/j.autneu.2010.08.003.

105. Barnes K. L., DeWeese D. M., Andresen M. C. Angiotensin potentiates excitatory sensory synaptic transmission to medial solitary tract nucleus neurons. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2003. Vol. 284. № 5. P. R1340-R1353. DOI: 10.1152/ajpregu.00505.2002.

106. Influence of brain-derived neurotrophic factor-tyrosine receptor kinase B signalling in the nucleus tractus solitarius on baroreflex sensitivity in rats with chronic heart failure / B. K. Becker, C. Tian, I.H. Zucker et al. *The Journal of Physiology*. 2016. Vol. 594. № 19. P. 5711-5725. DOI: 10.1113/JP272318.

107. Blockade of adenosine A1 receptor in nucleus tractus solitarius attenuates baroreflex sensitivity response to dexmedetomidine in rats / L. Tian, G. Tang, Q. Liu et al. *Brain Research*. 2020. Vol. 1743 P. 146949. DOI: 10.1016/j.brainres.2020.146949.

108. Salusin β Within the Nucleus Tractus Solitarii Suppresses Blood Pressure Via Inhibiting the Activities of Presympathetic Neurons in the Rostral Ventrolateral Medulla in Spontaneously Hypertensive Rats / H. B. Li, Y. Lu, J.J. Liu

et al. *Cardiovascular toxicology*. 2016. Vol. 16. № 3. P. 223-234. DOI: 10.1007/s12012-015-9330-2.

109. Inhibitory effects of sulfur dioxide within the nucleus tractus solitarii of rats: involvement of Calcium Ion channels, Adenine nucleoside triphosphate-sensitive potassium channels, and the nitric oxide/cyclic Guanine trinucleotide phosphate pathway / B. Li, M.X. Gao, W. Yang et al. *Neuroreport*. 2019. Vol. 30. № 13. P. 914. DOI: [10.1097/WNR.0000000000001304](https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000001304).

110. CX3CR1-microglia mediates neuroinflammation and blood pressure regulation in the nucleus tractus solitarii of fructose-induced hypertensive rats / C. Y.Ho, Y.T. Lin, H.H. Chen et al. *Journal of Neuroinflammation*. 2020. Vol. 17. № 1.P. 1-12. DOI: [10.1186/s12974-020-01857-7](https://doi.org/10.1186/s12974-020-01857-7).

111. Acute hypoxia activates neuroendocrine, but not presympathetic, neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus: differential role of nitric oxide / K. M. Coldren D.P. Li, D.D. Kline et al. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2017. Vol. 312. № 6. P. R982-R995. DOI: [10.1152/ajpregu.00543.2016](https://doi.org/10.1152/ajpregu.00543.2016).

112. The PI3K signaling-mediated nitric oxide contributes to cardiovascular effects of angiotensin-(1-7) in the nucleus tractus solitarii of rats / Z. T. Wu, C.Z. Ren, Y.H. Yang et al. *Nitric Oxide*. 2016. Vol. 52. P. 56-65. DOI: [10.1016/j.niox.2015.12.002](https://doi.org/10.1016/j.niox.2015.12.002).

113. Legat L., Smolders I., Dupont A. G. Angiotensin II type 1 receptor mediated inhibitory modulation of the baroreflex by angiotensin II involves nitric oxide dependent GABA release in the nucleus tractus solitarii. *Journal of Hypertension*. 2019. Vol. 37. P. e27. DOI: [10.1097/01.hjh.0000570628.27969.46](https://doi.org/10.1097/01.hjh.0000570628.27969.46).

114. Abnormal oxygen homeostasis in the nucleus tractus solitarii of the spontaneously hypertensive rat / P. S. Hosford, J. Millar, A.G Ramage et al. *Experimental physiology*. 2017. Vol. 102. № 4. P. 389-396. DOI: [10.1113/EP086023](https://doi.org/10.1113/EP086023).

115. Foulquier S. Brain perivascular macrophages: connecting inflammation to autonomic activity in hypertension. *Hypertension Research*. 2020. Vol. 43. № 2. P. 148-150. DOI: [10.1038/s41440-019-0359-7](https://doi.org/10.1038/s41440-019-0359-7).

116. Fox E. A., Powley T. L. Longitudinal columnar organization within the dorsal motor nucleus represents separate branches of the abdominal vagus. *Brain research*. 1985. Vol. 341. № 2. P. 269-282. DOI: [10.1016/0006-8993\(85\)91066-2](https://doi.org/10.1016/0006-8993(85)91066-2).

117. Projections of the dorsal motor nucleus of the vagus to cardiac ganglia of rat atria: an anterograde tracing study / Z. Cheng, T.L. Powley, J.S. Schwaber et al. *Journal of Comparative Neurology*. 1999. Vol. 410. № 2. P. 320-341. DOI: [10.1002/\(SICI\)1096-9861\(19990726\)410:2<320::AID-CNE12>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19990726)410:2<320::AID-CNE12>3.0.CO;2-5).

118. McMenamin C. A., Travagli R. A., Browning K. N. Perinatal high fat diet increases inhibition of dorsal motor nucleus of the vagus neurons regulating gastric functions. *Neurogastroenterology & Motility*. 2018. Vol. 30. № 1. P. e13150. DOI: [10.1111/nmo.13150](https://doi.org/10.1111/nmo.13150).

119. Clyburn C., Travagli R. A., Browning K. N. Acute high-fat diet upregulates glutamatergic signaling in the dorsal motor nucleus of the vagus. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2018. Vol. 314. № 5. P. G623-G634. DOI: [10.1152/ajpgi.00395.2017](https://doi.org/10.1152/ajpgi.00395.2017).

120. Perinatal high-fat diet alters development of GABAA receptor subunits in dorsal motor nucleus of vagus / C. Clyburn, C.A. Howe, A.C. Arnold et al. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2019. Vol. 317. № 1. P. G40-G50. DOI: [10.1152/ajpgi.00079.2019](https://doi.org/10.1152/ajpgi.00079.2019)

121. Clyburn C., Travagli R. A., Browning K. N. Acute High-Fat Diet Induced Regulation of Caloric Intake is Dependent on Activation of Extrasynaptic NMDA Receptors in Dorsal Motor Nucleus of the Vagus Neurons. *The FASEB Journal*. 2020. Vol. 34. № S1. C. 1-1. DOI: [10.1096/fasebj.2020.34.s1.03593](https://doi.org/10.1096/fasebj.2020.34.s1.03593).

122. Bove C., Coleman F. H., Travagli R. A. Characterization of the Basic Membrane Properties of Neurons of the Rat Dorsal Motor Nucleus of the Vagus in Paraquat-Induced Models of Parkinsonism. *Neuroscience*. 2019. Vol. 418. P. 122-132. DOI: [10.1016/j.neuroscience.2019.08.048](https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.08.048).

123. Bove C. Environmental parkinson's disease: pathophysiological consequences on the function of the dorsal motor nucleus of the vagus neurons. – 2019.

124. Boychuk C. R., Smith K. C., Smith B. N. Cellular and Molecular Properties of Neurons: Functional and molecular plasticity of γ and $\alpha 1$ GABAA receptor subunits in the dorsal motor nucleus of the vagus after experimentally induced diabetes. *Journal of Neurophysiology*. 2017. Vol. 118. № 5. P. 2833. DOI: [10.1152/jn.00085.2017](https://doi.org/10.1152/jn.00085.2017).
125. Destruction of the Dorsal Motor Nucleus of the Vagus Aggravates Inflammation and Injury from Acid-Induced Acute Esophagitis in a Rat Model / L. Zhao, P. Xie, B. Geng, et al. *Analytical Cellular Pathology*. 2019. Vol. 2019. P 1-11. DOI: [10.1155/2019/8243813](https://doi.org/10.1155/2019/8243813).
126. Cholinergic signaling in the dorsal motor nucleus regulates systemic inflammatory responses via the vagus nerve / A. M. Kressel, T. Tsaava, V.A. Pavlov et al. *The journal of immunology*. 2018. Vol 200. № 1
127. Gorky J., Vadigepalli R., Schwaber J. Transcriptional Profiling of Laser Captured Neurons in the Dorsal Motor Nucleus of the vagus in Response to Ischemic Heart Failure. *The FASEB Journal*. 2018. Vol. 32. № 1. P. 580.11-580.11.
128. Gorky J. M., Vadigepalli R., Schwaber J. S. Phenotypic Shifts in Neurons of the Dorsal Motor Nucleus of the Vagus Resulting from Chronic Cardiac Ischemia. *bioRxiv*. – 2020. DOI: [10.1101/2020.03.11.987982](https://doi.org/10.1101/2020.03.11.987982).
129. Long-term stimulation of cardiac vagal preganglionic neurons reduces blood pressure in the spontaneously hypertensive rat / T. S. Moreira, V.R. Antunes, B. Falquetto et al. *Journal of hypertension*. 2018. Vol. 36. № 12. P. 2444-2452. DOI: [10.1097/HJH.0000000000001871](https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000001871).
130. Nucleus of the solitary tract catecholaminergic neurons modulate the cardiovascular response to psychological stress in rats / D. L. Daubert, M McCowan, B Erdos et al. *The Journal of physiology*. 2012. Vol. 590. № 19. P. 4881-4895. DOI: [10.1113/jphysiol.2012.232314](https://doi.org/10.1113/jphysiol.2012.232314).
131. Vagally mediated effects of brain stem dopamine on gastric tone and phasic contractions of the rat / L. Anselmi, L. Toti, c. Bove et al. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2017. Vol. 313. № 5. P. G434-G441. DOI: [10.1152/ajpgi.00180.2017](https://doi.org/10.1152/ajpgi.00180.2017).

132. Altered Expression of D 1 and D 2 Dopamine Receptors in Vagal Neurons Innervating the Gastric Muscularis Externa in a Parkinson's Disease Rat Model / Z. Y. Wang, H. Lian, L. Zhou et al. *Journal of Parkinson's Disease*. 2016. Vol. 6. № 2. P. 317-323. DOI: [10.3233/JPD-160817](https://doi.org/10.3233/JPD-160817).

133. Bove C., Anselmi L., Travaglini R. A. The Vagal Response To Dopamine Is Altered In A Model Of Parkinsonism. *The FASEB Journal*. 2018. Vol. 32. № 1_supplement. P. 733.2-733.2.

134. Apelin-13 inhibits gastric motility through vagal cholinergic pathway in rats / M. Bülbül, O. Sinen, M. Gök et al. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2018. Vol. 314. № 2. P. G201-G210. DOI: [10.1152/ajpgi.00223.2017](https://doi.org/10.1152/ajpgi.00223.2017).

135. Brain orexin improves intestinal barrier function via the vagal cholinergic pathway / T. Okumura, T. Nozu, M. Ishioh et al. *Neuroscience Letters*. 2020. Vol. 714. P. 134592. DOI: [10.1016/j.neulet.2019.134592](https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.134592).

136. Govere G., Stakenborg M., Matteoli G. The intestinal cholinergic anti-inflammatory pathway. *The Journal of physiology*. 2016. Vol. 594. № 20. P. 5771-5780. DOI: [10.1113/JP271537](https://doi.org/10.1113/JP271537).

137. Jiang Y., Babic T., Travaglini R. A. Sex differences in GABAergic neurotransmission to rat DMV neurons. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2019. Vol. 317. № 4. P. G476-G483. DOI: [10.1152/ajpgi.00112.2019](https://doi.org/10.1152/ajpgi.00112.2019).

138. Clyburn C. E., Browning K. N. GABA and Glycine are Co-released into Dorsal Motor Nucleus of the Vagus Neurons following a Perinatal High Fat Diet. *The FASEB Journal*. 2017. Vol. 31. №. 1_supplement. P. 861.9-861.9.

139. Yuan H., Silberstein S. D. Vagus nerve and vagus nerve stimulation, a comprehensive review: part I. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*. 2016. Vol. 56. №. 1. P. 71-78. DOI: [10.1111/head.12647](https://doi.org/10.1111/head.12647).

140. Norepinephrine and serotonin are required for vagus nerve stimulation directed cortical plasticity / D. R. Hulse C.M. Shedd, S.F. Sarker et al.

Experimental neurology. 2019. Vol. 320. P. 112975. DOI: [10.1016/j.expneurol.2019.112975](https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2019.112975).

141. Arginine vasopressin injected into the dorsal motor nucleus of the vagus inhibits gastric motility in rats / J. Zhu, L. Chang, J. Xie et al. *Gastroenterology Research and Practice*. 2016. Vol. 2016. DOI: [10.1155/2016/4618672](https://doi.org/10.1155/2016/4618672).

142. Ventromedial hypothalamic nucleus in regulation of stress-induced gastric mucosal injury in rats / H. Sun, P. Zhao, W. Liu, et al. *Scientific reports*. 2018. Vol. 8. № 1. P. 1-8. DOI: [10.1038/s41598-018-28456-0](https://doi.org/10.1038/s41598-018-28456-0).

143. . Distribution of oxytocin and co-localization with arginine vasopressin in the brain of mice / M. Otero-García, C. Agustín-Pavón, E. Lanuza et al *Brain Structure and Function*. 2016. Vol. 221. № 7. C 3445-3473. DOI: [10.1007/s00429-015-1111-y](https://doi.org/10.1007/s00429-015-1111-y).

144. Shigematsu K., Niwa M., Saavedra J. M. Increased density of substance P binding sites in specific brainstem nuclei of spontaneously hypertensive rats. *Brain research*. 1986. Vol. 370. № 2. P. 383-387. DOI: [10.1016/0006-8993\(86\)90499-3](https://doi.org/10.1016/0006-8993(86)90499-3).

145. Krstew E., Jarrott B., Lawrence A. J. Autoradiographic visualisation of axonal transport of adenosine A1 receptors along the rat vagus nerve and characterisation of adenosine A1 receptor binding in the dorsal vagal complex of hypertensive and normotensive rats. *Brain research*. 1998. Vol. 802. № 1-2. P. 61-68. DOI: [10.1016/S0006-8993\(98\)00567-8](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(98)00567-8).

146. Age-related loss of cardiac vagal preganglionic neurones in spontaneously hypertensive rats / E. K. A. Corbett, D.A.S.G. Mary, P.N. McWilliam et al. *Experimental physiology*. 2007. Vol. 92. № 6. P. 1005-1013. DOI: [10.1113/expphysiol.2007.038216](https://doi.org/10.1113/expphysiol.2007.038216).

147. Dornas W. C., Silva M. E. Animal models for the study of arterial hypertension. *Journal of biosciences*. 2011. Vol. 36. № 4. P. 731-737. DOI: [10.1007/s12038-011-9097-y](https://doi.org/10.1007/s12038-011-9097-y).

148. Журавлев Д. А. Модели артериальной гипертензии. Спонтанно-гипертензивные крысы. *Артериальная гипертензия*. 2009. Т. 15. №. 6. С 721-722.

149. Basting T., Lazartigues E. DOCA-salt hypertension: an update. *Current hypertension reports*. 2017. Vol. 19. № 4. P. 32. DOI: [10.1007/s11906-017-0731-4](https://doi.org/10.1007/s11906-017-0731-4).
150. Современные подходы и новые методические возможности в оценке функционального состояния мелких лабораторных животных / Ю. М. Колесник, О.В. Ганчева, А.В. Абрамов и др. *Патологія*. 2017. Т. 14. № 3(41). С. 364-370. DOI: [10.14739/2310-1237.2017.3.118770](https://doi.org/10.14739/2310-1237.2017.3.118770).
151. Коржевский Д. Э., Гиляров А. В. Основы гистологической техники. – 2010.
152. Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates: hard cover edition. *Elsevier*. 2006.
153. Ferreira T., Rasband W. ImageJ user guide. *ImageJ/Fiji*. 2012. Vol. 1. P. 155-161.
154. Kumar G. L., Rudbeck L. (ed.). Immunohistochemical staining methods. *Dako North America, Incorporated*. 2009.
155. Голованова І. А., Белікова І. В., Ляхова Н. О. Основи медичної статистики : навч. посіб. для аспірантів та клінічних ординаторів *Полтава*. 2017. 113 с.
156. Lafarga M., Berciano M. T. A Golgi and morphometric study of the ectopic granule cells in the molecular layer of the rat cerebellum. *Brain research*. 1985. Vol. 345. № 2. P. 398-401. DOI: [10.1016/0006-8993\(85\)91025-x](https://doi.org/10.1016/0006-8993(85)91025-x).
157. Cellular organization of locus coeruleus in the rat as studied by Golgi method / N. Shimizu, S. Ohnishi, K. Satoh et al. *Archivum histologicum japonicum*. 1978. Vol. 41. № 2. P. 103-112. DOI: [10.1679/aohc1950.41.103](https://doi.org/10.1679/aohc1950.41.103).
158. Shimizu N., Imamoto K. Fine structure of the locus coeruleus in the rat. *Archivum histologicum japonicum*. 1970. Vol. 31. № 3-4. P. 229-246. DOI: [10.1679/aohc1950.31.229](https://doi.org/10.1679/aohc1950.31.229).
159. Zhang X., Fogel R., Renehan W. E. Physiology and morphology of neurons in the dorsal motor nucleus of the vagus and the nucleus of the solitary tract that are sensitive to distension of the small intestine. *Journal of Comparative Neurology*. 1992. Vol. 323. № 3. P. 432-448. DOI: [10.1002/cne.903230310](https://doi.org/10.1002/cne.903230310).

160. Smolen A. J., Truex R. C. The dorsal motor nucleus of the vagus nerve of the cat: Localization of preganglionic neurons by quantitative histological methods. *The Anatomical Record*. 1977. Vol. 189. № 4. P. 555-565. DOI: [10.1002/ar.1091890402](https://doi.org/10.1002/ar.1091890402).

161. Afferent projections to the dorsal motor nucleus of the vagus / R. C. Roges, H. Kita, L.L. Butcher et al. *Brain research bulletin*. 1980. Vol. 5. № 4. P. 365-373. DOI: [10.1016/S0361-9230\(80\)80006-2](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(80)80006-2)

162. Hancheva O. V., Danukalo M. V., Melnikova O. V. Morphometric and densitometric characteristics of the brainstem locus coeruleus neurons nuclei in rats with experimental arterial hypertension. *Патологія*. 2019. Т. 16, № 1(45). С. 4–8. DOI: [10.14739/2310-1237.2019.1.166145](https://doi.org/10.14739/2310-1237.2019.1.166145).

163. Danukalo M. V. Melnikova O. V. Arterial hypertension as a predictor of morpho-densitometric changes development in rats` solitary-vagal complex. *Journal of Education, Health and Sport*. 2019. Vol.9(10). P. 132–142. DOI: [10.5281/zenodo.3497436](https://doi.org/10.5281/zenodo.3497436)

164. Данукало М.В. Ганчева О.В. Морфо-функціональні характеристики нейронів дорсального комплексу N. Vagus при різних видах артеріальної гіпертензії. *Сучасні аспекти медицини і фармації-2017* : тези доповідей всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю (м. Запоріжжя, 11-12 травня 2017 р). Запоріжжя, 2017. С. 18.

165. Förstermann U., Sessa W. C. Nitric oxide synthases: regulation and function. *European heart journal*. 2012. Vol. 33. № 7. P. 829-837. DOI: [10.1093/eurheartj/ehr304](https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehr304).

166. Alderton W. K., Cooper C. E., Knowles R. G. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochemical journal*. 2001. Vol. 357. №. 3. P. 593-615. DOI: [10.1042/bj3570593](https://doi.org/10.1042/bj3570593).

167. Ганчева О.В., Колесник Ю.М., Данукало М.В. Лінійні відмінності експресії нейрональної NO-синтази у структурі блакитної плями стовбура

мозку щурів. *Запоріжський медичний журнал*. 2016. № 2(95). С. 89–92. DOI: 10.14739/2310-1210.2016.2.69325.

168. Features of nitric oxide synthase isoforms expression in rat locus coeruleus neurons in experimental hypertension of various origins. O.V. Gancheva, M.V. Danukalo, O.V. Melnikova et al. / *Вісник Української медичної стоматологічної академії "Актуальні проблеми сучасної медицини"*. 2017. Т. 17, № 4 (60). Ч.2. С. 33–36.

169. Danukalo M. V., Hancheva O. V. Isoform profile of NOS enzyme in structure of rats' solitary-vagal complex in arterial hypertension of various origin. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т. 13, №1(32). С. 78–83. DOI: 10.14739/2409-2932.2020.1.198141.

170. Данукало М.В., Мироненко. С.Є., Ганчева О.В. Порівняльна характеристика експресії нейрональної NO-синтази у нейронах блакитної плями стовбуру мозку щурів-самців лінії Wistar та SHR. *Здобутки теоретичної медицини – в практику охорони здоров'я-2016* :тези доповідей всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів (м. Запоріжжя, 24-25 березня 2016 р.) Запоріжжя, 2016. С. 24–26.

171. Danukalo M.V. Gancheva O.V. Inducible nitric oxide synthase in neurons of locus coeruleus: normal expression and under experimental arterial hypertension. *LVI научная конференция студентов и молодых учёных с международным участием, посвященной 25-летию независимости Республики Казахстан*: материалы конференции LVI научной конференция студентов и молодых учёных с международным участием (м. Актобе, 27 апреля 2016 г) Актобе, 2016 С. 50–51.

172. Данукало М.В. Ганчева О.В. Особенности экспрессии нейрональной NO-синтазы в нейронах голубого пятна ствола мозга крыс с экспериментальной артериальной гипертензией. *Інновації в медицині*: тези доповідей 85-ої науково-практичної конференції студентів і молодих вчених із міжнародною участю (м. Івано-Франківськ, 24-25 березня 2016 р.) Івано-Франківськ, 2016. С. 226.

173. The roles of sensitization and neuroplasticity in the long-term regulation of blood pressure and hypertension / A. K. Johnson, Z. Zhang, S.C. Clayton et al. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2015. Vol. 309. № 11. P. R1309-R1325. DOI: [10.1152/ajpregu.00037.2015](https://doi.org/10.1152/ajpregu.00037.2015).

174. Chen C. L., Yang Y. R., Chiu T. H. Activation of rat locus coeruleus neuron GABAA receptors by propofol and its potentiation by pentobarbital or alphaxalone. *European journal of pharmacology*. 1999. Vol. 386. № 2-3. P. 201-210. DOI: [10.1016/S0014-2999\(99\)00750-5](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(99)00750-5).

175. Anxiolytic effects of a novel group II metabotropic glutamate receptor agonist (LY354740) in the fear-potentiated startle paradigm in humans / C. Grillon, J. Cordova, L.R. Levine et al. *Psychopharmacology*. 2003. Vol. 168. № 4. P. 446-454. DOI: [10.1007/s00213-003-1444-8](https://doi.org/10.1007/s00213-003-1444-8).

176. The brain renin–angiotensin system: location and physiological roles / M. J. McKinley, A.L. Albiston, A.M. Allen et al. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2003. Vol. 35. № 6. P. 901-918. DOI: [10.1016/S1357-2725\(02\)00306-0](https://doi.org/10.1016/S1357-2725(02)00306-0)

177. Hodes A., Lichtstein D. Natriuretic hormones in brain function. *Frontiers in endocrinology*. 2014. Vol. 5. P. 201-213. DOI: [10.3389/fendo.2014.00201](https://doi.org/10.3389/fendo.2014.00201).

178. Huber G., Schuster F., Raasch W. Brain renin-angiotensin system in the pathophysiology of cardiovascular diseases. *Pharmacological research*. 2017. Vol. 125. P. 72-90. DOI: [10.1016/j.phrs.2017.06.016](https://doi.org/10.1016/j.phrs.2017.06.016)

179. Cao L. H., Yang X. L. Natriuretic peptides and their receptors in the central nervous system. *Progress in neurobiology*. 2008. Vol. 84. № 3. P. 234-248. DOI: [10.1016/j.pneurobio.2007.12.003](https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2007.12.003).

180. Danukalo M.V., Gancheva O.V. Kadzharyan Y.V. Comparative characteristic of the brain natriuretic peptide and angiotensin II expression index in the brain stem locus coeruleus structure of rats with arterial hypertension of various origins *Патологія* 2019. Т. 16, № 2(46). С. 182–187. DOI: [10.14739/2310-1237.2019.2.177117](https://doi.org/10.14739/2310-1237.2019.2.177117)

181. Данукало М.В. Ганчева О.В. Характеристика экспрессии мозгового натрийуретического пептида в голубом пятне ствола мозга крыс со спонтанной артериальной гипертензией. *Сучасні аспекти медицини і фармації-2016*: тези доповідей всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю (м. Запоріжжя, 12-13 травня 2016 р). Запоріжжя, 2016. С. 17.

182. Ганчева О.В. Данукало М.В. Ангиотензин II в Locus coeruleus: характеристика показателей экспрессии у крыс при артериальной гипертензии различного генеза *Актуальні питання сучасної медицини і фармації* : матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів (м. Запоріжжя, 18-25 квітня 2018 р). Запоріжжя, 2018. С. 9–10.

183. Shiryayeva A., Danukalo M. Pathogenic features of angiotensin II and BNP content in the nucleus of the solitary tract with etiological different arterial hypertension. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації 2019*: тези доповідей науково-практичної конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів (м. Запоріжжя, 13-17 травня 2019 р). Запоріжжя, 2019.С. 29.

184. Ширяєва А. О., Данукало М. В. Патогенетичні особливості вмісту ангіотензину II та BNP в ядрі солітарного тракту при артеріальній гіпертензії різної етіології. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації* : матеріали збірника тез I науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (м. Харків, 15 травня 2019 р). Харків, 2019.С. 204–205.

185. Fox E. A., Powley T. L. Morphology of identified preganglionic neurons in the dorsal motor nucleus of the vagus. *Journal of Comparative Neurology*. 1992. Vol. 322. № 1. P. 79-98. DOI: 10.1002/cne.903220107.

186. Nelson D. O., Boulant J. A. Altered brainstem structure of spontaneously hypertensive (SHR) rats. *Brain research*. 1983. Vol. 261. № 1. P. 145-150. DOI: 10.1016/0006-8993(83)91294-5.

187. Svensson T. H., Thoren P. Brain noradrenergic neurons in the locus coeruleus: inhibition by blood volume load through vagal afferents. *Brain Research*. 1979. Vol. 172. № 1. P. 174-178. DOI: 10.1016/0006-8993(79)90908-9.
188. Vaziri N. D., Ni Z., Oveisi F. Upregulation of renal and vascular nitric oxide synthase in young spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. 1998. Vol. 31. № 6. P. 1248-1254. DOI: 10.1161/01.HYP.31.6.1248.
189. Paterson D. J. Cyclic nucleotides and the neural control of cardiac excitability in cardiovascular disease. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical*. 2015. Vol. 192. P. 45. DOI: 10.1016/j.autneu.2015.07.393.
190. Developmental regulation of inhibitory synaptic currents in the dorsal motor nucleus of the vagus in the rat / C. A. McMenemy, L. Anselmi, R. A. Travaglini et al. *Journal of neurophysiology*. 2016. Vol. 116. № 4. P. 1705-1714. DOI: 10.1152/jn.00249.2016.
191. Herring N., Zaman J. A. B., Paterson D. J. Natriuretic peptides like NO facilitate cardiac vagal neurotransmission and bradycardia via a cGMP pathway. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2001. Vol. 281. № 6. P. H2318-H2327. DOI: 10.1152/ajpheart.2001.281.6.H2318.
192. Nitric oxide as a retrograde messenger in the nucleus tractus solitarii of rats during hypoxia / H. Ogawa, A. Mizusawa, Y. Kikuchi et al. *The Journal of Physiology*. 1995. Vol. 486. №. 2. P. 495-504. DOI: 10.1113/jphysiol.1995.sp020828.
193. Effects of angiotensin II infusion on the expression and function of NAD (P) H oxidase and components of nitric oxide/cGMP signaling / H. Mollnau, M. Wendt, K. Szöcs et al. *Circulation research*. 2002. Vol. 90. №. 4. P. e58-e65. DOI: 10.1161/01.RES.0000012569.55432.02.
194. Enhanced nitric oxide generation from nitric oxide synthases as the cause of increased peroxynitrite formation during acute restraint stress: effects on carotid responsiveness to angiotensinergic stimuli in type-1 diabetic rats / J. D. Moreira, L. Pernomian, M.S. Gomes et al. *European Journal of Pharmacology*. 2016. Vol. 783. P. 11-22. DOI: 10.1016/j.ejphar.2016.04.050.

195. Diz D. I., Barnes K. L., Ferrario C. M. Hypotensive actions of microinjections of angiotensin II into the dorsal motor nucleus of the vagus. *Journal of hypertension. Supplement: official journal of the International Society of Hypertension*. 1984. Vol. 2. № 3. P. S53.

196. Boscan P., Allen A. M., Paton J. F. R. Baroreflex inhibition of cardiac sympathetic outflow is attenuated by angiotensin II in the nucleus of the solitary tract. *Neuroscience*. 2001. Vol. 103. № 1. P. 153-160. DOI: 10.1016/S0306-4522(00)00559-5.

197. Dupont A. G., Brouwers S. Brain angiotensin peptides regulate sympathetic tone and blood pressure. *Journal of hypertension*. 2010. Vol. 28. № 8. P. 1599-1610. DOI: 10.1097/HJH.0b013e32833af3b2.

198. B-type and C-type natriuretic peptides modify norepinephrine uptake in discrete encephalic nuclei of the rat / M. R. Fermepín, M.S. Vatta, L.G. Bianciotti et al. *Cellular and Molecular Neurobiology*. 2000. Vol. 20. № 6. P. 763-771. DOI: 10.1023/A:1007011127409.

Додаток А1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
Тернопільського державного медичного
університету МОЗ України
професор Шульгай А. Г.


«21» 02 2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції:** патогенетичні особливості балансу ізоформ синтази монооксиду азоту в структурі блакитної плями стовбуру мозку щурів при артеріальній гіпертензії різного генезу.
2. **Установа-розробник, автор:** Запорізький державний медичний університет МОЗ України, кафедра патологічної фізіології (69074, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26), проф. Ганчева О.В., асистент Данукало М.В.
3. **Джерела інформації:**
Gancheva O.V. Features of nitric oxide synthase isoforms expression in rat locus coeruleus neurons in experimental hypertension of various origins / O.V. Gancheva, M.V. Danukalo, O.V. Melnikova [et al.]. *Вісник Української медичної стоматологічної академії "Актуальні проблеми сучасної медицини"*. 2017. Т. 17. №. 4-2. С. 33-35.
4. **Де і коли впроваджено:** кафедра патологічної фізіології Тернопільського державного медичного університету МОЗ України, вересень-грудень 2018 року.
5. **Результати застосування методу:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри патологічної фізіології на практичних заняттях та лекціях з тем: «Атеросклероз, артеріальні гіпер- та гіпотензії» (обговорено на засіданні кафедри 18.02.2019 р., протокол № 2).
6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо патогенетичної ролі балансу синтаз монооксиду азоту в структурі блакитної плями стовбуру мозку при артеріальній гіпертензії різного генезу.
7. **Зауваження та пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження: професор кафедри патофізіології, д.мед.н., професор Хара Марія Романівна.

Завідувач кафедри загальної патофізіології
Тернопільського державного медичного
університету МОЗ України, д.мед.наук,
професор

 О.В. Денефіль

Додаток А2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Проректор з науково-педагогічної роботи

ДЗ «ДМА»

доцент Захаров С.В.

« 21 » 10 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ


1. **Найменування пропозицій:** патогенетичні особливості морфо-функціонального стану структур довгастого мозку (блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра) шурів при артеріальній гіпертензії різного генезу.
2. **Установа-розробник, автор:** Запорізький державний медичний університет МОЗ України, кафедра патологічної фізіології (69074, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26), проф. Ганчева О.В., асистент Данукало М.В.
3. **Джерела інформації:**
 Hancheva O. V., Danukalo M. V., Melnikova O. V. Morphometric and densitometric characteristics of the brainstem locus coeruleus neurons nuclei in rats with experimental arterial hypertension. *Патологія*, 2019. Т.16. № 1. С 4-8.
 Danukalo M. V., Hancheva O. V., Kadzharian Ye. V. Comparative characteristic of the brain natriuretic peptide and angiotensin II expression index in the structure of locus coeruleus of brain stem in rats with arterial hypertension of various origins. *Патологія*, 2019. Т.16. № 2. С 182-187.
 Danukalo M. V., Melnikova O. V. Arterial hypertension as a predictor of morpho-densitometric changes development in rats' solitary-vagal complex. *Journal of Education, Health and Sport*, 2019. Vol 9(10), P. 132-142.
4. **Де і коли введено:** кафедра патологічної фізіології ДЗ «ДМА», січень-вересень 2020 року.
5. **Результати застосування методу:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри патологічної фізіології на практичних заняттях та лекціях з тем: «Патофізіологія судин», «Патофізіологія нервової системи» (обговорено на засіданні кафедри 30.09.2020 р., протокол № 3).
6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо патогенетичної ролі морфо-функціонального стану структур довгастого мозку (блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра) шурів при артеріальній гіпертензії різного генезу.
7. **Зауваження та пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження:
 Завідуючий кафедрою патологічної фізіології
 Дніпропетровської медичної академії
 МОЗ України,
 доцент, к. мед. н.

Худяков О.С.

Додаток АЗ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор з науково-педагогічної
роботи Української медичної
стоматологічної академії,
професор  Мелник В.М.

« 22 » _____ 2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції:** патогенетичні особливості балансу ізоформ синтази монооксиду азоту в структурі блакитної плями стовбуру мозку щурів при артеріальній гіпертензії різного генезу.
2. **Установа-розробник, автор:** Запорізький державний медичний університет МОЗ України, кафедра патологічної фізіології (69074, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26), проф. Ганчева О.В., асистент Данукало М.В.
3. **Джерела інформації:**
Gancheva O.V. Features of nitric oxide synthase isoforms expression in rat locus coeruleus neurons in experimental hypertension of various origins / O.V. Gancheva, M.V. Danukalo, O.V. Melnikova [et al.]. *Вісник Української медичної стоматологічної академії "Актуальні проблеми сучасної медицини"*. 2017. Т. 17. №. 4-2. С. 33-35.
4. **Де і коли введено:** кафедра патофізіології Української медичної стоматологічної академії МОЗ України, квітень-грудень 2018 року.
5. **Результати застосування методу:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри патофізіології на практичних заняттях та лекціях з розділу: «Патофізіологія серцево-судинної системи». Обговорено на засіданні кафедри 21.03.2019 р., протокол №8
6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо патогенетичної ролі балансу синтаз монооксиду азоту в структурі блакитної плями стовбуру мозку при артеріальній гіпертензії різного генезу.
7. **Зауваження та пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патофізіології
Української медичної стоматологічної академії
МОЗ України, професор



В. О. Костенко

Додаток А4

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Професор з наукової роботи Запорізького
 державного медичного університету
 МОЗ України,
 професор Тумяський В. О.
 2020 р.
 28.09.2020



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції:** патогенетичні особливості морфо-функціонального стану структур довгастого мозку (блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра) щурів при артеріальній гіпертензії різного генезу.
2. **Установа-розробник, автор:** Запорізький державний медичний університет МОЗ України, кафедра патологічної фізіології (69074, м. Запоріжжя, пр.. Маяковського, 26), проф. Ганчева О.В., асистент Данукало М.В.
3. **Джерела інформації:**
 Hancheva O. V., Danukalo M. V., Melnikova O. V. Morphometric and densitometric characteristics of the brainstem locus coeruleus neurons nuclei in rats with experimental arterial hypertension. *Патологія*, 2019. Т.16. № 1. С 4-8.
 Danukalo M. V., Hancheva O. V., Kadzharian Ye. V. Comparative characteristic of the brain natriuretic peptide and angiotensin II expression index in the structure of locus coeruleus of brain stem in rats with arterial hypertension of various origins. *Патологія*, 2019. Т.16. № 2. С 182-187.
 Danukalo M. V., Melnikova O. V. Arterial hypertension as a predictor of morpho-densitometric changes development in rats' solitary-vagal complex. *Journal of Education, Health and Sport*, 2019. Vol 9(10). P. 132-142.
4. **Де і коли впроваджено:** навчальний медико-лабораторний центр Запорізького державного медичного університету МОЗ України, січень-червень 2020 року.
5. **Результати застосування методу:** матеріали дослідження впроваджено у роботу навчального медико-лабораторного центру.
6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** використання результатів проведених досліджень у науковому процесі дозволяє розширити методики для оцінки патогенетичної ролі особливості морфо-функціонального стану структур довгастого мозку (блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра) щурів при артеріальній гіпертензії різного генезу.
7. **Зауваження та пропозиції:** Не вносилися.

Керівник навчального медико-лабораторного центру
 Запорізького державного медичного
 університету МОЗ України,
 професор

Абрамов А.В.

Додаток А5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
Запорізького державного медичного
університету МОЗ України
професор Візір Вадим Анатолійович



28 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції:** патогенетичні особливості морфо-функціонального стану структур довгастого мозку (блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра) шурів при артеріальній гіпертензії різного генезу.
2. **Установа-розробник, автор:** Запорізький державний медичний університет МОЗ України, кафедра патологічної фізіології (69074, м. Запоріжжя, пр.. Маяковського, 26), проф. Ганчева О.В., асистент Данукало М.В.
3. **Джерела інформації:**
 Hancheva O. V., Danukalo M. V., Melnikova O. V. Morphometric and densitometric characteristics of the brainstem locus coeruleus neurons nuclei in rats with experimental arterial hypertension. *Патологія*, 2019. Т.16. № 1. С 4-8.
 Danukalo M. V., Hancheva O. V., Kadzharian Ye. V. Comparative characteristic of the brain natriuretic peptide and angiotensin II expression index in the structure of locus coeruleus of brain stem in rats with arterial hypertension of various origins. *Патологія*, 2019. Т.16. № 2. С 182-187.
 Danukalo M. V., Melnikova O. V. Arterial hypertension as a predictor of morpho-densitometric changes development in rats' solitary-vagal complex. *Journal of Education, Health and Sport*, 2019. Vol 9(10). P. 132-142.
4. **Де і коли введено:** кафедра патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету МОЗ України, січень-червень 2020 року.
5. **Результати застосування методу:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри патологічної фізіології на практичних заняттях та лекціях з тем: «Патофізіологія кровоносних судин. Артеріальна гіпертензія і гіпотензія: види, етіологія, патогенез, механізми розвитку клінічних і лабораторних ознак і ускладнень. Гіпертонічна хвороба», «Патофізіологія нервової системи. Порушення рухової і чутливої функції нервової системи, вегетативної нервової системи і вищої нервової діяльності» (обговорено на засіданні кафедри 26.08.2020 р., протокол № 1).
6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо патогенетичної ролі особливості морфо-функціонального стану структур довгастого мозку (блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра) шурів при артеріальній гіпертензії різного генезу.
7. **Зауваження та пропозиції:** Не вносилися.

Завідуюча кафедрою патологічної фізіології
Запорізького державного медичного
університету МОЗ України,
професор

О.В. Ганчева

Додаток А6

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
Харківського національного
медичного університету МОЗ України
д. мед. н., професор З.Д. Марковський

« 21 » _____ 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції:** патогенетичні особливості морфо-функціонального стану структур довгастого мозку (блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра) щурів при артеріальній гіпертензії різного генезу.
- 2. Установа-розробник, автор:** Запорізький державний медичний університет МОЗ України, кафедра патологічної фізіології (69074, м. Запоріжжя, пр., Маяковського, 26), проф. Ганчева О.В., асистент Данукало М.В.
- 3. Джерела інформації:**
 Hancheva O. V., Danukalo M. V., Melnikova O. V. Morphometric and densitometric characteristics of the brainstem locus coeruleus neurons nuclei in rats with experimental arterial hypertension. *Патологія*, 2019. Т.16. № 1. С 4-8.
 Danukalo M. V., Hancheva O. V., Kadzharian Ye. V. Comparative characteristic of the brain natriuretic peptide and angiotensin II expression index in the structure of locus coeruleus of brain stem in rats with arterial hypertension of various origins. *Патологія*, 2019. Т.16. № 2. С 182-187.
 Danukalo M. V., Melnikova O. V. Arterial hypertension as a predictor of morpho-densitometric changes development in rats' solitary-vagal complex. *Journal of Education, Health and Sport*, 2019, Vol 9(10), P. 132-142.
- 4. Де і коли введено:** кафедра патологічної фізіології ім. Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету МОЗ України, січень-червень 2020 року.
- 5. Результати застосування методу:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології на практичних заняттях та лекціях з тем: «Патологія судинного тонуусу: артеріальні гіпер- та гіпотензії, атеросклероз», «Патологічна фізіологія нервової системи» (обговорено на засіданні кафедри 26.05.2020 р., протокол № 15).
- 6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо патогенетичної ролі особливості морфо-функціонального стану структур довгастого мозку (блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра) щурів при артеріальній гіпертензії різного генезу.
- 7. Зауваження та пропозиції:** Не вносилися.

Завідувачка кафедри патологічної фізіології
ім. Д.О. Альперна
Харківського національного медичного
університету МОЗ України,
професорка



Ніколасва О.В.

Додаток А7



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції:** патогенетичні особливості морфо-функціонального стану структур довгастого мозку (блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра) щурів при артеріальній гіпертензії різного генезу.
2. **Установа-розробник, автор:** Запорізький державний медичний університет МОЗ України, кафедра патологічної фізіології (69074, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26), проф. Ганчева О.В., асистент Данукало М.В.
3. **Джерела інформації:**
Hancheva O. V., Danukalo M. V., Melnikova O. V. Morphometric and densitometric characteristics of the brainstem locus coeruleus neurons nuclei in rats with experimental arterial hypertension. *Патологія*, 2019, Т.16. № 1. С 4-8.
Danukalo M. V., Hancheva O. V., Kadzharian Ye. V. Comparative characteristic of the brain natriuretic peptide and angiotensin II expression index in the structure of locus coeruleus of brain stem in rats with arterial hypertension of various origins. *Патологія*, 2019, Т.16. № 2. С 182-187.
Danukalo M. V., Melnikova O. V. Arterial hypertension as a predictor of morpho-densitometric changes development in rats' solitary-vagal complex. *Journal of Education, Health and Sport*, 2019, Vol 9(10). P. 132-142.
4. **Де і коли введено:** кафедра загальної та клінічної патологічної фізіології Одеського національного медичного університету МОЗ України, січень-червень 2020 року.
5. **Результати застосування методу:** матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології на практичних заняттях та лекціях з тем: «Патологічна фізіологія системного кровообігу», «Розлади кровообігу, пов'язані з порушенням функції судин. Етіологія та патогенез артеріальної гіпертензії та гіпотензії» (обговорено на засіданні кафедри 28 серпня 2020 р., протокол № 1).
6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо патогенетичної ролі особливості морфо-функціонального стану структур довгастого мозку (блакитної плями, ядра солітарного тракту та дорсального моторного ядра) щурів при артеріальній гіпертензії різного генезу.
7. **Зауваження та пропозиції:** Не вносилися.

Відповідальний за впровадження:

Доцент кафедри загальної та клінічної
патологічної фізіології ім. В.В. Підвисоцького
Одеського національного медичного університету,
доцент

Поспелов О.М.

Додаток Б

Наукові праці, опубліковані за темою дисертації

1. Ганчева О.В., Колесник Ю.М., Данукало М.В. Лінійні відмінності експресії нейрональної NO-синтази у структурі блакитної плями стовбура мозку щурів. *Запорозький медичний журнал*. 2016. № 2(95). С. 89–92. DOI: 10.14739/2310-1210.2016.2.69325. (Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічне дослідження та статистичну обробку результатів).
2. Features of nitric oxide synthase isoforms expression in rat locus coeruleus neurons in experimental hypertension of various origins / O.V. Gancheva, M.V. Danukalo, O.V. Melnikova et al. *Вісник Української медичної стоматологічної академії "Актуальні проблеми сучасної медицини"*. 2017. Т. 17, № 4 (60). Ч.2. С. 33–36. (Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічне дослідження та статистичну обробку результатів).
3. Hancheva O. V., Danukalo M. V., Melnikova O. V. Morphometric and densitometric characteristics of the brainstem locus coeruleus neurons nuclei in rats with experimental arterial hypertension. *Патологія*. 2019. Т. 16, № 1(45). С. 4–8. DOI: 10.14739/2310-1237.2019.1.166145. (Дисертант виконав набір матеріалу, морфоденситометричне дослідження та статистичну обробку результатів).
4. Danukalo M.V., Gancheva O.V. Kadzharyan Y.V. Comparative characteristic of the brain natriuretic peptide and angiotensin II expression index in the brain stem locus coeruleus structure of rats with arterial hypertension of various origins *Патологія* 2019. Т. 16, № 2(46). С. 182–187. DOI: 10.14739/2310-1237.2019.2.177117. (Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічне дослідження та статистичну обробку результатів).
5. Danukalo M. V. Melnikova O. V. Arterial hypertension as a predictor of morpho- densitometric changes development in rats` solitary-vagal complex. *Journal of Education, Health and Sport*. 2019. Vol. 9(10). P. 132–142. DOI: 10.5281/zenodo.3497436. (Дисертант виконав набір матеріалу,

морфоденситометричне дослідження та статистичну обробку результатів).

6. Danukalo M. V., Hancheva O. V. Isoform profile of NOS enzyme in structure of rats' solitary-vagal complex in arterial hypertension of various origin. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т. 13, №1(32). С. 78–83. DOI: 10.14739/2409-2932.2020.1.198141. *(Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічне дослідження та статистичну обробку результатів).*

7. Данукало М.В., Мироненко. С.Є., Ганчева О.В. Порівняльна характеристика експресії нейрональної NO-синтази у нейронах блакитної плями стовбуру мозку щурів-самців лінії Wistar та SHR *Здобутки теоретичної медицини – в практику охорони здоров'я-2016: тези доповідей всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів (м. Запоріжжя, 24-25 березня 2016 р.)* Запоріжжя, 2016. С. 24–26. *(Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічне дослідження та статистичну обробку результатів).*

8. Danukalo M.V. Gancheva O.V. Inducible nitric oxide synthase in neurons of locus coeruleus: normal expression and under experimental arterial hypertension. *LVI научная конференция студентов и молодых учёных с международным участием, посвященной 25-летию независимости Республики Казахстан: материалы конференции LVI научной конференция студентов и молодых учёных с международным участием (г. Актобе, 27 апреля 2016 г)* Актобе, 2016 С. 50–51. *(Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічне дослідження та статистичну обробку результатів).*

9. Данукало М.В. Ганчева О.В. Характеристика экспрессии мозгового натрийуретического пептида в голубом пятне ствола мозга крыс со спонтанной артериальной гипертензией. *Сучасні аспекти медицини і фармації-2016: тези доповідей всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю (м. Запоріжжя, 12-13 травня 2016 р.)*. Запоріжжя, 2016. С. 17. *(Дисертант виконав*

набір матеріалу, імуногістохімічне дослідження та статистичну обробку результатів).

10. Данукало М.В. Ганчева О.В. Особенности экспрессии нейрональной NO-синтазы в нейронах голубого пятна ствола мозга крыс с экспериментальной артериальной гипертензией. *Інновації в медицині: тези доповідей 85-ої науково-практичної конференції студентів і молодих вчених із міжнародною участю* (м. Івано-Франківськ, 24-25 березня 2016 р.) Івано-Франківськ, 2016. С. 226. *(Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічне дослідження та статистичну обробку результатів).*

11. Данукало М.В. Ганчева О.В. Морфо-функциональные характеристики нейронов дорсального комплекса N. Vagus при разных видах артериальной гипертензии. *Сучасні аспекти медицини і фармації-2017: тези доповідей всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю* (м. Запоріжжя, 11-12 травня 2017 р). Запоріжжя, 2017. С. 18. *(Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічне та морфоденситометричне дослідження та статистичну обробку результатів).*

12. Ганчева О.В. Данукало М.В. Ангиотензин II в Locus coeruleus: характеристика показателей экспрессии у крыс при артериальной гипертензии различного генеза *Актуальні питання сучасної медицини і фармації: матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів* (м. Запоріжжя, 18-25 квітня 2018 р). Запоріжжя, 2018. С. 9–10. *(Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічне дослідження та статистичну обробку результатів).*

13. Shiryayeva A., Danukalo M. Pathogenic features of angiotensin II and BNP content in the nucleus of the solitary tract with etiological different arterial hypertension. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації 2019: тези доповідей науково-практичної конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів* (м. Запоріжжя, 13-17 травня 2019 р). Запоріжжя, 2019. С.

29. *(Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічне дослідження та статистичну обробку результатів).*

14. Ширяєва А. О., Данукало М. В. Патогенетичні особливості вмісту ангіотензину II та BNP в ядрі солітарного тракту при артеріальній гіпертензії різної етіології. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації: матеріали збірника тез I науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (м. Харків, 15 травня 2019 р). Харків, 2019. С. 204–205. (Дисертант виконав набір матеріалу, імуногістохімічне дослідження та статистичну обробку результатів).*

Додаток В

Відомості про апробацію результатів дисертації

1. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів «Здобутки теоретичної медицини – в практику охорони здоров'я-2016» м. Запоріжжя, 24-25 березня 2016 р (публікація тез),
2. LVI научная конференция студентов и молодых учёных с международным участием посвященная 25-летию независимости Республики Казахстан, г. Актобе, 27 апреля 2016 г (публікація тез),
3. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації-2016» м. Запоріжжя, 12-13 травня 2016 р (усна доповідь, публікація тез),
4. 85-а науково-практична конференція студентів і молодих вчених із міжнародною участю «Інновації в медицині» м. Івано-Франківськ, 24-25 березня 2016 р (публікація тез),
5. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації-2017» м. Запоріжжя, 11-12 травня 2017 р (публікація тез),
6. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів «Актуальні питання сучасної медицини і фармації» м. Запоріжжя, 18-25 квітня 2018 р (публікація тез),
7. Науково-практична конференція з міжнародною участю молодих вчених та студентів «Актуальні питання сучасної медицини і фармації 2019» м. Запоріжжя, 13-17 травня 2019 р (усна доповідь, публікація тез),
8. I науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» м. Харків, 15 травня 2019 р (публікація тез).