МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ЖУЛІКОВА МАРИНА ВАЛЕНТИНІВНА

УДК: 618.11-006.2-008.6-085.832.9-039.71-092.9(043.3)

ДИСЕРТАЦІЯ

ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ ПЕРЕРИВЧАСТОГО ХОЛОДОВОГО ВПЛИВУ У ПОПЕРЕДЖЕННІ РОЗВИТКУ СИНДРОМУ ПОЛІКІСТОЗНИХ ЯЄЧНИКІВ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

за спеціальністю 222 «Медицина, галузь знань 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.
_____ Жулікова М.В.

Науковий керівник: Мирошниченко Михайло Сергійович, доктор медичних наук, професор.

Харків – 2026

АНОТАЦІЯ

Жулікова М.В. Патогенетичне обґрунтування застосування переривчастого холодового впливу у попередженні розвитку синдрому полікістозних яєчників в експерименті. Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я», за спеціальністю 222 «Медицина». – Харківський національний медичний університет МОЗ України, Харків, 2026.

У дисертаційній роботі представлено теоретичне узагальнення та вирішення актуального наукового завдання сучасної клінічної патофізіології, що полягає у визначенні патогенетичних механізмів переривчастого холодового впливу, які лежать в основі попередження розвитку експериментального дегідроепіандростерон-індукованого (ДГЕА-індукованого) синдрому полікістозних яєчників (СПКЯ).

Дисертаційне дослідження було проведено в чотири етапи.

На першому етапі було проведено експеримент на 40 статевонезрілих самицях щурів популяції WAG віком 27 днів та масою тіла 80-90 г. Тривалість експерименту становила 25 діб. Під час експерименту всі тварини були розподілені на 5 груп (по 8 тварин у кожній групі). До групи 1 було віднесено інтактних щурів. До групи 2 увійшли щури, яким щоденно протягом 25 діб підшкірно вводили 0,2 мл очищеної та стерилізованої оливкової олії. До групи 3 було віднесено тварин, які піддавались протягом 25 діб переривчастому холодовому впливу, що моделювали шляхом щоденного витримування тварин протягом 4 годин у камері зі світловим режимом і температурою + 4°С. До групи 4 було віднесено щурів, яким моделювали СПКЯ шляхом щоденного протягом 25 діб підшкірного введення ДГЕА у дозі 8 мг на кожні 100 г маси тіла тварини, розчиненого в 0,2 мл очищеної та стерилізованої оливкової олії. До групи 5 було віднесено щурів, яким на тлі переривчастого холодового впливу вводили ДГЕА.

На другому етапі було проведено дослідження крові щурів груп 1-5 з метою визначення інтенсивності генерації активних форм кисню (АФК) лейкоцитами периферичної крові, їх життєздатності та видів клітинної смерті; інтенсивності генерації АФК еритроцитами та ериптозу; активності супероксиддисмутази (СОД) та вмісту церулоплазміну; вмісту показників вуглеводного (глюкоза, інсулін, індекс HOMA) та ліпідного (холестерол, ліпопротеїни низької щільності (ЛПНЩ), ліпопротеїни високої щільності (ЛПВЩ), ліпопротеїни дуже низької щільності (ЛПДНЩ), триацилгліцероли (ТАГ)) обмінів; гормонального профілю за вмістом лептину, адипонектину, естрадіолу, кортизолу, дегідроепіандростерон-сульфату (ДГЕАС), загального і вільного тестостерону.

На третьому етапі було проведено морфологічне дослідження яєчників, наднирникових залоз, жирової тканини з міжлопаткової ділянки та паранефральної клітковини з використанням макроскопічних, гістологічних, імуногістохімічних та морфометричних методів.

На четвертому етапі було проведено аналіз одержаних біохімічних і морфологічних показників та їх статистична обробка.

В результаті проведеного дослідження було відмічено, що переривчастий холодовий вплив на тлі введення ДГЕА нормалізував продукцію АФК лейкоцитами, про що свідчило значення інтенсивності флюоресценції дихлорфлуоресцеїну (ДХФ) в лейкоцитах периферичної крові, яке досягало контрольного показника. Переривчастий холодовий вплив на тлі введення ДГЕА гальмував апоптоз лейкоцитів та нормалізував їх життєздатність (кількість лейкоцитів, що знаходилися на початковій стадії апоптозу, зменшувалася ($p<0,05$) на 70,3% порівняно зі щурами з СПКЯ та дорівнювала контрольному показнику; кількість життєздатних лейкоцитів збільшувалася ($p<0,05$) на 8,9% порівняно зі щурами з СПКЯ та відповідала нормі).

Переривчастий холодовий вплив на тлі введення ДГЕА нормалізував продукція АФК в еритроцитах, про що свідчило зменшення ($p<0,05$) на 35,4% середньої інтенсивності флюоресценції ДХФ в еритроцитах порівняно зі щурами з СПКЯ та відсутність ($p>0,05$) різниці порівняно з контролем. Переривчастий

холодовий вплив на тлі введення ДГЕА позитивно впливав на інтенсивність ериптозу (кількість анексин V^+-клітин зменшувалася ($p<0,05$) на 29,7 % порівняно зі щурами з СПКЯ та не відрізнялася ($p>0,05$) від контрольного показника; середня інтенсивність флюоресценції анексин V-FITS у анексин V^+-клітинах зменшувалася ($p<0,05$) на 41,3% порівняно зі щурами з СПКЯ та на 31,6% порівняно з контролем).

У щурів на тлі введення ДГЕА за умов переривчастого холодового впливу активність СОД зменшувалася ($p<0,05$) на 29,9 % порівняно зі щурами з СПКЯ та була збільшеною ($p<0,05$) на 84,2 % порівняно з контролем. Вміст церулоплазміну зменшувався ($p<0,05$) на 59,2 % порівняно зі щурами з СПКЯ та не відрізнявся ($p>0,05$) від контрольного показника.

Переривчастий холод на тлі введення ДГЕА позитивно впливав на показники вуглеводного та ліпідного обмінів. Так, вміст глюкози, інсуліну, індекс HOMA зменшувалися ($p<0,05$) порівняно зі щурами з СПКЯ, відповідно, на 22 %, 69,1 %, 72,6 %, проте залишалися збільшеними ($p<0,05$) порівняно з контролем, відповідно, на 21,9%, 16,6% та 52,8 %. Ліпідний обмін характеризувався порівняно зі щурами з СПКЯ збільшеним ($p<0,05$) вмістом у крові холестеролу на 16,5 %, ЛПВЩ на 59,3 %, ЛПНЩ на 33,3 % та зниженим ($p<0,05$) коефіцієнтом атерогенності на 9,7 %, а порівняно з контролем збільшеним ($p<0,05$) вмістом ЛПНЩ на 91,3% і холестеролу на 16,5 %, зменшеним ($p<0,05$) вмістом ЛПДНЩ на 50 % і ЛПВЩ на 20,3 %, збільшеним ($p<0,05$) коефіцієнтом атерогенності на 55,5 %.

За умов переривчастого холодового впливу на тлі введення ДГЕА відновлювався баланс гормонів яєчників та надниркових залоз. Вміст у крові естрадіолу відповідав фізіологічній нормі. Вміст ДГЕАС збільшувався ($p<0,05$) на 63 % порівняно зі щурами з СПКЯ та зменшувався ($p<0,05$) на 26,1 % порівняно з контрольним показником. Вміст загального тестостерону відповідав фізіологічній нормі. Вміст вільного тестостерону знижувався ($p<0,05$) на 50,9 % порівняно зі щурами з СПКЯ, знижувався ($p<0,05$) на 27,8 % порівняно з показником групи

контролю. Вміст кортизолу збільшувався ($p<0,05$) на 231,5 % порівняно зі щурами з СПКЯ та зменшувався ($p<0,05$) на 16,5 % порівняно з контролем.

При введенні щурам ДГЕА на тлі переривчастого холодового впливу відновлювався морфологічний стан яєчників. Відносна маса яєчників та їх макроскопічні характеристики поверхні були подібні до групи контролю. Товщина білкової оболонки; питомий об'єм примордіальних, зростаючих та атретичних фолікулів; питомий об'єм строми не відрізнялися ($p>0,05$) від контрольних показників. Альтеративні зміни у фолікулярному епітелії не були виявлені. Кісти не реєструвалися. З'являлися жовті тіла, питомий об'єм яких порівняно з контролем був меншим ($p<0,05$) на 79,7%. Товщина шару текальних клітин третинних фолікулів зменшувалася ($p<0,05$) на 21,2 % порівняно зі щурами з СПКЯ, проте була збільшеною ($p<0,05$) на 24,7 % порівняно з контролем.

При введенні щурам ДГЕА за умов переривчастого холодового впливу відносна маса надниркових залоз зменшувалася ($p<0,05$) на 50 % порівняно зі щурами з СПКЯ та відповідала нормі. Товщина кіркової та мозкової речовин зменшувалася ($p<0,05$), відповідно, на 14,1 % і 7,7 % порівняно зі щурами з СПКЯ, проте порівняно з контролем товщина кіркової речовини зменшувалася ($p<0,05$) на 9,8 % та товщина мозкової речовини збільшувалася ($p<0,05$) на 19,2 %. Морфологічні особливості клубочкової зони надниркових залоз відповідали нормі. Зменшувався ступінь вираженості активації морфофункціонального стану ендокриноцитів та зникали їх альтеративні зміни в пучковій зоні, товщина якої збільшувалася ($p<0,05$) на 23,5 % порівняно зі щурами з СПКЯ, проте зменшувалася ($p<0,05$) на 13,7 % порівняно з контролем. У сітчастій зоні зменшувався ступінь вираженості активації морфофункціонального стану ендокриноцитів та зникали їх альтеративні зміни, її товщина зменшувалася ($p<0,05$) на 68,2 % порівняно зі щурами з СПКЯ та відповідала фізіологічній нормі. У мозковій речовині зменшувалися ознаки активації морфофункціонального стану ендокриноцитів порівняно зі щурами з СПКЯ.

За умов переривчастого холодового впливу на тлі введення ДГЕА вміст у крові адипонектину нормалізувався, а вміст лептину збільшувався порівняно з

контролем та щурами з СПКЯ. Бура жирова тканина з міжлопаткової ділянки характеризувалася максимально вираженою активацією, а жирова тканина з паранефральної клітковини – трансформацією білої жирової тканини у буру жирову тканину та максимально вираженою активацією бурої жирової тканини. У стромі бурої жирової тканини з міжлопаткової ділянки та паранефральної клітковини переривчастий холодовий вплив на тлі введення ДГЕА зменшував ступінь вираженості запальної клітинної інфільтрації, що була представлена переважно макрофагами, моноцитами, лімфоцитами та нечисленними нейтрофільними лейкоцитами. Серед $CD\,68^{+}$-макрофагів порівняно зі щурами з СПКЯ зменшувалася абсолютна кількість М1 макрофагів та збільшувалася абсолютна кількість М2 макрофагів, що відновлювало характерний для групи контролю баланс між фенотипами макрофагів, проте порівняно з контролем кількість М1 макрофагів залишалася більшою, а кількість М2 макрофагів меншою.

Таким чином, шляхом дослідження інтенсивності генерації АФК лейкоцитами та еритроцитами, життєздатності та видів смерті лейкоцитів, інтенсивності ериптозу, стану антиоксидантного захисту, особливостей вуглеводного та ліпідного обмінів, морфофункціональних особливостей яєчників, надниркових залоз та жирової тканини був доведений позитивний ефект переривчастого холодового впливу у попередженні розвитку СПКЯ. Одержані результати дозволяють рекомендувати застосовувати переривчастий холодовий вплив у практичній охороні здоров'я, що знизить показники захворюваності жінок на СПКЯ та покращить їх якість життя.

Під час проведеного дисертаційного дослідження була розроблена методика моделювання СПКЯ, що розширює наявний в експериментальній медицині арсенал методів моделювання зазначеної патології. Використання авторської методики дозволяє вивчити етіопатогенез СПКЯ, удосконалити відомі та розробити нові стратегії лікування та превенції досліджуваної патології.

Одержані здобувачкою результати були впроваджені в освітній процес та науково-дослідну роботу на кафедрі загальної та клінічної патофізіології імені

Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету; кафедрі акушерства та гінекології № 2 Харківського національного медичного університету; кафедрі загальної та клінічної патологічної фізіології імені В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету; кафедрі клінічної патології та судової медицини Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика; кафедрі патофізіології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. Також одержані результати були впроваджені в роботу відділу холодової адаптації Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук (НАН) України.

Ключові слова: синдром полікістозних яєчників, переривчастий холодовий вплив, патогенетичні механізми, апоптоз, оксидантно-антиоксидантна система, життєздатність лейкоцитів, ериптоз, ліпідний обмін, вуглеводний обмін, гормональний профіль, запалення, макрофаги, яєчники, надниркові залози, жирова тканина.

SUMMARY

Zhulikova M.V. Pathogenetic substantiation of the use of intermittent cold exposure for the prevention of polycystic ovary syndrome in an experiment. Qualification scientific work as a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 22 "Health Care", specialty 222 "Medicine". Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2025.

The dissertation presents a theoretical generalization and solution to a relevant scientific problem in modern clinical pathophysiology, which consists in elucidating the pathogenetic mechanisms of intermittent cold exposure underlying the prevention of the development of experimental dehydroepiandrosterone-induced (DHEA-induced) polycystic ovary syndrome (PCOS).

The dissertation research was conducted in four stages.

At the first stage, an experiment was carried out on 40 sexually immature female WAG rats aged 27 days with a body weight of 80-90 g. The duration of the experiment was 25 days. During the experiment, all animals were divided into five groups (8 animals per group). Group 1 consisted of intact rats. Group 2 included rats that received daily subcutaneous injections of 0.2 ml of purified and sterilized olive oil for 25 days. Group 3 comprised animals exposed to intermittent cold exposure for 25 days, which was modeled by daily placement of the animals for 4 hours in a chamber with a controlled light regime and a temperature of +4°C. Group 4 included rats in which polycystic ovary syndrome was modeled by daily subcutaneous administration of dehydroepiandrosterone (DHEA) for 25 days at a dose of 8 mg per 100 g of body weight, dissolved in 0.2 ml of purified and sterilized olive oil. Group 5 consisted of rats that received DHEA administration on the background of intermittent cold exposure.

At the second stage, blood samples from rats of groups 1-5 were examined in order to determine the intensity of reactive oxygen species (ROS) generation by peripheral blood leukocytes, their viability and types of death; the intensity of ROS

generation by erythrocytes and eryptosis; the activity of superoxide dismutase (SOD) and level of ceruloplasmin; indicators of carbohydrate metabolism (glucose, insulin, HOMA index) and lipid metabolism (cholesterol, low-density lipoproteins (LDL), high-density lipoproteins (HDL), very low-density lipoproteins (VLDL), triacylglycerols (TAG)); as well as the hormonal profile by content of leptin, adiponectin, estradiol, cortisol, dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS), total testosterone, and free testosterone.

At the third stage, a morphological examination of the ovaries, adrenal glands, adipose tissue from the interscapular region, and paranephral tissue was performed using macroscopic, histological, immunohistochemical, and morphometric methods.

At the fourth stage, the obtained biochemical and morphological parameters were analyzed and subjected to statistical processing.

As a result of the study, it was found that intermittent cold exposure against the background of DHEA administration normalized ROS production by leukocytes, as evidenced by the fluorescence intensity value of dichlorofluorescein (DCF) in peripheral blood leukocytes, which reached the control level. Intermittent cold exposure in combination with DHEA administration inhibited leukocyte apoptosis and normalized their viability (the number of leukocytes at the early stage of apoptosis decreased ($p<0.05$) by 70.3 % compared with rats with PCOS and corresponded to the control value; the number of viable leukocytes increased ($p<0.05$) by 8.9 % compared with rats with PCOS and reached normal values.

Intermittent cold exposure against the background of DHEA administration normalized ROS production in erythrocytes, as evidenced by a decrease ($p<0.05$) of 35.4% in the mean fluorescence intensity of DCF in erythrocytes compared with rats with PCOS and by the absence of a difference ($p>0.05$) compared with the control. Intermittent cold exposure combined with DHEA administration had a beneficial effect on the intensity of eryptosis: the number of annexin V^+-cells decreased ($p < 0.05$) by 29.7% compared with rats with PCOS and did not differ ($p>0.05$) from the control value; the mean fluorescence intensity of annexin V-FITC in annexin V^+-cells

decreased ($p<0.05$) by 41.3% compared with rats with PCOS and by 31.6% compared with the control.

In rats receiving DHEA under conditions of intermittent cold exposure, the activity of SOD decreased ($p<0.05$) by 29.9% compared with rats with PCOS and was increased ($p<0.05$) by 84.2% compared with the control. The level of ceruloplasmin decreased ($p<0.05$) by 59.2% compared with rats with PCOS and did not differ ($p>0.05$) from the control value.

Intermittent cold exposure against the background of DHEA administration exerted a beneficial effect on carbohydrate and lipid metabolism. Specifically, the levels of glucose and insulin, as well as the HOMA index, decreased ($p<0.05$) compared with rats with PCOS by 22.0%, 69.1%, and 72.6%, respectively, but remained elevated ($p<0.05$) compared with the control by 21.9%, 16.6%, and 52.8%, respectively. Lipid metabolism, compared with rats with PCOS, was characterized by increased ($p<0.05$) levels of cholesterol by 16.5%, HDL by 59.3%, and LDL by 33.3%, along with a decreased ($p<0.05$) atherogenic coefficient by 9.7%. In comparison with the control, lipid metabolism was characterized by increased ($p<0.05$) levels of LDL by 91.3% and cholesterol by 16.5%, decreased ($p<0.05$) levels of VLDL by 50.0% and HDL by 20.3%, and an increased ($p<0.05$) atherogenic coefficient by 55.5%.

Under conditions of intermittent cold exposure against the background of DHEA administration, the balance of ovarian and adrenal hormones was restored. The blood level of estradiol corresponded to physiological norm. The level of DHEAS increased ($p<0.05$) by 63.0% compared with rats with PCOS and decreased ($p<0.05$) by 26.1% compared with the control. The level of total testosterone corresponded to physiological norm. The level of free testosterone decreased ($p<0.05$) by 50.9% compared with rats with PCOS and decreased ($p<0.05$) by 27.8% compared with the control group. The level of cortisol increased ($p<0.05$) by 231.5% compared with rats with PCOS and decreased ($p<0.05$) by 16.5% compared with the control.

Administration of DHEA to rats under conditions of intermittent cold exposure led to restoration of ovarian morphology. The relative ovarian weight and macroscopic surface characteristics were similar to those of the control group. The thickness of the

tunica albuginea; the specific volume of primordial, growing, and atretic follicles; and the specific volume of the stroma did not differ ($p>0.05$) from control values. No alterative changes in the follicular epithelium were detected. Ovarian cysts were not observed. Corpora lutea appeared; however, their specific volume was lower ($p<0.05$) by 79.7% compared with the control. The thickness of the thecal cell layer of tertiary follicles decreased ($p<0.05$) by 21.2% compared with rats with PCOS, but was increased ($p<0.05$) by 24.7% compared with the control.

Administration of DHEA to rats under conditions of intermittent cold exposure resulted in a decrease ($p<0.05$) in the relative adrenal weight by 50% compared with rats with PCOS, reaching physiological norm. The thickness of the adrenal cortex and medulla decreased ($p<0.05$) by 14.1% and 7.7%, respectively, compared with rats with PCOS; however, compared with the control, cortical thickness decreased ($p<0.05$) by 9.8%, whereas medullary thickness increased ($p<0.05$) by 19.2%. The morphological characteristics of the zona glomerulosa corresponded to physiological norm. The degree of activation of the morphofunctional state of endocrinocytes decreased and their alterative changes disappeared in the zona fasciculata, the thickness of which increased ($p<0.05$) by 23.5% compared with rats with PCOS but decreased ($p<0.05$) by 13.7% compared with the control. In the zona reticularis, the degree of activation of the morphofunctional state of endocrinocytes decreased and their alterative changes disappeared; its thickness decreased ($p<0.05$) by 68.2% compared with rats with PCOS and corresponded to physiological norm. In the adrenal medulla, signs of activation of the morphofunctional state of endocrinocytes were reduced compared with rats with PCOS.

Under conditions of intermittent cold exposure against the background of DHEA administration, the blood level of adiponectin normalized, whereas the level of leptin increased compared with both the control and rats with PCOS. Brown adipose tissue (BAT) from the interscapular region was characterized by maximal activation, while adipose tissue from the paranephral tissue exhibited transformation of white adipose tissue into BAT and maximal activation of BAT. In the stroma of BAT from the interscapular region and paranephral tissue, intermittent cold exposure combined with

DHEA administration reduced the degree of inflammatory cellular infiltration, which was represented predominantly by macrophages, monocytes, lymphocytes, and a small number of neutrophilic leukocytes. Among $CD68^+$-macrophages, compared with rats with PCOS, the absolute number of M1 macrophages decreased and the absolute number of M2 macrophages increased, restoring the macrophage phenotype balance characteristic of the control group; however, compared with the control, the number of M1 macrophages remained higher and the number of M2 macrophages remained lower.

Thus, through the assessment of the intensity of ROS generation by leukocytes and erythrocytes, leukocyte viability and types of death, the intensity of eryptosis, the state of antioxidant defense, features of carbohydrate and lipid metabolism, as well as the morphofunctional characteristics of the ovaries, adrenal glands, and adipose tissue, the study demonstrated a positive effect of intermittent cold exposure in preventing the development of PCOS. The obtained results make it possible to recommend the use of intermittent cold exposure in practical health care, which may reduce the incidence of PCOS in women and improve their quality of life.

During the dissertation research, an original method for PCOS modeling was developed, which expands the existing arsenal of experimental medicine approaches for modeling this pathology. The use of the author's method makes it possible to investigate the etiopathogenesis of PCOS, to refine existing strategies, and to develop new approaches for the treatment and prevention of the studied pathology.

The obtained results were implemented in the educational process and research activities at the Department of General and Clinical Pathophysiology named after D.O. Alpern of Kharkiv National Medical University; the Department of Obstetrics and Gynecology No. 2 of Kharkiv National Medical University; the Department of General and Clinical Pathological Physiology named after V.V. Pidvysotskyi of Odesa National Medical University; the Department of Clinical Pathology and Forensic Medicine of Shupyk National Healthcare University of Ukraine; the Department of Pathophysiology of OO. Bohomolets National Medical University. The results were also implemented in the activities of the Department of Cold Adaptation at the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine.

Keywords: polycystic ovary syndrome, intermittent cold exposure, pathogenetic mechanisms, apoptosis, oxidant-antioxidant system, leukocyte viability, eryptosis, lipid metabolism, carbohydrate metabolism, hormonal profile, inflammation, macrophages, ovaries, adrenal glands, adipose tissue.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ НАУКОВИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Жулікова МВ, Мирошниченко МС, Наконечна ОА, Жуліков ОО, Бібіченко ВО, Мирошниченко СО, Зайцева ОВ, Ковальцова МВ. Життєздатність та види загибелі лейкоцитів крові щурів з синдромом полікістозних яєчників за умов переривчастого холодового впливу. Фізіологічний журнал. 2023; 69(5):33-42. *(Здобувачка провела визначення життєздатності лейкоцитів та видів їх загибелі, статистично обробила одержані показники та написала статтю).*

2. Zhulikova MV, Myroshnychenko MS, Nakonechna OA, Zhulikov OO, Pustova NO, Bibichenko VO, Lytvynenko OY, Kucheriavchenko MO. Reactive oxygen species generation by blood leucocytes of rats with polycystic ovary syndrome under the conditions of intermittent cold exposure. Wiad Lek. 2023;76(7):1670-1676. *(Здобувачка проаналізувала одержані показники та провела їх статистичну обробку, підготувала статтю до друку).*

3. Zhulikova MV, Myroshnychenko MS, Zhulikov OO, Kapustnyk NV, Hromko YeA, Myroshnychenko SO. Morphological features of brown adipose tissue in an experimental polycystic ovary syndrome under intermittent cold exposure. Wiad Lek. 2025;78(7):1389-1395. *(Здобувачка провела вивчення мікропрепаратів, морфометричне дослідження, опрацювала результати, написала статтю).*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

1. Жулікова МВ, Жуліков ОО, Мирошниченко МС, Наконечна ОА, Капустник НВ. Аналіз рівня адипонектину та лептину при експериментальному синдромі полікістозних яєчників в умовах переривчастого холодового впливу. Матеріали VI науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна

корекція» (16 листопада 2023 року, м. Харків). Харків : НФаУ, 2023. С. 199-200. *(Здобувачкою проведено визначення рівнів адипонектину та лептину, оброблено результати, сформульовано висновки та написано тези).*

2. Zhulikova M, Zhulikov O, Myroshnychenko M, Nakonechna O, Kapustnyk N. Eryptosis in rats with polycystic ovary syndrome under intermittent cold exposure conditions. In: Materials of the 61st annual meeting of the Society for Cryobiology «CRYO2024»; 2024 July 23-25; Washington. Cryobiology. 2024;117:105151. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2024.105151. *(Здобувачкою оброблено одержані результати, сформульовано висновки та написано тези).*

3. Мирошниченко МС, Жулікова МВ, Наконечна ОА, Капустник НВ, Пасієшвілі НМ, Бібіченко ВО. Особливості генерації активних форм кисню в еритроцитах щурів з синдромом полікістозних яєчників за умов переривчастого холодового впливу. Матеріали доповідей IX Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю «Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України» (19-21 вересня 2024 р, м. Івано-Франківськ). Івано-Франківськ: Івано-Франківський національний медичний університет, 2024. С. 152-153. *(Здобувачка провела визначення генерації активних форм кисню в еритроцитах, обробила одержані показники та написала тези).*

4. Hromko YeA, Zhulikova MV, Myroshnychenko MS, Nakonechna OA. The effect of intermittent cold exposure on the level of reactive oxygen species production in erythrocytes of rats with induced polycystic ovary syndrome. Abstract book of 49th Annual Conference of Young Scientists Cold in Biology and Medicine. (May 14-15, 2025, Kharkiv). 2025. P 30. *(Здобувачка обробила та проаналізувала одержані показники, написала тези).*

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

1. Патент України на корисну модель No 119800, UA, МПК G09B 23/28 (2006.01) Харківський національний медичний університет, Кузьміна І.Ю., Ніколаєва О.В., Жулікова М.В. - 3. No u 201703527; Заявл. 11.04.2017; Опубл.

10.10.2017. Бюл. No 19. Спосіб моделювання синдрому полікістозних яєчників. *(Здобувачка провела аналіз відомих методик моделювання СПКЯ, розробила власну методику та запатентувала її).*

ЗМІСТ

	Сторінка
Анотація	2
Список опублікованих наукових праць за темою дисертації	14
Перелік умовних позначень	19
Вступ	21
Розділ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	28
1.1. Епідеміологічні особливості та етіопатогенез синдрому полікістозних яєчників	28
1.2. Клінічна маніфестація синдрому полікістозних яєчників	40
1.3. Методи моделювання синдрому полікістозних яєчників	45
1.4. Вплив холодових факторів на організм людини та їх терапевтичні можливості	51
Розділ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	58
Розділ 3. Генерація активних форм кисню в лейкоцитах та еритроцитах, види клітинної загибелі в крові у щурів з синдромом полікістозних яєчників та за умов переривчастого холодового впливу	70
3.1. Генерація активних форм кисню в лейкоцитах	70
3.2. Життєздатність та види загибелі лейкоцитів	76
3.3. Генерація активних форм кисню в еритроцитах та інтенсивність ериптозу	84
Розділ 4. Вміст основних біохімічних показників у крові у щурів з синдромом полікістозних яєчників та за умов переривчастого холодового впливу	96
4.1. Стан системи антиоксидантного захисту	96

4.2. Основні показники вуглеводного обміну 99
4.3. Основні показники ліпідного обміну 103
Розділ 5. Морфофункціональні особливості яєчників та надниркових залоз у щурів з синдромом полікістозних яєчників та за умов переривчастого холодового впливу 110
5.1. Вміст у крові естрадіолу 110
5.2. Морфологічні особливості яєчників 112
5.3. Вміст у крові кортизолу, дегідроепіандростерон-сульфату, загального та вільного тестостерону 120
5.4. Морфологічні особливості надниркових залоз 125
Розділ 6. Вміст у крові гормонів жирової тканини та морфологічні особливості бурої жирової тканини у щурів з синдромом полікістозних яєчників та за умов переривчастого холодового впливу 135
6.1. Вміст у крові лептину та адипонектину 135
6.2. Морфологічні особливості бурої жирової тканини з міжлопаткової ділянки 139
6.3. Морфологічні особливості бурої жирової тканини з паранефральної клітковини 150
Розділ 7. Обговорення та аналіз отриманих результатів 164
Висновки 178
Практичні рекомендації 182
Список використаних джерел 183
Додатки 219

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АОС – антиоксидантна система

АТФ – аденозинтрифосфат

АФК – активні форми кисню

ДГЕА – дегідроепіандростерон

ДГЕАС – дегідроепіандростерон сульфат

ДГТ – дигідротестостерон

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

ДХФ – дихлорфлуоресцеїн

ІЛ – інтерлейкіни

ІР – інсулінорезистентність

ЛГ – лютеїнізуючий гормон

ЛПВЩ – ліпопротеїни високої щільності

ЛПДНЩ – ліпопротеїни дуже низької щільності

ЛПЛ – ліпопротеїнліпаза

ЛПНЩ – ліпопротеїни низької щільності

НАН – Національна академія наук

РНК – рибонуклеїнова кислота

СЗГ – стероїдзв'язуючий глобулін

СІФ – середня інтенсивність флуоресценції

СОД – супероксиддисмутаза

СПКЯ – синдром полікістозних яєчників

ТАГ – триацилгліцероли

УЗД – ультразвукове дослідження

ФСГ – фолікулостимулюючий гормон

ХНМУ – Харківський національний медичний університет

BAT – brown adipose tissue

DCF – dichlorofluorescein

DHEA – dehydroepiandrosterone

DHEAS – dehydroepiandrosterone sulfate

FITC – флуоресцеїн ізотіоціанат

H2DCFDA – дихлордигідрофлуоресцеїн діацетат

HDL – high density lipoproteins

HOMA – Homeostasis Model Assessment

IL – interleukin

LDL – low density lipoproteins

MFI – середня інтенсивність флюоресценції

NIH – National Institutes of Health

PCOS – polycystic ovary syndrome

ROS – reactive oxygen species

SOD – superoxide dismutase

TAG – triacylglycerols

TNF-α – tumor necrosis factor alpha

UCP1 – uncoupling protein 1

VLDL – very low density lipoproteins

ВСТУП

Актуальність теми. СПКЯ є найпоширенішим та гетерогенним ендокринним розладом у жінок репродуктивного віку усіх рас та етнічних груп [1]. Поширеність СПКЯ, за даними різних досліджень, оцінюється в межах від 6 до 34 % [10]. У пацієнток з СПКЯ діагностують гіперандрогенію, інсулінорезистентність (ІР), акне, гірсутизм, збільшення маси тіла, метаболічні порушення, безпліддя, ускладнення під час вагітності, злоякісні новоутворення та ін. [3, 4]. Етіологія СПКЯ, враховуючи його клінічну гетерогенність, залишається предметом наукових дискусій. Патогенез СПКЯ є складним, багатофакторним, його досліджують вчені з усього світу, проте це питання на сьогодні залишається дискутабельним та не повністю вивченим [4-6].

Лікування пацієнток з СПКЯ, враховуючи ураження різних органів та систем, потребує командного та комплексного підходу. Наявний на сьогодні широкий арсенал методів лікування не завжди приводить до бажаного результату [7-8]. Незрозумілість патогенезу, недосконалість діагностики та лікування СПКЯ актуалізують проведення комплексних клініко-експериментальних досліджень [9].

Розповсюдженість СПКЯ та його наслідки вимагають проведення комплексних наукових досліджень, спрямованих на пошук ефективних методів профілактики розвитку цього синдрому у жінок. Новою стратегією в лікуванні та профілактиці зазначеного патологічного стану може бути застосування переривчастого холодового впливу. У попередніх експериментальних дослідженнях визначено позитивний ефект переривчастого холодового впливу, що маніфестувало нормалізацією метаболічних процесів та функцій жирової тканини при ожирінні, цукровому діабеті 2 типу, метаболічному синдромі [10]. Ефективність та патогенетичні механізми переривчастого холодового впливу в профілактиці розвитку СПКЯ на сьогодні залишаються нез'ясованими, що актуалізує проведення цього дисертаційного дослідження.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри загальної та клінічної патофізіології імені Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету (ХНМУ) на тему: «Роль хронічного запалення в розвитку морфофункціональних змін різних органів при експериментальному метаболічному синдромі у щурів» (номер державної реєстрації 01210111239, 2021-2025 рр.). Здобувачка була співвиконавцем зазначеної науково-дослідної роботи, в рамках якої нею було розроблено методику моделювання СПКЯ та переривчастого холодового впливу, а також визначені провідні патогенетичні механізми, що лежать в основі попередження розвитку СПКЯ за умов переривчастого холодового впливу.

Мета дослідження: визначити в експерименті патогенетичні механізми переривчастого холодового впливу у попередженні розвитку СПКЯ.

Для досягнення мети були поставлені наступні завдання:

1. В експерименті на щурах-самицях популяції WAG розробити спосіб моделювання СПКЯ та переривчастого холодового впливу.

2. Дослідити інтенсивність генерації АФК лейкоцитами та еритроцитами периферичної крові та визначити види їх загибелі у щурів, яким вводили ДГЕА і моделювали переривчастий холодовий вплив, порівняно зі щурами з СПКЯ.

3. Визначити біохімічні показники вуглеводного (глюкоза, інсулін, індекс HOMA) та ліпідного (холестерол, ЛПНЩ, ЛПВЩ, ЛПДНЩ, ТАГ) обмінів, ензими антиоксидантного захисту (СОД, церулоплазмін) у щурів, яким вводили ДГЕА та моделювали переривчастий холодовий вплив, порівняно зі щурами з СПКЯ.

4. Дослідити функціональний стан яєчників, надниркових залоз за вмістом у крові естрадіолу, кортизолу, ДГЕАС, загального і вільного тестостерону та виявити морфологічні особливості зазначених органів у щурів, яким вводили ДГЕА на тлі переривчастого холодового впливу, порівняно зі щурами з СПКЯ.

5. Визначити вміст у крові гормонів жирової тканини (лептину, адипонектину) та виявити морфологічні особливості бурої жирової тканини з

міжлопаткової ділянки та паранефральної клітковини у щурів, яким вводили ДГЕА та моделювали переривчастий холодовий вплив, порівняно зі щурами з СПКЯ.

Об'єкт дослідження: патогенетичні механізми переривчастого холодового впливу, що лежать в основі попередження розвитку СПКЯ.

Предмет дослідження: генерація АФК лейкоцитами та еритроцитами; життєздатність та види загибелі лейкоцитів; ериптоз; ензими антиоксидантного захисту (СОД, церулоплазмін); показники вуглеводного (глюкоза, інсулін, індекс HOMA) та ліпідного (холестерол, ЛПНЩ, ЛПВЩ, ЛПДНЩ, ТАГ) обмінів; морфологічні особливості яєчників, надниркових залоз та їх функціональний стан (естрадіол, кортизол, ДГЕАС, загальний та вільний тестостерон); функціональні особливості жирової тканини (лептин, адипонектин); морфологічна характеристика бурої жирової тканини з міжлопаткової ділянки та паранефральної клітковини.

Методи дослідження: соматометричний, органометричний, патофізіологічний, макроскопічний, гістологічний, імуногістохімічний, морфометричний, імуноферментний, метод проточної цитометрії, статистичний.

Наукова новизна одержаних результатів

Уперше за умов змодельованого на щурах ДГЕА-індукованого СПКЯ шляхом комплексного морфологічного та біохімічного досліджень були визначені патогенетичні механізми переривчастого холодового впливу на організм статевонезрілих щурів популяції WAG, що дозволяють попередити розвиток зазначеної патології.

Уперше доведено, що переривчастий холодовий вплив на тлі введення ДГЕА нормалізував продукцію АФК лейкоцитами та еритроцитами периферичної крові, зменшував інтенсивність ериптозу та гальмував апоптоз лейкоцитів, нормалізуючи їх життєздатність.

Переривчастий холодовий вплив на тлі введення ДГЕА забезпечував належний функціональний стан АОС, яка попереджала розвиток оксидативного стресу, покращувала життєздатність лейкоцитів та еритроцитів периферичної

крові. Активність СОД зменшувалася порівняно зі щурами з СПКЯ, проте залишалася збільшеною порівняно з контролем. Вміст церулоплазміну зменшувався порівняно зі щурами з СПКЯ та досягав значення контрольного показника.

Переривчастий холодовий вплив на тлі введення ДГЕА покращував показники вуглеводного обміну (рівень глюкози, інсуліну, індекс HOMA зменшувалися порівняно зі щурами з СПКЯ, проте залишалися збільшеними порівняно з контролем) та зменшував прояви дисліпідемії (порівняно зі щурами з СПКЯ був збільшеним вміст холестеролу, ЛПВЩ, ЛПНЩ, зменшеним коефіцієнт атерогенності; порівняно з контролем залишався збільшеним вміст ЛПНЩ, холестеролу, зменшеним вміст ЛПДНЩ і ЛПВЩ, збільшеним коефіцієнт атерогенності).

Уперше визначено позитивний ефект переривчастого холодового впливу на функціональний стан яєчників та надниркових залоз. Вміст у крові естрадіолу збільшувався порівняно зі щурами з СПКЯ та відповідав фізіологічній нормі; ДГЕАС, кортизолу збільшувався порівняно зі щурами з СПКЯ та зменшувався порівняно з контролем; загального тестостерону зменшувався порівняно зі щурами з СПКЯ та відповідав фізіологічній нормі; вільного тестостерону знижувався порівняно зі щурами з СПКЯ та контролем.

Уперше у роботі було виявлено відновлення морфологічного стану яєчників за умов переривчастого холодового впливу та введення ДГЕА, про що свідчили подібні до групи контролю відносна маса яєчників, товщина білкової оболонки, питомі об'єм примордіальних, зростаючих та атретичних фолікулів, питомий об'єм строми; зникнення альтеративних змін у паренхімі та кіст; поява жовтих тіл; зменшена товщина шару текальних клітин третинних фолікулів порівняно зі щурами з СПКЯ, яка залишалася збільшеною порівняно з контролем.

Уперше доведено, що за умов переривчастого холодового впливу та введення ДГЕА відносна маса надниркових залоз зменшувалася порівняно зі щурами з СПКЯ та відповідала нормі. Товщина кіркової та мозкової речовин зменшувалася порівняно зі щурами з СПКЯ, проте порівняно з контролем

залишалася зменшеною товщина кіркової речовини та збільшеною товщина мозкової речовини. В пучковій та сітчастій зонах зменшувався ступінь вираженості активації морфофункціонального стану ендокриноцитів та зникали їх альтеративні зміни. Товщина пучкової зони була збільшеною зі щурами з СПКЯ та зменшеною порівняно з контролем. Товщина сітчастої зони зменшувалася порівняно зі щурами з СПКЯ та відповідала фізіологічній нормі. У мозковій речовині зменшувалися ознаки активації морфофункціонального стану ендокриноцитів порівняно зі щурами з СПКЯ.

Визначено позитивний ефект переривчастого холодового впливу на тлі введення ДГЕА на морфофункціональний стан жирової тканини. Вміст у крові адипонектину нормалізувався на тлі збільшеного вмісту лептину порівняно з контролем та щурами з СПКЯ. Уперше виявлено активацію бурої жирової тканини з міжлопаткової ділянки, трансформацію білої жирової тканини в буру жирову тканину з активацією останньої у паранефральній клітковині; зменшення проявів хронічного запалення у жировій тканині та відновлення балансу між М1 та М2 макрофагами.

Теоретичне та практичне значення одержаних результатів

Уперше розроблена методика моделювання СПКЯ та отримано патент України на корисну модель, що розширює наявний в експериментальній медицині арсенал методів моделювання зазначеної патології. Використання авторської методики дозволяє вивчити етіопатогенез СПКЯ, удосконалити відомі та розробити нові стратегії лікування та превенції досліджуваної патології.

Шляхом дослідження інтенсивності генерації АФК лейкоцитами та еритроцитами, життєздатності та видів смерті лейкоцитів, інтенсивності ериптозу, стану АОС, особливостей вуглеводного та ліпідного обмінів, морфофункціональних особливостей яєчників, надниркових залоз та жирової тканини був доведений позитивний ефект переривчастого холодового впливу у профілактиці розвитку СПКЯ, що дозволяє знизити показники захворюваності жінок на зазначену патологію та покращити їх якість життя.

Визначені патогенетичні механізми переривчастого холодового впливу, що лежать в основі профілактики розвитку СПКЯ, можуть бути використані, по-перше, в освітньому процесі в медичному університеті зі здобувачами вищої медичної освіти, лікарями-інтернами, аспірантами; по-друге, при написанні монографій, посібників та підручників.

Результати впроваджені в освітній процес та науково-дослідну роботу кафедри загальної та клінічної патофізіології імені Д.О. Альперна ХНМУ; кафедри акушерства та гінекології № 2 ХНМУ; кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології імені В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету; кафедри клінічної патології та судової медицини Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика; кафедри патофізіології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця; відділу холодової адаптації Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України.

Особистий внесок здобувачки

Дисертаційна робота є самостійною науковою працею. Разом із науковим керівником було визначено актуальну проблему наукового дослідження, сформульовано мету та задачі, окреслено дизайн дисертаційного дослідження. Самостійно провела експериментальне дослідження, аналіз одержаних морфологічних та біохімічних показників, написала розділи дисертації, сформулювала висновки та практичні рекомендації. У дисертації не було використано ідей та концепції, що належать співавторам опублікованих статей та тез. Співавтори опублікованих робіт надавали здобувачці консультативну допомогу з деяких методичних та теоретичних питань.

Апробація результатів дисертаційного дослідження

Матеріали дисертаційної роботи було представлено та обговорено на VI науково-практичній internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (м. Харків, 16 листопада 2023 р.), 61 щорічній зустрічі Товариства кріобіологів «CRYO2024» (м. Вашингтон, 23-25 липня 2024 р.), IX Національному конгресі

патофізіологів України з міжнародною участю «Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України» (м. Івано-Франківськ, 19-21 вересня 2024 р.), 49 щорічній конференції молодих учених «Холод у біології та медицині» (м. Харків, 14-15 травня 2025 р.).

Публікації

За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 8 наукових праць, зокрема, 3 статті, з них 1 стаття у фаховому науковому журналі України, що рекомендований МОН категорії В та індексується SCOPUS, 2 статті у закордонних наукових періодичних виданнях (Республіка Польща), що індексуються SCOPUS, 4 тези у матеріалах науково-практичних конференцій, конгресів, зустрічей. Отримано 1 патент України на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації

Дисертаційна робота викладена українською мовою на 227 сторінках комп'ютерного набору, складається з анотацій українською та англійською мовами, списку публікацій здобувачки за темою дисертації, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів, 4 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення одержаних результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел та додатків. Дисертаційна робота проілюстрована 7 таблицями та 66 рисунками, що займають 18 повних сторінок. Перелік використаних джерел викладено на 36 повних сторінках, становить 300 найменувань, з них кирилицею – 27, латиницею – 273.

РОЗДІЛ 1
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Епідеміологічні особливості та етіопатогенез синдрому полікістозних яєчників

Масштаби поширеності СПКЯ вимагають насамперед чіткого визначення діагностичних рамок, і саме тому за різними підходами було задано ключові орієнтири для порівняння даних у різних країнах. Так, СПКЯ є «найпоширенішим ендокринним розладом» у жінок репродуктивного віку: за статистикою National Institutes of Health (NIH) (США) його частота оцінюється в межах 6-10 %, тоді як за більш розширеним Rotterdam-підходом вона сягає до 15 %, що відповідно акцентує важливість уніфікації критеріїв діагностики в епідеміологічних дослідженнях для адекватної оцінки масштабу захворюваності [11]. Подібні висновки підтримують і більш ранні узагальнені роботи, що систематизують поширеність синдрому у світовому масштабі залежно від застосованих критеріїв. Автори відзначають, що хоча поширеність СПКЯ є подібною в різних етнічних групах, деякі регіони (Південна Азія, Східне Середземномор'я) демонструють вищі показники. Варіативність у показниках поширеності пояснюється передусім різною методологією досліджень та діагностичними критеріями [12].

Ще одне дослідження присвячене відмінностям у діагностичних критеріях та їх впливу на епідеміологічні дані так само вказує на різницю між критеріями NIH та Rotterdam (7 % проти 12 %). Автори пояснюють ці розбіжності у тому числі і нестандартизованим підходом до діагностичних компонентів, тобто різним трактуванням олігоменореї, типів гірсутизму, ультразвукових параметрів, а також включення або виключення жінок на пероральних контрацептивах. Тому порівняльна епідеміологія СПКЯ є можливою лише за умов уніфікації методології у діагностиці [13].

Сучасний метааналіз Amiri та ін. розширює цей підхід, надаючи оцінки поширеності з урахуванням якості досліджень і вікових особливостей вибірок. У цьому огляді представлено найновішу оцінку глобальної поширеності СПКЯ за трьома основними діагностичними критеріями: Rotterdam (10,89 %), AE-PCOS (10,61 %) та NIH (6,63 %). При аналізі відібраних з використанням PCOS Epidemiology and Phenotype tool досліджень регіональна неоднорідність виглядає мінімальною: наприклад, за NIH поширеність у різних регіонах коливалась між 5,7-6,9 %, а за Rotterdam – між 9,1-11,2 %. Крім того, виявлено вікові відмінності: дорослі мають значно вищу поширеність, ніж підлітки (за NIH – 8,5 % проти 4,4 %), хоча ця різниця зменшилась при врахуванні лише високоякісних досліджень (7,25 % проти 4,44 %) [14].

Якщо попередні джерела дозволяють зрозуміти методологічний аспект оцінок, то наступні дають змогу простежити динаміку поширеності у глобальному часовому та регіональному зрізі. За результатами глобального аналізу GBD 2019 між 1990 і 2019 роками щорічна кількість нових випадків СПКЯ зросла з приблизно 1,4 млн до 2,1 млн (тобто на 54 %). Однак регіональні відмінності засвідчили найвище прискорення захворюваності у Південно-Східній Азії, тоді як Америка відзначалася уповільненням приросту. Також встановлено вікову тенденцію: максимальна частота захворювання серед 10-19 річних [15].

Такі глобальні дані співвідносяться з дослідженнями, що вивчають вплив етнічного походження на фенотип і метаболічний профіль. Було підтверджено, що у жінок з різним етнічним тлом існують істотні відмінності щодо поширеності СПКЯ, рівня інсулінорезистентності, гормонального статусу та ризиків метаболічних ускладнень. Наприклад, для представниць афроамериканської расово-етнічної групи характерним є гірший метаболічний профіль і вищі показники IP, тоді як у представниць південноазійського та східносередземноморського регіонів наявна підвищена частота метаболічного синдрому, незалежно від індексу маси тіла [16]. Вплив етнічності підтверджується також у дослідженні, що додатково окреслює зв'язок із ожирінням та порушеннями вуглеводного обміну. Було виявлено, що жінки із СПКЯ мають

значно вищий ризик порушеного обміну глюкози: відносний ризик порушення толерантності до глюкози збільшується в 3,26 рази та цукрового діабету 2 типу у 2,87 рази порівняно з контрольною групою. Виявлено також етнічні відмінності: ризик порушення толерантності до глюкози був найвищим в Азії (у 5 разів), дещо меншим в Америці (у 4 рази) та Європі (у 3 рази) [17].

При розгляді прикладів з окремих регіонів показовим є дослідження у неклінічно відібраній популяції США, яке демонструє одну з найвищих оцінок у розвинених країнах. Визначне дослідження на неклінічно відібраній популяції жінок у віці 18-45 років виявило поширеність СПКЯ на рівні 6,6 %. Методологія включала комбінацію клінічних і лабораторних критеріїв (олігоовуляція, гірсутизм або гіперандрогенія), з урахуванням підтверджених і можливих випадків. Розподіл за расовою ознакою показав близькі результати: 8,0 % серед афроамериканок та 4,8 % серед європеїдок, без статистично значущої різниці [18].

Подібний діапазон варіабельності показників зумовлений як географічними, так і методологічними факторами, простежується і в даних з Індії, де поширеність СПКЯ варіює в широкому діапазоні від 3,7 % до 22,5 %, залежно від популяції (урбанізовані та сільські регіони, підлітки чи дорослі) та критеріїв діагностики (NIH чи Rotterdam). Така варіабельність подібна до спостережень в інших країнах і вчергове підкреслює вплив методологічних чинників. Важливо, що автори вказують, що зростаюча поширеність СПКЯ може корелювати зі зростанням поширеності ожиріння, змінами в способі життя та покращенням діагностичної спроможності медичних установ [19].

При аналізі епідеміології СПКЯ важливо враховувати також фенотипову структуру. За класифікацією Rotterdam (2003), фенотипи СПКЯ визначаються комбінацією трьох основних діагностичних ознак – гіперандрогенізму (клінічного або біохімічного), овуляторної дисфункції та полікістозної морфології яєчників. Фенотип А (класичний) включає всі три ознаки й пов'язаний із найвираженішими репродуктивними та метаболічними порушеннями. Фенотип В (класичний без морфологічної складової) характеризується гіперандрогенізмом і ановуляцією за відсутності ультразвукових ознак, але з подібним до фенотипу А ризиком

метаболічних розладів. Фенотип C (овуляторний) поєднує гіперандрогенізм із полікістозною морфологією при збереженій овуляції та часто має менш тяжкі менструальні порушення. Фенотип D (неандрогенний) включає ановуляцію та полікістозну морфологію без ознак гіперандрогенізму й зазвичай демонструє менш виражені метаболічні зміни [20]. Так, найбільша частка припадає на фенотип A (44,8 %), тоді як фенотипи C і B менш розповсюджені (відповідно 16,2 % та 14,9 %) [21]. Детальніший розподіл фенотипів та їхній зв'язок із масою тіла у північноіндійській вибірці дозволяє глибше зрозуміти регіональні особливості. Дослідниками було встановлено значну взаємозалежність між фенотипами СПКЯ та індексом маси тіла серед 250 жінок віком 18-45 років. Найчастіше траплявся фенотип B (гіперандрогенізм + оліго- чи ановуляція) у 50,4 % випадків; класичний фенотип A (полікістозність яєчників + гіперандрогенізм + оліго- чи ановуляція) становив 39,2 %, менш поширеними були фенотип C (полікістозність яєчників + гіперандрогенізм) – 6 % і окремо винесений фенотип D (полікістозність яєчників + оліго- чи ановуляція) – 4,4 %. Особливо помітною була залежність від вагової категорії: у групі з надлишковою масою тіла чи ожирінням фенотип B спостерігався у 27,2 %, а класичний фенотип A у 20,4 %; серед жінок з нормальною вагою ці показники становили відповідно 20,8 % та 18 %. [22].

Особливу увагу у світовій епідеміології СПКЯ привертає вікова група підлітків. Так, сучасна поширеність СПКЯ у віковій групі 13-19 років становить від 3 до 11 % залежно від застосованих критеріїв. При цьому у дослідженні звертається увага на труднощі у діагностиці СПКЯ у підлітковому віці: традиційні критерії, розроблені для дорослих, можуть заважати чіткому розмежуванню фізіологічних пубертатних змін від патологічних симптомів. Автори наголошують на важливості адаптації критеріїв та довготривалого спостереження, аби уникнути надмірної або недостатньої діагностики в ранньому віці, що особливо актуально з урахуванням високого ризику метаболічних та гормональних порушень у дівчат, в яких діагностується СПКЯ в підлітковому віці [23].

Ще однією проблемою є недооблік випадків у медичних реєстрах, через який спостерігається значний розрив між популяційною поширеністю СПКЯ та частотою виявлення у клінічних або страхових базах. Зокрема, у США популяційні дослідження повідомляють поширеність від 4 % до 19,6 %, а у зазначених базах цей показник становить лише 0,2–5,2 %, у Великобританії відповідно близько 8 % проти 1,34 %, а в Південній Кореї – 4,9-7 % порівняно з 0,12–0,33 %. Тобто показник виявлення СПКЯ у клінічних реєстрах виявився в 2-33 рази нижчим, ніж реальна епідеміологічна поширеність [24].

Епідеміологічні дослідження СПКЯ в Україні також свідчать про значну поширеність цього ендокринного розладу та різноманітність його фенотипових форм. В одному з найбільш масштабних аналізів проведено фенотипову класифікацію пацієнток із СПКЯ за критеріями Rotterdam. У дослідженні встановлено, що фенотип А є домінуючим, виявляючись у 47,7 % випадків, тоді як фенотипи B, C та D зустрічаються з близькою частотою (16,6-18,1%) [25].

СПКЯ вважають складним та багатофакторним розладом, у формуванні якого виділяють різні механізми, які часто поєднуються (рис. 1.1). Історично різні наукові школи висували численні концепції: від первинної дисрегуляції гіпоталамо-гіпофізарно-оваріальної вісі до сучасних мультидетермінантних моделей із залученням ІР, оксидативного стресу, імунних факторів та епігенетичних змін.

Ще у 1973 році було представлено одну з перших комплексних моделей етіопатогенезу СПКЯ, в основі якої лежать дисрегуляція вісі гіпоталамус-гіпофіз-яєчники з підвищенням рівня лютеїнізуючого гормону (ЛГ) порівняно з фолікулостимулюючим гормоном (ФСГ), а також порушення внутрішньої функції оваріальних клітин, що сприяє надмірному синтезу андрогенів. Гіпотеза передбачала роль індукування андрогенного стероїдогенезу в текальних клітинах під впливом підвищених рівнів інсуліну. Хоча термін «інсулінорезистентність» ще не використовувався, автори визнавали важливість метаболічної дисфункції як ключового доповнення до гормональних порушень. Ця модель заклала основу подальших досліджень, у яких згодом було підтверджено взаємодію

гонадотропної стимуляції, інсуліну та генетичних факторів у формуванні клінічного спектра СПКЯ [26].



Рис. 1.1. Основні патогенетичні механізми розвитку СПКЯ.

З часом було сформульовано комплексну модель етіопатогенезу СПКЯ, у центрі якої так само була дисрегуляція вісі гіпоталамус-гіпофіз-яєчники з порушенням співвідношення ЛГ до ФСГ, що веде до гіперандрогенезу. Автори виокремили механізм стимуляції текальних клітин яєчників гіперінсулінемією, яка підсилює андрогенний синтез та знижує рівень глобуліну, що зв'язує статеві гормони, посилюючи таким чином біодоступність статевих стероїдів. Також було запропоновано участь субклінічного запалення та оксидативного стресу як потенційних каталізаторів метаболічної і гормональної дисфункції. Окрім цього, наголошувалося на полігенному характері захворювання, де комбінація низькопенетрантних генетичних компонентів взаємодіє з внутрішніми та зовнішніми метаболічними факторами, створюючи мозаїчний патофізіологічний фон із високою клінічною гетерогенністю [27].

Пізніше було обґрунтовано концепцію СПКЯ як багатофакторного захворювання, у патогенезі якого поєднуються ІР, андрогенний дисбаланс, ендотеліальна дисфункція, оксидативний стрес та хронічне субклінічне запалення. При цьому було визначено, що ІР є центральним механізмом стимуляції

андрогенезу, адже сприяє гіперандрогенії та розвитку гірсутизму за рахунок активації текальних клітин та зниження глобуліну, що зв'язує статеві гормони. Новим елементом у цій патогенетичній моделі є введення ролі судинного компонента, тобто ендотеліальної дисфункції, котра у поєднанні з оксидативним стресом підсилює метаболічно-гормональні порушення. Автор вказує на полігенний характер СПКЯ, коли низькопенетрантні генетичні варіанти взаємодіють із метаболічно-ендокринним фоном, що пояснює клінічну різноманітність синдромів полікістозу яєчників та гірсутизму в пацієнток [28].

Надалі відбувалося поступове формування класичної мультифакторної парадигми. СПКЯ вже розглядається як гетерогенне мультифакторне захворювання, у патогенезі якого взаємодіють генетичні, метаболічні, ендокринні та імунозапальні механізми. При цьому деякі дослідники наголошують, що численні дослідження з виявлення генів, що відповідають за стероїдогенез, функцію інсулінового рецептора, регуляцію гонадотропної секреції, виявили окремі поліморфізми, однак жоден з них не може бути визнаний єдиною причиною розвитку синдрому. Це дозволяє припустити полігенний або олігогенний тип спадковості з низькою пенетрантністю, за якого кілька генетичних варіантів у взаємодії з чинниками середовища (насамперед ІР та системним субклінічним запаленням) формують тло для розвитку СПКЯ. Підвищена концентрація інсуліну відіграє центральну роль, індукуючи гіперандрогенізм шляхом стимуляції текальних клітин яєчників та зниження рівня глобуліну, що зв'язує статеві гормони, що, у поєднанні з порушенням функціонування осі гіпоталамус-гіпофіз-яєчники, зумовлює характерну клініко-ендокринну симптоматику синдрому [29].

У деяких дослідженнях було звернуто увагу на аберантну секрецію ЛГ та ФСГ та порушення «рівноваги» цих гормонів, що зумовлює надмірний андрогенний синтез у яєчниках. ІР і супутня гіперінсулінемія сприяють стимуляції текальних клітин та зниженню глобуліну, що зв'язує статеві гормони, підсилюючи гіперандрогенію, а хронічне запалення, судинні порушення та

оксидативний стрес імовірно підсилюють дані дисфункції, формуючи сприятливий фон для розвитку патології [30].

У контексті сучасної мультифакторної парадигми СПКЯ розглядають як поліетіологічний синдром, у патогенезі якого центральне місце посідає ІР, що індукує гіперінсулінемію й сприяє гіперандрогенії. Крім цього, вагомими патогенетичними детермінантами є хронічне системне запалення, мікробіомний дисбаланс, порушення вісі гіпоталамус-гіпофіз-яєчники, надмірна маса тіла, а також генетичні й епігенетичні фактори, зокрема метилювання генів, що кодують рецептори до інсуліну та стероїдних гормонів [31]. Також було запропоновано еволюційно інтегровану модель патогенезу СПКЯ, де ключову роль відіграють дисфункціональні нейро-репродуктивно-метаболічні шляхи центральної нервової системи. Автори відзначають, що ІР та ожиріння активують відповідні нейрони, що веде до дисбалансу у продукції гонадотропінів (ЛГ та ФСГ), спричиняючи репродуктивну дисрегуляцію. Наявні дані також свідчать про роль модифікацій кишкової мікробіоти, які через периферичні метаболічно-ендокринні сигнали впливають на гіпоталамус, посилюючи патологічне коло регуляції. Тобто відповідно до цієї моделі причина СПКЯ не обмежується периферичними механізмами, але також включає роль ЦНС як фундаментальний компонент синдрому [32]. У іншому дослідженні також підкреслено, що СПКЯ є полігенним і мультифакторним синдромом, зумовленим впливом численних генетичних факторів, що регулюють стероїдогенез, інсуліновий обмін та імунно-запальні шляхи. Генетичні зв'язки виявляються не лише у локальному гормональному дисбалансі, але й через системне порушення метаболічної та репродуктивної регуляції [33]. За схожою концепцією у патогенезі СПКЯ центральне значення мають хронічне системне запалення, ІР, ожиріння, а також стероїдний дисбаланс, що спричиняє репродуктивну, метаболічну та кардіометаболічну патологію, у тому числі безпліддя та серцево-судинні ускладнення [34]. Ще одне дослідження на підтримку мультифакторної етіології та патогенезу зазначає, що до механізмів СПКЯ належать ІР, гіперандрогенія, метаболічні порушення і субклінічне запалення. Серед супутніх факторів виділено дисліпідемію, ожиріння, підвищену

частоту метаболічного синдрому та серцево-судинних ускладнень. Згідно з авторами хронічне субклінічне запалення (з підвищенням СРБ, IL-6, TNF-α) у поєднанні з оксидативним стресом і порушеним метаболізмом заліза формує фундамент для ґенезу метаболічно-гормонального дисбалансу, що підсилює ендокринний дефект [35].

На думку інших дослідників центральним патофізіологічним механізмом є надмірна секреція андрогенів, що призводить до характерної репродуктивної дисфункції, порушень метаболізму (ІР, дисліпідемія) та косметичних змін, які значно знижують якість життя жінок з СПКЯ. Ця інтердисциплінарна модель узгоджується з попередніми концепціями, але додає важливі акценти на епігенетичну регуляцію та вплив сучасного середовища на фенотип захворювання [36].

Дослідниками було обґрунтовано мультидетермінантну модель етіопатогенезу СПКЯ, де ключову роль відіграє надлишок кінцевих продуктів глікації, спричинений як внутрішнім метаболізмом, так і дієтичними джерелами, що провокує ІР, окислювальний стрес і гіперандрогенію. Запропоновано також, що пренатальний вплив, зокрема, надлишковий рівень андрогенів або екзогенні речовини, що порушують гормональний баланс, можуть закласти майбутню схильність до СПКЯ [37]. Також розглядається роль кінцевих продуктів глікації у патогенезі СПКЯ із акцентом на їх внесок у ІР та гіперандрогенію, гіпоксію та дисфункцію яєчників. Дослідження in vitro, на тваринах і людях демонструють, що кінцеві продукти глікації активують сигнальні шляхи, які запускають каскади кіназ (MAPK, ERK1/2, PKC), що веде до підвищеного утворення реактивних форм кисню й секреції прозапальних цитокінів. При цьому змінюється активація інсулінового шляху, зокрема через порушення роботи субстрату інсулінового рецептора та сигнального шляху фосфоінозитид-3-кінази – протеїнкінази В, що знижує переміщення транспортерів глюкози типу 4 до клітинної мембрани, що як наслідок посилює ІР. Ці механізми створюють метаболічний та запальний фон, який підтримує розвиток гіперандрогенії та овуляторної дисфункції в СПКЯ [38].

При розборі генетичної складової патогенезу важливо деталізувати роль генетичних поліморфізмів у формуванні сприйнятливості та патогенезу СПКЯ, зосередившись на ключових генах стероїдогенезу (CYP17, CYP11A1, CYP19, CYP21). Поряд із цим важливе значення мають поліморфізми INSR, PPARγ, SHBG та гена рецептора андрогену, що потенціюють метаболічні порушення, сприяють ІР, знижують рівні глобуліну, що зв'язує статеві гормони, і посилюють гіперандрогенію. Автори вказують, що результати аналізів часто варіюють за етнічним походженням та розмірами когорт, що підкреслює полігенний та етнокультурно-чутливий характер СПКЯ. Крім того, у статті сформульовано ідею, що навіть низькопенетрантні варіанти окремих генів можуть утворювати патогенетичну комбінацію із метаболічними та гормональними чинниками, створюючи механістичну основу клінічної гетерогенності СПКЯ [39]. Серед концепцій, пов'язаних із генетичними факторами, слід згадати, що за однією з них патогенетичні зв'язки відбуваються в рамках генетично-еволюційної парадигми, де полігенна схильність і вплив сучасного середовища створюють умови для активації клінічного фенотипу СПКЯ. Такий підхід підтверджує роль як первинних (ендокринні, генетичні), так і вторинних (метаболічні, еволюційні) факторів, що виражаються через широкий спектр клінічних проявів і ускладнень, які співіснують при СПКЯ (безпліддя, метаболічний синдром, серцево-судинні ускладнення) [40]. Також було проаналізовано зв'язок між поліморфізмами гена β-субодиниці лютеїнізуючого гормону (LHβ, SNP rs1056917) та рецептора LH (LHR, SNP rs61996318) із ризиком розвитку СПКЯ у жінок репродуктивного віку. Результати засвідчили, що генетичні варіанти LHβ та LHR можуть модулювати метаболічні та репродуктивні шляхи, беручи участь у механізмах гіперандрогенії у пацієнток із СПКЯ [41]. Окрім цього, дослідники систематично вивчали роль некодуючої РНК TUG1 у гранульозних клітинах жінок із СПКЯ і встановили, що у пацієнток її експресія істотно підвищена та корелює з кількістю антральних фолікулів. Експериментальне зниження TUG1 призводило до пригнічення проліферації клітин, активації апоптозу та аутофагії без суттєвого ефекту на клітинний цикл; водночас спостерігалося підвищення експресії ароматази та

продукції естрадіолу. Автори роблять висновок, що підвищена TUG1 може стимулювати надмірну активацію фолікулів та порушити селекцію домінантного фолікула, що потенційно сприяє порушенням овуляції при СПКЯ [42].

У сучасній нейроендокринній моделі СПКЯ включено роль специфічних нейронів як ключових модуляторів секреції гонадотропін-рилізинг гормону. Автори демонструють, що у хворих на СПКЯ спостерігається стабільне підвищення частоти імпульсів GnRH, що веде до домінантної продукції ЛГ порівняно з ФСГ. Одночасне підвищення рівня кіспептину у периферичній крові підтверджує змінену нейроендокринну регуляцію гіпофізарно-яєчникової осі. Крім того, слід згадати про роль інших нейротрансмітерів (GABA, глутамату, серотоніну, дофаміну та ацетилхоліну) як потенційних учасників дисфункції гіпоталамічного контролю. Така модель доповнює класичні механізми IP та гіперінсулінемії, вказуючи на ключову роль центральної регуляції репродуктивної системи [43]. Тут доречно згадати про роль нейротрансмітерів, нейропептидів та кишкових пептидів у розвитку СПКЯ через механізми, що впливають на репродуктивні, метаболічні й психоемоційні аспекти захворювання. Дисрегуляція метаболізму катехоламінів, серотоніну й ендорфінової системи може порушувати періодичне виділення гонадотропін-рилізинг гормону, що призводить до овуляційної дисфункції. Окрім цього, аномальний нейропептидний профіль, а також дисфункція вісі кишківник-мозок можуть пояснювати підвищену тривожність, депресію, емоційні коливання, а також змінений апетит і надлишкову вагу, які часто супроводжують СПКЯ. Ці дані відкривають перспективу таргетної терапії, спрямованої на центральні й периферичні нейромедіаторні шляхи для управління гіперсекрецією ЛГ та гонадотропін-рилізинг гормону, психоемоційним навантаженням та метаболічними порушеннями у пацієнток із СПКЯ [44].

Окремої уваги заслуговує роль відповідних біомаркерів у патогенезі СПКЯ. Наприклад, сучасними дослідниками охоплюються ролі адипокінів як ключових біохімічних маркерів патогенезу СПКЯ в підлітковому віці. Автори демонструють, що підвищена активність жирової тканини, особливо в умовах

ожиріння, призводить до дисбалансу секреції адипокінів: високі рівні лептину та знижений рівень адипонектину асоціюються з ІР, гіперандрогенізмом і порушеннями менструального циклу часто незалежно від індексу маси тіла. Крім того, розглянуті адипокіни другого порядку, серед яких васпін, RBP-4 та оментин-1 виявили потенціал як маркери метаболічної дисфункції СПКЯ у підлітків [45]. Деякі автори також звертають увагу на потенційну участь дефіциту вітаміну D як модулюючого патофізіологічного фактора СПКЯ у юнацтві та зрілому віці [46]. Зокрема, іншими дослідниками було виявлено зниження рівня вітаміну D в групі з СПКЯ порівняно з контрольною групою. Однак автори пропонують, що дефіцит вітаміну D ймовірно є вторинним явищем, опосередкованим ожирінням і ІР, які типові для СПКЯ і можуть зменшувати біодоступність вітаміну (наприклад, через його накопичення в жировій тканині). Тому вітамін D розглядається як модифікований маркер метаболічного дисбалансу, а не первинний етіологічний фактор [47].

Важливе значення у патогенезі на клітинному рівні мають наслідки ендоплазматичного стресу у гранульозних клітинах яєчників при СПКЯ. Автори підкреслюють, що гіперандрогенію та ІР слід розглядати як первинні тригери ендоплазматичного стресу, що запускає реакцію на неправильно згорнуті білки, призводить до апоптозу гранульозних клітин, оваріального фіброзу і дисфункціонального розширення кумулюс-ооцитного комплексу через активацію Notch-сигнального шляху. Цей механізм створює локальний патологічний контур у фолікулярному середовищі, що посилює порушення овуляції – фундаментальну складову етіопатогенезу СПКЯ [48]. Також описано основоположну роль мітохондріальної дисфункції у патофізіології СПКЯ, що виражається у порушенні біогенезу мітохондрій, структурно-функціональних комплексів, дихального ланцюга та регуляції реактивних форм кисню [49]. У разі дисфункції цих механізмів енергетичний баланс клітини порушується, через що порушується і функціонування клітин, що зрештою призводить до ушкодження тканин та органів. У моделях людини та тварин підтверджено, що така дисфункція впливає на функцію яєчників (ооцитів та гранульозних клітин), матки, плаценти й

системного кровообігу, сприяючи формуванню СПКЯ [50]. Під час експериментального дослідження патогенезу СПКЯ також було визначено виражене зростання рівня малонового альдегіду як маркера оксидативного стресу та спадання активності антиоксидантних ферментів, що підтверджує ключову роль окисного дисбалансу як каталізатора метаболічно-репродуктивних дефектів [51].

Серед клітинних механізмів у сучасному контексті патогенезу СПКЯ існує також ключова концепція фероптозу як потенційного механізму дисрегуляції функції яєчників. Автори описують фероптоз як форму залізо-залежної неклітинної смерті, зумовленої надмірною пероксидацією ліпідів, – явище, яке може бути спровоковане накопиченням заліза в гранульозних клітинах та порушенням антиоксидантного гомеостазу [52].

Найбільш сучасні дослідження пропонують об'єднану модель етіопатогенезу СПКЯ, що базується на комплексній взаємодії ендокринних, метаболічних та імунозапальних механізмів. Автори виділяють, що гіперандрогенія та овуляторні порушення поєднуються з ІР, метаболічною дисфункцією і хронічним запаленням, яке впливає на гіпоталамо-гіпофізарно-яєчникову вісь, роботу жирової тканини та сигнальні шляхи. Незважаючи на значний прогрес у вивченні окремих компонентів, автори наголошують на недостатній узгодженості даних у різних дослідженнях, а тому закликають до інтегративного міждисциплінарного підходу, що поєднує міжсекторальні відкриття [53, 54].

1.2. Клінічна маніфестація синдрому полікістозних яєчників

СПКЯ є не лише одним із найпоширеніших ендокринних розладів у жінок репродуктивного віку, але й найчастішою причиною порушень менструального циклу. Клінічно та при ультразвуковому дослідженні (УЗД) синдром характеризується полікістозними змінами яєчників у поєднанні з ознаками гіперандрогенії, що виявляється у лабораторному обстеженні та через зовнішні

симптоми. Пацієнтки зазвичай звертаються зі скаргами на олігоменорею або аменорею, труднощі із зачаттям, а також гірсутизм, акне чи облисіння [54].

Щоб уніфікувати підходи до встановлення діагнозу, у клінічній практиці застосовують чітко визначені критерії, що дозволяють мінімізувати діагностичну варіативність. Оновлений у травні 2025 року огляд підтверджує, що СПКЯ є одним із найчастіших ендокринних порушень у жінок репродуктивного віку. Діагноз базується на принаймні двох із трьох ключових критеріїв: хронічна ановуляція, гіперандрогенізм (клінічний або біохімічний) і полікістозна морфологія яєчників (тобто згідно з Роттердамськими критеріями) [55]. Еволюція цих критеріїв та їх стандартизація стали ключовими темами сучасних досліджень. Дослідники аналізують еволюцію діагностичних критеріїв СПКЯ та підкреслюють важливість уніфікованого підходу до діагнозу з метою поліпшення як клінічної практики, так і наукових досліджень [56].

Загалом домінантними клінічними ознаками СПКЯ є гірсутизм та менструальні порушення, зокрема ановуляція, що часто призводить до олігоменореї або аменореї. Приблизно у 50 % таких пацієнток спостерігається ожиріння, а значна частина має також цукровий діабет 2 типу, що підкреслює метаболічний компонент захворювання. Крім того, СПКЯ має типову «суміш» симптомів гірсутизм, олігоменорею, ІР та ожиріння, що свідчить про його комплексний репродуктивно-метаболічний характер [57].

Разом із цим у підлітковому віці клінічна картина може мати свої особливості, пов'язані як із гормональними, так і з метаболічними чинниками. У підлітків із СПКЯ ключовими його ознаками є менструальні порушення (що виявляються в 85 % випадків) та гіперандрогенні симптоми, такі як гірсутизм (69 %), акне (особливо середньотяжке або тяжке у 18 %), а також високий рівень вільних андрогенів (91 % пацієнток). Попри те, що більшість досліджуваних мали надлишкову вагу, дослідники підкреслюють, що ожиріння здатне розкривати або посилювати класичні прояви СПКЯ у підлітків, які генетично чи ендокринологічно є в зоні ризику [58]. Ці спостереження узгоджуються з іншими дослідженнями, які підкреслюють складність ведення пацієнток-підлітків. У

підлітків СПКЯ часто проявляється гірсутизмом, акне, менструальними порушеннями і ожирінням, а біохімічно відзначається підвищений рівень андрогенів, порушена циклічна продукція естрогену, гіперсекреція ЛГ, знижені значення глобуліну, що зв'язує статеві гормони та гіперінсулінемію [59].

Водночас навіть серед дорослих пацієнток, клінічна маніфестація залежить від поєднання морфологічних та метаболічних характеристик. Характер клінічної маніфестації СПКЯ може суттєво варіювати залежно від наявності ультразвукової картини полікістозної морфології яєчників. Так, жінки зі СПКЯ без полікістозної морфології яєчників мають гірший метаболічний профіль: підвищені рівні холестерину, тригліцеридів та значно підвищений рівень високочутливого С-реактивного білка, а також знижений рівень адипонектину у порівнянні з пацієнтками, у яких полікістозна морфологія підтверджена УЗД. При наявності ожиріння відсутність полікістозних змін пов'язана з вищим ризиком серцево-судинних ускладнень [60].

Подібні відмінності простежуються і в регіональних дослідженнях, що відображають специфіку популяційних груп. Клінічний спектр проявів СПКЯ у жінок південноазійського регіону показує, що найчастішими симптомами були менструальні порушення (оліго- та аменорея сумарно у 78,8 % випадків) та гірсутизм (52,3 %). Лише третина жінок мала морфологічні ознаки (33,3 %). Водночас метаболічний синдром зустрічався у 46,4 % обстежених, причому переважали ожиріння (82,4 %) та дисліпідемія (56,2 %) [61].

Ще один важливий аспект – вікова трансформація клінічних і біохімічних проявів синдрому. У дослідженні, проведеному серед жінок віком 20-40 років, автори поставили за мету дослідити вікозалежні зміни клінічних і біохімічних проявів СПКЯ. Виявлено, що з віком у пацієнток поступово знижується вираженість гіперандрогенних симптомів, у тому числі рівень загального тестостерону, а частота гірсутизму та акне зменшуються. Молодші жінки (20-29 років) мали значно вищий тестостерон, тоді як старші (30-40 років) демонстрували вираженішу метаболічну дисфункцію, що виражалася найчастіше підвищенням індексу маси тіла, збільшенням об'єму талії, рівня глюкози, інсуліну

натще, тригліцеридів і холестерину, а також вищу частоту ожиріння. При цьому об'єм яєчників залишався подібним попри вік [62].

СПКЯ є не лише репродуктивним розладом, але й станом із широким спектром довгострокових наслідків для здоров'я, які охоплюють метаболічні, серцево-судинні, ендокринні та психічні аспекти. До основних супутніх станів дослідники відносять ожиріння, ІР, цукровий діабет 2 типу, метаболічний синдром, дисліпідемію, артеріальну гіпертензію, обструктивне апное сну, депресію та тривожні розлади [63].

Однією з ключових ланок зв'язку СПКЯ з іншими патологіями є ендокринні порушення. Зокрема, було підмічено, наприклад, тісний патофізіологічний зв'язок між СПКЯ і захворюваннями щитоподібної залози, особливо автоімунного ґенезу. У пацієнток із СПКЯ частіше виявляють гіпотиреоз і аутоімунний тиреоїдит, що може бути зумовлено спільними механізмами, такими як хронічне системне запалення, ІР, гормональний дисбаланс та генетична схильність [64, 65].

Поряд із цими ендокринними порушеннями значну роль у формуванні клінічної картини відіграють метаболічні розлади. Зокрема, існує тісний взаємозв'язок між СПКЯ і метаболічним синдромом, при цьому на думку деяких авторів СПКЯ можна розглядати як один із його фенотипових варіантів у жінок репродуктивного віку. В обох станах спільними є ІР, абдомінальне ожиріння, дисліпідемія, артеріальна гіпертензія та підвищений ризик цукрового діабету 2 типу [65-67]. Зокрема, підкреслюється, що ІР є центральною ланкою патогенезу СПКЯ. Порушення інсулінової чутливості сприяє гіперінсулінемії, яка, у свою чергу, стимулює синтез андрогенів, посилює гіперандрогенію та поглиблює порушення овуляції. Крім того, ІР пов'язана із підвищеним ризиком розвитку метаболічного синдрому, цукрового діабету 2 типу та серцево-судинних захворювань [68].

Тісний взаємозв'язок СПКЯ із метаболічними порушеннями та цукровим діабетом 2 типу значною мірою обумовлений наявністю ожиріння. Цей фактор настільки поширений і клінічно значущий серед пацієнток із СПКЯ, що став предметом численних досліджень, у яких розглядаються його патогенетичні

механізми, вплив на перебіг синдрому та роль у формуванні віддалених ускладнень. Так, на основі аналізу значного обсягу обсерваційних даних було підтверджено тісний зв'язок між ожирінням і СПКЯ, який проявляється як у підвищеній поширеності надмірної маси тіла серед пацієнток із СПКЯ, так і у більш тяжкому перебігу захворювання при наявності ожиріння. Автори зазначають, що надлишок жирової тканини, особливо абдомінального типу, поглиблює ІР, гіперандрогенію та метаболічний синдром, створюючи замкнене коло [69-70]. У механізмах, що зумовлюють високу поширеність ожиріння серед жінок із СПКЯ варто наголосити на складній взаємодії генетичних, епігенетичних, нейроендокринних і поведінкових чинників [71, 72].

Окрему увагу було приділено особливостям перебігу СПКЯ у підлітків з ожирінням, оскільки поєднання цих станів призводить до більш виражених гормональних і метаболічних порушень уже на ранніх етапах життя. У таких пацієнток частіше спостерігаються тяжка ІР, гіперандрогенія, дисліпідемія та менструальні розлади, що значно підвищує ризик розвитку цукрового діабету 2 типу та серцево-судинних хвороб у майбутньому [73].

Ожиріння при СПКЯ не лише поглиблює ІР і метаболічний зсув, але й чинить суттєвий вплив на стан серцево-судинної системи. Деякі дослідники наголошують, що СПКЯ є гендер-специфічним кардіометаболічним фактором ризику [74]. Зокрема, роль біомедіаторів у формуванні ризику серцево-судинних ускладнень при СПКЯ переважно пов'язана з участю запальних цитокінів, адипокінів та оксидативного стресу. Підвищені рівні інтерлейкінів (ІЛ), фактора некрозу пухлин α, лептину та зниження адипонектину сприяють ендотеліальній дисфункції, атерогенезу та прогресуванню ІР. Ці патофізіологічні процеси формують сприятливе тло для розвитку гіпертензії, атеросклерозу та ішемічної хвороби серця у жінок із СПКЯ [75-77].

Низка досліджень виявили, що жінки із СПКЯ мають значно вищу поширеність депресії, тривожних розладів та високого рівня суб'єктивно сприйманого стресу порівняно з жінками без цього діагнозу. Психоемоційні порушення при СПКЯ можуть бути зумовлені як фізичними симптомами

(гіперандрогенія, безпліддя, метаболічні розлади), так і соціально-психологічними чинниками, включно з низькою самооцінкою та зниженням якості життя [76-80]. Серед ключових спільних ланок автори виділяють хронічне запалення низької інтенсивності, ІР, гіперандрогенію, дисбаланс гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової вісі та зміни нейротрансмітерних систем. Ці механізми можуть впливати як на соматичні прояви СПКЯ, так і на розвиток афективних порушень, формуючи замкнене коло, що ускладнює лікування [81-83].

Відзначають підвищену поширеність бронхіальної астми серед жінок з СПКЯ, що може бути зумовлено поєднанням хронічного системного запалення, ожиріння, гормонального дисбалансу та ІР [82-85].

1.3. Методи моделювання синдрому полікістозних яєчників

В експериментальній медицині існують різні методи моделювання СПКЯ, які нами були розподілені на групи, що представлено на рисунку 1.2.

Гормональні моделі СПКЯ є одним із найбільш відтворюваних і широко застосовуваних для вивчення патогенезу цього розладу. Їх принцип полягає у введенні ендогенних або синтетичних гормонів, а також інгібіторів ферментів стероїдогенезу, що призводить до відтворення ключових репродуктивних і, за потреби, метаболічних характеристик СПКЯ.

Так, індукція СПКЯ за допомогою естрадіолу валерату є класичною й однією з найбільш поширених для відтворення патології у гризунів. Одноразове його введення викликає тривалу естрогенну стимуляцію, яка призводить до порушення гіпоталамо-гіпофізарно-яєчникової регуляції, стійкої ановуляції та формування полікістозної морфології яєчників. Зокрема, у одному з досліджень через 60 днів після введення естрадіолу валерату у щурів спостерігається порушення циклу, множинні фолікулярні кісти та виражені гістологічні зміни ендометрію: потовщення слизової оболонки, підвищення висоти епітелію, збільшення кількості еозинофілів та мітотичної активності [86].



Рис. 1.2. Методи моделювання СПКЯ.

За допомогою введення естрадіолу валерату досліджувалися молекулярні механізми оваріальної дисфункції, які полягали у зниженні експресії генів TGFB1, GDF9 та BMPR2 у преантральних фолікулах, що порушує їх ріст і диференціацію. Важливо, що модель у цьому дослідженні супроводжувалася ановуляцією, ожирінням і полікістозною морфологією, але без гіперандрогенізму, що підкреслює її корисність для вивчення неандрогензалежних механізмів патології [87]. Щодо системних ефектів, увагу привертають зміни гематологічних та гемореологічних параметрів. Введення естрадіолу валерату спричиняло зміни кількості формених елементів крові, в'язкості та деформабельності еритроцитів, що вказує на можливість використання цієї моделі для дослідження судинних та мікроциркуляторних ускладнень СПКЯ [88]. На моделях із застосуванням естрадіолу валерату можливо дослідити також роль симпатичної іннервації в патогенезі СПКЯ, показавши, що фармакологічна симпатична денервація запобігає розвитку ключових ознак синдрому – ановуляції, полікістозної морфології та гормональних порушень [89].

Інгібітор ароматази летрозол також широко застосовується для відтворення фенотипу СПКЯ у тваринних моделях завдяки його здатності блокувати

конверсію андрогенів в естрогени, через що його також можна віднести до гормональних моделей. Отриманий гормональний зсув призводить до гіперандрогенії, порушення менструального циклу та формування полікістозної морфології яєчників [90]. На щурах летрозол також ефективно індукує комплекс симптомів, притаманних СПКЯ у людини: підвищені рівні тестостерону та ЛГ, ановуляція, полікістоз яєчників, ІР та ожиріння [91].

Дигідротестостерон (ДГТ) є потужним неметаболізованим андрогеном, здатним стабільно активувати андрогенові рецептори та спричиняти репродуктивні, метаболічні й імунні порушення, характерні для СПКЯ. Його хронічне введення в доклінічних моделях (щури та миші) призводить до стійкої ановуляції, гіперандрогенізму та полікістозної морфології яєчників, що робить ДГТ-індукцію одним із найбільш відтворюваних та стандартизованих підходів для дослідження патогенезу СПКЯ. Експериментально було продемонстровано, що тривала постнатальна індукція СПКЯ у щурів за допомогою ДГТ відтворює ключові репродуктивні прояви синдрому, зокрема гіперандрогенізм, ановуляцію та морфологічні зміни яєчників. Модель створювали шляхом імплантації силіконових капсул, наповнених 5α-ДГТ, що забезпечувало стабільний підвищений рівень андрогенів у крові [92].

Дегідроепіандростерон (ДГЕА) є одним із ключових андрогенів, що продукується переважно надниркovими залозами та, у меншій мірі, яєчниками, і виконує роль попередника більш потужних андрогенів і естрогенів. Підвищений рівень ДГЕА пов'язаний із гіперандрогенізмом, дисфункцією овариального циклу та метаболічними порушеннями, що робить його не лише біомаркером, але й потенційним патогенетичним чинником у розвитку СПКЯ. Така чітка клінічна кореляція обґрунтовує використання екзогенного ДГЕА для індукції фенотипу СПКЯ в експериментальних тваринних моделях, де відтворюються ключові репродуктивні та метаболічні прояви синдрому [93]. Зокрема, введення ДГЕА призводить до підвищення рівнів ЛГ, тестостерону, збільшення маси тіла, порушення естрального циклу та формування полікістозної морфології яєчників, що відтворює ключові клінічні ознаки СПКЯ у людини [94].

Тривале годування гризунів дієтою з високим вмістом жиру є основним метаболічним методом моделювання СПКЯ, що ґрунтується на індукції ІР, гіперінсулінемії та метаболічного стресу, які сприяють розвитку гіперандрогенії та порушень овуляції. Така модель особливо цінна для відтворення метаболічного компонента СПКЯ, хоча морфологічні зміни в яєчниках при її застосуванні не завжди виражені [95].

Також дослідження продемонстрували, що високожирова дієта посилює як метаболічні, так і репродуктивні прояви СПКЯ, коли використовується в поєднанні з класичною моделлю, індукованою естрадіолу валератом. У щурів, які отримували таку комбінацію, відзначалися більш виражені ожиріння, гіперінсулінемія, ІР і полікістозна морфологія яєчників, а також підвищені маркери оксидативного стресу, що вказує на його роль у патогенезі синдрому [96].

Ще одна комбінована модель поєднує високожирову дієту з введенням летрозолу. Така комбінація викликала у щурів ІР, гіперінсулінемію та виражені морфологічні зміни в яєчниках: стійку ановуляцію, множинні фолікулярні кісти та потовщення фолікулів [97].

Поєднання високожирової дієти з індукцією ДГЕА є вдосконаленою метаболічно-гормональною моделлю СПКЯ, яка при безперервному впливі відтворює як репродуктивні, так і метаболічні характеристики синдрому [98].

Перинатальні моделі СПКЯ базуються на концепції так званого «внутрішньоутробного програмування» (fetal programming), відповідно до якої гормональний вплив у критичні періоди розвитку плода, як пренатально, так і в ранньому постнатальному періоді, можуть спричиняти тривалі зміни у функціонуванні репродуктивної, метаболічної та ендокринної систем. Одним із ключових патогенетичних факторів вважається надлишковий андрогенний вплив у цей період. Він здатний запускати каскад гормональних та епігенетичних змін, які зберігаються протягом життя та у дорослому віці проявляються фенотипом, подібним до СПКЯ (стійкою гіперандрогенією, порушенням овариального циклу, ІР, ожирінням і змінами в морфології яєчників) [99].

Дослідження на моделі макак-резусів продемонструвало, що пренатальна андрогенізація викликає стійкі епігенетичні зміни, зокрема модифікації метилування дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК) у генах, що регулюють стероїдогенез (наприклад, CYP19A1, що кодує ароматазу) та чутливість до інсуліну. Ці зміни зберігалися у дорослих тварин, незалежно від подальшого гормонального впливу, і корелювали з гіперандрогенією, ановуляцією та метаболічними порушеннями. У такий спосіб було підтверджено, що надлишок андрогенів у критичний період здатний «перепрограмовувати» генну експресію на десятиліття вперед [100].

Огляд, який охоплював дані як з людських, так і з тваринних моделей, систематизував відомості про ключові гени-мішені епігенетичного перепрограмування. Серед них були гени стероїдогенезу (CYP19A1, STAR), регулятори функції гранульозних клітин і гіпоталамо-гіпофізарної вісі. Автори підкреслюють, що ці зміни можуть підтримувати гіперандрогенний стан навіть у відсутності подальшого надлишку гормонів [101].

На моделі щурів було порівняно наслідки ранньої та пізньої пренатальної андрогенізації. Рання експозиція на початку гестації призводила до більш виражених репродуктивних (ановуляція, зменшення кількості жовтих тіл, фолікулярні кісти) та метаболічних (збільшення маси тіла, ІР) змін порівняно з пізньою [102]. До того ж навіть короткий період пренатальної андрогенізації у щурів здатний запрограмувати розвиток метаболічного синдрому у дорослому віці. Потомство самок, підданих впливу андрогенів, мало абдомінальне ожиріння, ІР, гіперінсулінемію та дисліпідемію. Тобто навіть нетривалий, але інтенсивний гормональний вплив у критичні фази розвитку плода може закласти основу для тривалих метаболічних порушень [103]. При цьому ефект пренатальної андрогенізації може проявлятися ще до досягнення зрілого віку. У пубертатних щурів жіночої статі, що зазнали пренатального впливу надлишкових андрогенів, спостерігали збільшення маси тіла, гіперінсулінемію, погіршену толерантність до глюкози та зміни ліпідного профілю [103].

Генетичні моделі СПКЯ є ключовим інструментом для з'ясування причинно-наслідкових зв'язків між молекулярними дефектами та клінічними проявами. Серед наявних генетичних моделей для вивчення фенотипів, подібних до СПКЯ, виокремлюють методи з нокаутом (knock-out) або трансгенними модифікаціями генів, що регулюють стероїдогенез (наприклад, Cyp19a1, Esr1), синтез гонадотропінів і дію інсуліну. Так, миші з нокаутом рецептора естрогену α демонструють хронічну ановуляцію, гіпертрофію текальних клітин та накопичення преантральних фолікулів, що відповідає морфології полікістозних яєчників. Моделі з модифікацією гена Lhcgr (рецептор ЛГ) дозволяють відтворити порушення овуляції та гіперплазію текальних клітин. Окремі лінії з порушеннями інсулінового сигналінгу відображають метаболічний компонент СПКЯ [104]. Також описуються миші з дефіцитом рецептора прогестерону, у яких відсутній лютеїновий зсув, що нагадує порушення циклічності при СПКЯ. Окремо розглядаються моделі з модифікаціями гена Fshr (рецептор ФСГ), що призводять до порушення росту фолікулів і підвищення рівня андрогенів. Огляд підкреслює, що генетичні моделі важливі для ідентифікації ключових гормональних і внутрішньоклітинних шляхів, залучених у розвиток синдрому [105].

За допомогою генетичних моделей мишей із селективною модифікацією інсулінового сигналінгу ученими було розглянуто роль гіперінсулінемії та ІР в патогенезі СПКЯ. У моделях із нокаутом інсулінового рецептора у нейронах, що продукують гонадотропін-рилізинг-гормон, спостерігалося зменшення гіперстимуляції секреції ЛГ у відповідь на інсулін, що зазвичай характерно для СПКЯ. Крім того, при нокауті інсулінового рецептора у гіпофізі ефекти гіперінсулінемії на репродуктивну систему також значно зменшувалися. Тобто цільове блокування інсулінового сигналу в окремих тканинах допомагає з'ясувати, які ланки осі «інсулін-гіпоталамус-гіпофіз-яєчники» є ключовими в розвитку фенотипу СПКЯ [127].

1.4. Вплив холодових факторів на організм людини та їх терапевтичні можливості

Холодові фактори здатні чинити вплив на організм як у локальній, так і в загальній формі, що визначається площею їх охоплення та глибиною проникнення. За характером застосування вони поділяються на контрольовані та неконтрольовані.

Локальні впливи охоплюють лише обмежену ділянку тіла та характеризуються цілеспрямованим охолодженням вибраної зони. Прикладами є місцеве прикладання льоду або кріопакетів з метою знеболення та зменшення набряку, а також кріоліполіз – метод локального «заморожування» підшкірної жирової тканини. Останній реалізується шляхом контрольованого охолодження жирового прошарку до температури, що індукує селективний апоптоз адипоцитів без ушкодження навколишніх тканин [106]. Надалі пошкоджені жирові клітини елімінуються шляхом фагоцитозу макрофагами, що призводить до поступового зменшення товщини жирового шару [107]. До інших методів локальної кріотерапії належать холодові аплікації на суглоби, використання охолоджувальних спреїв, які забезпечують місцевий аналгетичний, протизапальний і протинабряковий ефекти.

Загальний вплив охоплює охолодження всього організму та супроводжується системними фізіологічними реакціями. До таких форм впливу належить, зокрема, загальна кріотерапія, під час якої пацієнт короткочасно перебуває у спеціальній кріокамері при наднизьких температурах (найчастіше нижче - 100°C упродовж 2-3 хвилин). Така процедура забезпечує вплив холоду на більшу частину поверхні тіла та стимулює комплексну терморегуляторну відповідь організму [108].

Контрольовані впливи відзначаються чітким регламентуванням температурних параметрів і тривалості експозиції, що дозволяє забезпечити відтворюваність результатів і мінімізувати ризики для пацієнта. До цієї групи належать як локальні процедури (наприклад, кріоліполіз), так і загальні методики

(сеанси кріостимуляції в кріокамері) [108]. У контрольованих умовах параметри впливу підбираються індивідуально та дозволяють активувати бажані фізіологічні реакції без розвитку переохолодження для отримання дозованої терморегуляторної відповіді та зниження рівня маркерів запалення Окремим різновидом контрольованого холодового впливу є терапевтична гіпотермія, тобто навмисне зниження температури тіла, яке застосовується в умовах реанімації або кардіохірургії для зменшення метаболічних потреб тканин і захисту від ішемічно-реперфузійного ушкодження [109].

До неконтрольованих факторів належить дія холоду за випадкових або природних обставин, коли температура, тривалість та інтенсивність охолодження не регулюються та не піддаються дозуванню. Серед них виділяють природні фактори (екстремально низькі температури довкілля, сильний вітер, підвищена вологість) та екстремальні побутові чи виробничі умови (тривале перебування на холоді без належного захисту, аварійне занурення в крижану воду, перебування у горах або на відкритих водоймах у зимовий період). Подібний вплив може призвести до розвитку загальної гіпотермії, що супроводжується прогресуючим пригніченням функцій життєво важливих органів. Крім того, неконтрольоване охолодження є причиною локальних холодових травм (обморожень), які можуть уражати шкіру, підшкірну клітковину, м'язи та кісткову тканину [110]. На відміну від контрольованих впливів, які спрямовано активують адаптаційні механізми, неконтрольовані холодові фактори запускають ті ж самі фізіологічні реакції, але надмірно за тривалістю, частотою та мірою впливу, що спричиняє ушкодження тканин. Патогенетично це проявляється вазоспазмом і ішемією на етапі охолодження, а під час зігрівання – надмірною вазодилатацією, підвищенням проникності судин та розвитком набряку, що у важких випадках призводить до некрозу тканин, як при тяжких формах обморожень [111]. Тобто саме ступінь контрольованості впливу визначає, чи буде холодовий фактор корисним терапевтичним стимулом або шкідливим стресором для організму.

Вплив холодового фактору на організм ініціює багаторівневий каскад патофізіологічних реакцій, що охоплює судинну, нейроендокринну та клітинно-

молекулярну ланки регуляції. Так, вплив холоду на шкіру та підшкірні тканини насамперед активує рефлекторну вазоконстрикцію периферичних судин, що реалізується через симпатичну нервову систему та вивільнення вазоактивних медіаторів [112]. Звуження артеріол і прекапілярних сфінктерів у поверхневих шарах зменшує кровотік, що знижує тепловтрати та підвищує теплоізоляцію внутрішніх органів. Цей процес клінічно проявляється побліднінням і зниженням температури шкіри. При тривалішій експозиції холоду або досягненні критично низької температури тканин відбувається реактивна вазодилатація або феномен Льюїса. Це адаптивна відповідь, спрямована на попередження ішемічного ушкодження тканин, яка полягає у короткочерговому розширенні судин після початкового спазму з відновленням кровопостачання та підвищенням локальної температури. Характерною особливістю цього процесу є ритмічне чергування періодів вазоконстрикції та вазодилатації, що забезпечує баланс між збереженням тепла та періодичним надходженням кисню й поживних речовин до охолоджених ділянок. При локальному прикладанні холоду (наприклад, льоду) почервоніння шкіри, зумовлене вазодилатацією, зазвичай виникає через 5-10 хвилин від початку процедури. Така циклічна судинна реакція не лише захищає тканини від гіпоксичного ушкодження, але й сприяє виведенню продуктів метаболізму після відновлення перфузії [113].

Стрес внаслідок впливу холоду ініціює активацію симпато-адреналової системи, що є однією з провідних ланок терморегуляторної відповіді організму [114].

Підвищення рівня катехоламінів, насамперед, норадреналіну має ключове значення для індукції термогенезу [115]. Паралельно холодовий фактор активує гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдну вісь, що проявляється підвищенням рівня тиреотропного гормону і периферичних тиреоїдних гормонів (вільних T_4 і T_3) вже протягом перших 30 хвилин експозиції. Активація щитоподібної залози в умовах дії холоду є компенсаторною реакцією, спрямованою на посилення основного обміну, підвищення теплопродукції та підтримання гомеотермії [114].

Охолодження ініціює низку змін і на клітинному рівні, спрямованих як на генерацію тепла, так і на захист від пошкодження. В бурій жировій тканині холодова стимуляція викликає термогенез [115]. Окрім цього, внаслідок холодового впливу спостерігається певна стабілізація клітинних мембран і уповільнення метаболічних процесів. Зниження температури тканин пригнічує активність ферментів та уповільнює клітинний метаболізм, що веде до меншого утворення вільних радикалів і цитотоксичних метаболітів [113].

Холод також модулює запальну відповідь шляхом зниження активності прозапальних медіаторів [116]. Зниження вивільнення запальних медіаторів та ексудації при дії холоду пояснює його клінічний протизапальний і протинабряковий ефект, що використовується при травмах і в реабілітації. Важливим клітинним механізмом холодового впливу є індукція апоптозу в чутливих до холоду клітинах [106].

Окрім системних судинних, нейроендокринних та клітинно-молекулярних реакцій особливе значення у відповіді організму на холод відіграє жирова тканина. Саме вона виступає не лише пасивним енергетичним депо, але й активним термогенним органом, здатним швидко змінювати метаболічний статус у відповідь на холодові стимули.

Біла жирова тканина спеціалізується на запасанні тригліцеридів і ендокринній регуляції метаболізму, тому її термогенна активність відносно невисока порівняно з бурою жировою тканиною [117]. Бура жирова тканина виконує терморегуляторну функцію шляхом нескоротливого термогенезу. Мітохондрії бурого жиру експресують роз'єднувальний білок uncoupling protein 1 (UCP1), що «роз'єднує» окиснення жирних кислот від синтезу аденозинтрифосфату (АТФ) і виділяє енергію у вигляді тепла [118].

Холод впливає на жирову тканину кількома ключовими механізмами. По-перше, він активує буру жирову тканину шляхом β_3-адренергічної стимуляції через шлях PGC-1α. Під дією низьких температур симпатична нервова система вивільняє норадреналін, який взаємодіє з β_3-адренорецепторами бурих адипоцитів, запускаючи сигнальний каскад cAMP/PKA. Це підвищує експресію

коактиватора PGC-1α, що, у свою чергу, активує транскрипцію термогенних генів, зокрема UCP1, і стимулює розщеплення тригліцеридів для продукування тепла. У такий спосіб холодова стимуляція посилює активність бурого жиру та термогенез [119].

По-друге, низькі температури можуть спричиняти вже згадане явище «browning» білої жирової тканини, тобто перетворення частини білих адипоцитів на бежеві. Цей процес супроводжується збільшенням кількості мітохондрій у клітинах, появою множинних дрібних жирових крапель та активацією характерних термогенних генів (UCP1, PGC-1α, PRDM16, CIDEA) [120]. Бежеві адипоцити здатні розсіювати енергію у вигляді тепла, що підвищує загальний рівень енергетичного обміну, сприяє зменшенню жирової маси та покращенню метаболічних показників [121].

По-третє, при глибокому охолодженні (приблизно -5…-10°C) відбувається апоптоз адипоцитів. Жирові клітини більш чутливі до низьких температур ніж інші тканини, і під дією холоду в них утворюються кристали ліпідів, що ушкоджують клітинні структури та запускають програмовану загибель клітини. Цей механізм лежить в основі кріоліполізу [122]. Надалі ці клітини елімінуються завдяки запальній відповіді та фагоцитозу, що призводить до зменшення товщини жирового шару у зоні впливу.

Терапевтичне застосування холодового фактора охоплює широкий спектр методів, кожен з яких реалізує специфічні фізіологічні механізми та має власний профіль клінічних показань.

Повертаючись до проблеми СПКЯ дані літератури свідчать про те, що контрольований вплив на організм холоду є перспективним інструментом не тільки для нормалізації маси тіла, але й у лікуванні та профілактиці СПКЯ за рахунок активації бурої жирової тканини.

Бурий жир є високоспеціалізованим типом жирової тканини, насичений мітохондріями, які експресують роз'єднувальний білок (UCP1). На відміну від білого жиру, який є енергетичним депо, бурий жир активно витрачає енергію, перетворюючи її на тепло через нескоротливий термогенез. Ця властивість робить

його ключовим елементом у регуляції енергетичного балансу, чутливості до інсуліну та гомеостазу глюкози. Так, існують дані, які підтверджують, що знижена активність бурого жиру має тісний зв'язок з ожирінням, інсулінорезистентністю та ендокринними порушеннями, притаманними для СПКЯ. Автори підкреслюють, що стимуляція бурого жиру через холодову експозицію, фізичні вправи, дієтичні біоактивні сполуки або фармакологічні агенти може сприяти не лише зменшенню маси тіла, а й нормалізації гормонального профілю, що буде проявлятися у тому числі зниженням рівня андрогенів та відновленням овуляторної функції [123].

Під впливом холоду відбувається стимуляція вироблення та вивільнення іризину зі скелетних м'язів. Іризин є продуктом протеолітичного розщеплення мембранного білку 5, що містить домен фібронектина III типу (FNDC5) [124]. Його вважають ключовою сигнальною молекулою, яка опосередковує метаболічні та ендокринні ефекти скелетних м'язів на інші тканини. Іризин здатний підвищувати енергетичні витрати через активацію бурого жиру, зменшувати інсулінорезистентність, модулювати запальні процеси та впливати на функцію репродуктивної системи [125]. У контексті профілактики СПКЯ він розглядається як перспективна мішень, оскільки здатний одночасно впливати на ключові патогенетичні ланки, тобто хронічне низькорівневе запалення, оксидативний стрес, дисбаланс статевих гормонів та порушення фолікулогенезу. Іризин, індукований холодом та фізичною активністю, чинить прямий протекторний вплив на гранульозні клітини яєчників при СПКЯ. Дослідники показали, що іризин пригнічує патологічну активацію ендоплазматичного стресу та ланцюг реакцій, при якому стрес ендоплазматичного ретикулума активує сенсор IRE1α, що підвищує рівень білка TXNIP, пригнічує антиоксидантний захист і сприяє накопиченню активних форм кисню. Це призводило до нормалізації мікросередовища фолікулів, зменшення атрезії та підвищення шансів на дозрівання домінантного фолікула, що особливо важливо для запобігання репродуктивним ускладненням у жінок із ризиком розвитку СПКЯ [126].

Резюме

СПКЯ відноситься до найпоширеніших ендокринних розладів у жінок, що супроводжується порушеннями морфофункціонального стану майже всіх органів і систем. Враховуючи останнє обґрунтовано цей синдром вважають мультисистемною проблемою, для корекції якого потрібен комплексний підхід. Проведений аналіз літератури засвідчив, що механізми розвитку СПКЯ є складними, багатофакторними, дискутабельними та не повністю з'ясованими, що актуалізує проведення комплексних клініко-експериментальних досліджень.

З метою моделювання СПКЯ в експериментальній медицині існують численні моделі, які характеризуються певними недоліками та перевагами. Гормональні моделі СПКЯ є найбільш відтворюваними і широко застосованими для вивчення патогенезу цього розладу.

Висока розповсюдженість СПКЯ та його наслідки вимагають проведення досліджень, спрямованих не тільки на з'ясування механізмів розвитку зазначеної патології, але й на пошук ефективних методів лікування та профілактики розвитку цього синдрому у жінок. Одним із перспективних інструментів у боротьбі з зазначеною патологією може бути холодова активація бурої жирової тканини. На сьогодні залишаються не повністю вивченими, по-перше, механізми активації бурої жирової тканини під впливом холоду; по-друге, механізми холодового впливу, що лежать в основі попередження розвитку СПКЯ. Останні факти актуалізують проведення даного дисертаційного дослідження.

РОЗДІЛ 2
МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дисертаційна робота виконана впродовж 2018-2022 рр. на базі кафедри загальної та клінічної патофізіології імені Д.О. Альперна ХНМУ (завідувач кафедри – проф. М.С. Мирошниченко), кафедри біологічної хімії ХНМУ (завідувачка кафедри – проф. О.А. Наконечна), Науково-дослідного інституту експериментальної та клінічної медицини ХНМУ (в.о. директора – ст. н. с. В.Ю. Прокопюк), Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук (НАН) України (директор – проф. О.Ю. Петренко), Товариства з обмеженою відповідальністю «Медичний центр «Марія» (директорка – О.А. Неєсалова).

Відповідно до поставлених завдань дисертаційне дослідження було проведено в чотири етапи. Схематичне зображення етапів дисертаційного дослідження представлено на рисунку 2.1.



Рис. 2.1. Етапи дисертаційного дослідження.

На ***першому етапі*** було проведено експеримент на 40 статевонезрілих самицях щурів популяції WAG віком 27 днів та масою тіла 80-90 г в експериментально-біологічній клініці Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України. Проведене експериментальне дослідження повністю відповідало загальноприйнятим вимогам «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986) та Директиви Європейського Союзу 2010/10/63 ЄС щодо експериментів на тваринах. Перед проведенням експерименту щури пройшли акліматизацію протягом 21 доби. Щурів утримували в стандартних умовах віварію (температура повітря – 20±2°С, відносна вологість – 60±10%, освітлення – 300 Люкс.) в алюмінієвих клітках розміром 41×41×20 см по 4 особини.

Тривалість експерименту на тваринах становила 25 діб. Протягом експерименту кожного дня тварин зважували, контролювали загальний стан, аналізували кількість вжитої їжі та випитої води. Усі маніпуляції на тваринах проводили кожного дня з 8-00 до 12-00.

Під час експерименту всі тварини були розподілені на 5 груп (по 8 тварин у кожній групі) (рис. 2.2).

До групи 1 було віднесено інтактних щурів, які не піддавалися будь-яким маніпуляціям.

До групи 2 увійшли щури, яким щоденно протягом 25 діб підшкірно вводили 0,2 мл очищеної та стерилізованої оливкової олії.

До групи 3 було віднесено тварин, які щоденно протягом 25 діб піддавались переривчастому холодовому впливу. Останній моделювали шляхом щоденного витримування тварин протягом 4 годин у камері, в якій підтримували світловий режим і температуру + 4°С. Останні 20 годин доби тварини перебували у звичайних умовах. Моделювання переривчастого холодового впливу не призвело до загибелі щурів.

До групи 4 було віднесено щурів, яким моделювали СПКЯ. Методика моделювання СПКЯ була розроблена та запатентована нами раніше [127]. Згідно останньої щурам протягом 25 діб щоденно підшкірно вводили ДГЕА (Sigma-

Aldrich, США) у дозі 8 мг на кожні 100 г маси тіла тварини, розчиненого в 0,2 мл очищеної та стерилізованої оливкової олії. Ефективність методики була підтверджена морфологічним дослідженням, під час якого в яєчниках було виявлено кісти різних розмірів, кістознозмінені фолікули, відсутність жовтих тіл, збільшення питомого об'єму атретичних фолікулів, зменшення питомого об'єму примордіальних та зростаючих фолікулів, збільшення товщини шару теки в третинних фолікулах.

До групи 5 увійшли щури, яким на тлі переривчастого холодового впливу вводили ДГЕА. Методика моделювання переривчастого холодового впливу була подібна до тої, що використовувалася в групі 3, а введення ДГЕА – до групи 4.



Рис. 2.2. Розподіл щурів на групи.

У групі 1 один раз на день, а в групах 3 і 5 щоденно перед та після охолодження вимірювали температуру шкіри на спині за допомогою цифрового

інфрачервоного термометра (Microlife IR 1DE1, Швейцарія). Результати вимірювання температури тіла у щурів груп 1, 3 та 5 наведено на рисунку 2.3. У щурів групи 1 температура тіла відповідала фізіологічній нормі. У групах 3 і 5 були виявлені подібні зміни температури тіла. Так, з 1 по 6 добу експерименту температура тіла знижувалася порівняно з групою 1, що є адекватною реакцією організму на дію холодового фактору. З 7 доби експерименту температура тіла підвищувалася і практично досягала значення показника групи 1, що є проявом адаптативної реакції організму тварини. Значення температури тіла в групах 3 і 5, як зазначено на рисунку 2.3, було однаковим, що свідчило про відсутність впливу введення щурам ДГЕА на терморегуляторну функцію.

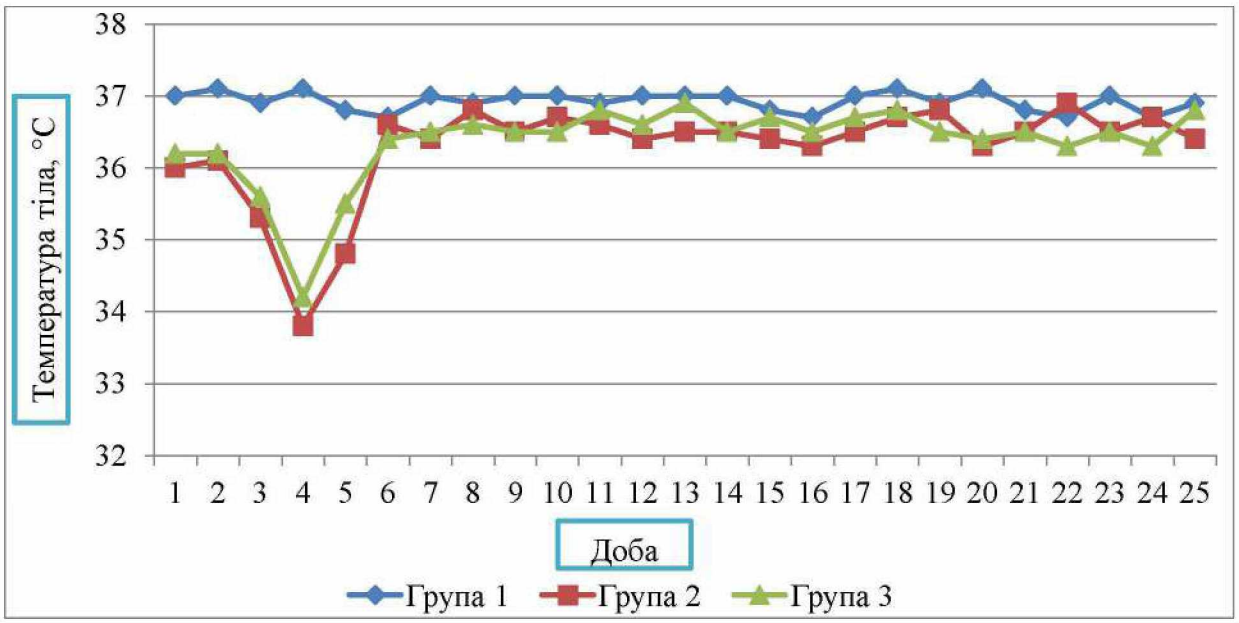


Рис. 2.3. Результати вимірювання температури тіла у щурів груп 1, 3 та 5 з 1 по 25 добу експерименту.

Щури груп 1-5 на 26 добу були виведені з експерименту шляхом цервікальної дислокації.

Під час виведення тварин з експерименту відбирали цільну кров для біохімічного дослідження; вимірювали масу тіла, яєчників та надниркових залоз з подальшим визначенням відносної маси органів; вирізали фрагменти жирової

тканини з міжлопаткової ділянки, паранефральної клітковини, яєчники та надниркові залози.

На ***другому етапі*** дисертаційного дослідження було проведено дослідження крові експериментальних тварин. Дослідження основних показників крові щурів груп 1-5 проводили на базі Науково-дослідного інституту експериментальної та клінічної медицини та кафедри біологічної хімії ХНМУ, Товариства з обмеженою відповідальністю «Медичний центр «Марія».

Після декапітації тварин цільну кров відбирали у вакутейнери, що містили дикалієву сіль етилендіамінтетраоцтової кислоти (IMPROVACUTER Evacuated EDTA K2 Spray Suated PET Tubs, Гуанчжоу, Китай). Протягом 2 годин на холоду проби крові транспортували до Науково-дослідного інституту експериментальної та клінічної медицини ХНМУ, де проводилося дослідження крові на проточному цитометрі з метою оцінки рівня генерації АФК лейкоцитами, їх життєздатності та стадій клітинної смерті; рівня генерації АФК еритроцитами та інтенсивності ериптозу.

Отримання суспензії лейкоцитів крові щурів для оцінки рівня генерації АФК лейкоцитами, їх життєздатності та стадій клітинної смерті

Проводилося лізування та проби промивалися двічі розчином Pharmalyse (BD Pharmlyse™ Lysing Buffer, партія 0070764, Сан-Хосе, США). Зразки крові в кількості 100 мкл вносили у пробірку з полістирола розміром 12×75 мм (Falcon, 5 ml Polysterene Round-Bottom Tube, Corning Science Mexico, S.A. de C.V., Mexico), додавали 2 мл 1х FACSLyse розчину (BD FACS™ Lysing Solution, Becton, Dickinson and Company BD Biosciences, 9029989, Сан Хосе, США). Перемішували та інкубували в темряві при температурі 23°С протягом 15 хвилин. Далі протягом 5 хвилин центрифугували при 500g. Надосадову рідину виливали та додавали 2 мл натрій-фосфатного буферу (PBS, pH 7,4; BDTM Cell Wash, Польща).

Нами були використані суспензії лейкоцитів для подальшої оцінки генерації АФК життєздатними лейкоцитами. Для виявлення рівня внутрішньоклітинної концентрації АФК використовували флуоресцентний барвник 2',7'-дихлордигідрофлуоресцеїн діацетат (H2DCFDA). Молекула цього барвника за

умов дії естераз розщеплюється з утворенням 2',7'-дихлордигідрофлуоресцеїну, який за допомогою АФК перетворюється на високофлуоресцентний 2', 7'-дихлорфлуоресцеїн (DCF).

Для визначення інтенсивності флюоресценції використовували канал FL-1. Середню інтенсивність флюоресценції (MFI) дихлорфлюоресцеїну аналізували згідно програмного забезпечення BD FACS Diva (США).

Забарвлення суспензії лейкоцитів анексином V FITC та 7-AAD для аналізу життєздатності та видів клітинної смерті лейкоцитів

Після проведеного лізування еритроцитів та подальшого відмивання клітини ресуспендували в 1 мл анексин-зв'язуючого буфера (BD Pharmingen™ Annexin V Binding Buffer, партія 8145742, BD Biosciences, Сан-Хосе, США). Далі аліквоти (100 мкл) інкубували з анексином V, міченим флуоресцеїном ізотіоціанатом (FITC) (BD Pharmingen™ FITC-Annexin V, партія 8311824, BD Biosciences, Сан-Хосе, США).

Потім додавали до суспензій лейкоцитів 5 мкл 7-аміноактиноміцину D (7-AAD, BD Pharmingen™, партія 8263992, BD Biosciences, Сан-Хосе, США), інкубували протягом 20 хвилин та додавали 400 мкл однократного анексин-зв'язуючого буфера. Флуоресценцію 7-AAD визначали в каналі FL-3. Життєздатність лейкоцитів та шляхи їх загибелі визначали за допомогою проточного цитометра FACS Canto II (Becton Dickinson, США), де за одне вимірювання підраховували 10000 подій. Для оцінки результатів проточної цитометрії використовували програмне забезпечення FACSDiva™ (Becton Dickinson, США).

Кон'югований з барвником анексин V, як відомо, здатний мітити фосфатидилсерин, ранній маркер апоптозу, на позаклітинній мембрані. На пізній стадії апоптозу, коли цілісність клітини пошкоджена, він зв'язує фосфатидилсерин на внутрішній стороні плазматичної мембрани. 7-AAD – це флуорохром, який проникає через клітинну мембрану, зв'язується з дволанцюговою ДНК і може використовуватися для забарвлення нежиттєздатних клітин [128].

У подальшому було проведено гейтування та визначені життєздатні лейкоцити (анексин V^-, 7-AAD^-); лейкоцити, що знаходяться на початковій стадії апоптозу (анексин V^+, 7-AAD^-); лейкоцити, що знаходяться на пізній стадії апоптозу (аннексин V^+, 7-AAD^+); некротично змінені лейкоцити (анексин V^-, 7-AAD^+). Зазначений аналіз життєздатності лейкоцитів, з нашої точки зору, стосувався саме нейтрофільних лейкоцитів, адже в лейкоцитарній формулі на них припадає найбільший відсоток.

Отримання суспензії еритроцитів крові щурів для оцінки рівня генерації АФК еритроцитами та інтенсивності ериптозу

Цільну кров в кількості 100 мкл крові додавали до 12×75 мм пробірок з полістиролу, що містили 1 мл 0,9% NaCl, центрифугували протягом 5 хвилин при 1000 об/хв. Надосадову рідину виливали. Еритроцити ресуспендували в 1% NaCl, центрифугували як й в попередній раз. Змішували 1 мл 0,9% NaCl з 10 мкл еритроцитарної маси.

Дослідження генерації АФК в еритроцитах крові щурів з використанням барвника H2DCFDA

Відмиті еритроцити в кількості 2 мкл інкубували з робочим розчином H2DCFDA (Invitrogen™, США). Кінцева концентрація барвника становила 10 мкМ. Суспензії клітин у темряві інкубували протягом 30 хв, далі еритроцити двічі відмивалися та ресуспендувалися. Флуоресценція продукту 2',7'-дихлорфлуоресцеїну (DCF) після його утворення з нефлуоресцентного барвника H2DCFDA пропорційна внутрішньоклітинній концентрації АФК. Флуоресценцію DCF вимірювали в каналі FL1 за допомогою аналізатора клітин BD FACSCanto ™ II (BD Biosciences, США). Аналізували MFI DCF в еритроцитах.

Дослідження ериптозу шляхом оцінки переміщення фосфоліпіду фосфатидилсерину з внутрішнього шару мембрани до зовнішнього

Оцінювали транслокацію фосфатидилсерину із застосуванням фарбника – анексину V. Проби крові промивали, 2 мкл еритроцитів змішували з 500 мкл однократного анексин-зв'язуючого буферу (BD Pharmingen™ Annexin V Binding Buffer, BD Biosciences, Сан-Хосе, США). Інкубували 100 мкл цієї суміші з 5 мкл

анексину V, що був мічений флуоресцеїном ізотіоціанатом (FITC) (PharmingenTM FITC-Annexin V, BD Biosciences, Сан-Хосе, США). Зразки інкубували у темряві протягом 30 хвилин. Перед реєстрацією флуоресценції до зразків додавали 400 мкл однократного анексин-зв'язуючого буферу.

Флуоресценцію виявляли в каналі FL1. Для характеристики зв'язування анексину V з фосфатидилсерином визначали наступні дані: відсоток анексин V^+-еритроцитів, середню інтенсивність флуоресценції анексину V-FITC в еритроцитах та анексин V^+-клітинах. У кожній пробі реєстрували 10000 подій. Для досліджень використовували проточний цитометр BD FACSCanto ™ II (BD Biosciences, США) з використанням програмного забезпечення BD FACSDiva™ (Бектон Дікінсон, США).

На базі кафедри біологічної хімії ХНМУ, лабораторії Товариства з обмеженою відповідальністю «Медичний центр «Марія» було проведено визначення показників антиоксидантного захисту (СОД, церулоплазміну); ліпідного обміну (ЛПНЩ, ЛПВЩ, ЛПДНЩ, ТАГ, холестеролу); вуглеводного обміну (глюкози, інсуліну, індексу HOMA); гормонів стероїдної природи (кортизолу, естрадіолу, вільного та загального тестостерону, ДГЕАС); адипоцитокінів (адипонектину, лептину).

Для одержання сироватки крові пробірки з кров'ю термостатували протягом 20 хвилин з наступним центрифугуванням протягом 10 хвилин при 1500 об/хв. Плазму отримували шляхом центрифугування гепаринізованої крові протягом 20 хвилин при 3000 об/хв.

Вміст СОД в сироватці крові визначали імуноферментним методом за допомогою набору «Elabscience» (США) з використанням імуноферментного аналізатору Stat Fax 1904.

Методика визначення вмісту церулоплазміну в сироватці крові базується на реакції ферментативного окиснення парафенілендіаміну церулоплазміном. Розчин парафенілендіаміну (0,5%) готували безпосередньо перед використанням. Проби інкубували протягом однієї години у сухоповітряному термостаті при 37°С. Вміст

пробірок колориметрували при довжині хвилі 530 нм.

Вміст адипонектину в сироватці крові визначали імуноферментним методом за допомогою набору «Адипонектин ІФА» (Diagnostics Biochem Canada Inc., Онтаріо, Канада). Для дослідження використовували імуноферментний аналізатор Stat Fax 1904.

Вміст лептину в сироватці крові щурів визначали імуноферментним методом із застосуванням набору реактивів Rat LEP (Leptin) ELISA Kit. Принцип методу: специфічна взаємодія антигену з антитілом з утворенням зв'язаного з ензимом комплексу, що призводить до виникнення кольорової реакції після додавання субстрату. Оптичну густину вимірювали на біохімічному аналізаторі Stat Fax 303 Plus при довжині хвилі 450 нм.

Вміст кортизолу, естрадіолу, вільного та загального тестостерону, ДГЕАС в крові щурів визначали імуноферментним методом з використанням відповідних наборів реактивів Rat Cortisol ELISA Kit (LS-F27363), Rat Estrogen ELISA Kit (ER1505), Rat Free Testosteron ELISA Kit (EKS39065), Rat Testosteron Competitive ELISA Kit (LS-F10018), Rat DHEA ELISA Kit. Зчитували абсорбцію кожного мікропланшета на спектрофотометрі «Solar» PV-1251 C при довжині хвилі 450 нм. Вміст стероїдних гормонів у крові розраховували за калібрувальними кривими.

Вміст загального холестеролу, ТАГ, холестеролу ЛПВЩ визначали ензиматичним методом з використанням наборів реактивів фірми Rat Total Cholesterol ELISA Kit, Fine Test Rat TG ELISA Kit, Rat HDL ELISA Kit. Принцип методу ґрунтується на послідовних ензиматичних реакцій, результатом яких є утворення забарвленого комплексу. Оптичну густину вимірювали при довжині хвилі 500 нм на спектрофотометрі «Solar» PV-1251 C. Холестерол ЛПНЩ та ЛПДНЩ розраховували за формулами Фрідевальда: ЛПДНЩ = Загальний холестерол – (ЛПВЩ + ТАГ/2,2); ЛПДНЩ= ТАГ/2,2. Результати виражали в ммоль/л. Індекс атерогенності визначали за формулою: (загальний холестерол – ЛПВЩ) / ЛПВЩ.

Вміст глюкози в плазмі крові визначали глюкозоксидазним методом. Принцип методу: окиснення глюкози за умов дії глюкозоксидази з утворенням

глюконової кислоти та пероксиду водню, що в подальшому вступає в реакцію з хромогеном у присутності пероксидази. Утворюється забарвлена сполука, інтенсивність забарвлення якої проводили при довжині хвилі 505 нм на спектофотометрі «Solar» PV-1251 C.

Вміст інсуліну в сироватці крові щурів визначали імуноферментним методом із застосуванням наборів реактивів Rat INS (Insulin) ELISA Kit. Принцип методу: специфічна взаємодія антигену з антитілом з утворенням зв'язаного з ензимом комплексу, що призводить до виникнення кольорової реакції після додавання субстрату. Оптичну густину вимірювали на біохімічному аналізаторі Stat Fax 303 Plus при довжині хвилі 450 нм.

Індекс HOMA (Homeostatic Model Assessment), який є маркером інсулінорезистентності, визначали за формулою: індекс HOMA = (рівень інсуліну натще, мкОд/мл × рівень глюкози натще, ммоль/л) / 22,5.

Морфологічне дослідження експериментального матеріалу

На ***третьому етапі*** було проведено морфологічне дослідження експериментального матеріалу на кафедрі загальної та клінічної патофізіології імені Д.О. Альперна ХНМУ.

Для морфологічного дослідження були використані фрагменти жирової тканини з міжлопаткової ділянки, паранефральної клітковини, надниркові залози та яєчники. Зазначений матеріал фіксували в 10% розчині формаліну. Ущільнення тканин, фіксованих у формаліні, досягалося проведенням через спирти зростаючої концентрації, розчин Нікіфорова (96 % спирт та діетиловий ефір у співвідношенні 1:1), хлороформ та заливанням у парафін. З виготовлених блоків були зроблені серійні зрізи товщиною $4\text{-}5\times10^{-6}$ м для наступного забарвлення гематоксиліном та еозином.

Фрагменти жирової тканини з міжлопаткової ділянки, паранефральної клітковини були використані для імуногістохімічного дослідження, проведеного на адгезивних скельцях Super Frost Plus ("Menzel", Німеччина). Використовували систему детекції Master Polymer Plus Detection (Peroxidase, хромоген ДАБ) (Master Diagnostica, Spain), для високотемпературної обробки епітопів антигенів

цитратний буфер (pH 6,0), EDTA буфер (pH 8,0). Імуногістохімічне дослідження проводили з використанням мишачих моноклональних антитіл до CD68 (клон KP-1, Master Diagnostica, Іспанія) (маркер клітин макрофагального ряду), кролячих моноклональних антитіл до CD163 (клон EP324, Master Diagnostica, Іспанія) (маркер М2-макрофагів), CD86 (клон B7-2, Thermo Fisher Scientific, Великобританія) (маркер М1-макрофагів).

Мікропрепарати вивчали за допомогою мікроскопа ZEISS Primostar 3 (Carl Zeiss, Німеччина) з камерою Axiocam 208 color. За допомогою програми ZEISS ZEN 3.6 (blue edition) було проведено морфометричне дослідження, під час якого в яєчниках визначали товщину білкової оболонки; питомий об'єм строми, питомий об'єм жовтих тіл, питомий об'єм кістознозмінених фолікулів і кіст, питомий об'єм атретичних фолікулів, питомий об'єм зростаючих фолікулів, питомий об'єм примордіальних фолікулів у кірковій речовині; товщину шару текальних клітин третинних фолікулів. У надниркових залозах визначали товщину кіркової та мозкової речовини; товщину клубочкової, пучкової та сітчастої зон у кірковій речовині. У бурій жировій тканині з міжлопаткової ділянки визначали відносну кількість адипоцитів, що містили до 5 жирових крапель (адипоцити 1 типу), адипоцитів, що містили 5-10 жирових крапель (адипоцити 2 типу), адипоцитів, що містили більше 10 жирових крапель (адипоцити 3 типу); площу адипоцитів та їх ядер; абсолютну кількість судин у стромі; абсолютну кількість клітин у стромі; відносну кількість $CD86^+$-клітин (М1 макрофагів) та $CD163^+$-клітин (М2 макрофагів) у стромі. У жировій тканині з паранефральної клітковини визначали питомі об'єми білої та бурої жирової тканини; у бурій жировій тканині – відносну кількість адипоцитів, що містили до 5 жирових крапель (адипоцити 1 типу), адипоцитів, що містили 5-10 жирових крапель (адипоцити 2 типу), адипоцитів, що містили більше 10 жирових крапель (адипоцити 3 типу); площу адипоцитів та їх ядер; абсолютну кількість судин у стромі; абсолютну кількість клітин у стромі; відносну кількість $CD86^+$-клітин (М1 макрофагів) та $CD163^+$-клітин (М2 макрофагів) у стромі.

На ***четвертому етапі*** було проведено аналіз одержаних біохімічних та морфометричних показників, їх статистична обробка за допомогою програм PAST (version 4.15, Natural History Museum, University of Oslo, Норвегія) та Graph Pad Prism 5 (Graph Pad Software, США). Середні значення показників у групах порівнювали за допомогою U-критерію Манна-Уітні. Відмінності вважалися значимими при $p<0,05$.

Роботи, що були опубліковані за матеріалами даного розділу:

1. Патент України на корисну модель No 119800, UA, МПК G09B 23/28 (2006.01) Харківський національний медичний університет, Кузьміна І.Ю., Ніколаєва О.В., Жулікова М.В. - З. No u 201703527; Заявл. 11.04.2017; Опубл. 10.10.2017. Бюл. No 19. Спосіб моделювання синдрому полікістозних яєчників [127].

РОЗДІЛ 3
ГЕНЕРАЦІЯ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ В ЛЕЙКОЦИТАХ ТА ЕРИТРОЦИТАХ, ВИДИ КЛІТИННОЇ ЗАГИБЕЛІ В КРОВІ ЩУРІВ З СИНДРОМОМ ПОЛІКІСТОЗНИХ ЯЄЧНИКІВ ТА ЗА УМОВ ПЕРЕРИВЧАСТОГО ХОЛОДОВОГО ВПЛИВУ

3.1. Генерація активних форм кисню в лейкоцитах

Лейкоцити крові, як відомо, забезпечують імунний статус організму. Найчисельнішою популяцією лейкоцитів є нейтрофіли (47-72 %), які є мікрофагами та здійснюють фагоцитоз мікроорганізмів. Морфологічно ці клітини мають сегментоване ядро, ендоплазматичний ретикулум, що не містить рибосом, в клітинах мало мітохондрій, але містять багато різноманітних гранул з різними ферментами (пероксидази, гідролази, лужна фосфатаза), білками – лактоферин, лізоцим, катіонні білки та інші. Джерелом енергії є глюкоза, яка окислюється в пентозофосфатному шляху, реакціях гліколізу (90%) або може перетворюватися та запасатися у вигляді глікогену [129]. Посилення інтенсивності метаболічних шляхів перетворення глюкози супроводжує фагоцитоз, при якому зростає інтенсивність поглинання кисню нейтрофілами з утворенням АФК:

1) супероксидного аніону, що утворюється за допомогою оксидази (НАДФН-залежної):

$$НАДФ{\cdot}Н + 2\ O_2 \longrightarrow НАДФ^+ + 2\ O_2^{\cdot-} + H^+$$

2) пероксиду водню, утворення якого залежить від активності НАДФН-залежної оксидази:

$$НАД{\cdot}Н + H^+ + O_2^{\cdot-} \longrightarrow НАД^+ + H_2O_2$$

3) гіпохлорної кислоти, що утворюється за умов дії мієлопероксидази:

$$H^+ + Cl^- + H_2O_2 \longrightarrow H_2O + HOCl$$

Гіпохлорна кислота (аніон), як відомо, реагує з пероксидом водню з утворенням синглетного кисню:

$$OCl^- + H_2O_2 \longrightarrow {}^1O_2 + H_2O + Cl^-$$

4) вільних радикалів ОН·, що мають потужну бактерицидну дію, які є нестабільними, активними й взаємодіють з органічними речовинами;

5) гіпогалогенідів, нітритрадикалів (NO), пероксинітритрадикалу (ONOO·).

Таким чином, здібність клітин крові здійснювати фагоцитоз обумовлена здатністю лейкоцитами утворювати АФК, що проявляється у їх бактерицидній дії. Також завдяки утворенню АФК в нейтрофілах здійснюється регуляція самих нейтрофілів [128].

В організмі людини генерація АФК нейтрофільними лейкоцитами може мати не тільки фізіологічне або гомеостатичне, але й патологічне значення [130].

АФК відіграють життєво важливу роль у фізіологічній активності яєчників як вторинний посередник клітинної сигналізації та приймають участь у регуляції оваріального циклу, включаючи мейоз, овуляцію, підтримку жовтого тіла та регресію [131].

У здоровому організмі спостерігається рівновага між оксидантною та антиоксидантною системами, остання представлена ферментативною та неферментативною ланками. При порушенні балансу між утворенням та знешкодженням АФК розвивається оксидативний стрес. Останній виявляє себе вільнорадикальним окисненням ліпідів, білків, нуклеїнових кислот, тобто започатковує ліпідні, протеїнові та нуклеїнові механізми клітинного ушкодження.

З даних наукової літератури відомо, що у розвитку різних патологічних станів, зокрема СПКЯ, одну з ключових ролей відіграє оксидативний стрес, який супроводжується підвищенням АФК [132, 133].

За даними численних науковців у жінок з СПКЯ поєднується надмірна продукція АФК та, відповідно, розвиток оксидативного стресу з низьким рівнем протікання хронічного запалення, пошкодженням ендотелію судин [134].

Вкрай актуальним є пошук джерел, тобто клітин, які можуть продукувати надмірну кількість АФК, що спричиняють розвиток СПКЯ. Найбільший відсоток у лейкоцитарній формулі, як відомо, припадає на нейтрофільні лейкоцити, які можуть виступати джерелом надмірної продукції АФК. Зазначена гіпотеза потребує доказів, що актуалізує проведення представленого в даному підрозділі дослідженні.

У проведеному дослідженні у групах 1-5 проточна цитометрія дозволила оцінити генерацію АФК шляхом аналізу інтенсивності флюоресценції ДХФ в популяції лейкоцитів ($CD45^+$,7-AAD^--клітинах), зокрема, в нейтрофільних лейкоцитах. Одержані результати наведено в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

Інтенсивність флюоресценції ДХФ у лейкоцитах ($CD45^+$,7-AAD^-- клітинах) периферичної крові щурів груп 1-5

Група	Середня інтенсивність флюоресценції ДХФ в 7-AAD^--клітинах (Медіана [25% процентиль; 75% процентиль]), у.о.
Група 1	407,1 [355,8; 425,9]
Група 2	416,5 [374,8; 456,0]
Група 3	361,6 [297,2; 409,5]
Група 4	539,4 [494,5; 632,4] [1,2,3]
Група 5	377,0 [347,5; 404,8] [4]

Примітка: [1] – значима ($p<0,05$) відмінність порівняно з показником групи 1; [2] – значима ($p<0,05$) відмінність порівняно з показником групи 2; [3] – значима ($p<0,05$) відмінність порівняно з показником групи 3; [4] – значима ($p<0,05$) відмінність порівняно з показником групи 4.

Одержана у групі 1 середня інтенсивність флюоресценції ДХФ в лейкоцитах щурів буде використана в якості нормативного показника. На рисунку 3.1 наведено генерацію АФК у лейкоцитах щура номер 2 групи 1.

У групі 2 середня інтенсивність флюоресценції ДХФ в $CD45^+$,7-AAD^--клітинах не відрізнялася ($p>0,05$) від відповідного показника групи 1. На рисунку 3.2 представлено результати оцінки інтенсивності флюоресценції ДХФ в $CD45^+$,7-AAD^--клітинах у щура номер 1 групи 2.

Середня інтенсивність флюоресценції ДХФ в $CD45^+$,7-AAD^--клітинах у групі 3 характеризувалася тенденцією ($p>0,05$) до зменшення порівняно з показником групи 1. На рисунку 3.3 наведено результати оцінки інтенсивності флюоресценції ДХФ в $CD45^+$,7-AAD^--клітинах у щура номер 4 групи 3.

У групі 4 показник середньої інтенсивності флюоресценції ДХФ в $CD45^+$,7-AAD^--клітинах збільшувався ($p<0,05$) порівняно з відповідниками показниками груп 1-3. Результати, отримані в цій групі, свідчать про утворення великої кількості АФК порівняно з групами 1-3. На рисунку 3.4 представлено результати оцінки інтенсивності флюоресценції ДХФ в $CD45^+$,7-AAD^--клітинах щура номер 3 групи 4.

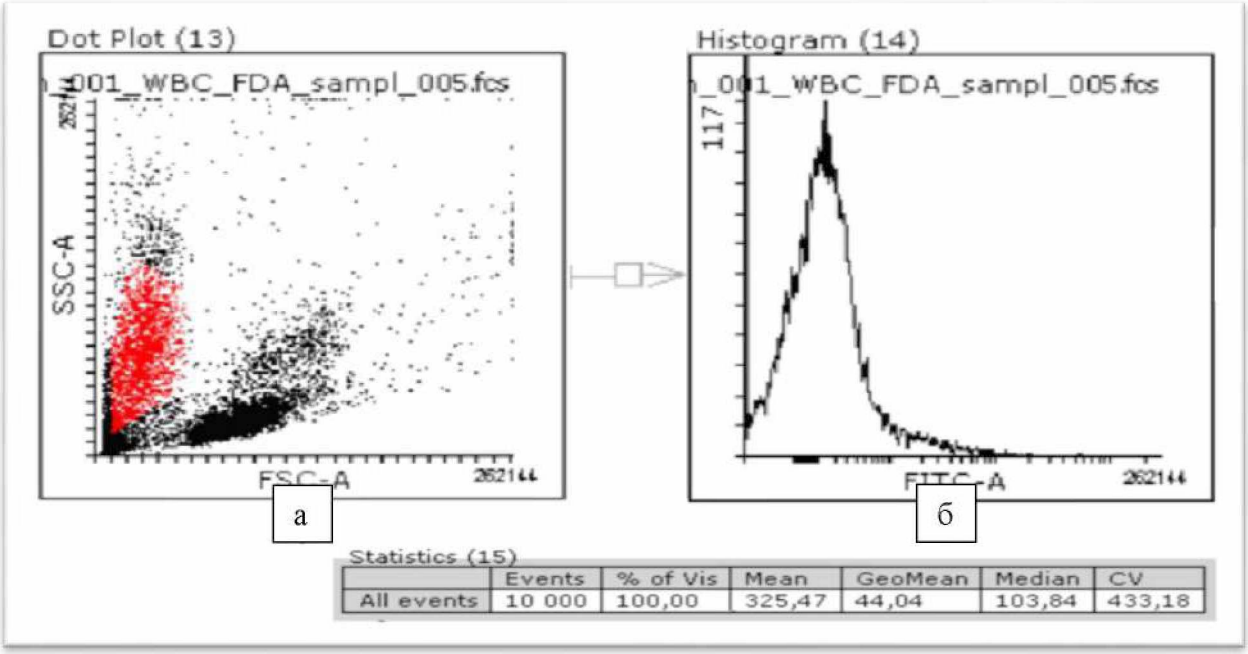


Рис. 3.1. Репрезентативна цитограма (а) та гістограма SSC/FL1 (2,7 – дихлорфлюоресцеїну) (б) лейкоцитів крові щура номер 2 групи 1. СІФ ДХФ в $CD45^+$,7-AAD^-- клітинах становить 325,47 у.о.

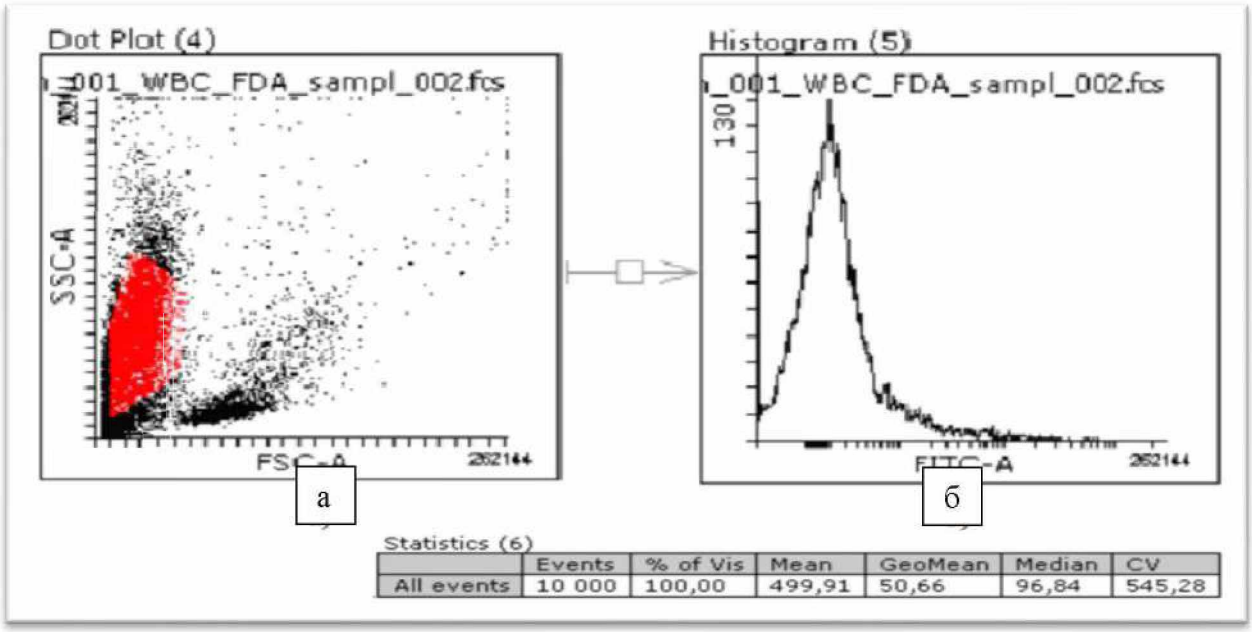


Рис. 3.2. Репрезентативна цитограма (а) та гістограма SSC/FL1 (2,7 – дихлорфлюоресцеїну) (б) лейкоцитів крові щура номер 1 групи 2. СІФ ДХФ в $CD45^{+}$,7-AAD^{-}- клітинах становить 499,91 у.о.

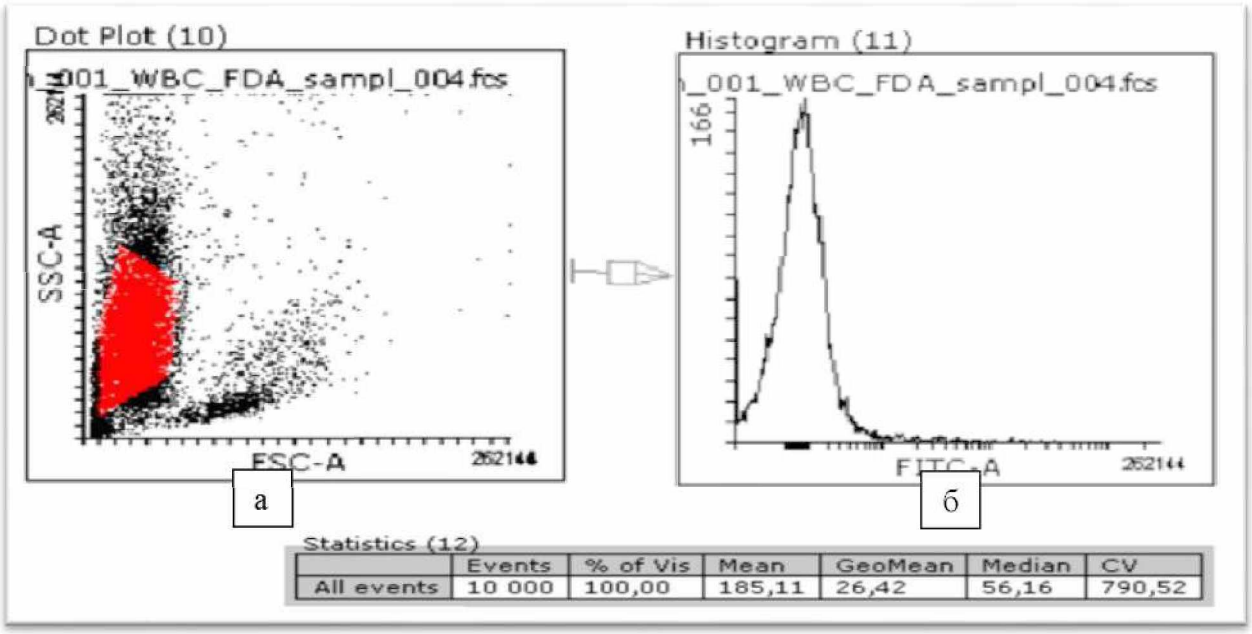


Рис. 3.3. Репрезентативна цитограма (а) та гістограма SSC/FL1 (2,7 – дихлорфлюоресцеїну) (б) лейкоцитів крові щура номер 4 групи 3. СІФ ДХФ в $CD45^{+}$,7-AAD^{-}- клітинах становить 185,11 у.о.

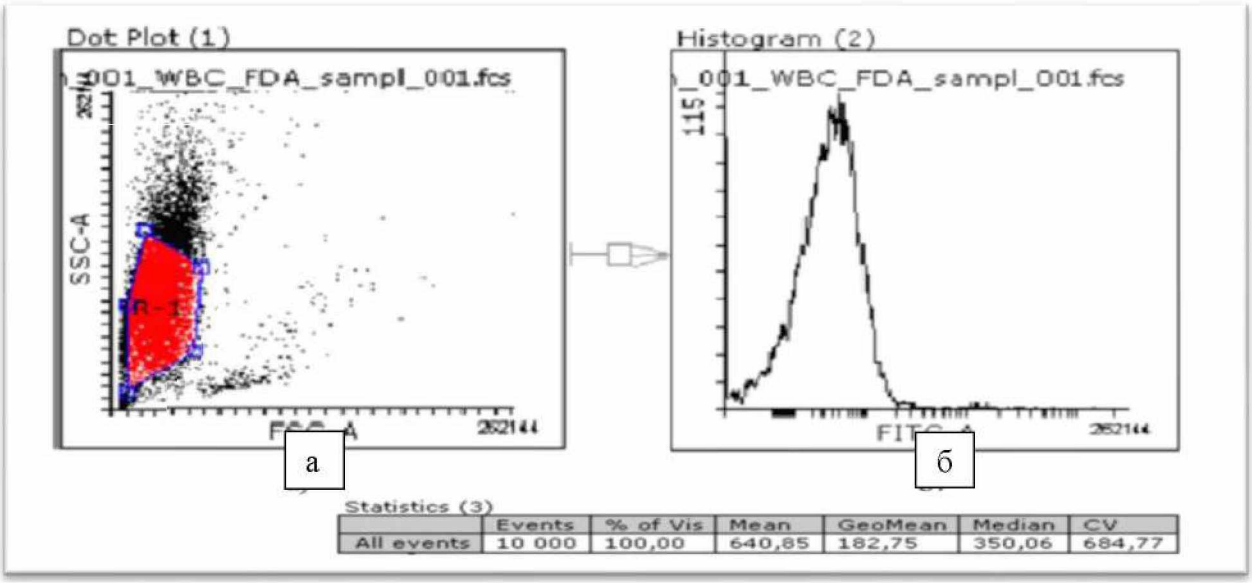


Рис. 3.4. Репрезентативна цитограма (а) та гістограма SSC/FL1 (2,7 – дихлорфлюоресцеїну) (б) лейкоцитів крові щура номер 3 групи 4. СІФ ДХФ в $CD45^{+}$,7-AAD^{-}- клітинах становить 640,85 у.о.

СІФ ДХФ в $CD45^{+}$,7-AAD^{-}-клітинах у групі 5 зменшувалася ($p<0,05$) порівняно з показником групи 4 та не відрізнялася ($p>0,05$) від показників груп 1-3. На рисунку 3.5 наведено результати оцінки СІФ ДХФ в $CD45^{+}$,7-AAD^{-}-клітинах щура номер 6 групи 5.

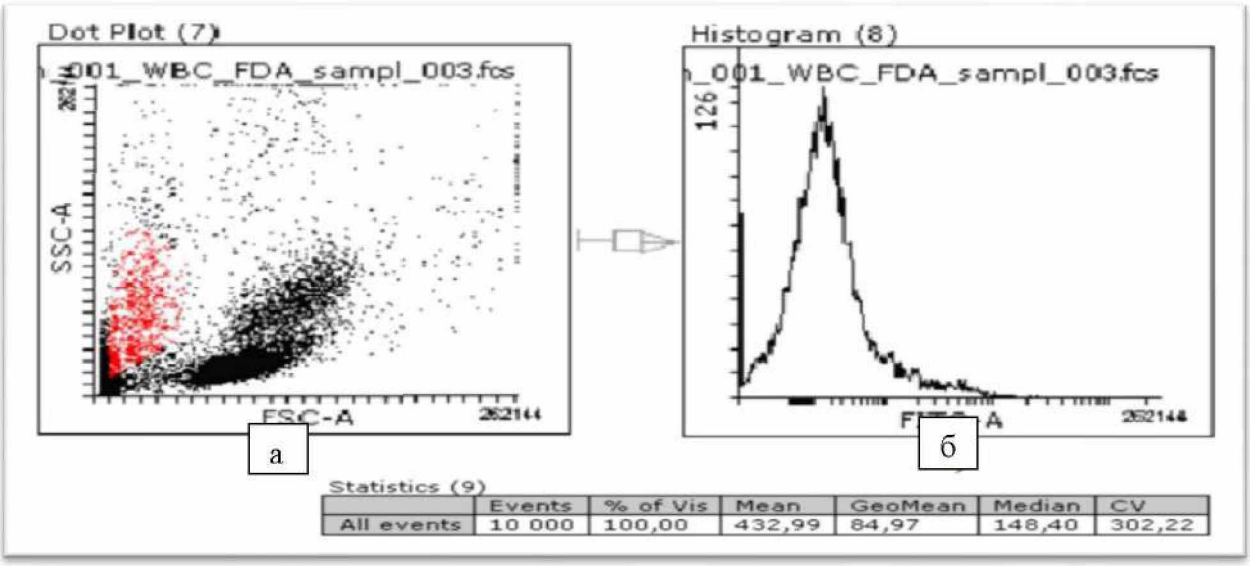


Рис. 3.5. Репрезентативна цитограма (а) та гістограма SSC/FL1 (2,7 – дихлорфлюоресцеїну) (б) лейкоцитів крові щура номер 6 групи 5. СІФ ДХФ в $CD45^{+}$,7-AAD^{-}- клітинах становить 432,99 у.о.

3.2. Життєздатність та види загибелі лейкоцитів

У підрозділі 3.1. було виявлено роль нейтрофільних лейкоцитів крові у гіперпродукції АФК при СПКЯ у щурів. Надмірна продукція АФК може призводити до порушень фізико-хімічних властивостей клітинних мембран нейтрофільних лейкоцитів, змін їх життєздатності та загибелі, проте в наявній літературі ми не знайшли інформації з приводу цього питання. На сьогодні вченими описані різні шляхи загибелі нейтрофільних лейкоцитів, серед яких найбільш значимими є некроз та апоптоз [135].

У даному дослідженні вперше проведено визначення життєздатності нейтрофільних лейкоцитів та видів їх клітинної смерті у щурів з СПКЯ та у щурів з СПКЯ за умов ПХВ. Під час дослідження проводили аналіз клітин, що забарвлювалися анексином V та 7-AAD. Кон'югований з барвником анексин V, як відомо, здатний мітити фосфатидилсерин, ранній маркер апоптозу, на позаклітинній мембрані. На пізній стадії апоптозу, коли цілісність клітини пошкоджена, він зв'язує фосфатидилсерин на внутрішній стороні плазматичної мембрани. Барвник 7-AAD – флуорохром, що проникає через клітинну мембрану, зв'язується з ДНК та забарвлює мертві некротизовані клітини. Таким чином, за допомогою проточної цитометрії з використанням вище зазначених барвників було проведено ідентифікацію станів клітинного життя лейкоцитів: 1) анексин V^-, 7-AAD^- – життєздатні, 2) анексин V^+, 7-AAD^- – ранні апоптотичні лейкоцити; 3) анексин V^+, 7-AAD^+ – клітини в стадії пізнього апоптозу; 4) анексин V^-, 7-AAD^+ – некротичні клітини [128]. Зазначений аналіз життєздатності лейкоцитів, з нашої точки зору, стосувався саме нейтрофільних лейкоцитів, адже в лейкоцитарній формулі на них припадає найбільший відсоток.

Результати аналізу життєздатності нейтрофільних лейкоцитів крові щурів груп 1-5 представлено в таблиці 3.2.

У крові щурів групи 1 виявлено превалювання ($p<0,05$) відсотка життєздатних нейтрофільних лейкоцитів над кількістю загиблих клітин, тобто тих, що знаходяться в стані апоптозу або некрозу. На рисунку 3.6 наведено аналіз

життєздатності нейтрофільних лейкоцитів щура номер 3 (життєздатних лейкоцитів – 97,3 %; лейкоцитів, що знаходяться на початковій стадії апоптозу, – 2,39 %; лейкоцитів, що знаходяться на пізній стадії апоптозу, – 0,26 %; некротично змінених лейкоцитів – 0,06 %). Одержані в цій групі показники надалі будуть використані як нормативні.

Таблиця 3.2

Життєздатність лейкоцитів крові та види їх загибелі у щурів груп 1-5

Група	Кількість клітин, %			
	Анексин V^-, 7-AAD^- клітини	Анексин V^+, 7-AAD^- клітини	Анексин V^+, 7-AAD^+ клітини	Анексин V^-, 7-AAD^+ клітини
Група 1	96,56 [95,53; 97,52]	1,13 [0,59; 2,21]	1,04 [0,65; 1,60]	1,08 [0,60; 1,49]
Група 2	96,34 [95,76; 97,47]	0,96 [0,47; 1,33]	1,65 [1,07; 2,23]	0,98 [0,46; 1,26]
Група 3	95,74 [92,99; 97,68]	1,96 [0,73; 4,04]	1,08 [0,78; 1,77]	0,98 [0,81; 1,03]
Група 4	85,70 [81,97; 87,18] *1,2,3*	12,01 [11,49;14,49] *1,2,3*	1,39 [0,64; 2,0]	1,09 [0,59; 1,59]
Група 5	93,30 [92,26; 94,46] *4*	3,57 [3,32; 4,04] *4*	0,99 [0,84; 1,50]	1,50 [1,03; 2,77]

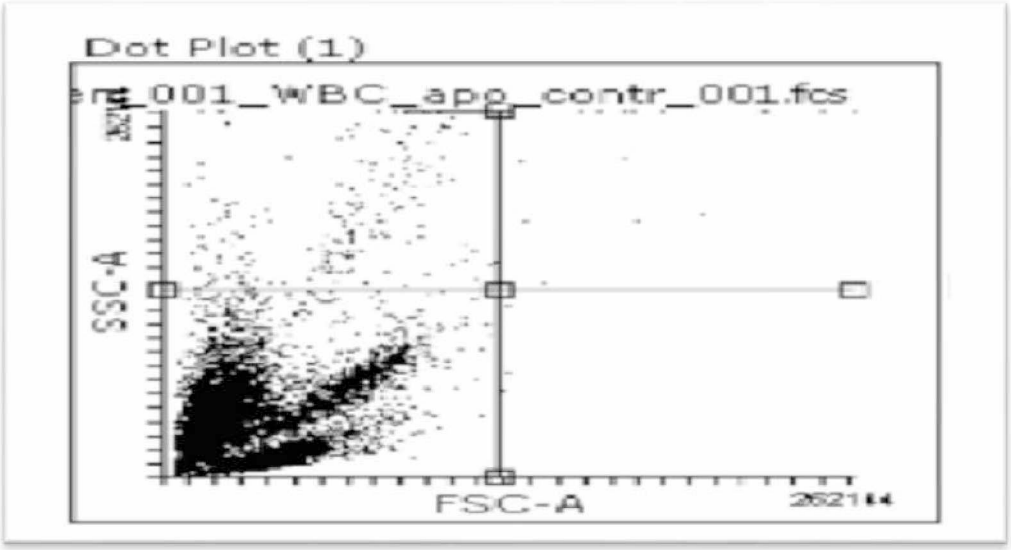
Примітка: [1] – значима ($p<0,05$) відмінність порівняно з показником групи 1; [2] – значима ($p<0,05$) відмінність порівняно з показником групи 2; [3] – значима ($p<0,05$) відмінність порівняно з показником групи 3; [4] – значима ($p<0,05$) відмінність порівняно з показником групи 4.

Показники у групах 2 і 3 не мали значимих ($p>0,05$) відмінностей порівняно з групою 1. У зазначених групах, як і в групі 1, було виявлено превалювання ($p<0,05$) відсотка життєздатних нейтрофільних лейкоцитів над кількістю загиблих клітин шляхом некрозу або апоптозу. На рисунках 3.7 та 3.8 представлено результати оцінки життєздатності лейкоцитів, відповідно, щура номер 5 групи 2 (життєздатних лейкоцитів – 96,47 %; лейкоцитів, що знаходяться на початковій стадії апоптозу, – 0,59 %; лейкоцитів, що знаходяться на пізній стадії апоптозу, – 1,64%; некротично змінених лейкоцитів – 1,30%) та щура номер 1 групи 3 (життєздатних лейкоцитів – 89,07 %; лейкоцитів, що знаходяться на початковій стадії апоптозу, – 7,97 %; лейкоцитів, що знаходяться на пізній стадії апоптозу, – 0,67 %; некротично змінених лейкоцитів – 2,29 %).

При аналізі показників групи 4 було виявлено, як і в попередніх групах 1-3, превалювання ($p<0,05$) відсотка життєздатних лейкоцитів над кількістю загиблих лейкоцитів. У даній групі, порівняно з відповідними показниками груп 1-3, відмічалося зменшення ($p<0,05$) відсотка життєздатних лейкоцитів, та збільшення ($p<0,05$) відсотка лейкоцитів, що знаходяться на початковій стадії апоптозу, однак кількість лейкоцитів, що знаходяться на пізній стадії апоптозу, та некротично змінених лейкоцитів не мала значимих ($p>0,05$) відмінностей.

На рисунку 3.9 представлено результати оцінки життєздатності нейтрофільних лейкоцитів крові щура номер 2 групи 4 (життєздатних лейкоцитів – 86,68 %; лейкоцитів, що знаходяться на початковій стадії апоптозу, – 11,96 %; лейкоцитів, що знаходяться на пізній стадії апоптозу, – 0,27 %; некротично змінених лейкоцитів – 1,09 %).

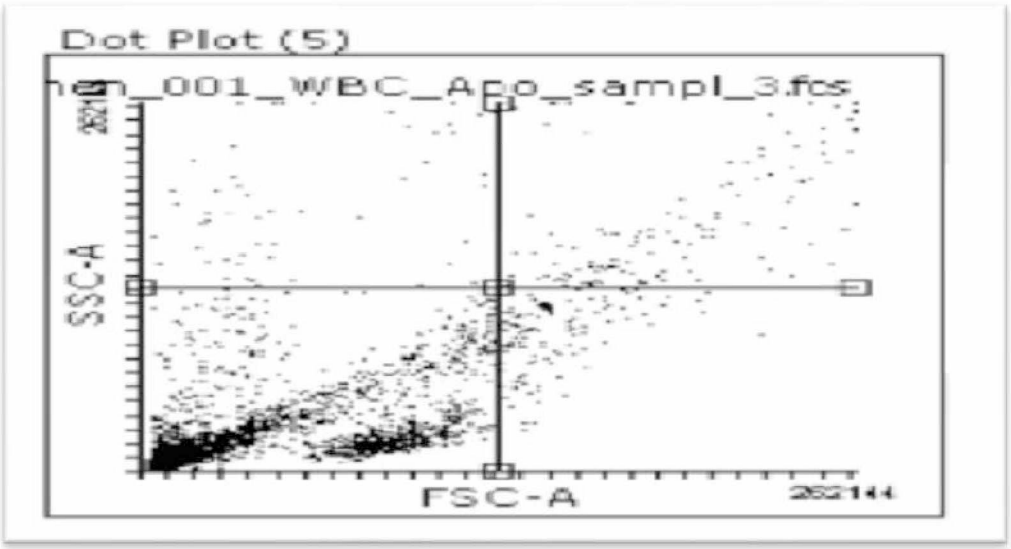
Таким чином, у андрогенізованих щурів з СПКЯ було виявлено зниження життєздатності нейтрофільних лейкоцитів крові внаслідок їх загибелі через апоптоз, про що свідчило збільшення відсотка клітин, що знаходяться на початковій стадії апоптозу.



Statistics (2)

	Events	% of Vis	X Mean	Y Mean	X GeoMean	Y GeoMean	X Median	Y Median
All events	10 000	100,00	29 533,53	36 846,73	21 971,28	23 792,48	23 128,84	24 467,43
Left Bottom	9 729	97,29	27 888,30	32 189,76	21 246,03	22 505,63	22 595,64	23 181,30
Right Bottom	6	0,06	144 304,71	42 966,24	142 973,77	287,63	131 679,77	0,00
Left Top	239	2,39	75 738,29	204 049,82	65 115,90	199 056,14	79 230,94	196 517,30
Right Top	26	0,26	193 950,28	241 051,20	186 960,74	237 110,01	178 776,80	262 143,00

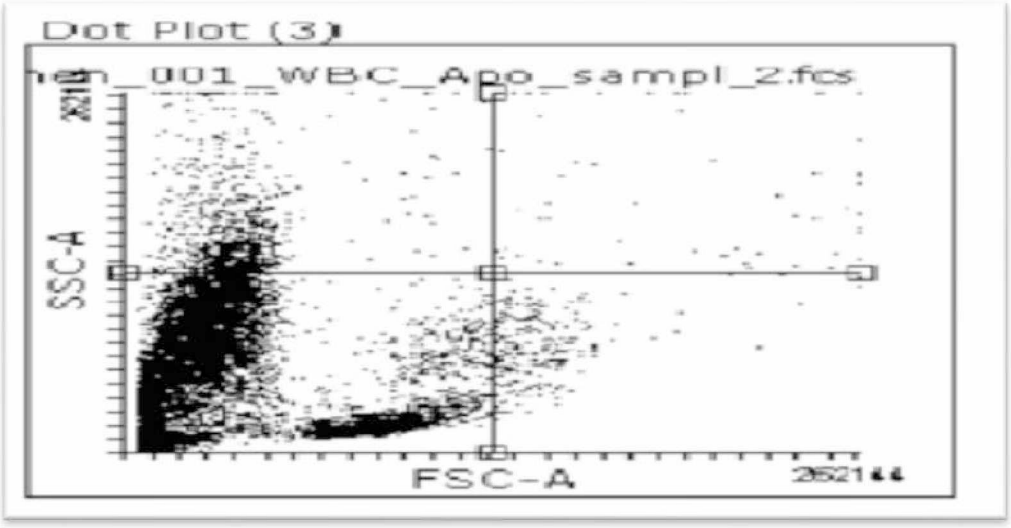
Рис. 3.6. Репрезентативна цитограма та статистичне визначення відсотку життєздатних лейкоцитів, та лейкоцитів, що знаходяться в стані апоптозу або некрозу, у щура номер 3 групи 1.



Statistics (6)

	Events	% of Vis	X Mean	Y Mean	X GeoMean	Y GeoMean	X Median	Y Median
All events	10 000	100,00	21 925,11	16 330,28	10 979,31	6 914,87	8 009,18	6 693,81
Left Bottom	9 647	96,47	16 641,29	10 991,24	9 987,74	6 181,06	7 816,54	6 475,80
Right Bottom	130	1,30	151 448,89	97 627,38	150 447,97	93 992,37	145 375,27	102 576,93
Left Top	59	0,59	62 230,75	186 185,83	48 938,25	181 230,74	46 842,48	180 949,58
Right Top	164	1,64	215 564,60	204 839,78	210 884,75	198 171,16	222 560,27	204 203,13

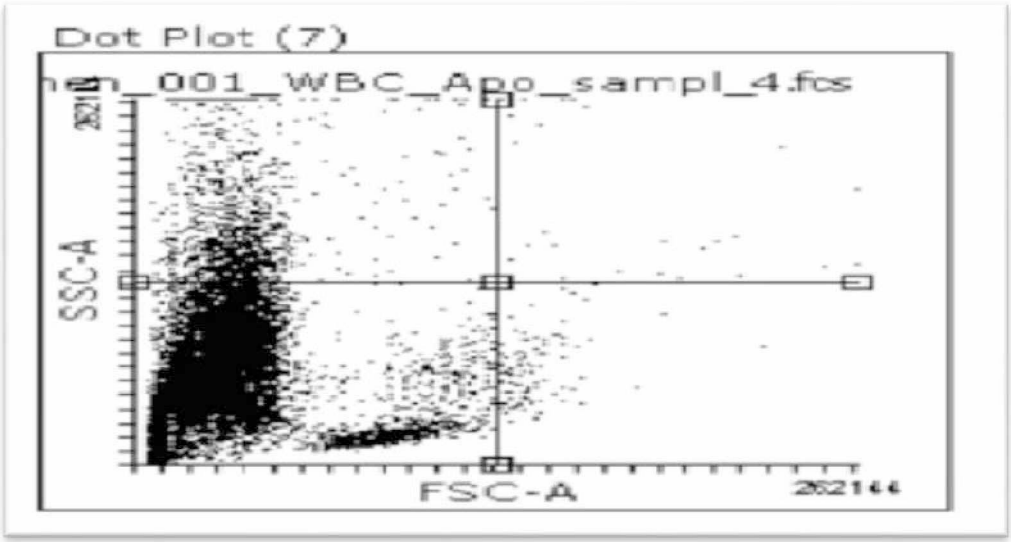
Рис. 3.7. Репрезентативна цитограма та статистичне визначення відсотка життєздатних лейкоцитів, та лейкоцитів, що знаходяться в стані апоптозу або некрозу, у щура номер 5 групи 2.



Statistics (4)

	Events	% of Vis	X Mean	Y Mean	X GeoMean	Y GeoMean	X Median	Y Median
All events	10 000	100,00	35 984,97	58 096,67	22 906,39	31 257,10	25 417,30	49 872,69
Left Bottom	8 907	89,07	31 483,95	46 999,63	20 575,51	26 036,26	21 767,46	37 109,43
Right Bottom	229	2,29	147 725,71	77 481,30	146 716,11	73 535,60	143 505,63	76 742,10
Left Top	797	7,97	39 911,40	164 366,78	37 161,47	161 436,53	38 902,96	151 787,84
Right Top	67	0,67	205 725,82	202 946,86	199 282,99	196 962,05	213 799,44	201 087,78

Рис. 3.8. Репрезентативна цитограма та статистичне визначення відсотку життєздатних лейкоцитів, та лейкоцитів, що знаходяться в стані апоптозу або некрозу, у щура номер 1 групи 3.



Statistics (8)

	Events	% of Vis	X Mean	Y Mean	X GeoMean	Y GeoMean	X Median	Y Median
All events	10 000	100,00	36 739,86	74 292,24	28 948,82	52 016,50	32 471,88	67 961,07
Left Bottom	8 668	86,68	34 804,61	60 365,63	27 519,74	43 899,90	31 466,54	60 986,04
Right Bottom	109	1,09	143 957,91	69 041,44	143 428,10	65 440,85	140 939,38	66 761,37
Left Top	1 196	11,96	37 812,32	173 012,82	34 681,57	169 237,64	36 359,08	159 428,52
Right Top	27	0,27	177 677,69	193 491,96	173 206,57	186 792,55	158 631,30	163 765,50

Рис. 3.9. Репрезентативна цитограма та статистичне визначення відсотку життєздатних лейкоцитів, та лейкоцитів, що знаходяться в стані апоптозу або некрозу, у щура номер 2 групи 4.

ДГЕА, що використовувався для моделювання СПКЯ, є стероїдним гормоном, який продукується наднирниками, статевими залозами та мозковою тканиною [136]. Він характеризується протизапальними та імунорегулюючими властивостями; не впливає на життєздатність нейтрофільних лейкоцитів (антиапоптотична дія); підвищує активність загальної антиоксидантної здатності та СОД, зменшує вміст АФК [137]. Можна припустити, що виявлене нами зниження життєздатності нейтрофільних лейкоцитів є результатом введення тваринам ДГЕА. Проте вищезазначені властивості цього гормону свідчать, що зниження життєздатності лейкоцитів внаслідок активації процесів апоптозу зумовлено саме змодельованим СПКЯ у тварин.

Активація процесів апоптозу нейтрофільних лейкоцитів у щурів з СПКЯ спричинена, з нашої точки зору, підвищеною генерацією цими клітинами АФК, що було визначено нами у попередньому підрозділі. Гіперпродукція АФК з характерною для них пошкоджувальною дією на клітинні структури, в тому числі на фізико-хімічні властивості цитоплазматичних мембран, на тлі виснаження резервів антиоксидантного захисту є одним із головних індукторів запуску апоптозу або некрозу нейтрофільних лейкоцитів [135, 138].

Апоптоз нейтрофільних лейкоцитів є динамічним та стадійним процесом, у якому виділяють фази: ініціювання, вбивання та вилучення загиблої клітини. Нині відомі два основні шляхи активації апоптозу: зовнішній (рецепторопосередкований, «апоптоз по команді») та внутрішній (мітохондріальний, «апоптоз зсередини») [139]. Шлях активації апоптозу нейтрофільних лейкоцитів залежить від походження джерел продукції АФК.

У проведеному раніше дослідженні була доведена роль нейтрофільних лейкоцитів крові щурів з СПКЯ у надмірній генерації АФК, що, з нашої точки зору, запускає внутрішній шлях апоптозу цих клітин. АФК пошкоджують мітохондріальні мембрани, спричиняють вихід біологічно активних речовин у цитозоль (цитохром С, апоптозіндукуючий фактор), які запускають каскад каспазних реакцій та призводять до апоптозу. Цікавим є те, що мітохондрії, як основні мішені вільних радикалів, одночасно виступають джерелом продукції

АФК в клітині, які, в свою чергу, також можуть активувати апоптоз, що тим самим створює так зване «замкнуте коло».

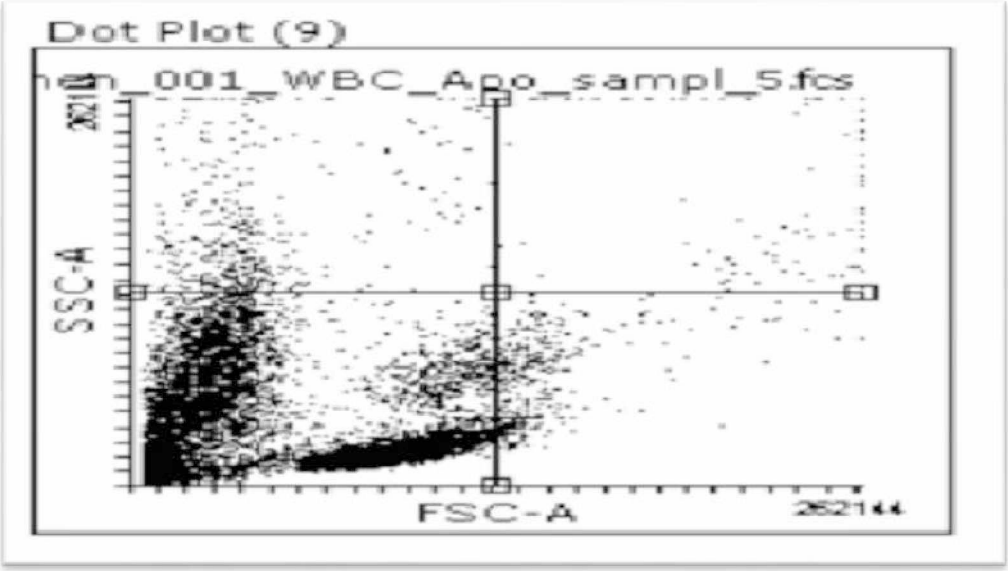
СПКЯ є захворюванням, яке спричинене змінами співвідношення вмісту факторів клітинного росту та загибелі клітин, оксидативним стресом, що призводять до зупинки росту фолікулів та їх кістозному перетворюванню. Деякі вчені також виявили активацію процесів апоптозу в яєчниковій тканині при СПКЯ, що був індукований введенням дегідроепіандростерону за рахунок мітохондріальноопосередкованого каспазного шляху [140].

Учені зазначають, що АФК також можуть ініціювати апоптоз шляхом генотоксичного впливу на ДНК та активації гена p53; каспазонезалежну загибель нейтрофільних лейкоцитів тощо. Крім того, можливим є ініціація внутрішнього шляху апоптозу нейтрофільних лейкоцитів у взаємодії із зовнішнім, що неминуче призводить до загибелі клітин [141].

У жінок з СПКЯ вчені виявили в різних органах та системах, у тому числі в тканині яєчників, пошкоджені та нежиттєздатні клітини з характерними морфофункціональними змінами або їх фрагменти, видалення яких з організму людини може відбуватися за допомогою професійних фагоцитів – нейтрофілів через фагоцитоз [142]. Під час останнього активована НАДФН-оксидаза транспортує електрони з НАДФН і запускає процес утворення надмірної кількості АФК, який у нейтрофілах називають «кисневим вибухом». У результаті останнього активується фагоцитозіндукований апоптоз нейтрофільних лейкоцитів. Цей факт також може пояснити виявлене у щурів з СПКЯ зниження життєздатності лейкоцитів та їх загибель через апоптоз, а в попередньому дослідженні – надмірну продукцію АФК нейтрофільними лейкоцитами [143].

У групі 5, як і в попередніх чотирьох групах, було виявлено в крові превалювання ($p<0,05$) відсотка життєздатних нейтрофільних лейкоцитів над кількістю загиблих лейкоцитів різними шляхами. На рисунку 3.10 наведено результати оцінки життєздатності нейтрофільних лейкоцитів крові у цій групі на прикладі щура номер 4 (життєздатних лейкоцитів – 91,19 %; лейкоцитів, що

знаходяться на початковій стадії апоптозу, – 4,07 %; лейкоцитів, що знаходяться на пізній стадії апоптозу, – 1,04 %; некротично змінених лейкоцитів – 3,7 %).



Statistics (10)

	Events	% of Vis	X Mean	Y Mean	X GeoMean	Y GeoMean	X Median	Y Median
All events	10 000	100,00	57 311,64	44 498,08	37 386,66	26 755,71	43 018,92	24 606,75
Left Bottom	9 119	91,19	52 283,29	35 552,83	34 671,84	23 173,17	40 183,50	22 234,44
Right Bottom	370	3,70	148 861,67	73 096,25	147 411,97	67 431,84	142 084,05	76 607,94
Left Top	407	4,07	43 347,70	176 595,26	36 854,25	172 128,27	37 823,66	162 746,39
Right Top	104	1,04	227 151,29	210 140,85	222 878,81	203 946,72	242 364,34	215 325,50

Рис. 3.10. Репрезентативна цитограма та статистичне визначення відсотку життєздатних лейкоцитів, та лейкоцитів, що знаходяться в стані апоптозу або некрозу, у щура номер 4 групи 5.

У щурів групи 5 порівняно з групою 4 кількість життєздатних лейкоцитів збільшувалася ($p<0,05$), кількість лейкоцитів, що знаходяться на початковій стадії апоптозу, зменшувалася ($p<0,05$), а кількість лейкоцитів, що знаходяться на пізній стадії апоптозу, у стані некрозу, не змінювалася ($p>0,05$). Показники цієї групи не відрізнялися ($p>0,05$) від показників груп 1-3. Одержані під час порівняльного аналізу результати свідчать про те, що переривчастий холодовий вплив на тлі введення тваринам ДГЕА чинить антиапоптотичний ефект, тим самим нормалізує життєздатність нейтрофільних лейкоцитів. Зазначений позитивний ефект холодового фактора зумовлений тим, що він нормалізує продукцію АФК нейтрофільними лейкоцитами; нормалізує діяльність редокс-системи [144];

підвищує адаптаційні можливості організму, в розвитку яких певне значення мають індукований холодом РНК-зв'язуючий білок (cold-inducible RNA binding protein) і тіоредоксин (thioredoxin) [145].

Дані літератури свідчать про те, що холодовий фактор може запускати процеси апоптозу лейкоцитів, пригнічувати їх або навіть зупиняти клітинний цикл у фазі «гібернації» (G0) [146, 147], що залежить від тривалості холодового впливу, величини і швидкості температурного зсуву та ін.

3.3. Генерація активних форм кисню в еритроцитах та інтенсивність ериптозу

Еритроцити – червоні клітини крові двояковогнутої форми, що не мають ядра, рибосом, основна функція яких полягає у транспортуванні кисню. Ці клітини не здатні до синтезу білків (не мають рибосом), ліпідів, у них не відбувається окисне фосфорилювання (синтез АТФ) та цикл трикарбонових кислот (немає мітохондрій). Науковці тривалий час розглядали еритроцити як моделі клітинних мембран у зв'язку з особливостями їхнього метаболізму [148]. Експериментально доведено, що на мембрані еритроцитів визначено рецептори до інсуліну, ендотеліну, гістаміну, тромбоксану, фібриногену, білків гострої фази - церулоплазміну, α_2-макроглобуліну, еритропоетину, а також рецептор Fas та α- і β-адренорецептори тощо [149]. Еритроцити комунікують з іншими клітинами (тромбоцитами, макрофагами, імунними клітинами) через рибонуклеїнову кислоту (РНК), сигнальні білки, іони металів та інші сполуки. Першим рівнем ієрархії є утворення сполук в реакціях гідроксильного радикалу, електронів за умов індукції вільних радикалів. Друга ієрархія включає електрофільні та нуклеофільні сполуки, що утворюють продукти, адекватні для клітин. До третьої ієрархії належать іони металів та ліганди, адаптовані до потреб клітини.

Енергетичні потреби еритроцитів задовольняються АТФ, що синтезується в результаті реакцій анаеробного гліколізу, в реакціях яких приймають участь магнійзалежні ферменти. Магній також необхідний як кофактор для

функціонування більш ніж 600 ферментів в організмі, хоча не всі вони зустрічаються в еритроцитах. Відомо, що еритроцити транспортують амінокислоти, білки, вуглеводи, ферменти, ліпіди, імунні комплекси, гормони, біологічно активні речовини, регулюють pH крові, приймають участь у водно-сольовому обміні.

Еритроцити приймають участь в транспортуванні кисню протягом свого життя (120 діб). Різні фактори (екзогенні та ендогенні) можуть призводити до утворення вільних радикалів, зокрема O2•−, H2O2, HO• в еритроцитах. Саме через дію АФК розвиваються різні фізіологічні та патологічні процеси: старіння, запальні процеси, ериптоз тощо. Еритроцити мають дуже потужний антиоксидантний захист, який модифікує АФК у значно менш реактивні речовини [150]. Якщо знижується антиоксидантний захист клітин на тлі підвищеної генерації АФК, то може виникати ериптоз.

В еритроцитах джерелом АФК є окислення гемоглобіну в метгемоглобін, де змінюється валентність заліза з 2^+ на 3^+. Цьому процесу можуть сприяти окислювачі, зокрема нітрити, нітрати, сульфаніламідні препарати, саліцилати та інші. Утворені АФК сприяють розвитку вільно-радикальних процесів, що викликає руйнування білків, вуглеводів, ліпідів. На дію АФК існує й протидія, що представлена антиоксидантною системою (АОС), зокрема ферментативною ланкою – СОД, каталазою, глутатіонпероксидазою. Для здійснення антиоксидантного захисту необхідним є функціонування неферментативної ланки – глутатіону, $НАДФН_2$, біогенних елементів: селену, міді, цинку, вітамінів А, Е, Д, каротину. Окислювальне середовище призводить до утворення двохвалентного заліза, яке швидко може відновлюватися за рахунок системи глутатіону. Для здійснення цього процесу необхідна наявність $НАДФН_2$, основним джерелом якого є перетворення глюкози в ПФЦ, який також функціонує поряд з анаеробним гліколізом в еритроцитах.

У проведеному дослідженні в групах 1-5 було визначено показник СІФ ДХФ, що характеризує здатність еритроцитів продукувати АФК.

У групі 1 СІФ ДХФ в еритроцитах щурів становила 42,77 [40,89; 44,80] у.о. Зазначений показник у подальшому був використаний в якості нормативного показника. На рисунку 3.11 наведено генерацію АФК в еритроцитах щура номер 2 групи 1.

У групі 2 СІФ ДХФ в еритроцитах не відрізнялася ($p>0,05$) від показника групи 1 та становила 44,65 [40,92; 49,19] у.о. На рисунку 3.12 наведено генерацію АФК в еритроцитах щура номер 5 групи 2.

У групі 3 досліджуваний показник не відрізнявся ($p>0,05$) від відповідних показників груп 1, 2 та становив 41,52 [39,75; 42,58] у.о. На рисунку 3.13 представлено результати виміру СІФ ДХФ в еритроцитах щура номер 1.

У групі 4 СІФ ДХФ в еритроцитах збільшувалася ($p<0,05$) порівняно з показниками груп 1-3 та становила 66,08 [63,46; 68,33] у.о. Досліджуваний показник у даній групі засвідчив про гіперпродукцію АФК в еритроцитах. Результати виміру показника на прикладі щура номер 3 з зазначеної групи наведено на рисунку 3.14.

Показник у групі 5, який становив 42,69 [39,79; 44,45] у.о., зменшувався ($p<0,05$) порівняно з показником групи 4 та не мав значимих ($p>0,05$) відмінностей порівняно з показниками груп 1-3. На рисунку 3.15 наводимо результати виміру СІФ ДХФ в еритроцитах щура номер 7 зазначеної групи.

Отже, проведене дослідження довело, що при СПКЯ еритроцити характеризувалися надмірною продукцією АФК, що, як відомо, спричиняє зміну в них редокс-гомеостазу та ушкодження даних клітин крові, а також розвиток оксидативного стресу. Переривчастий холодовий вплив у щурів з СПКЯ нормалізував рівень продукції АФК в еритроцитах, що, відповідно, дозволяє попередити розвиток оксидативного стресу та виникнення у жінок СПКЯ.

АФК, що генеруються в еритроцитах, є сигнальними молекулами та приймають участь у модифікації сигнальних білків. Відомо, що еритроцити підтримують окисно-відновний баланс крові, а гемоглобінова буферна система є однією з потужних систем, що приймає участь в регуляції pH крові. Утворення АФК в еритроцитах та екзогенне пошкодження оксидантами може призводити до

аутоокиснення гемоглобіну, утворення супероксидного радикалу, при перетворенні якого утворюється пероксид водню.

У цьому процесі індукується утворення геміхрому, відбувається деградація гема та спостерігається вивільнення заліза, що каталізує протікання вільно-радикальних реакцій. Тому для підтримки оксидантно-антиоксидантної рівноваги в цитоплазмі наявні такі ензими – антиоксиданти як СОД, каталаза, глутатіонпероксидаза, а також такі речовини як глутатіон, вітаміни С, Е, β-каротин, ліпоєва кислота та інші [151].

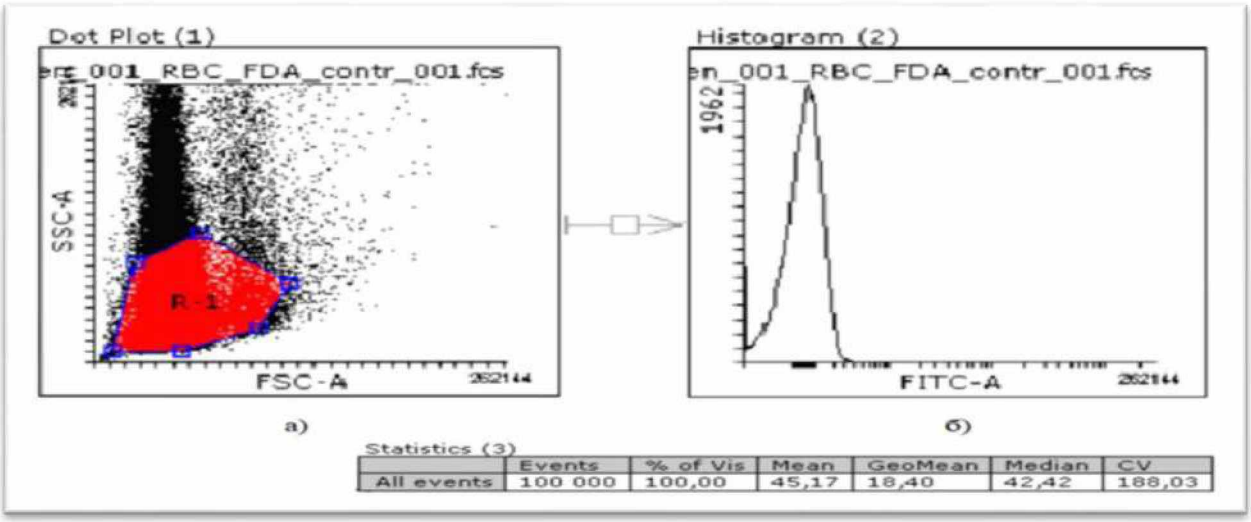


Рис. 3.11. Репрезентативна цитограма (а) та гістограма (б) еритроцитів щура номер 2 групи 1. СІФ ДХФ в еритроцитах становить 45,17 у.о.

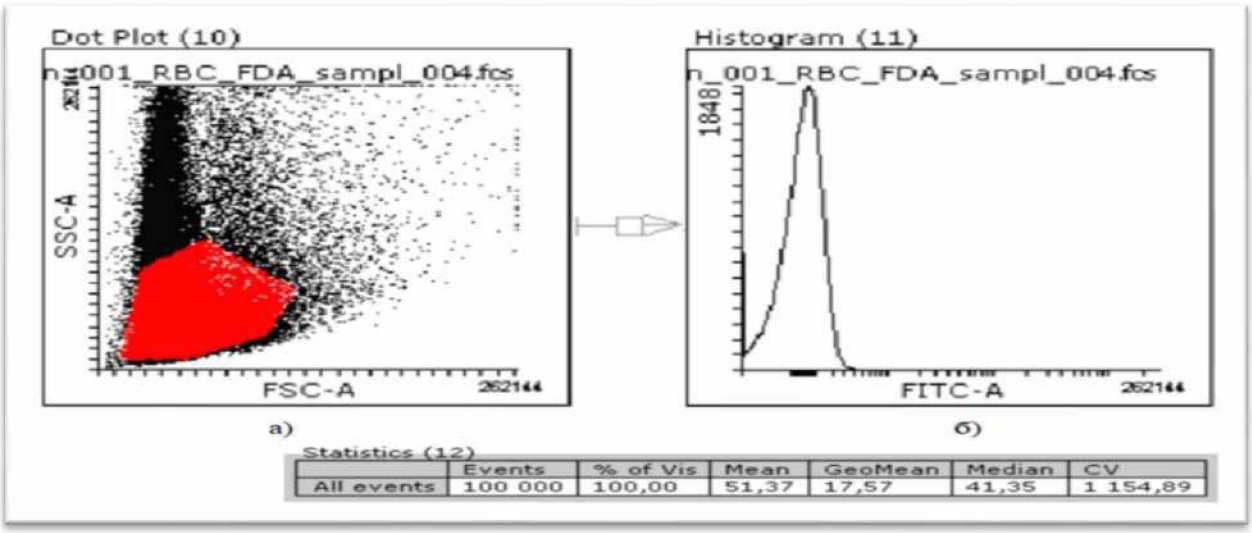


Рис. 3.12. Репрезентативна цитограма (а) та гістограма (б) еритроцитів крові щура номер 5 групи 2. СІФ ДХФ в еритроцитах становить 51,37 у.о.

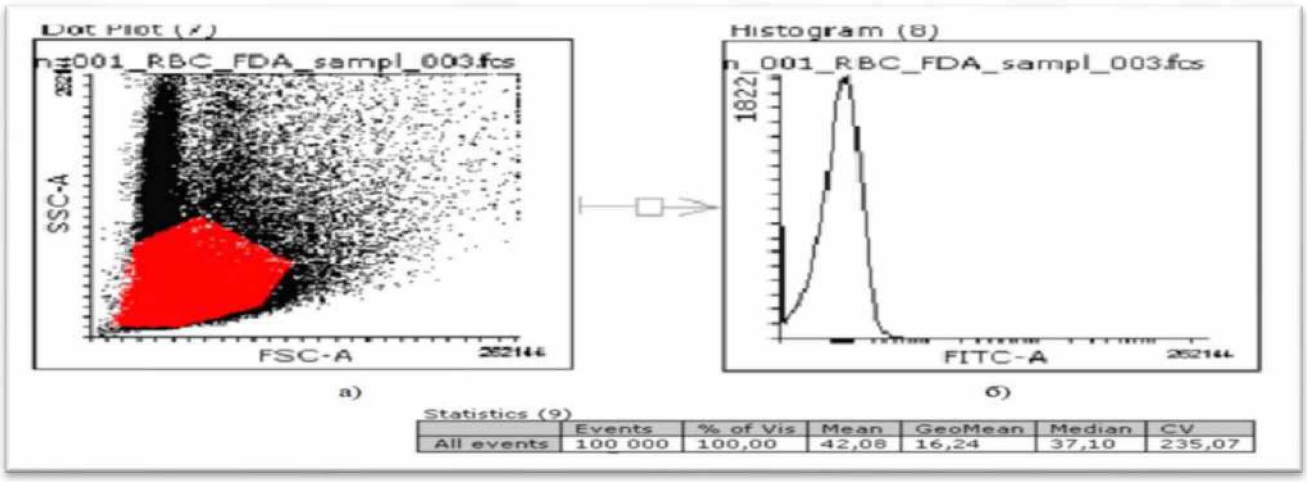


Рис. 3.13. Репрезентативна цитограма (а) та гістограма (б) еритроцитів крові щура номер 1 групи 3. СІФ ДХФ в еритроцитах становить 42,08 у.о.

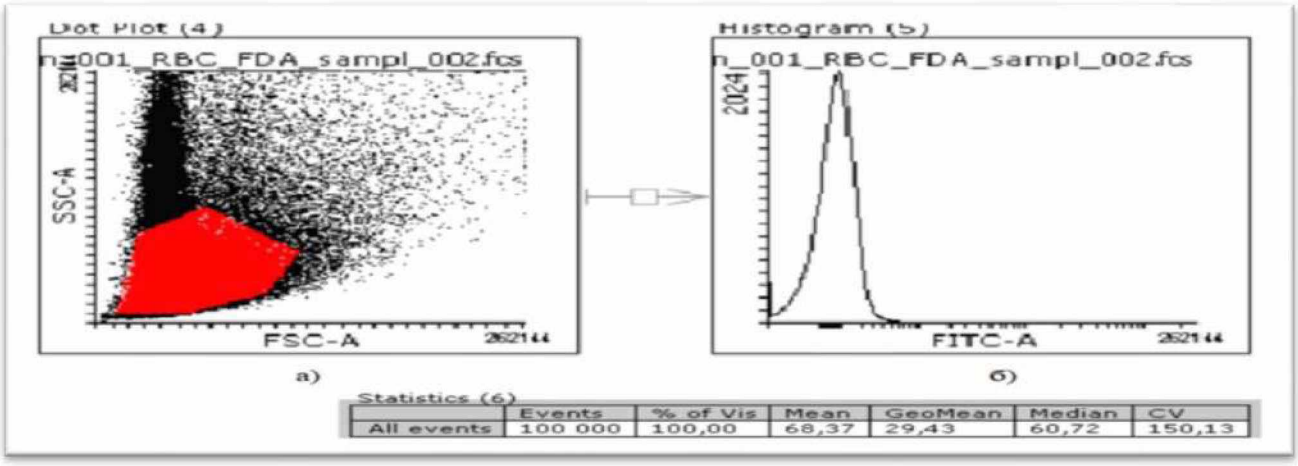


Рис. 3.14. Репрезентативна цитограма (а) та гістограма (б) еритроцитів крові щура номер 3 групи 4. СІФ ДХФ в еритроцитах становить 68,37 у.о.

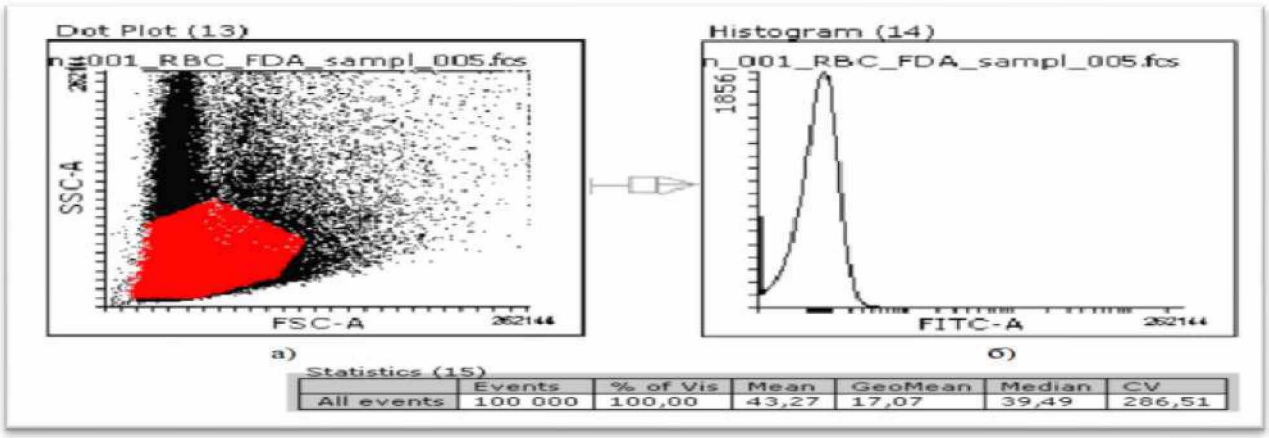


Рис. 3.15. Репрезентативна цитограма (а) та гістограма (б) еритроцитів крові щура номер 7 групи 5. СІФ ДХФ в еритроцитах становить 43,27 у.о.

Виявлена гіперпродукція АФК при СПКЯ свідчить про порушення редокс-гомеостазу в циркулюючих у крові еритроцитах, може сприяти їх деформації, порушити доставку кисню до тканин, спричинити розвиток гіпоксичних станів, передчасне їх старіння та загибель [152].

Існує багато гіпотез старіння та загибелі еритроцитів. До останніх віднесено зниження активності внутрішньоклітинних ензимів, зміна балансу кальцію, фізико-хімічних характеристик клітинних мембран, зокрема плинність, зміна заряду еритроцитів, окисна модифікація структурних компонентів клітин, поява антитіл до цитоплазматичних мембранних структур [153].

Ериптоз, за даними наукової літератури, є запрограмованою смертю еритроцитів, при якій спостерігається перерозподіл фосфоліпідів у клітинній мембрані, зморщування клітин [154]. Класичний шлях активації ериптозу запускається багатьма тригерами, зокрема, генерацією АФК, дефіцитом макроергічних речовин, гіперосмолярністю, підвищенням концентрації внутрішньоклітинного Ca^{2+}, синтезом цераміду сфінгомієліназою зі сфінгомієліну, що знаходиться у фосфоліпідах клітинних мембран, а також впливом різноманітних чужорідних речовин [155].

У подальшому було визначено інтенсивність ериптозу у щурів груп 1-5 методом проточної цитометрії шляхом оцінки переміщення фосфоліпіду фосфатидилсерину з внутрішнього шару мембрани до зовнішнього. Оцінювали транслокацію фосфатидилсерину із застосуванням фарбника – анексину V. Для характеристики зв'язування анексину V з фосфатидилсерином визначали наступні показники: кількість анексин V^+ еритроцитів, середню інтенсивність флуоресценції (СІФ) анексину V, що був мічений флуоресцеїном ізотіоціанатом (FITC), в анексин V^+ еритроцитах.

На рисунку 3.16 представлена репрезентативна цитограма та гістограма еритроцитів крові щура №2 контрольної групи. Кількість анексин V^+ клітин становив 2,23%, СІФ анексин V-FITS у анексин V^+ клітинах – 3080 у.о. У групі 1 кількість анексин V^+ клітини становила (2,080 [0,90; 2,312])%, СІФ анексин V-FITC у анексин V^+ клітинах – (3505 [3273; 4229]) у.о.

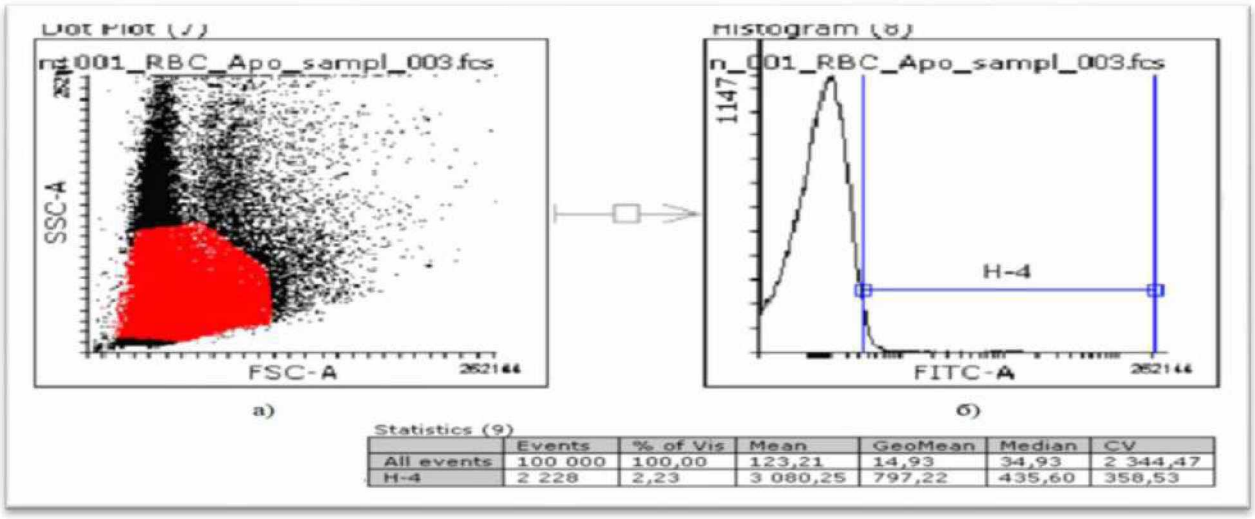


Рис. 3.16. Репрезентативна цитограма (а) та гістограма (б) еритроцитів крові щура номер 2 групи 1.

У групі 2 порівняно з групою 1 кількість анексин V^+ клітин не змінювалася ($p>0,05$) та становила (1,800 [0,99; 2,265]) %; СІФ анексин V-FITS у анексин V^+ клітинах також не змінювалася ($p>0,05$) та становила (3597 [3092; 4545]) у.о. На рисунку 3.17 наведено результати визначення показників у щура номер 1 групи 2. У даному випадку кількість анексин V^+ клітин становила 2,64%, СІФ анексин V-FITS у анексин V^+ клітинах становила 3217 у.о.

У групі 3 кількість анексин V^+ клітин становила (1,845 [0,85; 2,82]) %; СІФ анексин V-FITS у анексин V^+ клітинах становила (2503 [2120; 2810]) у.о. Порівняно з групою 1 у даній групі не змінювалася ($p>0,05$) кількість анексин V^+ клітин та зменшувалася ($p<0,05$) СІФ анексин V-FITS у анексин V^+ клітинах. Аналіз репрезентативної цитограми та гістограми еритроцитів крові щура номер 5 групи 3 наведено на рисунку 3.18. У даному випадку кількість анексин V^+ клітин становила 3,99%, СІФ анексин V-FITS у анексин V^+ клітинах – 2431 у.о..

У групі 4 порівняно з групою 1 збільшувалися ($p<0,05$) кількість анексин V^+ клітин ((3,97 [2,715; 5,093]) %) та СІФ анексин V-FITS у анексин V^+ клітинах ((4086 [3508; 4404]) у.о.). У щура номер 6 з даної групи кількість анексин V^+ клітин становила 5,17 %, СІФ анексин V-FITS у анексин V^+ клітинах – 4456 у.о., що представлено на рисунку 3.19. Одержані показники в даній групі свідчать про

активацію ериптозу у щурів з ДГЕА-індукованим СПКЯ, що було обумовлено виявленою вище гіперпродукцією АФК в еритроцитах. Відомо, що оксидативний стрес є одним із факторів, що індукує ериптоз [156]. Активація ериптозу, з нашої точки зору, призведе до порушення доставки кисню до тканин та розвитку гіпоксичних станів. Також при гіпоксії зареєстровано зміну активності гіпоксія-індукованого фактору 1α (HIF-1α), що призводить до метаболічної дисфункції, оксидативного стресу та виникненню характерного для СПКЯ гормонального дисбалансу [157].

У групі 5 кількість анексин V^+ клітин становила (2,79 [2,02; 3,12]) %, СІФ анексин V-FITS у анексин V^+ клітинах становила (2399 [2042; 3452]) у.о. На рисунку 3.20 наведено кількість анексин V^+ клітин та СІФ анексин V-FITS у анексин V^+ клітинах у щура номер 1, що становили, відповідно, 3,24 % и 2010 у.о.

Порівняно з групою 1 у даній групі кількість анексин V^+ клітин не відрізнялася ($p>0,05$), СІФ анексин V-FITS у анексин V^+ клітинах зменшувалася ($p<0,05$). У групі 5 порівняно з групою 4 зменшувалися ($p<0,05$) кількість анексин V^+ клітин, СІФ анексин V-FITS у анексин V^+ клітинах. Отже, переривчастий холодовий вплив на тлі введення ДГЕА позитивно впливав на основні показники інтенсивності ериптозу, а саме знижував передчасну загибель еритроцитів.

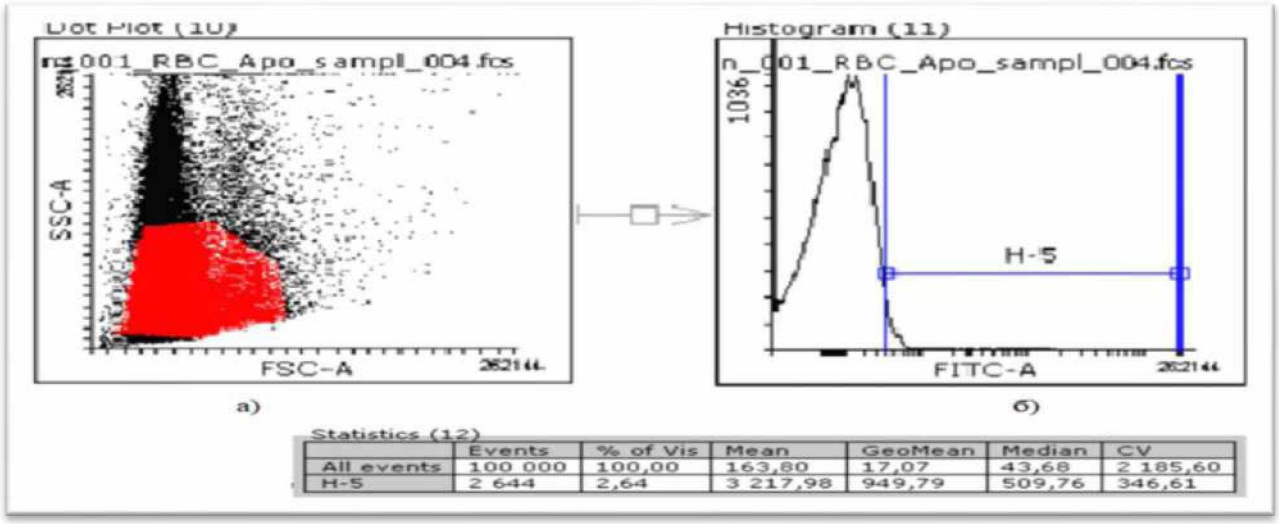


Рис. 3.17. Репрезентативна цитограма (а) та гістограма (б) еритроцитів крові щура номер 1 групи 2.

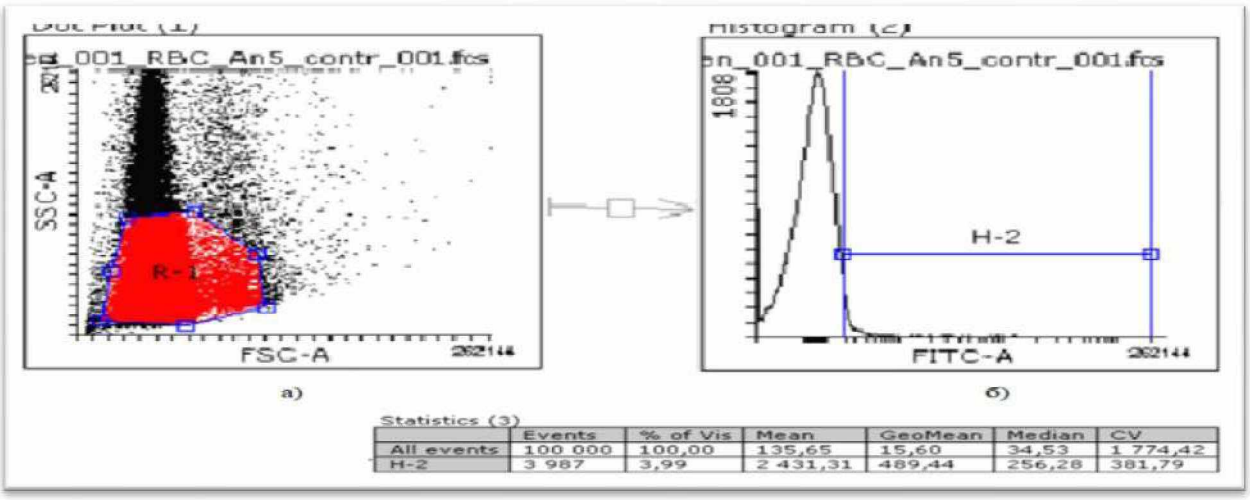


Рис. 3.18. Репрезентативна цитограма (а) та гістограма (б) еритроцитів крові щура номер 5 групи 3.

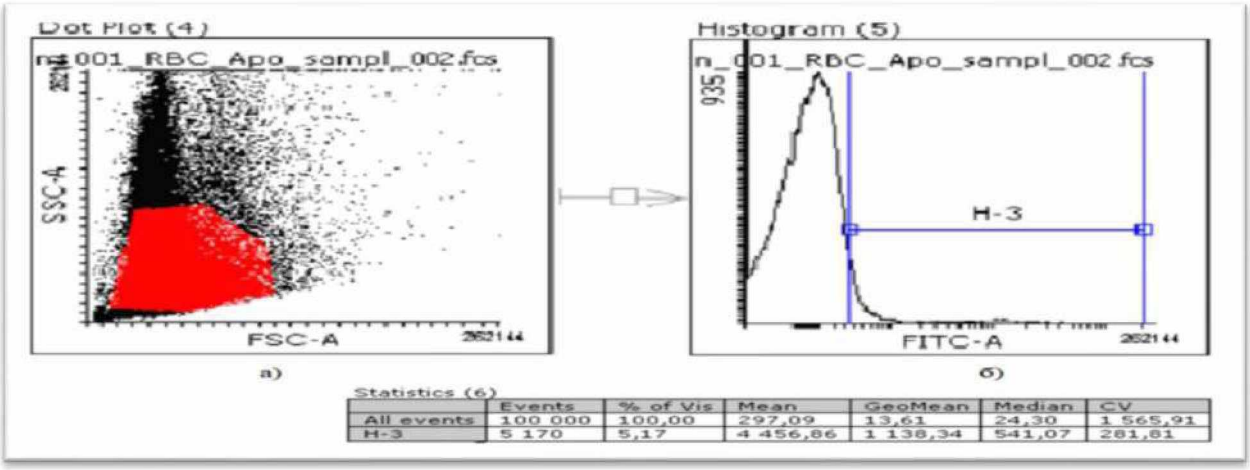


Рис. 3.19. Репрезентативна цитограма (а) та гістограма (б) еритроцитів крові щура номер 6 групи 4.

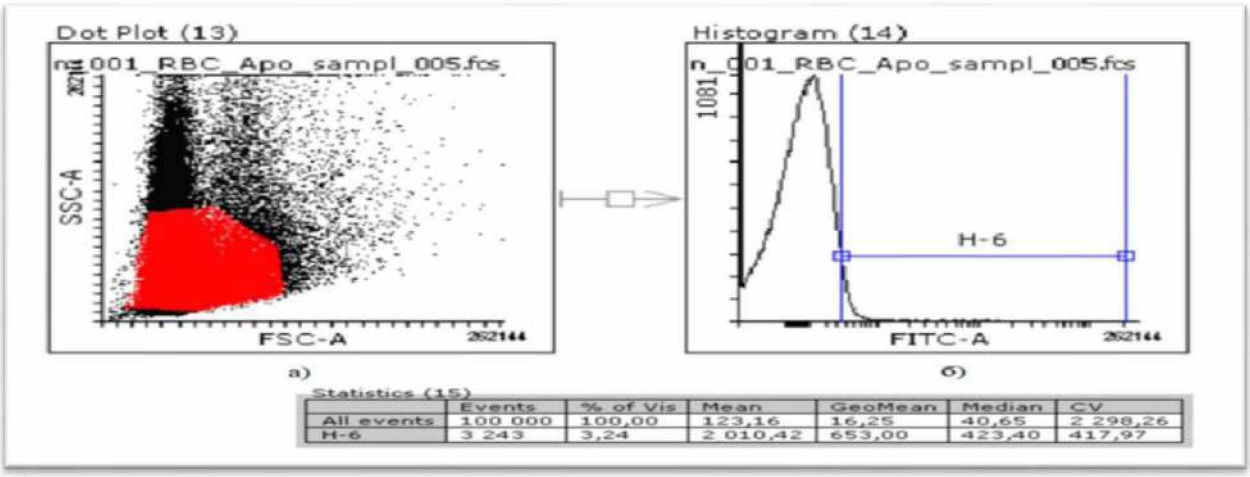


Рис. 3.20. Репрезентативна цитограма (а) та гістограма (б) еритроцитів крові щура номер 1 групи 5.

Резюме

У проведеному дослідженні, по-перше, було вивчено генерацію АФК в лейкоцитах та еритроцитах; по-друге, життєздатність та види загибелі лейкоцитів; по-третє, інтенсивність ериптозу у щурів за умов переривчастого холодового впливу та введення ДГЕА порівняно зі щурами з ДГЕА-індукованим СПКЯ.

У щурів з СПКЯ нейтрофільні лейкоцити характеризуються надмірною продукцією АФК, що, відповідно, призводить до розвитку оксидативного стресу. Останній був відмічений численними вченими як один із механізмів розвитку СПКЯ [158].

За умов переривчастого холодового впливу відмічається тенденція до зниження продукції АФК нейтрофільними лейкоцитами. Дані літератури щодо впливу холоду на процеси генерації АФК та виникнення оксидативного стресу є дискутабельними та суперечливими. На думку деяких учених, тривалий вплив холоду призводить до підвищення швидкості протікання метаболічних процесів у ссавців, дисбалансу в системі антиоксидантного захисту, підвищення генерації АФК та розвитку оксидативного стресу. Підвищення утворення АФК корелює зі збільшенням синтезу енергії [145]. Результати інших досліджень свідчать про активацію ферментативної та неферментативної ланок антиоксидантної системи та зниження продукції АФК за умов впливу холоду [159, 160].

Наявність суперечливої інформації в літературі щодо впливу холоду на процес продукції АФК нейтрофільними лейкоцитами, з нашої точки зору, обумовлена різними характеристиками стресогенного холодового фактору (тривалість дії, періодичність впливу, ступінь зниження температури, локальна дія або вплив на весь організм та ін.).

За умов введення щурам ДГЕА на тлі переривчастого холодового впливу відмічається нормалізація продукції АФК лейкоцитами. Враховуючи значимість гіперпродукції АФК лейкоцитами в етіопатогенезі СПКЯ, одержані результати дозволяють рекомендувати переривчастий холодовий вплив в якості одного з методів превенції вище зазначеної патології яєчників.

Проведене дослідження також виявило зниження життєздатності нейтрофільних лейкоцитів крові щурів з ДГЕА-індукованим СПКЯ внаслідок активації процесів апоптозу, про що свідчило збільшення відсотка лейкоцитів, які знаходяться на початковій стадії апоптозу. Переривчастий холодовий вплив на тлі введення щурам ДГЕА чинив антиапоптотичний ефект, нормалізуючи життєздатність нейтрофільних лейкоцитів крові.

Проведене дослідження також довело, що при СПКЯ еритроцити продукують надмірну кількість АФК, що є ознакою порушення редокс-гомеостазу та розвитку оксидативного стресу – одного з ключових механізмів розвитку цього синдрому. Переривчастий холодовий вплив знижує рівень продукції АФК у щурів із гормонально індукованою патологією до контрольних значень.

У щурів з СПКЯ відмічається активація ериптозу, що обумовлена, з нашої точки зору, гіперпродукцією ними АФК. Переривчастий холодовий вплив на тлі введення щурам ДГЕА нормалізує процеси ериптозу.

Роботи, що були опубліковані за матеріалами даного розділу:

1. Жулікова МВ, Мирошниченко МС, Наконечна ОА, Жуліков ОО, Бібіченко ВО, Мирошниченко СО, Зайцева ОВ, Ковальцова МВ. Життєздатність та види загибелі лейкоцитів крові щурів з синдромом полікістозних яєчників за умов переривчастого холодового впливу. Фізіологічний журнал. 2023; 69(5):33-42 [161].

2. Zhulikova MV, Myroshnychenko MS, Nakonechna OA, Zhulikov OO, Pustova NO, Bibichenko VO, Lytvynenko OY, Kucheriavchenko MO. Reactive oxygen species generation by blood leucocytes of rats with polycystic ovary syndrome under the conditions of intermittent cold exposure. Wiad Lek. 2023;76(7):1670-1676 [162].

3. Zhulikova M, Zhulikov O, Myroshnychenko M, Nakonechna O, Kapustnyk N. Eryptosis in rats with polycystic ovary syndrome under intermittent cold exposure conditions. In: Materials of the 61st annual meeting of the Society for Cryobiology «CRYO2024»; 2024 July 23-25; Washington. Cryobiology. 2024;117:105151. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2024.105151 [163].

4. Мирошниченко МС, Жулікова МВ, Наконечна ОА, Капустник НВ, Пасієшвілі НМ, Бібіченко ВО. Особливості генерації активних форм кисню в еритроцитах щурів з синдромом полікістозних яєчників за умов переривчастого холодового впливу. Матеріали доповідей IX Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю «Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України» (19-21 вересня 2024 р, м. Івано-Франківськ). Івано-Франківськ: Івано-Франківський національний медичний університет, 2024. С. 152-153 [164].

5. Hromko YeA, Zhulikova MV, Myroshnychenko MS, Nakonechna OA. The effect of intermittent cold exposure on the level of reactive oxygen species production in erythrocytes of rats with induced polycystic ovary syndrome. Abstract book of 49th Annual Conference of Young Scientists Cold in Biology and Medicine. (May 14-15, 2025, Kharkiv). 2025. P 30 [165].

РОЗДІЛ 4
ВМІСТ ОСНОВНИХ БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ У КРОВІ У ЩУРІВ З СИНДРОМОМ ПОЛІКІСТОЗНИХ ЯЄЧНИКІВ ТА ЗА УМОВ ПЕРЕРИВЧАСТОГО ХОЛОДОВОГО ВПЛИВУ

4.1. Стан системи антиоксидантного захисту

В організмі існує АОС, функціонування якої забезпечує інактивацію вільних радикалів і пероксидів, а також обмежує та гальмує перекисне окиснення ліпідів. АОС, як відомо, представлена ферментативною ланкою (СОД), каталаза, пероксидаза, глутатіонпероксидаза та інші), неферментативною ланкою (глутатіон, вітаміни А, Е, С, Д, каротини тощо), і так званим «структурним» антиоксидантом [166].

Одним із важливих ферментів, що каталізує перетворення супероксиду до оксигену та H_2O_2, є СОД, яка є ферментом АОС першого ланцюга захисту від АФК. В організмі наявні три її форми: цитоплазматична ($СОД_1$), мітохондріальна ($СОД_2$), позаклітинна ($СОД_3$). $СОД_{1,3}$ містить Cu та Zn, а $СОД_2$ має Mn^{2+} в активному центрі [167].

Відомо, що одним з білків антиоксидантного захисту, є церулоплазмін. Він має ферментативну активність, містить мідь, є індикатором запального процесу, білком «гострої фази». Він синтезується в гепатоцитах, лімфоцитах, макрофагах, мозковій тканині, ендометрії матки. Церулоплазмін виконує багато важливих функцій в організмі: здійснює транспорт міді, має феррооксидазну та антиоксидантну дію, бере участь у гострих запальних реакціях, регулює вміст біогенних амінів [168]. У плазмі крові церулоплазмін виконує основну антиоксидантну активність, попереджує неферментативні реакції, виключає залізо та трансферин з цих реакцій, може виконувати супероксидантну активність [169].

У даному розділі проведено оцінку стану АОС у щурів груп 1-5 шляхом дослідження в сироватці крові СОД та церулоплазміну. Результати вмісту досліджуваних показників наведено в таблиці 4.1.

Таблиця 4.1

Активність СОД та вміст церулоплазміну в сироватці крові щурів груп 1-5 (Медіана [25% процентиль; 75% процентиль])

Група	СОД, пкг/мл	Церулоплазмін, мг/л
Група 1	208,5 [201,5; 225,5]	123,1 [110,6; 134,6]
Група 2	308,8 [289,3; 315,8] [1]	164,1 [138,0; 172,1] [1]
Група 3	412,2 [398,0; 426,7] [1,2]	129,6 [120,9; 135,0] [2]
Група 4	548,0 [541,3; 582,8] [1,2,3]	299,8 [284,0; 309,2] [1,2,3]
Група 5	384,1 [315,8; 398,7] [1,2,4]	122,4 [127,4; 133,1] [2,4]

Примітка: [1] – значима ($p<0,05$) відмінність порівняно з показником групи 1; [2] – значима ($p<0,05$) відмінність порівняно з показником групи 2; [3] – значима ($p<0,05$) відмінність порівняно з показником групи 3; [4] – значима ($p<0,05$) відмінність порівняно з показником групи 4.

При аналізі вмісту СОД було виявлено збільшення ($p<0,05$) зазначеного показника різного ступеня вираженості у групах 2-5 порівняно з групою 1, що свідчило про активацію АОС.

У групах 2 і 3 було виявлено, відповідно, мінімальне та виражене збільшення ($p<0,05$) значення показника СОД. Подібні результати, що одержані у групі 2, були описані у дослідженні Ketsa O.V. та співав., у яких введення ω-3 поліненасичених жирних кислот протягом 7 днів перед лазерним опроміненням супроводжувалося зниженням вмісту карбонільних похідних та пригніченням утворення O2 •-, підвищенням вмісту SH-груп протеїнів та активності антиоксидантних ензимів [170].

Переривчастий холодовий вплив у групі 3, з нашої точки зору, на системному рівні спочатку стимулював внутрішні захисні ресурси за рахунок посилення окисних процесів, що, в свою чергу, ініціювало активацію ферментативної та неферментативної ланок АОС та підвищувало загальну резистентність організму до стресових факторів різного генезу.

У щурів групи 4 було виявлено максимально виражене збільшення ($p<0,05$) показника СОД. Підвищення вмісту СОД, яка є ферментом першої ланки АОС, виникає у відповідь на гіперпродукцію АФК нейтрофільними лейкоцитами та еритроцитами, що нами було виявлено та описано в попередніх розділах. Відомо, що СОД інгібує запалення [171]. Тож виявлене збільшення показника СОД може бути націлене на зниження ступеня вираженості хронічного слабковираженого запалення, яке має місце в генезі розвитку СПКЯ [172].

У науковій літературі є відомості щодо ролі ДГЕА в регуляції балансу між утворенням АФК та їх знешкодженням. Гормон, який застосовували для моделювання СПКЯ, підвищує активність загальної антиоксидантної здатності, зокрема СОД, на тлі зниження рівня АФК [137].

У групі 5 показник вмісту СОД помірно збільшувався ($p<0,05$) порівняно з показником групи 1, проте порівняно з показником групи 4 зазначений показник зменшувався ($p<0,05$), що, з нашої точки зору, було обумовлено нормалізацією продукції АФК нейтрофільними лейкоцитами, еритроцитами та рівня оксидативного стресу.

Результати виміру вмісту церулоплазміну в групах 1-5 наведено в таблиці 4.1. Вміст церулоплазміну збільшувався ($p<0,05$) у групі 2 порівняно з групою 1. Підвищення вмісту церулоплазміну на введення оливкової олії (що містить поліненасичені жирні кислоти) також спостерігалося в інших дослідженнях [170].

У групі 3 порівняно з групою 1 вміст церулоплазміну не мав значимих ($p>0,05$) відмінностей.

У крові щурів групи 4 порівняно з групою 1 було виявлено збільшення ($p<0,05$) досліджуваного показника, що, з нашої точки зору, є реакцією-відповіддю АОС на гіперпродукцію АФК клітинами крові. У групі 5 порівняно з

групою 4 показник зменшувався ($p<0,05$) та не мав значимих ($p>0,05$) відмінностей порівняно з показником групи 1. Останній факт був обумовлений нормалізацією продукції АФК клітинами крові.

4.2. Основні показники вуглеводного обміну

У патогенезі розвитку СПКЯ численні вчені надають значення дисбалансу інсуліну, гіперінсулінемії та розвитку ІР [173].

ІР є одним з найпоширеніших ендокринних розладів, що зустрічається у 75% пацієнтів з СПКЯ [174]. За останні роки з'явилося багато інформації щодо вивчення ІР при СПКЯ. Під ІР розуміють патологічний стан, який характеризується зниженням чутливості інсулінозалежних тканини організму людини до інсуліну. При зазначеному стані порушується стимульоване інсуліном поглинання глюкози тканинами, що призводить до гіперглікемії, яка провокує гіперінсулінемію [175].

Інсулін – гормон білкової природи, що синтезується β-клітинами острівців Лангерганса підшлункової залози. Дія інсуліну на чутливі до нього тканини здійснюється через інсулінові рецептори. Останні характеризуються наявністю чотирьох субодиниць (двох *α* та двох *β)*. α субодиниці розташовані з зовнішнього боку плазматичної мембрани і безпосередньо взаємодіють з інсуліном, а β – трансмембранні білки, які мають властивості тирозинової протеїнкінази. Зв'язування інсуліну з рецептором призводить до активації ферменту тирозинкінази. В β субодиниці індукується процес фосфорилювання тирозину, що в подальшому призводить до транспорту глюкози всередину клітини та синтезу глікогену [176].

Поверхневий рецептор до інсуліну на клітинній мембрані є гомологічним з рецептором інсуліноподібного фактору росту 1 (IGF-1), активація якого стимулює захват глюкози клітиною. Виникає активація сигнального шляху MAPK-ERK, що стимулює каскад ферментативних реакцій. За даними наукової літератури у пацієнток з СПКЯ спостерігається зниження афінності рецепторів до інсуліну в

адипоцитах, що призводить до низького поглинання глюкози та чутливості до інсуліну. Це може свідчити про порушення функціонування білка GLUT4 (зниження синтезу), що відповідає за транспорт глюкози всередину клітини, а саме адипоцитів у підшкірно-жировому шарі [177].

У клінічних дослідженнях у жінок з СПКЯ визначається високий ризик розвитку цукрового діабету 2 типу, серцево-судинних захворювань та ін. [178].

Для оцінки вуглеводного обміну було проведено визначення в крові вмісту глюкози та інсуліну. Одержані показники в подальшому були використані для розрахунку індексу HOMA. Одержані результати в групах 1-5 представлено в таблиці 4.2.

Таблиця 4.2

Вміст глюкози (ммоль/л) та інсуліну (мкМО/мл),
індекс HOMA (Me[IQR]) у щурів груп 1-5

Група	Назва показника		
	Глюкоза, ммоль/л	Інсулін, мкМО/мл	Індекс HOMA
Група 1	4,38 [4,06; 5,21]	8,26 [6,95; 9,22]	1,59 [1,38; 1,88]
Група 2	4,59 [4,03; 5,71]	5,97 [5,53; 7,01] [1]	1,29 [1,12; 1,76]
Група 3	5,27 [4,84; 5,48]	4,65 [4,05; 5,59] [1]	1,12 [0,97; 1,32] [1]
Група 4	6,85 [6,08; 6,96] [1,2,3]	31,20[27,68;33,01] [1,2,3]	8,86 [7,84; 9,96] [1,2,3]
Група 5	5,34 [5,01; 6,13] [1,2,4]	9,63 [8,88; 10,41] [1,2,3,4]	2,43 [2,24; 2,53] [1,2,3,4]

Примітка: [1] – значима ($p<0,05$) відмінність порівняно з показником групи 1; [2] – значима ($p<0,05$) відмінність порівняно з показником групи 2; [3] – значима ($p<0,05$) відмінність порівняно з показником групи 3; [4] – значима ($p<0,05$) відмінність порівняно з показником групи 4.

При аналізі отриманих даних щодо гормонально-метаболічних інформаційних показників вуглеводного обміну у групі 2 порівняно з групою 1

було виявлено зниження ($p<0,05$) вмісту інсуліну, проте вміст глюкози та індекс HOMA не змінювалися ($p>0,05$).

У щурів групи 3 порівняно з групою 1 реєструвалося зниження вмісту інсуліну та індексу HOMA на тлі незміненого вмісту глюкози, що, з нашої точки зору, свідчить про позитивний переривчастий холодовий вплив на вуглеводний обмін шляхом підвищення чутливості рецепторів до дії інсуліну. Показники груп 2 і 3 не мали ($p>0,05$) значимих відмінностей.

У групі 4 порівняно з групами 1-3 збільшувався ($p<0,05$) вміст глюкози, тобто спостерігалася гіперглікемія. На тлі гіперглікемії було виявлено підвищення ($p<0,05$) вмісту в крові інсуліну. Також збільшувався ($p<0,05$) індекс HOMA, що вказувало на розвиток ІР, що, в свою чергу, призводить до гіперінсулінемії через неможливість реалізувати дію гормону, що приймає участь в регуляції рівня глюкози в крові. Отримані дані свідчать про зрив компенсаторних реакцій щодо регуляції вмісту глюкози в крові.

Визначені в групі 4 гіперінсулінемія та ІР в подальшому можуть призводити до ановуляції. Доведено, що інсулін може посилювати вплив ЛГ, а той, в свою чергу, впливає на тека-клітини і стромальні клітини яєчників та викликає продукцію андрогенів, що може призводити до хронічної ановуляції [179]. У пацієнтів зі значною ІР гіперінсулінемія сприяє синтезу андрогенів в яєчниках незалежно від впливу гонадотропінів [180, 181]. Підвищення вмісту інсуліну може сприяти збільшенню експресії таких ферментів, як 17-ß-гідроксилази, $C_{17,20}$ - ліази в фолікулах, що призводить до гіперсекреції андростендіону, який виконує функцію основного андрогену яєчників [182].

Доведено, що інсулін пригноблює продукцію в печінці стероїдзв'язуючого глобуліну (СЗГ) та протеїнів, які зв'язують тестостерон, що призводить до збільшення вмісту в крові вільних фракцій андрогенів (особливо тестостерону) [179, 183].

У групі 5 порівняно з групами 1, 2 показники вмісту глюкози, інсуліну, індексу HOMA мали більше ($p<0,05$) значення. У групі 5 порівняно з групою 3 показник вмісту глюкози не відрізнявся ($p>0,05$), а вміст інсуліну та індекс HOMA

мали більше ($p<0,05$) значення. Порівняно з групою 4 у щурів даної групи вміст глюкози та інсуліну зменшувалися ($p<0,05$), індекс HOMA знижувався ($p<0,05$). Одержані в групі 5 зміни засвідчили позитивний ефект переривчастого холодового впливу на біохімічні показники вуглеводного обміну.

Холодовий вплив є одним із методів, що здатний індукувати адаптаційні механізми в організмі. Відомо, що адаптаційні механізми, що забезпечують перебування організму в умовах низьких температур, запускаються навіть після короткочасної дії холоду. Ці зміни можуть відбуватися як на системному рівні (на рівні організму), так і на локальному рівні (в окремих органах, в т.ч. в яєчниках). За даними деяких учених ритмічні холодові впливи (5±1°C) суттєво покращують функцію імунної системи, посилюючи адаптаційні можливості організму до дії негативних факторів [184]. Переривчастий холодовий вплив позитивно впливає на протікання біохімічних процесів в організмі та модулює активність фізіологічних систем [185].

Переривчастий холодовий вплив, по-перше, покращує поглинання глюкози бурою жировою тканиною та скелетними м'язами, що призводить до її зниження в крові. Доведено, що переривчастий холодовий вплив активує в жировій тканині жирові тригліцеридліпази та ліпопротеїнліпази, а окислювальна здатність вільних жирних кислот у скелетних м'язах підвищується за рахунок збільшення коактиватора 1 альфа (PGC-1α) у PPARG та p38-мітоген активованих протеїнкіназ (p38MAPK). По-друге, переривчастий холодовий вплив активує буру жирову тканину, яка, як відомо, генерує тепло, використовуючи глюкозу та жирні кислоти, що в свою чергу призводить до зниження їх рівня в крові [10].

При СПКЯ численні дослідження реєструють збільшення вмісту в крові вільних жирних кислот (гіперліпацидемію) [186]. При гіперліпацидемії частина вільних жирних кислот йде на окиснення та забезпечення енергетичних потреб, а частина чинить ліпотоксичні ефекти, саме за рахунок яких у пацієнтів з СПКЯ розвивається ІР. Переривчастий холодовий вплив посилює окиснення жирних кислот, що знижує їх рівень у крові, та підвищує чутливість тканин до інсуліну [10, 187].

4.3. Основні показники ліпідного обміну

У пацієнток з СПКЯ серед наявних метаболічних порушень часто реєструють порушення ліпідного обміну, що маніфестують дисліпопротеїнеміями. Останні характеризуються порушенням співвідношення між окремими класами ліпопротеїнів плазми крові [188].

Ліпопротеїни є високомолекулярними водорозчинними комплексами різних класів ліпідів (ТАГ, холестеролу, фосфоліпідів) з білками (апопротеїнами), які забезпечують транспорт ліпідів в організмі. До їх основних форм відносять хіломікрони, ЛПДНЩ (пре-β-ліпопротеїни), ЛПНЩ (β-ліпопротеїни), ЛПВЩ (α-ліпопротеїни) [189].

Ліпідний компонент хіломікронів представлений екзогенними ТАГ, які транспортуються до жирової тканини, де вони депонуються, та м'язової тканини, де за потребою здійснюється їх утилізація.

ЛПДНЩ синтезуються в печінці за умов ліпогенезу (перетворення глюкози через ацетил-КоА на жирні кислоти з утворенням ТАГ), цей процес стимульований інсуліном. Синтезовані в ендоплазматичному ретикулумі гепатоцитів ТАГ упаковуються з холестеролом, фосфоліпідами та білками (АпоВ-100), утворюючи ЛПДНЩ, які гідролізуються ліпопротеїнліпазою (ЛПЛ), жирні кислоти далі потрапляють до тканей з подальшим ß-окисненням в якості джерела енергії.

ЛПНЩ утворюються в капілярах печінки із залишків ЛПДНЩ. Їхній ліпідний компонент – холестерол в естерифікованій та вільній формах. Вони відповідають за транспорт холестеролу до периферичних клітин, які його використовують за потребами. ЛПНЩ виводяться з кровообігу за допомогою рецепторів або іншими шляхами виведення, які часто використовуються у випадках високої концентрації ЛПНЩ. Альтернативні шляхи виведення холестеролу не такі ефективні порівняно з рецепторами, під час яких ЛПНЩ зазнають різних модифікацій (окиснення, агрегації та ін.). Останні роблять ЛПНЩ більш атерогенними [190].

ЛПВЩ утворюються гепатоцитами та клітинами тонкої кишки. Вони видаляють холестерол з периферичних тканин і повертають його в печінку. Зазначений різновид ліпопротеїнів поглинається безпосередньо печінкою або опосередковано, шляхом передачі іншим циркулюючим ліпопротеїнам, які потім повертають їх до печінки [166, 190].

У проведеному дослідженні були визначені основні показники ліпідного обміну у щурів груп 1-5, середні значення яких наведено на рисунку 4.1. Також було підраховано коефіцієнт атерогенності, що представлено на рисунку 4.2.

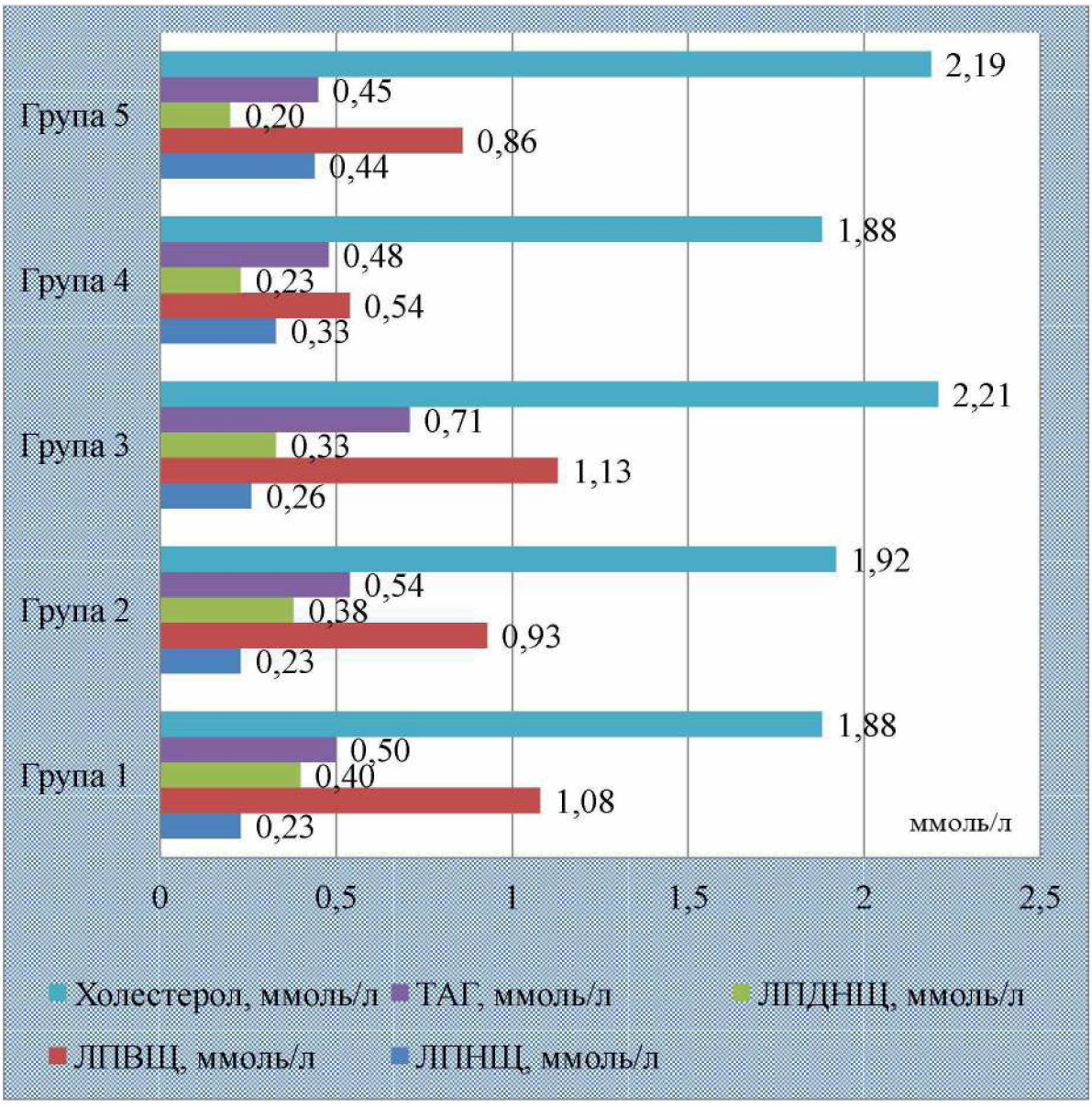


Рис. 4.1. Показники ліпідного обміну (ммоль/л) в крові щурів груп 1-5.

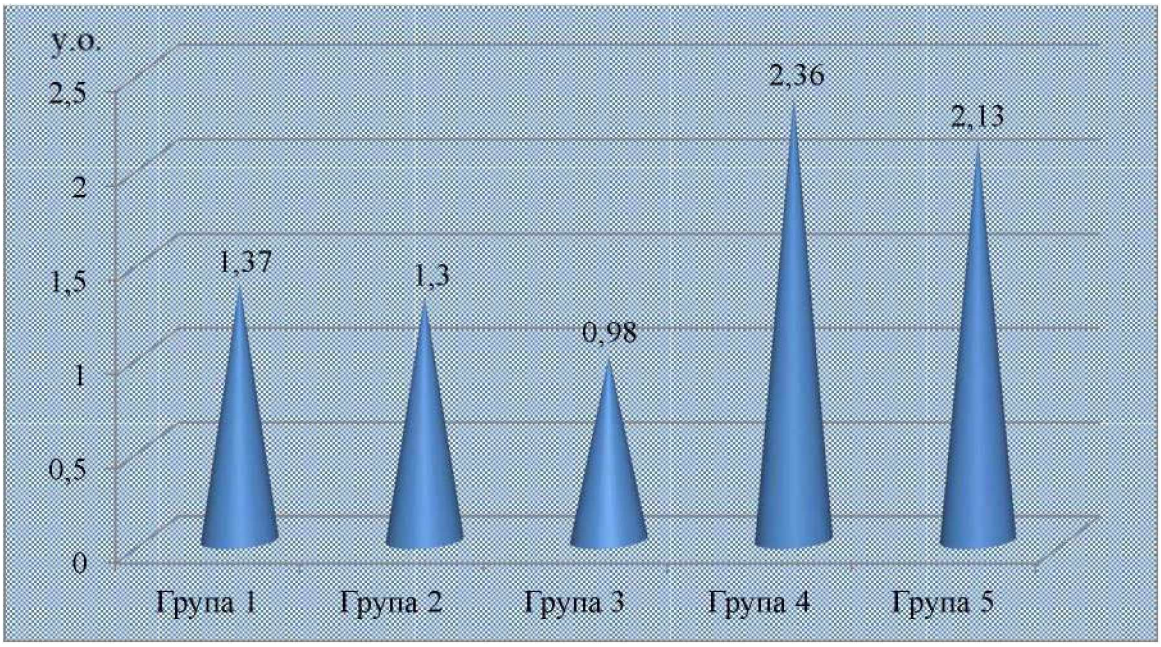


Рис. 4.2. Коефіцієнт атерогенності (у.о.) у щурів груп 1-5.

Визначені показники ліпідного обміну, коефіцієнт атерогенності в крові щурів групи 2 не відрізнялися ($p>0,05$) від відповідних показників групи 1.

Дані літератури щодо впливу низьких температур на показники обміну ліпідів є неоднозначними та дискутабельними, що обумовлено різними характеристиками температурного фактору та його тривалістю. Низька температура, в одних дослідженнях, позитивно впливала на фізіологічні і біохімічні процеси в організмі та підвищувала його адаптаційні можливості, а в інших дослідженнях – чинила ушкоджуючу дію.

У численних експериментальних дослідженнях за умов холодового впливу було виявлено розвиток дисліпідемій, що мали різні характеристики. Так, в одному дослідженні дисліпідемія маніфестувала гіперхолестеролемією, зниженням вмісту ЛПВЩ, підвищенням вмісту ЛПНЩ і ЛПДНЩ [191]. У іншому дослідженні переривчастий холодовий вплив (4°С) упродовж 21 доби знижував рівень ТАГ, підвищував рівень загального холестеролу та ЛПНЩ, а рівень ЛПВЩ та вільних жирних кислот залишалися незмінним [192].

У проведеному метааналізі зазначено, що переривчастий холодовий вплив у крові людей та тварин підвищує рівень вільних жирних кислот, в той час як рівень ТАГ підвищує, знижує або взагалі не змінює [193].

У щурів, які увійшли до групи 3, порівняно з показниками групи 1 було виявлено підвищення ($p<0,05$) в крові вмісту ТАГ, холестеролу, що співпадає з результатами деяких досліджень [194]. Також було відмічено зменшення значення показника атерогенності ($p<0,05$). При переривчастому холодовому впливі внаслідок активації бурої жирової тканини реєструється інтенсивний процес ліполізу, під час якого відбувається гідроліз ТАГ з вивільненням гліцеролу та жирних кислот. Останні потім використовуються для виробництва тепла, підтримуючи термогенез. Частина вільних жирних кислот, що утворилася під час ліполізу, потрапляє у печінку, а також ті жирні кислоти, що синтезувалися тут з вуглеводів, використовуються для інтенсивного синтезу ТАГ, що є механізмом запасання енергії. ТАГ потім секретуються в кров у складі ЛПДНЩ, що призводить до підвищення рівня ТАГ у плазмі крові.

У групі 3 на тлі підвищеного рівня ТАГ була виявлена гіперхолестеролемія. Останні зміни, з нашої точки зору, обумовлені підвищеною продукцією у печінці з ацетил-КоА холестеролу та подальше його використання у синтезі біологічно активних речовин стероїдної природи, зокрема статевих гормонів, гормонів кори надниркових залоз, а також для відновлення структурних компонентів мембран пошкоджених клітин [195, 196].

У групі 3 порівняно з групою 2 підвищувався ($p<0,05$) вміст ТАГ та холестеролу, зменшувався ($p<0,05$) коефіцієнт атерогенності, а значення вмісту ЛПНЩ, ЛПВЩ, ЛПДНЩ не мали ($p>0,05$) відмінностей.

При аналізі ліпідограм щурів групи 4 порівняно з групою 1 було виявлено збільшення ($p<0,05$) вмісту ЛПНЩ, зниження ($p<0,05$) вмісту ЛПВЩ і ЛПДНЩ, збільшення коефіцієнта атерогенності. Виявлена в групі 4 дисліпідемія нагадує дисліпідемію атерогенного характеру, яка, як відомо, характеризується збільшеним вмістом ЛПНЩ, ЛПДНЩ, зниженим вмістом ЛПВЩ, збільшеним коефіцієнтом атерогенності [197].

Дослідниками визначені різні типи дисліпідемій у жінок з СПКЯ [198]. Більшість авторів спостерігали у пацієнток атерогенну дисліпідемію [199]. Деякі науковці у жінок з СПКЯ відмічали зниження вмісту ЛПВЩ і апопротеїну А-1 на тлі підвищення вмісту ТАГ, АроВ та ЛПДНЩ. У жінок з СПКЯ часто зустрічається незначна гіперхолестеролемія [200]. За даними інших дослідників у крові хворих на СПКЯ підвищується вміст ЛПВЩ та знижується вміст ЛПНЩ за умов переважного впливу естрогенів [201].

Проведені численні дослідження доводять, що наявні у пацієнток з СПКЯ гіперандрогенія, ожиріння, ІР, гіперінсулінемія спричиняють дисліпідемію, яка, в свою чергу, призводить до розвитку ендотеліальної дисфункції та трофічних порушень у різних органах, у тому числі, в яєчниках та матці [202, 203]. Порушення трофіки зазначених органів спричиняє розвиток тканинної гіпоксії, яка активує клітини фібробластичного ряду, що призводить до розвитку склеротичних змін. Наявні морфофункціональні зміни призводять до порушень фолікулогенезу та розвитку ановуляції і безпліддя [204, 205].

Виявлене в групі 4 зниження вмісту ЛПВЩ може бути обумовлено тим, що андрогени посилюють активність печінкової ліпази та пригноблюють синтез ЛПВЩ [204]. Зниження вмісту ЛПДНЩ обумовлене інтенсивним їх переходом в ЛПНЩ, що призвело до збільшення вмісту останніх. Збільшення вмісту в крові ЛПНЩ також може бути обумовлене тим, що андрогени підвищують продукцію в печінці ЛПДНЩ та пригноблюють катаболізм ЛПНЩ.

У групі 4 порівняно з групою 2 збільшувався ($p<0,05$) вміст ЛПНЩ, зменшувався ($p<0,05$) вміст ЛПВЩ, ЛПДНЩ, збільшувався ($p<0,05$) коефіцієнт атерогенності; порівняно з групою 3 – збільшувався ($p<0,05$) вміст ЛПНЩ, зменшувався ($p<0,05$) вміст ЛПВЩ, ЛПДНЩ, ТАГ та холестеролу, збільшувався ($p<0,05$) коефіцієнт атерогенності.

У групі 5 порівняно з групою 1 було виявлено збільшення ($p<0,05$) вмісту ЛПНЩ і холестеролу, зменшення ($p<0,05$) вмісту ЛПДНЩ і ЛПВЩ, збільшення ($p<0,05$) коефіцієнту атерогенності. Однак у досліджуваній групі порівняно з групою 4 вміст ЛПВЩ, ЛПНЩ, холестеролу приймав більше ($p<0,05$) значення,

зменшувався ($p<0,05$) коефіцієнт атерогенності. Отже, переривчастий холодовий вплив на тлі введення ДГЕА порівняно зі щурами з СПКЯ змінював показники ліпідограми, які мали позитивне значення, про що свідчить, в тому числі, і зменшення коефіцієнта атерогенності. Гіперхолестеролемія необхідна для продукції біологічно активних речовин (статевих гормонів, гормонів надниркових залоз, вітамінів групи D та ін.) та відновлення пошкоджених клітин, що, в свою чергу, призводить до підвищення рівня в крові ЛПНЩ. Останні відповідають за транспорт холестеролу до периферичних клітин. Надлишок холестеролу, який не був використаний периферичними клітинами для своїх потреб, стимулює утворення в печінці ЛПВЩ, які переносять холестерол з позапечінкових тканин до печінки для виведення з організму [190].

Резюме

У щурів з ДГЕА-індукованим СПКЯ відмічалося збільшення вмісту в сироватці крові СОД та церулоплазміну, що свідчить про активацію АОС у зв'язку з гіперпродукцією АФК нейтрофільними лейкоцитами і еритроцитами.

У щурів на тлі введення ДГЕА за умов переривчастого холодового впливу вміст церулоплазміну відповідав нормі, а вміст СОД дещо збільшений порівняно з контрольним показником та зменшений порівняно зі щурами з ДГЕА-індукованим СПКЯ. Зазначені зміни були обумовлені зниженням до референтних показників продукції АФК клітинами крові за умов переривчастого холодового впливу.

При ДГЕА-індукованому СПКЯ у щурів відмічалися гіперглікемія, гіперінсулінемія та підвищений індекс HOMA, що вказувало на розвиток ІР. При переривчастому холодову впливі на тлі введення ДГЕА порівняно зі щурами з СПКЯ зменшувалися вміст глюкози та інсуліну, індекс HOMA, проте зазначені показники мали більше значення порівняно з даними групи контролю. Отже, переривчастий холодовий вплив на тіл введення ДГЕА чинив позитивний ефект на біохімічні показники вуглеводного обміну.

У щурів з СПКЯ було виявлено дисліпідемію та підвищення коефіцієнта атерогенності. Дисліпідемія, що маніфестувала збільшенням вмісту ЛПНЩ, зменшенням вмісту ЛПВЩ і ЛПДНЩ, мала атерогенний характер. Переривчастий холодовий вплив на тлі введення ДГЕА порівняно зі щурами з ДГЕА-індукованим СПКЯ позитивно впливав на показники ліпідного обміну, про що свідчило зменшення коефіцієнта атерогенності, збільшення вмісту ЛПВЩ, ЛПНЩ та холестеролу.

РОЗДІЛ 5
МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ ЯЄЧНИКІВ ТА НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ У ЩУРІВ З СИНДРОМОМ ПОЛІКІСТОЗНИХ ЯЄЧНИКІВ ТА ЗА УМОВ ПЕРЕРИВЧАСТОГО ХОЛОДОВОГО ВПЛИВУ

5.1. Вміст у крові естрадіолу

Яєчники, як відомо, продукують естрогени та прогестерон. Синтез естрогенів відбувається за рахунок ароматизації андрогенів. Серед естрогенів основним є естрадіол. Останній відповідає за жіночі вторинні статеві ознаки, стимуляцію росту фолікулів, розвиток ендометрію [206].

У проведеному дослідженні було визначено вміст естрадіолу в крові щурів груп 1-5. Одержані показники наведені на рисунку 5.1.

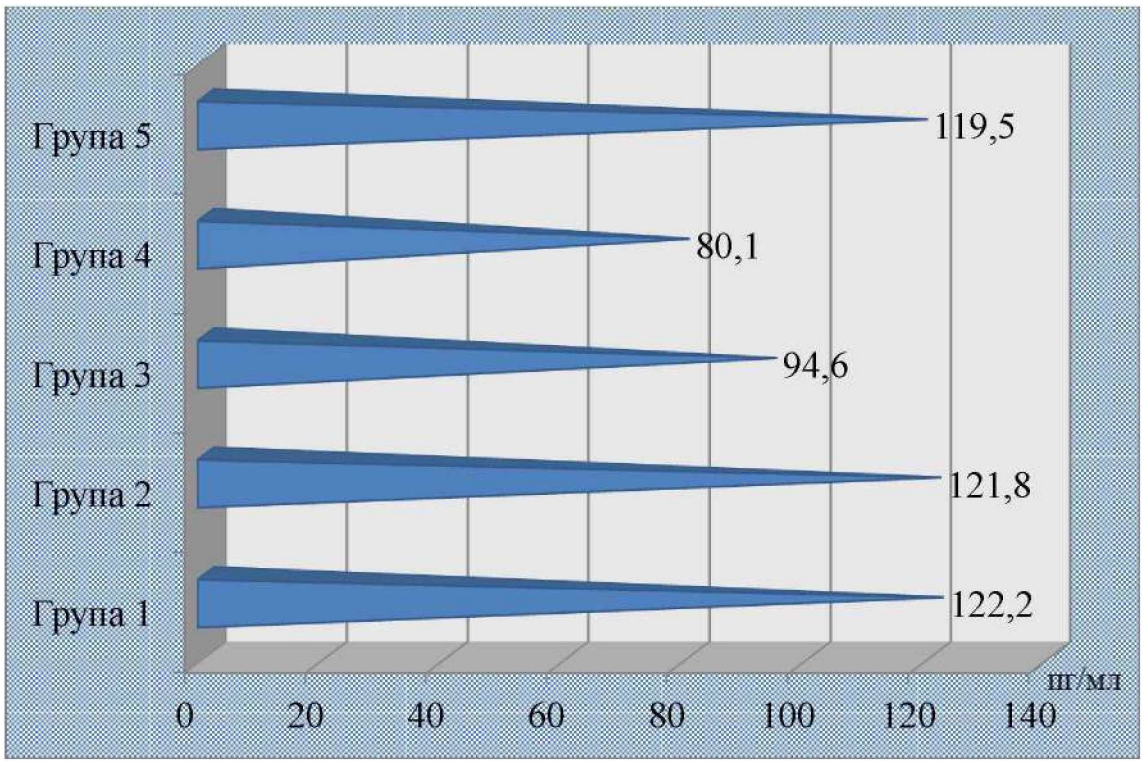


Рис. 5.1. Вміст естрадіолу (пг/мл) в крові щурів груп 1-5.

У групі 2 порівняно з групою 1 вміст естрадіолу не відрізнявся ($p>0,05$). У групі 3 порівняно з групами 1-2 було виявлено зниження ($p<0,05$) вмісту естрадіолу. Дані літератури щодо впливу холоду на метаболізм естрогенів є дискутабельними. В частині досліджень зазначено, що холод не впливає на продукцію естрогенів, хоча знижує чутливість рецепторів до естрогену, що, відповідно, призводить до підвищення вмісту цього гормону в крові [207].

Проведене морфологічне дослідження виявило стимуляцію бурої жирової тканини та перетворення білої жирової тканини в буру жирову тканину за умов переривчастого холодового впливу. З даних літератури відомо, що естрогени та прогестерон також стимулюють буру жирову тканину [208]. У проведеному дослідженні виявлене зниження вмісту естрадіолу за умов переривчастого холодового впливу є адаптивною захисною реакцією, яка націлена на збереження адекватної стимуляції бурої жирової тканини, що відповідає потребам організму.

Показник групи 3 мав значимо ($p<0,05$) менше значення порівняно з відповідним показником груп 1 і 2.

У групі 4 вміст естрадіолу в крові знижувався ($p<0,05$) порівняно як з показниками груп 1-2, так і з показником групи 3. У жінок з СПКЯ доведено порушення функцій естрогенів, їх рецепторів (естрогеновий рецептор альфа, естрогеновий рецептор бета, мембранний рецептор GPR30), а також ферментів, які приймають безпосередню участь у синтезі естрогенів [209]. У жінок з СПКЯ доведена недостатність оваріальної ароматази [210]. Ароматаза кодується геном CYP19A1, є ферментним комплексом, який складається з гемопротеїну цитохрому P450 і флавопротеїну та відповідає за перетворення андрогенів на естрогени в яєчниках [211]. На її активність впливають генетичний поліморфізм, мікроРНК, метаболічні порушення, а також токсичні речовини оточуючого середовища [210]. Ароматазну недостатність у жінок з СПКЯ пов'язують, по-перше, з підвищеним вмістом тестостерону, який інгібує активність даного ферменту; по-друге, з порушенням продукції ФСГ, який регулює активність даного ферменту [212].

Показник групи 5 підвищувався ($p<0,05$) порівняно з відповідним показником груп 4 і 3 та не мав значимих ($p>0,05$) відмінностей порівняно з

показником груп 1 і 2. Виявлена в групі 5 нормалізація вмісту естрадіолу свідчить про позитивний ефект переривчастого холодового впливу.

5.2. Морфологічні особливості яєчників

При виведенні тварин з експерименту вимірювали їх масу тіла, масу яєчника з подальшим розрахунком відносної маси даного органу. Результати визначення відносної маси яєчника представлено на рисунку 5.2. Як видно з останнього відносна маса яєчника не відрізнялася ($p>0,05$) в групах 1-3 і 5. Порівняно з останніми у групі 4 було відмічено зниження ($p<0,05$) відносної маси яєчника.

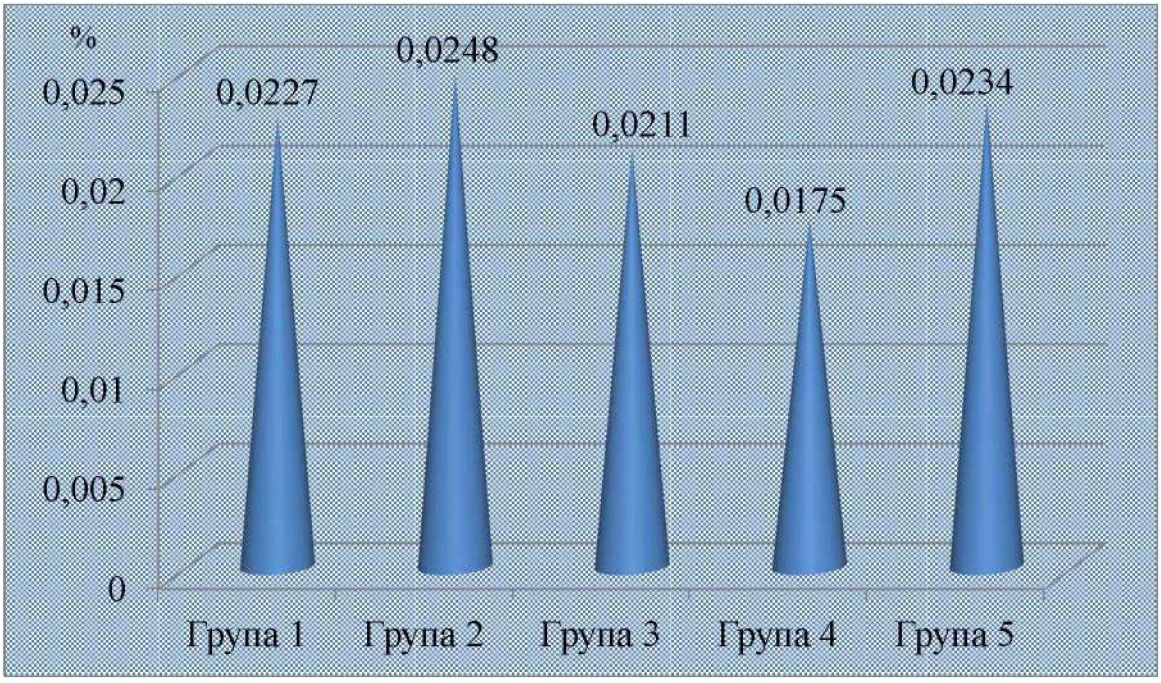


Рис. 5.2. Відносна (%) маса яєчника у щурів груп 1-5.

При макроскопічному дослідженні яєчники щурів груп 1-5 характеризувалися подовжено-овальною формою, нерівною (горбистою) поверхнею, що була обумовлена наявністю в групах 1-3 і 5 нечисленних дрібних порожнин (фолікулів) діаметром 0,1 см, а в групі 4 – значної кількості переважно великих порожнин (кіст) діаметром до 0,3 см (рис. 5.3). У всіх групах яєчники з

поверхні та поверхні розрізу мали білувато-сіруватий, сірувато-бурий та де-не-де вогнищево сірувато-жовтий колір.



Рис. 5.3. Яєчники (зображені червоною стрілкою) щура групи 4 з горбистою поверхнею за рахунок наявності кіст різного розміру.

При оглядовій мікроскопії яєчники щурів груп 1-5 ззовні були вкриті білковою оболонкою, яка була представлена потовщеними волокнами сполучної тканини. Ззовні білкова оболонка була вкрита одношаровим кубічним епітелієм. Товщина зазначеної оболонки не відрізнялася ($p>0,05$) в групах 1-3 та 5, проте порівняно з останніми мала більше ($p<0,05$) значення в групі 4. Потовщення білкової оболонки в групі 4 відбувалося за рахунок склеротичних змін (рис. 5.4).

У всіх групах яєчники характеризувалися наявністю кіркової та мозкової речовини, серед яких превалювала кіркова речовина. Остання розташовувалася за білковою оболонкою та характеризувалася наявністю паренхіми і строми.

У паренхімі кіркової речовини яєчників щурів груп 1-3 і 5 були виявлені фолікули різних генерацій, жовті тіла на різних стадіях розвитку (рис. 5.5, 5.6, 5.7). Фолікули, враховуючи будову, були розподілені на примордіальні, зростаючі та атретичні. До зростаючих фолікулів було віднесено первинні, вторинні та третинні. В групі 4 в паренхімі кіркової речовини були виявлені примордіальні,

зростаючі, атретичні та кістознозмінені фолікули, кісти різних розмірів та не відмічалися жовті тіла (рис. 5.8).

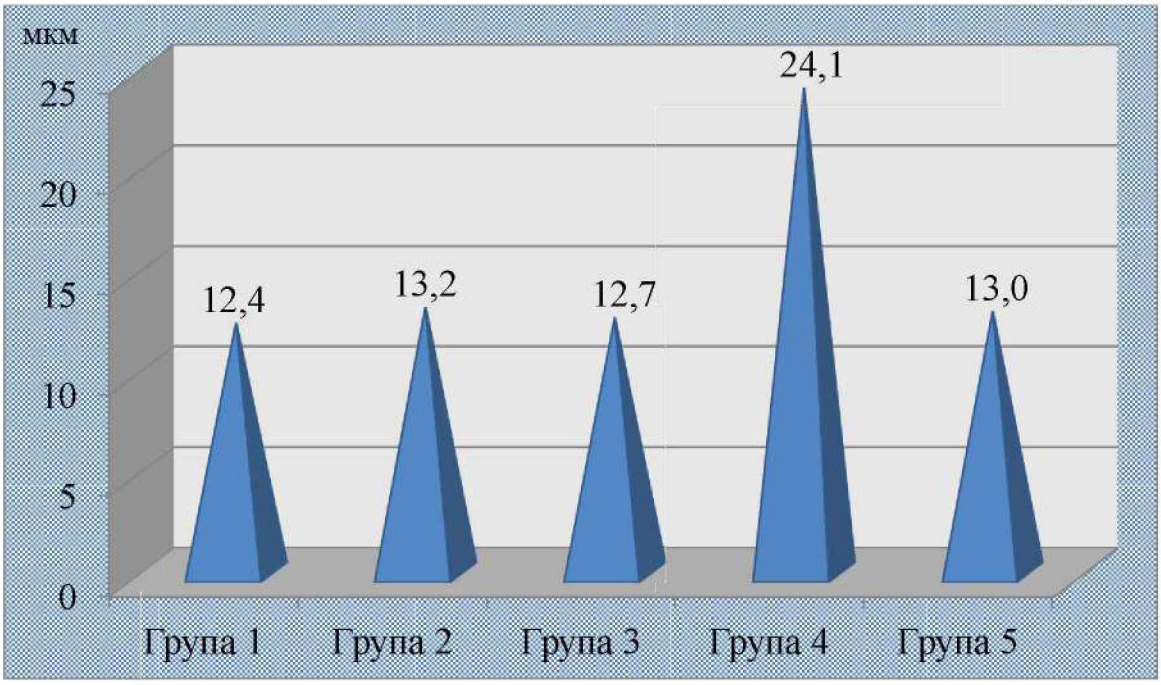


Рис. 5.4. Товщина (мкм) білкової оболонки яєчників у щурів груп 1-5.

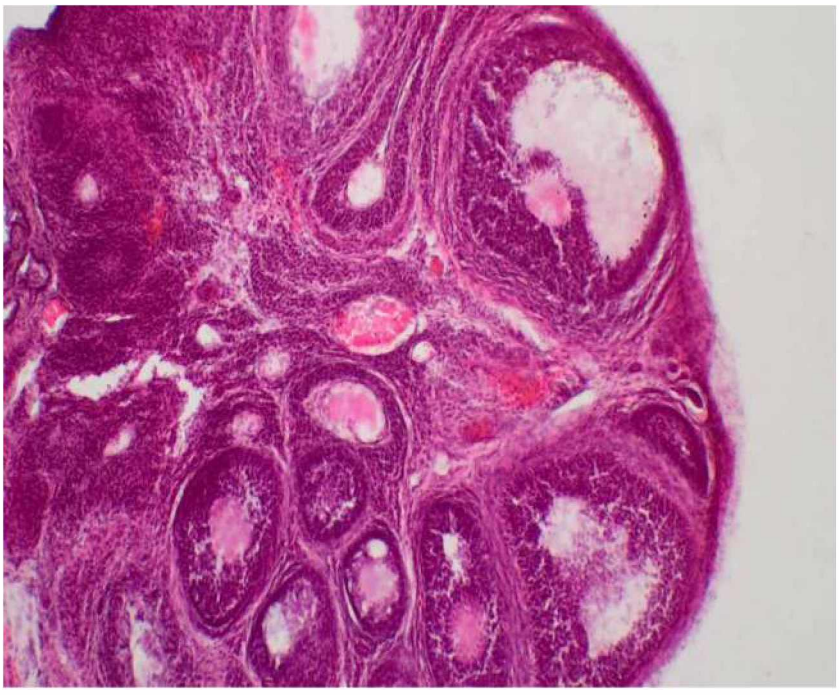


Рис. 5.5. Примордіальні, зростаючі та атретичні фолікули в яєчнику щура групи 1. Забарвлення гематоксиліном та еозином, ×100.

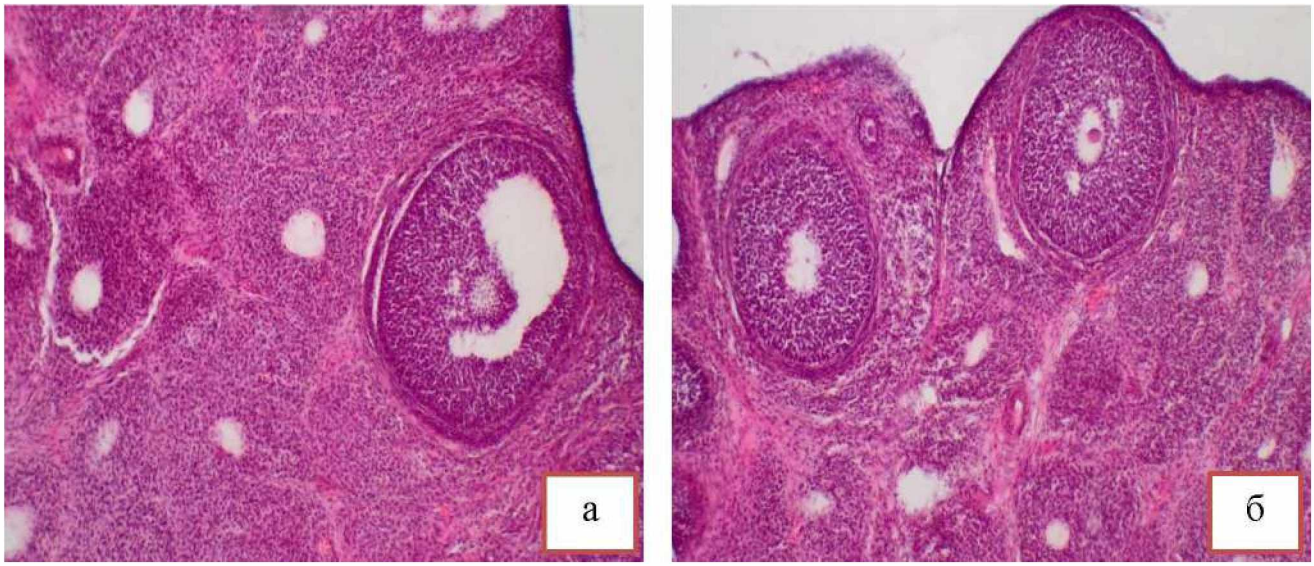


Рис. 5.6. Примордіальні, зростаючі та атретичні фолікули в яєчниках щурів групи 3. Забарвлення гематоксиліном та еозином, а)×100, б)×100.

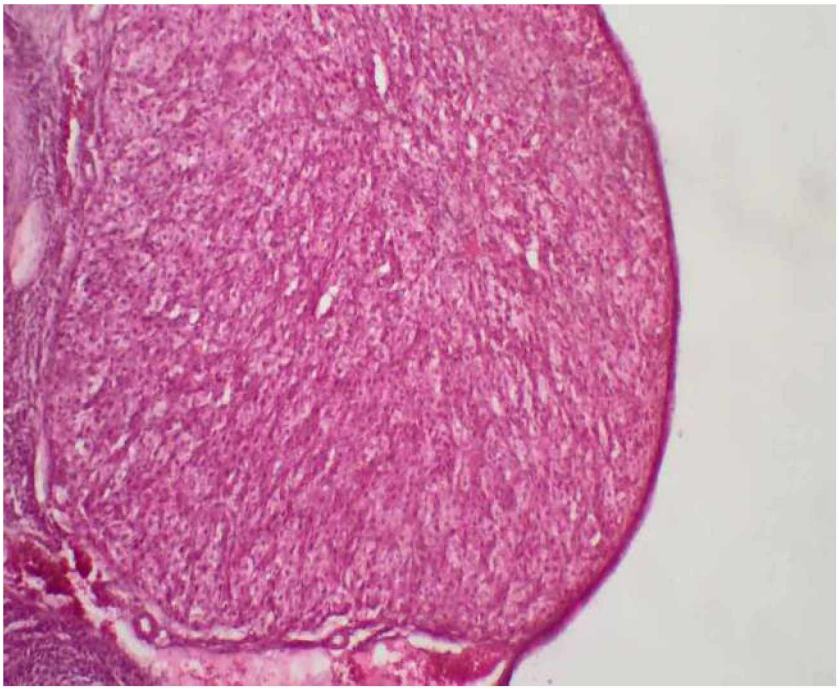


Рис. 5.7. Жовте тіло в яєчнику щура групи 5. Забарвлення гематоксиліном та еозином, ×100.

У групі 4 характерною ознакою зростаючих фолікулів була наявність дистрофічних змін у фолікулярному епітелії, що, відповідно, маніфестує зниженням продукції естрогенів. Між вище зазначеними елементами паренхіми

кіркової речовини яєчників візуалізувалася строма, що була представлена волокнами сполучної тканини.

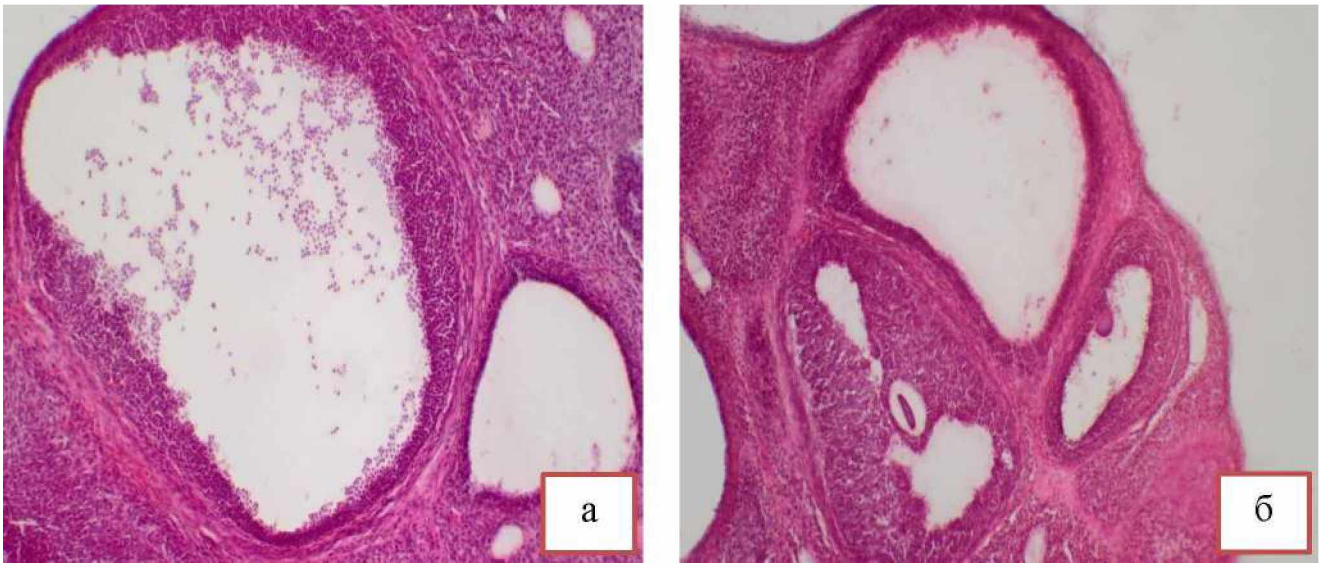


Рис. 5.8. Зростаючі, атретичні та кістознозмінені фолікули, кісти в яєчниках щура групи 4. Забарвлення гематоксиліном та еозином, а)×100, б)×100.

При морфометричному дослідженні були підраховані питомі об'єми елементів паренхіми та строми кіркової речовини яєчників у щурів груп 1-5. Результати підрахунку наведені на рисунку 5.9.

Питомі об'єми примордіальних та зростаючих фолікулів, як зазначено на рисунку 5.9, не відрізнялися ($p>0,05$) в групах 1-3. У групі 4 зазначені показники зменшувалися ($p<0,05$). Питомі об'єми примордіальних та зростаючих фолікулів у групі 5 збільшувалися ($p<0,05$) порівняно з відповідними показниками групи 4 та не мали ($p>0,05$) значимих відмінностей порівняно з показниками груп 1-3. Питомий об'єм атретичних фолікулів не мав значимих ($p>0,05$) відмінностей в групах 1-3 і 5 та порівняно з останніми збільшувався ($p<0,05$) в групі 4. Питомий об'єм жовтих тіл не відрізнялися ($p>0,05$) в групах 1-3, проте у групі 5 порівняно з останніми даний показник зменшувався ($p<0,05$). Питомий об'єм строми в групах 1-3 і 5 не мав значимих ($p>0,05$) відмінностей, збільшувався ($p<0,05$) в групі 4 порівняно з групами 1-3 і 5.

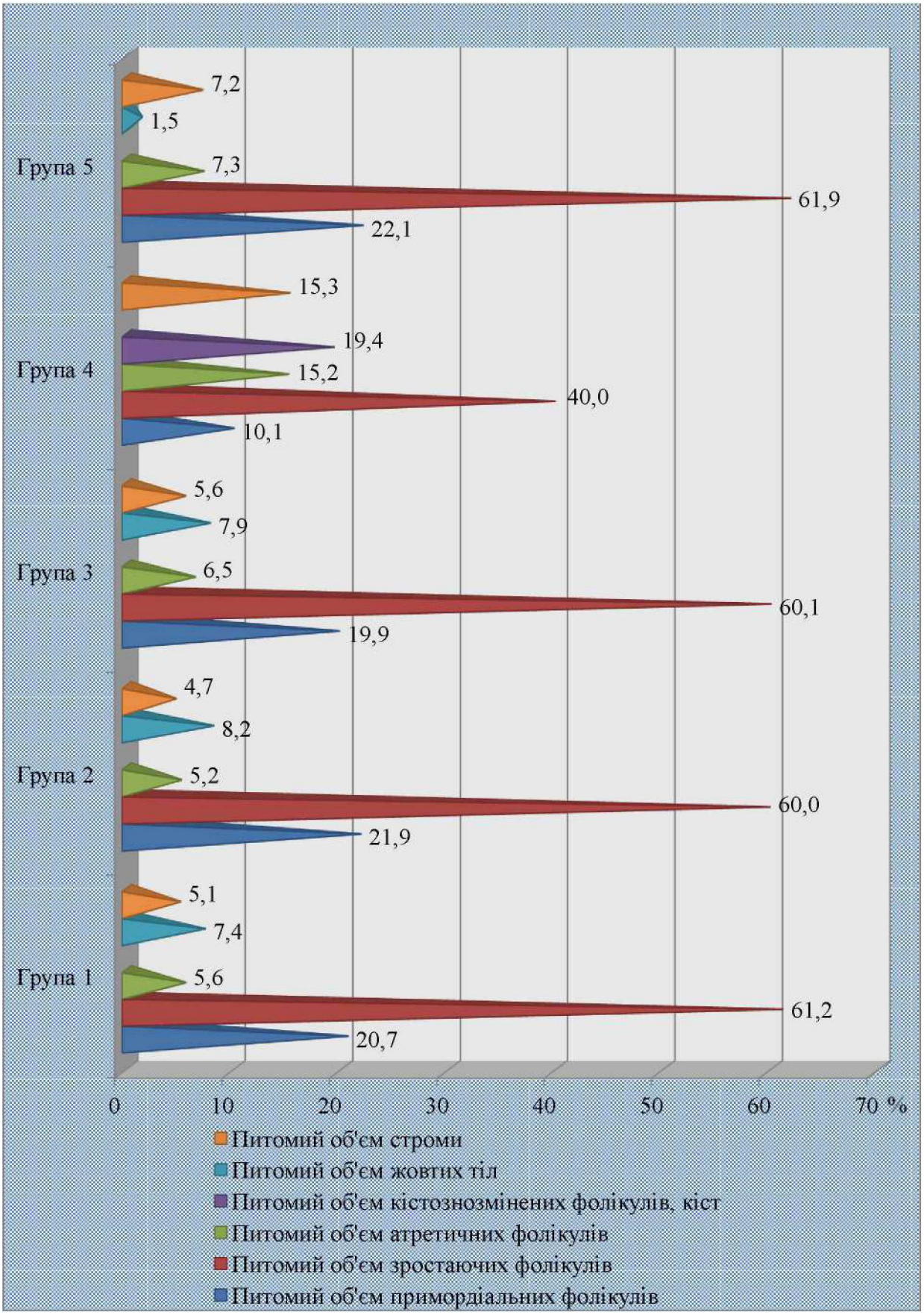


Рис. 5.9. Питомі об’єми (%) структурних елементів паренхіми та строми кіркової речовини яєчників щурів груп 1-5.

В яєчниках щурів груп 1-5 було проведено визначення товщини теки у третинних фолікулах, яка, як відомо, складається з внутрішнього та зовнішнього шарів та відповідає за продукцію андрогенів (рис. 5.10) [213]. Визначений показник, як зазначено на рисунку 5.10, не мав значимих ($p>0,05$) відмінностей в групах 1-3. У групі 4 порівняно з групами 1-2 товщина теки збільшувалася ($p<0,05$), що при оглядовій мікроскопії було обумовлено гіперплазіє клітин даного шару. Збільшення товщини теки спричиняє надмірну продукцію андрогенів, що є ключовою характеристикою СПКЯ [214].

У групі 5 показник товщини шару теки мав більше ($p<0,05$) значення порівняно з показниками груп 1-3. В той же час товщина шару теки в групі 5 зменшувалася ($p<0,05$) порівняно з групою 4, що свідчить про позитивний ефект переривчастого холодового впливу та біохімічно буде маніфестувати зменшенням вмісту в крові андрогенів.

Мозкова речовина яєчників у групах 1-5 була представлена волокнами сполучної тканини з наявними між ними судинами, нервовими волокнами та де-не-де епітеліальними тяжами та трубочками, що є залишками канальців первинної нирки (рис. 5.11).

Під час оглядової мікроскопії у мозковій речовині яєчників між волокнами сполучної тканини, навкруги судин візуалізувалася дифузна помірно виражена клітинна інфільтрація, що характеризувалася наявністю імунних клітин та клітин фібробластичного ряду. Подібна інфільтрація також була відмічена у стромі кіркової речовини яєчників. Особливості мозкової речовини яєчників були однаковими в групах 1-3 і 5. Порівняно з останніми в групі 4 були виявлені склеротичні зміни в стромі.

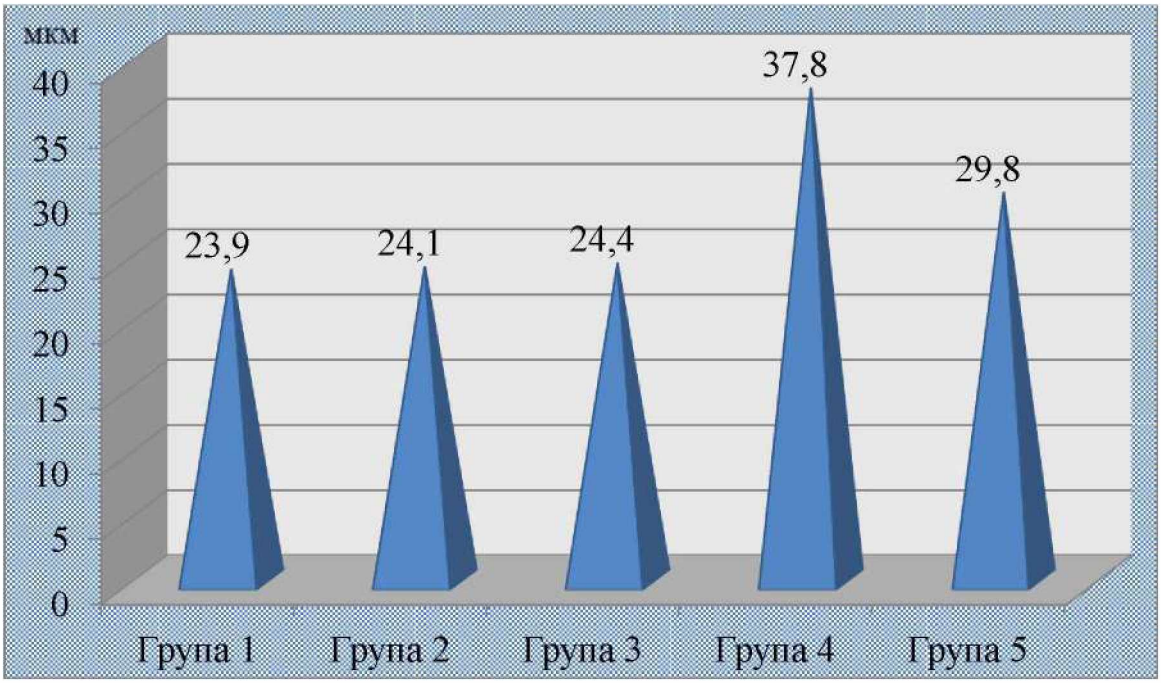


Рис. 5.10. Товщина (мкм) шару текальних клітин третинних фолікулів в яєчниках щурів груп 1-5.

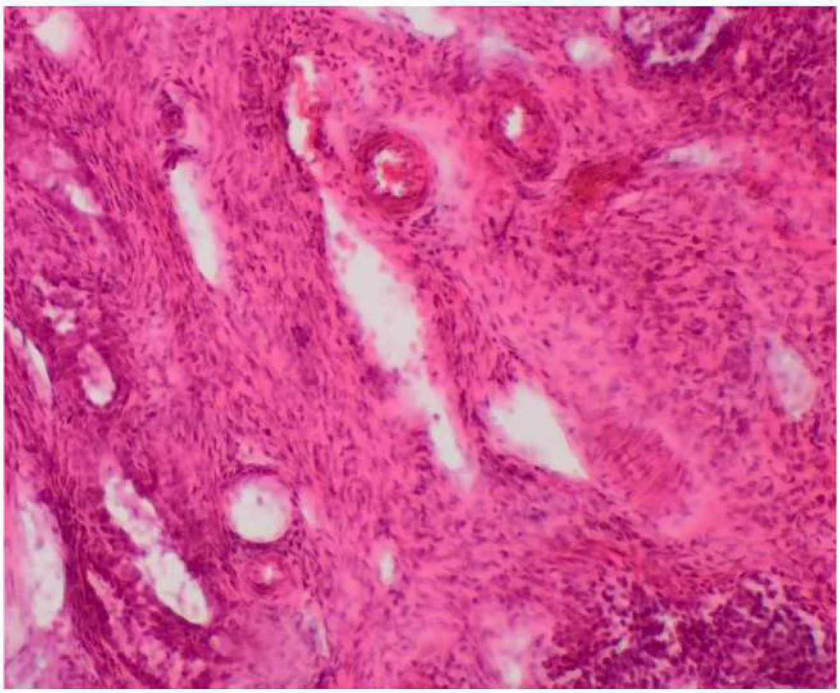


Рис. 5.11. Строма яєчника щура групи 3. Забарвлення гематоксиліном та еозином, ×100.

5.3. Вміст у крові кортизолу, дегідроепіандростерон-сульфату, загального та вільного тестостерону

Ключовим компонентом СПКЯ є гіперандрогенія, біохімічні та клінічні ознаки якої реєструють у 60-95 % жінок. Гіперандрогенія може бути яєчникового, надниркового або змішаного ґенезу [215].

У жінок у крові присутні такі чоловічі статеві гормони, як ДГЕАС, ДЕАС, андростендіол, тестостерон та ДГТ. Зазначені гормони, як відомо, продукуються надниркovими залозами та яєчниками. Основна частина андрогенів у здорових жінок, як відомо, синтезується надниркovими залозами (≈ 95-97% ДГЕА має надниркове походження).

У проведеному дослідженні було визначено вміст у крові щурів груп 1-5 таких стероїдних гормонів, як ДГЕАС, кортизолу, загального й вільного тестостерону.

ДГЕА, як відомо, продукується в сітчастій зоні надниркових залоз. Зазначений гормон є андрогеном зі слабкою активністю і перетворюється на більш потужні гормони – тестостерон та дигідротестостерон. ДГЕА в організмі функціонує як гормон адаптації, впливає на синтез глюкокортикоїдів і статевих гормонів, здійснює нейропротекторну та стресопротекторну дію [216]. У клінічній та лабораторній практиці замість ДГЕА визначають його сульфатний метаболіт – ДГЕАС, що вважається прогормоном та може перетворюватися на ДГЕА. Останні наукові дані свідчать, що у 20-30% жінок з некласичним фенотипом (B та C) СПКЯ спостерігається надмірна секреція андрогенів надниркovими залозами, включаючи ДГЕАС, що вказує на причетність цих гормонів до розвитку СПКЯ [217].

Іншим важливим гормоном для життєдіяльності організму людини та адаптації до хронічного стресу є кортизол. Він продукується в пучковій зоні надниркових залоз, є гормоном стероїдної природи, що регулює секрецію кортикотропіну за механізмом зворотного зв'язку. Органами-мішенями дії

кортизолу є печінка, нирки, м'язи, лімфоїдна тканина, жирова та інші. Глюкокортикоїди приймають участь в регуляції протікання більшості фізіологічних та біохімічних процесів. Гіперкортизолемія спостерігається за умов впливу несприятливих факторів довкілля та при хронічному стресі. У здоровому організмі метаболізм кортизолу залежить від активності ферментів, що здійснюють метаболізм цього гормону: 11β-HSD2, який переважно перетворює кортизол на кортизон, 11β-HSD1, що сприяє перетворюванню неактивних глюкокортикоїдів в активні метаболіти. Ці реакції зворотні, де за умов ферменту 11β-HSD1 утворюється активний гормон, зниження активності якого відбувається за типом зворотнього зв'язку з підвищенням кортикотропіну, що призводить до гіперкортизолемії, гіперандрогенії та формуванню абдомінального ожиріння. Крім перелічених ферментів існують ще 5α- і 5β-редуктази, що в печінці інактивують кортизол до тетрагідропохідних 5αTHF, 5βTHF і THE, що в подальшому виділяються з сечею [218].

Результати визначення вмісту в крові щурів груп 1-5 кортизолу та ДГЕАС наведено в таблиці 5.1.

Таблиця 5.1

Вміст кортизолу та ДГЕАС (Me[IQR]) в крові щурів груп 1-5

Група	Назва показника	
	Кортизол, нг/мл	ДГЕАС, мкг/дл
Група 1	7,19 [6,38; 8,03]	29,40 [24,24; 37,84]
Група 2	6,97 [6,19; 8,18]	29,78 [25,88; 31,70]
Група 3	6,76 [6,15; 7,69]	26,85 [23,83; 27,36]
Група 4	1,81 [1,66; 2,09] ^{1,2,3}	13,34 [12,49; 14,79] ^{1,2,3}
Група 5	6,00 [5,78; 6,97] ^{1,2,3,4}	21,74 [18,98; 25,88] ^{1,2,3,4}

Примітка: ^{1} – значима ($p<0,05$) відмінність порівняно з показником групи 1; ^{2} – значима ($p<0,05$) відмінність порівняно з показником групи 2; ^{3} – значима ($p<0,05$) відмінність порівняно з показником групи 3; ^{4} – значима ($p<0,05$) відмінність порівняно з показником групи 4.

При аналізі одержаних показників, зазначених у таблиці 5.1, не було ($p>0,05$) виявлено відмінностей між показниками груп 1-3.

У групі 4 порівняно з групами 1-3 зменшувався ($p<0,05$) вміст кортизолу та ДГЕАС. Отже, у щурів з ДГЕА-індукованим СПКЯ було виявлено дисфункцію кори надниркових залоз, що маніфестувала зниженням вмісту в крові як кортизолу, так і ДГЕАС. Відмічені нами зміни можуть бути обумовлені недостатністю таких ферментів стероїдогенезу, як 21-гідроксилази, 11-гідроксилази або 3b-гідроксистероїддегідрогенази.

Суттєве зниження вмісту кортизолу в крові щурів з СПКЯ, з нашої точки зору, адаптивно сприяє зниженню метаболічних ефектів дії цього стероїдного гормону. Саме кортизол сприяє гіперглікемії за рахунок активації глюконеогенеза, посиленню ІР, дисліпідемії, підвищенню маси тіла та ін. Кортизол належить до гормональних маркерів хронічного стресу та може синтезуватися в надниркових залозах шляхом метаболізму з 17-гідроксипрогестерону, а саме блок ферменту, що сприяє перетворенню прогестерону у кортизон сприяє зниженню синтезу кортизолу корою надниркових залоз. Також за умов тривалого парентерального введення ДГЕАС спостерігається блокування синтезу кортизолу. Також вірогідна підвищена активність ферменту 5α-редуктази, що може сприяти прискореному метаболізму кортизолу. Цей фермент може метаболізувати кортизол, сприяє підвищенню секреції кортикотропіну, гіперандрогенії та перетворює тестостерон в ДГТ. Наявна інформація щодо впливу гіперлептинемії на активність гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи, що сприяє зниженню синтезу кортизолу в корі надниркових залоз.

У жінок з СПКЯ може спостерігатися генетичний дефект ферменту 11β-HSD1 – кеторедуктази, що перетворює у печінці кортизон у кортизол. Зниження активності цього ферменту призводить до посилення синтезу андрогенів надниркovими залозами через компенсаторне підвищення кортикотропіну [219].

У жінок з СПКЯ було виявлено посилений метаболізм досліджуваного глюкокортикоїду, про що свідчила наявність значної кількості метаболітів кортизолу у сечі [220].

Деякими науковцями було виявлено підвищений вміст у сироватці крові кортизолу як потенційного маркеру хронічного стресу. В частині досліджень у жінок з СПКЯ рівень кортизолу в крові відповідав нормі [221].

Знижений вміст ДГЕАС в крові також може бути пов'язаний з прискореним синтезом тестостерону з ДГЕА в організмі щурів, яким моделювали СПКЯ. Виявлені гормональні зміни призводять до підвищеної секреції андрогенів та полікістозному перетворенню яєчників.

У групі 5 порівняно з групами 1-3 вміст кортизолу та ДГЕАС був знижений ($p<0,05$), проте порівняно з групою 4 їх вміст збільшувався ($p<0,05$), що свідчить про позитивний ефект переривчастого холодового впливу.

Результати визначення вмісту в крові щурів груп 1-5 загального та вільного тестостерону наведені в таблиці 5.2.

Загальний тестостерон, як відомо, є сумарною кількістю вільного (біологічно активного) та зв'язаного з білками тестостерону. Вільний тестостерон є активною формою чоловічого статевого гормону, яка відповідає за біологічні ефекти гормону.

У групі 2 порівняно з групою 1 вміст загального та вільного тестостерону не відрізнявся ($p>0,05$). У групі 3 порівняно з групою 1 вміст загального тестостерону не змінювався ($p>0,05$), проте зменшувався ($p<0,05$) вміст вільного тестостерону. Дані літератури щодо впливу переривчастого холодового впливу на вміст тестостерону є суперечливими та дискутабельними. Так, деякі джерела свідчать про те, що вміст тестостерону в крові не змінюється або незначно знижується. Зниження рівня тестостерону при переривчастому холодовому впливі, за даними деяких учених, виникає за рахунок збільшення вмісту норадреналіну. Останній, як відомо, стимулює перетворення тестостерону на естрогени та пригноблює його відновлення [222, 223]. У щурів групи 3 порівняно

зі щурами з групи 2 вміст загального тестостерону не змінювався (p>0,05) та зменшувався (p<0,05) вміст вільного тестостерону.

Таблиця 5.2

Вміст загального та вільного тестостерону (Me[IQR]) в крові щурів груп 1-5

Група	Назва показника	
	Тестостерон загальний, нг/мл	Тестостерон вільний, пг/мл
Група 1	0,42 [0,35; 0,52]	2,88 [2,68; 3,23]
Група 2	0,45 [0,41; 0,522]	3,05 [2,75; 3,34]
Група 3	0,39 [0,35; 0,42]	2,02[1,91; 2,28] [1,2]
Група 4	0,75 [0,64; 0,89] [1,2,3]	4,24 [3,86; 4,46] [1,2,3]
Група 5	0,35 [0,31; 0,40] [4]	2,08 [1,82; 2,32] [1,2,4]

Примітка: [1] – значима (p<0,05) відмінність порівняно з показником групи 1; [2] – значима (p<0,05) відмінність порівняно з показником групи 2; [3] – значима (p<0,05) відмінність порівняно з показником групи 3; [4] – значима (p<0,05) відмінність порівняно з показником групи 4.

Найбільш значущі зміни вмісту загального та вільного тестостерону нами були виявлені у щурів групи 4. Так, у зазначеній групі порівняно з показниками груп 1-3 збільшувався (p<0,05) вміст як загального, так і вільного тестостерону. Виявлені зміни можуть бути пов'язані з тривалим введенням щурам ДГЕАС та розвитком СПКЯ.

Вагому роль у андрогенії відіграє розвиток оксидативного стресу. Підвищення вмісту андрогенів можна пояснити також гіперінсулінемією, лептинемією, гіпоадипонектинемією, ІР, а також перерозподілом синтезу стероїдних гормонів: зниження синтезу кортизолу на тлі підвищення синтезу тестостерону.

Отримані нами в групі 4 результати підтверджуються іншими дослідженнями, що виявили у жінок з СПКЯ гіперандрогенемію [224].

Відомо, що в яєчниках є тека-клітини, де синтезуються андростендіон та 17-гідроксипрогестерон – гормон, що є проміжним продуктом для подальшого синтезу андрогенів та глюкокортикоїдів. У пацієнток з СПКЯ виникає гіперінсулінемія, що може чинити імітуючий вплив на ЛГ. При дослідженні на культурах тканин у тека-клітинах спостерігалося підвищення активності ферментів, що приймають участь в синтезі стероїдних гормонів шляхом фосфорилювання 3-гідроксистероїддегідрогенази, 17 α – гідроксилази / 17-20-ліази та 17-гідроксистероїдегідрогенази. Можна припустити у жінок генетичну схильність до посилення стероїдогенезу за рахунок підвищення активності вище перелічених ферментів. Саме ці ферменти забезпечують біосинтез андрогенів яєчниками та кірковою речовиною надниркових залоз.

У групі 5 порівняно з групою 4 вміст загального тестостерону знижувався ($p<0,05$) та не відрізнявся ($p>0,05$) від відповідного показника груп 1-3; вміст вільного тестостерону знижувався ($p<0,05$) порівняно з групою 4 та групами 1 і 2.

5.4. Морфологічні особливості надниркових залоз

У групах 1-5 під час виведення тварин з експерименту визначали відносну масу надниркової залози. Результати визначення зазначеного показника наведено на рисунку 5.12. Показники груп 1-3 не мали значимих ($p>0,05$) відмінностей. У групі 4 відносна маса надниркової залози збільшувалася ($p<0,05$) порівняно з показниками груп 1-3. У групі 5 визначений показник мав менше ($p<0,05$) значення порівняно з групою 4 та не відрізнявся ($p>0,05$) від показників груп 1-3.

При оглядовій мікроскопії надниркові залози в групах 1-5 ззовні були вкриті капсулою, що характеризувалася наявністю волокон сполучної тканини з розташованими між ними помірно повнокровними судинами та нервовими волокнами. Нижче сполучнотканинної капсули визначалися кіркова та мозкова речовини (рис. 5.13).

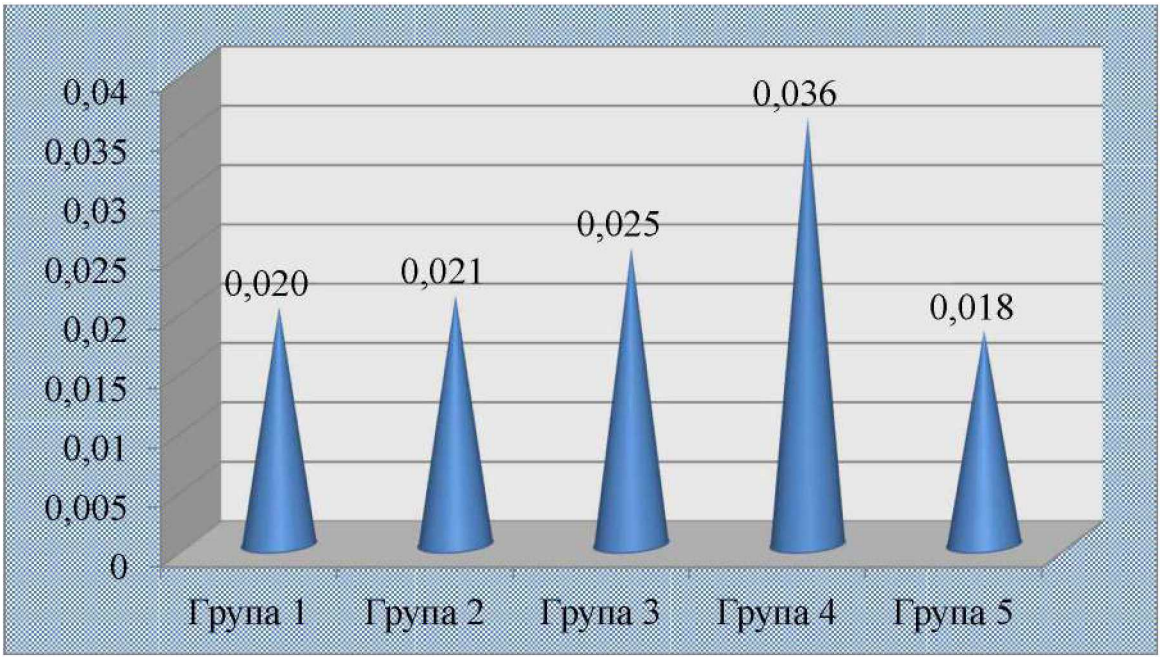


Рис. 5.12. Відносна маса (%) надниркової залози у щурів груп 1-5.

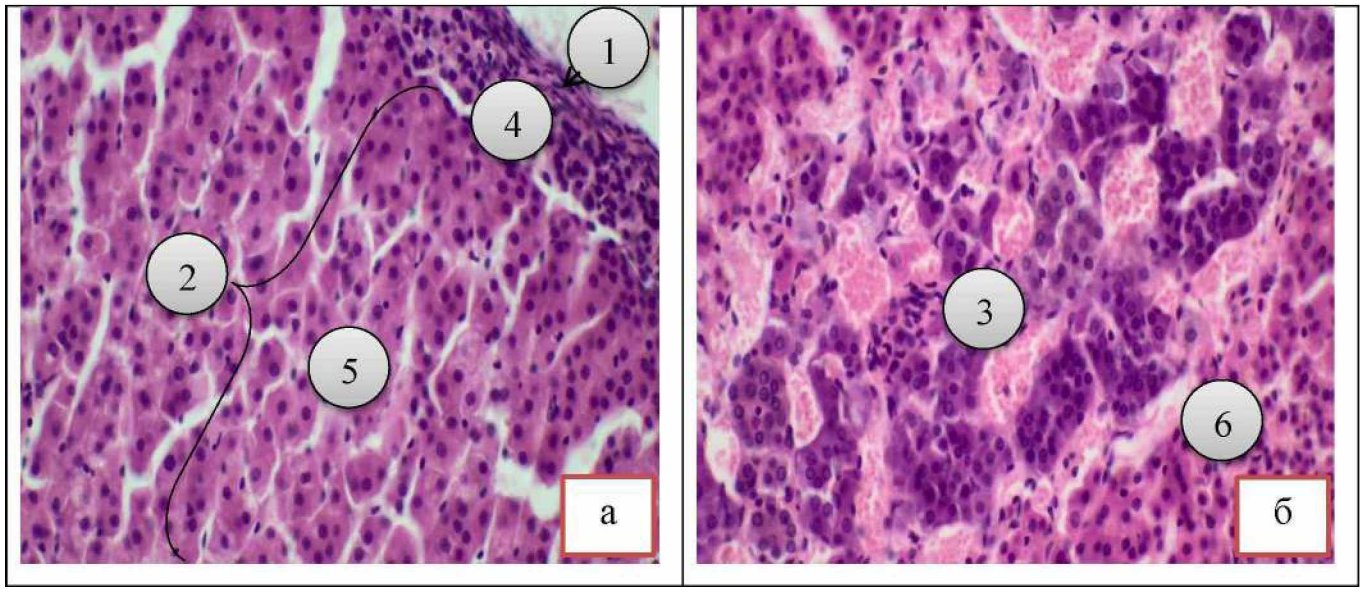


Рис. 5.13. Гістологічна будова надниркової залози щура групи 3: капсула (1) з підлеглими кірковою (2) та мозковою (3) речовинами. В кірковій речовині визначається характерна зональність за рахунок наявності клубочкової (4), пучкової (5) та сітчастої (6) зон. Забарвлення гематоксиліном та еозином, а) ×400, б) ×400.

При морфометричному дослідженні проводили визначення товщини кіркової та мозкової речовин надниркових залоз у щурів груп 1-5 (рис. 5.14). В усіх групах було виявлено превалювання ($p<0,05$) товщини кіркової речовини над товщиною мозкової речовини. У групах 2 і 3 порівняно з групою 1 товщина кіркової та мозкової речовин не змінювалася ($p>0,05$). У групі 4 порівняно з групами 1-3 реєструвалося збільшення ($p<0,05$) двох визначених показників. У групі 5 порівняно з групою 4 товщина кіркової та мозкової речовин зменшувалася ($p<0,05$), порівняно з групами 1-3 зменшувалася ($p<0,05$) товщина кіркової речовини та збільшувалася ($p<0,05$) товщина мозкової речовини.

У всіх групах кіркова речовина надниркових залоз була представлена трьома зонами (поверхневою клубочковою, середньою пучковою, глибокою сітчастою), що чітко розрізнялися та послідовно переходили одна в одну (рис. 5.13). При морфометричному дослідженні було проведено визначення товщини зазначених зон, серед яких найбільше значення припадало ($p<0,05$) на середню пучкову зону (рис. 5.15).

Клубочкова зона у всіх групах не мала морфологічних відмінностей та була представлена дрібними ендокриноцитами, які скупчувалися та формували сферичні структури у вигляді клубочків. Клітини зазначеного шару набували кубоїдної або призматичної форми. Товщина даної зони не відрізнялася ($p>0,05$) в групах 1-5, що представлено на рисунку 5.15.

За клубочковою зоною візуалізувалася пучкова зона. Характерною особливістю останньої була наявність паралельних тяжів, орієнтованих перпендикулярно до поверхні кори та утворених великими клітинами кубічної або призматичної форми. В проміжках між тяжами були виявлені судини мікроциркуляторного русла. Серед ендокриноцитів відмічалися темні та світлі клітини, що відбиває різний функціональний стан клітин.

У групі 2 було виявлено збільшення кількості темних клітин, що відбувалося за рахунок перетворення світлих клітин у темні клітини, а також вогнищеву гіпертрофію ендокриноцитів.

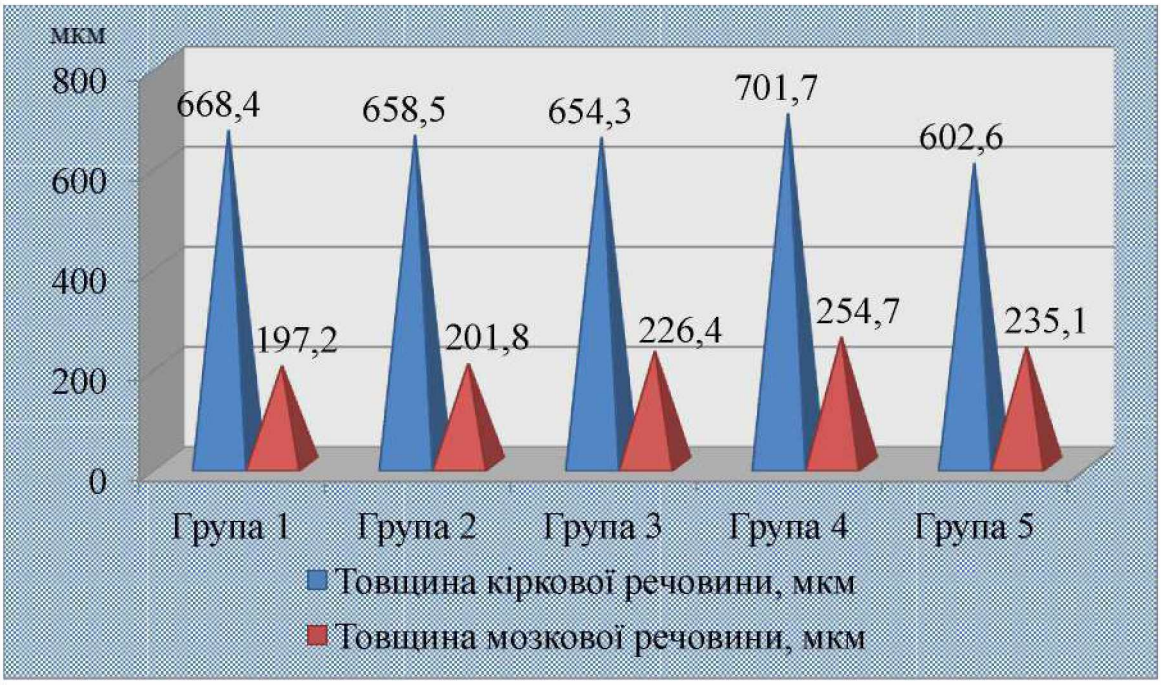


Рис. 5.14. Товщина (мкм) кіркової та мозкової речовин надниркових залоз у щурів груп 1-5.

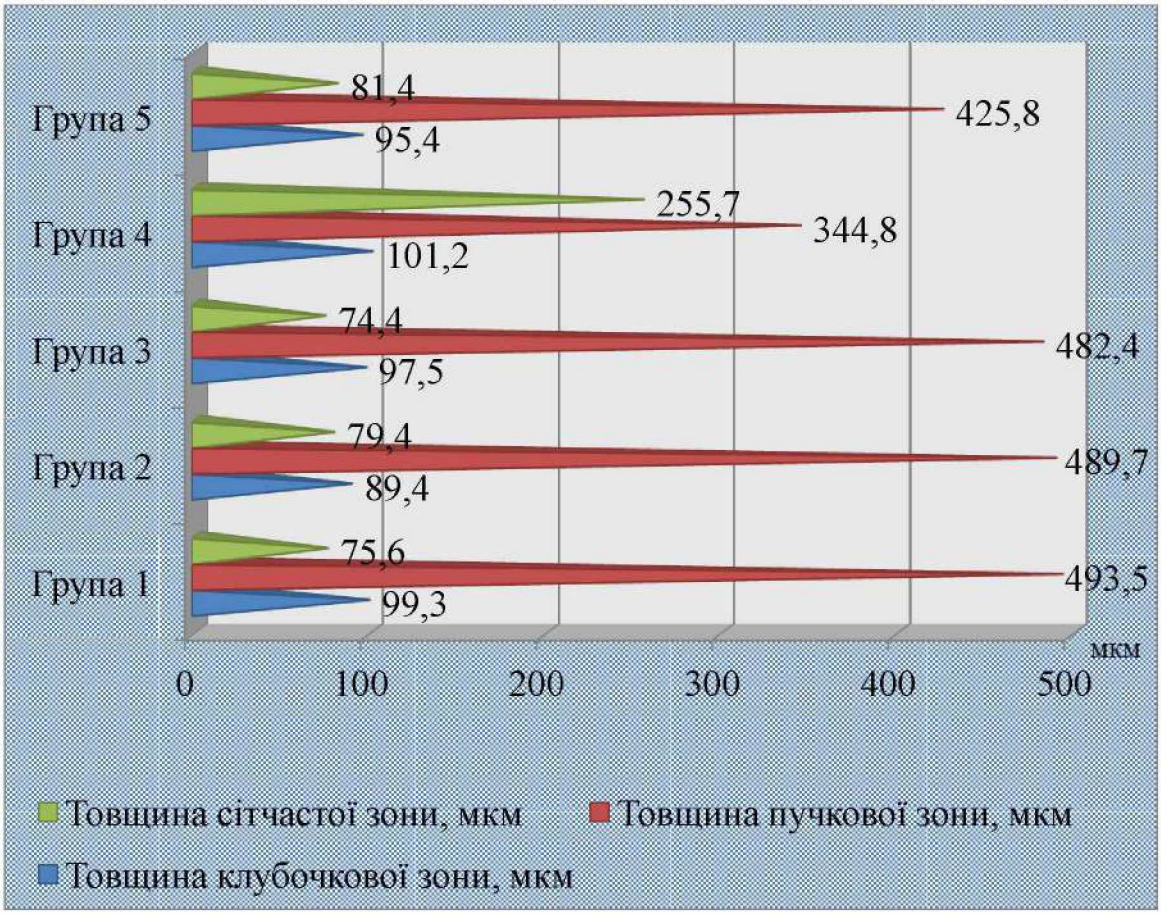


Рис. 5.15. Товщина (мкм) клубочкової, пучкової та сітчастої зон надниркових залоз у щурів груп 1-5.

Виявлені в групі 2 ознаки підвищення морфофункціонального стану ендокриноцитів, з нашої точки зору, є реакцією організму щурів на дію стресогенного чинника (введення оливкової олії), що маніфестує продукцією «гормону хронічного стресу» - кортизолу. Проте при біохімічному дослідженні вміст кортизолу не змінювався, що було зазначено нами в попередньому підрозділі. Товщина даного шару не змінювалася ($p>0,05$) порівняно з показником групи 1.

У групі 3 в пучковій зоні співвідношення між темними та світлими клітинами не змінювалося. В частині полів зору реєструвалося підвищення морфофункціонального стану ендокриноцитів. Товщина пучкової зони не мала значимих ($p>0,05$) відмінностей порівняно з групами 1 і 2.

У групі 4 в одиничних полях зору були виявлені ознаки активації морфофункціонального стану клітин, що маніфестувало збільшенням кількості темних клітин, гіпертрофією та гіперплазією клітин (рис. 5.16). В частині полів зору мікроскопічні характеристики відповідали нормі, а в іншій частині реєструвалися атрофічні та дистрофічно-некротичні зміни (рис. 5.17). В частині полів зону реєструвалося превалювання альтеративних змін (рис. 5.17). Товщина даної зони зменшувалася ($p<0,05$) порівняно з групами 1-3.

У групі 5 в пучковій зоні надниркових залоз були виявлені слабко виражені ознаки активації, що маніфестували вогнищевою гіпертрофією та гіперплазією клітин. У частині полів зору ознаки активації морфофункціонального стану клітин не відмічалися. Альтеративні зміни також де-не-де відмічалися, проте вони були менш вираженими порівняно з групою 4. Товщина пучкової зони збільшувалася ($p<0,05$) порівняно з групою 4, проте мала менше ($p<0,05$) значення порівняно з групами 1-3.

При оглядовій мікроскопії сітчасту зону формували тяжі з ендокриноцитів, що мали різний напрямок розташування, анастомозували між собою та формували рихлу сітку. Між тяжами були виявлені судини мікроциркуляторного русла. Клітини даної зони були зменшені в розмірах, мали кубічну, округлу або полігональну форму.

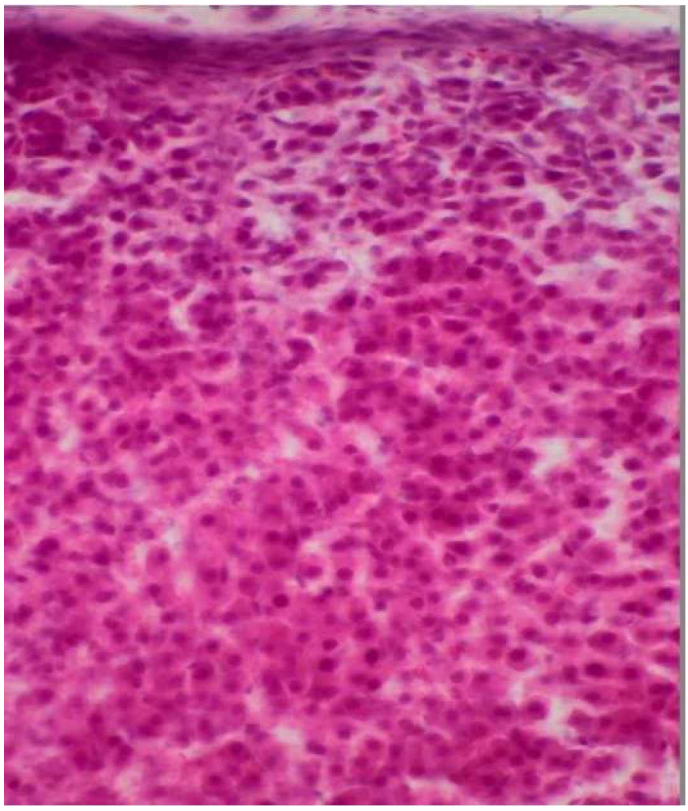


Рис. 5.16. Вогнищева гіпертрофія та гіперплазія ендокриноцитів у пучковій зоні надниркової залози щура групи 4. Забарвлення гематоксиліном та еозином, ×400.

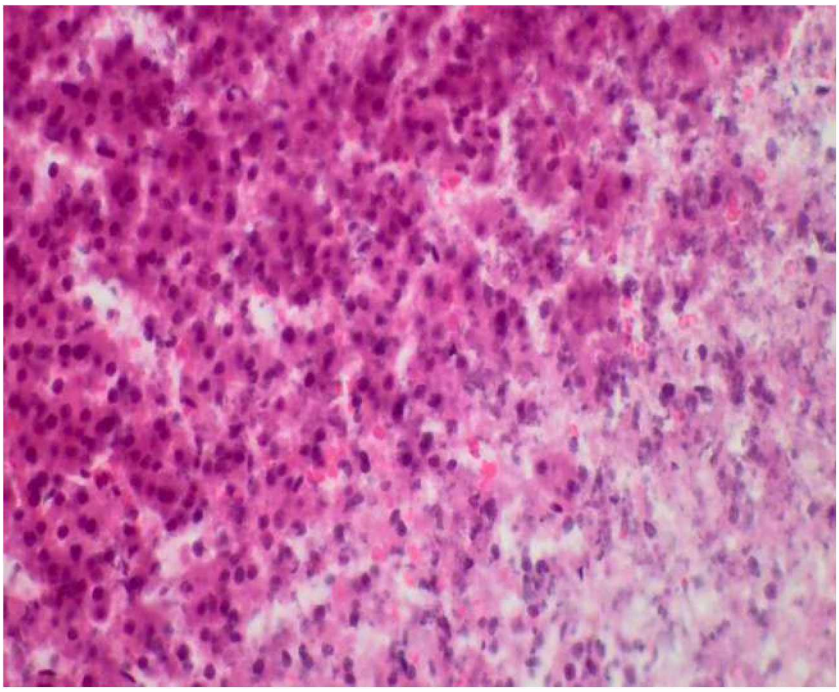


Рис. 5.17. Вогнищеві дистрофічно-некротичні зміни в кірковій речовині надниркової залози щура групи 4. Забарвлення гематоксиліном та еозином, ×400.

У даному шарі, як і в попередній зоні, серед ендокриноцитів були виявлені темні і світлі клітини. У групі 2 порівняно з групою 1 морфологічні особливості зазначеного шару були подібними, показник товщини не мав значимих ($p>0,05$) відмінностей.

У групі 3 морфологічна картина сітчастої зони переважно відповідала нормі. Де-не-де відмічалися дистрофічні зміни, а також вогнищеві гіперпластичні та гіпертрофічні зміни. Товщина даного шару не відрізнялася ($p>0,05$) від відповідного показника груп 1-2.

У групі 4 сітчаста зона характеризувалася вираженими ознаками активації морфофункціонального стану клітин та помірно вираженими вогнищевими альтеративними змінами, серед яких превалювали перші. Активація морфофункціонального стану клітин призводила до збільшення ($p<0,05$) товщини даного шару порівняно з групами 1-3.

У групі 5 товщина сітчастої зони зменшувалася ($p<0,05$) порівняно з показником групи 4, що свідчило про зниження морфофункціональної активності клітин даного шару. У даних тварин товщина сітчастої зони не відрізнялася ($p>0,05$) від відповідного показника груп 1-3

До сітчастої зони прилягала мозкова речовина. Остання від кіркової речовини була відділена прошарком сполучної тканини.

Мозкова речовина характеризувалася наявністю крупних клітин округлої або полігональної форми, що хаотично розташовувалися, формуючи скупчення або тяжі. Між останніми були виявлені судини мікроциркуляторного русла. Серед популяції мозкових ендокриноцитів були виявлені світлі клітини (епінефроцити), які продукують адреналін, та темні клітини (норепінефроцити), продуктом діяльності яких є норадреналін. У групах 2-5 порівняно з групою 1 у мозковій речовині надниркових залоз були виявлені гіпертрофія та гіперплазія хромафіноцитів, що є ознакою активації їх морфофункціонального стану. З нашої точки зору, виявлена активація морфофункціонального стану була обумовлена відповіддю на стрес, а стресогенними факторами виступали – введення оливкової олії, ДГЕА, моделювання переривчастого холодового впливу.

Відомо, що у відповідь на стрес відбувається активація симпатичної нервової системи, яка, в свою чергу, стимулює морфофункціональний стан мозкової речовини надниркових залоз, що призводить до продукції адреналіну та норадреналіну. Товщина мозкової речовини надниркових залоз не змінювалася ($p>0,05$) у групі 2 порівняно з групою 1, збільшувалася ($p<0,05$) у групах 3-5 порівняно з групою 1, що було обумовлено активацією морфофункціонального стану клітин зазначеного шару. Показник у групі 4 характеризувався максимально ($p<0,05$) збільшеною товщиною, показник групи 5 – помірно ($p<0,05$) збільшеною товщиною, показник групи 3 – мінімально ($p<0,05$) збільшеною товщиною.

Резюме

Яєчники при ДГЕА-індукованому СПКЯ мали зменшену відносну масу, нерівну (горбисту) поверхню за рахунок наявності значної кількості порожнин різного розміру. При мікроскопії та морфометричному дослідженні яєчники характеризувалися наявністю кіст та кістознозмінених фолікулів; відсутністю жовтих тіл; збільшеним питомим об'ємом атретичних фолікулів; зменшеним питомим об'ємом примордіальних та зростаючих фолікулів; збільшеною товщиною шару теки в третинних фолікулах; дистрофічними змінами у фолікулярному епітелії зростаючих фолікулів; склерозом кіркової та мозкової речовин, а також білкової оболонки, що призводило до її потовщення. Функціональною особливістю яєчників при СПКЯ була зменшена продукція естрадіолу, що маніфестувало його дефіцитом у крові.

При введенні щурам ДГЕА на тлі переривчастого холодового впливу було виявлено відновлення морфологічної картини яєчників, що свідчить про позитивний ефект переривчастого холодового впливу. Так, відносна маса яєчників та макроскопічні особливості їх поверхні відповідали нормі. При оглядовій мікроскопії та морфометричному дослідженні товщина білкової оболонки, питомий об'єм примордіальних фолікулів, питомий об'єм зростаючих фолікулів, питомий об'єм атретичних фолікулів та питомий об'єм строми відповідали нормі; з'являлися жовті тіла, питомий об'єм яких був меншим

порівняно з контролем; зникали кісти; не визначалися альтеративні зміни у фолікулярному епітелії зростаючих фолікулів; товщина шару текальних клітин третинних фолікулів зменшувалася порівняно зі щурами з СПКЯ, проте мала більше значення порівняно з контрольним показником. Переривчастий холодовий вплив призводив до відновлення функціонального стану яєчників, про що свідчив однаковий з контролем вміст естрадіолу у крові щурів.

Надниркові залози у щурів з ДГЕА-індукованим СПКЯ характеризувалися збільшеною відносною масою, потовщеними кірковою та мозковою речовинами. При оглядовій мікроскопії надниркових залоз та їх морфометричному дослідженні у кірковій речовині клубочкова зона відповідала фізіологічній нормі. Стоншена пучкова зона характеризувалася вогнищевими ознаками активації морфофункціонального стану клітин та альтеративними змінами, що призводило до зниження продукції в ній кортизолу та зменшення його вмісту в крові. Сітчаста зона була потовщеною, з вираженими ознаками активації морфофункціонального стану клітин та помірно вираженими вогнищевими альтеративними змінами. Потовщена мозкова речовина характеризувалася ознаками активації морфофункціонального стану хромафіноцитів.

При введенні щурам ДГЕА за умов переривчастого холодового впливу відносна маса надниркових залоз відповідала нормі. Товщина кіркової та мозкової речовин зменшувалася порівняно зі щурами з СПКЯ, проте порівняно з контролем товщина кіркової речовини зменшувалася та збільшувалася товщина мозкової речовини. Морфологічні особливості клубочкової зони відповідали нормі. Зменшувався ступінь вираженості активації морфофункціонального стану ендокриноцитів та зникали їх альтеративні зміни в пучковій зоні, товщина якої збільшувалася порівняно зі щурами з СПКЯ, проте зменшувалася порівняно з контролем. Продукція кортизолу збільшувалася порівняно зі щурами з СПКЯ, проте порівняно з контрольним показником вміст кортизолу в крові був меншим. У сітчастій зоні зменшувався ступінь вираженості активації морфофункціонального стану ендокриноцитів та зникали їх альтеративні зміни, її товщина відповідала фізіологічній нормі. Зменшувалася товщина мозкової

речовини порівняно зі щурами з СПКЯ, проте зазначений шар мав більше значення порівняно з контролем. У мозковій речовині зменшувалися ознаки активації морфофункціонального стану ендокриноцитів порівняно зі щурами з СПКЯ. Виявлена морфофункціональна характеристика надниркових залоз засвідчила про позитивний ефект переривчастого холодового впливу.

У щурів з ДГЕА-індукованим СПКЯ знижувався вміст у крові ДГЕАС на тлі підвищення вмісту загального та вільного тестостерону.

При введенні щурам ДГЕА за умов переривчастого холодового впливу вміст ДГЕАС збільшувався порівняно зі щурами з СПКЯ та не досягав контрольного показника. Вміст загального тестостерону відповідав фізіологічній нормі. Вміст вільного тестостерону знижувався порівняно зі щурами з СПКЯ, проте мав менше значення порівняно з показником групи контролю. Досліджуваний гормональний профіль, що характеризує функціональний стан надниркових залоз та яєчників, покращувався, що свідчить про позитивний ефект переривчастого холодового впливу.

РОЗДІЛ 6
ВМІСТ У КРОВІ ГОРМОНІВ ЖИРОВОЇ ТКАНИНИ ТА МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ БУРОЇ ЖИРОВОЇ ТКАНИНИ У ЩУРІВ З СИНДРОМОМ ПОЛІКІСТОЗНИХ ЯЄЧНИКІВ ТА ЗА УМОВ ПЕРЕРИВЧАСТОГО ХОЛОДОВОГО ВПЛИВУ

6.1. Вміст у крові лептину та адипонектину

Лептин – один з основних адипокінів, гормон, який виробляється адипоцитами. Його рівень прямо залежить від маси жирової тканини. Цей протеїн складається з 167 амінокислот з молекулярною масою 16 кДа. Вплив лептину на різні органи та системи (головний мозок, легені, нирки, печінка, підшлункова залоза, надниркові залози, яєчники, стовбурові клітини гемопоезу, скелетні м'язи та ін.) обумовлений наявністю в них лептинових рецепторів (Ob-R). На сьогодні відомо 6 ізоформ лептинових рецепторів [225].

Лептин пригнічує апетит і посилює використання поживних речовин у периферичних тканинах [166]. На сьогодні доведено прозапальний ефект лептину, за рахунок того, що він у макрофагах індукує синтез прозапальних цитокінів (ФНП-α, ІЛ-6, ІЛ-12 та ін.) [226].

Лептин регулює синтез інсуліну (пригнічує синтез та обмежує гіперінсулінемію). Доведено, що регуляція рівня продукції інсуліну відбувається через активацію виходу калію з клітин, що призводить до гіперполяризації мембран β-клітин підшлункової залози і пригноблення секреції інсуліну [227]. Лептин також підвищує чутливість рецепторів до інсуліну [228].

Лептин посилює продукцію АФК, приймаючи участь в оксидативному стресі [229]. Важливою функцією лептину є захист периферичних тканин від накопичення ліпідів. Так, лептин приймає участь у регуляції гомеостазу жирних кислот шляхом запобігання ліпогенезу та посилення окиснення вільних жирних кислот [230].

Секрецію лептину регулюють, в тому числі, статеві гормони. Доведено, що естрогени стимулюють вивільнення лептину адипоцитами, а андрогени чинять інгібуючий вплив [231].

На сьогодні залишається дискутабельним питання щодо ролі цього адипокіну в патофізіології СПКЯ [232].

Результати визначення вмісту лептину та адипонектину в крові щурів груп 1-5 наведено в таблиці 6.1.

Таблиця 6.1

Вміст лептину (нг/мл) та адипонектину (мкг/мл) в крові щурів груп 1-5

Номер групи	Назва показника	
	Лептин, нг/мл	Адипонектин, мкг/мл
Група 1	0,075 [0,042; 0,107]	2,29 [2,18; 2,41]
Група 2	0,075 [0,05; 0,09]	2,21 [2,18; 2,32]
Група 3	1,25 [1,11; 1,31] [1,2]	2,14 [1,99; 2,35]
Група 4	0,68 [0,57; 0,78] [1,2,3]	1,17 [1,15; 1,29] [1,2,3]
Група 5	1,07 [0,92; 1,12] [1,2,4]	2,32 [2,08; 2,39] [4]

Примітка: [1] – значима ($p<0,05$) відмінність порівняно з показником групи 1; [2] – значима ($p<0,05$) відмінність порівняно з показником групи 2; [3] – значима ($p<0,05$) відмінність порівняно з показником групи 3; [4] – значима ($p<0,05$) відмінність порівняно з показником групи 4.

Вміст лептину в крові щурів групи 2 не відрізнявся ($p>0,05$) від показника групи 1. У групах 3-5 вміст лептину відрізнявся ($p<0,05$) від показників груп 1-2. Так, у групі 3 вміст лептину збільшувався ($p<0,05$) порівняно з показником групи 1. Лептинемія у щурів, що піддавалися переривчастому холодовому впливу, пов'язана, на нашу думку, з необхідністю організмом здійснення компенсаторного посилення термогенезу, в якому лептин займає ключову позицію та є «геном економії». Лептин знижує витрачання енергії за рахунок

зниження синтезу гормонів щитоподібної залози та термоутворення, мобілізації енергетичних ресурсів. У випадках впливу низьких температур на організм людини вчені зазначають про значимість лептин-опосередкованої терморегуляції, яка має адаптивний характер [233].

У групі 4 вміст лептину набував більшого ($p<0,05$) значення порівняно з показником групи 1. Відомо, що продукція та активація лептину стимулюється інсуліном, глюкокортикоїдами, цитокінами та іншими речовинами. В нашому випадку у щурів з ДГЕА-індукованим СПКЯ спостерігалася виражена гіперінсулінемія, тому саме підвищення вмісту інсуліну та прозапальних цитокінів у крові сприяло лептинемії. Доведено, що гіперлептинемія корелює з гіперліпідемією, ІР. У фізіологічних умовах лептин пригнічує продукцію інсуліну шляхом впливу на гіпоталамічні центри. В свою чергу, інсулін стимулює синтез лептину, впливаючи на жирову тканину.

У нашому випадку високий вміст лептину підвищує секрецію інсуліну. Гіперінсулінемія стимулює ліпогенез та розвиток ожиріння, що сприяє біосинтезу лептину, виникає «зачароване коло» [234, 235]. В свою чергу ІР може знижувати кількість лептинових рецепторів, їхню резистентність та викликати гіперлептинемію. Високий вміст лептину може також перешкоджати розвитку ооцитів та сприяти безпліддю.

У групі 5 вміст лептину був більшим ($p<0,05$) порівняно як з показником груп 1 і 2, так і з показником групи 4. Показник групи 5 не мав значимих ($p>0,05$) відмінностей порівняно з показником групи 3.

Адипонектин – це адипоцитспецифічний протеїн, що синтезується адипоцитами білої жирової тканини, складається з 244 амінокислотних залишків. Вміст зазначеного адипокіну корелює з відсотком жирової тканини в організмі (що більше жиру в організмі, то менше адипонектину). Зазначений гормон здійснює вплив на загальний обмін речовин за рахунок наявності в тканинах та органах рецепторів (AdipoR1, AdipoR2, і Т-кадгерин) [236].

Адипонектин знижує ІР, характеризується антидіабетичними, антиатерогенними, ангіопротекторними властивостями, впливає на репродуктивні

тканини [237]. В печінці та скелетних м'язах адипонектин, по-перше, збільшує поглинання вільних жирних кислот та інтенсивність їх окиснення з одночасним пригніченням їх синтезу; по-друге, збільшує поглинання глюкози та інтенсивність її розщеплення з одночасним пригніченням глюконеогенезу [166]. Відомо, що зниження вмісту жирних кислот у клітинах печінки призводить до зменшення ступеня вираженості ІР [238]. Адипонектин стимулює секрецію інсуліну, приймає участь у регуляції експресії рецептора інсуліну. Також він попереджає розвиток оксидативного стресу шляхом активації АМФ-залежної протеїнкінази [239]. Відомі протизапальні властивості адипонектину за рахунок того, що він, по-перше, знижує продукцію прозапальних цитокінів (ФНП-α, ІЛ-6, ІЛ-8); по-друге, пригноблює прозапальну активність Т-лімфоцитів та макрофагів; по-третє, інгібує молекули адгезії [240, 241].

Визначення вмісту адипонектину в крові застосовується дослідниками як маркер енергетичного метаболізму та регуляції маси тіла, метаболічного синдрому, цукрового діабету 2 типу, атеросклерозу. Можливо за умов дії адипонектину розвивається ІР за рахунок блокування передачі сигналу інсуліну, зниження чутливості рецепторів до інсуліну, підвищення вмісту неетерифікованих жирних кислот за умов зниження ß-окислення жирних кислот. Деякі вчені вважають, що адипонектин може бути раннім маркером метаболічної дисрегуляції, а в фізіологічних умовах – пригнічувати диференціювання адипоцитів паракринним шляхом [242].

В останні роки зростає кількість досліджень, в яких акцентується увага на ролі дисбалансу жирової тканини в розвитку метаболічних порушень у пацієнток з СПКЯ. Дані літератури щодо вмісту адипонектину в крові пацієнток з СПКЯ є суперечливими. Результати визначення вмісту адипонектину в групах 1-5 наведені в таблиці 6.1.

Вміст адипонектину в крові у тварин груп 1-3, як зазначено в таблиці 6.1, не відрізнявся ($p>0,05$). У групі 4 порівняно з групою 1 значення зазначеного показника зменшувалося ($p<0,05$). Низький рівень адипонектину в крові у щурів з СПКЯ на тлі гіперінсулінемії не може забезпечити захисний вплив на яєчники та

сприяє розвитку гіперандрогенемії. Також у науковій літературі є дані щодо синергічної дії адипонектину та інтерлейкіну-6, що має прозапальну дію [243]. Можна припустити, що гіпоадипонектинемія, що виникає у щурів з СПКЯ, призводить до ІР, андрогенії, дисліпідемії та розвитку хронічного запального процесу.

У щурів групи 5 вміст адипонектину збільшувався ($p<0,05$) порівняно з показником групи 4, проте не мав значимих ($p>0,05$) відмінностей порівняно з відповідним показником групи 1, тобто показник групи 5 нормалізувався.

Дані літератури щодо впливу низької температури на вміст досліджуваних адипокінів є суперечливим. Доведено, що накопичення ТАГ у підшкірній жировій клітковині, що відбувається за умов впливу низької температури, пов'язане з секрецією адипокінів адипоцитами – спостерігається підвищення секреції лептину на тлі зниженої секреції адипонектину [244]. Відомо, що лептин та адипонектин впливають на термогенез під час дії низької температури (розвитку холодового стресу) [245]. Автори нагадують, що жирова тканина тісно пов'язана з активністю симпатичної нервової системи через реакцію на холодовий стрес за рахунок зниження рівня адипонектину в крові без змін вмісту лептину [246]. Також відомо, що під час холодового стресу спостерігається взаємодія жирової тканини з метаболізмом глюкози для полегшення термогенезу та підвищення рівня адипонектину, що може бути використано в обміні глюкози, та зниження рівня лептину [247].

6.2. Морфологічні особливості бурої жирової тканини з міжлопаткової ділянки

При оглядовій мікроскопії препаратів, забарвлених гематоксиліном та еозином, у щурів груп 1-5 бура жирова тканина з міжлопаткової ділянки характеризувалася наявністю паренхіми і строми (рис. 6.1). Паренхіма була представлена адипоцитами овальної, округлої або витягнутої форми, ядро яких локалізувалося в центрі та було оточене ліпідними краплями. За рахунок останніх

адипоцити набували багатокамерного вигляду. В залежності від кількості жирових крапель усі адипоцити були розподілені на три категорії: адипоцити, що містили до 5 жирових крапель (адипоцити 1 типу); адипоцити, що містили 5-10 жирових крапель (адипоцити 2 типу); адипоцити, що містили більше 10 жирових крапель (адипоцити 3 типу).

При підрахунку відносної кількості адипоцитів у групах 1-5 реєструвалося превалювання ($p<0,05$) кількості адипоцитів 3 типу (рис. 6.2). Порівняно з групою 1 кількість адипоцитів 3 типу зменшувалася ($p<0,05$) в групах 2-5. Причому кількість адипоцитів 3 типу була максимально зниженою ($p<0,05$) у групі 5 порівняно з групою 3, помірно зниженою ($p<0,05$) у групі 3 порівняно з групами 2 і 4. В останніх кількість адипоцитів не мала значимих ($p>0,05$) відмінностей.

Порівняно з групою 1 відносна кількість адипоцитів 2 типу зменшувалася ($p<0,05$) в групах 3 і 5 та не змінювалася ($p>0,05$) в групах 2 і 4. Кількість адипоцитів 2 типу не відрізнялася ($p>0,05$) в групі 2 порівняно з групою 4, в групі 3 порівняно з групою 5. В групах 2 і 4 відносна кількість адипоцитів 2 типу була більшою ($p<0,05$) порівняно з групами 3 і 5.

Відносна кількість адипоцитів 1 типу збільшувалася ($p<0,05$) в групах 2-5 порівняно з групою 1, причому максимальне збільшення реєструвалося в групах 3 і 5, помірне збільшення – в групах 2 і 4. Відносна кількість адипоцитів 1 типу не відрізнялася ($p>0,05$) в групах 2 і 4, була більшою ($p<0,05$) в групі 5 порівняно з групою 3.

Проведений міжгруповий аналіз кількості адипоцитів засвідчив про активацію бурої жирової тканини і, відповідно, термогенезу в групах 2-5. Зазначений процес був максимально вираженим у групі 5, помірно вираженим у групі 3, мінімально вираженим у групах 2 і 4. Активація бурої жирової тканини маніфестувала зменшенням кількості жирових крапель в адипоцитах, що призводило до зменшення кількості адипоцитів 2 і 3 типів та збільшення кількості адипоцитів 1 типу. Відомо, що при активації бурої жирової тканини відбувається розщеплення жирних кислот, що містяться в жирових краплях, у результаті чого зменшуються кількість та розміри жирових крапель.

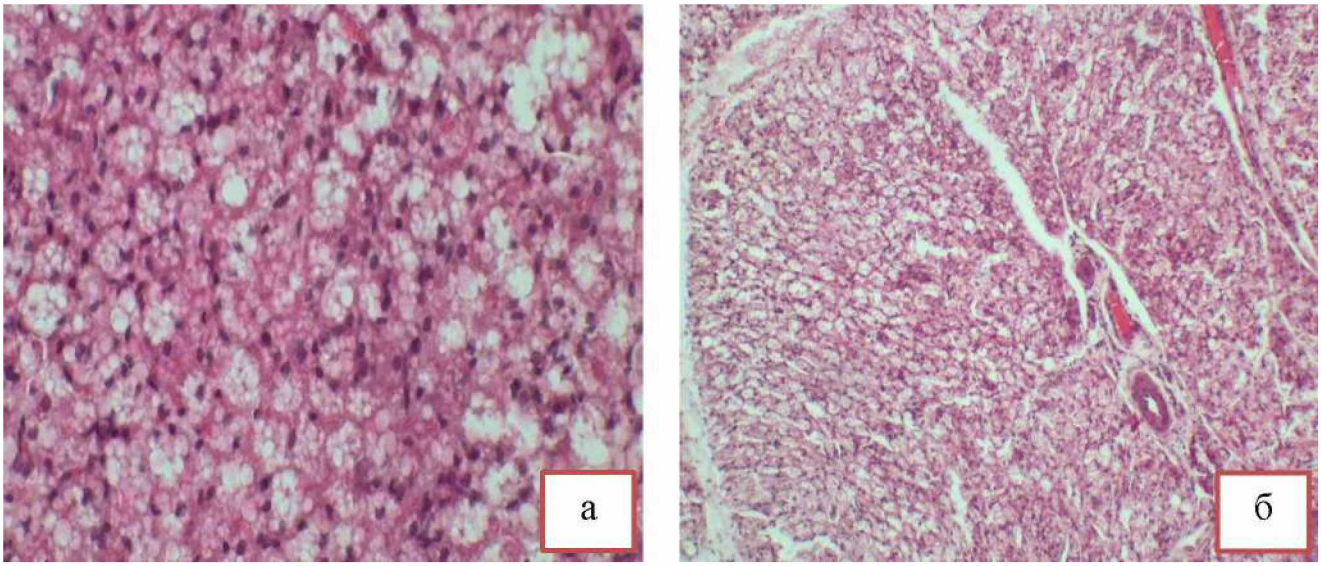


Рис. 6.1. Паренхіматозний та стромальний компоненти бурої жирової тканини з міжлопаткової ділянки щура групи 3 (а) та 4 (б). Забарвлення гематоксиліном та еозином, а)×100, б)×40.

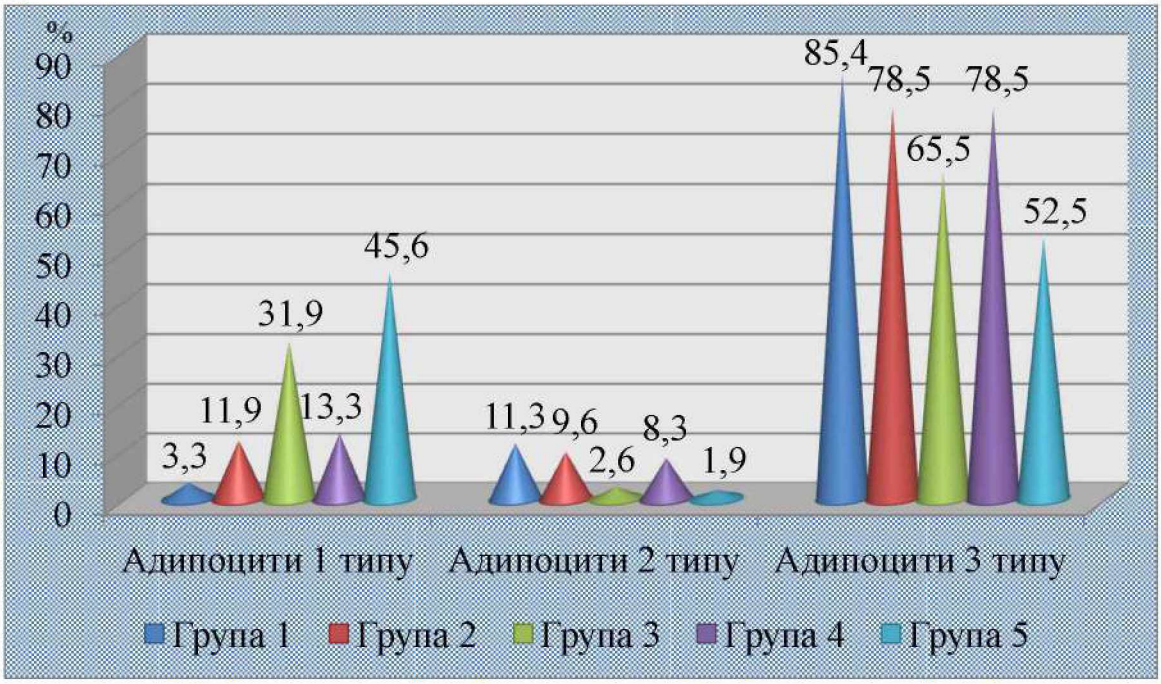


Рис. 6.2. Відносна (%) кількість адипоцитів у бурій жировій тканині з міжлопаткової ділянки у щурів груп 1-5.

Площа адипоцитів бурої жирової тканини зменшувалася ($p<0,05$) в групах 2-5 порівняно з групою 1 (рис. 6.3). Зазначений показник був максимально зменшеним в групі 5, помірно зменшеним у групі 3 та мінімально зменшеним у групах 2 і 4. В останніх площа адипоцитів не відрізнялася ($p>0,05$). Зменшення площі адипоцитів було обумовлено, з нашої точки зори, зменшення кількості жирових крапель за рахунок активації бурої жирової тканини.

Розміри ядра клітин є важливими індикаторами її морфофункціонального стану. Відомо, що в ядрі клітини міститься генетична інформація та воно відіграє вирішальну роль у функціях клітини. У проведеному дослідженні в групах 1-5 було проведено визначення площі ядра адипоцитів (рис. 6.4). Зазначений показник збільшувався ($p<0,05$) в групах 2-5 порівняно з групою 1, що є морфологічним проявом активації бурої жирової тканини. Збільшення площі ядра адипоцитів було максимально вираженим у групі 5, помірно вираженим у групі 3 та мінімально вираженим у групах 2 і 4. В останніх площа ядер адипоцитів не мала значимих ($p>0,05$) відмінностей.

У стромі бурої жирової тканини в групах 1-5 було виявлено сполучнотканинні волокна, судини різного калібру та нервові волокна. У групі 4 порівняно з іншими групами стромальний компонент характеризувався більшим вмістом сполучнотканинних волокон, що свідчило про розвиток склеротичних змін.

Важливим компонентом строми є судини, які відповідають за забезпечення трофіки тканини на належному рівні. Аналіз судинного компоненту строми було проведено шляхом підрахунку абсолютної кількості судин (рис. 6.5). Абсолютна кількість судин у стромі бурої жирової тканини не відрізнялася ($p>0,05$) в групах 1, 2, 4 та в групах 3 і 5. Абсолютна кількість судин була більшою ($p<0,05$) в групах 3 і 5 порівняно з групами 1, 2 і 4, що свідчить про стимуляцію процесів ангіогенезу, яка, з нашої точки зору, є морфологічним проявом активації бурої жирової тканини. Активні процеси ангіогенезу в бурій жировій тканині необхідні для швидкого розповсюдження тепла по організму та забезпечення її поживними речовинами і киснем.

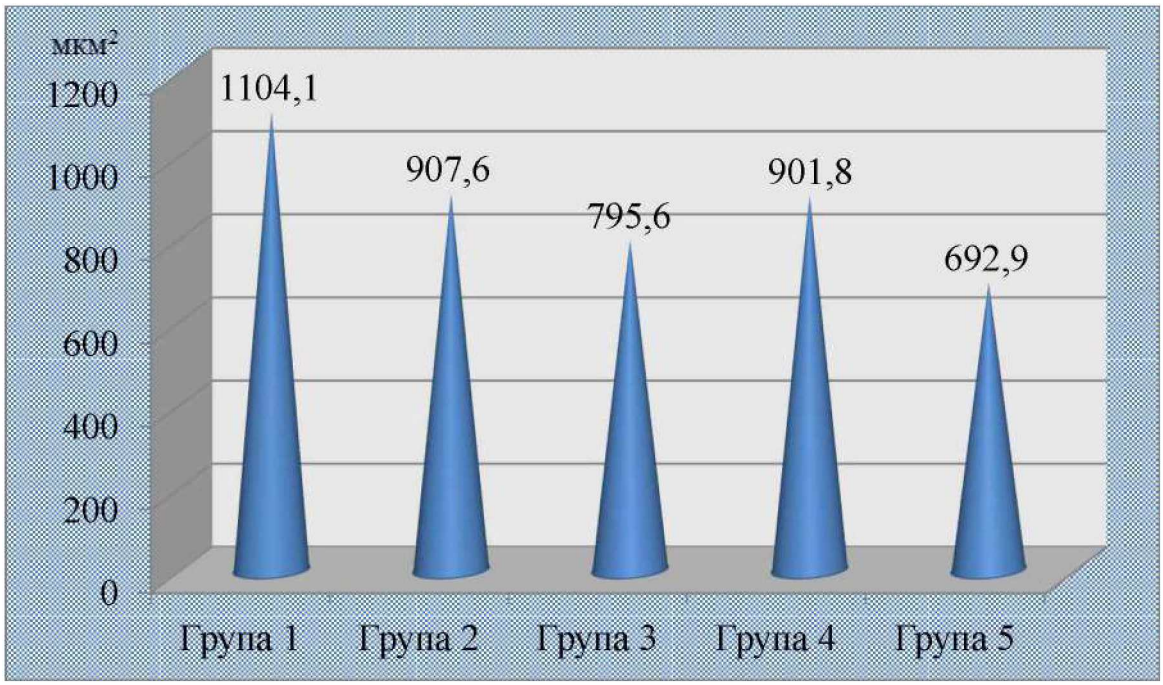


Рис. 6.3. Площа (мкм^2) адипоцитів у бурій жировій тканині щурів груп 1-5.

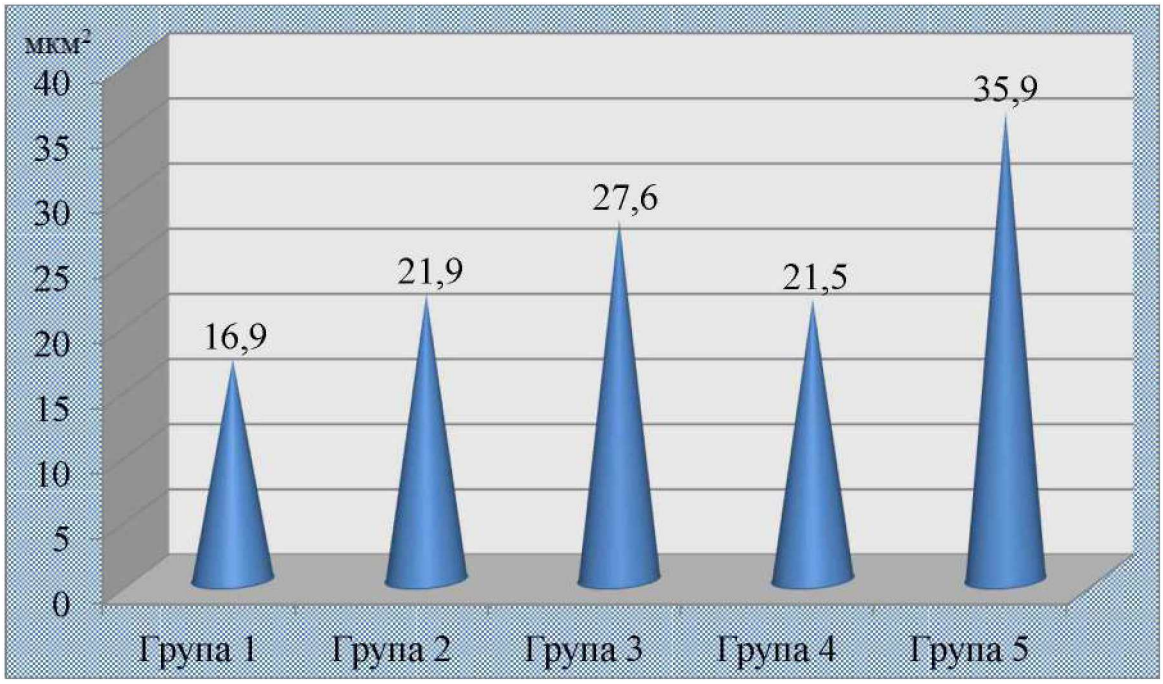


Рис. 6.4. Площа (мкм^2) ядер адипоцитів у бурій жировій тканині щурів груп 1-5.

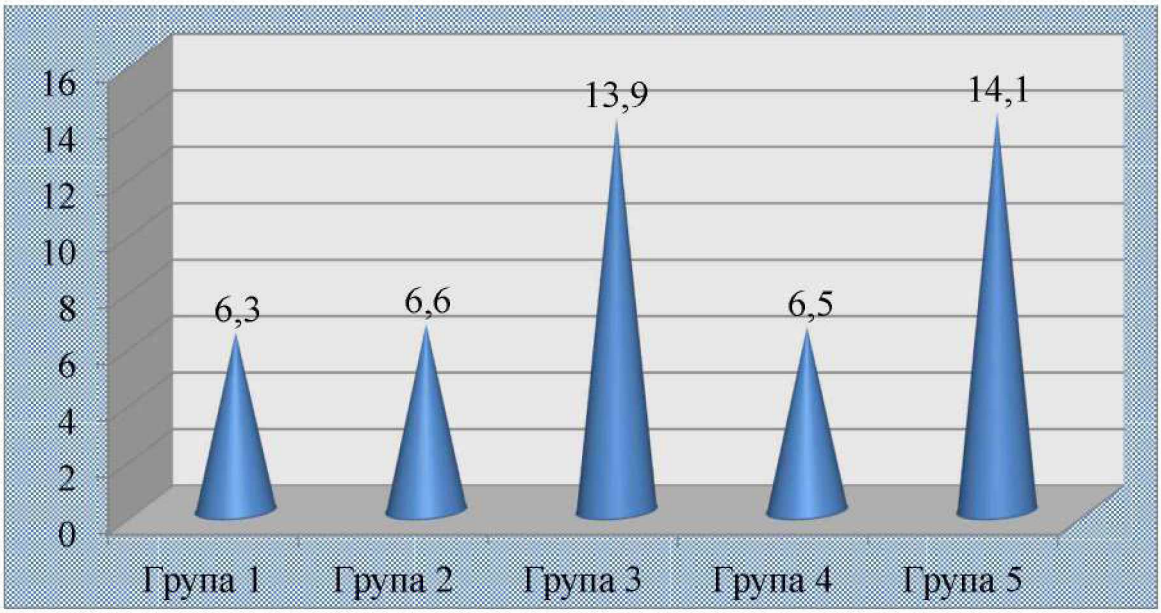


Рис. 6.5. Абсолютна кількість судин у стромі бурої жирової тканини щурів груп 1-5.

Холодовий фактор по-різному впливає на процеси ангіогенезу. Сильно знижена температура пригноблює ангіогенез, в той час як помірне зниження температури його стимулює. Морфологічні та генетичні дослідження довели, що активний ангіогенез є ознакою активації бурої жирової тканини за умов переривчастого холодового впливу [247]. Переривчастий холодовий вплив збільшує експресію активаторів ангіогенезу (судинного ендотеліального фактору росту) та зменшує експресію інгібіторів (тромбоспондину) цього процесу, що призводило до збільшення щільності судин у бурій жировій тканині. Блокування холодового ангіогенезу значно погіршує здатність організму до нескоротливого термогенезу під час акліматизації до холоду [248].

У стромі була виявлена вогнищево-дифузна клітинна інфільтрація, ступінь вираженості якої був різним у групах (рис. 6.6). Клітинна інфільтрація при оглядовій мікроскопії в групах 1-3 та 5 характеризувалася наявністю макрофагів, моноцитів, лімфоцитів, клітин фібробластичного ряду. В групі 4 інфільтрація була представлена макрофагами, моноцитами, лімфоцитами, нейтрофільними лейкоцитами, клітинами фібробластичного ряду.

Оцінка ступеня вираженості клітинної інфільтрації в групах 1-5 була проведена шляхом підрахунку абсолютної кількості клітин (рис. 6.7).

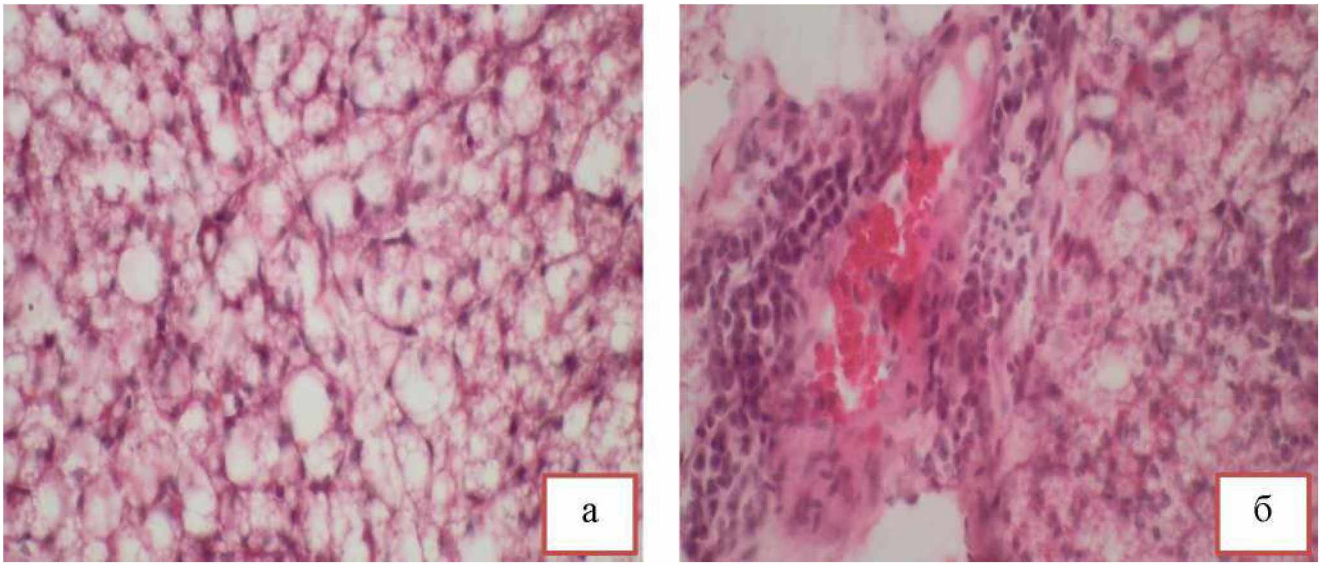


Рис. 6.6. Вогнищево-дифузна поліморфна клітинна інфільтрація в стромі бурої жирової тканини щура групи 1 (а) та 4 (б). Забарвлення гематоксиліном та еозином, а)×400, б)×400.

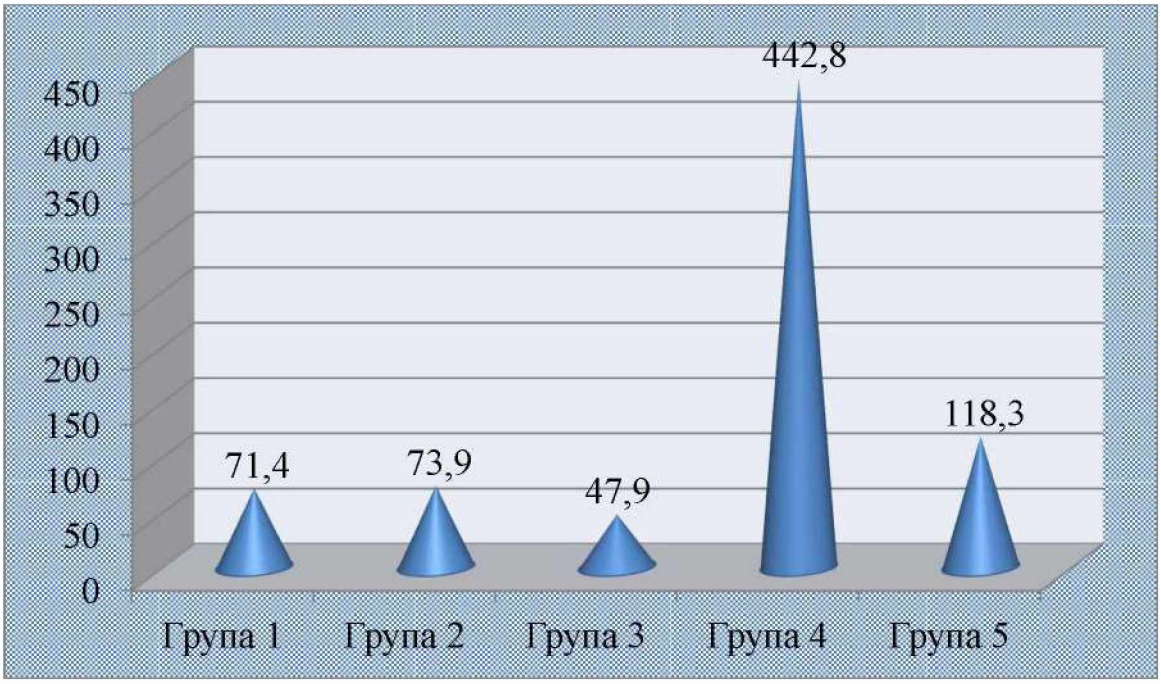


Рис. 6.7. Абсолютна кількість клітин у стромі бурої жирової тканини щурів груп 1-5.

Підрахований показник не відрізнявся ($p>0,05$) в групах 1 і 2, зменшувався ($p<0,05$) у групі 3 порівняно з групою 1, збільшувався ($p<0,05$) у групах 4 і 5 порівняно з групою 1. У групі 4 порівняно з групою 5 показник абсолютної кількості клітин був більшим ($p<0,05$). Отже, переривчастий холодовий вплив знижував ступінь вираженості поліморфної клітинної інфільтрації в групах 3 і 5, проте в останній поліморфна клітинна інфільтрація була більшою порівняно з групою 1, про що свідчили результати оглядової мікроскопії та показник абсолютної кількості клітин. Треба відмітити, що вище зазначене зменшення ступеня вираженості клітинної інфільтрації відбувалося за рахунок імунних клітин.

Численні дослідження підкреслюють значимість мінімального субклінічного (низькоградієнтного) запалення в механізмі розвитку СПКЯ [249]. При СПКЯ визначено дисбаланс між імунними клітинами та запальними цитокінами у сироватці крові, в яєчниках та інших органах [250].

У жінок з СПКЯ визначено підвищений рівень у крові С-реактивного білка. Рівень останнього зростає, як відомо, під впливом прозапальних цитокінів (інтерлейкін-1, інтерлейкін-6, фактор некрозу пухлини альфа), що вивільнюються з активованих імунних клітин та адипоцитів [172]. Численні дослідження довели взаємозв'язок між розвитком у пацієнток з СПКЯ низькоградієтного запалення та ІР, гіперандрогенії, дисліпідемії, ендотеліальної дисфункції та серцево-судинних ускладнень, порушень фолікулогенезу [134, 250].

У проведеному нами дослідженні доведено протизапальний ефект переривчастого холодового впливу. Враховуючи значимість цього типового патологічного процесу в механізмі розвитку СПКЯ, переривчастий холодовий вплив може бути одним із методів профілактики зазначеної патології. Одержані нами результати співпадають з деякими дослідженнями інших учених. Доведено, що дозований вплив низької температури стимулює продукцію протизапальних цитокінів (інтерлейкін-10) та зменшує рівень прозапальних цитокінів (ІЛ-2, ІЛ-6, ІЛ-8). Вплив низької температури пригнічує сигнальний шлях ядерного фактора каппа В, який має значення в продукції прозапальних цитокінів [251].

У визначеній при оглядовій мікроскопії клітинній інфільтрації були виявлені клітини макрофагального ряду, що експресували МКА до CD 68. У подальшому серед останніх частина клітин характеризувалася експресією МКА до CD86 (маркер М1 макрофагів), а інша частина – експресією МКА до CD163 (маркер М2 макрофагів). Результати підрахунку відносної кількості М1 та М2 макрофагів наведено на рисунку 6.8.

Відносна кількість М1 та М2 макрофагів не відрізнялася ($p>0,05$) в групах 1 і 2. У групі 3 порівняно з групами 1 і 2 кількість М1 макрофагів зменшувалася ($p<0,05$), а кількість М2 макрофагів збільшувалася ($p<0,05$), проте баланс між фенотипами макрофагів зберігався. У групі 4 порівняно з групами 1 і 2 було виявлено порушення балансу між М1 та М2 макрофагами, про що свідчило збільшення ($p<0,05$) відносної кількості М1 макрофагів і зменшення ($p<0,05$) відносної кількості М2 макрофагів.

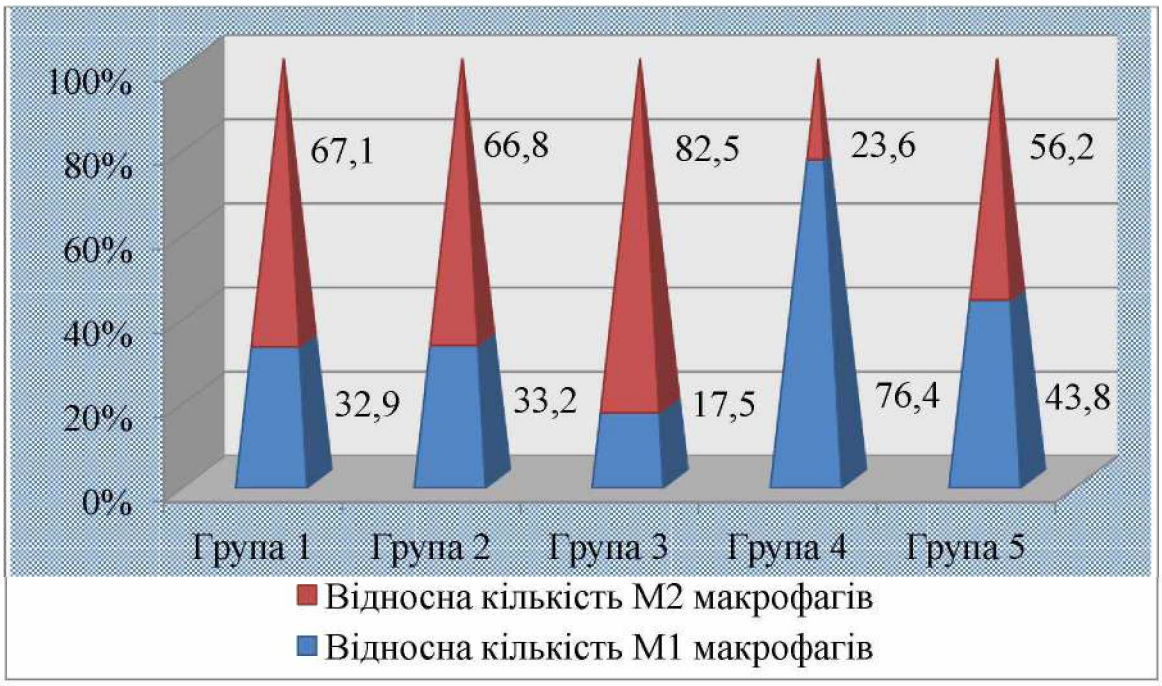


Рис. 6.8. Відносна кількість М1 та М2 макрофагів у стромі бурої жирової тканини щурів груп 1-5.

У групі 5 порівняно з групами 1 і 2 відносна кількість М1 макрофагів була більшою ($p<0,05$), а відносна кількість М2 макрофагів меншою ($p<0,05$), проте

порівняно з групою 4 кількість М1 макрофагів зменшувалася ($p<0,05$) та збільшувалася ($p<0,05$) кількість М2 макрофагів.

Макрофаги в жировій тканині є превалюючими імунними клітинами, що відіграють важливе значення у підтримці гомеостазу та метаболічній адаптації. Макрофаги характеризуються вираженою пластичністю та гетерогенністю, можуть поляризуватися в різні фенотипи (М1 або М2) за різних мікросередовищ або стимулів [252]. М1 макрофаги, як відомо, продукують прозапальні цитокіни (ІЛ-6, фактор некрозу пухлини-альфа та ін.), а М2 макрофаги – протизапальні цитокіни (ІЛ-10, трансформуючий фактор росту-бета). Доведено, що в нормі в жировій тканині превалюють протизапальні М2 макрофаги над прозапальними М1 макрофагами, що нами також було виявлено у даному дослідженні [253]. Порушення балансу між фенотипами макрофагів лежить в основі розвитку великої кількості метаболічних захворювань [252].

У проведеному дослідженні у щурів з СПКЯ було виявлено збільшення кількості імунних клітин у стромі жирової тканини, в тому числі і за рахунок макрофагів, серед яких реєструвалося збільшення кількості М1 макрофагів та зменшення кількості М2 макрофагів, що, відповідно, призводило до порушення балансу між зазначеними фенотипами макрофагів. Подібні кількісні зміни макрофагів у жировій тканині були виявлені іншими дослідниками, які довели значимість дисбалансу макрофагів у дисфункції жирової тканини та розвитку в ній низькоградієтного запалення при СПКЯ. Доведено, що гіперандрогенія, ІР, ожиріння, порушення обміну вуглеводів та ліпідів спричиняють збільшення кількості М1 макрофагів та, відповідно, зменшення кількості М2 макрофагів [254].

Макрофаги, як відомо, приймають активну участь у регуляції процесів фолікулогенезу. Вченими визначений в яєчниках дисбаланс макрофагів, що характеризувався превалюванням М1 макрофагів, призводив до розвитку хронічного слабковираженого запалення, порушень фолікулогенезу та характерних для СПКЯ морфологічних змін. Хронічне запалення в яєчнику

спричиняє мітохондріальну дисфункцію та енергодефіцит, що також має значення в механізмі розвитку СПКЯ [254, 255].

У випадках переривчастого холодового впливу зменшувалася кількість імунних клітин, в тому числі і макрофагів. Серед останніх зменшувалася кількість М1 макрофагів та збільшувалася кількість М2 макрофагів, при цьому баланс між зазначеними фенотипами макрофагів відповідав фізіологічній нормі. У проведених одиничних дослідженнях було показано, що холод зменшував кількість макрофагів у жировій тканині при ожирінні, тобто чинив протизапальний ефект, та зміщував поляризацію макрофагів з прозапального фенотипу М1 на протизапальний фенотип М2 [251]. Дозована низька температура активує колонієстимулюючий фактор 1 (CSF1) та його рецептор CSF1R, що призводить до змін фенотипів макрофагів (збільшення М2 макрофагів та зменшення М1 макрофагів) [256, 257]. Доведено, що активовані під впливом переривчастого холоду М2 макрофаги, по-перше, індукують метаболічне перепрограмування білих адипоцитів у бурі адипоцити, по-друге, продукують норадреналін, що посилює трансформацію білої жирової тканини в буру жирову тканину [257, 258]. В свою чергу М1 макрофаги продукують фактори, що пригноблюють процес трансформації білої жирової тканини в буру жирову тканину [259].

Переривчастий холодовий вплив на тлі введення ДГЕА у щурів у бурій жировій тканині з міжлопаткової ділянки, по-перше, зменшив ступінь вираженості інфільтрації імунними клітинами порівняно зі щурами з СПКЯ, яка все ж таки залишалась збільшеною порівняно з контролем. По-друге, зменшив кількість М1 макрофагів та збільшив кількість М2 макрофагів порівняно зі щурами з СПКЯ, що призвело до нормалізації баланс між фенотипами макрофагів, проте порівняно з контролем кількість М1 макрофагів залишалась збільшеною, а кількість М2 макрофагів зменшеною. Виявлені кількісні зміни фенотипів макрофагів свідчать про позитивний ефект переривчастого холодового впливу.

6.3. Морфологічні особливості бурої жирової тканини з паранефральної клітковини

При оглядовій мікроскопії препаратів у щурів груп 1-5 у паранефральній клітковині було виявлено чергування вогнищ білої та бурої жирової тканини (рис. 6.9). В частині полів зору особливо в групах 1, 2 і 4 була виявлена тільки біла жирова тканина (рис. 6.10), а в групах 3 і 5 – тільки бура жирова тканина (рис. 6.11).

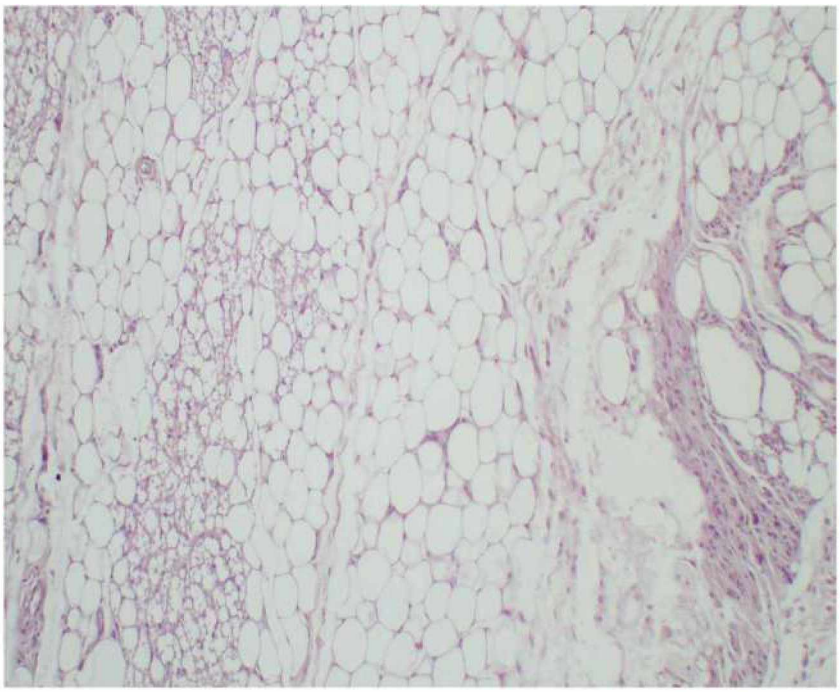


Рис. 6.9. Чергування вогнищ білої та бурої жирової тканини в паранефральній клітковині щура групи 1. Забарвлення гематоксиліном та еозином, ×100.

У групах 1-5 при морфометричному дослідженні було проведено визначення питомих об'ємів білої та бурої жирової тканини у паранефральній клітковині. В усіх групах, як зазначено на рисунку 6.12, превалював ($p<0,05$) питомий об'єм білої жирової тканини над питомим об'ємом бурої жирової тканини. У групах 1, 2 і 4 досліджувані показники не мали значимих ($p>0,05$) відмінностей, як і в групах 3 і 5.

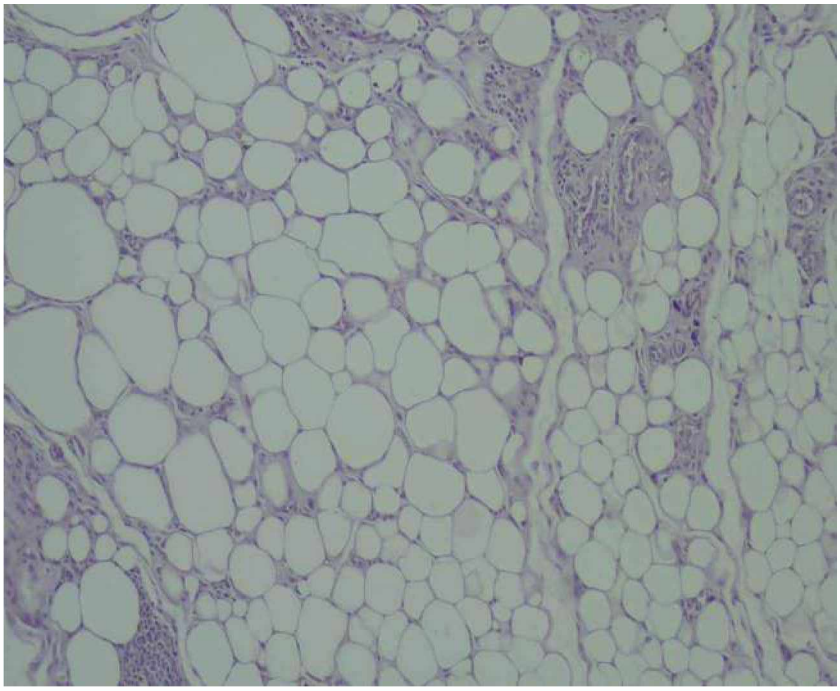


Рис. 6.10. Біла жирова тканина з паранефральної клітковини щура групи 2. Забарвлення гематоксиліном та еозином, ×100.

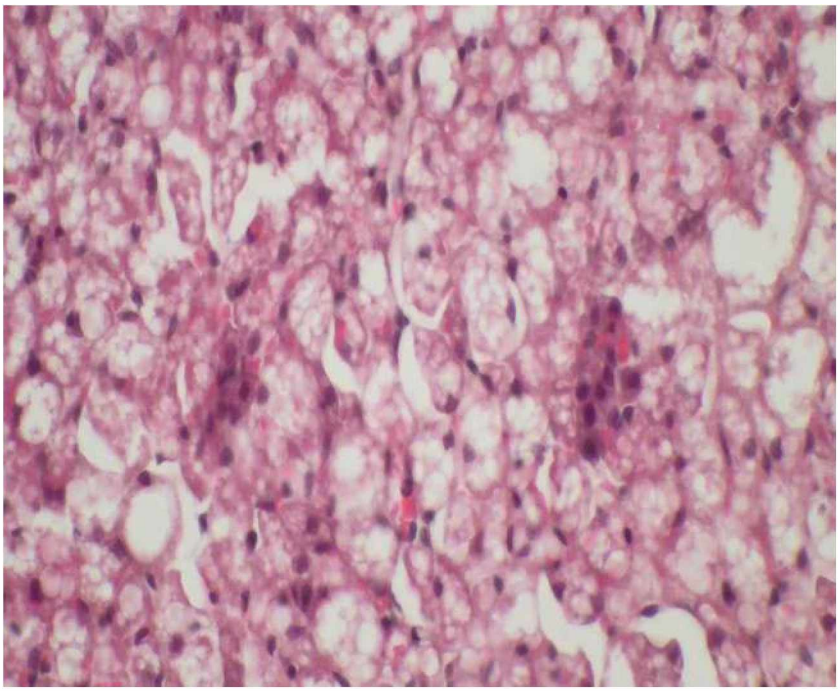


Рис. 6.11. Бура жирова тканина з паранефральної клітковини щура групи 3. Забарвлення гематоксиліном та еозином, ×100.

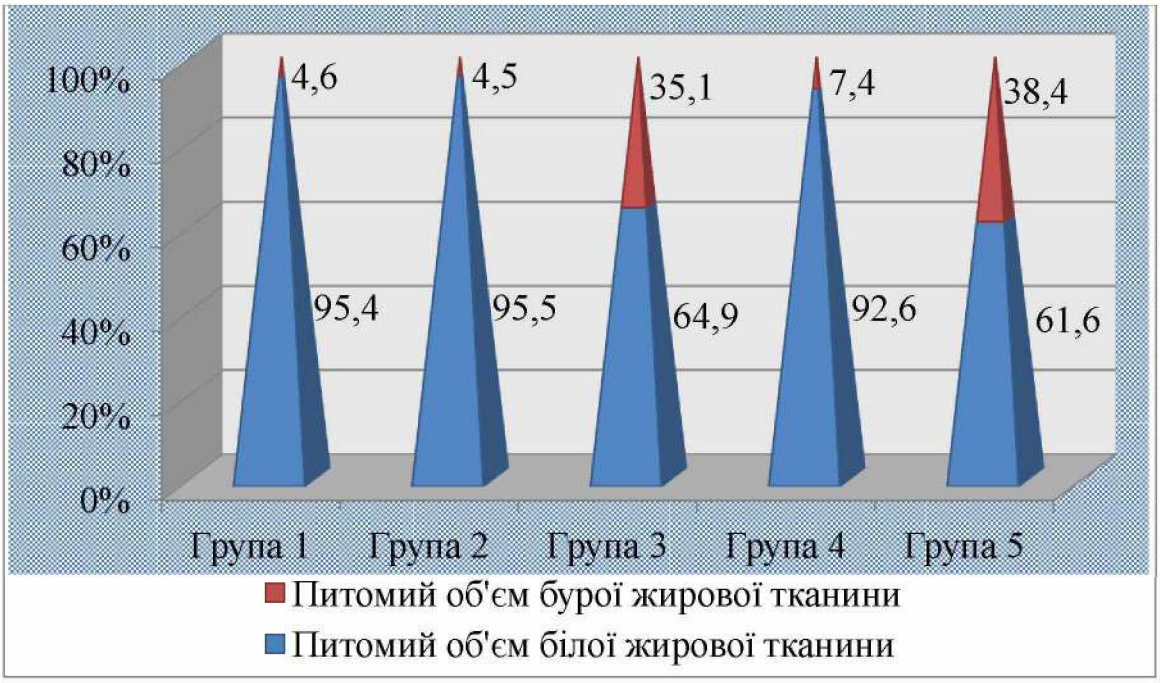


Рис. 6.12. Питомі об’єми бурої та білої жирової тканини у паранефральній клітковині щурів груп 1-5.

Цікавим виявилося те, що у групах 3 і 5 порівняно з групою 1 питомий об’єм білої жирової тканини зменшувався ($p<0,05$) та збільшувався ($p<0,05$) питомий об’єм бурої жирової тканини. Результати морфометрії свідчать про те, що переривчастий холодовий вплив викликає трансформацію білої жирової тканини в буру жирову тканину в паранефральній клітковині

У подальшому було проведено визначення морфофункціональних особливостей бурої жирової тканини з паранефральної клітковини.

При оглядовій мікроскопії бурова жирова тканина в групах 1-5 характеризувалася наявністю паренхіми та строми. Паренхіматозний компонент був представлений адипоцитами різних розмірів та форми. Останні містили ядро, що локалізувалося в центрі та було оточене ліпідними краплями, які при забарвленні гематоксиліном та еозином мали вигляд округлих, округло-овальних порожнин.

Подібно до бурої жирової тканини з міжлопаткової ділянки при дослідженні паренхіми бурої жирової тканини з паранефральної клітковини адипоцити в залежності від кількості наявних ліпідних крапель були розподілені на три типи:

адипоцити 1 типу (містили до 5 жирових крапель), адипоцити 2 типу (містили 5-10 жирових крапель), адипоцити 3 типу (містили більше 10 жирових крапель). Підрахунок відносної кількості різних типів адипоцитів наведено на рисунку 6.13.

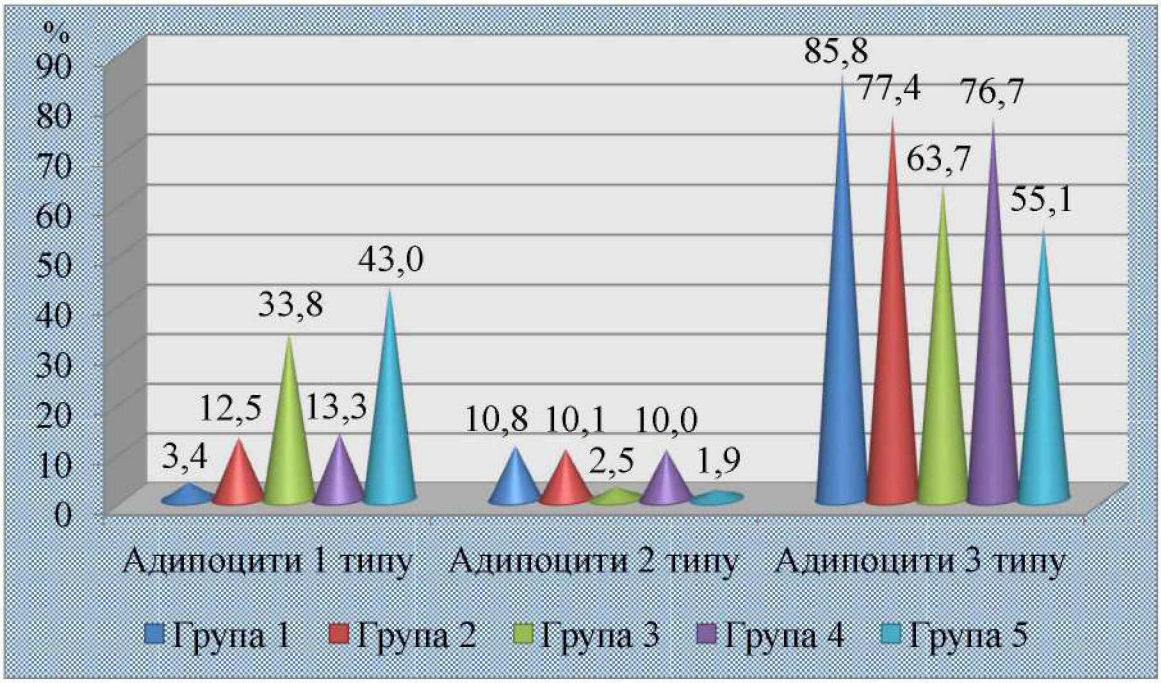


Рис. 6.13. Відносна (%) кількість адипоцитів у бурій жировій тканині з паранефральної клітковини у щурів груп 1-5.

В усіх групах, враховуючи представлені на рисунку 6.13 результати, в бурій жировій тканині превалювала ($p<0,05$) відносна кількість адипоцитів 3 типу. Показник відносної кількості адипоцитів 3 типу зменшувався ($p<0,05$) в групах 2-5 порівняно з групою 1, причому максимально виражене зменшення ($p<0,05$) було зареєстровано в групі 5, помірно виражене ($p<0,05$) – в групі 3, мінімально виражене ($p<0,05$) – в групах 2 і 4. Відносна кількість адипоцитів 3 типу не мала ($p>0,05$) значимих відмінностей в групах 2 і 4.

Відносна кількість адипоцитів 2 типу не відрізнялася ($p>0,05$) в групах 1, 2 і 4, а також в групах 3 і 5. В останніх показник кількості адипоцитів 2 типу мав менше ($p<0,05$) значення порівняно з відповідним показником груп 1, 2 і 4.

Відносна кількість адипоцитів 1 типу збільшувалася ($p<0,05$) в групах 2-5 порівняно з групою 1. Максимально виражене збільшення ($p<0,05$) було виявлено

в групі 5, помірно виражене – в групі 3, мінімально виражене – в групах 2 і 4. В останніх відносна кількість адипоцитів 1 типу не відрізнялася ($p>0,05$).

Проведений аналіз відносної кількості адипоцитів різних типів засвідчив активацію бурої жирової тканини в групах 2-5, яка була максимально вираженою в групі 5, помірно вираженою в групі 3 та мінімально вираженою в групах 2 і 4. Активація бурої жирової тканини характеризувалася зменшенням кількості жирових крапель, що в групах 3 і 5 маніфестувало зменшенням відносної кількості адипоцитів 2 і 3 типів, збільшенням відносної кількості адипоцитів 1 типу; в групах 2 і 4 – зменшенням відносної кількості адипоцитів 3 типу і збільшенням відносної кількості адипоцитів 1 типу.

Вміст адипоцитів 1, 2 та 3 типів у групах 1-5 не мав значимих ($p>0,05$) відмінностей у міжлопатковій ділянці та паранефральній клітковині.

У подальшому було проведено визначення площі адипоцитів бурої жирової тканини. Результати виміру площі адипоцитів наведено на рисунку 6.14. Площа адипоцитів, як зазначено на рисунку 6.14, зменшувалася ($p<0,05$) в групах 2-5 порівняно з групою 1. Максимально виражене зменшення було зафіксоване в групі 5, помірно виражене – в групі 3, мінімально виражене – в групах 2 і 4. У групі 2 порівняно з групою 4 показник площі адипоцитів не мав значимих ($p>0,05$) відмінностей. Зменшення площі адипоцитів, з нашої точки зору, було обумовлено зменшенням кількості жирових крапель при активації бурої жирової тканини у паранефральній клітковині. Подібні зміни були виявлені в бурій жировій тканині з міжлопаткової ділянки, проте в останній площа адипоцитів у всіх групах мала значимо ($p<0,05$) більше значення.

Площа ядер адипоцитів збільшувалася ($p<0,05$) в групах 2-5 порівняно з групою 1 (рис. 6.15). Максимально виражене збільшення було зафіксоване в групі 5, помірно виражене – в групі 3, мінімально виражене – в групах 2 і 4. У групі 2 порівняно з групою 4 визначений показник не мав значимих ($p>0,05$) відмінностей. Збільшення площі ядер адипоцитів, з нашої точки зору, є морфологічною ознакою активації їх морфофункціонального стану.

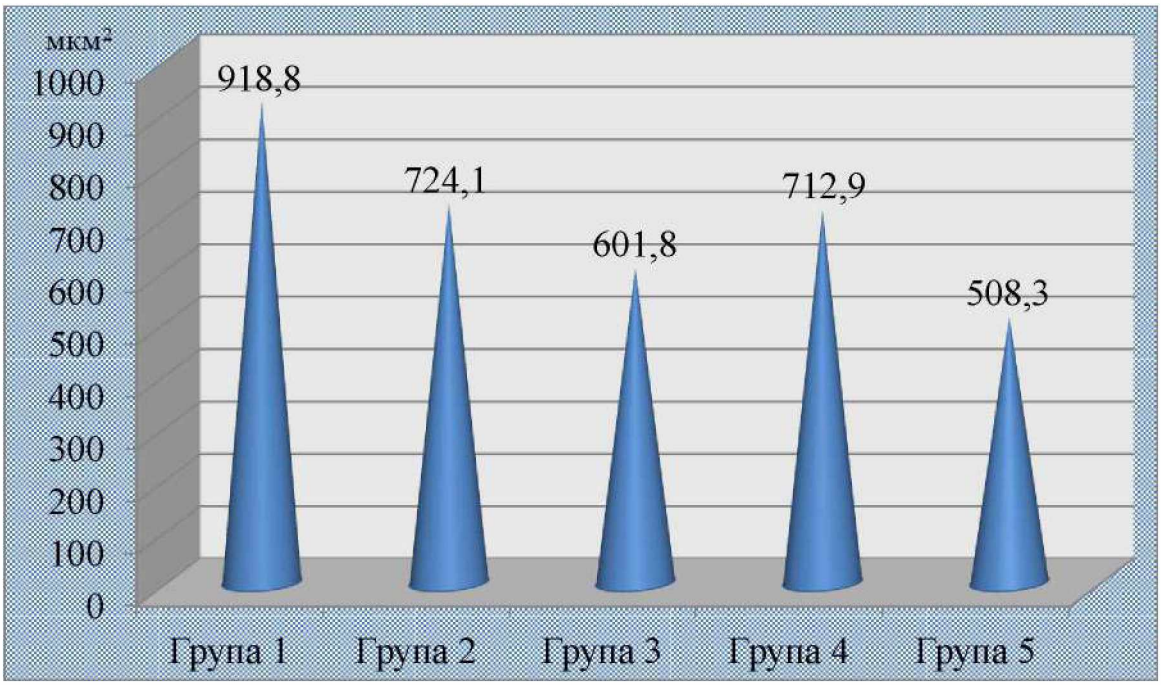


Рис. 6.14. Площа (мкм^2) адипоцитів у бурій жировій тканині щурів груп 1-5.

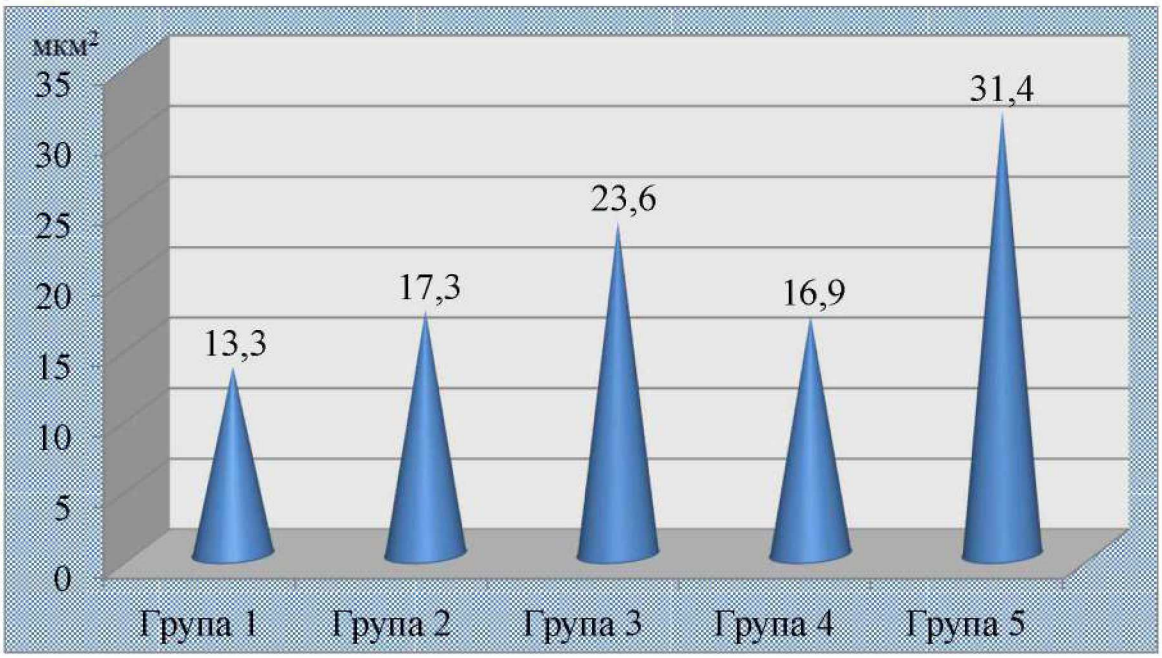


Рис. 6.15. Площа (мкм^2) ядер адипоцитів у бурій жировій тканині щурів груп 1-5.

У паранефральній клітковині були виявлені схожі з міжлопатковою ділянкою зміни площі ядер адипоцитів бурої жирової тканини у групах 1-5. Проте у паранефральній клітковині площа ядер адипоцитів у всіх групах була меншою ($p<0,05$) порівняно з міжлопатковою ділянкою.

У паранефральній клітковині строма бурої жирової тканини, як і в міжлопатковій ділянці, була представлена волокнами сполучної тканини, нервовими волокнами, судинами різного калібру. У групі 4 було виявлено надмірний вміст сполучнотканинних волокон, які мали різний напрямок розташування та були переважно потовщеними, що свідчить про розвиток склеротичних змін.

Судинну мережу у стромі бурої жирової тканини було оцінено шляхом підрахунку абсолютної кількості судин. Результати підрахунку показника зазначено на рисунку 6.16. Показник абсолютної кількості судин не відрізнявся ($p>0,05$) у групах 2 і 4 порівняно з групою 1, збільшувався ($p<0,05$) у групах 3 і 5 порівняно з групою 1. Абсолютна кількість судин не мала значимих ($p>0,05$) відмінностей у групі 4 порівняно з групою 2, у групі 5 порівняно з групою 3.

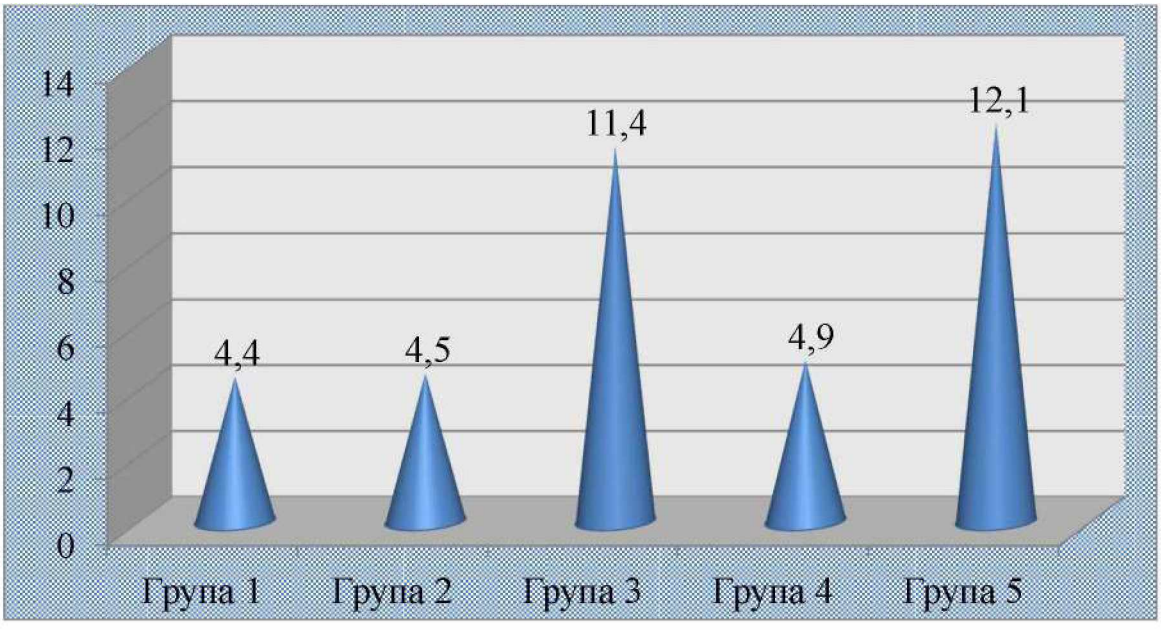


Рис. 6.16. Абсолютна кількість судин у стромі бурої жирової тканини щурів груп 1-5.

Отже, в бурій жировій тканині з паранефральної клітковини, як і з міжлопаткової ділянки, внаслідок переривчастого холодового впливу процеси

ангіогенезу протікають з високою інтенсивністю, про що свідчило збільшення абсолютної кількості судин. Збільшення кількості судин, з нашої точки зору, є ознакою активації бурої жирової тканини. Показник абсолютної кількості судин був більшим ($p<0,05$) у бурій жировій тканині з міжлопаткової ділянки порівняно з бурою жировою тканиною з паранефральної клітковини.

У стромі бурої жирової тканини між волокнами сполучної тканини, в периваскулярному просторі в усіх групах відмічалася вогнищево-дифузна клітинна інфільтрація різного ступеня вираженості. Інфільтрація в групах 1-3 і 5 була представлена макрофагами, моноцитами, лімфоцитами, клітинами фібробластичного ряду; в групі 4 – макрофагами, моноцитами, лімфоцитами, клітинами фібробластичного ряду, нейтрофільними лейкоцитами. В усіх групах у клітинній інфільтрації превалювали макрофаги. Ступінь вираженості інфільтрації в групах 1-5 аналізували шляхом підрахунку абсолютної кількості клітин (рис. 6.17). Кількість клітин не відрізнялася ($p>0,05$) в групі 2 порівняно з групою 1, зменшувалася ($p<0,05$) в групі 3 порівняно з групами 1 і 2. У групі 4 зазначений показник збільшувався ($p<0,05$) порівняно з показниками груп 1-3. У групі 5 кількість клітин зменшувалася ($p<0,05$) порівняно з групою 4, проте була більшою ($p<0,05$) порівняно з групами 1-3. Отже, в групах 3 і 5 в бурій жировій тканині з паранефральної клітковини, як і з міжлопаткової ділянки, переривчастий холодовий вплив зменшував ступінь вираженості клітинної інфільтрації. Інфільтрація в бурій жировій тканині збільшувалася в групі 4, тобто при моделюванні ДГЕА-індукованого СПКЯ. Ступінь вираженості інфільтрації в стромі бурої жирової тканини був більшим у міжлопатковій ділянці порівняно з паранефральною клітковиною.

При імуногістохімічному дослідженні макрофаги експресували МКА до CD68 (рис. 6.18). Серед $CD68^+$-клітин частина з них експресувала МКА до CD86 (маркер М1-макрофагів) (рис. 6.19), інша частина експресувала МКА до CD163 (маркер М2-макрофагів) (рис. 6.20). У подальшому було підраховано відносну кількість М1- та М2-макрофагів. Результати підрахунку наведено на рисунку 6.21.

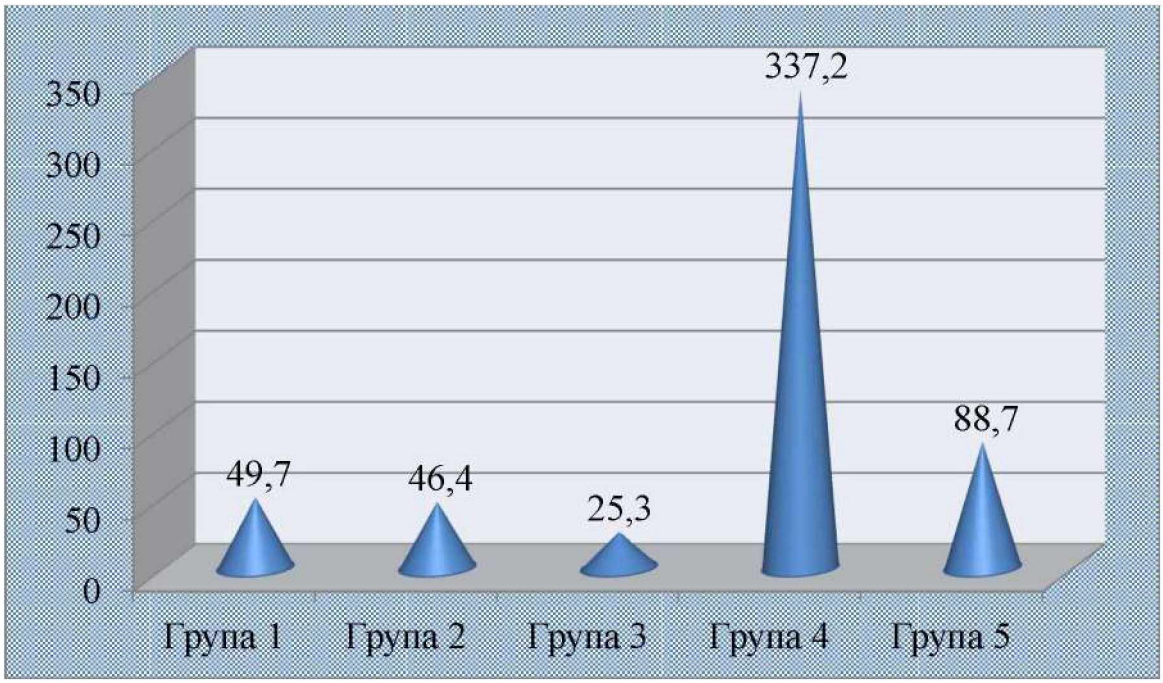


Рис. 6.17. Абсолютна кількість клітин у стромі бурої жирової тканини щурів груп 1-5.

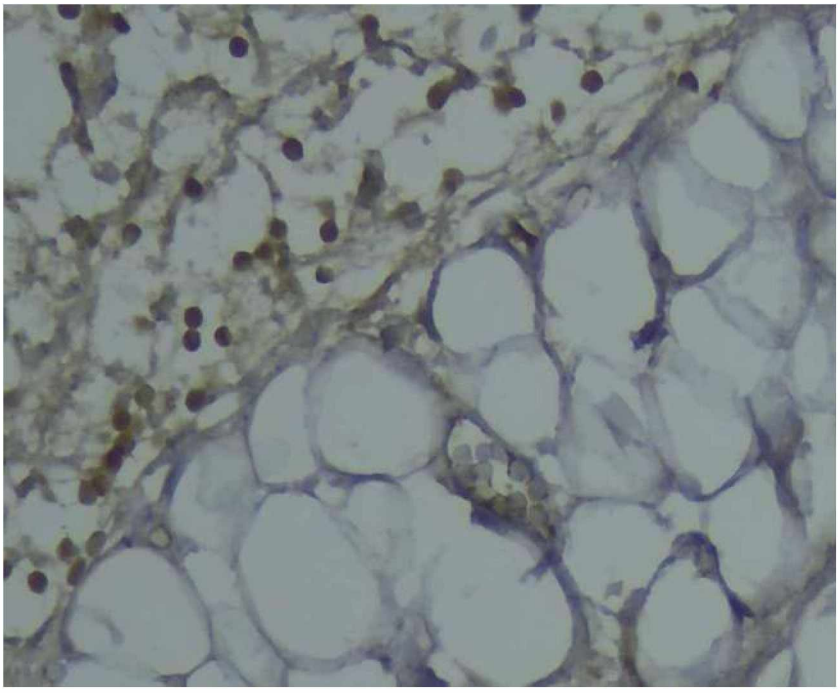


Рис. 6.18. $CD68^+$-клітини в стромі бурої жирової тканини щура групи 3. Імуногістохімічна реакція з МКА до CD68, ×400.

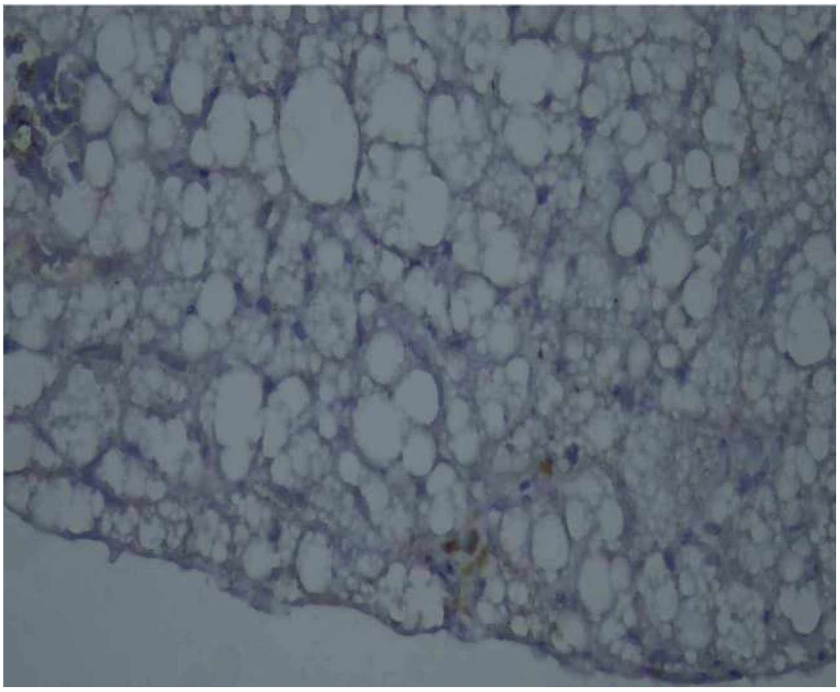


Рис. 6.19. $CD86^+$-клітини в стромі бурої жирової тканини щура групи 3. Імуногістохімічна реакція з МКА до CD86, ×400.

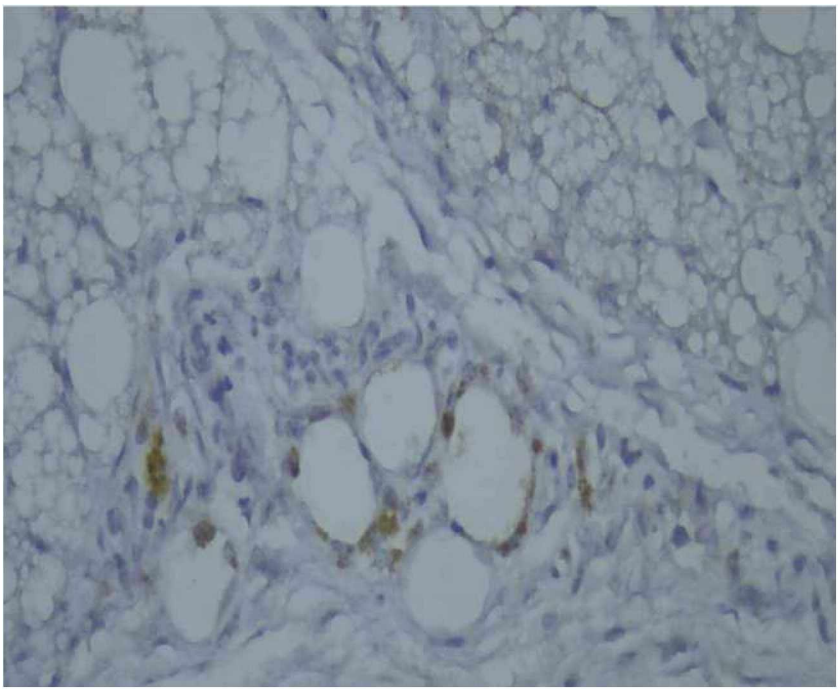


Рис. 6.20. $CD163^+$-клітини в стромі бурої жирової тканини щура групи 4. Імуногістохімічна реакція з МКА до CD163, ×400.

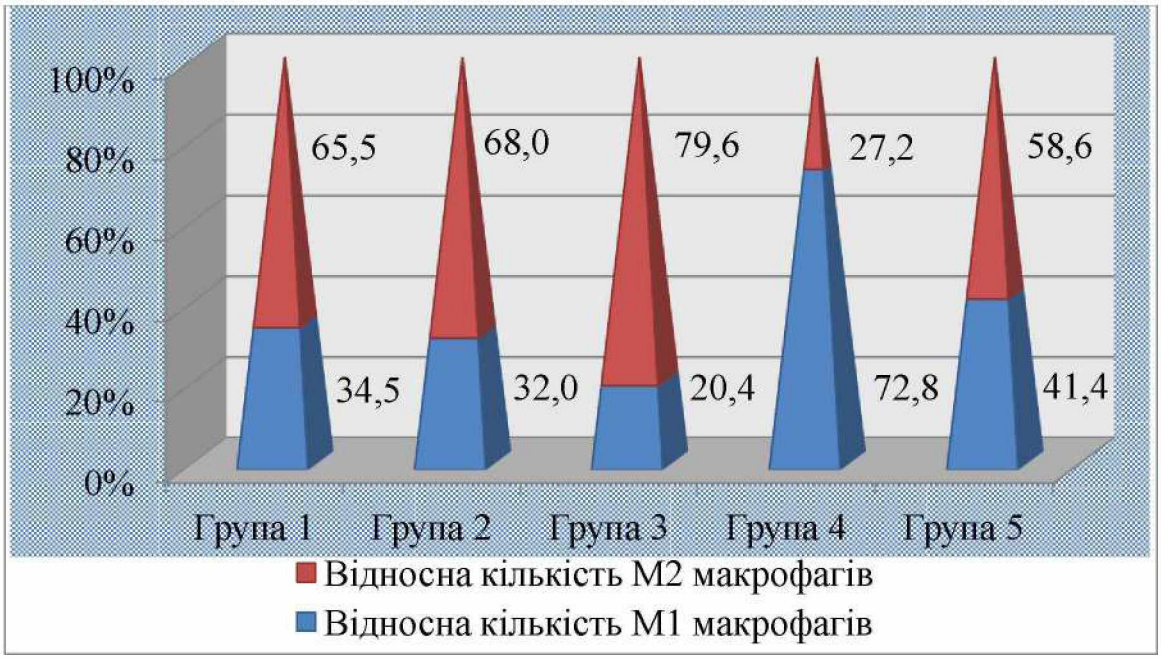


Рис. 6.21. Відносна кількість (%) М1 та М2 макрофагів у стромі бурої жирової тканини щурів груп 1-5.

Відносна кількість М2 макрофагів, як зазначено на рисунку 6.21, превалювала ($p<0,05$) над відносною кількістю М1 макрофагів у групах 1-3 та 5. У групі 4 було виявлено превалювання ($p<0,05$) відносної кількості М1 макрофагів над відносною кількістю М2 макрофагів. У групах 1 і 2 визначені показники значимо не відрізнялися ($p>0,05$). У групі 3 порівняно з групами 1 і 2 кількість М2 макрофагів збільшувалася ($p<0,05$), а кількість М1 макрофагів зменшувалася ($p<0,05$), тобто переривчастий холодовий вплив змінював кількісні показники фенотипів макрофагів при цьому М2 макрофаги залишалися превалюючими.

У групі 4 порівняно з групами 1 і 2 відносна кількість М1 макрофагів збільшувалася ($p<0,05$) та зменшувалася ($p<0,05$) відносна кількість М2 макрофагів, тобто при ДГЕА-індукованому СПКЯ відмічалося порушення балансу між М1 та М2 макрофагами за рахунок збільшення кількості М1 макрофагів. У групі 5 порівняно з групами 1 і 2 відносна кількість М1 макрофагів збільшувалася ($p<0,05$), а відносна кількість М2 макрофагів зменшувалася ($p<0,05$), проте порівняно з групою 4 відносна кількість М1 макрофагів була меншою ($p<0,05$), відносна кількість М2 макрофагів більшою ($p<0,05$), що, з

нашої точки зору, було обумовлено переривчастим холодовим впливом. У бурій жировій тканині з паранефральної клітковини були виявлені подібні до бурої жирової тканини з міжлопаткової ділянки особливості експресії МКА до CD68, CD86 та CD163. Відносна кількість М1 та М2 макрофагів не відрізнялася ($p>0,05$) у бурій жировій тканині з міжлопаткової ділянки та паранефральної клітковини.

Резюме

У щурів з ДГЕА-індукованим СПКЯ було виявлено дисфункцію жирової тканини, що маніфестувала підвищеним вмістом у крові лептину та зниженим вмістом адипонектину. При переривчастому холодовому впливі на тлі введення ДГЕА щурам було виявлено в крові нормалізацію вмісту адипонектину та підвищення рівня лептину порівняно з показником групи контролю та щурів з СПКЯ.

Проведене дослідження також дозволило виявити морфологічні особливості бурої жирової тканини з міжлопаткової ділянки та паранефральної клітковини в умовах ДГЕА-індукованого СПКЯ, переривчастого холодового впливу, введенні ДГЕА на тлі переривчастого холодового впливу.

У бурій жировій тканині з міжлопаткової ділянки було виявлено її активацію, ступінь вираженості якої був мінімально вираженим при ДГЕА-індукованому СПКЯ, помірно вираженим в умовах переривчастого холодового впливу та максимально вираженим при введенні ДГЕА на тлі переривчастого холодового впливу.

У паранефральній клітковині, по-перше, відмічалася трансформація білої жирової тканини в буру жирову тканину в умовах переривчастого холодового впливу та введення ДГЕА на тлі переривчастого холодового впливу; по-друге, активація бурої жирової тканини, яка була мінімально вираженою при ДГЕА-індукованому СПКЯ, помірно вираженою в умовах переривчастого холодового впливу, максимально вираженою при введенні ДГЕА на тлі переривчастого холодового впливу. Трансформація білої жирової тканини в буру жирову тканину маніфестувала зменшенням питомого об'єму білої жирової тканини і збільшенням

питомого об'єму бурої жирової тканини. Активація бурої жирової тканини маніфестувала однаково в міжлопатковій ділянці та паранефральній клітковині зменшенням кількості адипоцитів 3 типу та збільшенням кількості адипоцитів 1 типу, зменшенням площі адипоцитів та збільшенням площі ядер адипоцитів при ДГЕА-індукованому СПКЯ; зменшенням кількості адипоцитів 2 і 3 типів, збільшенням кількості адипоцитів 1 типу, зменшенням площі адипоцитів, збільшенням площі ядер адипоцитів, збільшенням кількості судин у стромі в умовах переривчастого холодового впливу та введення ДГЕА на тлі переривчастого холодового впливу.

У стромі бурої жирової тканини з міжлопаткової ділянки та паранефральної клітковини переривчастий холодовий вплив зменшував ступінь вираженості вогнищево-дифузної поліморфної клітинної інфільтрації, представленої макрофагами, моноцитами, лімфоцитами, клітинами фібробластичного ряду, за рахунок імунних клітин. При ДГЕА-індукованому СПКЯ стромальний компонент бурої жирової тканини характеризувався максимально вираженою поліморфною клітинною інфільтрацією, представленою макрофагами, моноцитами, лімфоцитами, клітинами фібробластичного ряду та нейтрофільними лейкоцитами. При введенні ДГЕА на тлі переривчастого холодового впливу поліморфна клітинна інфільтрація була представлена макрофагами, моноцитами, лімфоцитами, клітинами фібробластичного ряду, ступінь вираженості якої зменшувався порівняно з випадками з ДГЕА-індукованим СПКЯ, проте був більшим порівняно з контрольними тваринами.

У поліморфній клітинній інфільтрації строми бурої жирової тканини з міжлопаткової ділянки, паранефральної клітковини превалюючими клітинами були $CD68^+$-макрофаги, серед яких розрізняли $CD86^+$-макрофаги (М1 макрофаги) і $CD163^+$-макрофаги (М2 макрофаги). Переривчастий холодовий вплив спричиняв збільшення кількості М2 макрофагів, зменшення кількості М1 макрофагів, при цьому баланс між фенотипами макрофагів зберігався, тобто превалюючими були М2 макрофаги. При ДГЕА-індукованому СПКЯ відмічалося порушення балансу між М1 та М2 макрофагами за рахунок збільшення кількості М1 макрофагів та

зменшення кількості М2 макрофагів. При введенні ДГЕА на тлі переривчастого холодового впливу кількість М1 макрофагів була більшою, кількість М2 макрофагів була меншою, проте порівняно з випадками з ДГЕА-індукованим СПКЯ кількість М1 макрофагів зменшувалася, кількість М2 макрофагів збільшувалася.

Роботи, що були опубліковані за матеріалами даного розділу:

1. Жулікова МВ, Жуліков ОО, Мирошниченко МС, Наконечна ОА, Капустник НВ. Аналіз рівня адипонектину та лептину при експериментальному синдромі полікістозних яєчників в умовах переривчастого холодового впливу. Матеріали VI науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (16 листопада 2023 року, м. Харків). Харків : НФаУ, 2023. С. 199-200 [260].

2. Zhulikova MV, Myroshnychenko MS, Zhulikov OO, Kapustnyk NV, Hromko YeA, Myroshnychenko SO. Morphological features of brown adipose tissue in an experimental polycystic ovary syndrome under intermittent cold exposure. Wiad Lek. 2025;78(7):1389-1395 [261].

РОЗДІЛ 7
ОБГОВОРЕННЯ ТА АНАЛІЗ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

СПКЯ є найпоширенішою ендокринно-метаболічною патологією у жінок репродуктивного віку, лікування якої не завжди дає можливість відновити менструальний цикл, морфологічний стан яєчників, фертильність та побороти інші прояви зазначеного недуга. Пошук методів лікування та профілактики СПКЯ є актуальною проблемою сучасної медичної науки та практики, що вимагає проведення комплексних досліджень, націлених, перш за все, на вивчення патогенетичних механізмів розвитку зазначеної патології [262]. На сьогодні в патогенезі СПКЯ виділяють генетичні та епігенетичні, ендокринні, метаболічні, запальні та нейроендокринні механізми. Серед дослідників існує багато суперечок та дискусій щодо головної ланки в патогенезі СПКЯ [263].

Змодельований переривчастий холодовий вплив у щурів на тлі введення ДГЕА позитивно впливав на морфофункціональний стан яєчників, надниркових залоз, жирової тканини, а також на інтенсивність генерації АФК лейкоцитами та еритроцитами, життєздатність зазначених клітин периферичної крові, АОС, вуглеводний та ліпідний обміни. Одержані результати довели клінічний потенціал застосування переривчастого холодового впливу у попередженні розвитку СПКЯ.

У проведеному дослідженні у щурів з ДГЕА-індукованим СПКЯ було виявлено в яєчниках макроскопічні та мікроскопічні зміни, які є маркерними для СПКЯ та співпадають з даними літератури [264].

У щурів, яким вводили ДГЕА та моделювали переривчастий холодовий вплив, відновлювався функціональний стан яєчників, про що свідчив подібний до групи контролю вміст естрадіолу в крові, в той час як при СПКЯ його вміст був зниженим. Одержані результати щодо естрадіол-продукуючої функції яєчників були обумовлені відновленням морфологічного стану фолікулярного епітелію зростаючих фолікулів. Останній, як відомо, приймає участь у продукції естрадіолу.

За умов переривчастого холодового впливу на тлі введення ДГЕА в яєчниках зникали характерні для СПКЯ численні порожнини (кісти) [56], за рахунок чого відновлювалися макроскопічні особливості поверхні яєчників та їх відносна маса.

Білкова оболонка яєчників при СПКЯ, за даними літератури та проведеного дослідження, була потовщеною за рахунок склеротичних змін, що, відповідно, порушує процес овуляції та призводить до кістоутворення. Склеротичні зміни в стромі яєчників у щурів з СПКЯ також були виявлені в кірковій та мозковій речовинах. Розвиток склерозу в яєчниках при СПКЯ дослідники пояснюють наявними гормональними порушеннями. Доведена також роль трансформуючого фактору росту β (transforming growth factor β, TGF β) в розвитку склерозу яєчників. Останній активує TGF-β/Smads сигнальний шлях; збільшує кількість міофібробластів шляхом активації процесу трансформації фібробластів у міофібробласти; порушує баланс між металопротеїназами. Патогенетичною основою розвитку склеротичних змін в яєчниковій тканині при СПКЯ, згідно даних деяких досліджень, є епітеліально-мезенхімальна трансформація [265, 266].

За умов переривчастого холодового впливу на тіл введення ДГЕА товщина білкової оболонки яєчників, а також морфологічні особливості сполучнотканинного компоненту відповідали фізіологічній нормі. Зазначений антифібротичний ефект переривчастого холоду був обумовлений, з нашої точки зору, відновленням редокс-гомеостазу, його протизапальною дією, про що мова піде далі. Також антифібротичний ефект переривчастого холодового впливу може розвиватися за рахунок активації ангіогенезу, тобто покращення трофіки тканини, про що свідчила посилена експресія судинного ендотеліального фактору росту та пригнублення тромбоспондину [267].

У щурів за умов переривчастого холодового впливу на тлі введення ДГЕА було виявлено нормалізацію фолікулогенезу, що маніфестувало при морфометрії подібними до контролю питомими об'ємами примордіальних, зростаючих та атретичних фолікулів. Останнє, з нашої точки зору, було обумовлено відновленням гормонального фону, про що свідчив, у тому числі, подібний до

контролю вміст у крові естрадіолу. Загальновідомо, що стероїдні гормони, які продукуються яєчниками, приймають участь у регуляції процесів росту та атрезії фолікулів, овуляції, лютеогенезу та лютеолізу [268]. Свідченням відновлення фолікулогенезу у щурів за умов переривчастого холодового впливу на тлі введення ДГЕА була наявність при оглядовій мікроскопії жовтих тіл, які за декілька годин до овуляції формуються з клітин гранульози та внутрішньої теки фолікулів [269]. При морфометричному дослідженні питомий об'єм жовтих тіл мав менше значення порівняно з контролем.

Позитивний ефект переривчастого холодового впливу на тлі введення ДГЕА також маніфестував при морфометричному дослідження зменшенням товщини шару текальних клітин третинних фолікулів порівняно зі щурами з СПКЯ, проте зазначений показник залишався збільшеним порівняно з контролем. У тека-клітинах, як відомо, відбувається класичний шлях синтезу андрогенів [270]. Враховуючи останнє виявлене зменшення товщини шару текальних клітин свідчить про зниження їх функціонального стану, що буде маніфестувати зменшенням вмісту андрогенів.

У пацієнток з СПКЯ джерелом андрогенів можуть бути не тільки яєчники, але й надниркові залози та периферичні тканини. У подальшому було проведено вивчення морфофункціонального стану надниркових залоз за умов переривчастого холодового впливу на тлі введення ДГЕА порівняно зі щурами з СПКЯ. В зазначених випадках, як і в щурів з СПКЯ, морфологічні особливості клубочкової зони відповідали фізіологічній нормі, що, з нашої точки зору, свідчить про незмінену продукцію мінералокортикоїдів. У деяких дослідженнях було визначено підвищений вміст альдостерону у жінок з СПКЯ, що може призвести до порушень вуглеводного обміну та підвищує кардіометаболічні ризику у даної категорії пацієнток [271].

У пучковій зоні порівняно зі щурами з СПКЯ при оглядовій мікроскопії зменшувався ступінь вираженості активації морфофункціонального стану ендокриноцитів та зникали їх альтеративні зміни. При морфометричному дослідженні товщина даного шару збільшувалася порівняно зі щурами з СПКЯ,

проте не досягала контрольного показника. Зазначена зона, як відомо, відповідає за продукцію глюкокортикоїдів [272]. У проведеному дослідженні з метою оцінки функціонального стану пучкової зони було визначено вміст кортизолу. Вміст зазначеного гормону збільшувався порівняно зі щурами з СПКЯ, проте залишався зменшеним порівняно з контролем.

У сітчастій зоні кіркової речовини надниркових залоз порівняно зі щурами з СПКЯ зменшувався ступінь вираженості активації морфофункціонального стану ендокриноцитів та зникали їх альтеративні зміни. Товщина зазначеної зони зменшувалася порівняно з СПКЯ та відповідала фізіологічній нормі.

У дослідженні було проведено визначення вмісту в крові ДГЕАС, загального та вільного тестостерону, які, як відомо, продукуються ендокриноцитами сітчастої зони надниркових залоз та тека-клітинами яєчників [270], що, відповідно, дозволяє оцінити функціональний стан зазначених структур. За умов переривчастого холодового впливу на тлі введення ДГЕА вміст ДГЕАС збільшувався порівняно зі щурами з СПКЯ та не досягав контрольного показника. Вміст загального тестостерону знижувався порівняно зі щурами з СПКЯ та відповідав фізіологічній нормі. Вміст вільного тестостерону знижувався порівняно зі щурами з СПКЯ, проте мав менше значення порівняно з контрольним показником. Дослідження та подальший аналіз вмісту зазначених гормонів свідчить про позитивний ефект переривчастого холодового впливу.

У подальшому було розраховано загальну товщину кіркової речовини наднирникових залоз, враховуючи значення товщини її зон. За умов переривчастого холодового впливу та введення ДГЕА зазначений показник знижувався порівняно зі щурами з СПКЯ, проте не досягав значення контрольного показника. Відповідні значення товщини кіркової речовини були обумовлені відновленням морфофункціонального стану пучкової та сітчастої зон.

Надниркові залози є важливими регуляторами стресової реакції організму людини, адже вони є складовою як гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової вісі, так і симпатоадреномедулярної системи [273]. У проведеному нами дослідженні було виявлено помірно виражену активацію морфофункціонального стану

ендокриноцитів мозкової речовини у щурів за умов переривчастого холодового впливу та введення ДГЕА і виражену активацію у щурів з СПКЯ, про що також свідчили значення товщини зазначеного шару. Так, товщина мозкової речовини зменшувалася у щурів за умов переривчастого холодового впливу та введення ДГЕА порівняно зі щурами з СПКЯ, проте зазначений показник мав більше значення порівняно з контролем. З нашої точки зору, виявлена активація морфофункціонального стану ендокриноцитів мозкової речовини була обумовлена звичайною відповіддю організму тварини на дію стресогенного чинника. Останній був представлений процедурою введення ДГЕА, а також поєднанням введення ДГЕА та моделювання переривчастого холодового впливу. Відомо, що у відповідь на стрес відбувається активація симпатичної нервової системи, яка, в свою чергу, стимулює морфофункціональний стан мозкової речовини надниркових залоз, що призводить до продукції адреналіну та норадреналіну.

У щурів за умов переривчастого холодового впливу на тлі введення ДГЕА було виявлено подібну до фізіологічної норми відносну масу надниркових залоз, проте у щурів з СПКЯ зазначений показник мав більше значення. У деяких дослідженнях у жінок з СПКЯ було виявлено збільшення маси надниркових залоз за рахунок гіперплазії паренхіматозного компоненту. Останнє призводило до виникнення надниркової гіперандрогенії та доводило її роль у патогенезі розвитку СПКЯ [274].

Жирова тканина є складним ендокринним органом, який виробляє різні гормони, адипокіни та цитокіни, що беруть участь у низці фізіологічних функцій та розвитку різних захворювань [275]. До основних різновидів жирової тканини відносять білу та буру жирову тканини, які розрізняються за функціями, топографією та морфофункціональними особливостями. Також численні вчені виділяють бежевий тип, що є перехідною формою між білою та бурою жировою тканинами [276].

На сьогодні доведена роль ожиріння та дисфункції жирової тканини в ґенезі розвитку СПКЯ. Цікавим виявилося те, що дисфункція жирової тканини відіграє більшу роль в ґенезі розвитку СПКЯ порівняно з ожирінням [277].

Функціональний стан жирової тканини було оцінено шляхом визначення вмісту в крові лептину та адипонектину. За умов переривчастого холодового впливу та введення ДГЕА порівняно зі щурами з СПКЯ вміст адипонектину збільшувався та дорівнював контрольному показнику. Вміст лептину залишався збільшеним порівняно зі щурами з СПКЯ та групою контролю. Лептинемія у щурів, що піддавалися переривчастому холодовому впливу, пов'язана, на нашу думку, з необхідністю організмом здійснення компенсаторного посилення термогенезу, в якому лептин займає ключову позицію та перемикає на більш економічно вигідний шлях утворення енергії та тепла.

У подальшому було проведено дослідження морфологічних особливостей бурої жирової тканини з міжлопаткової ділянки та жирової тканини з паранефральної клітковини у щурів з ДГЕА-індукованим СПКЯ, а також у щурів за умов переривчастого холодового впливу та введення ДГЕА.

У жінок з СПКЯ, згідно даних літератури, було виявлено зниження питомого об'єму бурої жирової тканини та зниження її активності [278].

У дослідженні за умов переривчастого холодового впливу активувалася бура жирова тканина з міжлопаткової ділянки, а в паранефральній клітковині реєструвалася трансформація білої жирової тканини в буру жирову тканини з активацією останньої. При морфологічному дослідженні трансформація білої жирової тканини в буру жирову тканину маніфестувала зменшенням питомого об'єму білої жирової тканини і збільшенням питомого об'єму бурої жирової тканини. Активація бурої жирової тканини характеризувалася зменшенням кількості адипоцитів 2 і 3 типів, збільшенням кількості адипоцитів 1 типу, зменшенням площі адипоцитів та збільшенням площі їх ядер, збільшенням кількості судин у стромі. Трансформація білої жирової тканини в буру жирову тканину свідчить про пластичність жирової тканини [279].

Механізми активації бурої жирової тканини за умов холодового впливу дискутабельні, тому їх продовжують досліджувати численні вчені. Холод стимулює терморецептори шкіри, що призводить до активації симпатичної нервової системи та продукції норадреналіну. Норадреналін стимулює бурі адипоцити через β-адренергічний рецептор та запускає внутрішньоклітинні події, включаючи гідроліз тригліцеридів, окислення утворених жирних кислот, що завершується активацією UCP1. Останній роз'єднує окисне фосфорилювання з продукцією АТФ, розсіюючи енергію у вигляді тепла [280-282].

Проведений аналіз даних літератури щодо механізмів трансформації білої жирової тканини в буру жирову тканину дозволив розподілити їх на дві групи. До першої групи були віднесені механізми, які пояснюють появу бурої жирової тканини de novo, тобто адипоцити бурої жирової тканини формуються з клітин-попередників під впливом різних адипогенних факторів, у. т.ч. під впливом переривчастого холоду. До другої групи були віднесені механізми, які пояснюють формування бурої жирової тканини шляхом її трансформації з білої жирової тканини. Численні дослідження виділяють проміжну стадію у випадках трансформації білої жирової тканини в буру жирову тканину, яка характеризується формуванням бежевих адипоцитів. У побурінні («browning») білої жирової тканини активну участь приймають PPARγ коактиватор 1α (PGC-1α) (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PGC-1α)), PR-domain-containing 16 (PRDM16), early B-cell factor 2 (EBF2), кісткові морфогенетичні білки (BMP, bone morphogenetic protein), трансформуючий фактор росту-β. У даному процесі також доведена роль різних мікроРНК (miRNAs) [279]. У трансформації білої жирової тканини в буру жирову тканину приймають участь також клітини макрофагального ряду.

Порівняно з білою жировою тканиною, яка накопичує енергію, бурий жир збільшує витрати енергії, активно її спалює, продукуючи тепло, що допомагає подолати ожиріння у жінок з СПКЯ. Доведено, що переривчастий холодовий вплив збільшує експресію UCP1. Результати останніх досліджень свідчать, що існує UCP1-незалежний механізм термогенезу, обумовлений наявністю в клітинах

пероксисом, що відповідають за переробку жирних кислот. Пероксисоми виробляють тепло в процесі метаболізму за участю ацетил-КоА-оксидази 2 [283].

Вільні жирні кислоти, що вивільнюються з білих адипоцитів, активовані адипоцити бурої жирової тканини активно їх використовують для термогенезу. Крім того, збільшення питомого об'єму бурої жирової тканини за умов переривчастого холодового впливу допомагає швидше знизити та підтримувати на належному рівні концентрацію вільних жирних кислот у крові. Відомо, що у жінок з СПКЯ реєструють гіперліпацидемію, за рахунок якої розвивається ІР, гіперглікемія та гіперінсулінемія [186]. Отже, за рахунок активації бурої жирової тканини та збільшення її питомого об'єму за умов переривчастого холодового впливу нормалізується рівень в крові вільних жирних кислот, що дозволяє побороти ІР, гіперглікемію та гіперінсулінемію.

Недавні дослідження довели, що активація холодом бурої жирової тканини збільшує її здатність поглинати глюкозу з крові, що дозволяє у пацієнток з СПКЯ знизити або нормалізувати її рівень [284].

Цікавим виявилося те, що у щурів у бурій жировій тканині з міжлопаткової ділянки та паранефральної клітковини переривчастий холодовий вплив чинив протизапальний ефект, що маніфестувало зменшенням ступеня вираженості запальної клітинної інфільтрації, та нормалізував баланс між М1 і М2 макрофагами. Отже, враховуючи значимість хронічного запалення низького ступеня вираженості в патогенезі СПКЯ [250] застосування переривчастого холодового дозволяє попередити розвиток цього типового патологічного процесу та, відповідно, зазначеної патології.

Оксидативний стрес формує одну з базових патогенетичних основ СПКЯ, визначаючи як морфологічні, так і метаболічно-гормональні прояви зазначеної патології [285, 286]. Оксидативний стрес, як відомо, започатковує ліпідні, протеїнові та нуклеїнові механізми ушкодження [166]. Розвиток зазначеного процесу обумовлений посиленим генеруванням вільних радикалів, пероксидів та недостатністю механізмів антиоксидантного захисту.

У проведеному дослідженні за допомогою проточної цитометрії було виявлено, що лейкоцити та еритроцити у щурів з СПКЯ характеризувалися гіперпродукцією АФК, що, відповідно, призводило до розвитку оксидативного стресу. АФК, як відомо, відносяться до кисневих первинних вільних радикалів. За даними сучасних оглядових і експериментальних робіт дисбаланс між продукцією АФК та можливостями АОС призводить до порушень редокс-гомеостазу та ушкодженню ооцитів і гранульозних клітин [285, 286]. Саме ці клітинні популяції є найбільш чутливими до оксидативних змін, оскільки в них порушується енергетичний метаболізм, знижується ефективність стероїдогенезу та посилюється схильність до апоптозу, що зрештою спричиняє дефекти фолікулогенезу. Пошкодження ооцитів та гранульозних клітин за рахунок надмірної продукція АФК погіршує якість цих клітин та ставить під загрозу фертильність [285, 287].

Дослідження, присвячені вивченню морфофункціонального стану мітохондрій в гранульозних клітинах, показують, що гіперпродукція АФК супроводжується порушенням роботи мітохондрій і зниженням біоенергетичної активності, що є одним із ранніх маркерів розвитку характерних для СПКЯ структурно-функціональних змін у яєчниках [288].

Розвиток у жінок на тлі СПКЯ злоякісних пухлин яєчників, згідно даних численних досліджень, обумовлений тим, що АФК пошкоджують ДНК. Оксидативний стрес індукує метилювання ДНК та епігенетичні модифікації, які пригнічують гени-супресори пухлин [289].

Численні дослідження довели, що оксидативний стрес при СПКЯ поєднується з розвитком мінімального субклінічного (низькоградієнтного) хронічного запалення та характерними для СПКЯ гормонально-метаболічними змінами [290].

У пацієнток з СПКЯ визначено тісний взаємозв'язок між розвитком оксидативного стресу та виникненням запалення. Так, гіперпродукція АФК спричиняє активацію ядерного фактора каппа В (nuclear factor-kappa B, NF-kB),

що призводить до надмірної продукції прозапальних цитокінів (ІЛ 6, фактор некрозу пухлини-α) [291].

Доведені також патогенетичні взаємозв'язки між розвитком у пацієнток з СПКЯ оксидативного стресу, запалення та гіперандрогенії [292]. Надмірна продукція АФК при СПКЯ змінює співвідношення ЛГ/ФСГ, що, відповідно, порушує фолікулогенез [293].

Поєднання оксидативного стресу та запалення значно посилює ІР [291]. При СПКЯ мітохондріальна дисфункція перешкоджає стимульованому інсуліном поглинанню глюкози, що призводить до розвитку ІР. З часом ступінь вираженості ІР зростає, що, в свою чергу, підвищує рівень інсуліну в крові, спричиняючи посилення оксидативного стресу [285]. У пацієнток з СПКЯ показано, що глюкоза та вільні жирні кислоти, концентрація яких у крові значно підвищена, трансформуються у відновлені метаболіти (ацетил-КоА, піровиноградна кислота). Останні надходять у мітохондрії, де генерують АФК [289].

При СПКЯ джерелами продукції АФК, згідно даних літератури, є мітохондрії, НАДФН-оксидази, ксантиноксидази, ферменти CYP450 [293]. У проведеному дослідженні у щурів з ДГЕА-індукованим СПКЯ еритроцити та лейкоцити характеризувалися гіперпродукцією АФК, що спричиняло розвиток не тільки оксидативного стресу, але й активацію ериптозу та зниження життєздатності лейкоцитів за рахунок індукції їх загибелі шляхом апоптозу.

У літературі наявні одиничні дослідження, присвячені вивченню морфофункціонального стану еритроцитів при СПКЯ. Проведена скануюча електронна мікроскопія у жінок з СПКЯ виявила якісні та кількісні зміни в системі еритроцитів. Так, було виявлено збільшену кількість стоматоцитів, акантоцитів та ехіноцитів. Гіперпродукція АФК та оксидативний стрес спричиняли зміни фізико-хімічних властивостей гемоглобіну. Зміни морфофункціонального стану еритроцитів, за даними деяких досліджень, спричинені не тільки оксидативним стресом, але й наявною дисліпідемією. Зміни морфофункціонального стану еритроцитів порушують реологічні властивості крові [294, 295].

В організмі людини функціонує АОС, яка націлена на інактивацію вільних радикалів і пероксидів, а також на обмеження або гальмування перекисного окислення ліпідів [166, 296].

У даному дослідженні оцінка АОС була проведена шляхом визначення активності в крові СОД та вмісту церулоплазміну. У щурів з ДГЕА-індукованим СПКЯ було виявлено активацію АОС, про що свідчило підвищення вмісту в крові СОД та церулоплазміну. Проте функціонування АОС у щурів з СПКЯ не забезпечувало в повній мірі необхідного балансу між продукцією АФК еритроцитами і лейкоцитами та показниками АОС, що свідчить про функціональну недостатність зазначеної системи. Переривчастий холодовий вплив на тлі введення ДГЕА активував АОС, яка забезпечувала інактивацію АФК, що, відповідно, попереджало розвиток оксидативного стресу, покращувало життєздатність еритроцитів та лейкоцитів. Належний функціональний стан АОС за умов переривчастого холодового впливу на тлі введення щурам ДГЕА характеризувався незміненим вмістом церулоплазміну та збільшеною активністю СОД.

Позитивний ефект переривчастого холодового впливу на інтенсивність продукції АФК обумовлений, з нашої точки зору, стабілізацією функцій мітохондрій. Відомо, що переривчастий холодовий вплив активує транскрипційний фактор NrF2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2), що сприяє підвищенню регуляції транскрипції антиоксидантних генів [257].

Короткочасний холодовий стрес, згідно даних літератури, викликає швидке підвищення активності ключових антиоксидантних ферментів (СОД, каталази), а також збільшення вмісту церулоплазміну в плазмі, що супроводжується зростанням загальної антиоксидантної резистентності організму [297]. Тренування у холодній воді сприяє суттєвому підвищенню активності СОД та зменшенню маркерів перекисного окиснення ліпідів у еритроцитах, що по суті також є проявом адаптації до повторного холодового стресу [298]. Отже, переривчастий холодовий вплив здатен відновлювати баланс між продукцією АФК еритроцитами, лейкоцитами і антиоксидантною відповіддю, що дозволяє

покращити життєздатність лейкоцитів і еритроцитів, попередити розвиток оксидативного стресу та клітинну загибель. Оксидативний стрес, як було зазначено вище, є базовою патогенетичною основою СПКЯ [285, 286].

У жінок з СПКЯ метаболічні порушення також характеризуються змінами вуглеводного та ліпідного обмінів [299]. У проведеному дослідженні також було вивчено вуглеводний та ліпідний обміни при переривчастому холодовому впливі на тлі введення ДГЕА, а також у щурів з СПКЯ. У щурів за умов переривчастого холодового впливу та введення ДГЕА вміст глюкози, інсуліну, індекс HOMA зменшувалися порівняно зі щурами з СПКЯ, проте залишалися збільшеними порівняно з контролем. Виявлені зміни показників вуглеводного обміну свідчать про позитивний ефект переривчастого холодового впливу. Останній, як свідчать результати проведеного морфологічного дослідження, активує буру жирову тканину в міжлопатковій ділянці, а також стимулює трансформацію білої жирової тканини в буру жирову тканину з подальшою її активацією. В активованій бурій жировій тканині підвищується її термогенна здатність, що для генерації тепла передбачає поглинання з крові і використання глюкози та вільних жирних кислот. Останнє призводить до зниження вмісту в крові глюкози та жирних кислот до показників фізіологічної норми. Також активована бура жирова тканина підвищує чутливість тканин до інсуліну, що, відповідно, знижує ІР. Відомо, що активована бура жирова тканина секретує багато батокінів, одним з яких є фактор росту фібробластів 21. Зазначений батокін посилює експресію термогенних генів (UCP1, DIO2), покращуючи чутливість тканин до інсуліну та знижуючи рівень глюкози та ліпідів у крові [300].

За умов переривчастого холодового впливу на тлі введення ДГЕА ліпідний обмін характеризувався порівняно зі щурами з СПКЯ збільшеним вмістом холестеролу, ЛПВЩ, ЛПНЩ та зниженим коефіцієнтом атерогенності, а порівняно з контролем збільшеним вмістом ЛПНЩ і холестеролу, зменшеним вмістом ЛПДНЩ і ЛПВЩ, збільшеним коефіцієнтом атерогенності. Отже, проведений аналіз довів здатність переривчастого холодового впливу модулювати

ліпідний обмін у бік зниження атерогенності, що, безумовно, свідчить про його позитивний ефект.

Таким чином, у проведеному етапному дисертаційному дослідженні на експериментальному матеріалі з застосуванням соматометричного, патофізіологічного, морфологічного, імуноферментного, статистичного методів, а також методу проточної цитометрії були визначені патогенетичні механізми переривчастого холодового впливу, що дозволяють попередити розвиток ДГЕА-індукованого СПКЯ. Схематичне зображення виявлених патогенетичних механізмів наведено на рисунку 6.1. Одержані результати, безумовно, мають як теоретичне, так і практичне значення, що актуалізує їх впровадження в освітній та науково-дослідний процес у медичні та фармацевтичні університети, а також у практичну охорону здоров'я, що дозволить знизити показники захворюваності на СПКЯ та покращити якість життя зазначеної категорії пацієнток.

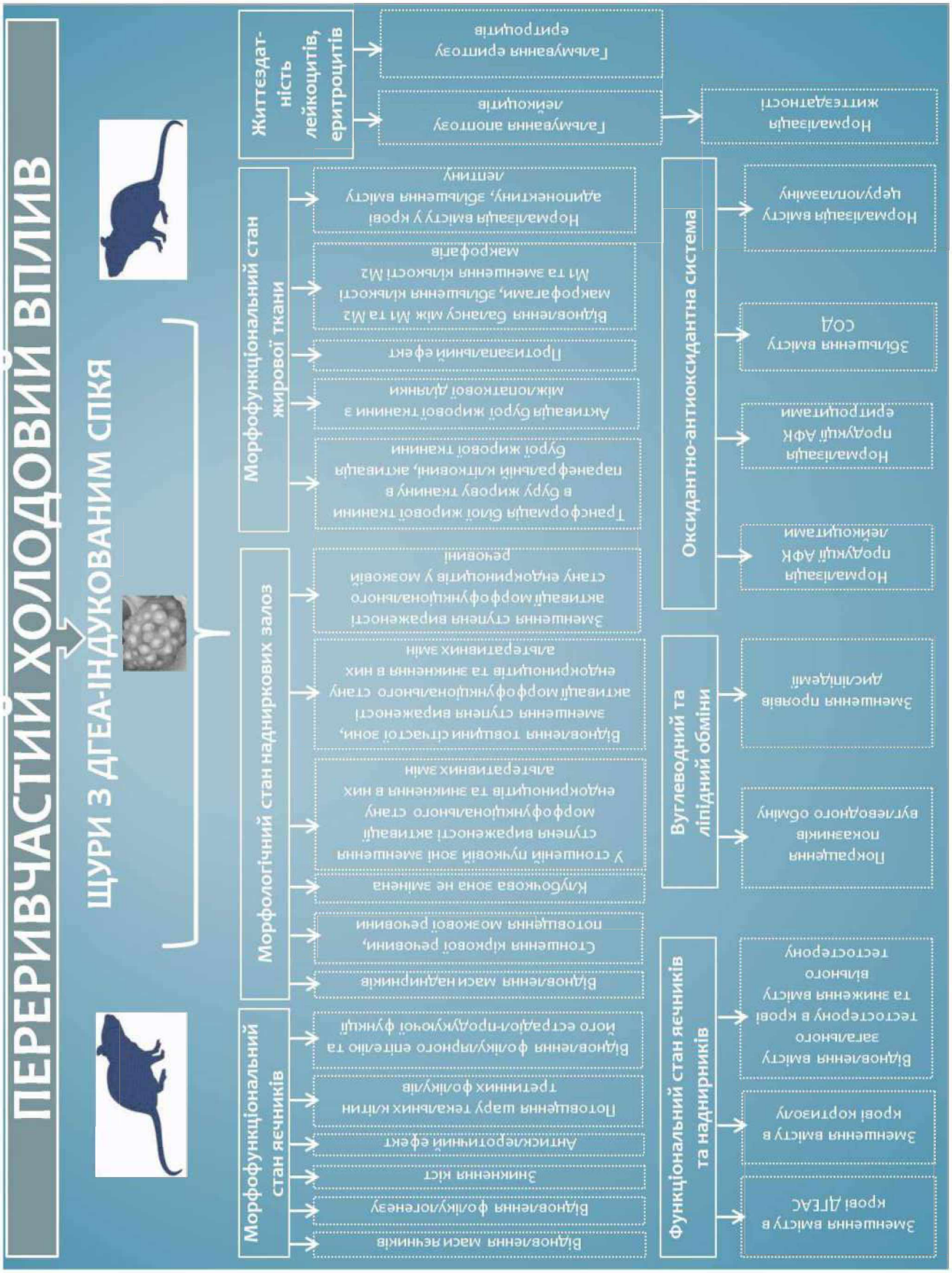


Рис. 6.1. Патогенетичні механізми переривчастого холодового впливу, що лежать в основі попередження розвитку СПКЯ.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено теоретичне узагальнення та вирішення актуального наукового завдання сучасної клінічної патофізіології, що полягає у визначенні патогенетичних механізмів переривчастого холодового впливу, які лежать в основі попередження розвитку експериментального ДГЕА-індукованого СПКЯ.

1. За умов переривчастого холодового впливу на тлі введення ДГЕА інтенсивність флюоресценції ДХФ в лейкоцитах периферичної крові знижувалася ($p<0,05$) на 30,1 % порівняно зі щурами з СПКЯ та досягала контрольного показника, що свідчило про нормалізацію продукції АФК лейкоцитами. Переривчастий холодовий вплив на тлі введення ДГЕА гальмував апоптоз лейкоцитів (кількість лейкоцитів, що знаходилися на початковій стадії апоптозу, зменшувалася ($p<0,05$) на 70,3% порівняно зі щурами з СПКЯ та дорівнювала контрольному показнику) та нормалізував їх життєздатність (кількість життєздатних лейкоцитів збільшувалася ($p<0,05$) на 8,9% порівняно зі щурами з СПКЯ та відповідала нормі). Переривчастий холодовий вплив на тлі введення ДГЕА нормалізував продукцію АФК в еритроцитах, про що свідчило зменшення ($p<0,05$) на 35,4% середньої інтенсивності флюоресценції ДХФ в еритроцитах порівняно зі щурами з СПКЯ та відсутність ($p>0,05$) різниці порівняно з контролем. Переривчастий холодовий вплив на тлі введення ДГЕА позитивно впливав на інтенсивність ериптозу (кількість анексин V^+ -клітин зменшувалася ($p<0,05$) на 29,7 % порівняно зі щурами з СПКЯ та не відрізнялася ($p>0,05$) від контрольного показника; середня інтенсивність флюоресценції анексин V-FITS у анексин V^+-клітинах зменшувалася ($p<0,05$) на 41,3% порівняно зі щурами з СПКЯ та на 31,6% порівняно з контролем).

2. Переривчастий холод на тлі введення ДГЕА позитивно впливав на показники вуглеводного та ліпідного обмінів, антиоксидантну систему. Вміст глюкози, інсуліну, індекс HOMA зменшувалися ($p<0,05$) порівняно зі щурами з

СПКЯ, відповідно, на 22 %, 69,1 %, 72,6 %, проте залишалися збільшеними ($p<0,05$) порівняно з контролем, відповідно, на 21,9%, 16,6% та 52,8 %. Ліпідний обмін характеризувався порівняно зі щурами з СПКЯ збільшеним ($p<0,05$) вмістом холестеролу на 16,5 %, ЛПВЩ на 59,3 %, ЛПНЩ на 33,3 % та зниженим ($p<0,05$) коефіцієнтом атерогенності на 9,7 %, а порівняно з контролем збільшеним ($p<0,05$) вмістом ЛПНЩ на 91,3% і холестеролу на 16,5 %, зменшеним ($p<0,05$) вмістом ЛПДНЩ на 50 % і ЛПВЩ на 20,3 %, збільшеним ($p<0,05$) коефіцієнтом атерогенності на 55,5 %. У щурів на тлі введення ДГЕА за умов переривчастого холодового впливу активність СОД зменшувалася ($p<0,05$) на 29,9 % порівняно зі щурами з СПКЯ та була збільшеною ($p<0,05$) на 84,2 % порівняно з контролем. Вміст церулоплазміну зменшувався ($p<0,05$) на 59,2 % порівняно зі щурами з СПКЯ та не відрізнявся ($p>0,05$) від контрольного показника.

3. За умов переривчастого холодового впливу на тлі введення ДГЕА відновлювався баланс гормонів яєчників та надниркових залоз. Вміст у крові естрадіолу збільшувався ($p<0,05$) на 52,6 % порівняно зі щурами з СПКЯ та відповідав фізіологічній нормі. Вміст ДГЕАС збільшувався ($p<0,05$) на 63 % порівняно зі щурами з СПКЯ та зменшувався на 26,1 % порівняно з контрольним показником. Вміст загального тестостерону зменшувався ($p<0,05$) на 53,3 % порівняно зі щурами з СПКЯ та відповідав фізіологічній нормі. Вміст вільного тестостерону знижувався ($p<0,05$) на 50,9 % порівняно зі щурами з СПКЯ, знижувався ($p<0,05$) на 27,8 % порівняно з показником групи контролю. Вміст кортизолу збільшувався ($p<0,05$) на 231,5 % порівняно зі щурами з СПКЯ та зменшувався ($p<0,05$) на 16,5 % порівняно з контролем.

4. При введенні щурам ДГЕА на тлі переривчастого холодового впливу відновлювався морфологічний стан яєчників. Відносна маса яєчників та їх макроскопічні характеристики поверхні були подібні до групи контролю. Товщина білкової оболонки; питомий об'єм примордіальних, зростаючих та атретичних фолікулів; питомий об'єм строми не відрізнялися ($p>0,05$) від контрольних показників. Альтеративні зміни у фолікулярному епітелії не були

виявлені. Кісти не реєструвалися. З'являлися жовті тіла, питомий об'єм яких порівняно з контролем був меншим на 79,7%. Товщина шару текальних клітин третинних фолікулів зменшувалася ($p<0,05$) на 21,2 % порівняно зі щурами з СПКЯ, проте була збільшеною ($p<0,05$) на 24,7 % порівняно з контролем.

5. При введенні щурам ДГЕА за умов переривчастого холодового впливу відносна маса надниркових залоз зменшувалася ($p<0,05$) на 50 % порівняно зі щурами з СПКЯ та відповідала нормі. Товщина кіркової та мозкової речовин зменшувалася ($p<0,05$), відповідно, на 14,1 % і 7,7 % порівняно зі щурами з СПКЯ, проте порівняно з контролем товщина кіркової речовини зменшувалася ($p<0,05$) на 9,8 % та товщина мозкової речовини збільшувалася ($p<0,05$) на 19,2 %. Морфологічні особливості клубочкової зони відповідали нормі. Зменшувався ступінь вираженості активації морфофункціонального стану ендокриноцитів та зникали їх альтеративні зміни в пучковій зоні, товщина якої збільшувалася ($p<0,05$) на 23,5 % порівняно зі щурами з СПКЯ, проте зменшувалася ($p<0,05$) на 13,7 % порівняно з контролем. У сітчастій зоні зменшувався ступінь вираженості активації морфофункціонального стану ендокриноцитів та зникали їх альтеративні зміни, її товщина зменшувалася ($p<0,05$) на 68,2 % порівняно зі щурами з СПКЯ та відповідала фізіологічній нормі. У мозковій речовині зменшувалися ознаки активації морфофункціонального стану ендокриноцитів порівняно зі щурами з СПКЯ.

6. За умов переривчастого холодового впливу на тлі введення ДГЕА вміст у крові адипонектину нормалізувався, а вміст лептину збільшувався порівняно з контролем та щурами з СПКЯ. Бура жирова тканина з міжлопаткової ділянки характеризувалася максимально вираженою активацією, а жирова тканина з паранефральної клітковини – трансформацією білої жирової тканини у буру жирову тканину та максимально вираженою активацією бурої жирової тканини. Трансформація білої жирової тканини в буру жирову тканину маніфестувала зменшенням питомого об'єму білої жирової тканини і збільшенням питомого об'єму бурої жирової тканини. Активація бурої жирової тканини мала однакові особливості в міжлопатковій ділянці і паранефральній клітковині та

маніфестувала зменшенням кількості адипоцитів 2 і 3 типів, збільшенням кількості адипоцитів 1 типу, зменшенням площі адипоцитів та збільшенням площі їх ядер, збільшенням кількості судин у стромі. У стромі бурої жирової тканини з міжлопаткової ділянки та паранефральної клітковини переривчастий холодовий вплив на тлі введення ДГЕА зменшував ступінь вираженості запальної клітинної інфільтрації, що була представлена переважно макрофагами, моноцитами, лімфоцитами та нечисленними нейтрофільними лейкоцитами. Серед $CD\,68^{+}$-макрофагів порівняно зі щурами з СПКЯ зменшувалася абсолютна кількість М1 макрофагів та збільшувалася абсолютна кількість М2 макрофагів, що відновлювало характерний для групи контролю баланс між фенотипами макрофагів, проте порівняно з контролем кількість М1 макрофагів залишалася більшою, а кількість М2 макрофагів меншою.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Доведений позитивний ефект переривчастого холодового впливу у попередженні розвитку СПКЯ дозволяє його рекомендувати застосовувати у практичній охороні здоров'я.

2. Розроблений та запатентований спосіб моделювання СПКЯ рекомендований для застосування в експериментальній медицині для вивчення патогенезу зазначеної патології та розробки нових лікувально-профілактичних заходів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Singh S, Pal N, Shubham S, Sarma DK, Verma V, Marotta F, Kumar M. Polycystic ovary syndrome: etiology, current management, and future therapeutics. J Clin Med. 2023;12(4):1454. doi: 10.3390/jcm12041454.

2. Хміль Досвальд АС, Хміль МС, Хміль СВ. Епідеміологія синдрому полікістозних яєчників, ендометріозу та їх комор бідного перебігу. Вісник медичних і біологічних досліджень. 2021;4(10):135-145.

3. Tong C, Wu Y, Zhang L, Yu Y. Insulin resistance, autophagy and apoptosis in patients with polycystic ovary syndrome: association with PI3K signaling pathway. Front Endocrinol (Lausanne). 2022;13:1091147. doi: 10.3389/fendo.2022.1091147.

4. Su P, Chen C, Sun Y. Physiopathology of polycystic ovary syndrome in endocrinology, metabolism and inflammation. J Ovarian Res. 2025;18(1):34. doi: 10.1186/s13048-025-01621-6.

5. Yu O, Christ JP, Schulze-Rath R, Covey J, Kelley A, Grafton J, Cronkite D, Holden E, Hilpert J, Sacher F, Micks E, Reed SD. Incidence, prevalence, and trends in polycystic ovary syndrome diagnosis: a United States population-based study from 2006 to 2019. Am J Obstet Gynecol. 2023;229(1):39.e1-39.e12. doi: 10.1016/j.ajog.2023.04.010.

6. Che Y, Yu J, Li YS, Zhu YC, Tao T. Polycystic Ovary Syndrome: Challenges and Possible Solutions. J Clin Med. 2023;12(4):1500. doi: 10.3390/jcm12041500.

7. Stańczak NA, Grywalska E, Dudzińska E. The latest reports and treatment methods on polycystic ovary syndrome. Ann Med. 2024;56(1):2357737. doi: 10.1080/07853890.2024.2357737.

8. Tang WZ, Cai QY, Huang KJ, Xu WZ, Li JZ, Pan YR, Xu HY, Zhao YF, Sheng TH, Li ZM, Liu TH, Li YB. The global burden of polycystic ovary syndrome, endometriosis, uterine fibroids, cervical cancer, uterine cancer, and ovarian cancer from 1990 to 2021. BMC Public Health. 2025;25(1):1774. doi: 10.1186/s12889-025-22881-3.

9. Cotellessa L, Sobrino V, Silva MSB, Delit M, Maitre H, Caron E, Ternier G, da Silva Lima N, Lhomme T, Giton F, Sorrentino A, Carraresi L, Di Nardo G, Nogueiras R, Tena-Sempere M, Prevot V, Giacobini P. Preventing and correcting polycystic ovary syndrome by targeting anti-Müllerian hormone signaling in minipuberty and adulthood in mice. Cell Metab. 2025;37(6):1260-1276.e8. doi: 10.1016/j.cmet.2025.03.013.

10. Scott MC, Fuller S. The Effects of Intermittent Cold Exposure on Adipose Tissue. Int J Mol Sci. 2023;25(1):46. doi: 10.3390/ijms25010046.

11. Teede HJ, Tay CT, Laven JJE, Dokras A, Moran LJ, Piltonen TT, Costello MF, Boivin J, Redman LM, Boyle JA, Norman RJ, Mousa A, Joham AE. Recommendations From the 2023 International Evidence-based Guideline for the Assessment and Management of Polycystic Ovary Syndrome. J Clin Endocrinol Metab. 2023;108(10):2447-2469. doi: 10.1210/clinem/dgad463.

12. Jiao X, Chen W, Zhang J, Wang W, Song J, Chen D, Zhu W, Shi Y, Yu X. Variant Alleles of the *ESR1*, *PPARG*, *HMGA2*, and *MTHFR* Genes Are Associated With Polycystic Ovary Syndrome Risk in a Chinese Population: A Case-Control Study. Front Endocrinol (Lausanne). 2018;9:504. doi: 10.3389/fendo.2018.00504.

13. Skiba MA, Islam RM, Bell RJ, Davis SR. Understanding variation in prevalence estimates of polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. Hum Reprod Update. 2018;24(6):694-709. doi: 10.1093/humupd/dmy022.

14. Amiri M, Hatoum S, Buyalos RP, Sheidaei A, Azziz R. The Influence of Study Quality, Age, and Geographic Factors on PCOS Prevalence-A Systematic Review and Meta-analysis. J Clin Endocrinol Metab. 2025;110(7):2082-2103. doi: 10.1210/clinem/dgae917.

15. Zhang J, Zhu Y, Wang J, Hu H, Jin Y, Mao X, Zhang H, Ye Y, Xin X, Li D. Global burden and epidemiological prediction of polycystic ovary syndrome from 1990 to 2019: A systematic analysis from the Global Burden of Disease Study 2019. PLoS One. 2024;19(7):e0306991. doi: 10.1371/journal.pone.0306991.

16. Shah D, Rasool S. Ethnicity in polycystic ovary syndrome. Climacteric. 2023;26(1):15-20. doi: 10.1080/13697137.2022.2144211.

17. Kakoly NS, Khomami MB, Joham AE, Cooray SD, Misso ML, Norman RJ, Harrison CL, Ranasinha S, Teede HJ, Moran LJ. Ethnicity, obesity and the prevalence of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes in PCOS: a systematic review and meta-regression. Hum Reprod Update. 2018;24(4):455-467. doi: 10.1093/humupd/dmy007.

18. Huang Z, Yong EL. Ethnic differences: Is there an Asian phenotype for polycystic ovarian syndrome? Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2016;37:46-55. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2016.04.001.

19. Ganie MA, Vasudevan V, Wani IA, Baba MS, Arif T, Rashid A. Epidemiology, pathogenesis, genetics & management of polycystic ovary syndrome in India. Indian J Med Res. 2019;150(4):333-344. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_1937_17.

20. Belenkaia LV, Lazareva LM, Walker W, Lizneva DV, Suturina LV. Criteria, phenotypes and prevalence of polycystic ovary syndrome. Minerva Ginecol. 2019;71(3):211-223. doi: 10.23736/S0026-4784.19.04404-6.

21. Chiaffarino F, Cipriani S, Dalmartello M, Ricci E, Esposito G, Fedele F, La Vecchia C, Negri E, Parazzini F. Prevalence of polycystic ovary syndrome in European countries and USA: A systematic review and meta-analysis. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2022;279:159-170. doi: 10.1016/j.ejogrb.2022.10.020.

22. Kaur R, Kaur M, Suri V. Phenotypic presentation of PCOS with respect to BMI in a north Indian population. Clin Ter. 2021;172(5):435-437. doi: 10.7417/CT.2021.2354.

23. Jakubowska-Kowal KM, Skrzynska KJ, Gawlik-Starzyk AM. Prevalence and diagnosis of polycystic ovary syndrome (PCOS) in adolescents - what's new in 2023? Systematic review. Ginekol Pol. 2024;95(8):643-649. doi: 10.5603/gpl.98849.

24. Hatoum S, Amiri M, Hopkins D, Buyalos RP, Bril F, Azziz R. Population-Based vs Health System and Insurer Records: Significant Underdiagnosis of PCOS. J Clin Endocrinol Metab. 2025;110(6):e1759-e1766. doi: 10.1210/clinem/dgaf037.

25. Tatarchuk T, Pedachenko N, Kosei N, Malysheva I, Snizhko T, Kozub T, Zolotarevska O, Kosianenko S, Tutchenko T. Distribution and anthropometric characteristics of Rotterdam criteria-based phenotypic forms of Polycystic ovaries

syndrome in Ukraine. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2024;295:104-110. doi: 10.1016/j.ejogrb.2024.02.011.

26. Pelocchino AM, Montalenti D. Considerazioni sulla etiopatogenesi della sindrome da ovaio policistico [Etiopathogenesis of the polycystic ovary syndrome]. Minerva Med. 1973;64(29):1530-42. Italian.

27. Sciarra F, Toscano V, Tosti-Croce C. Considerazioni sull'etiopatogenesi della sindrome dell'ovaio policistico [Etiopathogenesis of the polycystic ovary syndrome]. Minerva Endocrinol. 1987;12(3):183-90. Italian.

28. Hrnciar J. Nové aspekty v etiopatogenéze hirzutizmu a syndrómu polycystických ovárií [New aspects in the etiopathogenesis of hirsutism and polycystic ovary syndrome]. Ceska Gynekol. 1994;59(2):85-7. Slovak.

29. Wertheim K, Sobczyńska-Tomaszewska A, Bal J. W poszukiwaniu etiopatogenezy zespołu policystycznych jajników (PCOS) [Search for the etiopathogenesis of polycystic ovary syndrome (PCOS)]. Ginekol Pol. 2007;78(8):626-31. Polish.

30. Pluta D, Staśczak A, Stokowy T, Migacz M, Kochman K, Holecki M. Visceral Adiposity Index in Relation to Rotterdam Phenotypes of Polycystic Ovary Syndrome. Biomedicines. 2025;13(8):1997. doi: 10.3390/biomedicines13081997.

31. Di Lorenzo M, Cacciapuoti N, Lonardo MS, Nasti G, Gautiero C, Belfiore A, Guida B, Chiurazzi M. Pathophysiology and Nutritional Approaches in Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): A Comprehensive Review. Curr Nutr Rep. 2023;12(3):527-544. doi: 10.1007/s13668-023-00479-8.

32 Liao B, Qiao J, Pang Y. Central Regulation of PCOS: Abnormal Neuronal-Reproductive-Metabolic Circuits in PCOS Pathophysiology. Front Endocrinol (Lausanne). 2021;12:667422. doi: 10.3389/fendo.2021.667422.

33. Khan MJ, Ullah A, Basit S. Genetic Basis of Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): Current Perspectives. Appl Clin Genet. 2019;12:249-260. doi: 10.2147/TACG.S200341.

34. Patel S. Polycystic ovary syndrome (PCOS), an inflammatory, systemic, lifestyle endocrinopathy. J Steroid Biochem Mol Biol. 2018;182:27-36. doi: 10.1016/j.jsbmb.2018.04.008.

35. Bednarska S, Siejka A. The pathogenesis and treatment of polycystic ovary syndrome: What's new? Adv Clin Exp Med. 2017;26(2):359-367. doi: 10.17219/acem/59380. PMID: 28791858.

36. Ortiz-Flores AE, Luque-Ramírez M, Escobar-Morreale HF. Polycystic ovary syndrome in adult women. Med Clin (Barc). 2019;152(11):450-457. English, Spanish. doi: 10.1016/j.medcli.2018.11.019.

37. Siddiqui S, Mateen S, Ahmad R, Moin S. A brief insight into the etiology, genetics, and immunology of polycystic ovarian syndrome (PCOS). J Assist Reprod Genet. 2022;39(11):2439-2473. doi: 10.1007/s10815-022-02625-7.

38. Merhi Z, Kandaraki EA, Diamanti-Kandarakis E. Implications and Future Perspectives of AGEs in PCOS Pathophysiology. Trends Endocrinol Metab. 2019;30(3):150-162. doi: 10.1016/j.tem.2019.01.005.

39. Chaudhary H, Patel J, Jain NK, Joshi R. The role of polymorphism in various potential genes on polycystic ovary syndrome susceptibility and pathogenesis. J Ovarian Res. 2021;14(1):125. doi: 10.1186/s13048-021-00879-w.

40. Goodarzi MO, Dumesic DA, Chazenbalk G, Azziz R. Polycystic ovary syndrome: etiology, pathogenesis and diagnosis. Nat Rev Endocrinol. 2011;7(4):219-31. doi: 10.1038/nrendo.2010.217.

41. Deswal R, Nanda S, Dang AS. Association of Luteinizing hormone and LH receptor gene polymorphism with susceptibility of Polycystic ovary syndrome. Syst Biol Reprod Med. 2019;65(5):400-408. doi: 10.1080/19396368.2019.1595217.

42. Li Y, Zhang J, Liu YD, Zhou XY, Chen X, Zhe J, Zhang QY, Zhang XF, Chen YX, Wang Z, Chen SL. Long non-coding RNA TUG1 and its molecular mechanisms in polycystic ovary syndrome. RNA Biol. 2020;17(12):1798-1810. doi: 10.1080/15476286.2020.1783850.

43. Szeliga A, Rudnicka E, Maciejewska-Jeske M, Kucharski M, Kostrzak A, Hajbos M, Niwczyk O, Smolarczyk R, Meczekalski B. Neuroendocrine Determinants of

Polycystic Ovary Syndrome. Int J Environ Res Public Health. 2022;19(5):3089. doi: 10.3390/ijerph19053089.

44. Ilie IR. Neurotransmitter, neuropeptide and gut peptide profile in PCOS-pathways contributing to the pathophysiology, food intake and psychiatric manifestations of PCOS. Adv Clin Chem. 2020;96:85-135. doi: 10.1016/bs.acc.2019.11.004.

45. Orszulak D, Niziński K, Matonóg A, Zięba-Domalik M, Stojko R, Drosdzol-Cop A. Adipokines as biochemical marker of polycystic ovary syndrome in adolescents - review. Front Endocrinol (Lausanne). 2025;16:1475465. doi: 10.3389/fendo.2025.1475465.

46. Capozzi A, Vignali M, Scambia G, Lello S. Pathophysiology and diagnostic criteria of PCOS. Minerva Obstet Gynecol. 2025. doi: 10.23736/S2724-606X.24.05612-4.

47. Guraya SS, Alhussaini KA, Shaqrun FM, Alhazmi BH, Alkabli RS. Correlation of clinical, radiological and serum analysis of hypovitaminosis D with polycystic ovary syndrome: A systematic review and meta-analysis. J Taibah Univ Med Sci. 2017;12(4):277-283. doi: 10.1016/j.jtumed.2017.02.005.

48. Koike H, Harada M, Kusamoto A, Xu Z, Tanaka T, Sakaguchi N, Kunitomi C, Azhary JMK, Takahashi N, Urata Y, Osuga Y. Roles of endoplasmic reticulum stress in the pathophysiology of polycystic ovary syndrome. Front Endocrinol (Lausanne). 2023;14:1124405. doi: 10.3389/fendo.2023.1124405.

49. Zhang J, Bao Y, Zhou X, Zheng L. Polycystic ovary syndrome and mitochondrial dysfunction. Reprod Biol Endocrinol. 2019;17(1):67. doi: 10.1186/s12958-019-0509-4.

50. Siemers KM, Klein AK, Baack ML. Mitochondrial Dysfunction in PCOS: Insights into Reproductive Organ Pathophysiology. Int J Mol Sci. 2023;24(17):13123. doi: 10.3390/ijms241713123.

51. Rakic D, Joksimovic Jovic J, Jakovljevic V, Zivkovic V, Nikolic M, Sretenovic J, Nikolic M, Jovic N, Bicanin Ilic M, Arsenijevic P, Dimitrijevic A, Vulovic T, Ristic N, Bulatovic K, Bolevich S, Stijak L, Pantovic S. High Fat Diet

Exaggerate Metabolic and Reproductive PCOS Features by Promoting Oxidative Stress: An Improved EV Model in Rats. Medicina (Kaunas). 2023;59(6):1104. doi: 10.3390/medicina59061104.

52. An J, Zhou Q, Guo X, Xu C, Jia X, Cao Z, Lu Q. From Pathophysiology to Treatment: The Role of Ferroptosis in PCOS. Front Biosci (Landmark Ed). 2025;30(2):25586. doi: 10.31083/FBL25586.

53. Alhermi A, Perks H, Nigi V, Altahoo N, Atkin SL, Butler AE. The Role of the Liver in the Pathophysiology of PCOS: A Literature Review. Biomolecules. 2025;15(1):51. doi: 10.3390/biom15010051.

54. Su P, Chen C, Sun Y. Physiopathology of polycystic ovary syndrome in endocrinology, metabolism and inflammation. J Ovarian Res. 2025;18(1):34. doi: 10.1186/s13048-025-01621-6.

55. Shukla A, Rasquin LI, Anastasopoulou C. Polycystic Ovarian Syndrome. 2025. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan–. PMID: 29083730.

56. Christ JP, Cedars MI. Current Guidelines for Diagnosing PCOS. Diagnostics (Basel). 2023;13(6):1113. doi: 10.3390/diagnostics13061113.

57. Chang S, Dunaif A. Diagnosis of Polycystic Ovary Syndrome: Which Criteria to Use and When? Endocrinol Metab Clin North Am. 2021;50(1):11-23. doi: 10.1016/j.ecl.2020.10.002.

58. McManus SS, Levitsky LL, Misra M. Polycystic ovary syndrome: clinical presentation in normal-weight compared with overweight adolescents. Endocr Pract. 2013;19(3):471-8. doi: 10.4158/EP12235.OR.

59. Zehravi M, Maqbool M, Ara I. Polycystic ovary syndrome and infertility: an update. Int J Adolesc Med Health. 2021;34(2):1-9. doi: 10.1515/ijamh-2021-0073.

60. Jena S, Mishra I, Baliarsinha AK, Jena D, Debata M. Variation in Clinical Presentation, Metabolic Profile, Hormonal Parameters and Inflammatory Markers in Polycystic Ovary Syndrome Women with and without Polycystic Ovary Morphology Appearance. J Hum Reprod Sci. 2023;16(2):132-139. doi: 10.4103/jhrs.jhrs_60_23.

61. Anjum S, Askari S, Riaz M, Basit A. Clinical Presentation and Frequency of Metabolic Syndrome in Women With Polycystic Ovary Syndrome: An Experience From a Tertiary Care Hospital in Pakistan. Cureus. 2020;12(12):e11860. doi: 10.7759/cureus.11860.

62. Amiri M, Tehrani FR, Bidhendi-Yarandi R, Behboudi-Gandevani S, Azizi F, Carmina E. Relationships Between Biochemical Markers of Hyperandrogenism and Metabolic Parameters in Women with Polycystic Ovary Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis. Horm Metab Res. 2019;51(1):22-34. doi: 10.1055/a-0806-8281.

63. Cooney LG, Dokras A. Beyond fertility: polycystic ovary syndrome and long-term health. Fertil Steril. 2018;110(5):794-809. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.08.021.

64. Palomba S, Colombo C, Busnelli A, Caserta D, Vitale G. Polycystic ovary syndrome and thyroid disorder: a comprehensive narrative review of the literature. Front Endocrinol (Lausanne). 2023;14:1251866. doi: 10.3389/fendo.2023.1251866.

65. van der Ham K, Stekelenburg KJ, Louwers YV, van Dorp W, Schreurs MWJ, van der Wal R, Steegers-Theunissen RPM, Laven JSE. The prevalence of thyroid dysfunction and hyperprolactinemia in women with PCOS. Front Endocrinol (Lausanne). 2023;14:1245106. doi: 10.3389/fendo.2023.1245106.

66. Mukherjee P, Sanyal S, Chadha S, Mukherjee S. The Impact of Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) on the Risk of Developing Ovarian Cancer and Thyroid Disorders: A Comprehensive Review. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. 2024;24(5):562-572. doi: 10.2174/0118715303266512231103075551.

67. Sanchez-Garrido MA, Tena-Sempere M. Metabolic dysfunction in polycystic ovary syndrome: Pathogenic role of androgen excess and potential therapeutic strategies. Mol Metab. 2020;35:100937. doi: 10.1016/j.molmet.2020.01.001.

68. Moghetti P. Insulin Resistance and Polycystic Ovary Syndrome. Curr Pharm Des. 2016;22(36):5526-5534. doi: 10.2174/1381612822666160720155855.

69. Long C, Feng H, Duan W, Chen X, Zhao Y, Lan Y, Yue R. Prevalence of polycystic ovary syndrome in patients with type 2 diabetes: A systematic review and

meta-analysis. Front Endocrinol (Lausanne). 2022;13:980405. doi: 10.3389/fendo.2022.980405.

70. Amiri M, Hatoum S, Hopkins D, Buyalos RP, Ezeh U, Pace LA, Bril F, Sheidaei A, Azziz R. The Association Between Obesity and Polycystic Ovary Syndrome: An Epidemiologic Study of Observational Data. J Clin Endocrinol Metab. 2024;109(10):2640-2657. doi: 10.1210/clinem/dgae488.

71. Barber TM. Why are women with polycystic ovary syndrome obese? Br Med Bull. 2022;143(1):4-15. doi: 10.1093/bmb/ldac007.

72. Frias-Toral E, Garcia-Velasquez E, de Los Angeles Carignano M, Rodriguez-Veintimilla D, Alvarado-Aguilera I, Bautista-Litardo N. Polycystic ovary syndrome and obesity: clinical aspects and nutritional management. Minerva Endocrinol (Torino). 2022;47(2):215-241. doi: 10.23736/S2724-6507.21.03349-6.

73. Calcaterra V, Rossi V, Massini G, Casini F, Zuccotti G, Fabiano V. Probiotics and Polycystic Ovary Syndrome: A Perspective for Management in Adolescents with Obesity. Nutrients. 2023;15(14):3144. doi: 10.3390/nu15143144.

74. van Baal L, Tan S. Das polyzystische Ovarsyndrom als genderspezifischer kardiometabolischer Risikofaktor [Polycystic ovary syndrome as a gender-specific cardiometabolic risk factor]. Inn Med (Heidelb). 2023;64(7):642-648. German. doi: 10.1007/s00108-023-01529-7.

75. Pandurevic S, Macut D, Fanelli F, Pagotto U, Gambineri A. Biomediators in Polycystic Ovary Syndrome and Cardiovascular Risk. Biomolecules. 2021;11(9):1350. doi: 10.3390/biom11091350.

76. Papadakis G, Kandaraki E, Papalou O, Vryonidou A, Diamanti-Kandarakis E. Is cardiovascular risk in women with PCOS a real risk? Current insights. Minerva Endocrinol. 2017;42(4):340-355. doi: 10.23736/S0391-1977.17.02609-8.

77. Ollila MM, Arffman RK, Korhonen E, Morin-Papunen L, Franks S, Junttila J, Piltonen TT. Women with PCOS have an increased risk for cardiovascular disease regardless of diagnostic criteria-a prospective population-based cohort study. Eur J Endocrinol. 2023;189(1):96-105. doi: 10.1093/ejendo/lvad077.

78. Guan C, Zahid S, Minhas AS, Ouyang P, Vaught A, Baker VL, Michos ED. Polycystic ovary syndrome: a "risk-enhancing" factor for cardiovascular disease. Fertil Steril. 2022;117(5):924-935. doi: 10.1016/j.fertnstert.2022.03.009.

79. van der Ham K, Louwers YV, Laven JSE. Cardiometabolic biomarkers in women with polycystic ovary syndrome. Fertil Steril. 2022;117(5):887-896. doi: 10.1016/j.fertnstert.2022.03.008.

80. Damone AL, Joham AE, Loxton D, Earnest A, Teede HJ, Moran LJ. Depression, anxiety and perceived stress in women with and without PCOS: a community-based study. Psychol Med. 2019;49(9):1510-1520. doi: 10.1017/S0033291718002076.

81. Kolhe JV, Chhipa AS, Butani S, Chavda V, Patel SS. PCOS and Depression: Common Links and Potential Targets. Reprod Sci. 2022 Nov;29(11):3106-3123. doi: 10.1007/s43032-021-00765-2.

82. Douglas KM, Fenton AJ, Eggleston K, Porter RJ. Rate of polycystic ovary syndrome in mental health disorders: a systematic review. Arch Womens Ment Health. 2022;25(1):9-19. doi: 10.1007/s00737-021-01179-4.

83. Jafar NKA, Bennett CJ, Moran LJ, Mansfield DR. Beyond Counting Sheep: Exploring the Link between Polycystic Ovary Syndrome and Sleep Health. Semin Reprod Med. 2023;41(1-02):45-58. doi: 10.1055/s-0043-1777724.

84. Alur-Gupta S, Dokras A, Cooney LG. Management of polycystic ovary syndrome must include assessment and treatment of mental health symptoms. Fertil Steril. 2024;121(3):384-399. doi: 10.1016/j.fertnstert.2024.01.018.

85. Zierau L, Gade EJ, Lindenberg S, Backer V, Thomsen SF. Coexistence of asthma and polycystic ovary syndrome: A concise review. Respir Med. 2016;119:155-159. doi: 10.1016/j.rmed.2016.08.025.

86. Mirabolghasemi G, Kamyab Z. Changes of The Uterine Tissue in Rats with Polycystic Ovary Syndrome Induced by Estradiol Valerate. Int J Fertil Steril. 2017;11(1):47-55. doi: 10.22074/ijfs.2016.4794.

87. Asghari R, Shokri-Asl V, Rezaei H, Tavallaie M, Khafaei M, Abdolmaleki A, Majdi Seghinsara A. Alteration of TGFB1, GDF9, and BMPR2 gene expression in

preantral follicles of an estradiol valerate-induced polycystic ovary mouse model can lead to anovulation, polycystic morphology, obesity, and absence of hyperandrogenism. Clin Exp Reprod Med. 2021;48(3):245-254. doi: 10.5653/cerm.2020.04112.

88. Barath B, Varga A, Matrai AA, Deak-Pocsai K, Nemeth N, Deak A. Estradiol Valerate Affects Hematological and Hemorheological Parameters in Rats. Metabolites. 2022;12(7):602. doi: 10.3390/metabo12070602.

89. Espinoza JA, Alvarado W, Venegas B, Domínguez R, Morales-Ledesma L. Pharmacological sympathetic denervation prevents the development of polycystic ovarian syndrome in rats injected with estradiol valerate. Reprod Biol Endocrinol. 2018;16(1):86. doi: 10.1186/s12958-018-0400-8.

90. Kelley ST, Skarra DV, Rivera AJ, Thackray VG. The Gut Microbiome Is Altered in a Letrozole-Induced Mouse Model of Polycystic Ovary Syndrome. PLoS One. 2016;11(1):e0146509. doi: 10.1371/journal.pone.0146509.

91. Xu J, Dun J, Yang J, Zhang J, Lin Q, Huang M, Ji F, Huang L, You X, Lin Y. Letrozole Rat Model Mimics Human Polycystic Ovarian Syndrome and Changes in Insulin Signal Pathways. Med Sci Monit. 2020;26:e923073. doi: 10.12659/MSM.923073.

92. Gao Z, Ma X, Liu J, Ge Y, Wang L, Fu P, Liu Z, Yao R, Yan X. Troxerutin protects against DHT-induced polycystic ovary syndrome in rats. J Ovarian Res. 2020;13(1):106. doi: 10.1186/s13048-020-00701-z. Erratum in: J Ovarian Res. 2020;13(1):133. doi: 10.1186/s13048-020-00733-5.

93. Benjamin JJ, K M, Koshy T, K N M, R P. DHEA and polycystic ovarian syndrome: Meta-analysis of case-control studies. PLoS One. 2021;16(12):e0261552. doi: 10.1371/journal.pone.0261552.

94. Li D, Bai P, Wu JY, Xie M, Zhao RZ, Wang ZP, Qi XH. Effect of Acupuncture on Ovary Morphology and Function in DHEA-Induced Polycystic Ovary Syndrome Model Rats. Chin J Integr Med. 2021;27(3):220-224. doi: 10.1007/s11655-021-3290-0.

95. Patel R, Shah G. High-fat diet exposure from pre-pubertal age induces polycystic ovary syndrome (PCOS) in rats. Reproduction. 2018;155(2):141-151. doi: 10.1530/REP-17-0584.

96. Rakic D, Joksimovic Jovic J, Jakovljevic V, Zivkovic V, Nikolic M, Sretenovic J, Nikolic M, Jovic N, Bicanin Ilic M, Arsenijevic P, Dimitrijevic A, Vulovic T, Ristic N, Bulatovic K, Bolevich S, Stijak L, Pantovic S. High Fat Diet Exaggerate Metabolic and Reproductive PCOS Features by Promoting Oxidative Stress: An Improved EV Model in Rats. Medicina (Kaunas). 2023;59(6):1104. doi: 10.3390/medicina59061104.

97. Wang MX, Yin Q, Xu X. A Rat Model of Polycystic Ovary Syndrome with Insulin Resistance Induced by Letrozole Combined with High Fat Diet. Med Sci Monit. 2020;26:e922136. doi: 10.12659/MSM.922136.

98. Wu H, Zhao B, Yao Q, Kang J. Dehydroepiandrosterone-induced polycystic ovary syndrome mouse model requires continous treatments to maintain reproductive phenotypes. J Ovarian Res. 2023;16(1):207. doi: 10.1186/s13048-023-01299-8.

99. Connolly F, Rae MT, Späth K, Boswell L, McNeilly AS, Duncan WC. In an Ovine Model of Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) Prenatal Androgens Suppress Female Fetal Renal Gluconeogenesis. PLoS One. 2015;10(7):e0132113. doi: 10.1371/journal.pone.0132113.

100. Chu W, Zhai J, Xu J, Li S, Li W, Chen ZJ, Du Y. Continuous Light-Induced PCOS-Like Changes in Reproduction, Metabolism, and Gut Microbiota in Sprague-Dawley Rats. Front Microbiol. 2020;10:3145. doi: 10.3389/fmicb.2019.03145.

101. Zhong Y, Ding J, Xia F. DNA methylation and its impact on ovarian steroidogenesis in women with polycystic ovary syndrome: insights from human and animal models. Arch Gynecol Obstet. 2025;312(2):363-374. doi: 10.1007/s00404-025-08048-w.

102. Ramezani Tehrani F, Noroozzadeh M, Zahediasl S, Piryaei A, Hashemi S, Azizi F. The time of prenatal androgen exposure affects development of polycystic ovary syndrome-like phenotype in adulthood in female rats. Int J Endocrinol Metab. 2014;12(2):e16502. doi: 10.5812/ijem.16502.

103. Farhadi-Azar M, Noroozzadeh M, Mousavi M, Saei Ghare Naz M, Ramezani Tehrani F. Impaired glucose tolerance and insulin resistance in a prenatally-androgenized rat model of polycystic ovary syndrome in later life. Exp Physiol. 2025;110(3):410-423. doi: 10.1113/EP091912.

104. Matsuda M, Hirata M. Phospholipase C-related but catalytically inactive proteins regulate ovarian follicle development. J Biol Chem. 2017;292(20):8369-8380. doi: 10.1074/jbc.M116.759928.

105. Osuka S, Nakanishi N, Murase T, Nakamura T, Goto M, Iwase A, Kikkawa F. Animal models of polycystic ovary syndrome: A review of hormone-induced rodent models focused on hypothalamus-pituitary-ovary axis and neuropeptides. Reprod Med Biol. 2018;18(2):151-160. doi: 10.1002/rmb2.12262.

106. Kania B, Goldberg DJ. Cryolipolysis: A promising nonsurgical technique for localized fat reduction. J Cosmet Dermatol. 2023;22 Suppl 3:1-7. doi: 10.1111/jocd.16039.

107. Resende L, Noites A, Amorim M. Application of cryolipolysis in adipose tissue: A systematic review. J Cosmet Dermatol. 2022;21(10):4122-4132. doi: 10.1111/jocd.15265.

108. Garcia C, Karri J, Zacharias NA, Abd-Elsayed A. Use of Cryotherapy for Managing Chronic Pain: An Evidence-Based Narrative. Pain Ther. 2021;10(1):81-100. doi: 10.1007/s40122-020-00225-w.

109. Kline KE, Russell AL, Stezoski JP, Gober IG, Dimeo EG, Janesko-Feldman K, Drabek T, Kochanek PM, Wagner AK. Differential Effects of Targeted Temperature Management on Sex-Dependent Outcomes After Experimental Asphyxial Cardiac Arrest. Ther Hypothermia Temp Manag. 2024;14(4):299-309. doi: 10.1089/ther.2023.0061.

110. Paal P, Pasquier M, Darocha T, Lechner R, Kosinski S, Wallner B, Zafren K, Brugger H. Accidental Hypothermia: 2021 Update. Int J Environ Res Public Health. 2022;19(1):501. doi: 10.3390/ijerph19010501.

111. Demoulin C, Brouwers M, Darot S, Gillet P, Crielaard JM, Vanderthommen M. Comparison of gaseous cryotherapy with more traditional forms of cryotherapy

following total knee arthroplasty. Ann Phys Rehabil Med. 2012;55(4):229-40. English, French. doi: 10.1016/j.rehab.2012.03.004.

112. Vidal VAS, Jensen IJ, Sandbakk Ø, Haugnes P, Austeen MW, Gjeldnes R, Svihus B, Lerfall J. Military rations: Nutritional, sensorial and technological quality and their effects on military physical exercise in extreme environments. Nutr Res Rev. 2025;38(1):324-337. doi: 10.1017/S0954422424000246.

113. Sharaf RMA, Abdelrahman TY, Obeid MF. The impact of using cold irrigation on postoperative endodontic pain and substance P level: a randomized clinical trial. Odontology. 2025. doi: 10.1007/s10266-025-01131-3.

114. Tam AA, Fakı S, Demir P, Ozdemir D, Topaloglu O, Ersoy R, Cakir B. Coldness or Darkness? Which Places Greater Stress on the Thyroid? Seasonal Changes in Thyroid-Stimulating Hormone and Thyroid Hormones. J Clin Med. 2024;13(23):7293. doi: 10.3390/jcm13237293.

115. Yoneshiro T, Matsushita M, Sakai J, Saito M. Brown fat thermogenesis and cold adaptation in humans. J Physiol Anthropol. 2025;44(1):11. doi: 10.1186/s40101-025-00391-w.

116. Bouzigon R, Dupuy O, Tiemessen I, De Nardi M, Bernard JP, Mihailovic T, Theurot D, Miller ED, Lombardi G, Dugué BM. Cryostimulation for Post-exercise Recovery in Athletes: A Consensus and Position Paper. Front Sports Act Living. 2021;3:688828. doi: 10.3389/fspor.2021.688828.

117. Wu L, Liang Y, Song N, Wang X, Jiang C, Chen X, Qin B, Sun X, Liu G, Zhao C. Differential expression and alternative splicing of transcripts in orbital adipose/connective tissue of thyroid-associated ophthalmopathy. Exp Biol Med (Maywood). 2021;246(18):1990-2006. doi: 10.1177/15353702211017292.

118. Gaspar RC, Pauli JR, Shulman GI, Muñoz VR. An update on brown adipose tissue biology: a discussion of recent findings. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2021;320(3):E488-E495. doi: 10.1152/ajpendo.00310.2020.

119. Kim J, Moon J, Park CH, Lee J, Cheng H, Floyd ZE, Chang JS. NT-PGC-1α deficiency attenuates high-fat diet-induced obesity by modulating food intake, fecal fat

excretion and intestinal fat absorption. Sci Rep. 2021;11(1):1323. doi: 10.1038/s41598-020-79823-9.

120. Cannavino J, Shao M, An YA, Bezprozvannaya S, Chen S, Kim J, Xu L, McAnally JR, Scherer PE, Liu N, Gupta RK, Bassel-Duby R, Olson EN. Regulation of cold-induced thermogenesis by the RNA binding protein FAM195A. Proc Natl Acad Sci U S A. 2021;118(23):e2104650118. doi: 10.1073/pnas.2104650118.

121. Machado SA, Pasquarelli-do-Nascimento G, da Silva DS, Farias GR, de Oliveira Santos I, Baptista LB, Magalhães KG. Browning of the white adipose tissue regulation: new insights into nutritional and metabolic relevance in health and diseases. Nutr Metab (Lond). 2022;19(1):61. doi: 10.1186/s12986-022-00694-0.

122. Deligonul FZ, Yousefian F, Gold MH. Literature review of adverse events associated with cryolipolysis. J Cosmet Dermatol. 2023;22 Suppl 3:31-36. doi: 10.1111/jocd.16000.

123. Zhang Q, Ye R, Zhang YY, Fan CC, Wang J, Wang S, Chen S, Liu X. Brown Adipose Tissue and Novel Management Strategies for Polycystic Ovary Syndrome Therapy. Front Endocrinol (Lausanne). 2022;13:847249. doi: 10.3389/fendo.2022.847249. PMID: 35663310; PMCID: PMC9160465.

124. Панченко ЮМ, Дроздовська СБ. Участь іризину у механізмах зниження маси тіла при ожирінні. Вісник проблем біології і медицини. 2023;(3/170):75-80.

125. Vaishnavi Nalla S, Jayapradha P, Lalruatmawii, Nandheeswari K, Naxine P, Vigneshwaran G, Rohilla G, Dubey I, Kushwaha S. Irisin as an emerging target in the regulation of reproductive functions in health and disease. Gen Comp Endocrinol. 2024;353:114529. doi: 10.1016/j.ygcen.2024.114529.

126. Weng Y, Zhang Y, Wang D, Wang R, Xiang Z, Shen S, Wang H, Wu X, Wen Y, Wang Y. Exercise-induced irisin improves follicular dysfunction by inhibiting IRE1α-TXNIP/ROS-NLRP3 pathway in PCOS. J Ovarian Res. 2023;16(1):151. doi: 10.1186/s13048-023-01242-x.

127. Патент України на корисну модель No 119800, UA, МПК G09B 23/28 (2006.01) Харківський національний медичний університет, Кузьміна І.Ю.,

Ніколаєва О.В., Жулікова М.В. - З. No u 201703527; Заявл. 11.04.2017; Опубл. 10.10.2017. Бюл. No 19. Спосіб моделювання синдрому полікістозних яєчників.

128. Babenko O, Vasylyeva I, Nakonechna O, Popova L, Voitenko S, Pustova N. The viability of leukocytes and reactive oxygen species generation by them in rats with chronic colitis. Wiad Lek. 2022;75 (9pt2):2270-2274. doi: 10.36740/WLek202209216.

129. Li M, Lin C, Ge P, Li L, Song S, Zhang H, Lu L, Liu X, Zheng F, Zhang S, Sun X. A deep learning model for detection of leukocytes under various interference factors. Sci Rep. 2023;13(1):2160. doi: 10.1038/s41598-023-29331-3.

130. Nguyen GT, Green ER, Mecsas J. Neutrophils to the ROScue: Mechanisms of NADPH Oxidase Activation and Bacterial Resistance. Front Cell Infect Microbiol. 2017;7:373. doi: 10.3389/fcimb.2017.00373.

131. Liang J, Gao Y, Feng Z, Zhang B, Na Z, Li D. Reactive oxygen species and ovarian diseases: Antioxidant strategies. Redox Biol. 2023;62:102659. doi: 10.1016/j.redox.2023.102659.

132. Mohammadi M. Oxidative stress and polycystic ovary syndrome: A brief review.Int J Prev Med.2019;10:86. doi:10.4103/ijpvm.IJPVM_576_17.

133. Murri M, Luque-Ramírez M, Insenser M, Ojeda-Ojeda M, Escobar-Morreale HF. Circulating markers of oxidative stress and polycystic ovary syndrome (PCOS): A systematic review and meta-analysis. Human Reprod Update. 2013;19:268-88.

134. Zhai Y, Pang Y. Systemic and ovarian inflammation in women with polycystic ovary syndrome. J Reprod Immunol. 2022;151:103628. doi: 10.1016/j.jri.2022.103628.

135. Палиця ЛМ, Корда ММ, Мудра АЄ, Федонюк ЛЯ. Фулерени С60 посилюють токсичний ефект толуолу на стан ферментативної системи біотрансформації ксенобіотиків. Світ медицини та біології. 2019;1(67):178-181.

136. Brauer VS, Zambuzi FA, Espindola MS, Neto MPC, Prado MKB, Silva PMC, Soares LS, Lima LJG, Cardoso CRB, Leopoldino AM, Frantz FG. The influence of dehydroepiandrosterone on effector functions of neutrophils. Braz. J. Pharm. Sci. 2022;57. e19139. https://www.revistas.usp.br/bjps/article/view/204127

137. Cao J, Yu L, Zhao J, Ma H. Effect of dehydroepiandrosterone on the immune function of mice in vivo and in vitro. Mol Immunol. 2019;112:283-290. doi: 10.1016/j.molimm.2019.06.004.

138. Pérez-Figueroa E, Álvarez-Carrasco P, Ortega E, Maldonado-Bernal C. Neutrophils: many ways to die. Front Immunol. 2021;12:631821. doi: 10.3389/fimmu.2021.631821.

139. Dyugovskaya L, Polyakov A. Neutrophil apoptosis and hypoxia. Fiziol Zh. 2010;56(5):115-124.

140. Azhar A, Naseem Z, Haider G, Farooqui N, Farhat S, Rehman R. PCOS model: apoptotic changes and role of vitamin D. Electron J Gen Med. 2022;19(5):em398. https://doi.org/10.29333/ejgm/12275

141. Марущак МІ. Мітохондріальні механізми апоптозу при гострому ушкодженні легень в експерименті. Вісник наукових досліджень. 2017;1:121-124.

142. Sayed GA, Radwan AF, Reda AM, Salman AT, Youssef AA, Abd-Allah GM. Dysregulation of apoptotic genes in polycystic ovarian syndrome patients undergoing in-vitro fertilization. ERURJ. 2023;2(2):320-330.

143. Гавриленко ТІ, Рижкова НО, Пархоменко ОМ, Довгань ОВ, Довгань НВ, Пасічніченко ОМ, Бабій СМ. Сучасні погляди на роль нейтрофілів в імунній відповіді. Фізіологічний журнал. 2021;67(3):75-86.

144. Xue G, Yin J, Zhao N, Liu Y, Fu Y, Zhang R, Bao J, Li J. Intermittent mild cold stimulation improves the immunity and cold resistance of spleens in broilers. Poult Sci. 2021 Dec;100(12):101492. doi: 10.1016/j.psj.2021.101492.

145. Wang X, Che H, Zhang W, Wang J, Ke T, Cao R, Meng S, Li D, Weiming O, Chen J, Luo W. Effects of Mild Chronic Intermittent Cold Exposure on Rat Organs. Int J Biol Sci. 2015;11(10):1171-80. doi: 10.7150/ijbs.12161.

146. Teleglów A, Romanovski V, Skowron B, Mucha D, Tota Ł, Rosińczuk J, Mucha D. The effect of extreme cold on complete blood count and biochemical indicators: a case study. Int J Environ Res Public Health. 2021;19(1):424. doi: 10.3390/ijerph19010424.

147. Gulevsky AK, Akhatova YuS, Shchenyavsky II. Features of apoptosis, induced by temperature reduction. Probl Cryobiol Cryomed. 2017; 27(2): 97-109.

148. Ghashghaeinia M, Giustarini D, Koralkova P, Köberle M, Alzoubi K, Bissinger R, Hosseinzadeh Z, Dreischer P, Bernhardt I, Lang F, Toulany M, Wieder T, Mojzikova R, Rossi R, Mrowietz U. Pharmacological targeting of glucose-6-phosphate dehydrogenase in human erythrocytes by Bay 11-7082, parthenolide and dimethyl fumarate. Sci Rep. 2016;6:28754. doi: 10.1038/srep28754.

149. Johansson E, B. Falk A. Erythrocytes as Messengers for Information and Energy Exchange between Cells [Internet]. The Erythrocyte - A Unique Cell. IntechOpen; 2023. Available from: http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.108321

150. Franco R, Navarro G, Martínez-Pinilla E. Antioxidant Defense Mechanisms in Erythrocytes and in the Central Nervous System. Antioxidants (Basel). 2019 Feb 18;8(2):46. doi: 10.3390/antiox8020046.

151. Welbourn EM, Wilson MT, Yusof A, Metodiev MV, Cooper CE. The mechanism of formation, structure and physiological relevance of covalent hemoglobin attachment to the erythrocyte membrane. Free Radic Biol Med. 2017;103:95-106. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.12.024.

152. Gwozdzinski K, Pieniazek A, Gwozdzinski L. Reactive Oxygen Species and Their Involvement in Red Blood Cell Damage in Chronic Kidney Disease. Oxid Med Cell Longev. 2021;2021:6639199. doi: 10.1155/2021/6639199.

153. Hoehn RS, Jernigan PL, Chang AL, Edwards MJ, Pritts TA. Molecular mechanisms of erythrocyte aging. Biol Chem. 2015;396:621-31.

154. Alghareeb SA, Alfhili MA, Fatima S. Molecular Mechanisms and Pathophysiological Significance of Eryptosis. Int J Mol Sci. 2023;24(6):5079. doi: 10.3390/ijms24065079.

155. Tkachenko A, Onishchenko A. Casein kinase 1α mediates eryptosis: a review. Apoptosis. 2023;28(1-2):1-19. doi:10.1007/s10495-022-01776-3

156. Tkachenko A, Alfhili MA, Alsughayyir J, Attanzio A, Al Mamun Bhuyan A, Bukowska B, Cilla A, Quintanar-Escorza MA, Föller M, Havranek O, Jilani K, Onishchenko A, Pretorius E, Prokopiuk V, Restivo I, Tesoriere L, Virzì GM, Wieder T.

Current understanding of eryptosis: mechanisms, physiological functions, role in disease, pharmacological applications, and nomenclature recommendations. Cell Death Dis. 2025;16(1):467. doi: 10.1038/s41419-025-07784-w.

157. Szymanska M, Shrestha K, Girsh E, Harlev A, Eisenberg I, Imbar T, Meidan R. Reduced Endothelin-2 and Hypoxic Signaling Pathways in Granulosa-Lutein Cells of PCOS Women. Int J Mol Sci. 2021;22(15):8216. doi: 10.3390/ijms22158216.

158. Mancini A, Bruno C, Vergani E, d'Abate C, Giacchi E, Silvestrini A. Oxidative Stress and Low-Grade Inflammation in Polycystic Ovary Syndrome: Controversies and New Insights. International Journal of Molecular Sciences. 2021; 22(4):1667. https://doi.org/10.3390/ijms22041667

159. Siqueira AF, Vieira A, Ramos GV, Marqueti RC, Salvini TF, Puntel GO, Durigan JLQ. Multiple cryotherapy applications attenuate oxidative stress following skeletal muscle injury. Redox Rep. 2017; 22 (6):323-329. doi: 10.1080/13510002.2016.1239880.

160. Skrzep-Poloczek B, Romuk E, Wiśnowiska B, Owczarek AJ, Choręza P, Sieroń A, Birkner E, Stygar D. Effect of Whole-Body Cryotherapy on Antioxidant Systems in Experimental Rat Model. Oxid Med Cell Longev. 2017;2017:8158702. doi: 10.1155/2017/8158702.

161. Жулікова МВ, Мирошниченко МС, Наконечна ОА, Жуліков ОО, Бібіченко ВО, Мирошниченко СО, Зайцева ОВ, Ковальцова МВ. Життєздатність та види загибелі лейкоцитів крові щурів з синдромом полікістозних яєчників за умов переривчастого холодового впливу. Фізіологічний журнал. 2023; 69(5):33-42.

162. Zhulikova MV, Myroshnychenko MS, Nakonechna OA, Zhulikov OO, Pustova NO, Bibichenko VO, Lytvynenko OY, Kucheriavchenko MO. Reactive oxygen species generation by blood leucocytes of rats with polycystic ovary syndrome under the conditions of intermittent cold exposure. Wiad Lek. 2023;76(7):1670-1676.

163. Zhulikova M, Zhulikov O, Myroshnychenko M, Nakonechna O, Kapustnyk N. Eryptosis in rats with polycystic ovary syndrome under intermittent cold exposure conditions. In: Materials of the 61st annual meeting of the Society for Cryobiology

«CRYO2024»; 2024 July 23-25; Washington. Cryobiology. 2024;117:105151. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2024.105151.

164. Мирошниченко МС, Жулікова МВ, Наконечна ОА, Капустник НВ, Пасієшвілі НМ, Бібіченко ВО. Особливості генерації активних форм кисню в еритроцитах щурів з синдромом полікістозних яєчників за умов переривчастого холодового впливу. Матеріали доповідей IX Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю «Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України» (19-21 вересня 2024 р, м. Івано-Франківськ). Івано-Франківськ: Івано-Франківський національний медичний університет, 2024. С. 152-153.

165. Hromko YeA, Zhulikova MV, Myroshnychenko MS, Nakonechna OA. The effect of intermittent cold exposure on the level of reactive oxygen species production in erythrocytes of rats with induced polycystic ovary syndrome. Abstract book of 49th Annual Conference of Young Scientists Cold in Biology and Medicine. (May 14-15, 2025, Kharkiv). 2025. P 30.

166. Атаман ОВ. Патофізіологія: в 2 т. Т. 1. Загальна патологія: підручник для студ. вищ. мед. навч. заклад. – Вид. 3. – Вінниця: Нова книга, 2018. – 584 с.

167. Talat A, Satyanarayana P, Anand P. Association of Superoxide Dismutase Level in Women with Polycystic Ovary Syndrome. J Obstet Gynaecol India. 2022;72(1):6-12. doi: 10.1007/s13224-021-01430-z.

168. Arenas de Larriva AP, Limia-Pérez L, Alcalá-Díaz JF, Alonso A, López-Miranda J, Delgado-Lista J. Ceruloplasmin and Coronary Heart Disease-A Systematic Review. Nutrients. 2020;12(10):3219. doi: 10.3390/nu12103219.

169. Lopez MJ, Royer A, Shah NJ. Biochemistry, Ceruloplasmin. 2023 Feb 24. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025.

170. Ketsa OV, Zelinska MO, Marchenko MM. Proteins oxidative modification and antioxidant enzymes activity in the liver mitochondria of rats under laser irradiation and administration of ω-3 polyunsaturated fatty acids. Ukr. Biochem. J., 2022; 94(1):44-52. doi: https://doi.org/10.15407/ubj94.01.044

171. Anwar S, Sarwar T, Khan AA, Rahmani AH. Therapeutic Applications and Mechanisms of Superoxide Dismutase (SOD) in Different Pathogenesis. Biomolecules. 2025;15(8):1130. doi: 10.3390/biom15081130.

172. Aboeldalyl S, James C, Seyam E, Ibrahim EM, Shawki HE, Amer S. The Role of Chronic Inflammation in Polycystic Ovarian Syndrome-A Systematic Review and Meta-Analysis. Int J Mol Sci. 2021;22(5):2734. doi: 10.3390/ijms22052734.

173. Parker J, Briden L, Gersh FL. Recognizing the Role of Insulin Resistance in Polycystic Ovary Syndrome: A Paradigm Shift from a Glucose-Centric Approach to an Insulin-Centric Model. Journal of Clinical Medicine. 2025; 14(12):4021. https://doi.org/10.3390/jcm14124021

174. Tosi F, Dal Molin F, Zamboni F, Saggiorato E, Salvagno GL, Fiers T, Kaufman JM, Bonora E, Moghetti P. Serum Androgens Are Independent Predictors of Insulin Clearance but Not of Insulin Secretion in Women With PCOS. J Clin Endocrinol Metab. 2020;105(5):dgaa095. doi: 10.1210/clinem/dgaa095.

175. Скибчик ВА, Маршалків ДМ, Войтович МО. Інсулінорезистентність як незалежний фактор ризику виникнення серцево-судинних захворювань. Український медичний часопис. 2025;4(170)-IV/V;1-5.

176. Zhang X, Zhu X, Bi X, Huang J, Zhou L. The Insulin Receptor: An Important Target for the Development of Novel Medicines and Pesticides. Int J Mol Sci. 2022 Jul 14;23(14):7793. doi: 10.3390/ijms23147793.

177. Hu L, Zhang Y, Chen L, Zhou W, Wang Y, Wen J. *MAPK* and *ERK* polymorphisms are associated with PCOS risk in Chinese women. Oncotarget. 2017;8(59):100261-100268. doi: 10.18632/oncotarget.22153.

178. Agrawal A 4th, Dave A, Jaiswal A. Type 2 Diabetes Mellitus in Patients With Polycystic Ovary Syndrome. Cureus. 2023;15(10):e46859. doi: 10.7759/cureus.46859.

179. Malini NA, Roy GK. Influence of Insulin on LH, Testosterone and SHBG in various PCOS Categories based on the Mode of Secretion of LH in relation to FSH Levels. Acta Endocrinol (Buchar). 2021;17(3):313-318. doi: 10.4183/aeb.2021.313.

180. Unluhizarci K, Karaca Z, Kelestimur F. Role of insulin and insulin resistance in androgen excess disorders. World J Diabetes. 2021;12(5):616-629. doi: 10.4239/wjd.v12.i5.616.

181. Xu Y, Qiao J. Association of Insulin Resistance and Elevated Androgen Levels with Polycystic Ovarian Syndrome (PCOS): A Review of Literature. J Healthc Eng. 2022;2022:9240569. doi: 10.1155/2022/9240569.

182. Unluhizarci K, Karaca Z, Kelestimur F. Role of insulin and insulin resistance in androgen excess disorders. World J Diabetes. 2021;12(5):616-629. doi: 10.4239/wjd.v12.i5.616.

183. Сюсюка ВГ, Сергієнко МЮ, Макуріна ГІ, Єршова ОА, Чорненька А.С. Синдром полікістозних яєчників: клініко-патогенетичні аспекти мультидисциплінарної проблеми. Репродуктивне здоров'я жінки. 2021; 2(47):7-14.

184. Самохіна ЛМ, Ломако ВВ Ефективність ритмічних холодових впливів на активність протеїназ та їх інгібіторів у щурів з алкогользалежною гіпертензією. Фізіологічний журнал. 2022;68(1):34-44.

185. Луценко ДГ. Стан мікрогемоциркуляторної системи та вегетативної регуляції серцевого ритму щурів в умовах різних режимів холодової акламації. Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук. – Харків – 2019.-26 с.

186. Tian Y, Zhang J, Li M, Shang J, Bai X, Zhang H, Wang Y, Chen H, Song X. Serum fatty acid profiles associated with metabolic risk in women with polycystic ovary syndrome. Front Endocrinol (Lausanne). 2023;14:1077590. doi: 10.3389/fendo.2023.1077590.

187. Weng X, Wang C, Yuan YU, Wang Z, Kuang J, Yan XU, Chen H. Effect of Cold Exposure and Exercise on Insulin Sensitivity and Serum Free Fatty Acids in Obese Rats. Med Sci Sports Exerc. 2023 Aug 1;55(8):1409-1415. doi: 10.1249/MSS.0000000000003173.

188. Guo F, Gong Z, Fernando T, Zhang L, Zhu X, Shi Y. The Lipid Profiles in Different Characteristics of Women with PCOS and the Interaction Between Dyslipidemia and Metabolic Disorder States: A Retrospective Study in Chinese

Population. Front Endocrinol (Lausanne). 2022;13:892125. doi: 10.3389/fendo.2022.892125

189. Біохімічні показники в нормі і при патології: навч. посіб. / Т.І. Бондарчук, ЛІ Кобилінська, ХМ Насадюк та ін. ; за ред. Л.І. Кобилінської. – 2-е вид., переробл. і доповн. – К. : ВСВ «Медицина», 2025. – 415 с.

190. Клінічна біохімія. Текст і кольорові ілюстрації: пер. 7 видання / Майкл Мерфі, Раджив Шрівастава, Кевін Дінс; наук. ред. укр. вид. Любов Лаповець. – К. :ВСВ «Медицина», 2024. – VIII, 183 с.

191. Літовченко ОЛ. Ліпідний склад сироватки крові в умовах сполученого впливу екологічних факторів (експериментальне дослідження). Актуальні проблеми профілактичної медицини: збірник наукових праць. 2020; 20: 143-150.

192. Nie Y, Yan Z, Yan W, Xia Q, Zhang Y. Cold exposure stimulates lipid metabolism, induces inflammatory response in the adipose tissue of mice and promotes the osteogenic differentiation of BMMSCs via the p38 MAPK pathway in vitro. Int J Clin Exp Pathol. 2015;8(9):10875-86.

193. Tabei S, Chamorro R, Meyhöfer SM, Wilms B. Metabolic Effects of Brown Adipose Tissue Activity Due to Cold Exposure in Humans: A Systematic Review and Meta-Analysis of RCTs and Non-RCTs. Biomedicines. 2024;12(3):537. doi: 10.3390/biomedicines12030537.

194. Straat ME, Martinez-Tellez B, Sardjoe Mishre A, Verkleij MMA, Kemmeren M, Pelsma ICM, Alcantara JMA, Mendez-Gutierrez A, Kooijman S, Boon MR, Rensen PCN. Cold-Induced Thermogenesis Shows a Diurnal Variation That Unfolds Differently in Males and Females. J Clin Endocrinol Metab. 2022;107(6):1626-1635. doi: 10.1210/clinem/dgac094.

195. Xu Z, Chen W, Wang L, Zhou Y, Nong Q, Valencak TG, Wang Y, Xie J, Shan T. Cold Exposure Affects Lipid Metabolism, Fatty Acids Composition and Transcription in Pig Skeletal Muscle. Front Physiol. 2021;12:748801. doi: 10.3389/fphys.2021.748801.

196. Straat ME, Jurado-Fasoli L, Ying Z, Nahon KJ, Janssen LGM, Boon MR, Grabner GF, Kooijman S, Zimmermann R, Giera M, Rensen PCN, Martinez-Tellez B.

Cold exposure induces dynamic changes in circulating triacylglycerol species, which is dependent on intracellular lipolysis: A randomized cross-over trial. EBioMedicine. 2022;86:104349. doi: 10.1016/j.ebiom.2022.104349.

197. Lorenzatti AJ, Toth PP. New Perspectives on Atherogenic Dyslipidaemia and Cardiovascular Disease. Eur Cardiol. 2020;15:1-9. doi: 10.15420/ecr.2019.06.

198. Guo F, Gong Z, Fernando T, Zhang L, Zhu X, Shi Y. The Lipid Profiles in Different Characteristics of Women with PCOS and the Interaction Between Dyslipidemia and Metabolic Disorder States: A Retrospective Study in Chinese Population. Front Endocrinol (Lausanne). 2022;13:892125. doi: 10.3389/fendo.2022.892125.

199. Liu Q, Xie YJ, Qu LH, Zhang MX, Mo ZC. Dyslipidemia involvement in the development of polycystic ovary syndrome. Taiwan J Obstet Gynecol. 2019;58(4):447-453. doi: 10.1016/j.tjog.2019.05.003.

200. Pergialiotis V, Trakakis E, Chrelias C, Papantoniou N, Hatziagelaki E. The impact of mild hypercholesterolemia on glycemic and hormonal profiles, menstrual characteristics and the ovarian morphology of women with polycystic ovarian syndrome. Horm Mol Biol Clin Investig. 2018;34(3):/j/hmbci.2018.34.issue-3/hmbci-2018-0002/hmbci-2018-0002.xml.

201. Bizoń A, Franik G, Niepsuj J, Czwojdzińska M, Leśniewski M, Nowak A, Szynkaruk-Matusiak M, Madej P, Piwowar A. The Associations between Sex Hormones and Lipid Profiles in Serum of Women with Different Phenotypes of Polycystic Ovary Syndrome. J Clin Med. 2021;10(17):3941. doi: 10.3390/jcm10173941.

202. Osibogun O, Ogunmoroti O, Michos ED. Polycystic ovary syndrome and cardiometabolic risk: Opportunities for cardiovascular disease prevention. Trends Cardiovasc Med. 2020;30(7):399-404. doi: 10.1016/j.tcm.2019.08.010.

203. Dambala K, Paschou SA, Michopoulos A, Siasos G, Goulis DG, Vavilis D, Tarlatzis BC. Biomarkers of Endothelial Dysfunction in Women With Polycystic Ovary Syndrome. Angiology. 2019;70(9):797-801. doi: 10.1177/0003319719840091.

204. Архипкіна ТЛ. Особливості ліпідного спектру крові у жінок з синдромом полікістозних яєчників. Проблеми ендокринної патології. 2017;3:7-16.

205. Sanchez-Garrido MA, Tena-Sempere M. Metabolic dysfunction in polycystic ovary syndrome: Pathogenic role of androgen excess and potential therapeutic strategies. Mol Metab. 2020;35:100937. doi: 10.1016/j.molmet.2020.01.001.

206. Марченко ДГ. Методичні підходи до викладання на практичних заняттях з гістології. Тема «Особливості змін у складі органів жіночої статевої системи під час овариально-менструального циклу. Гормональна регуляція циклу». Морфологія. 2023;17(4):79-83.

207. Sun H, Zhao Q, Liang X, He Y, Li Y, Yu J, Ding J, Yu C. Effects of cold environment exposure on female reproductive health and its regulatory mechanisms. Front Genet. 2025;16:1570053. doi: 10.3389/fgene.2025.1570053.

208. Greenfield AM, Charkoudian N, Alba BK. Influences of ovarian hormones on physiological responses to cold in women. Temperature (Austin). 2021;9(1):23-45. doi: 10.1080/23328940.2021.1953688.

209. Xu Y, Zhang Z, Wang R, Xue S, Ying Q, Jin L. Roles of estrogen and its receptors in polycystic ovary syndrome. Front Cell Dev Biol. 2024 Jun 19;12:1395331. doi: 10.3389/fcell.2024.1395331.

210. Narayana S, Ananad C, Kumari NS, Sonkusere S,Babu SV. Impact of aromatase enzyme and its altered regulation on polycysticovary syndrome (PCOS): A key factor in pathogenesis of PCOS. Indian JMed Spec 2023;14:206-211.

211. Тарасенко ЛВ, Резніков ОГ. Патогенетична роль овариальної ароматази стероїдів у розладах статевої циклічності. Фізіологічний журнал. 2007;53(1):11-15.

212. Waghmare SV, Shanoo A. Polycystic Ovary Syndrome: A Literature Review With a Focus on Diagnosis, Pathophysiology, and Management. Cureus. 2023;15(10):e47408. doi: 10.7759/cureus.47408.

213. Walters KA, Rodriguez Paris V, Aflatounian A, Handelsman DJ. Androgens and ovarian function: translation from basic discovery research to clinical impact. J Endocrinol. 2019;242(2):R23-R50. doi: 10.1530/JOE-19-0096.

214. Yuanyuan C, Ningyu S, Lu L, Wuwen Z, Kai L, Yanting L, Junlan H, Xiang C, Jing Z, Hua Y, Ping Y. Transcriptomic analysis of theca cells in a PCOS rat model: insights into follicular development. J Ovarian Res. 2025;18(1):135. doi: 10.1186/s13048-025-01663-w.

215. Wang K, Li Y, Chen Y. Androgen excess: a hallmark of polycystic ovary syndrome. Front Endocrinol (Lausanne). 2023;14:1273542. doi: 10.3389/fendo.2023.1273542.

216. Khan SH, Rizvi SA, Shahid R, Manzoor R. Dehydroepiandrosterone Sulfate (DHEAS) Levels in Polycystic Ovarian Syndrome (PCOS). J Coll Physicians Surg Pak. 2021;31(3):253-257. doi:10.29271/jcpsp.2021.03.253

217. Carmina E, Longo RA. Increased Prevalence of Elevated DHEAS in PCOS Women with Non-Classic (B or C) Phenotypes: A Retrospective Analysis in Patients Aged 20 to 29 Years. Cells. 2022;11(20):3255. doi:10.3390/cells11203255

218. Lee NR, Kim BJ, Lee CH, Lee YB, Lee S, Hwang HJ, Kim E, Kim SH, Lee MG, Lee SE, Lavery GG, Choi EH. Role of 11β-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in the development of atopic dermatitis. Sci Rep. 2020;10(1):20237. doi: 10.1038/s41598-020-77281-x.

219. Anderson AJ, Andrew R, Homer NZM, Hughes KA, Boyle LD, Nixon M, Karpe F, Stimson RH, Walker BR. Effects of Obesity and Insulin on Tissue-Specific Recycling Between Cortisol and Cortisone in Men. J Clin Endocrinol Metab. 2021;106(3):e1206-e1220. doi: 10.1210/clinem/dgaa896.

220. Islam H, Masud J, Islam YN, Haque FKM. An update on polycystic ovary syndrome: A review of the current state of knowledge in diagnosis, genetic etiology, and emerging treatment options. Womens Health (Lond). 2022;18:17455057221117966. doi: 10.1177/17455057221117966.

221. Marschalek ML, Marculescu R, Schneeberger C, Marschalek J, Dewailly D, Ott J. A case-control study about markers of stress in normal-/overweight women with polycystic ovary syndrome and in controls. Front Endocrinol (Lausanne). 2023;14:1173422. doi: 10.3389/fendo.2023.1173422.

222. Dorsey A, de Lecea L, Jennings KJ. Neurobiological and Hormonal Mechanisms Regulating Women's Sleep. Front Neurosci. 2021;14:625397. doi: 10.3389/fnins.2020.625397.

223. Мартинова ЮВ, Бабійчук ВГ, Логінова ОО. Вплив ритмічного екстремального охолодження (–120°С) на функціональний стан організму щурів у динаміці їх старіння. Probl Cryobiol Cryomed 2017; 27(2): 159 https://doi.org/10.15407/cryo27.02.159

224. Kumar SA, Roshna VK, Prabhakar PK, Bineesh CP. A correlation study on testosterone level with luteinizing hormone to follicle stimulating hormone ratio among women with PCOS in reproductive age. International Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology. 2024;13(11):3203-3206. DOI:https://doi.org/10.18203/2320-1770.ijrcog20243177.

225. Яцула МС. Роль лептину та інших адипокінів у енергетичному гомеостазі людини, розвитку надмірної маси тіла та ожирінні (огляд літератури). Проблеми клінічної педіатрії. 2023;2(60):93-101.

226. Stefanakis K, Upadhyay J, Ramirez-Cisneros A, Patel N, Sahai A, Mantzoros CS. Leptin physiology and pathophysiology in energy homeostasis, immune function, neuroendocrine regulation and bone health. Metabolism. 2024;161:156056. doi: 10.1016/j.metabol.2024.156056.

227. Obradovic M, Sudar-Milovanovic E, Soskic S, Essack M, Arya S, Stewart AJ, Gojobori T, Isenovic ER. Leptin and Obesity: Role and Clinical Implication. Front Endocrinol (Lausanne). 2021;12:585887. doi: 10.3389/fendo.2021.585887.

228. Pérez-Montilla JJ, Guzmán-García R, Pruimboom L, Navarro-Ledesma S. Does Leptin and Insulin Levels Influence Pain and Disability in Subjects With Frozen Shoulder? A Cross-Sectional Study. Eur J Pain. 2025;29(4):e70007. doi: 10.1002/ejp.70007.

229. Madeddu C, Sanna E, Gramignano G, Tanca L, Cherchi MC, Mola B, Petrillo M, Macciò A. Correlation of Leptin, Proinflammatory Cytokines and Oxidative Stress with Tumor Size and Disease Stage of Endometrioid (Type I) Endometrial

Cancer and Review of the Underlying Mechanisms. Cancers (Basel). 2022;14(2):268. doi: 10.3390/cancers14020268.

230. Радченко ОМ, Слаба ОР, Бек НС, Радченко ЛМ. Лептин та його роль у внутрішній патології. Медична гідрологія та реабілітація. 2011;4:101-109.

231. Козопас НМ, Максимюк ГВ. Показники фертильності щурів та рівень лептину в плазмі крові за умов впливу висококалорійної дієти. Медична та клінічна хімія. 2021;23(4):59-63.

232. Kumari M, Kumar S, Das J. Adipokine Dysregulation in Obese and Non-Obese Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) Patients: Association With Visceral Adiposity Index and Metabolic Risk. Cureus. 2025;17(7):e87755. doi: 10.7759/cureus.87755.

233. Wang Y, Wang H, Hu L, Chen L. Leptin Gene Protects Against Cold Stress in Antarctic Toothfish. Front Physiol. 2021;12:740806. doi: 10.3389/fphys.2021.740806.

234. Stępień S, Olczyk P, Gola J, Komosińska-Vassev K, Mielczarek-Palacz A. The Role of Selected Adipocytokines in Ovarian Cancer and Endometrial Cancer. Cells. 2023;12(8):1118. doi: 10.3390/cells12081118.

235. Sharma Y, Galvão AM. Maternal obesity and ovarian failure: is leptin the culprit? Anim Reprod. 2023;19(4):e20230007. doi: 10.1590/1984-3143-AR2023-0007.

236. Li C, Li Q, Li J, Zhang N, Li Y, Li Y, Li H, Yan F, Kang X, Liu X, Li K, Tian Y. Expression and localization of adiponectin and its receptors (AdipoR1 and AdipoR2) in the hypothalamic-pituitary-ovarian axis of laying hens. Theriogenology. 2021;159:35-44. doi: 10.1016/j.theriogenology.2020.10.020.

237. Luo L, Liu M. Adiponectin: friend or foe in obesity and inflammation. Med Rev (2021). 2022;2(4):349-362. doi: 10.1515/mr-2022-0002.

238. Anderson KC, Liu J, Liu Z. Interplay of fatty acids, insulin and exercise in vascular health. Lipids Health Dis. 2025;24(1):4. doi: 10.1186/s12944-024-02421-5.

239. Zheng Y, Qiu Y, Gao M, Wang Q, Yu L, Cao Z, Luan X. Protective effect of adiponectin on oxidative stress-induced ovarian granulosa cell senescence in geese. Poult Sci. 2025;104(1):104529. doi: 10.1016/j.psj.2024.104529.

240. Pham DV, Park PH. Adiponectin triggers breast cancer cell death via fatty acid metabolic reprogramming. J Exp Clin Cancer Res. 2022;41(1):9. doi: 10.1186/s13046-021-02223-y.

241. Dubuisson N, Versele R, Davis-López de Carrizosa MA, Selvais CM, Noel L, Planchon C, Van den Bergh PYK, Brichard SM, Abou-Samra M. The Adiponectin Receptor Agonist, ALY688: A Promising Therapeutic for Fibrosis in the Dystrophic Muscle. Cells. 2023;12(16):2101. doi: 10.3390/cells12162101.

242. Otu LI, Otu A. Adiponectin and the Control of Metabolic Dysfunction: Is Exercise the Magic Bullet? Front Physiol. 2021;12:651732. doi: 10.3389/fphys.2021.651732.

243. Zohmangaihi D, Sharma SB, Madhu SV. Adiponectin, IL-6 andhsCRP: Interplay of inflammation with obesity and Type 2diabetes in Indian population. J Diabetes Metab 2019; 10: 822-4. DOI:10.35248/2155-6156.19.10.822.

244. Bas S, Oz K, Akkus A, Sizmaz M, Serin E, Durgun M, Karsidag S. Effect of Reduction Mammoplasty on Insulin and Lipid Metabolism in the Postoperative Third month: Compensatory Hip Enlargement. Aesthetic Plast Surg. 2023;47(2):536-543. doi: 10.1007/s00266-021-02352-x.

245. Lee P, Smith S, Linderman J, Courville AB, Brychta RJ, Dieckmann W, Werner CD, Chen KY, Celi FS. Temperature-acclimated brown adipose tissue modulates insulin sensitivity in humans. Diabetes. 2014;63(11):3686-98.

246. Dong M, Yang X, Lim S, Cao Z, Honek J, Lu H, Zhang C, Seki T, Hosaka K, Wahlberg E, et al. Cold exposure promotes atherosclerotic plaque growth and instability via UCP1-dependent lipolysis. Cell Metab. 2013;18(1):118-129.

247. Luo X, Jia R, Luo XQ, Wang G, Zhang QL, Qiao H, Wang N, Yan JQ. Cold Exposure Differentially Stimulates Angiogenesis in BAT and WAT of Mice: Implication in Adrenergic Activation. Cell Physiol Biochem. 2017;42(3):974-986. doi: 10.1159/000478680.

248. Huanyu L, Wenjing L. Multiple inducible thermogenic mechanisms in the development of cold acclimatization. Frigid Zone Medicine, 2023, 3(2): 83-91. doi: 10.2478/fzm-2023-0011.

249. Калугіна ЛВ, Татарчук ТФ. Синдром полікістозних яєчників: підхід до корекції метаболічних порушень. Репродуктивна ендокринологія. 2020; 2(52):54-60.

250. Deng H, Chen Y, Xing J, Zhang N, Xu L. Systematic low-grade chronic inflammation and intrinsic mechanisms in polycystic ovary syndrome. Front Immunol. 2024;15:1470283. doi: 10.3389/fimmu.2024.1470283.

251. Boulares A, Jdidi H, Douzi W. Cold and longevity: Can cold exposure counteract aging? Life Sci. 2025;364:123431. doi: 10.1016/j.lfs.2025.123431.

252. Liang W, Qi Y, Yi H, Mao C, Meng Q, Wang H, Zheng C. The Roles of Adipose Tissue Macrophages in Human Disease. Front Immunol. 2022;13:908749. doi: 10.3389/fimmu.2022.908749.

253. Nawaz A, Fujisaka S, Kado T, Jeelani I, Tobe K. Heterogeneity of adipose tissue-resident macrophages-beyond M1/M2 paradigm. Diabetol Int. 2023;14(2):125-133. doi: 10.1007/s13340-023-00624-2.

254. Feng Y, Tang Z, Zhang W. The role of macrophages in polycystic ovarian syndrome and its typical pathological features: A narrative review. Biomed Pharmacother. 2023;167:115470. doi: 10.1016/j.biopha.2023.115470.

255. Yuan Y, Mao Y, Yang L, Wang Y, Zhang X. Analysis of macrophage polarization and regulation characteristics in ovarian tissues of polycystic ovary syndrome. Front Med (Lausanne). 2024;11:1417983. doi: 10.3389/fmed.2024.1417983.

256. Chang JC, Durinck S, Chen MZ, Martinez-Martin N, Zhang JA, Lehoux I, Li H, Lin M, Wu J, Bainbridge TW, Ernst JA, Ramani SR, Paduchuri S, Kates L, Solon M, Buechler MB, Castiglioni A, Thai M, Breart B, Modrusan Z, Peterson AS, Turley SJ, Sonoda J. Adaptive adipose tissue stromal plasticity in response to cold stress and antibody-based metabolic therapy. Sci Rep. 2019;9(1):8833. doi: 10.1038/s41598-019-45354-1.

257. Boulares A, Jdidi H, Douzi W. Cold and longevity: Can cold exposure counteract aging? Life Sci. 2025;364:123431. doi: 10.1016/j.lfs.2025.123431.

258. Wu S, Qiu C, Ni J, Guo W, Song J, Yang X, Sun Y, Chen Y, Zhu Y, Chang X, Sun P, Wang C, Li K, Han X. M2 macrophages independently promote beige

adipogenesis via blocking adipocyte Ets1. Nat Commun. 2024;15(1):1646. doi: 10.1038/s41467-024-45899-4.

259. Machida K, Okamatsu-Ogura Y, Shin W, Matsuoka S, Tsubota A, Kimura K. Role of macrophages in depot-dependent browning of white adipose tissue. J Physiol Sci. 2018;68(5):601-608. doi: 10.1007/s12576-017-0567-3.

260. Жулікова МВ, Жуліков ОО, Мирошниченко МС, Наконечна ОА, Капустник НВ. Аналіз рівня адипонектину та лептину при експериментальному синдромі полікістозних яєчників в умовах переривчастого холодового впливу. Матеріали VI науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (16 листопада 2023 року, м. Харків). Харків : НФаУ, 2023. С. 199-200.

261. Zhulikova MV, Myroshnychenko MS, Zhulikov OO, Kapustnyk NV, Hromko YeA, Myroshnychenko SO. Morphological features of brown adipose tissue in an experimental polycystic ovary syndrome under intermittent cold exposure. Wiad Lek. 2025;78(7):1389-1395.

262. Liu Y, Zhu J, Yang Y, Chen Z, Zhou Y, Fei W, Zhang X, Zheng Y. Extracellular matrix dysregulation in PCOS: pathogenesis, therapeutic strategies, and innovative technologies. J Biol Eng. 2025;19(1):61. doi: 10.1186/s13036-025-00533-9.

263. Dong J, Rees DA. Polycystic ovary syndrome: pathophysiology and therapeutic opportunities. BMJ Med. 2023 Oct 12;2(1):e000548. doi: 10.1136/bmjmed-2023-000548.

264. Sonu NC, Aksun S, Bozdag G, Yarali H, Yildiz BO, Mumusoglu S. Structural and hormonal changes in the ovaries of women with polycystic ovary syndrome and healthy controls: a 13-year prospective study in an unselected population. Reprod Biol Endocrinol. 2025;23(1):126. doi: 10.1186/s12958-025-01462-4.

265. Wang D, Wang W, Liang Q, He X, Xia Y, Shen S, Wang H, Gao Q, Wang Y. DHEA-induced ovarian hyperfibrosis is mediated by TGF-β signaling pathway. J Ovarian Res. 2018;11(1):6. doi: 10.1186/s13048-017-0375-7.

266. He Y, Gan M, Ma J, Liang S, Chen L, Niu L, Zhao Y, Wang Y, Zhu L, Shen L. TGF-β signaling in the ovary: Emerging roles in development and disease. Int J Biol Macromol. 2025;306(Pt 4):141455. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2025.141455.

267. Xue Y, Petrovic N, Cao R, Larsson O, Lim S, Chen S, Feldmann HM, Liang Z, Zhu Z, Nedergaard J, Cannon B, Cao Y. Hypoxia-independent angiogenesis in adipose tissues during cold acclimation. Cell Metab. 2009;9(1):99-109. doi: 10.1016/j.cmet.2008.11.009.

268. Гладчук ІЗ, Назаренко ОЯ, Ситнікова ВО. Роль овaріальних стероїдів у процесах овaріального циклу в нормі та при патології. Досягнення біології та медицини. 2016;2:7-10.

269. Mlyczyńska E, Kieżun M, Kurowska P, Dawid M, Pich K, Respekta N, Daudon M, Rytelewska E, Dobrzyń K, Kamińska B, Kamiński T, Smolińska N, Dupont J, Rak A. New Aspects of Corpus Luteum Regulation in Physiological and Pathological Conditions: Involvement of Adipokines and Neuropeptides. Cells. 2022;11(6):957. doi: 10.3390/cells11060957.

270. Корчинська ОО, Хаща ІІ, Шуміліна ТР. Сучасні погляди на метаболічні аспекти синдрому полікістозних яєчників. Репродуктивне здоров'я жінки. 2023;8(71):64-71.

271. Adams ZH, Berbrier DE, Schwende BK, Huckins W, Richards CT, Rees DA, Usselman CW, Lord RN. The impact of androgens on cardiovascular control mechanisms in polycystic ovary syndrome: Recent advances and translational approaches. J Physiol. 2025;603(10):2937-2957. doi: 10.1113/JP287288.

272. Dutt M, Wehrle CJ, Jialal I. Physiology, Adrenal Gland. [Updated 2023 May 1]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537260/

273. Bornstein RS, Berger I, Scriba L, Santambrogio A, Steenblock C. Adrenal cortex – medulla interactions in adaptation to stress and disease. Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research. 2019;8:9-14.

274. Unlu E, Unlu BS, Yildiz Y, Beker-Acay M, Kacar E, Turamanlar O, Tulmac OB, Seven A, Ozuguz U. Adrenal gland volume assessed by magnetic resonance

imaging in women with polycystic ovary syndrome. Diagn Interv Imaging. 2016;97(1):57-63. doi: 10.1016/j.diii.2015.02.004.

275. Abbasi K, Zarezadeh R, Valizadeh A, Mehdizadeh A, Hamishehkar H, Nouri M, Darabi M. White-brown adipose tissue interplay in polycystic ovary syndrome: Therapeutic avenues. Biochem Pharmacol. 2024;220:116012. doi: 10.1016/j.bcp.2023.116012.

276. Navarro-Perez J, Vidal-Puig A, Carobbio S. Recent developments in adipose tissue-secreted factors and their target organs. Curr Opin Genet Dev. 2023;80:102046. doi: 10.1016/j.gde.2023.102046.

277. Bril F, Ezeh U, Amiri M, Hatoum S, Pace L, Chen YH, Bertrand F, Gower B, Azziz R. Adipose Tissue Dysfunction in Polycystic Ovary Syndrome. J Clin Endocrinol Metab. 2023;109(1):10-24. doi: 10.1210/clinem/dgad356.

278. Oliveira FR, Mamede M, Bizzi MF, Rocha ALL, Ferreira CN, Gomes KB, Cândido AL, Reis FM. Brown adipose tissue activity is reduced in women with polycystic ovary syndrome. Eur J Endocrinol. 2019;181(5):473-480. doi: 10.1530/EJE-19-0505.

279. Mo YY, Han YX, Xu SN, Jiang HL, Wu HX, Cai JM, Li L, Bu YH, Xiao F, Liang HD, Wen Y, Liu YZ, Yin YL, Zhou HD. Adipose Tissue Plasticity: A Comprehensive Definition and Multidimensional Insight. Biomolecules. 2024;14(10):1223. doi: 10.3390/biom14101223.

280. Pollard AE, Carling D. Thermogenic adipocytes: lineage, function and therapeutic potential. Biochem J. 2020;477(11):2071-2093. doi: 10.1042/BCJ20200298.

281. Saito M, Okamatsu-Ogura Y. Thermogenic Brown Fat in Humans: Implications in Energy Homeostasis, Obesity and Metabolic Disorders. World J Mens Health. 2023;41(3):489-507. doi: 10.5534/wjmh.220224.

282. Razzoli M, Frontini A, Gurney A, Mondini E, Cubuk C, Katz LS, Cero C, Bolan PJ, Dopazo J, Vidal-Puig A, Cinti S, Bartolomucci A. Stress-induced activation of brown adipose tissue prevents obesity in conditions of low adaptive thermogenesis. Mol Metab. 2015;5(1):19-33. doi: 10.1016/j.molmet.2015.10.005.

283. Liu X, He A, Lu D, Hu D, Tan M, Abere A, Goodarzi P, Ahmad B, Kleiboeker B, Finck BN, Zayed M, Funai K, Brestoff JR, Javaheri A, Weisensee P, Mittendorfer B, Hsu FF, Van Veldhoven PP, Razani B, Semenkovich CF, Lodhi IJ. Peroxisomal metabolism of branched fatty acids regulates energy homeostasis. Nature. 2025;646(8087):1223-1231. doi: 10.1038/s41586-025-09517-7.

284. Xu J, Cui L, Wang J, Zheng S, Zhang H, Ke S, Cao X, Shi Y, Li J, Zen K, Vidal-Puig A, Zhang CY, Li L, Jiang X. Cold-activated brown fat-derived extracellular vesicle-miR-378a-3p stimulates hepatic gluconeogenesis in male mice. Nat Commun. 2023;14(1):5480. doi: 10.1038/s41467-023-41160-6.

285. Zeber-Lubecka N, Ciebiera M, Hennig EE. Polycystic Ovary Syndrome and Oxidative Stress-From Bench to Bedside. Int J Mol Sci. 2023;24(18):14126. doi: 10.3390/ijms241814126.

286. Papalou O, Victor VM, Diamanti-Kandarakis E. Oxidative Stress in Polycystic Ovary Syndrome. Curr Pharm Des. 2016;22(18):2709-22. doi: 10.2174/1381612822666160216151852.

287. Wojsiat J, Korczyński J, Borowiecka M, Żbikowska HM. The role of oxidative stress in female infertility and in vitro fertilization. Postepy Hig Med Dosw (Online). 2017;71(0):359-366. doi: 10.5604/01.3001.0010.3820. PMID: 28513460.

288. Gao Y, Zou Y, Wu G, Zheng L. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction of granulosa cells in polycystic ovarian syndrome. Front Med (Lausanne). 2023;10:1193749. doi: 10.3389/fmed.2023.1193749.

289. Hakami AA, Hamzi WA, Alshammari HO, Alshammari TO, Aldfeery FZS, Alanazi ISH, Alraythi AHM, Albaiji MMT, Alharbi NG, Alharbi MA, Alsamti DM, Mubarki HEY, Aldhfeeri BGM, Alghamdi TS, Albathali ABS. Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): Pathophysiology, Diagnosis, Biomarkers, and Nursing Interventions. J. Med. Chem. Sci., 2024; 7(12): 1788-1807. doi: 10.26655/JMCHEMSCI.2024.12.3.

290. Yan H, Wang L, Zhang G, Li N, Zhao Y, Liu J, Jiang M, Du X, Zeng Q, Xiong D, He L, Zhou Z, Luo M, Liu W. Oxidative stress and energy metabolism

abnormalities in polycystic ovary syndrome: from mechanisms to therapeutic strategies. Reprod Biol Endocrinol. 2024;22(1):159. doi: 10.1186/s12958-024-01337-0.

291. Sadeghi HM, Adeli I, Calina D, Docea AO, Mousavi T, Daniali M, Nikfar S, Tsatsakis A, Abdollahi M. Polycystic Ovary Syndrome: A Comprehensive Review of Pathogenesis, Management, and Drug Repurposing. Int J Mol Sci. 2022;23(2):583. doi: 10.3390/ijms23020583.

292. Sun Y, Li S, Liu H, Bai H, Hu K, Zhang R, Liu Q, Fan P. Oxidative stress promotes hyperandrogenism by reducing sex hormone-binding globulin in polycystic ovary syndrome. Fertil Steril. 2021;116(6):1641-1650. doi: 10.1016/j.fertnstert.2021.07.1203.

293. Liu H, Jin L, Wang X, Shi J, He Y, Sun N, Yang F. Reactive oxygen species in polycystic ovary syndrome: Mechanistic insights into pathogenesis and therapeutic opportunities. Redox Biol. 2025;85:103776. doi: 10.1016/j.redox.2025.103776.

294. Dey S, Chakraborty I, Biswas P, Paul A, Chakraborty P, Haldar R. Unmasking the morphological alteration of erythrocytes among women suffering from PCOS. Blood Cells Mol Dis. 2024;105:102821. doi: 10.1016/j.bcmd.2023.102821.

295. Dey S, Chakraborty I, Biswas P, Basak B, Paul A, Chakraborty P, Haldar R. Possibilities of developing erythrocyte morphological deformability in patients suffering from polycystic ovary syndrome: A systemic overview. BLDE University Journal of Health Sciences. 2025; 10(1): 10-15. doi: 10.4103/bjhs.bjhs_26_24

296. Manful CF, Fordjour E, Subramaniam D, Sey AA, Abbey L, Thomas R. Antioxidants and Reactive Oxygen Species: Shaping Human Health and Disease Outcomes. Int J Mol Sci. 2025;26(15):7520. doi: 10.3390/ijms26157520.

297. Akhalaya MY, Platonov AG, Baizhumanov AA. Short-term cold exposure improves antioxidant status and general resistance of animals. Bull Exp Biol Med. 2006;141(1):26-9. doi: 10.1007/s10517-006-0084-5. PMID: 16929956.

298. Lubkowska A, Bryczkowska I, Gutowska I, Rotter I, Marczuk N, Baranowska-Bosiacka I, Banfi G. The Effects of Swimming Training in Cold Water on Antioxidant Enzyme Activity and Lipid Peroxidation in Erythrocytes of Male and

Female Aged Rats. Int J Environ Res Public Health. 2019;16(4):647. doi: 10.3390/ijerph16040647.

299. Zhang Y, Chen ZJ, Zhao H. Polycystic ovary syndrome: A metabolic disorder with therapeutic opportunities. Cell Metab. 2025;37(10):1932-1949. doi: 10.1016/j.cmet.2025.08.002.

300. Negroiu CE, Tudorașcu I, Bezna CM, Godeanu S, Diaconu M, Danoiu R, Danoiu S. Beyond the Cold: Activating Brown Adipose Tissue as an Approach to Combat Obesity. J Clin Med. 2024;13(7):1973. doi: 10.3390/jcm13071973.

ДОДАТОК А

Апробація результатів дисертації

Основні положення дисертаційної роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях, конгресах, зустрічах:

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

2. 61st annual meeting of the Society for Cryobiology «CRYO2024» (2024 July 23-25; Washington; постерна доповідь і публікація тез).

3. IX Національний конгрес патофізіологів України з міжнародною участю «Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України» (19-21 вересня 2024 р, м. Івано-Франківськ; усна доповідь і публікація тез).

4. 49th Annual Conference of Young Scientists «Cold in Biology and Medicine» (May 14-15, 2025, Kharkiv; усна доповідь і публікація тез).

ДОДАТОК Б

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Жулікова МВ, Мирошниченко МС, Наконечна ОА, Жуліков ОО, Бібіченко ВО, Мирошниченко СО, Зайцева ОВ, Ковальцова МВ. Життєздатність та види загибелі лейкоцитів крові щурів з синдромом полікістозних яєчників за умов переривчастого холодового впливу. Фізіологічний журнал. 2023; 69(5):33-42. *(Здобувачка провела визначення життєздатності лейкоцитів та видів їх загибелі, статистично обробила одержані показники та написала статтю).*

2. Zhulikova MV, Myroshnychenko MS, Nakonechna OA, Zhulikov OO, Pustova NO, Bibichenko VO, Lytvynenko OY, Kucheriavchenko MO. Reactive oxygen species generation by blood leucocytes of rats with polycystic ovary syndrome under the conditions of intermittent cold exposure. Wiad Lek. 2023;76(7):1670-1676. *(Здобувачка проаналізувала одержані показники та провела їх статистичну обробку, підготувала статтю до друку).*

3. Zhulikova MV, Myroshnychenko MS, Zhulikov OO, Kapustnyk NV, Hromko YeA, Myroshnychenko SO. Morphological features of brown adipose tissue in an experimental polycystic ovary syndrome under intermittent cold exposure. Wiad Lek. 2025;78(7):1389-1395. *(Здобувачка провела вивчення мікропрепаратів та морфометричне дослідження, статистично опрацювала результати, написала статтю).*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

1. Жулікова МВ, Жуліков ОО, Мирошниченко МС, Наконечна ОА, Капустник НВ. Аналіз рівня адипонектину та лептину при експериментальному синдромі полікістозних яєчників в умовах переривчастого холодового впливу. Матеріали VI науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (16 листопада 2023 року, м. Харків). Харків : НФаУ, 2023. С. 199-200.

(Здобувачкою проведено визначення рівнів адипонектину та лептину, оброблено результати, сформульовано висновки та написано тези).

2. Zhulikova M, Zhulikov O, Myroshnychenko M, Nakonechna O, Kapustnyk N. Eryptosis in rats with polycystic ovary syndrome under intermittent cold exposure conditions. In: Materials of the 61st annual meeting of the Society for Cryobiology «CRYO2024»; 2024 July 23-25; Washington. Cryobiology. 2024;117:105151. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2024.105151. *(Здобувачкою оброблено одержані результати, сформульовано висновки та написано тези).*

3. Мирошниченко МС, Жулікова МВ, Наконечна ОА, Капустник НВ, Пасієшвілі НМ, Бібіченко ВО. Особливості генерації активних форм кисню в еритроцитах щурів з синдромом полікістозних яєчників за умов переривчастого холодового впливу. Матеріали доповідей IX Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю «Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України» (19-21 вересня 2024 р, м. Івано-Франківськ). Івано-Франківськ: Івано-Франківський національний медичний університет, 2024. С. 152-153. *(Здобувачка провела визначення генерації активних форм кисню в еритроцитах, обробила одержані показники та написала тези).*

4. Hromko YeA, Zhulikova MV, Myroshnychenko MS, Nakonechna OA. The effect of intermittent cold exposure on the level of reactive oxygen species production in erythrocytes of rats with induced polycystic ovary syndrome. Abstract book of 49th Annual Conference of Young Scientists Cold in Biology and Medicine. (May 14-15, 2025, Kharkiv). 2025. P 30. *(Здобувачка обробила та проаналізувала одержані показники, написала тези).*

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

1. Кузьміна ІЮ, Ніколаєва ОВ, Жулікова МВ, винахідники; Харківський національний медичний університет, правонаступник. Спосіб моделювання синдрому полікістозних яєчників. Патент України 119800U. 10 жовтня 2017 р. *(Здобувачка провела аналіз відомих методик моделювання СПКЯ, розробила власну методику та запатентувала її).*

ДОДАТОК В

Акти впровадження:

ЗАТВЕРДЖУЮ
Проректор з науково-педагогічної та навчальної роботи Національного медичного університету імені О.О. Богомольця
проф. Олег ВЛАСЕНКО
« 09 » 09 2025р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції: Визначення генерації активних форм кисню нейтрофільними лейкоцитами та еритроцитами при експериментальному синдромі полікістозних яєчників за умов переривчастого холодового впливу

2. Ким і коли запропонований: Харківський національний медичний університет, аспірантка кафедри загальної та клінічної патофізіології імені Д.О. Альперна Жулікова Марина Валентинівна (просп. Науки, 4, м. Харків, 61022), 2025 р.

3. Джерела інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.):

1. Zhulikova MV, Myroshnychenko MS, Nakonechna OA, Zhulikov OO, Pustova NO, Bibichenko VO, Lytvynenko OY, Kucheriavchenko MO. Reactive oxygen species generation by blood leucocytes of rats with polycystic ovary syndrome under the conditions of intermittent cold exposure. Wiad Lek. 2023;76(7):1670-1676.

2. Мирошниченко МС, Жулікова МВ, Наконечна ОА, Капустник НВ, Пасієшвілі НМ, Бібіченко ВО. Особливості генерації активних форм кисню в еритроцитах щурів з синдромом полікістозних яєчників за умов переривчастого холодового впливу. Матеріали доповідей IX Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю «Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України» (19-21 вересня 2024 р, м. Івано-Франківськ). Івано-Франківськ: Івано-Франківський національний медичний університет, 2024. С. 152-153.

3. Hromko YeA, Zhulikova MV, Myroshnychenko MS, Nakonechna OA. The effect of intermittent cold exposure on the level of reactive oxygen species production in erythrocytes of rats with induced polycystic ovary syndrome. Abstract book of 49th Annual Conference of Young Scientists Cold in Biology and Medicine. (May 14-15, 2025, Kharkiv). 2025. P 30.

4. Де впроваджено: Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, кафедра патофізіології.

5. Термін впровадження: 2024-2025 навчальний рік.

6. Результати впровадження: використання результатів наукових досліджень асп. Жулікової М.В. у науково-дослідній роботі та освітньому процесі розширює сучасні уявлення щодо джерел генерації активних форм кисню при синдромі полікістозних яєчників, ролі активних форм кисню в механізмі розвитку синдрому полікістозних яєчників, методів профілактики синдрому полікістозних яєчників.

7. Зауваження, пропозиції: не вносилися.

Відповідальний за впровадження:
завідувач кафедри патофізіології,
д.мед.н., професор Сергій ЗЯБЛІЦЕВ

ЗАТВЕРДЖУЮ
Проректор з науково-педагогічної роботи Харківського національного медичного університету
доц. Олександр КРИВОШАПКА
«03» 09 2025р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції: Механізми переривчастого холодового впливу у попередженні розвитку синдрому полікістозних яєчників в експерименті

2. Ким і коли запропонований: Харківський національний медичний університет, аспірантка кафедри загальної та клінічної патофізіології імені Д.О. Альперна Жулікова Марина Валентинівна (просп. Науки, 4, м. Харків, 61022), 2025 р.

3. Джерела інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.):

1. Жулікова МВ, Мирошниченко МС, Наконечна ОА, Жуліков ОО, Бібіченко ВО, Мирошниченко СО, Зайцева ОВ, Ковальцова МВ. Життєздатність та види загибелі лейкоцитів крові щурів з синдромом полікістозних яєчників за умов переривчастого холодового впливу. Фізіологічний журнал. 2023; 69(5):33-42.
2. Zhulikova MV, Myroshnychenko MS, Nakonechna OA, Zhulikov OO, Pustova NO, Bibichenko VO, Lytvynenko OY, Kucheriavchenko MO. Reactive oxygen species generation by blood leucocytes of rats with polycystic ovary syndrome under the conditions of intermittent cold exposure. Wiad Lek. 2023;76(7):1670-1676.
3. Zhulikova MV, Myroshnychenko MS, Zhulikov OO, Kapustnyk NV, Hromko YeA, Myroshnychenko SO. Morphological features of brown adipose tissue in an experimental polycystic ovary syndrome under intermittent cold exposure. Wiad Lek. 2025;78(7):1389-1395.
4. Жулікова МВ, Жуліков ОО, Мирошниченко МС, Наконечна ОА, Капустних НВ. Аналіз рівня адипонектину та лептину при експериментальному синдромі полікістозних яєчників в умовах переривчастого холодового впливу. Матеріали VI науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (16 листопада 2023 року, м. Харків). Харків : НФаУ, 2023. С. 199-200.

4. Де впроваджено: Харківський національний медичний університет, кафедра загальної та клінічної патологічної фізіології імені Д.О. Альперна.

5. Термін впровадження: 2024-2025 навчальний рік.

6. Результати застосування: впровадження у навчальний процес на кафедрі загальної та клінічної патологічної фізіології імені Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету в лекційному курсі, при проведенні практичних занять зі здобувачами вищої медичної освіти, лікарями-інтернами, клінічними ординаторами та аспірантами, а також у науково-дослідну роботу кафедри.

7. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3): поглиблення знань студентів, лікарів-інтернів, клінічних ординаторів та аспірантів з питань попередження розвитку синдрому полікістозних яєчників шляхом визначення провідних механізмів переривчастого холодового впливу.

8. Зауваження, пропозиції: не вносилися.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології імені Д.О. Альперна, професор Михайло МИРОШНИЧЕНКО

ХНМУ
Загальний відділ
Підпис г.
Засвідчую:

ЗАТВЕРДЖУЮ
Директор Інституту проблем кріобіології
і кріомедицини НАН України
проф. Олександр ШЕТРЕНКО

«13» 12 2025р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції: Провідні механізми переривчастого холодового впливу у попередженні розвитку синдрому полікістозних яєчників в експерименті

2. Ким і коли запропонований: Харківський національний медичний університет, професор, зав кафедрою загальної та клінічної патофізіології імені Д.О. Альперна Мирошниченко Михайло Сергійович, 2024 р., аспірантка кафедри загальної та клінічної патофізіології імені Д.О. Альперна Жулікова Марина Валентинівна (просп. Науки, 4, м. Харків, 61022), 2025 р.

3. Джерела інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.):

1. Жулікова МВ, Мирошниченко МС, Наконечна ОА, Жуліков ОО, Бібіченко ВО, Мирошниченко СО, Зайцева ОВ, Ковальцова МВ. Життєздатність та види загибелі лейкоцитів крові щурів з синдромом полікістозних яєчників за умов переривчастого холодового впливу. Фізіологічний журнал. 2023; 69(5):33-42.
2. Zhulikova MV, Myroshnychenko MS, Nakonechna OA, Zhulikov OO, Pustova NO, Bibichenko VO, Lytvynenko OY, Kucheriavchenko MO. Reactive oxygen species generation by blood leucocytes of rats with polycystic ovary syndrome under the conditions of intermittent cold exposure. Wiad Lek. 2023;76(7):1670-1676.
3. Zhulikova MV, Myroshnychenko MS, Zhulikov OO, Kapustnyk NV, Hromko YeA, Myroshnychenko SO. Morphological features of brown adipose tissue in an experimental polycystic ovary syndrome under intermittent cold exposure. Wiad Lek. 2025;78(7):1389-1395.
4. Жулікова МВ, Жуліков ОО, Мирошниченко МС, Наконечна ОА, Капустник НВ. Аналіз рівня адипонектину та лептину при експериментальному синдромі полікістозних яєчників в умовах переривчастого холодового впливу. Матеріали VI науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (16 листопада 2023 року, м. Харків). Харків : НФаУ, 2023. С. 199-200.

4. Де впроваджено: Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, відділ холодової адаптації

5. Термін впровадження: 2024-2025 рр.

6. Результати застосування: впроваджено у освітню, науково-дослідну роботу відділу холодової адаптації Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України

7. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3): поглиблення уявлень щодо провідних механізмів переривчастого холодового впливу у попередженні розвитку синдрому полікістозних яєчників.

8. Зауваження, пропозиції: не вносилися.

Відповідальні за впровадження:
Головний науковий співробітник,
професор, д.м.н Ольга Прокопюк
М. н.с, к.мед. наук Олег Чуб

ЗАТВЕРДЖУЮ
Проректор з науково-педагогічної роботи
Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика
член-кореспондент НАМН України, професор
Олександр ТОЛСТАНОВ
«03» листопада 2025р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції: Особливості морфофункціонального стану бурої жирової тканини при експериментальному синдромі полікістозних яєчників за умов переривчастого холодового впливу

2. Ким і коли запропонований: Харківський національний медичний університет, аспірантка кафедри загальної та клінічної патофізіології імені Д.О. Альперна **Жулікова Марина Валентинівна** (просп. Науки, 4, м. Харків, 61022), 2025 р.

3. Джерела інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.):
Zhulikova MV, Myroshnychenko MS, Zhulikov OO, Kapustnyk NV, Hromko YeA, Myroshnychenko SO. Morphological features of brown adipose tissue in an experimental polycystic ovary syndrome under intermittent cold exposure. Wiad Lek. 2025;78(7):1389-1395.

4. Де впроваджено: Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, кафедра клінічної патології та судової медицини.

5. Термін впровадження: 2024-2025 навчальний рік.

6. Результати застосування: впровадження у навчальний процес на кафедрі клінічної патології та судової медицини Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика в лекційному курсі, при проведенні практичних занять зі здобувачами вищої медичної освіти (магістрами), лікарями-інтернами, аспірантами, у науково-дослідну роботу кафедри.

7. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3): поглиблення знань студентів, лікарів-інтернів, клінічних ординаторів та аспірантів з питань особливостей морфофункціонального стану бурої жирової тканини при експериментальному синдромі полікістозних яєчників за умов переривчастого холодового впливу.

8. Зауваження, пропозиції: не вносилися.

Пропозиція обговорена та затверджена на навчально-методичній нараді кафедри морфології, клінічної патології та судової медицини НУОЗ України імені П.Л. Шупика (протокол № 3 від 03 листопада 2025 р.).

Відповідальний за впровадження:
в.о.завідувача кафедри клінічної патології
та судової медицини
д.мед.н., професор
Олена ДЯДИК

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор закладу вищої освіти з науково-педагогічної роботи Одеського національного медичного університету МОЗ України
Костянтин ТАЛАЛАЄВ
«29» серпня 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції: Оцінка генерації активних форм кисню в еритроцитах та інтенсивності ериптозу у щурів з синдромом полікістозних яєчників та за умов переривчастого холодового впливу

2. Ким і коли запропонований: кафедра загальної та клінічної патологічної фізіології імені Д.О. Альперна Харківського національного медичного університету, 61022, м. Харків, пр-т Науки, 4, Жулікова М.В.

3. Джерела інформації:

1. Zhulikova M, Zhulikov O, Myroshnychenko M, Nakonechna O, Kapustnyk N. Eryptosis in rats with polycystic ovary syndrome under intermittent cold exposure conditions. Cryobiology. 2024;117:105151. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2024.105151.

2. Мирошниченко МС, Жулікова МВ, Наконечна ОА, Капустник НВ, Пасієшвілі НМ, Бібіченко ВО. Особливості генерації активних форм кисню в еритроцитах щурів з синдромом полікістозних яєчників за умов переривчастого холодового впливу. Матеріали IX Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю «Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України» (19-21 вересня 2024 р, м. Івано-Франківськ). Івано-Франківськ: Івано-Франківський національний медичний університет, 2024. С. 152-153.

3. Hromko YeA, Zhulikova MV, Myroshnychenko MS, Nakonechna OA. The effect of intermittent cold exposure on the level of reactive oxygen species production in erythrocytes of rats with induced polycystic ovary syndrome. Abstr. of 49th Annual Conference of Young Scientists Cold in Biology and Medicine. (May 14-15, 2025, Kharkiv). 2025. P 30.

4. Де впроваджено: Одеський національний медичний університет, кафедра загальної та клінічної патологічної фізіології імені В.В. Підвисоцького.

5. Термін впровадження: 2024-2025 навчальний рік.

6. Результати застосування: впровадження у навчальний процес на кафедрі загальної та клінічної патологічної фізіології імені В.В. Підвисоцького Одеського національного медичного університету в лекційному курсі, при проведенні практичних занять зі здобувачами вищої медичної освіти, лікарями-інтернами, клінічними ординаторами та аспірантами, а також у науково-дослідну роботу кафедри.

7. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3): поглиблення знань студентів, лікарів-інтернів, клінічних ординаторів та аспірантів з питань патогенезу синдрому полікістозних яєчників та методів його профілактики..

8. Зауваження, пропозиції: не вносилися.

9. Обговорено на засіданні кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології Одеського національного медичного університету 29 серпня 2025 р., протокол № 1.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології Одеського національного медичного університету МОЗ України,
Заслужений діяч науки і техніки України
д.мед.н., професор
Руслан ВАСТЬЯНОВ

ЗАТВЕРДЖУЮ
Проректор з науково-педагогічної роботи
Харківського національного медичного університету
доц. Олександр КРИВОШАПКА

«29» 12 2025р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції: Провідні механізми переривчастого холодового впливу у попередженні розвитку синдрому полікістозних яєчників в експерименті

2. Ким і коли запропонований: Харківський національний медичний університет, аспірантка кафедри загальної та клінічної патофізіології імені Д.О. Альперна Жулікова Марина Валентинівна (просп. Науки, 4, м. Харків, 61022), 2025 р.

3. Джерела інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.):

1. Жулікова МВ, Мирошниченко МС, Наконечна ОА, Жуліков ОО, Бібіченко ВО, Мирошниченко СО, Зайцева ОВ, Ковальцова МВ. Життєздатність та види загибелі лейкоцитів крові щурів з синдромом полікістозних яєчників за умов переривчастого холодового впливу. Фізіологічний журнал. 2023; 69(5):33-42.
2. Zhulikova MV, Myroshnychenko MS, Nakonechna OA, Zhulikov OO, Pustova NO, Bibichenko VO, Lytvynenko OY, Kucheriavchenko MO. Reactive oxygen species generation by blood leucocytes of rats with polycystic ovary syndrome under the conditions of intermittent cold exposure. Wiad Lek. 2023;76(7):1670-1676.
3. Zhulikova MV, Myroshnychenko MS, Zhulikov OO, Kapustnyk NV, Hromko YeA, Myroshnychenko SO. Morphological features of brown adipose tissue in an experimental polycystic ovary syndrome under intermittent cold exposure. Wiad Lek. 2025;78(7):1389-1395.
4. Жулікова МВ, Жуліков ОО, Мирошниченко МС, Наконечна ОА, Капустник НВ. Аналіз рівня адипонектину та лептину при експериментальному синдромі полікістозних яєчників в умовах переривчастого холодового впливу. Матеріали VI науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (16 листопада 2023 року, м. Харків). Харків : НФаУ, 2023. С. 199-200.

4. Де впроваджено: Харківський національний медичний університет, кафедра акушерства та гінекології № 2

5. Термін впровадження: 2024-2025 рр.

6. Результати застосування: впроваджено у науково-дослідну роботу та освітній процес на кафедрі акушерства та гінекології №2 Харківського національного медичного університету.

7. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3): поглиблення уявлень щодо провідних механізмів переривчастого холодового впливу у попередженні розвитку синдрому полікістозних яєчників.

8. Зауваження, пропозиції: не вносилися.

Відповідальний за впровадження:
Завідувачка кафедри акушерства та
гінекології №2,
професорка Вікторія ЛАЗУРЕНКО

Онлайн сервіс створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

ПРОТОКОЛ
створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

Дата та час: 11:47:21 16.01.2026

Назва файлу з підписом: Дисертація Жулікової М.В..pdf
Розмір файлу з підписом: 9.5 МБ

Перевірені файли:
Назва файлу без підпису: Дисертація Жулікової М.В..pdf
Розмір файлу без підпису: 9.4 МБ

Результат перевірки підпису: Підпис створено та перевірено успішно. Цілісність даних підтверджено

Підписувач: ЖУЛІКОВА МАРИНА ВАЛЕНТИНІВНА
П.І.Б.: ЖУЛІКОВА МАРИНА ВАЛЕНТИНІВНА
Країна: Україна
РНОКПП: 2743619140
Організація (установа): ФІЗИЧНА ОСОБА
Час підпису (підтверджено кваліфікованою позначкою часу для підпису від Надавача): 11:47:19 16.01.2026
Сертифікат виданий: КНЕДП АЦСК АТ КБ "ПРИВАТБАНК"
Серійний номер: 5E984D526F82F38F04000000B761060230B01507
Алгоритм підпису: ДСТУ 4145
Тип підпису: Удосконалений
Тип контейнера: Підписаний PDF-файл (PAdES)
Формат підпису: З повними даними для перевірки (PAdES-B-LT)
Сертифікат: Кваліфікований

Версія від: 2025.08.25 13:00