

Nikolayeva O., Pavlova E., Sirenko V., Kovaltsova M., Sulhdost I. Динаміка морфофункціональних зрушень підшлункової залози та рівень цитокінів у потомства щурів внаслідок дії хронічного стресу = The dynamics of the morphofunctional changes of the offspring-rats' pancreases and level of cytokinins resulting from an action of the chronic stress. *Journal of Education, Health and Sport*. 2016;6(6):279-290. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.55416>
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/3578>

The journal has had 7 points in Ministry of Science and Higher Education parametric evaluation. Part B item 755 (23.12.2015).
755 Journal of Education, Health and Sport eISSN 2391-8306 7

© The Author (s) 2016;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland

Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Received: 05.05.2016. Revised 25.05.2016. Accepted: 10.06.2016.

УДК 616.37–091.8–092.9:613.24/.25:613.65:612.015.11

ДИНАМІКА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗРУШЕНЬ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ТА РІВЕНЬ ЦИТОКІНІВ У ПОТОМСТВА ЩУРІВ ВНАСЛІДОК ДІЇ ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ

О. В. Ніколаєва, О. О. Павлова, В. А. Сіренко, М. В. Ковальцова, І. О. Сулхдост

Харківський національний медичний університет. Харків. Україна

THE DYNAMICS OF THE MORPHOFUNCTIONAL CHANGES OF THE OFFSPRING-RATS' PANCREASES AND LEVEL OF CYTOKININS RESULTING FROM AN ACTION OF THE CHRONIC STRESS

O. Nikolayeva, E. Pavlova, V. Sirenko, M. Kovaltsova, I. Sulhdost

Kharkiv National Medical University, Kharkov, Ukraine

Introduction. The pathology of the pancreas caused by the stress is an actual problem of medicine. The purpose of the study was describe of characteristics morphofunctional state of the pancreas of babe-rats' and to analyzed pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines balance. **Materials and Methods.** We studied morphological changes of pancreas of offspring-rats' using histological, cytochemical, cytomorphometric and biochemical methods. We studied immunological status using biochemical methods. We studied the level of interleukin-12 and interleukin-4 in the blood. The core group of mother-rats was exposed to chronic stress immobilization. The comparison group consisted of animals that led ordinary life. For the rats, the experiment was stopped immediately after the birth of offspring in compliance with the ethical principles. **Results.** Stress during pregnancy in rats affects the morphology and function of the pancreas in the offspring. Symptoms of morphofunctional disorders are obvious even in the pancreas of newborn rats. There are reduced acini and islets of Langerhans, immaturity parenchymal area, edema, fibrosis, degenerative changes in the nuclei and cytoplasm exocrine and endocrine cells, decrease morphofunctional state of the same part of pancreas cell, violation of geodynamics. Most of them not only saves up until they are two months of age, but has a negative trend of growth severity: reducing the relative amount of parenchymal acini area, number and area of the islets of Langerhans, the number of endocrine cells in them, apiaries lipomatosis stroma. We also noticed simultaneous launch of compensatory-adaptive processes in the endocrine pancreas in the form of hypertrophy of single islets of Langerhans. The rats in all groups are diagnosed as having identical tendencies of cytokines change; significant buildup of pro-inflammatory interleukin-12 and reduction of anti-inflammatory interleukin-4 which indicates predominant involvement in pathogenesis of violation of pancreas cell component of immune system. **Conclusions.** The results suggest that chronic stress of pregnant rats is a significant risk factor for future chronic pathology of the pancreas rats-offspring.

Keywords: chronic stress immobilization, pancreas, rats, interleukin, experiment.

ДИНАМИКА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ У ПОТОМСТВА КРЫС ВСЛЕДСТВИЕ ДЕЙСТВИЯ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА

О. В. Николаева, Е. А. Павлова, В. А. Сиренко, М. В. Ковальцова, И. А. Сулхдост

Харьковский национальный медицинский университет, Харьков, Украина

Проведено морфологическое и биохимическое исследование влияния хронического стресса матери на морфофункциональные особенности поджелудочной железы новорожденного, одномесячного и двухмесячного потомства. Обнаружено, что пренатальный стресс приводит к морфофункциональной перестройке поджелудочной железы крысиного потомства, с развитием стойких и прогрессирующих в динамике деструктивных изменений в ациноцитах и эндокриноцитах, к снижению морфофункциональной активности части клеточных элементов, к развитию гемодинамических нарушений у части животных. Выяснено, что у разновозрастного крысиного потомства наблюдается системный гуморальный ответ в виде дисбаланса цитокинов с преобладанием маркерного цитокина Th1-лимфоцитов (интерлейкина-12), что свидетельствует о вовлечении в патогенез повреждения поджелудочной железы клеточной цепи иммунитета. Установлено, что цитокиновый дисбаланс негативно влияет на внутриклеточный метаболизм панкреатитов, их экзокринную и эндокринную секреторную активность, и, вероятно, может еще больше усилить повреждения поджелудочной железы у экспериментальных животных.

Ключевые слова: ациноциты, эндокриноциты, иммобилизация, интерлейкины, крысята, эксперимент.

Середовище у якому розвивається плід, має рішуче значення для виживання і здоров'я людини. Ріст та розвиток плоду забезпечується багатьма нервовими та ендокринними механізмами регуляції фізіологічних функцій між матерю, плацентою та плодом [1, 2]. Процес розвитку органів і тканин плоду, в том числі й підшлункової залози (ПЗ), в значній мірі обумовлений комплексним впливом екзогенних факторів зовнішнього середовища і станом здоров'я матері [3, 4, 5]. За даними всесвітньої мирової літератури, вагітність на фоні соматичної патології здоров'я матері призводить до порушення нормального ембріогенезу [4, 6], а порушення функціонування системи мати-плацента-плід, яке спричинено наростаючим шкідливим впливом антропогенних факторів, особливо пренатальним стресом, на тварину і людину, може призвести до виникнення різної короткотривалій чи довготривалій патології [7, 8, 9], у том випадку й до змін у ПЗ [10, 11, 12]. Наразі, вплив пренатального стресу на стан ПЗ активно вивчається [13], відомо, стресорний вплив під час вагітності визиває гіперглікемію, яка посилює виробітку активних форм кислороду, що призводять до окислювального стресу, який приймає участь в діабетичному тератогенезі [14]; у сироватки крові визначено гіперглікемію та тлі зниження рівня глюкози [15]; визначена гіперглікемія, порушення толерантності до глюкози, кортекостеронемія, зниження маси тіла щурячого потомства [16, 17]; морфологічні зміни ПЗ та збільшення цитокінів TNF- α , IL-1 β , IL-6 [18], зниження секреції амілази та збільшення трипсину [19], та здатність стресу призвести до панкреатиту [20]. Проте ще багато аспектів цієї проблеми недостатньо з'ясовані. Зокрема, це стосується питань щодо динаміки особливостей морфофункціональних змін ПЗ та концентрації цитокінів у щурячого потомства.

Метою дослідження було охарактеризувати динаміку змін морфофункціонального стану ПЗ та з'ясувати баланс про- і протизапальних цитокінів у потомства, обумовлених дією хронічного стресу під час вагітності.

Матеріали і методи дослідження. Дослідження виконано на самцях-щурів популяції WAG/G Sto. Експериментальна група складалася з потомків самок, яким моделювали хронічний стрес, контрольна група – з одновікових потомків самок з нормальним перебігом вагітності.

Відтворення впливу стресового фактора на морфологію та функціональний стан ПЗ здійснювалось на оригінальній експериментальній моделі [21], згідно якої протягом $49,0 \pm 5,5$ днів щодня окрім неділі в різні часові інтервали щурів по одному розміщували в спеціальні клітки-пенали (розміром $6,0 \times 6,0 \times 23,0$ см), які складали в блоки для 5-ти тварин, так щоб кожен щур знаходився в тісному контакті та відчув присутність тварин-сусідів.

Виведення вагітних щурів з експерименту здійснювалося у перші години після народження потомства. Всі процедури на тваринах, а також виведення тварин з експерименту шляхом декапітації проводилися під анестезією з використанням тіопентального наркозу відповідно до національних «Загальних етичних принципів досліджень на тваринах» (Україна, 2001).

Матеріал для гістологічного та біохімічного дослідження брався в потомства щурів у динаміці: в періоді новонародженості та у віці 30 діб і 60 діб.

Гістологічні та гістохімічні методики виконували за прописами, викладеними в інструкціях гістологічної техніки та гістохімії [22]. Оцінка імунологічних порушень проводилась імуноферментним методом на підставі вивчення в сироватці крові рівнів інтерлейкіну-4 (ІЛ-4) за допомогою наборів реактивів фірми «Вектор БЕСТ» (Новосибірськ, Російська Федерація) та інтерлейкіну-12 (ІЛ-12) за допомогою наборів реактивів фірми (Elisa Kit) Ani Biotech Oy, Origenium laboratories Business Unit (Finland) за прикладеними інструкціями. Отримані результати статистично оброблені з використанням однофакторного дисперсійного аналізу [23].

Результати дослідження. Аналіз морфометричних показників структурних елементів ПЗ свідчить про те (таблиця 1), що у 100% новонароджених щурят спостерігається достовірне.

Морфометричні дані елементів підшлункової залози (M±m) щурят (n=10)

| Структурні елементи ПЗ | | Вік щурят | | |
|--------------------------------------------------|---------------|---------------|-----------------------------------------|---------------------------------------------------|
| | | Новонароджені | 1 місяць | 2 місяці |
| Паренхіма, % | Основна група | 62,2±1,2 | 65,5±1,2** | 72,3±1,7*** ($p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,004$) |
| | Контроль | 69,1±1,1 | 73,4±1,9 | 87,9±1,6 |
| Строма, % | Основна група | 37,8±1,2 | 34,4±1,2** | 27,6±1,7*** ($p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,004$) |
| | Контроль | 30,9±1,1 | 26,6±1,9 | 12,1±1,6 |
| Площа ацинусів, мкм ² | Основна група | 674,9±3,7*** | 713,5±2,1*** ($p_1 < 0,001$) | 747,9±2,4*** ($p_{1,2} < 0,001$) |
| | Контроль | 720,8±2,4 | 806,7±2,3 | 951,7±2,1 |
| Площа острівців Лангерганса, мкм ² | Основна | 4308±33*** | 4547,1*** ±36,9 ($p_1 < 0,001$) | 5397*** ±36,4 ($p_{1,2} < 0,001$) |
| | Контроль | 4572±19,3 | 6819±61,2 | 10684±43,8 |
| Кількість β-клітин у острівці | Основна | 57,1±10,3 | 120,6±9,4 ($p_1 < 0,001$) | 123,3±11,3 ($p_1 < 0,001$) |
| | Контроль | 67,8±12,4 | 139,5±14,7 | 149,4±16,4 |
| Кількість α-клітин у острівці | Основна | 20,5±7,2 | 43,2±10,2 ($p_1 = 0,006$) | 43,7±13,2 |
| | Контроль | 25,2±10,2 | 49,8±11,2 | 53,5±12,2 |

Примітки:

1. *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$ (порівняння з групою контролю).2. p_1 – порівняння з новонародженими тваринами; p_2 – порівняння з одномісячними тваринами.

Зменшення відносного обсягу паренхіми на 10,2% від показника групи порівняння, збільшення відносного обсягу стромы на 26,6% і зменшення середньої площі ацинусів на 6,4% ($p < 0,001$), встановлено зменшення площі островків Лангерганса на 8,2% ($p < 0,001$) за рахунок зменшення кількості у них β-клітин на 7,8% ($p < 0,001$) і α-клітин на 7,1% ($p < 0,001$). Подальше спостереження показало, що протягом наступних двох місяців життя в щурят відмічається негативна динаміка розвитку структурних елементів ПЗ.

Пренатальний стрес щур-самиць оказує значний негативний вплив на мікроскопічну будову екзо- та ендокринної частини ПЗ у щурят у постнатальному онтогенезі. Динаміка цих змін представлена у таблиці 2.

Динаміка морфологічних змін структурних елементів підшлункової залози щурят, народжених в умовах пренатального стресу (у % від кількості тварин)

| Морфологічні зміни ПЗ | Вік щурят | | |
|--------------------------------------------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| | Новонароджені | 1 місяць | 2 місяці |
| Стан паренхіми | | | |
| Незрілість паренхіми | 100*** | 100*** | 100*** |
| Стан строми | | | |
| Незрілість строми | 100*** | 100*** | 100*** |
| Набряк сполучної тканини | 100*** | 100*** | 100*** |
| Виражене повнокров'я сполучної тканини | 100*** ($p_3 < 0,001$) | 100*** ($p_3 < 0,001$) | 0 |
| Ліпоматоз внутрішньо- та міжчасточковий | 0 | 0 | 100*** ($p_{1,2} < 0,001$) |
| Порушення гемодинаміки: судини розширені, переповнені кров'ю, стаз | 40±15,5* | 60±15,5** | 60±15,5** |
| Порушення гемодинаміки: плазморагії, діapedезні крововиливи | 0 | 0 | 60±15,5** ($p_{1,2} = 0,001$) |
| Стан екзокринної частини ПЗ | | | |
| Вакуольна дистрофія цитоплазми | 100*** | 40±15,5* ($p_1 < 0,001$) | 40±15,5* ($p_1 < 0,001$) |
| Каріопікноз, -рексис, -лізис | 50±15,8** | 50±15,8** | 50±15,8** |
| Стан ендокринної частини ПЗ | | | |
| Візуальне зменшення кількості ОЛ, неправильна форма ОЛ | 100*** | 100*** | 100*** |
| Гіпертрофія ОЛ (крупні ОЛ) | 100*** | 100*** | 100*** |
| Вакуольна дістрофія цитоплазми α - та β -клітин | 100*** ($p_{2,3} < 0,001$) | 50±15,8** ($p_{1,3} < 0,001$) | 0 |
| Каріопікноз, - рексис α -клітин | 50±15,8** | 20±12,6 | 20±12,6 |
| Каріопікноз, - рексис β -клітин | 50±15,8** | 50±15,8** | 50±15,8** |

Примітки:

1. *** $p < 0,001$, * $p < 0,05$ (порівняння з групою контролю).
2. p_1 – порівняння з групою новонароджених щурят; p_2 – порівняння з групою одномісячних щурят, p_3 – порівняння з групою двомісячних щурят.

За даними літератури, дисбаланс про- та протизапальних цитокинів має велике прогностичне значення для розвитку неінфекційної патології різних органів і систем [24]. Цитокини регулюють силу та тривалість імунної відповіді, а також патофізіологічні порушення, які виникають в тканинах, як при екзогеном проникненні патогенів, так і при ендогенних порушеннях цілісності тканин [25].

Оскільки, що при морфологічному дослідженні нами були виявлені структурні зміни як у екзокринній, так і в ендокринній частині ПЗ щурят, причому виражені зміни у ПЗ мають місце вже в періоді новонародженості. А також, враховуючи те, що не дивлячись на фізіологічні умови перебування щурят (без дії стресорів), у подальшому житті (протягом 2-х місяців) вроджені морфологічні порушення не тільки не ліквідуються, а, навпаки, посилюються. Тому, доцільно дослідити рівень цитокінів у наших експериментальних тваринах.

Порівняння частоти виникнення змін рівня цитокінів у крові щурят від матерів, які перебували в умовах хронічного стресу показало їх ідентичність у різних вікових групах, які полягають у сполученні збільшення вмісту ІЛ-12 і зниженні вмісту ІЛ-4 (таблиця 3).

Таблиця 3

Порівняння частоти виникнення змін рівня цитокінів у крові щурят, які перенесли пренатальний стрес (у % від кількості тварин)

| Показники | Динаміка рівня | Вік (групи) щурят | |
|-----------|----------------|-------------------|-----------|
| | | 1-місячні | 2-місячні |
| ІЛ-12 | Підвищення | 100* | 100* |
| | Зниження | 0 | 0 |
| | Норма | 0 | 0 |
| ІЛ-4 | Підвищення | 0 | |
| | Зниження | 100* | 90±9,5* |
| | Норма | 0 | 10±9,5 |

Примітка: * $p < 0,001$ (порівняння з групою контролю).

Середній вміст ІЛ-12 у одномісячних щурят, які народжені в умовах пренатального стресу складає $29,9 \pm 0,8$ пкг (контроль $22,2 \pm 0,6$ пкг), при цьому рівень ІЛ-4 дорівнює $1,6 \pm 0,09$ пкг/мл (контроль $3,5 \pm 0,1$ пкг/мл). При досягненні тваринами двомісячного віку, рівень ІЛ-12 досягає $31 \pm 0,3$ пкг (контроль $15,6 \pm 0,9$ пкг), а ІЛ-4 відповідно $3,1 \pm 0,07$ пкг/мл (контроль $3,8 \pm 0,1$ пкг/мл). Зіставлення середнього рівня цитокінів у одно- і двомісячних щурят основної групи показало, що у останніх відбувається достовірне збільшення вмісту ІЛ-12 в порівнянні з таким у одномісячних щурят на 63,2% ($p < 0,001$). Слід зазначити, що у 2-місячного потомства щурів основної групи спостерігається виразна динаміка збільшення рівня ІЛ-4 на 36,4% ($p < 0,001$). Представлені дані свідчать про те, що найбільш виражений цитокіновий дисбаланс має місце у одномісячних щурят.

Таким чином, у експериментальних тварин, які перенесли пренатальний хронічний стрес виявлено динамічне порушення рівноваги цитокінів Th1 і Th2, які забезпечують пластичність

гуморальної та клітинної імунної відповіді, що напевно додатково призводить до змін у морфофункціональному стані ПЗ.

Висновки. Оцінка результатів проведеного комплексного дослідження дозволяє заключити, що пренатальний стрес призводить до морфофункціональної перебудови ПЗ у щурячого потомства, з розвитком деструктивних змін у екзо- та ендокриноцитах, зі зниженням морфофункціональної активності частини клітинних елементів, а також гемодинамічними порушеннями. У потомства, народжених від щурів, які перенесли хронічний стрес протягом вагітності спостерігається системна гуморальна відповідь у вигляді дисбалансу про- і протизапальних цитокінів з переважанням маркерного цитокіна Th1-лімфоцитів (ІЛ-12), що свідчить про переважне залучення в патогенез ушкодження ПЗ клітинної ланки імунітету. Це, безумовно, негативно позначається на внутрішньоклітинному метаболізмі панкреатитів, їх екзо- та ендокринної секреторної активності, що може ще більше посилити пошкодження ПЗ у експериментальних тварин.

Бібліографічні посилання

1. Riis J.L., Granger D.A., Minkovitz C.S., Bandeen-Roche K., DiPietro J.A., Johnson S.B.: Maternal distress and child neuroendocrine and immune regulation. *Soc. Sci. Med.* 2016 Feb;151:206-14. doi: 10.1016/j.socscimed.2015.12.043. Epub 2016 Jan 5.
2. Nielsen J.H., Haase T.N., Jaksch C., Nalla A., Søstrup B., Nalla A.A., Larsen L., Rasmussen M., Dalgaard L.T., Gaarn L.W., Thams P., Kofod H., Billestrup N.: Impact of fetal and neonatal environment on beta cell function and development of diabetes. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2014 Nov;93(11):1109-22. doi: 10.1111/aogs.12504. Epub 2014 Oct 10.
3. Sun S., Tian L., Qiu H., Chan K.P., Tsang H., Tang R., Lee R.S., Thach T.Q., Wong C.M.: The influence of pre-existing health conditions on short-term mortality risks of temperature: Evidence from a prospective Chinese elderly cohort in Hong Kong. *Environ. Res.* 2016 Mar 16;148:7-14. doi: 10.1016/j.envres.2016.03.012.
4. И. В. Сорокина Морфологические особенности поджелудочной железы мертворожденных от ВИЧ-инфицированных матерей / И. В. Сорокина, С. А. Шерстюк // Вісник проблем біології і медицини – 2011 – Вип. 2, Т. 1 стр. 199-202
5. Chavey A., Ah Kioon M.D., Bailbé D., Movassat J., Portha B.: Maternal diabetes, programming of beta-cell disorders and intergenerational risk of type 2 diabetes. *Diabetes Metab.* 2014 Nov;40(5):323-30. doi: 10.1016/j.diabet.2014.02.003. Epub 2014 Jun 16.
6. E. Hajj N., Schneider E., Lehnen H., Haaf T.: Epigenetics and life-long consequences of an adverse nutritional and diabetic intrauterine environment. *Reproduction.* 2014 Dec;148(6):R111-20. doi: 10.1530/REP-14-0334. Epub 2014 Sep 3.

7. Abbasi I.S.: The Role of Neuroticism in the Maintenance of Chronic Baseline Stress Perception and Negative Affect. *Span J. Psychol.* 2016 Mar 4;19:E9. doi: 10.1017/sjp.2016.7.
8. Mairesse J., Silletti V., Laloux C., Zuena A.R., Giovine A., Consolazione M., van Camp G., Malagodi M., Gaetani S., Cianci S., Catalani A., Mennuni G., Mazzetta A., van Reeth O., Gabriel C., Mocaër E., Nicoletti F., Morley-Fletcher S., Maccari S. Chronic agomelatine treatment corrects the abnormalities in the circadian rhythm of motor activity and sleep/wake cycle induced by prenatal restraint stress in adult rats. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 2013 Mar;16(2):323-38. doi: 10.1017/S1461145711001970. Epub 2012 Feb 6.
9. Zuena A.R., Mairesse J., Casolini P., Cinque C., Alemà G.S., Morley-Fletcher S., Chiodi V., Spagnoli L.G., Gradini R., Catalani A., Nicoletti F., Maccari S. Prenatal restraint stress generates two distinct behavioral and neurochemical profiles in male and female rats. *PLoS One.* 2008 May 14;3(5):e2170. doi: 10.1371/journal.pone.0002170.
10. Amy E.B. Packard , Sriparna Ghosal, James P. Herman, Stephen C. Woods, Yvonne M. Ulrich-Lai: Chronic variable stress improves glucose tolerance in rats with sucrose-induced prediabetes, *Psychoneuroendocrinology*, Volume 47, September 2014, Pages 178-188
11. Ergaz Z., Neeman-Azulay M., Weinstein-Fudim L., Weksler-Zangen S., Shoshani-Dror D., Szyf M., Ornoy A.: Diabetes in the Cohen Rat Intensifies the Fetal Pancreatic Damage Induced by the Diabetogenic High Sucrose Low Copper Diet. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* 2016 Feb;107(1):21-31. doi: 10.1002/bdrb.21169. Epub 2016 Jan 7.
12. Hanafi MY, Saleh MM, Saad MI, Abdelkhalek TM, Kamel MA.: Transgenerational effects of obesity and malnourishment on diabetes risk in F2 generation. *Mol Cell Biochem.* 2016 Jan;412(1-2):269-80. doi: 10.1007/s11010-015-2633-6.
13. Brandy A. Wicklow, Elizabeth A.C. Sellers: Maternal health issues and cardio-metabolic outcomes in the offspring: A focus on Indigenous populations Original Research Article, *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, Volume 29, Issue 1, January 2015, Pages 43-53
14. Damasceno D.C., Netto A.O., Iessi I.L., Gallego F.Q., Corvino S.B., Dallaqua B., Sinzato Y.K., Bueno A., Calderon I.M., Rudge M.V.: Streptozotocin-induced diabetes models: pathophysiological mechanisms and fetal outcomes. *Biomed Res Int.* 2014; 2014:819065. doi: 10.1155/2014/819065. Epub 2014 May 27.
15. Liang B., Zheng X., Xia W.W., Ding Y., Zhang W., Zhou X.: Establishment of chronic constraint stress animal model and its application in the study of hyperglycemia, *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2013 May; 44(3):470-5.
16. Lesage J., Del-Favero F., Leonhardt M., Louvart H., Maccari S., Vieau D., Darnaudery M.: Prenatal stress induces intrauterine growth restriction and programmes glucose intolerance and feeding behaviour disturbances in the aged rat. *J. Endocrinol.* 2004 May;181(2):291-6.

17. Wang J.Y. Extracts of black bean peel and pomegranate peel ameliorate oxidative stress-induced hyperglycemia in mice / J.Y. Wang, C. Zhu, T.W. Qian, H. Guo // *Exp. Ther. Med.* – 2015. – № 9 (1). – P. 43-48.

18. Uslukaya O., Turkoglu A., Yazgan U.C., Kaplan I., Ibiloglu I., Kapan M., Gumus M.: The effects of roflumilast on the pancreas and remote organs in a cerulein-induced experimental acute pancreatitis model in rats. *Surg Today*. 2016 Mar 16.

19. Binker M.G., Binker-Cosen A.A., Richards D., Gaisano H.Y., de Cosen R.H., Cosen-Binker L.I.: Chronic stress sensitizes rats to pancreatitis induced by cerulein: role of TNF- α . *World J Gastroenterol*. 2010 Nov 28;16(44):5565-81.

20. Binker M.G., Cosen-Binker L.I.: Acute pancreatitis: the stress factor. *World J Gastroenterol*. 2014 May 21;20(19):5801-7. doi: 10.3748/wjg.v20.i19.5801.

21. Пат. 82414 UA, A61D 99/00, G09B 23/28 (2006.01) Спосіб моделювання хронічного іммобілізаційного стресу / Ніколаєва О.В., Ковальова М.В., Євтушенко Т.Г. (UA); заявник Харківський національний медичний університет (UA). - № у 2013 03868, заявл. 29.03.2013; опубл. 25.07.2013. Бюл. № 14. – 4 с.

22. Меркулов Г.А. Курс патологогистологической техники. – М.: Медицина, 1961. – 339 с.; Микроскопическая техника: Руководство / Под ред. Д.С.Саркисова, Ю.Л.Перова. – М.: Медицина, 1996. – 544 с.

23. Гланц, С. Медико-біологічна статистика / С. Гланц; з англ. С. Гланц. – М.: Практика, 1998. – 459 с.

24. Tsuji M., Koriyama C., Yamamoto M., Anan A., Shibata E., Kawamoto T. The association between maternal psychological stress and inflammatory cytokines in allergic young children. *PeerJ*. 2016 Jan 18;4:e1585. doi: 10.7717/peerj.1585. eCollection 2016.

25. do Prado C.H., Narahari T., Holland F.H., Lee H.N., Murthy S.K., Brenhouse H.C. Effects of early adolescent environmental enrichment on cognitive dysfunction, prefrontal cortex development, and inflammatory cytokines after early life stress. *Dev. Psychobiol*. 2015 Dec 21. doi: 10.1002/dev.21390.

References

1. Riis J.L., Granger D.A., Minkovitz C.S., Bandeen-Roche K., DiPietro J.A., Johnson S.B.: Maternal distress and child neuroendocrine and immune regulation. *Soc. Sci. Med.* 2016 Feb;151:206-14. doi: 10.1016/j.socscimed.2015.12.043. Epub 2016 Jan 5.

2. Nielsen J.H., Haase T.N., Jaksch C., Nalla A., Søstrup B., Nalla A.A., Larsen L., Rasmussen M., Dalgaard L.T., Gaarn L.W., Thams P., Kofod H., Billestrup N.: Impact of fetal and neonatal

environment on beta cell function and development of diabetes. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2014 Nov;93(11):1109-22. doi: 10.1111/aogs.12504. Epub 2014 Oct 10.

3. Sun S., Tian L., Qiu H., Chan K.P., Tsang H., Tang R., Lee R.S., Thach T.Q., Wong C.M.: The influence of pre-existing health conditions on short-term mortality risks of temperature: Evidence from a prospective Chinese elderly cohort in Hong Kong. *Environ. Res.* 2016 Mar 16;148:7-14. doi: 10.1016/j.envres.2016.03.012.

4. I.V. Sorokina, S. A. SHERstyuk Morfologicheskie osobennosti podzheludochnoj zhelezy mertvorozhdennyh ot VICH-inficirovannyh materej *Visnik problem biologii i medicini*, 2011, Vip. 2, T. 1 str. 199-202 [in Ukrainian].

5. Chavey A., Ah Kioon M.D., Bailbé D., Movassat J., Portha B.: Maternal diabetes, programming of beta-cell disorders and intergenerational risk of type 2 diabetes. *Diabetes Metab.* 2014 Nov;40(5):323-30. doi: 10.1016/j.diabet.2014.02.003. Epub 2014 Jun 16.

6. E. Hajj N., Schneider E., Lehnen H., Haaf T.: Epigenetics and life-long consequences of an adverse nutritional and diabetic intrauterine environment. *Reproduction.* 2014 Dec;148(6):R111-20. doi: 10.1530/REP-14-0334. Epub 2014 Sep 3.

7. Abbasi I.S.: The Role of Neuroticism in the Maintenance of Chronic Baseline Stress Perception and Negative Affect. *Span J. Psychol.* 2016 Mar 4;19:E9. doi: 10.1017/sjp.2016.7.

8. Mairesse J., Silletti V., Laloux C., Zuena A.R., Giovine A., Consolazione M., van Camp G., Malagodi M., Gaetani S., Cianci S., Catalani A., Mennuni G., Mazzetta A., van Reeth O., Gabriel C., Mocaër E., Nicoletti F., Morley-Fletcher S., Maccari S. Chronic agomelatine treatment corrects the abnormalities in the circadian rhythm of motor activity and sleep/wake cycle induced by prenatal restraint stress in adult rats. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 2013 Mar;16(2):323-38. doi: 10.1017/S1461145711001970. Epub 2012 Feb 6.

9. Zuena A.R., Mairesse J., Casolini P., Cinque C., Alemà G.S., Morley-Fletcher S., Chiodi V., Spagnoli L.G., Gradini R., Catalani A., Nicoletti F., Maccari S. Prenatal restraint stress generates two distinct behavioral and neurochemical profiles in male and female rats. *PLoS One.* 2008 May 14;3(5):e2170. doi: 10.1371/journal.pone.0002170.

10. Amy E.B. Packard , Sriparna Ghosal, James P. Herman, Stephen C. Woods, Yvonne M. Ulrich-Lai: Chronic variable stress improves glucose tolerance in rats with sucrose-induced prediabetes, *Psychoneuroendocrinology*, Volume 47, September 2014, Pages 178-188

11. Ergaz Z., Neeman-Azulay M., Weinstein-Fudim L., Weksler-Zangen S., Shoshani-Dror D., Szyf M., Ornoy A.: Diabetes in the Cohen Rat Intensifies the Fetal Pancreatic Damage Induced by the Diabetogenic High Sucrose Low Copper Diet. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* 2016 Feb;107(1):21-31. doi: 10.1002/bdrb.21169. Epub 2016 Jan 7.

12. Hanafi MY, Saleh MM, Saad MI, Abdelkhalek TM, Kamel MA.: Transgenerational effects of obesity and malnourishment on diabetes risk in F2 generation. *Mol Cell Biochem.* 2016 Jan;412(1-2):269-80. doi: 10.1007/s11010-015-2633-6.
13. Brandy A. Wicklow, Elizabeth A.C. Sellers: Maternal health issues and cardio-metabolic outcomes in the offspring: A focus on Indigenous populations Original Research Article, *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, Volume 29, Issue 1, January 2015, Pages 43-53
14. Damasceno D.C., Netto A.O., Jessi I.L., Gallego F.Q., Corvino S.B., Dallaqua B., Sinzato Y.K., Bueno A., Calderon I.M., Rudge M.V.: Streptozotocin-induced diabetes models: pathophysiological mechanisms and fetal outcomes. *Biomed Res Int.* 2014; 2014:819065. doi: 10.1155/2014/819065. Epub 2014 May 27.
15. Liang B., Zheng X., Xia W.W., Ding Y., Zhang W., Zhou X.: Establishment of chronic constraint stress animal model and its application in the study of hyperglycemia, *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2013 May; 44(3):470-5.
16. Lesage J., Del-Favero F., Leonhardt M., Louvart H., Maccari S., Vieau D., Darnaudery M.: Prenatal stress induces intrauterine growth restriction and programmes glucose intolerance and feeding behaviour disturbances in the aged rat. *J. Endocrinol.* 2004 May;181(2):291-6.
17. Wang J.Y. Extracts of black bean peel and pomegranate peel ameliorate oxidative stress-induced hyperglycemia in mice / J.Y. Wang, C. Zhu, T.W. Qian, H. Guo // *Exp. Ther. Med.* – 2015. – № 9 (1). – P. 43-48.
18. Uslukaya O., Turkoglu A., Yazgan U.C., Kaplan I., Ibiloglu I., Kapan M., Gumus M.: The effects of roflumilast on the pancreas and remote organs in a cerulein-induced experimental acute pancreatitis model in rats. *Surg Today.* 2016 Mar 16.
19. Binker M.G., Binker-Cosen A.A., Richards D., Gaisano H.Y., de Cosen R.H., Cosen-Binker L.I.: Chronic stress sensitizes rats to pancreatitis induced by cerulein: role of TNF- α . *World J Gastroenterol.* 2010 Nov 28;16(44):5565-81.
20. Binker M.G., Cosen-Binker L.I.: Acute pancreatitis: the stress factor. *World J Gastroenterol.* 2014 May 21;20(19):5801-7. doi: 10.3748/wjg.v20.i19.5801.
21. Nikolaeva, O.V., & Kovaltsova, M.V., & Evtysenko T.G. (2013). Sposib modeluvannj immobilization chronic stress [Sposib modelyuvannya chronichnogo imobilizacynogo stresy] *Pat. 82414 UA, A61D 99/00, G09B 23/28.* – *Bul.*, 14, 4 [in Ukrainian].
22. Merculov, G.A. (1998) *Kyrs patologogistologicheskoy texniki [Course of patologogistologicheskoy technology]*. Moskov [in Russian].
23. Glans, S (1998). *Mediko-biologicheskay statistika [Of Biomedical Statistics]*. Moskov [in Russian].

24. Tsuji M., Koriyama C., Yamamoto M., Anan A., Shibata E., Kawamoto T. The association between maternal psychological stress and inflammatory cytokines in allergic young children. *PeerJ*. 2016 Jan 18;4:e1585. doi: 10.7717/peerj.1585. eCollection 2016.

25. do Prado C.H., Narahari T., Holland F.H., Lee H.N., Murthy S.K., Brenhouse H.C. Effects of early adolescent environmental enrichment on cognitive dysfunction, prefrontal cortex development, and inflammatory cytokines after early life stress. *Dev. Psychobiol.* 2015 Dec 21. doi: 10.1002/dev.21390.