

АНОТАЦІЯ

Балацький В.А. Взаємозв'язок між оксидативним стресом і запаленням у мишачій моделі посттравматичного стресового розладу. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія. – Карпатський національний університет імені Василя Стефаника, Міністерство освіти і науки України, Івано-Франківськ, 2026.

Посттравматичний стресовий розлад (ПТСР) – це хронічний психічний розлад, що виникає внаслідок впливу травматичних стресових чинників і супроводжується стійкими порушеннями емоційного стану, поведінкових реакцій та когнітивних функцій. ПТСР є поширеним розладом близько 3,9% населення світу пережили цей розлад, а загалом шанс його розвитку після переживання травматичної події становить за різними даними близько 10%. ПТСР є серйозною медико-соціальною проблемою, зокрема серед осіб, які зазнали насильства, техногенних катастроф, бойових дій або інших екстремальних подій.

Для вивчення патофізіологічних основ ПТСР широко застосовуються тваринні моделі, що дозволяють відтворювати різні типи стресових чинників і досліджувати їхній вплив на поведінкові реакції, нейробиологічні процеси, запалення та оксидативний стрес. У таких моделях використовують різні стресори фізичної, психологічної та комбінованої природи, які імітують травматичний досвід.

Водночас, незважаючи на значну кількість експериментальних досліджень, механізми розвитку ПТСР залишаються недостатньо з'ясованими. Зокрема, досі не повністю досліджено, які саме біохімічні та поведінкові зміни індукуються травматичними чинниками різної природи, а також яким чином ці зміни залежать від типу, інтенсивності та часу стресового впливу.

Дисертація присвячена вивченню поведінкових, біохімічних та молекулярно-біологічних змін, які виникають у мишей під впливом різних типів

стресових чинників, дія яких імітує розвиток симптомів ПТСР. З огляду на зростання поширеності ПТСР внаслідок збільшення кількості екстремальних подій, таких як війни, пандемії та соціальні кризи, вивчення механізмів цього розладу набуває особливої актуальності.

Метою роботи було дослідити взаємозв'язок між оксидативним стресом, запальними процесами та поведінковими змінами у мишачих моделях посттравматичного стресового розладу, індукованого різними типами стресових чинників.

Для моделювання ПТСР застосовували низку стресорів: тривалу соціальну ізоляцію (5 місяців), імобілізацію (2 години, гострий стрес), електростимуляцію стопи, звук хижака та одноразовий тривалий стрес, який включав комбінацію знерухомлення (2 години) та примусового плавання (10 хвилин), після яких миші піддавались впливу диетилового ефіру до втрати свідомості. Мишей евтаназували через два місяці після дії стресу. Поведінкові та біохімічні показники оцінювали у мишей через короткі (2 тижні) та тривалі (до 5 місяців) інтервали після впливу стресору. Комплексний підхід дав змогу проаналізувати довготривалі наслідки дії різних стресових чинників з врахуванням вікових та статевих особливостей тварин.

Поведінкові порушення у мишей оцінювали за допомогою тесту відкритого поля, піднесеного плюс лабіринту, тесту на перевагу сахарози та тесту спонтанного чергування в Т-лабіринті. Біохімічні аналізи охоплювали визначення активності антиоксидантних ферментів (каталази, супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази тощо), рівнів пероксидів ліпідів, а також маркерів запалення у крові, печінці та мозку. Окрім того, визначали активність параоксонази (ПОН) та мієлопероксидази (МПО) та рівень інтерлейкіну-1 β (ІЛ-1 β) у крові. Додатково застосовували методи ПЛР у реальному часі для аналізу експресії генів, які пов'язані зі стресом, запаленням і редокс-гомеостазом у корі головного мозку.

На першому етапі дослідження було проаналізовано довготривалі ефекти фізичних, соціальних і психологічних стресорів, зокрема знерухомлення, впливу

звучу хижака та соціальної ізоляції, з оцінкою наслідків у віддалені терміни (до 5 місяців). Показано, що найбільш виражені поведінкові зміни, подібні до симптомів посттравматичного стресового розладу, формуються за дії соціальної ізоляції та звучу хижака і проявляються зниженням дослідницької активності, підвищеною тривожністю та уникненням відкритих просторів.

Встановлено, що ці зміни супроводжуються активацією запальної відповіді (зростання рівня ІЛ-1 β), змінами гематологічних показників та пригніченням антиоксидантної системи, що проявляється зниженням активності відповідних ферментів у крові (МПО, ПОН). При цьому хронічний соціальний стрес викликає більш виражені імунні зрушення порівняно з гострими впливами, тоді як усі типи стресорів супроводжуються зниженням редокс-потенціалу організму та ознаками оксидативного стресу. Окрім того показано що у корі головного мозку жодної різниці у активності ферментів антиоксидантного захисту та кількості пероксидів ліпідів виявлено не було. Аналіз експресії генів у корі головного мозку методом ПЛР у реальному часі показав, що стресові впливи супроводжуються специфічними змінами транскриптів генів, пов'язаних із регуляцією стресової відповіді, запалення та метаболізму. Зокрема, виявлено підвищення рівнів мРНК генів *SGK1*, *PPARGC1A* та *SHANK1*, які залучені до глюкокортикоїдної сигналізації та енергетичного метаболізму, а також збільшення експресії *FKBP5* за умов хронічного соціального стресу. Водночас спостерігалось зниження експресії генів, пов'язаних з імунною відповіддю та детоксикаційними процесами, зокрема *CCL2* і *CYP1A1*. Отримані дані свідчать, що стрес індукує довготривалі зміни транскрипційної регуляції, пов'язані з активацією глюкокортикоїд-залежних механізмів та перебудовою метаболічних і запальних процесів у мозку.

На другому етапі роботи досліджено вікові та статеві особливості впливу одноразового тривалого стресу на поведінкові, гематологічні та біохімічні показники у мишей. Показано, що реакція на стрес суттєво залежить від віку та статі тварин: молоді самці демонструють виражену тривожну поведінку, тоді як у молодих самок і старих самців більшою мірою порушуються когнітивні

функції, зокрема пам'ять. Отримані результати свідчать про диференційовану чутливість поведінкових і метаболічних систем до стресу, що визначає варіабельність проявів ПТСР-подібних станів. Це вказує на існування різних механізмів нейробиологічної адаптації до стресу, які залежать від вікових та статевих особливостей організму і можуть визначати індивідуальну чутливість до розвитку ПТСР-подібних станів.

На третьому етапі роботи вивчено поведінкові та метаболічні ефекти стресу, індукованого електричною стимуляцією, якої тварини могли уникнути. Цей експеримент проводився за наступним протоколом: на 0 та 1 дні експерименту миші піддавались ударам лап електричним струмом, які передавались через підключену до генератора електричних стимулів металеву сітчасту підлогу. Сила струму становила 0.8 мА, тривалість процедури з адаптацією мишей до клітки становила 8 хвилин. Кількість ударів струмом 15, тривалість та інтервали між ударами становили 10 секунд. Окрім того камера була обладнана двома паралельно розташованими ізоляційними планками для надання мишам можливості уникнення частини стимулів. Встановлено, що навіть короткочасний вплив такого стресора призводить до незначних порушень метаболічного гомеостазу, зокрема змін рівнів глюкози, триацилгліцеролів і білка, які супроводжуються розвитком поведінкових порушень. Проте ці порушення не настільки сильно виражені як при неконтрольованих стресах, тому можна зробити висновок, що можливість уникання стресу позитивно впливає на загальний стан організму.

Таким чином, протестовані моделі ПТСР у мишей показують не лише поведінкові, а й глибокі метаболічні та молекулярні порушення. Отримані результати свідчать, що ключову роль у формуванні ПТСР-подібних станів відіграє взаємодія між оксидативним стресом і запальними процесами, які можуть взаємно потенціювати один одного. Виявлені зміни мають системний характер і охоплюють як периферичні тканини, так і центральну нервову систему. Результати роботи підтверджують важливу роль порушення редокс-гомеостазу у патогенезі ПТСР та можуть слугувати основою для подальших

досліджень механізмів нейропротекції та адаптації організму до дії стресових чинників.

Ключові слова: посттравматичний стресовий розлад (ПТСР), миші, поведінкові тести, тривожність, запалення, оксидативний стрес, антиоксидантні ферменти, експресія генів, головний мозок, енергетичний метаболізм, біохімія крові, гематологія, карбонільні групи білків, відповідь на стрес, статеві та вікові відмінності.

ANNOTATION

Balatskyi V.A. The relationship between oxidative stress and inflammation in a mouse model of post-traumatic stress disorder. – Qualification scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis for the degree of Doctor of Philosophy in the specialty 091 Biology. – Vasyl Stefanyk Carpathian National University, Ministry of Education and Science of Ukraine, Ivano-Frankivsk, 2026.

Post-traumatic stress disorder (PTSD) is a chronic mental disorder that arises as a result of exposure to traumatic stressors and is accompanied by persistent disturbances in emotional state, behavioral reactions, and cognitive functions. PTSD is a common disorder; approximately 3.9% of the world's population has experienced it, and overall, the likelihood of developing it after experiencing a traumatic event is approximately 10%, according to various sources. PTSD is a serious medical and social problem, particularly among individuals who have experienced violence, man-made disasters, combat, or other extreme events.

Animal models are widely used to study the pathophysiological basis of PTSD, as they allow for the recreation of various types of stressors and the investigation of their impact on behavioral responses, neurobiological processes, inflammation, and oxidative stress. These models employ various physical, psychological, and combined stressors that mimic traumatic experiences.

At the same time, despite a significant number of experimental studies, the mechanisms underlying PTSD development remain poorly understood. In particular, it

has not yet been fully investigated which specific biochemical and behavioral changes are induced by traumatic factors of various types, nor how these changes depend on the type, intensity, and duration of the stressor.

This dissertation is dedicated to studying the behavioral, biochemical, and molecular biological changes that occur in mice under the influence of various types of stressors, the effects of which mimic the development of PTSD symptoms. Given the rising prevalence of PTSD due to an increase in extreme events such as wars, pandemics, and social crises, studying the mechanisms of this disorder is of particular relevance.

The aim of this study was to investigate the relationship between oxidative stress, inflammatory processes, and behavioral changes in mouse models of post-traumatic stress disorder induced by various types of stressors.

To model PTSD, a series of stressors were applied: prolonged social isolation (5 months), immobilization (2 hours, acute stress), foot electrostimulation, predator sounds, and a single prolonged stressor involving a combination of immobilization (2 hours) and forced swimming (10 minutes), after which the mice were exposed to diethyl ether until loss of consciousness. The mice were euthanized two months after the stressor was applied. Behavioral and biochemical parameters were assessed in the mice at short (2 weeks) and long (up to 5 months) intervals following stressor exposure. This comprehensive approach allowed us to analyze the long-term effects of various stressors, taking into account the animals' age and sex.

Behavioral abnormalities in the mice were assessed using the open-field test, the elevated plus maze, the sucrose preference test, and the spontaneous alternation test in the T-maze. Biochemical analyses included the determination of antioxidant enzyme activity (catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, etc.), lipid peroxide levels, and markers of inflammation (IL-1 β) in blood and liver. In addition, the activity of paraoxonase (PON) and myeloperoxidase (MPO) in the blood was determined. Furthermore, real-time PCR methods were used to analyze the expression of genes associated with stress, inflammation, and redox homeostasis in the cerebral cortex.

In the first phase of the study, the long-term effects of physical, social, and psychological stressors—specifically immobilization, predator sounds, and social isolation—were analyzed, with an assessment of the long-term consequences (up to 5 months). It was shown that the most significant behavioral changes, similar to symptoms of post-traumatic stress disorder, develop under the influence of social isolation and predator sounds and manifest as reduced exploratory activity, increased anxiety, and avoidance of open spaces.

It was established that these changes are accompanied by activation of the inflammatory response (increased IL-1 β levels), changes in hematological parameters, and suppression of the antioxidant system, manifested by a decrease in the activity of the corresponding enzymes in the blood (MPO, PON). At the same time, chronic social stress causes more pronounced immune shifts compared to acute stressors, while all types of stressors are accompanied by a decrease in the body's redox potential and signs of oxidative stress. Furthermore, it was shown that no differences in the activity of antioxidant defense enzymes or the levels of lipid peroxides were detected in the cerebral cortex. Analysis of gene expression in the cerebral cortex using real-time PCR revealed that stressors are accompanied by specific changes in the transcripts of genes involved in the regulation of the stress response, inflammation, and metabolism. In particular, increased levels of mRNA for the *SGK1*, *PPARGC1A*, and *SHANK1* genes – which are involved in glucocorticoid signaling and energy metabolism – were detected, as well as increased expression of *FKBP5* under conditions of chronic social stress. At the same time, a decrease in the expression of genes associated with the immune response and detoxification processes was observed, specifically *CCL2* and *CYP1A1*. The data indicate that stress induces long-term changes in transcriptional regulation associated with the activation of glucocorticoid-dependent mechanisms and the reorganization of metabolic and inflammatory processes in the brain.

In the second stage of the study, age- and sex-specific features of the effects of a single prolonged stressor on behavioral, hematological, and biochemical parameters in mice were investigated. It was shown that the stress response significantly depends

on the age and sex of the animals: young males exhibit pronounced anxiety-like behavior, whereas in young females and older males, cognitive functions, particularly memory, are more severely impaired. The results indicate a differentiated sensitivity of behavioral and metabolic systems to stress, which accounts for the variability in the manifestations of PTSD-like states. This points to the existence of different mechanisms of neurobiological adaptation to stress, which depend on the organism's age- and sex-specific characteristics and may determine individual susceptibility to the development of PTSD-like states.

In the third stage of the study, we examined the behavioral and metabolic effects of stress induced by electrical stimulation, which the animals could avoid. This experiment was conducted according to the following protocol: on days 0 and 1 of the experiment, the mice were subjected to electric shocks to their paws, which were transmitted through a metal mesh floor connected to an electrical stimulus generator. The current strength was 0.8 mA, and the duration of the procedure, including the mice's adaptation to the cage, was 8 minutes. The number of electric shocks was 15, with a duration and interval of 10 seconds between shocks. Additionally, the chamber was equipped with two parallel insulating bars to allow the mice to avoid some of the stimuli. It was found that even brief exposure to such a stressor leads to minor disturbances in metabolic homeostasis, specifically changes in glucose, triacylglycerol, and protein levels, which are accompanied by the development of behavioral disturbances. However, these disturbances are not as pronounced as in uncontrolled stress conditions, so it can be concluded that the ability to avoid stress has a positive effect on the overall condition of the organism.

Thus, the tested PTSD models in mice reveal not only behavioral but also profound metabolic and molecular disturbances. The results indicate that the interaction between oxidative stress and inflammatory processes, which can mutually potentiate each other, plays a key role in the development of PTSD-like states. The identified changes are systemic in nature and affect both peripheral tissues and the central nervous system. The results of this study confirm the important role of redox homeostasis disruption in the pathogenesis of PTSD and may serve as a basis for

further research into the mechanisms of neuroprotection and the body's adaptation to stressors.

Keywords: post-traumatic stress disorder (PTSD), mice, behavioral tests, anxiety, inflammation, oxidative stress, antioxidant enzymes, gene expression, brain, energy metabolism, blood biochemistry, hematology, protein carbonyl groups, stress response, sex and age differences.

Список опублікованих праць за темою дисертації

Статті у наукових журналах, що входять до науково-метричної бази даних Scopus:

1. Balatskyi V., Gospodaryov D., Abrat O., Strilbytska O., Demianchuk O., Tkachyk A., Vasylyshyn O., Lushchak O., Lushchak V.I., Bayliak M. Differential long-term effects of physical, social, and psychological stressors in male mice: down-regulation of inflammatory markers and unresponsiveness of the antioxidant system. *Physiology & Behavior*. 2025. № 301. 115065. Q2

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2025.115065>

URL: <https://www.scopus.com/pages/publications/105013491606?origin=results>
[list](#)

2. Balatskyi V., Strilbytska O., Abrat O., Tkachyk A., Lylyk M., Lushchak V., Bayliak M. Behavioral and metabolic effects of escapable electric foot shock stress in male mice. *BMC Research Notes*. 2025. № 18(1). 127. Q3

DOI: <https://doi.org/10.1186/s13104-025-07189-0>

URL: <https://www.scopus.com/pages/publications/105001325260?origin=results>
[list](#)

3. Balatskyi V.A., Dmytriv T.R., Divnych A., Lushchak V.I. Kefir enhances stress resilience and mitigates PTSD-related behavioral and hematological changes in mice. *Frontiers in Physiology*. 2025. № 16. 1682807. Q2

DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2025.1682807>

URL:<https://www.scopus.com/pages/publications/105023698852?origin=results>
[list](#)

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

4. Балацький В., Байляк М., Господарьов Д., Лушак В. Довготривалі зміни в організмі мишей після викликання симптомів, схожих до ПТСР // XX Міжнародна наукова конференція студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології» (м. Львів, 18–20 квітня 2024 р.). – Львів: Сполом, 2024. – С. 314–315.

URL: <https://bioweb.lnu.edu.ua/wp-content/uploads/2024/04/Zbirnyk-Molod-i-postup-biolohii-2024-2.pdf>

5. Berezovskyi V., Balatskyi V., Demianchuk O. Influence of physical stressors on the levels of lipid peroxides // XX International Scientific Conference for Students and PhD Students «Youth and Progress of Biology» (Lviv, April 18–20, 2024). – Lviv: Spolom, 2024. – P. 339–340.

URL: <https://bioweb.lnu.edu.ua/wp-content/uploads/2024/04/Zbirnyk-Molod-i-postup-biolohii-2024-2.pdf>

6. Балацький В.А., Лушак В.І., Байляк М.М., Господарьов Д.В. Довготривалі метаболічні зміни в організмі мишей після впливу різних травматичних стресів // XXII Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених, присвячена 75-річчю з дня народження доктора ветеринарних наук, професора, члена-кореспондента НААН Ростислава Степановича Федорука (м. Львів, 19–20 вересня 2024 р.). – Львів, 2024. – С. 131.

URL:https://aminbiol.com.ua/images/Journal/2024/3/AB_2024_26_3_6_CYS.pdf

7. Балацький В.А., Лушак В.І., Байляк М.М. Розробка мишиної моделі для дослідження посттравматичного стресового розладу // XXI Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених, присвячена 100-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора Василя Юхимовича Шавкуна (м. Львів, 2023 р.) // The Animal Biology. – 2023. – Т. 25, № 2. – С. 50.

URL: https://aminbiol.com.ua/images/Journal/2023/2/AB_2023_25_2_8_confere_nce.pdf

8. Ткачик А., Балацький В., Байляк М. Взаємозв'язок між зміною поведінки та антиоксидантним статусом мозку мишей після одноразового тривалого стресу // VII Міжнародна наукова конференція «Актуальні проблеми сучасної біохімії, клітинної біології та фізіології» (м. Дніпро, 3–4 жовтня 2024 р.) / за заг. ред. Г.О. Ушакової. – Дніпро: Ліра, 2024. – С. 37–39.

URL: https://www.biochemistry-dnu.dp.ua/wp-content/uploads/2024/10/zbirnyk-Dnipro-3_4-Oct-2024.pdf

9. Васишин О., Абрят О., Балацький В., Байляк М. Параметри крові мишей з експериментально викликаними симптомами посттравматичного стресового розладу // VII Міжнародна наукова конференція «Актуальні проблеми сучасної біохімії, клітинної біології та фізіології» (м. Дніпро, 3–4 жовтня 2024 р.) / за заг. ред. Г.О. Ушакової. – Дніпро: Ліра, 2024. – С. 41–43.

URL: https://www.biochemistry-dnu.dp.ua/wp-content/uploads/2024/10/zbirnyk-Dnipro-3_4-Oct-2024.pdf

10. Strilbytska O., Balatskyi V., Lushchak V., Gospodaryov D., Abrat O., Tkachyk A., Vasylyshyn O., Bayliak M. Stressor-dependent effects in a mouse model of post-traumatic stress disorder: down-regulation of immune response with minimal impact on the antioxidant system // FEBS Open Bio. – 2025. – Vol. 15, Suppl. 2. – P. 420 (Meeting Abstract P-41-002).

DOI: <https://doi.org/10.1002/2211-5463.70071>

URL: <https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/2211-5463.70071>