

О. В. Ткачук
В. Ф. Мислицький

Буковинська державна медична
академія, м. Чернівці

ВПЛИВ ГОСТРОГО ТА ХРОНІЧНОГО ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ НА РЕАКЦІЮ БІОАМІНВІСНИХ СТРУКТУР ТИМУСА КОНТРОЛЬНИХ ТА ПРЕНАТАЛЬНО СТРЕСОВАНИХ САМЦІВ ЩУРІВ

Ключові слова: моноаміни, тимус,
імобілізаційний стрес, пренаталь-
ний стрес.

Резюме. Досліджено вплив гострого та хронічного імобілізаційного стресу на реакцію біоамінівмісних структур тимуса контрольних та пренатально стресованих самців щурів. Встановлено, що конститутивні показники інтенсивності флуоресценції моноамінів у всіх зонах тимуса контрольних та дослідних тварин не відрізняються. Після гострої одноденної імобілізації рівень моноамінів зростає в мозковій, премедулярній та субкапсулярній зонах тимуса як контрольних, так і пренатально стресованих тварин, однак у субкапсулярній зоні останніх реакція моноамінів значно слабша, ніж у контрольних. Хронічний імобілізаційний стрес знижує інтенсивність флуоресценції моноамінів у всіх зонах тимуса контрольних та дослідних тварин, за винятком внутрішньої зони кіркової речовини в останніх.

Вступ

Дані літератури свідчать, що швидкість диференціювання та викиду лімфоцитів у периферичну кров регулюється за участю біоамінівмісних структур вилочкової залози шляхом синтезу, секреції та інактивації біогенних амінів [5,6,10]. Тому порушення цих процесів у різних структурах тимуса впливає не лише на стан імунної, але нервової й ендокринної систем, які тісно взаємодіють за рахунок існування прямих та зворотних зв'язків [11,14].

Використання спектрофлуориметричних методів довело наявність в тимоцитах кіркової та мозкової речовини тимуса певних концентрацій катехоламінів, серотоніну, гістаміну. Однак популяція біоамінівмісних клітин тимуса є структурно та функціонально неоднорідною [2,6]. В експериментах з введенням різноманітних вегетотропних речовин було встановлено, що клітини премедулярної зони ведуть себе як місцеві амінопродуценти, в той час як тимоцити субкапсулярної зони мають яскраво виражені властивості амінопоглиначів [5,6,8]. Слабша здатність до синтезу та секреції біогенних амінів притаманна також клітинам внутрішньої зони кіркової речовини. Це нашоухує на думку, що функціональний стан тимуса залежить не лише від механізмів регуляції синте-

зу та секреції біогенних амінів, але й від взаємодії його біоамінівмісних структур. Ми не зустріли в літературі даних стосовно впливу стресогенних чинників на стан біоамінівмісних структур тимуса та їх взаємодію, хоча вплив гострого та хронічного стресу на морфофункціональний стан тимуса є беззаперечним, а біогенні аміни першими реагують на стрес [10,14]. Крім того, загальновідомим фактом у патогенезі пренатального стрес-синдрому є численні нейроендокринні модифікації [3,4], які впливають на лімфопоетичну та гормонпродуцувальну функції тимуса [12,14].

Мета дослідження

Дослідити вплив гострого й хронічного імобілізаційного стресу на вміст катехоламінів у структурно-функціональних зонах вилочкової залози контрольних та пренатально стресованих самців щурів.

Матеріал і методи

Дослідження проведено на тваринах тримісячного віку, матері яких із 15-го по 21-й день вагітності щоденно зазнавали одноденного жорсткого імобілізаційного стресу. Контрольну групу склали щурі того ж віку, народжені інтактними самками. Частину тварин кожної

Таблиця

Вплив гострого та хронічного іммобілізаційного стресу на інтенсивність флуоресценції моноамінів у структурно-функціональних зонах тимуса контрольних та пренатально стресованих тварин ($M \pm m$, $n=8$)

Група спостереження	Інтенсивність флуоресценції моноамінів (умовні одиниці)		
	конститутивний показник	перша доба іммобілізації	сьома доба іммобілізації
епітеліальна (субкапсулярна) зона кіркової речовини			
Контрольні	140±1,85	282±2,30 $p < 0,005$	75,4±0,74 $p < 0,005$ $p_1 < 0,005$
Пренатально стресовані	143±1,22	197±3,08 $p_2 < 0,01$ $p_1 < 0,005$	43,6±1,70 $p_2 < 0,005$ $p_3 < 0,005$ $p_4 < 0,005$
Внутрішня зона кіркової речовини			
Контрольні	105±2,70	67,2±0,60 $p < 0,05$	44,6±1,58 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$
Пренатально стресовані	101±1,95	72,3±1,84 $p_2 < 0,005$ $p_1 < 0,005$	73,2±1,72 $p_2 < 0,005$ $p_3 < 0,005$ $p_4 < 0,005$
премедулярна зона			
Контрольні	202±2,4	259±3,6 $p < 0,05$	106±2,38 $p < 0,005$ $p_1 < 0,005$
Пренатально стресовані	191±2,79	262±2,08 $p_2 < 0,05$	153±1,42 $p_2 < 0,005$ $p_3 < 0,005$ $p_4 < 0,005$
мозкова речовина			
Контрольні	67,2±1,22	104,2±3,04 $p < 0,025$	43,7±1,31 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$
Пренатально стресовані	71,3±2,88	108,3±3,30 $p_2 < 0,05$	32,7±0,31 $p_2 < 0,005$ $p_3 < 0,005$ $p_4 < 0,005$

Примітка. вірогідність змін у порівнянні з показниками — p — у контрольних тварин; p_1 — у контрольних тварин після гострої іммобілізації; p_2 — у пренатально стресованих тварин; p_3 — у пренатально стресованих тварин після гострої іммобілізації; p_4 — у контрольних тварин після хронічної іммобілізації

групи піддавали гострій (одногодинній) або хронічній (щоденній одногодинній протягом семи діб) іммобілізації, після чого заміряли інтенсивність флуоресценції моноамінів у тимусі.

Визначення моноамінів проводили за методом Фалька-Овмена [9] в модифікації А. Ю. Будащева [1]. Тимус швидко виймали на холоді, занурювали в рідкий азот, робили криостатні зрізи, проводили їх ліофільне висушування під вакуумом $0,66 \times 10^{-5} - 10^{-6}$ кПа. Висушені зрізи обробляли парами параформу, після чого проводили вимірювання інтенсивності флуоресценції катехоламінів, користуючись люмінесцентним мікроскопом МЛ-4 з мікрофотомет-

ричною насадкою ФМЭЛ — 1А. У кожному препараті проводили 50 замірювань у досліджуваних структурах та таку ж кількість замірювань фону. Інтенсивність флуоресценції моноамінів виражали в умовних одиницях.

Статистичну обробку проводили за t -критерієм Стьюдента.

Всі експериментальні дослідження та евтаназія тварин проводилися з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985).

Обговорення результатів дослідження

Проведені дослідження показали, що найвищий конститутивний вміст катехоламінів має місце в клітинах премедулярної зони тимуса. Суттєвої різниці між конститутивними показниками інтенсивності флуоресценції в контрольній групі тварин та щурів з пренатальним стрес-синдромом не виявлено.

Після першої іммобілізації контрольних тварин відбулося вірогідне підвищення рівня катехоламінів як в амінопродуцентах (премедулярна зона), так і в амінопоглиначач (субкапсулярні клітини). В останній зоні це підвищення було значно більшим, що в сукупності з медіаторним збідненням кіркової речовини свідчить про більш значну активацію амінопоглиначів у порівнянні з амінопродуцентами.

У тварин з синдромом пренатального стресу рівень катехоламінів в премедулярній та внутрішній зоні кіркової речовини після першої іммобілізації не відрізнявся від аналогічного показника в контрольних тварин. У той же час, в тимоцитах субкапсулярної зони постстресорна інтенсивність флуоресценції моноамінів була значно нижчою, ніж у контролі. На наш погляд, це свідчить про збереження продукції катехоламінів при зниженні їх ендотоксичності амінопоглиначами. Ймовірно, пренатальний стрес якимось чином порушує взаємодію між біоаміновмісними структурами тимуса. Це можна пояснити одночасною появою в онтогенезі функціонування різних зон тимуса [7]. Цікомо вірогідно, що дія несприятливих чинників у ранньому онтогенезі приводить до функціонального роз'єднання структурних зон тимуса.

У мозковій речовині залози після гострого стресу інтенсивність флуоресценції вірогідно зростала як у контрольних, так і в дослідних тварин.

Після останньої іммобілізації у всіх структурних зонах тимуса контрольних та дослідних тварин інтенсивність флуоресценції катехоламінів значно знижувалася порівняно як з конститутивними показниками, так і з тими, які мали місце після першої іммобілізації. Виняток становили тимоцити внутрішньої зони кіркової речовини щурів з пренатальним стрес-синдромом, де різниці між показниками після першої та останньої іммобілізації не виявлено.

Незважаючи на однакове спрямування змін, що виникали внаслідок хронічного іммобілізаційного стресу в контрольних та дослідних тварин, у субкапсулярній зоні та мозковій речовині щурів із пренатальним стрес-синдромом зниження вмісту катехоламінів було значно

суттєвішим, а в премедулярній – менш вираженим. Це свідчить, що пренатальний стрес викликає якісні та кількісні модифікації реакції біоаміновмісних структур тимуса на гострий та хронічний іммобілізаційний стрес, що безумовно, відіграє неабияку роль у виникненні імунопатологій, які мають місце за умов пренатального стрес-синдрому [13].

Висновки

1. Конститутивні показники інтенсивності флуоресценції моноамінів у всіх зонах тимуса контрольних та дослідних тварин не відрізняються.

2. Гострий іммобілізаційний стрес підвищує рівень моноамінів у мозковій, премедулярній і субкапсулярній зонах тимуса контрольних та пренатально стресованих тварин, однак у субкапсулярній зоні останніх реакція значно слабша, ніж у контрольних.

3. Хронічний іммобілізаційний стрес призводить до зниження інтенсивності флуоресценції моноамінів у всіх зонах тимуса контрольних та дослідних тварин, за винятком внутрішньої зони кіркової речовини в останніх.

Перспективи подальших досліджень

Отримані дані свідчать про необхідність вивчення впливу пренатального стресу на стан інших засобів медіаторної взаємодії між окремими структурно-функціональними зонами тимуса.

Література. 1. Буданцев А. Ю., Жариков С. И., Барилко Ш. И. и др. Микроспектрофлуориметр с выводом информации на перфоратор // Цитология. – 1978. – № 4. – С. 476-479. 2. Гордон Д. С., Сергеева В. Е., Смородченко А. Т. и др. Идентификация люминесцирующих гранулярных клеток тимуса с дендритными макрофагами // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2001. – Т. 132, № 7. – С. 118-120. 3. Резников А. Г., Носенко Н. Л., Тарасенко Л. В. и др. Ранние и отдаленные нейроэндокринные эффекты пренатального стресса у самцов и самок крыс // Пробл. эндокринологии. – 2000. – № 1. – С. 30-34. 4. Резников А. Г., Пишак В. П., Носенко П. Д., Ткачук С. С., Мыслицкий В. Ф. Пренатальный стресс и нейроэндокринная патология. – Черновцы: Медакадемія, 2004. – 351 с. 5. Сергеева В. Е., Спирич И. В., Ястребова С. А., Смородченко А. Т. Роль гормональных иммуномодуляторов в регуляции биоаминной клеточной структуры тимуса и лимфатических узлов // Матер. ХУІІІ съезда физиол. об-ва им. И. П. Павлова. – Казань. – 2001. – С. 423-424. 6. Стручко Г. Ю., Меркулова Л. М., Сергеева В. Е., Мохамед Захид, Стоменская И. С. Реакция биоаминсодержащих структур тимуса на введение растворимого антигена в конце индуктивной и в продуктивную фазы иммунного ответа // Иммунология. – 2001. – № 1. – С. 15-19. 7. Время появления эндокринной и лимфопоэтической функций тимуса человека в эмбриогенезе // Хлыстова З. С., Калинина И. И., Шмелева С. П., Рябчиков О. П. // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2000. – Т. 130, № 10. – С. 453-456. 8. Ястребова С. А., Сергеева В. Е., Спирич И. В. Изменения биоаминной клеточной системы тимуса после воздействия Т-активина // Морфология. – 2004. – Т. 125, № 1. С. 50-55. 9. Falck B., Owmán C. A detailed description of the fluorescence method

for the cellular localization of biogenic monoamine // *Acta Univ. Lundensis.*— 1965.— S.II.— P. 7-49. 10. Inhibition of lymphocyte activation by catecholamines: evidence for a non-classical mechanism of catecholamine action / *Cook-Mills J. M., Cohen R. L., Perlman R. I., Chambers D. A.* // *Immunology.*— 1998.— V. 85, № 4.— P. 544-549. 11. *Madden K. S., Felten D. L.* Experimental basis for neural-immune interactions // *Physiol. Rev.*— 1995.— V.75.— P.77-106. 12. Neuroendocrine control of the thymus / *Savino W., Villa-Verde D. M. S., Alves L. A., Dardenne M.* // *Ann. N. Y. Acad. Sci.*— 1998.— V.840.— P.470-479. 13. Prenatal stress depresses immune function in rats / *Kay G., Tarcic N., Poltyrev T., Weinstock M.* // *Physiol. Behav.*— 1998.— V.63, № 3.— P. 397-402. 14. *Savino W., Dardenne M.* Immunoneuroendocrine interactions // *Immunol. Today.*— 1995.— V.7.— P. 318-322.

**ВЛИЯНИЕ ОСТРОГО И ХРОНИЧЕСКОГО
ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА НА
РЕАКЦИЮ БИОАМИНСОДЕРЖАЩИХ СТРУКТУР
ТИМУСА КОНТРОЛЬНЫХ И ПРЕНАТАЛЬНО
СТРЕССИРОВАННЫХ САМЦОВ КРЫС**

О. В. Ткачук, В. Ф. Мыслицкий

Резюме. Исследовано влияние острого и хронического иммобилизационного стресса на реакцию биоаминсодержащих структур тимуса контрольных и пренатально стрессированных самцов крыс. Установлено, что конститутивные показатели интенсивности флуоресценции моноаминов во всех зонах тимуса контрольных и экспериментальных животных не отличаются. После острой односторонней иммобилизации уровень моноаминов возрастает в мозговой, премедулярной и субкапсулярной зонах тимуса как контрольных, так и пренатально стрессированных животных, однако в субкапсулярной зоне последних реакция моноаминов значительно слабее, чем у контрольных.

Хронический иммобилизационный стресс снижает интенсивность флуоресценции моноаминов во всех зонах тимуса контрольных и экспериментальных животных, за исключением внутренней зоны коркового вещества у последних.

Ключевые слова: моноамины, тимус, иммобилизационный стресс, пренатальный стресс.

**THE EFFECT OF ACUTE AND CHRONIC
IMMOBILIZATION STRESS ON THE REACTION OF
BIOAMINE-CONTAINING STRUCTURES OF THE
THYMUS IN CONTROL AND PRENATALLY
STRESSED MALE RATS**

O. V. Tkachuk, V. F. Myslytsky

Abstract. The effect of acute and chronic immobilization stress on the reaction of bioamine-containing structures of the thymus in control and prenatally stressed male rats has been studied. It has been established that the constitutive indices of monoamine fluorescence intensity do not differ in all the zones of the thymus of both control and experimental animals. Upon acute one hour immobilization the level of monoamines grows in the medullary, premedullary and subcapsular zones of the thymus of both control and prenatally stressed animals, however the reaction of monoamines in the subcapsular zone of the latter is considerably weaker than in control ones. Chronic immobilization stress decreases the intensity of monoamine fluorescence in all the zones of the thymus of both control and experimental animals, except the latter's inner zone of the cortical substance.

Key words: thymus, monoamines, immobilization stress, prenatal stress.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol.— 2004.— Vol.3, №4.— P.73-76.

Надійшла до редакції 20.11.2004