

# Експериментальні дослідження

УДК 612.451-018:612.017.2-092.9

Р.Є.Булик, В.П.Пішак<sup>1</sup>, І.С.Давиденко<sup>2</sup>

## ХРОНОГІСТОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ЩУРІВ НА ТЛІ ГІПЕРФУНКЦІЇ ШИШКОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

<sup>1</sup>Кафедра медичної біології, генетики та гістології (зав. – чл.-кор. АПН України, проф. В.П.Пішак)

<sup>2</sup>Кафедра патологічної анатомії та судової медицини (зав. – д.мед.н. І.С.Давиденко)  
Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці

**Резюме.** Дослідження морфологічних змін надниркових залоз у різні проміжки доби дозволили встановити, що за умов гіперфункції шишкоподібної залози зміни епітеліоцитів пучкової зони відповідають

підвищенню їх функції о 14.00 год та зниженню о 02.00 год.

**Ключові слова:** надниркові залози, шишкоподібна залоза, постійна темрява.

**Вступ.** Вивчення структурних і функціональних змін, що відбуваються в клітинах кори надниркових залоз, за умов дії різного походження стресорів, є важливою проблемою сучасної теоретичної та практичної біології і медицини [1,7,8]. Доведено існування т.з. стрес-лімітувальних механізмів, які забезпечують активний захист ЦНС і периферійних органів від пошкоджувального впливу стресових чинників. Відомості літератури дозволяють розглядати в колі такого роду апаратів і шишкоподібну залозу (епіфіз мозку), яка шляхом синтезу низки індолів та пептидів синхронізує біологічні ритми в організмі людини та тварин [2,5]. Продукція основного гормону залози – мелатоніну підпорядкована чіткому добовому періодизму і залежить від зовнішнього освітлення: максимум синтезу припадає на темнову, а мінімум – на світлову фазу доби [3,9].

Опубліковані дані про зміну ендокринної функції надниркових залоз при використанні гормонів епіфіза мозку чи їх синтетичних аналогів [4], однак морфологічна характеристика залоз, за умов різної функціональної активності шишкоподібної залози, при цьому описана недостатньо.

**Мета дослідження.** З'ясувати хроногістологічні зміни кори надниркових залоз, що виникають на фоні гіперфункції шишкоподібної залози.

**Матеріал і методи.** Експерименти проведені на 20 статевозрілих самцях безпородних білих щурів масою 0,15-18 кг. Тварин утримували в твариннику при сталій температурі, вологості повітря та вільному доступі до води й їжі. Дослідних тварин розподілено на 2 групи (10 особин у кожній). Перша група (контроль) перебувала за умов звичайного світлового режиму – 12.00С:12.00Г (світло з 08.00 до 20.00 год лампи денного світла ЛБ-40, освітленість приміщення на рівні тварин 200 Лк) впродовж семи діб. Друга група знаходилася за умов постійної темряви (00С:24.00Г) впродовж семи діб. Доступ до тих тварин, які знаходилися за умов постійної темряви, здійснювали тільки при слабкому в 2 лк червоному світлі.

З метою виявлення морфологічних відмінностей надниркових залоз та враховуючи цикліч-

ність продукції мелатоніну етаназію щурів виконували з 12-годинним інтервалом (о 02.00 год, коли функціональна активність шишкоподібної залози максимальна та о 14.00 год, коли спостерігається її гіпофункція) шляхом декапітації на 8-у добу. Всі етапи експерименту проведено з дотриманням основних вимог Гельсінської декларації про гуманне ставлення до тварин.

Надниркові залози фіксували в 10% розчині нейтрального забуференого формаліну, після чого зневоднювали в спиртах та виготовляли парафінові блоки. Отримані зрізи 5 мкм завтовшки фарбували гематоксиліном і еозином. Для комп'ютерної морфометрії отримували цифрові копії зображень різних зон кіркової речовини надниркових залоз із використанням мікроскопа ЛЮ-МАМ-Р8 (об'єктив  $\times 40$  – для цитометричних досліджень, окуляр  $\times 10$  – для гістологічних досліджень, окуляр  $\times 10$  – для всіх досліджень) та цифрової камери Olympus C740UZ. Потім цифрові копії зображення аналізували за допомогою ліцензійної версії комп'ютерної програми ВидеоТест – Размер 5.0 (ООО Видеотест, Россия) – проводили комп'ютерну мікроденситометрію із застосуванням показників, які вказані в результатах дослідження. Окремого пояснення потребує лише показник комп'ютерної мікроденситометрії “Стандартне відхилення відносної оптичної щільності забарвлення” щодо застосування його для зафарбованих клітинних ядер. Вказаний показник кількісно віддзеркалює ступінь гомогенності забарвлення – величина “0” відповідає абсолютній гомогенності (однорідності) забарвлення, а зростання величини показника свідчить про збільшення неоднорідності забарвлення. Це дозволяє застосувати показник “Стандартне відхилення відносної оптичної щільності забарвлення” для об'єктивної, відтворюваної оцінки співвідношення еухроматину (більш гомогенне забарвлення) та гетерохроматину (більш гранулярне забарвлення) у клітинних ядрах [6].

При статистичній обробці даних вираховували середню арифметичну та її похибку, використовуючи критерій Хана-Шапіро-Уілкі. Вірогідність різниці між групами дослідження визначали

за допомогою двостороннього непарного критерію Стьюдента. Результати вважали вірогідними при  $p \leq 0,05$ .

#### Результати дослідження та їх обговорення.

У надниркових залозах щурів на клітинному рівні структурної організації вивчені всі зони кіркової речовини та мозкова речовина. Застосованими методами морфологічного дослідження в жодній групі спостереження не виявлено змін у клубочковій та сітчастій зонах кіркової речовини та мозковій речовині порівняно з відповідним контролем. Основні морфологічні зміни розвинулися в пучковій зоні кіркової речовини.

Попередньо для обґрунтування диференційованого дослідження надниркових залоз у різні періоди доби виконано відповідне порівняльне дослідження двох контрольних груп лабораторних щурів. Воно, зокрема, показало, що за результатами вимірювання цитологічних параметрів епітеліоцитів пучкової зони кіркової речовини надниркових залоз щурів контрольної групи, які досліджені станом на 14.00 год, середній діаметр вказаних клітин становив  $11,0 \pm 0,29$  мкм порівняно з щурами іншої контрольної групи, яким проведена евтаназія о 02.00 год ( $9,5 \pm 0,28$  мкм,  $p=0,007$ ). Збільшення розмірів клітин супроводжується просвітлінням їх цитоплазми, що встановлено згідно з мікроденситометричним показником "Відносна оптична щільність", який на 14.00 год становив  $0,106 \pm 0,0272$  в.о. опт. щільності, проти  $0,208 \pm 0,0245$  в.о. опт. щільності на 02.00 год ( $p=0,013$ ). Розміри ядер епітеліоцитів у середньому не відрізнялися між групами контролю, хоча відмічено більш гомогенний вигляд ядерного хроматину ("еухроматизація" ядер) в епіте-

ліюцитах пучкової зони о 14.00 год, що підтверджено за допомогою відповідного об'єктивного показника – середнього квадратичного відхилення відносної оптичної щільності, який становив о 14.00 год  $0,004 \pm 0,0005$  в.о.опт.щільності, а на 02.00 год  $0,011 \pm 0,0006$  в.о.опт.щільності ( $p < 0,001$ ). Таким чином, при звичайному освітленні в надниркових залозах щурів відбуваються добові коливання кількох цитологічних параметрів пучкової зони кіркової речовини, які в сукупності вказують на більшу функціональну напруженість епітеліоцитів вказаної зони о 14.00 год порівняно з величинами о 02.00 год. Зазначена закономірність ілюстрована за допомогою мікрофотографій гістологічних препаратів (рис. 1).

За умов гіперфункції шишкоподібної залози відмічено збільшення середнього діаметра епітеліоцитів пучкової зони кіркової речовини надниркових залоз станом на 14.00 год до  $12,1 \pm 0,33$ , а на 02.00 год – до  $9,8 \pm 0,30$  мкм ( $p=0,023$  та  $p=0,815$  порівняно з відповідними контрольними величинами). Суттєвих відмінностей щодо інтенсивності забарвлення цитоплазми вказаних клітин не спостерігали, підтвердження чому є показник "Відносна оптична щільність", який о 14.00 год становив  $0,112 \pm 0,0310$  в.о. опт. щільності, а о 02.00 год –  $0,201 \pm 0,0212$  в.о. опт. щільності ( $p=0,943$  та  $p=0,893$  порівняно з відповідними контрольними). Вірогідних змін середнього квадратичного відхилення відносної оптичної щільності забарвлення клітинних ядер у досліджувані проміжки доби не виявлено. Ілюстрація вказаних особливостей здійснена за допомогою мікрофотографій гістологічних препаратів (рис. 2).

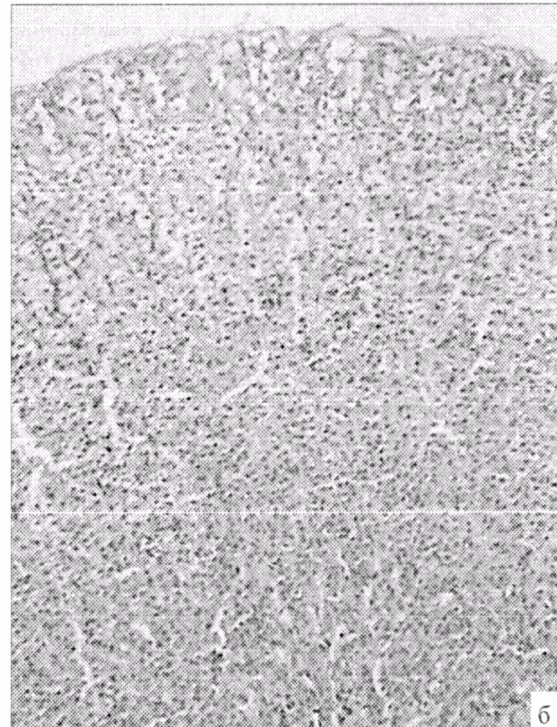
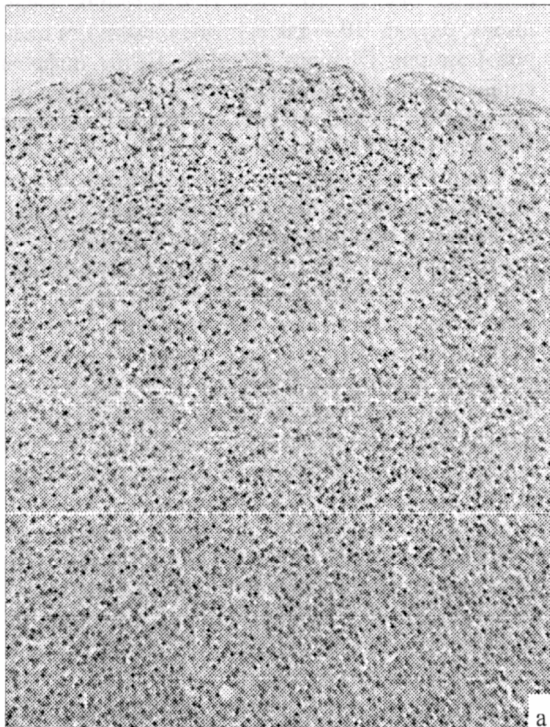


Рис. 1. Кіркова речовина надниркових залоз щурів двох контрольних груп. Евтаназія тварин: а) о 14.00 год; б) о 02.00 год. Гематоксилін і созин. \*Ок.10, Об. \*10

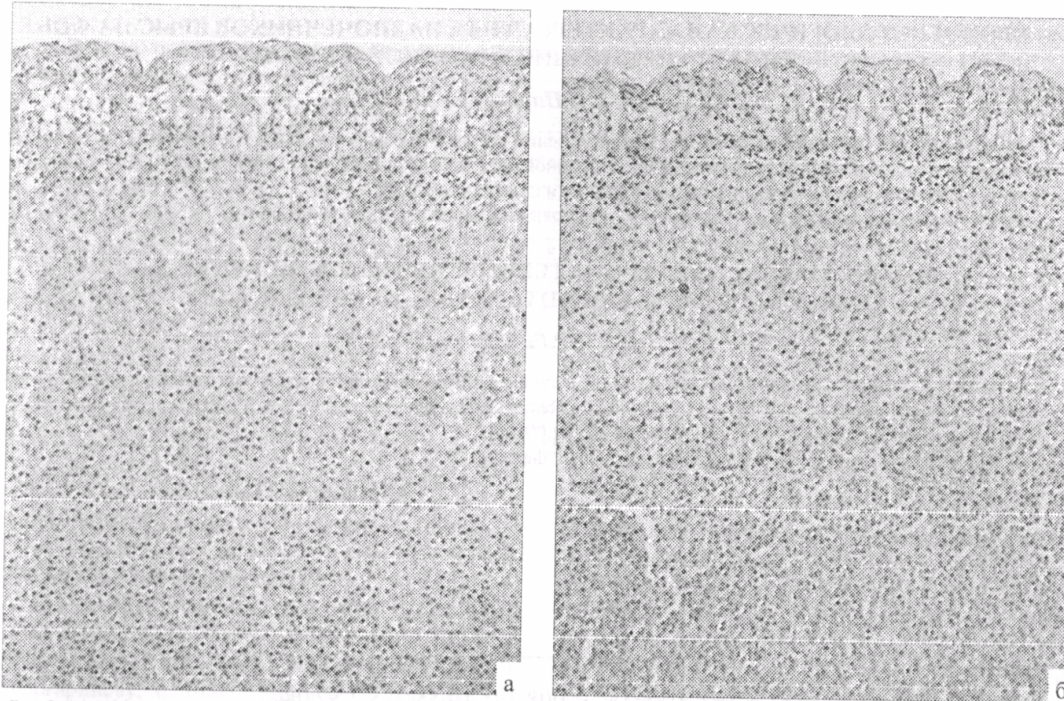


Рис.2. Морфологічні зміни кіркової речовини надниркових залоз щурів тварин, що перебували за умов гіперфункції шишкоподібної залози. Евтаназія тварин: а) о 14.00 год; б) о 02.00 год. Гематоксилін і еозин. \*Ок.10, Об. \*10

### Висновки

1. При звичайному освітленні в надниркових залозах щурів відбуваються добові коливання кількох цитологічних параметрів пучкової зони кіркової речовини, які разом вказують на більшу функціональну напруженість епітеліоцитів вказаної зони о 14.00 год порівняно з 02.00 год.

2. За умов гіперфункції шишкоподібної залози в пучковій зоні спостерігається подібна тенденція – морфологічні зміни епітеліоцитів відповідають підвищенню їх функції о 14.00 год та зниженню о 02.00 год.

**Перспективи подальших досліджень.** Продовжити визначення мікроскопічних та ультрамікроскопічних змін надниркових залоз тварин, яким моделюватиметься гіпофункція шишкоподібної залози.

### Література

1. Бузуева И.И., Шмерлинг М.Д., Филошина Е.Е. и др. Влияние хронического стресса в неонатальном периоде онтогенеза на структурную организацию надпочечника крыс гипертензивной линии НИСАГ // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2004. – Т. 137, №1. – С.16-19.
2. Заморский И.И., Пишак В.П. Функциональная организация фотопериодической системы головного мозга // Успехи физиол. наук. – 2003. – Т.34, №4. – С.37-53.

3. Комаров Ф.И., Рапопорт С.И. Хронобиология и хрономедицина. – М.: Триада-Х, 2000. – 488 с.
4. Мишуніна Т.М. Вплив мелатоніну на базальну та стрес-індуковану секрецію гормонів мозкового шару надниркових залоз інтактних щурів // Клін. та експерим. патол. – 2004. – Т.3, №2. – С.183-184.
5. Пішак В.П., Булик Р.Є. Механізми участі шишкоподібної залози в забезпеченні циркадіанної ритмічності фізіологічних функцій // Бук. мед. вісник. – 2006. – Т.10, №4. – С. 5-8.
6. Яковець К.І., Давиденко І.С., Давиденко О.М. Спосіб оцінки організації ядерного хроматину клітин людини та тварин // Деклараційний патент України на винахід №13218U.- 15.03.2006.- Бюл. №3.- 2с.
7. Beranova M., P. Mandakova, P. Sima, et al. Morphology of the adrenal gland and lymph organs is impaired in the neurodeficient lurcher mutant mice // Acta Vet. Brno. – 2002. – Vol.71. – P.23-28.
8. Magalhaes M.M., Magalhaes M.C., Gomes M.L. et al. A correlated morphological and biochemical study on the rat adrenal steroidogenesis // Eur. J. Cell. Biol. – 1997. – Vol. 43, N2. – P.247-252.
9. Reiter R. J. Melatonin: clinical relevance // Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab. – 2003. – Vol. 17, N 2. – P.273-285.

**ХРОНОГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НАДПОЧЕЧНИКОВ КРЫС НА ФОНЕ ГИПЕРФУНКЦИИ ШИШКОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

*Р.Е.Булык, В.П.Пишак, И.С.Давыденко*

**Резюме.** Исследование морфологических изменений надпочечников в различные периоды суток позволили установить, что в условиях гиперфункции шишковидной железы в пучковой зоне наблюдаемые изменения эпителиоцитов отвечают повышению их функции в 14.00 ч и снижению в 02.00 ч.

**Ключевые слова:** надпочечники железы, шишковидная железа, постоянная темнота.

**CHRONOHISTOLOGICAL CHARACTERISTIC OF THE RAT ADRENAL GLANDS AGAINST A BACKGROUND OF PINEAL HYPERFUNCTION**

*R.Ye.Bulyk, V.P.Pishak, I.S.Davydenko*

**Abstract.** Studies of morphologic changes of the adrenals at different diurnal intervals have made it possible to establish that under conditions of pineal gland hyperfunction changes of epitheliocytes in the fascicular zone correspond to their increased function at 02.00 p.m. and a decreased one at 02.00 a.m.

**Key words:** adrenal glands, pineal gland, permanent darkness.

Рецензент – доц. Л.Я.Федонюк

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Buk. Med. Herald. – 2007. – Vol.11, №4.- P.91-94

Надійшла до редакції 1.10.2007 року